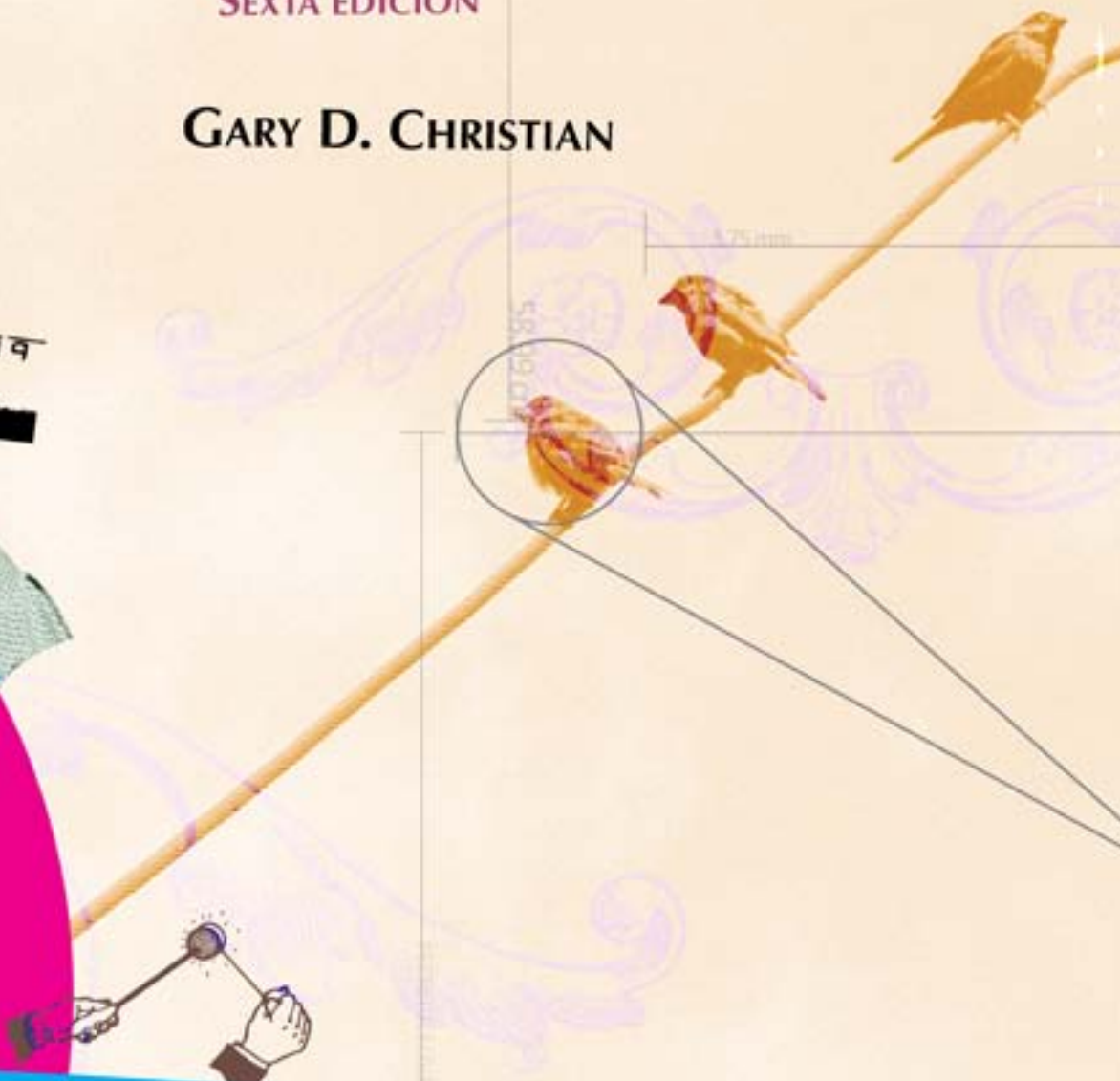


QUÍMICA ANALÍTICA

SEXTA EDICIÓN

GARY D. CHRISTIAN



Mc
Graw
Hill

Pesos atómicos internacionales, basados en $^{12}\text{C} = 12$

<i>Elemento</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Número atómico</i>	<i>Peso atómico^a</i>	<i>Elemento</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Número atómico</i>	<i>Peso atómico^a</i>
Actinio	Ac	89	(227)	Lutecio	Lu	71	174.967
Aluminio	Al	13	26.9815	Magnesio	Mg	12	24.312
Americio	Am	95	(243)	Manganeso	Mn	25	54.9380
Antimonio	Sb	51	121.76	Meitnerio	Mt	109	(268)
Argón	Ar	18	39.948	Mendelevio	Md	101	(258)
Arsénico	As	33	74.9216	Mercurio	Hg	80	200.59
Ástato	At	85	(210)	Molibdeno	Mo	42	95.94
Azufre	S	16	32.066	Neodimio	Nd	60	144.24
Bario	Ba	56	137.33	Neon	Ne	10	20.180
Berilio	Be	4	9.0122	Neptunium	Np	93	(237)
Berkelio	Bk	97	(247)	Niobio	Nb	41	92.906
Bismuto	Bi	83	208.980	Níquel	Ni	28	58.69
Bohrio	Bh	107	(264)	Nitrógeno	N	7	14.0067
Boro	B	5	10.811	Nobelio	No	102	(259)
Bromo	Br	35	79.904	Oro	Au	79	196.967
Cadmio	Cd	48	112.41	Osmio	Os	76	190.2
Calcio	Ca	20	40.08	Oxígeno	O	8	15.9994
Californio	Cf	98	(251)	Paladio	Pd	46	106.4
Carbono	C	6	12.011	Plata	Ag	47	107.870
Cerio	Ce	58	140.12	Platino	Pt	78	195.08
Cesio	Cs	55	132.905	Plomo	Pb	82	207.2
Cloro	Cl	17	35.453	Plutonio	Pu	94	(244)
Cobalto	Co	27	58.9332	Polonio	Po	84	(209)
Cobre	Cu	29	63.546	Potasio	K	19	39.098
Cromo	Cr	24	51.996	Praseodimio	Pr	59	140.907
Curio	Cm	96	(247)	Prometio	Pm	61	(145)
Disprosio	Dy	66	162.50	Protactinio	Pa	91	(231)
Dubnio	Db	105	(262)	Radio	Ra	88	(266)
Einsteinio	Es	99	(252)	Radón	Rn	86	(222)
Erbio	Er	68	167.26	Renio	Re	75	186.2
Escandio	Sc	21	44.956	Rodio	Rh	45	102.905
Estaño	Sn	50	118.71	Rubidio	Rb	37	85.47
Estroncio	Sr	38	87.62	Rutenio	Ru	44	101.07
Europio	Eu	63	151.96	Rutherfordio	Rf	104	(261)
Fermio	Fm	100	(257)	Samario	Sm	62	150.35
Flúor	F	9	18.9984	Seaborgio	Sg	106	(266)
Fósforo	P	15	30.9738	Selenio	Se	34	78.96
Francio	Fr	87	(223)	Silicio	Si	14	28.086
Gadolinio	Gd	64	157.25	Sodio	Na	11	22.9898
Galio	Ga	31	69.72	Talio	Tl	81	204.38
Germanio	Ge	32	72.61	Tantalio	Ta	73	180.948
Hafnio	Hf	72	178.49	Tecnecio	Tc	43	(98)
Hassio	Hs	108	(265)	Telurio	Te	52	127.60
Helio	He	2	4.0026	Terbio	Tb	65	158.925
Hidrógeno	H	1	1.00794	Titanio	Ti	22	47.87
Hierro	Fe	26	55.845	Torio	Th	90	232.038
Holmio	Ho	67	164.930	Tulio	Tm	69	163.934
Iridio	Ir	77	192.2	Tungsteno	W	74	183.85
Iridium	Ir	77	192.2	Uranio	U	92	238.03
Iterbio	Yb	70	173.04	Vanadio	V	23	50.9415
Itrio	Y	39	88.905	Xenón	Xe	54	131.30
Kriptón	Kr	36	83.80	Yodo	I	49	127.60
Lantano	La	57	138.91	Zinc	Zn	30	65.37
Laurencio	Lw	103	(262)	Zirconio	Zr	40	91.22
Litio	Li	3	6.9417				

^a Los números entre paréntesis indican la masa del isótopo más estable. Para los elementos 110, 111, 112, 114, 116 y 118, vea las tablas periódicas que aparecen en el apéndice E.

Pesos fórmula

AgBr	187.78	K ₂ CrO ₇	294.19
AgCl	143.32	KHC ₂ O ₄	128.13
Ag ₂ CrO ₄	331.73	KHC ₂ O ₄ · H ₂ C ₂ O ₄	218.16
AgI	243.77	KHC ₈ H ₂ O ₄ (KHP)	204.23
AgNO ₃	169.87	KH(IO ₃) ₂	389.92
AgSCN	165.95	K ₂ HPO ₄	174.18
Ag ₂ SO ₄	311.80	KH ₂ PO ₄	136.09
Al(C ₉ H ₆ ON) ₃ (AlOx ₃)	459.46	KHSO ₄	136.17
Al ₂ O ₃	101.96	KI	166.01
Al ₂ (SO ₄) ₃	342.14	KIO ₃	214.00
As ₂ O ₃	197.85	KIO ₄	230.00
BaCO ₃	197.35	KMnO ₄	158.04
BaCl ₂	208.25	KNO ₃	101.11
BaCl ₂ · 2H ₂ O	244.27	KOH	56.11
BaCrO ₄	253.33	KSCN	97.18
BaO	153.34	K ₂ SO ₄	174.27
BaSO ₄	233.40	MgCl ₂	95.22
Bi ₂ O ₃	466.0	Mg(C ₉ H ₆ ON) ₂ (MgOx ₂)	312.60
C ₆ H ₁₂ O ₆ (glucosa)	180.16	MgNH ₄ PO ₄	137.35
CO ₂	44.01	MgO	40.31
CaCl ₂	110.99	Mg ₂ P ₂ O ₇	222.57
CaCO ₃	100.09	MgSO ₄	120.37
CaC ₂ O ₄	128.10	MnO ₂	86.94
CaF ₂	78.08	Mn ₂ O ₃	157.88
CaO	56.08	Mn ₃ O ₄	228.81
CaSO ₄	136.14	MnSO ₄	151.00
CeO ₂	172.12	Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O	381.37
Ce(SO ₄) ₂	332.25	NaBr	102.90
(NH ₄) ₂ Ce(NO ₃) ₆	548.23	Na(C ₆ H ₅) ₄ B	342.20
(NH ₄) ₄ Ce(SO ₄) ₄ · 2H ₂ O	632.6	NaC ₂ H ₃ O ₂	82.03
Cr ₂ O ₃	151.99	Na ₂ C ₂ O ₄	134.00
CuO	79.54	NaCl	58.44
Cu ₂ O	143.08	NaClO	74.44
CuSO ₄	159.60	NaCN	49.01
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	392.14	Na ₂ CO ₃	105.99
FeO	71.85	NaHCO ₃	84.01
Fe ₂ O ₃	159.69	Na ₂ H ₂ EDTA · 2H ₂ O	372.23
Fe ₃ O ₄	231.54	NaOH	40.00
HBr	80.92	NaSCN	81.07
HC ₂ H ₃ O ₂ (ácido acético)	60.05	Na ₂ SO ₄	142.04
HCl	36.46	Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	248.18
HClO ₄	100.46	Ni(C ₄ H ₇ O ₂ N ₂) ₂ (Ni-DMG ₂)	288.94
H ₂ C ₂ O ₄	90.04	NH ₃	17.03
H ₂ C ₂ O ₄ · 2H ₂ O	126.07	NH ₄ Cl	53.49
H ₅ IO ₆	227.94	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂ (THAM; Tris)	121.14
HNO ₃	63.01	NH ₂ CONH ₂ (Urea)	60.06
H ₂ O	18.015	(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ · H ₂ O	142.11
H ₂ O ₂	34.01	NH ₄ NO ₃	80.04
H ₃ PO ₄	98.00	(NH ₄) ₂ SO ₄	132.14
H ₂ S	34.08	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	228.18
H ₂ SO ₃	82.08	NH ₂ SO ₃ H	97.09
H ₂ SO ₄	98.08	PbCrO ₄	323.18
HSO ₃ NH ₂ (ácido sulfámico)	97.09	PbSO ₄	303.25
HgO	216.59	P ₂ O ₅	141.94
Hg ₂ Cl ₂	472.09	Sb ₂ O ₃	291.50
HgCl ₂	271.50	SiO ₂	60.08
Hg(NO ₃) ₂	324.61	SnCl ₂	189.60
KBr	119.01	SnO ₂	150.69
KBrO ₃	167.01	SrSO ₄	183.68
K(C ₆ H ₅) ₄ B	358.31	SO ₂	64.06
KCl	74.56	SO ₃	80.06
KClO ₃	122.55	TiO ₂	79.90
KCN	65.12	V ₂ O ₅	181.88
K ₂ CrO ₄	194.20	Zn ₂ P ₂ O ₇	304.68

QUÍMICA ANALÍTICA



QUÍMICA ANALÍTICA

Sexta edición

Gary D.Christian

University of Washington

Revisión técnica

Rodolfo Álvarez

Universidad Nacional Autónoma de México

Universidad Iberoamericana



MÉXICO • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • LISBOA • MADRID
NUEVA YORK • SAN JUAN • SANTIAGO • AUCKLAND • LONDRES • MILÁN
MONTREAL • NUEVA DELHI • SAN FRANCISCO • SINGAPUR • SAN LUIS • SIDNEY • TORONTO



Director Higher Education: Miguel Ángel Toledo Castellanos
Director editorial: Ricardo A. del Bosque Alayón
Coordinadora editorial: Marcela I. Rocha Martínez
Editor sponsor: Pablo E. Roig Vázquez
Editora de desarrollo: Ana L. Delgado Rodríguez
Supervisor de producción: Zeferino García García
Traducción: Sergio Sarmiento Ortega y Virgilio González y Pozo

QUÍMICA ANALÍTICA
Sexta edición

Prohibida la reproducción total o parcial de esta obra,
por cualquier medio, sin la autorización escrita del editor.



Educación

DERECHOS RESERVADOS © 2009 respecto a la primera edición en español por
McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S. A. DE C. V.

A Subsidiary of The McGraw-Hill Companies, Inc.

Edificio Punta Santa Fe
Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A
Piso 17, Colonia Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C. P. 01376, México, D. F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. Núm. 736

ISBN: 978-970-10-7234-9

Traducido de la sexta edición de: Analytical Chemistry. Copyright © MMIV John Wiley & Sons, Inc.
All rights reserved. ISBN: 0-471-21472-8

1234567890

08765432109

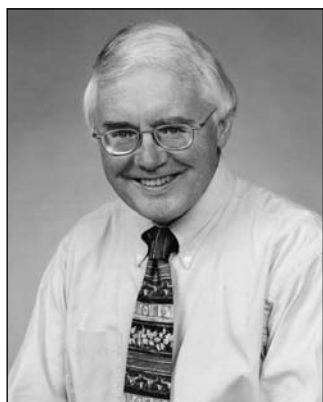
Impreso en México

Printed in Mexico

A

Sue —por décadas de gozo y por ser una abuela tan increíble para Tanya y Taffy— por la luminosidad que da a nuestras vidas.

Acerca del autor



Gary Christian creció en Oregón y durante toda su vida se ha interesado en la enseñanza, inspirado por Harald Platou, un excelente maestro de ciencia en la preparatoria, en una escuela rural. Recibió su grado de licenciatura (B.S.) en la Universidad de Oregón y su doctorado (Ph.D) en la Universidad de Maryland, donde adquirió de su mentor, Bill Purdy, una apreciación de lo emocionante de la investigación. Comenzó su carrera como químico analítico de investigación en el Instituto de Investigación de la Armada Walter Reed donde desarrolló su interés por la química clínica y la bioanalítica. Ingresó a la Universidad de Kentucky en 1967 y en 1972 se cambió a la Universidad de Washington. Fue decano divisional de ciencias en el periodo 1993-2001.

Gary escribió la primera edición de este libro en 1971. Es autor de más de 300 publicaciones y ha escrito otros cinco libros, incluyendo *Instrumental Analysis*. Sus intereses de investigación incluyen la química electroanalítica, la espectroscopía atómica, el análisis de proceso y el análisis de inyección de flujo.

Recibió el Premio de Excelencia en Enseñanza de la American Chemical Society (ACS), División de Química Analítica, y el Premio ACS Fisher en Química Analítica, un reconocimiento máximo por contribuciones en química analítica. Fue Académico Fullbright y recibió la Medalla de Oro Talanta, la Medalla de Honor de la Universidad Libre de Bruselas, la Medalla Conmemorativa de la Universidad Charles, y el Certificado Honorario de Investigación de la Universidad de Gante. Es coeditor en jefe de *Talanta*, una revista internacional de química analítica, y forma parte de los consejos editoriales de otras numerosas revistas. Fue presidente de la División de Química Analítica de la ACS.

Gary presidió la preparación del Examen de Química Analítica de la ACS, y fue preparador de la prueba de química para el Examen de Registro de Graduados (GRE, por sus siglas en inglés). Fue miembro del equipo que preparó el examen para la Olimpiada Internacional de Química cuando tuvo lugar en Estados Unidos. Es miembro de la American Chemical Society, la Society for Applied Spectroscopy (Sociedad de Espectroscopía Aplicada), la Spectroscopy Society of Canada (Sociedad de Espectroscopía de Canadá) y la Society for Electroanalytical Chemistry (Sociedad de Química Electroanalítica).

Gary vive en Medina, Washington, con su esposa Sue, desde hace 41 años, y sus nietas, Tanya y Taffy.

Prefacio

“Los maestros abren la puerta, pero tú decides si entras” —Anónimo

La química analítica se ocupa de la caracterización química de la materia, tanto cualitativa como cuantitativamente. Es importante para casi todos los aspectos de nuestras vidas porque los productos químicos forman parte de todo lo que usamos. El fallecido Charles N. Reilly decía que “la química analítica es lo que hacen los químicos analíticos”. Usted va a aprender en este texto qué es lo que hacen.

Este texto está diseñado para estudiantes de licenciatura en química y disciplinas relacionadas con la química. Trata de los principios y técnicas del análisis cuantitativo; es decir, de cómo determinar qué cantidad de una sustancia específica contiene una muestra. El lector aprenderá cómo diseñar un método analítico con base en la información que se necesita, cómo obtener una muestra de laboratorio que sea representativa del total, cómo prepararla para el análisis, qué herramientas de medición están disponibles y la importancia estadística del análisis. Los capítulos 24-26 ilustran aplicaciones de las técnicas que se han aprendido en los campos de la química clínica, genómica y proteómica, y en el muestreo y análisis ambientales.

Pueden tomarse ejemplos del uso de la química analítica de áreas como las ciencias biológicas, la química clínica, la contaminación de aire, agua y los análisis industriales. La importancia de la química analítica se percibe cuando por un análisis incorrecto de sangre se puede poner en peligro la vida de un paciente, o cuando un error en el análisis de control de calidad puede dar por resultado graves pérdidas financieras para un industrial. Para asegurar la eficiencia máxima en la producción química, se realizan análisis automatizados en línea de los procesos químicos. Esto ahorra millones de dólares a la industria química.

¿QUIÉN DEBE USAR ESTE TEXTO?

El texto está escrito para un curso de análisis cuantitativo para el nivel de licenciatura. Necesariamente contiene más material que el que normalmente se puede cubrir en un curso de un semestre o un trimestre, de modo que el instructor puede seleccionar los temas que se consideren más importantes. Algunas de las secciones restantes pueden servir como material complementario. Dependiendo de cómo esté diseñada una secuencia de análisis cuantitativo y de análisis instrumental, podría servir para ambos cursos. En cualquier caso, el autor espera que el lector se tome el tiempo para leer algunas secciones que le parezcan interesantes, aunque no se cubran formalmente. Sin duda, pueden servir como referencia en el futuro.

¿QUÉ QUEDÓ IGUAL?

Esta sexta edición de *Química analítica* ha sido extensamente revisada y actualizada. Cada capítulo tiene un párrafo introductorio de resumen, que enumera los temas que se van a

cubrir, dando al lector una visión general de cada tema. Se usan **negritas** para los términos clave, y las ecuaciones importantes se encuadran para ayudar en el repaso. Se usan abundantes *notas marginales* para destacar más los conceptos importantes y ayudar en el repaso.

Se hace hincapié en el análisis dimensional en todo el libro, para dar al lector una mejor percepción para el planteamiento correcto de los problemas. En todo el texto se usan unidades o símbolos SI (por ejemplo L, mL, mol y s). Se introducen los conceptos de normalidad y equivalentes, pero permanece el énfasis en la molaridad y los moles. La presentación de normalidad se hace de manera que permite ignorarla si el instructor decide no revisarla.

Los Problemas y las Referencias se agrupan por tema para facilitar su asignación. Las referencias se han actualizado ampliamente, y se han agregado numerosos problemas nuevos. Hay 673 preguntas y problemas para que el estudiante practique al responderlos.

Se introdujeron varios temas nuevos, tales como:

- Estadística de pequeños grupos de datos
- Estadística de muestreo
- Procedimiento sistemático para cálculos de equilibrio (balance de masa y cargas)
- Equilibrios heterogéneos
- Diagramas logarítmicos para describir especies de equilibrios múltiples (ahora se introduce la preparación de éstos usando hojas de trabajo).
- Espectrómetros de matriz de diodos
- Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier
- Espectroscopía de IR cercano
- Sensores de fibra óptica
- Cromatografía de gases: Espectrometría de masas

Asimismo:

- Se introdujeron hojas de trabajo Excel, que se usan en todo el texto para realizar cálculos, análisis estadísticos y gráficas.

Muchas curvas de titulación se derivan usando hojas de trabajo, así como los cálculos de valores α y las gráficas de curvas α -pH y de diagramas logarítmicos de concentración. Las presentaciones en hojas de trabajo se dan de manera que el usuario perciba con facilidad su configuración. Para realizar los cálculos mediante las hojas de trabajo se introducen las fórmulas en celdas específicas; por ejemplo, la celda B11 puede contener una fórmula para calcular la relación de los números introducidos en las celdas A2 y A3, y la fórmula es ($=A2/A3$). La respuesta aparece en la celda B11, donde se introdujo la fórmula. Las celdas que contienen fórmulas están resaltadas en **negritas**. Por lo general, el usuario tiene que hacer ingeniería en reversa con los datos introducidos en las celdas para determinar las ecuaciones a partir de las cuales se derivaron; por ejemplo, la ecuación que divide un número entre otro para obtener la fracción. Esto es muy engorroso para ecuaciones complicadas. Para evitar esto, las ecuaciones reales que se usaron para derivar las fórmulas de celda se dan en la sección de documentación bajo las configuraciones de las hojas de trabajo; la fórmula que se debe introducir en la celda con número identificado se da exactamente debajo de la ecuación. El lector entenderá y apreciará mejor esto cuando comience a estudiar el uso de las hojas de trabajo.

- Incluye un capítulo sobre buenas prácticas de laboratorio: “Certeza de calidad de las mediciones analíticas”.

Este aspecto de la práctica de la química analítica se ha vuelto cada vez más importante, ya que los organismos oficiales, con la finalidad de establecer políticas o vigilar su cumplimiento, han implantado lineamientos más complejos y exigentes para asegurar que las mediciones analíticas sean precisas. Cualquier químico analítico que inicia, se dará cuenta de lo importante que es para un empleador que el aspirante conozca estos lineamientos. Este capítulo sirve como introducción y referencia a las prácticas actuales, e incluye:

- Validación de métodos analíticos
- Aseguramiento de calidad
- Acreditación de laboratorios
- Registros electrónicos y firmas electrónicas
- Capítulo sobre Genómica y Proteómica

La química analítica desempeñó un papel clave en la realización del histórico Proyecto del Genoma Humano. El lector debe saber qué es eso. Las tecnologías se han vuelto rutina para el secuenciamiento de DNA de organismos complejos, para la ciencia forense, etc. Ahora se avanza en el terreno del perfilamiento de proteínas (proteómica), un emprendimiento analítico aún más desafiante, y el libro da una introducción a esta nueva disciplina. Este capítulo trata de:

- El Proyecto del Genoma Humano
- Cómo están secuenciados los genes
- La reacción de la cadena de polimerasa (PMR)
- Los chips de ADN
- PÁGINA 2-D y MALDI-TOF para perfilamiento de proteínas

Se incluyen a lo largo del texto los siguientes temas:

- Calibración de equipo de vidrio
- Extracción y digestión acelerada y en microondas
- Electrodo ISFET de estado sólido
- Bases de datos espectrales, disponibles en Internet: comerciales y de libre acceso
- Extracción en fase sólida ampliada (SPE); microextracción en fase sólida (SPME)
- Nomenclatura de cromatografía: términos y símbolos recomendados por IUPAC
- Teoría de la eficiencia de la columna cromatográfica ampliada.
- Software de simulación de cromatografía, para desarrollo del método
- Columnas capilares para cromatografía de gases (CG): sección actualizada y ampliada.
- Análisis de CG de inyector de espacio de cabeza, desorción térmica y de purga y trampa
- Cromatografía de gases y líquidos rápida
- Cromatografía de líquidos de alta eficiencia-espectrometría de masas (HPLC-MS)
- Analizadores de masas para CG-MS Y CL-MS
- Fases estacionarias de HPLC actualizadas; columnas de conducto estrecho para alta sensibilidad
- Electroforesis capilar ampliada; electrocromatografía capilar

EXPERIMENTOS

Hay 40 experimentos que ilustran la mayor parte de las técnicas de medición que se presentan en el texto. Éstos se encuentran agrupados por temas. Cada uno contiene una descripción de los principios y las reacciones químicas pertinentes, de modo que el lector podrá adquirir una visión general de qué es lo que se analiza, y cómo. Se dan listas de las soluciones y reactivos que hay que preparar antes de cada experimento, de manera que se puedan realizar eficientemente; el instructor habrá preparado muchas de estas soluciones y muchos de estos reactivos. Los experimentos están diseñados, en la medida de lo posible, para evitar el uso de asbesto, cloroformo, tetracloruro de carbono y benceno, de conformidad con los requisitos de salud y seguridad. Todos los experimentos, especialmente los volumétricos, se han diseñado para reducir al mínimo el desperdicio de productos químicos, preparando los volúmenes mínimos de reactivos, como los reactivos de titulación, que se necesitan para llevar a cabo el experimento.

Nuevos. Se incluye un nuevo experimento de titulación en microescala, suministrado por el profesor John Richardson de la Universidad Estatal de Shippensburg, para el análisis de muestras de agua dura (experimento 18). Las herramientas y las técnicas que se usan para ese experimento se podrán usar para diseñar experimentos similares para otras titulaciones, si así se desea. (¡Si el instructor y los estudiantes exploran esta posibilidad, el autor podría incluir su experimento en la siguiente edición!). Se agregan dos **experimentos en equipo** (39 y 40), para ilustrar los principios que se presentan en el capítulo 4 sobre validación estadística. Uno es acerca de la validación de método y control de calidad, en el cual diferentes miembros de los equipos realizan diferentes partes de la validación para un experimento elegido. El otro es acerca de la prueba de competencia, en el cual se calculan los valores z para ver qué tan bueno es el desempeño.

Hojas de trabajo. Se alienta al estudiante (en realidad se le dan instrucciones) para que use las hojas de trabajo en sus experimentos, para preparar las curvas de calibración y para realizar análisis estadísticos de los resultados experimentales.

AGRADECIMIENTOS

La producción de este texto implicó la asistencia y la pericia de numerosas personas. Agradecimientos especiales, primero, a los usuarios del texto que han contribuido con comentarios y sugerencias para cambios y mejoras; estos comentarios y sugerencias son siempre bienvenidos. Varios colegas revisaron el texto y el manuscrito, y han sido de gran ayuda sus sugerencias específicas, que fueron tomadas en cuenta a la hora de hacer los cambios. Ellos, naturalmente, expresan algunas veces puntos de vista opuestos sobre algún tema o la ubicación de un capítulo o sección; pero en forma colectiva han asegurado un resultado casi óptimo, y espero que los lectores encuentren su estudio fácil y agradable. Va una mención especial para los profesores Dennis Anjo (Universidad del Estado de California en Long Beach), Kevin Chambliss (Universidad Baylor), Michael DeGrandpre (Universidad de Montana), Jinmo Huang (el Colegio de Nueva Jersey), Ira Krull (Universidad del Noreste), Gary Long y Harold McNair (Tecnológico de Virginia), Jody Redpenning (Universidad de Nebraska), John Richardson y Thomas Schroeder (Universidad Estatal de Shippensburg), Benjamin Rusiloski (Universidad del Estado de Delaware), James Rybarczyk (Universidad Estatal de Ball), Cheryl Klein Stevens (Universidad Xavier de Louisiana), y Philip Voegel (Universidad Estatal del Medio Oeste). El profesor Norman Dovichi (Universidad de Washington) proporcionó información valiosa para el capítulo 25 sobre genómica y proteómica. Y gracias a Mac Carter por su genialidad en computación, y a Sheila Parker por ayudarme a mantener la cabeza fuera del agua.

Mi esposa y mejor amiga, Sue, ha sido mi más fuerte apoyo durante este ejercicio de dos años. Ella mantuvo el proceso dentro de programa por su eficiente traducción y tecleado de mis páginas escritas a mano. ¡Gracias, gracias, gracias!

GARY D. CHRISTIAN
Seattle, Washington,
Estados Unidos

“Enseñar es aprender dos veces” —Joseph Joubert

Contenido

Capítulo 1

OBJETIVOS ANALÍTICOS, O: LO QUE HACEN LOS QUÍMICOS ANALÍTICOS

1

- 1.1 ¿Qué es la ciencia analítica?, 1
- 1.2 Análisis cualitativo y cuantitativo:
¿a qué se refiere cada uno?, 2
- 1.3 Comencemos: los procesos analíticos, 5
- 1.4 Validación de un método: ¿se debe demostrar
que funciona!, 14
- 1.5 Intervalo: ¿de qué tamaño debe ser la
muestra?, 14
- 1.6 Algunos sitios útiles en la red, 15

Capítulo 2

HERRAMIENTAS Y OPERACIONES BÁSICAS DE LA QUÍMICA ANALÍTICA

20

- 2.1 Cuaderno de anotaciones del laboratorio:
el registro crítico, 20
- 2.2 Materiales y reactivos de laboratorio, 23
- 2.3 La balanza analítica: herramienta
indispensable, 24
- 2.4 Cristalería volumétrica: también es
indispensable, 32
- 2.5 Preparación de soluciones básicas estándar, 43
- 2.6 Preparación de soluciones ácidas estándar, 44
- 2.7 Otros aparatos. Manejo y tratamiento de las
muestras, 44
- 2.8 Calcinación de precipitados. Análisis
gravimétrico, 51
- 2.9 Obtención de la muestra. ¿Es sólida, líquida o
gaseosa?, 52
- 2.10 Operaciones de secado y preparación
de una solución del analito, 53
- 2.11 Seguridad de laboratorio, 60

Capítulo 3

MANEJO DE DATOS Y HOJAS DE CÁLCULO EN QUÍMICA ANALÍTICA

65

- 3.1 Exactitud y precisión: hay diferencia, 65
- 3.2 Los errores determinados son sistemáticos, 66
- 3.3 Los errores indeterminados son aleatorios, 67
- 3.4 Cifras significativas: ¿cuántos números
se necesitan?, 68
- 3.5 Redondeo, 73
- 3.6 Modos de expresar la exactitud, 73
- 3.7 Desviación estándar: la operación estadística
más importante, 74
- 3.8 Uso de las hojas de cálculo en química
analítica, 78
- 3.9 La propagación de errores no sólo es
aditiva, 82
- 3.10 Cifras significativas y propagación
del error, 88
- 3.11 Gráficas de control, 89
- 3.12 El límite de confianza. ¿Qué tan seguro
se está?, 90
- 3.13 Pruebas de significancia. ¿Hay diferencia?, 92
- 3.14 Rechazo de un resultado: la prueba Q , 98
- 3.15 Estadística para conjuntos pequeños
de datos, 100
- 3.16 Mínimos cuadrados lineales. Cómo graficar
la línea recta correcta, 102
- 3.17 Coeficiente de correlación y coeficiente
de determinación, 106
- 3.18 Uso de hojas de cálculo para graficar curvas
de calibración, 107
- 3.19 Pendiente, intersección y coeficiente
de determinación, 109
- 3.20 LINEST para estadísticas adicionales, 110
- 3.21 Paquetes de software de estadística, 111

- 3.22 Límites de detección: el cero no existe, 111
 3.23 Estadística del muestreo. ¿Cuántas muestras?
 ¿De qué tamaño?, 113

Capítulo 4

BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO: CERTEZA DE CALIDAD DE LAS MEDICIONES ANALÍTICAS

124

- 4.1 ¿Qué son las buenas prácticas de laboratorio?, 125
 4.2 Validación de métodos analíticos, 126
 4.3 Certeza de calidad. ¿Todavía funciona el método?, 133
 4.4 Acreditación de laboratorios, 134
 4.5 Registros electrónicos y firmas electrónicas: CFR 21, parte 11, 135
 4.6 Algunas organizaciones oficiales, 136

Capítulo 5

CÁLCULOS ESTEQUIOMÉTRICOS: EL CABALLO DE BATALLA DEL ANALISTA

141

- 5.1 Repaso de conocimientos fundamentales, 141
 5.2 ¿Cómo se expresan las concentraciones de las soluciones?, 144
 5.3 Expresiones de resultados analíticos: hay muchas formas, 152
 5.4 Análisis volumétrico: ¿cómo se hacen los cálculos estequiométricos?, 158
 5.5 Cálculos volumétricos. Uso de la molaridad, 160
 5.6 Normalidad: una forma diferente de hacer cálculos volumétricos, 172
 5.7 Título: cómo hacer cálculos de rutina rápidos, 179
 5.8 Relaciones de pesos: son necesarias para los cálculos gravimétricos, 180

Capítulo 6

CONCEPTOS GENERALES DE EQUILIBRIO QUÍMICO

189

- 6.1 Reacciones químicas: el concepto de rapidez, 189
 6.2 Tipos de equilibrio, 191

- 6.3 La energía libre de Gibbs y la constante de equilibrio, 191
 6.4 Principio de Le Châtelier, 192
 6.5 Efectos de la temperatura sobre las constantes de equilibrio, 193
 6.6 Efectos de la presión sobre los equilibrios, 193
 6.7 Efecto de las concentraciones en los equilibrios, 193
 6.8 Catalizadores, 193
 6.9 Finalización de las reacciones, 194
 6.10 Constantes de equilibrio para especies que se disocian o se combinan: electrólitos débiles y precipitados, 194
 6.11 Cálculos con constantes de equilibrio. ¿Cuánto está en equilibrio?, 195
 6.12 Efecto del ion común: desplazamiento del equilibrio, 202
 6.13 Procedimiento sistemático para cálculos de equilibrio: cómo resolver cualquier problema de equilibrio, 203
 6.14 Equilibrios heterogéneos: los sólidos no cuentan, 209
 6.15 Actividad y coeficientes de actividad: la concentración no lo explica todo, 210
 6.16 Efecto del ion diverso: constante de equilibrio termodinámico y coeficientes de actividad, 214

Capítulo 7

EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE

219

- 7.1 Teorías ácido-base: no todas se crearon igual, 219
 7.2 Equilibrios ácido-base en agua, 221
 7.3 La escala de pH, 224
 7.4 El pH a temperaturas elevadas: pH de la sangre, 227
 7.5 Ácidos y bases débiles: ¿cuál es el pH?, 228
 7.6 Sales de ácidos y bases débiles: no son neutras, 230
 7.7 Amortiguadores: conservación del pH constante (o casi), 234
 7.8 Ácidos polipróticos y sus sales, 241
 7.9 Amortiguadores fisiológicos: nos mantienen vivos, 251
 7.10 Amortiguadores para mediciones biológicas y clínicas, 253

- 7.11 Efecto de ion diverso en ácidos y bases. K_a° y K_b° : las sales cambian el pH, 254
- 7.12 Diagramas logarítmicos de concentración: cómo visualizar grandes cambios de concentración, 255

Capítulo 8

TITULACIONES ÁCIDO-BASE

266

- 8.1 Ácido fuerte y base fuerte: las titulaciones fáciles, 266
- 8.2 Detección del punto final: indicadores, 270
- 8.3 Soluciones estándar ácidas y básicas, 272
- 8.4 Ácido débil contra base fuerte: un poco menos sencillo, 272
- 8.5 Base débil contra ácido fuerte, 278
- 8.6 Titulación de carbonato de sodio: una base diprótica, 279
- 8.7 Titulación de ácidos polipróticos, 281
- 8.8 Mezclas de ácidos o bases, 284
- 8.9 Titulación de aminoácidos: éstos son ácidos y bases, 286
- 8.10 Análisis de Kjeldahl: determinación de proteínas, 287

Capítulo 9

REACCIONES Y TITULACIONES COMPLEJOMÉTRICAS

294

- 9.1 Complejos y constantes de formación: ¿qué tan estables son los complejos?, 294
- 9.2 Quelatos: EDTA, lo máximo en agentes quelantes para metales, 297
- 9.3 Curvas de titulación metal-EDTA, 303
- 9.4 Detección del punto final: los indicadores son agentes quelantes, 305
- 9.5 Otros usos de los complejos, 307
- 9.6 Fracción de especies disociadas en complejos poliligandos: valores β , ¿cuánto de cada especie?, 308

Capítulo 10

ANÁLISIS GRAVIMÉTRICO Y EQUILIBRIOS DE PRECIPITACIÓN

313

- 10.1 Cómo realizar un análisis gravimétrico satisfactorio, 313
- 10.2 Cálculos gravimétricos. ¿Cuánto analito hay? 320

- 10.3 Ejemplos de análisis gravimétrico, 324
- 10.4 Precipitados orgánicos, 325
- 10.5 Equilibrios de precipitación: el producto de solubilidad, 326
- 10.6 Efecto del ion diverso en la solubilidad: K_{ps}° y los coeficientes de actividad, 332

Capítulo 11

REACCIONES DE PRECIPITACIÓN Y TITULACIONES

339

- 11.1 Efecto de la acidez en la solubilidad de los precipitados: producto de solubilidad condicional, 339
- 11.2 Procedimiento de balance de masas para equilibrios múltiples, 341
- 11.3 Efecto del complejamiento en la solubilidad: producto de solubilidad condicional, 345
- 11.4 Titulaciones de precipitación, 346

Capítulo 12

CELAS ELECTROQUÍMICAS Y POTENCIALES DE ELECTRODO

354

- 12.1 ¿Qué son las reacciones redox?, 354
- 12.2 Celdas electroquímicas: lo que usan los químicos electroanalíticos, 355
- 12.3 Ecuación de Nernst: efectos de las concentraciones sobre los potenciales, 361
- 12.4 Potencial formal: se usa para condiciones definidas no estándar, 365
- 12.5 Limitaciones de los potenciales de electrodo, 366

Capítulo 13

ELECTRODOS POTENCIOMÉTRICOS Y POTENCIOMETRÍA

369

- 13.1 Electrodo metálico para medir el catión del metal, 369
- 13.2 Electrodo metal-sal metálica para medir el anión de la sal, 371
- 13.3 Electrodo redox y metales inertes, 373
- 13.4 Celdas voltaicas sin unión líquida: para exactitud máxima, 374
- 13.5 Celdas voltaicas con unión líquida: el tipo práctico, 375
- 13.6 Electrodo de referencia: el electrodo saturado de calomel, 378
- 13.7 Medición del potencial, 380

- 13.8 Determinación de concentraciones a partir de mediciones de potencial, 382
- 13.9 Potencial residual de unión líquida: debe ser mínimo, 382
- 13.10 Exactitud de mediciones potenciométricas directas. Error de voltaje contra error de actividad, 383
- 13.11 Electrodo de vidrio para pH: el caballo de batalla de los químicos, 384
- 13.12 Amortiguadores estándar. Referencia para mediciones de pH, 389
- 13.13 Exactitud de las mediciones de pH, 391
- 13.14 Uso del medidor de pH. ¿Cómo opera?, 391
- 13.15 Medición del pH de la sangre. La temperatura es importante, 393
- 13.16 Mediciones de pH en disolventes no acuosos, 394
- 13.17 Electrodo selectivos de iones, 395
- 13.18 Electrodo ISFET de estado sólido, 408

Capítulo 14

TITULACIONES REDOX Y POTENCIOMÉTRICAS

414

- 14.1 Primero: balancear la reacción de reducción-oxidación, 414
- 14.2 Cálculo de la constante de equilibrio de una reacción. Es necesario para calcular los potenciales del punto de equivalencia, 415
- 14.3 Cálculo de curvas de titulación redox, 418
- 14.4 Detección visual del punto final, 422
- 14.5 Titulaciones en las que participa el yodo: yodimetría y yodometría, 423
- 14.6 Titulaciones con otros agentes oxidantes, 429
- 14.7 Titulaciones con otros agentes reductores, 430
- 14.8 Preparación de la solución: ajuste del analito en el estado correcto de oxidación antes de la titulación, 431
- 14.9 Titulaciones potenciométricas (potenciometría indirecta), 433

Capítulo 15

VOLTAMPEROMETRÍA Y SENSORES ELECTROQUÍMICOS

446

- 15.1 Voltamperometría, 446
- 15.2 Electrodo amperométrico. Medición de oxígeno, 451
- 15.3 Sensores electroquímicos: electrodos químicamente modificados, 452
- 15.4 Ultramicroelectrodos, 454

Capítulo 16

MÉTODOS ESPECTROQUÍMICOS

457

- 16.1 Interacción de la radiación electromagnética con la materia, 458
- 16.2 Espectros electrónicos y estructura molecular, 464
- 16.3 Absorción en infrarrojo y estructura molecular, 469
- 16.4 Pruebas no destructivas con espectrometría en infrarrojo cercano, 470
- 16.5 Bases de datos de espectros: identificación de incógnitas, 472
- 16.6 Disolventes en espectrometría, 473
- 16.7 Cálculos cuantitativos, 474
- 16.8 Instrumentación espectrométrica, 483
- 16.9 Tipos de instrumentos, 495
- 16.10 Espectrómetros de serie de diodos. Obtención de todo el espectro al instante, 498
- 16.11 Espectrómetros de infrarrojo por transformada de Fourier, 499
- 16.12 Instrumentos para IR cercano, 501
- 16.13 Error espectrométrico en las mediciones, 501
- 16.14 Desviaciones respecto a la ley de Beer, 503
- 16.15 Fluorimetría, 505
- 16.16 Sensores ópticos: fibras ópticas, 511

Capítulo 17

MÉTODOS DE ESPECTROMETRÍA ATÓMICA

522

- 17.1 Espectrometría por emisión de flama, 522
- 17.2 Distribución entre los estados fundamental y excitado: la mayor parte de los átomos se encuentra en estado fundamental, 524
- 17.3 Espectrofotometría de absorción atómica, 525
- 17.4 Estándar interno y calibración por adición de estándar, 533

Capítulo 18

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES Y EN FASE SÓLIDA

541

- 18.1 Coeficiente de distribución, 541
- 18.2 Relación de distribución, 542
- 18.3 Porcentaje extraído, 543
- 18.4 Extracción de metales con disolventes, 544

18.5 Extracción acelerada y con microondas, 546

18.6 Extracción en fase sólida, 547

Capítulo 19

CROMATOGRAFÍA: PRINCIPIOS Y TEORÍA

555

19.1 Principios de las separaciones cromatográficas, 556

19.2 Clasificación de las técnicas cromatográficas, 558

19.3 Teoría de la eficiencia de la columna cromatográfica, 560

19.4 Programas de simulación de cromatografía, 570

19.5 Sin costo: bases de datos de compañías con cromatogramas que se pueden consultar, 571

Capítulo 20

CROMATOGRAFÍA DE GASES

574

20.1 Realización de separaciones con cromatografía de gases, 574

20.2 Columnas para cromatografía de gases, 577

20.3 Detectores para cromatografía de gases, 584

20.4 Selección de la temperatura, 587

20.5 Mediciones cuantitativas, 589

20.6 Análisis del espacio de cabeza, 590

20.7 Desorción térmica, 591

20.8 Purga y captura, 591

20.9 Pequeña y rápida, 592

20.10 Cromatografía de gases-espectrometría de masas, 593

Capítulo 21

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

604

21.1 Cromatografía de líquidos de alta eficiencia, 604

21.2 Cromatografía por exclusión de tamaño, 620

21.3 Cromatografía de intercambio iónico, 622

21.4 Cromatografía iónica, 625

21.5 Cromatografía de capa delgada, 627

21.6 Electroforesis, 631

21.7 Electroforesis capilar, 632

Capítulo 22

MÉTODOS CINÉTICOS DE ANÁLISIS

643

22.1 Cinética: las bases, 643

22.2 Enzimas catalizadoras, 646

Capítulo 23

AUTOMATIZACIÓN EN LAS MEDICIONES

660

23.1 Principios de la automatización, 660

23.2 Instrumentos automatizados: control de procesos, 661

23.3 Instrumentos automáticos, 664

23.4 Análisis por inyección de flujo, 665

23.5 Microprocesadores y computadoras, 674

Capítulo 24

QUÍMICA CLÍNICA

678

24.1 Composición de la sangre, 678

24.2 Toma y conservación de las muestras, 680

24.3 Análisis clínicos: determinaciones frecuentes, 681

24.4 Inmunoensayos, 683

Capítulo 25

EL SIGLO DEL GEN. GENÓMICA Y PROTEÓMICA: SECUENCIACIÓN DE ADN Y PERFIL DE PROTEÍNAS

693

25.1 ¿De qué estamos hechos?, 693

25.2 ¿Qué es el ADN?, 695

25.3 El Proyecto del Genoma Humano, 695

25.4 ¿Cómo se secuencian los genes?, 697

25.5 Replicación del ADN: la reacción en cadena de la polimerasa, 697

25.6 Plásmidos y cromosomas bacterianos artificiales (BAC), 699

25.7 Secuenciación de ADN, 700

25.8 Secuenciación de escopeta de todo el genoma, 703

25.9 Polimorfismos de un solo nucleótido, 703

25.10 Chips de ADN, 704

25.11 Borrador del genoma, 705

25.12 Genomas y proteómica: el resto de la historia, 705

Capítulo 26

MUESTREO Y ANÁLISIS DEL MEDIO AMBIENTE 712

- 26.1 Obtención de una muestra adecuada, 712
- 26.2 Toma de muestras de aire y su análisis, 713
- 26.3 Recolección y análisis de muestras de agua, 720
- 26.4 Muestreo de suelo y sedimentos, 722
- 26.5 Preparación de muestras para trazas de sustancias orgánicas, 722
- 26.6 Sitios terrestres contaminados. ¿Qué se debe analizar?, 723
- 26.7 Métodos EPA y análisis basados en el desempeño, 723

EXPERIMENTOS 727

USO DE APARATOS

- Experimento 1 Uso de la balanza analítica, 727
- Experimento 2 Uso de pipetas y buretas, y análisis estadísticos, 729

GRAVIMETRÍA

- Experimento 3 Determinación gravimétrica de cloruros, 730
- Experimento 4 Determinación gravimétrica de SO_3 en un sulfato soluble, 733
- Experimento 5 Determinación gravimétrica de níquel en aleación de nicromo, 735

TITULACIONES ÁCIDO-BASE

- Experimento 6 Determinación de hidrógeno sustituible en un ácido titulando con hidróxido de sodio, 736
- Experimento 7 Determinación de la alcalinidad total del carbonato de sodio comercial, 738
- Experimento 8 Determinación de bicarbonato en la sangre por retrotitulación, 740

TITULACIÓN COMPLEJOMÉTRICA

- Experimento 9 Determinación de la dureza del agua con EDTA, 742

TITULACIONES CON PRECIPITACIÓN

- Experimento 10 Determinación de plata en una aleación: método de Volhard, 744

- Experimento 11 Determinación de cloruro en un cloruro soluble: método de Fajans, 745

MEDICIONES POTENCIOMÉTRICAS

- Experimento 12 Determinación del pH de champú para pelo, 746
- Experimento 13 Determinación potenciométrica de fluoruro en agua potable usando un electrodo selectivo de iones fluoruro, 748

TITULACIONES DE REDUCCIÓN-OXIDACIÓN

- Experimento 14 Análisis de una aleación o mineral de hierro titulando con dicromato de potasio, 750
- Experimento 15 Análisis de una solución comercial de hipoclorito o de peróxido por titulación yodométrica, 753
- Experimento 16 Determinación yodométrica de cobre, 755
- Experimento 17 Determinación de antimonio por titulación con yodo, 757
- Experimento 18 Análisis cuantitativo, en microescala, de muestras de agua dura mediante titulación indirecta redox con permanganato de potasio, 759

TITULACIONES POTENCIOMÉTRICAS

- Experimento 19 Titulación de pH de carbonato de sodio comercial, 762
- Experimento 20 Titulación potenciométrica de una mezcla de cloruro y yoduro, 763

MEDICIONES ESPECTROQUÍMICAS

- Experimento 21 Determinación espectrofotométrica de hierro, 765
- Experimento 22 Determinación de nitrógeno de nitratos en agua, 766
- Experimento 23 Determinación espectrofotométrica de plomo en hojas, usando extracción con disolventes, 767
- Experimento 24 Determinación espectrofotométrica de fósforo inorgánico en el suero, 769
- Experimento 25 Determinación espectrofotométrica de manganeso y cromo en una mezcla, 770

- Experimento 26 Determinación espectrofotométrica en el ultravioleta de aspirina, fenacetina y cafeína en tabletas de APC, usando extracción con disolventes, 773
- Experimento 27 Determinación por infrarrojo de una mezcla de isómeros de Xileno, 774
- Experimento 28 Determinación fluorométrica de riboflavina (Vitamina B₂), 775

MEDICIONES DE ESPECTROMETRÍA ATÓMICA

- Experimento 29 Determinación de calcio por espectrofotometría de absorción atómica, 776
- Experimento 30 Determinación espectrométrica de sodio por emisión de flama, 778

CROMATOGRAFÍA

- Experimento 31 Separación cromatográfica de aminoácidos en capa delgada, 780
- Experimento 32 Análisis de una mezcla terciaria con cromatografía de gases, 781
- Experimento 33 Análisis cualitativo y cuantitativo de vitamina C en jugos de frutas, usando cromatografía de líquidos de alta eficiencia, 783
- Experimento 34 Análisis de analgésicos usando cromatografía de líquidos de alta eficiencia, 784

ANÁLISIS CINÉTICO

- Experimento 35 Determinación enzimática de glucosa en sangre, 785

ANÁLISIS POR INYECCIÓN DE FLUJO

- Experimento 36 Caracterización de los parámetros físicos de un sistema de inyección al flujo, 786
- Experimento 37 Análisis por inyección al flujo (FIA) con una sola línea: determinación espectrofotométrica de cloruros, 789
- Experimento 38 Análisis por inyección al flujo (FIA) con tres líneas: determinación espectrofotométrica de fosfato, 790

EXPERIMENTOS EN EQUIPO

- Experimento 39 Estudio de validación de método y de control de la calidad, 793
- Experimento 40 Prueba de aptitud: determinación de valores de z de los experimentos en clase, 795

APÉNDICE A LITERATURA DE QUÍMICA ANALÍTICA 796

APÉNDICE B REPASO DE OPERACIONES MATEMÁTICAS: EXPONENTES, LOGARITMOS Y LA FÓRMULA CUADRÁTICA 800

APÉNDICE C TABLAS DE CONSTANTES 804

- Tabla C.1 Constantes de disociación de ácidos, 804
- Tabla C.2 Constantes de disociación de bases, 805
- Tabla C.3 Constantes de producto de solubilidad, 806
- Tabla C.4 Constantes de formación de algunos quelatos metálicos con EDTA, 807
- Tabla C.5 Algunos potenciales de electrodo estándar y formales de reducción, 808

APÉNDICE D SEGURIDAD EN EL LABORATORIO 810

APÉNDICE E TABLAS PERIÓDICAS EN LA RED 811

APÉNDICE F RESPUESTAS PARA LOS PROBLEMAS DE NÚMERO PAR 812

ÍNDICE 818

Capítulo uno

OBJETIVOS ANALÍTICOS, O: LO QUE HACEN LOS QUÍMICOS ANALÍTICOS



“A menos que nuestro conocimiento se mida y se exprese en números, no significa mucho.”

—Lord Kelvin

La química analítica se ocupa de la caracterización química de la materia y de la respuesta a dos importantes preguntas: qué es (el aspecto cualitativo) y en qué cantidad se presenta (el cuantitativo). Todo lo que se usa o consume se compone de productos químicos, y el conocimiento de la composición química de muchas sustancias es importante para la vida cotidiana. La química analítica desempeña un papel importante en casi todos los aspectos de la química: agrícola, clínica, ambiental, forense, de manufactura, metalúrgica y farmacéutica. El contenido de nitrógeno de un fertilizante determina su valor. Los alimentos se deben analizar para detectar contaminantes (por ejemplo, residuos de pesticidas) y para determinar su contenido de nutrientes esenciales (por ejemplo, el contenido vitamínico). El aire de las ciudades se debe analizar para determinar el contenido de monóxido de carbono. Se ha de vigilar la glucosa en la sangre de los diabéticos (y, de hecho, la mayor parte de las enfermedades se diagnostican mediante el análisis químico). La presencia de rastros de pólvora en la mano de un acusado de homicidio prueba que disparó un arma. La calidad de los productos manufacturados depende a menudo de que las proporciones químicas sean las adecuadas, y la medición de los componentes es una parte necesaria del **control de calidad**. El contenido de carbono en el acero determina su calidad. La pureza de los medicamentos determina su eficacia.

Todo está hecho de productos químicos. Los químicos analíticos determinan cuáles y cuánto.

1.1 ¿Qué es la ciencia analítica?

La descripción anterior de la química analítica da una visión general de esta disciplina. Ha habido varios intentos para definirla de manera más específica. Charles N. Reilley solía decir: “La química analítica es lo que hacen los químicos analíticos” (Ref. 2). La disciplina se ha extendido más allá de los límites de la química, y muchos han preconizado el uso del nombre *ciencia analítica* para describirla. Este término se emplea en un informe de la National Science Foundation sobre los talleres de “Desarrollos curriculares en ciencias

analíticas”, pero se queda corto cuando se trata de reconocer el papel de su desarrollo y aplicación. Una sugerencia es usar el término *ciencia y tecnología analíticas* (Ref. 3).

La Federación de Sociedades Químicas Europeas patrocinó en 1992 un concurso para definir la química analítica, y se seleccionó la siguiente sugerencia de K. Cammann [*Fresenius' J. Anal. Chem.*, **343** (1992):812-813].

La química analítica proporciona los métodos y las herramientas necesarios para comprender nuestro mundo material... para responder a cuatro preguntas básicas acerca de una muestra de material:

- ¿Qué?
- ¿Dónde?
- ¿Cuánto?
- ¿Qué disposición, estructura o forma?

La División de Química Analítica de la American Chemical Society da una definición amplia de la química analítica, que se puede encontrar en su sitio de red (www.acs-analytical.duq.edu/whatisanalyticalchem.html). En seguida se reproduce esta definición casi en su totalidad:

La química analítica continuamente busca medios mejorados para medir la composición química de los materiales naturales y artificiales. Las técnicas de esta ciencia se usan para identificar las sustancias que pueden estar presentes en un material y para determinar las cantidades exactas de la sustancia identificada.

Los químicos analíticos trabajan para mejorar la confiabilidad de las técnicas existentes a fin de satisfacer las exigencias de mejores mediciones químicas que surgen constantemente en nuestra sociedad. Adaptan metodologías probadas a nuevas clases de materiales o para responder a nuevas preguntas acerca de su composición y sus mecanismos de reactividad. Investigan con el fin de descubrir principios completamente nuevos de medición y están a la vanguardia en la utilización de los principales descubrimientos, como el láser y los dispositivos de microchips para propósitos prácticos. Sus esfuerzos satisfacen las necesidades en muchas áreas:

- En *medicina*, la química analítica es la base de las pruebas de laboratorio clínico que ayudan a los médicos a diagnosticar la enfermedad y a graficar el progreso de la recuperación.
- En la *industria*, la química analítica brinda los medios para probar las materias primas y para asegurar la calidad de los productos terminados en los que la composición química es de primordial importancia. Para analizar productos de uso doméstico, como combustibles, pinturas, fármacos, etc., antes de venderlos a los consumidores se siguen procedimientos desarrollados por químicos analíticos.
- La *calidad ambiental* a menudo se evalúa mediante pruebas para detectar la presencia sospechada de contaminantes, usando técnicas de química analítica.
- El valor nutritivo de los *alimentos* se determina mediante el análisis químico de los componentes principales, como proteínas y carbohidratos, así como de los microcomponentes, como las vitaminas y los minerales. Incluso las calorías de un alimento se calculan a menudo a partir de su análisis químico.

Los químicos analíticos también hacen importantes contribuciones a campos tan diversos como la ciencia forense, la arqueología o la ciencia espacial.

1.2 Análisis cualitativo y cuantitativo: ¿a qué se refiere cada uno?

El análisis cualitativo se refiere a qué productos químicos están presentes; el análisis cuantitativo indica en qué cantidades.

La disciplina de la química analítica consiste en el **análisis cualitativo** y el **análisis cuantitativo**. El primero se ocupa de la identificación de los elementos, los iones o los com-

¿Cómo se originó la química analítica?

Es muy buena pregunta. En realidad, las herramientas y la medición química básica son tan antiguas como la más ancestral historia registrada. Hay referencias del ensayo del oro por fuego en Zacarías 13:9, y el rey de Babilonia se quejó ante el faraón egipcio Amenofis IV (1375-1350 a.C.) de que el oro que había recibido del faraón era “menos que su peso” después de ponerlo en un horno. De hecho, el valor percibido del oro era tal vez un importante incentivo para adquirir conocimiento analítico. Arquímedes (287-212 a.C.) realizó pruebas no destructivas de la corona de oro del rey Hieronte. Colocó en un recipiente lleno de agua trozos de oro y de plata del mismo peso que la corona y midió la cantidad de agua que desplazaba cada objeto. La corona desplazaba una cantidad intermedia entre las correspondientes al oro y la plata, ¡y así probó que la corona no era de oro puro!

La balanza es de origen tan ancestral que en documentos muy antiguos se le atribuía su creación a los dioses. Los babilonios crearon patrones de peso en 2600 a.C., y los consideraron tan importantes que su uso era supervisado por los sacerdotes.

Los alquimistas acumularon el conocimiento químico que formó la base del análisis cuantitativo como lo conocemos en la actualidad. Robert Boyle acuñó el término “analista” en su libro de 1661, *El químico escéptico*. Antoine Lavoisier se ha considerado como el “padre de la química analítica”, debido a los cuidadosos experimentos cuantitativos que realizó sobre la conservación de la masa (usando la balanza analítica). (Lavoisier era en realidad cobrador de impuestos y en su tiempo libre se dedicaba a la ciencia. Fue guillotinado el 8 de mayo de 1793 durante la Revolución Francesa, debido a sus actividades como cobrador de impuestos.)

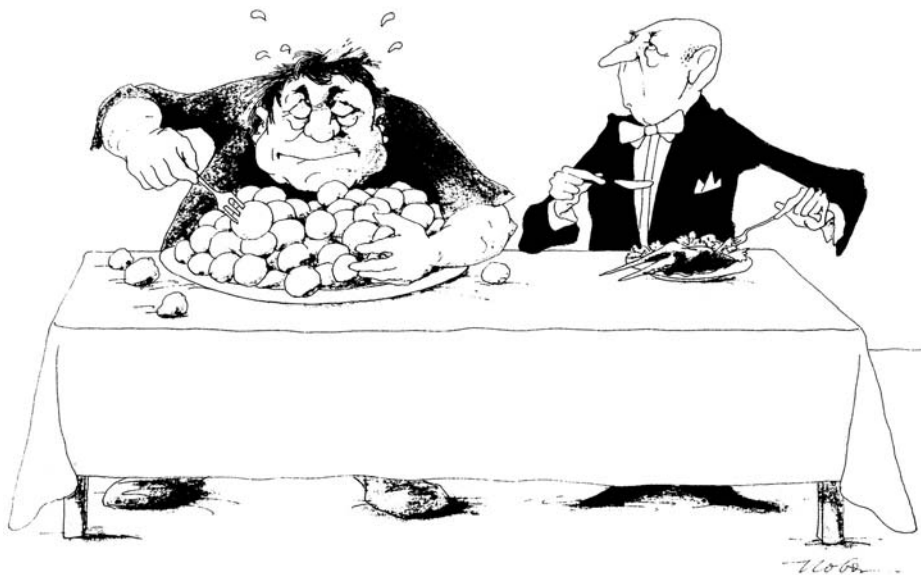
La gravimetría se desarrolló en el siglo XVII, y la titulometría en los siglos XVIII y XIX. Guy Lussac, en 1829, ensayaba la plata mediante titulación ¡con 0.05% de exactitud y precisión relativas!

Los libros de texto de química analítica comenzaron a aparecer en el siglo XIX. Karl Fresenius publicó *Anleitung zur Quantitaven Chemischen Analyse* en Alemania, en 1845. Wilhelm Ostwald publicó, en 1894, un importante texto sobre los fundamentos científicos de la química analítica, titulado *Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie*, y este libro introdujo las explicaciones teóricas de los fenómenos analíticos usando las constantes de equilibrio (gracias a él por el capítulo 6 y las aplicaciones en otros capítulos).

En el siglo XX evolucionaron las técnicas instrumentales. La segunda edición del *Análisis Cuantitativo* de Steven Popoff, en 1927, incluía el electroanálisis, las titulaciones conductimétricas y los métodos colorimétricos. Hoy, por supuesto, la tecnología analítica ha progresado; se ha desarrollado instrumentación más complicada y potente controlada por computadora, y ya existe la capacidad de realizar análisis y mediciones de alta complejidad a concentraciones extremadamente bajas.

En este texto se enseñarán al lector los fundamentos y se le darán las herramientas para resolver la mayor parte de los problemas analíticos. Feliz viaje. Para más información sobre la evolución en esta área, véase la Ref. 7.

puestos presentes en una muestra (puede haber interés en determinar sólo si una sustancia dada está presente), en tanto que el segundo se ocupa de determinar qué cantidad hay presente de uno o más de ellos. La muestra puede ser sólida, líquida, gaseosa o una mezcla. La presencia de residuos de pólvora en una mano por lo general necesita sólo el conocimiento cualitativo y no saber cuánta pólvora hay; pero el precio del carbón se determina por el porcentaje en el contenido de impurezas de azufre.



(Cortesía de Merck KGaA.
Reproducida con autorización.)

Análisis cuantitativo

Análisis cualitativo

Las pruebas cualitativas se pueden realizar mediante reacciones químicas selectivas o con el uso de instrumentos. La formación de un precipitado blanco cuando se agrega una solución de nitrato de plata a una muestra disuelta indica la presencia de cloruro. Ciertas reacciones químicas producen colores que indican la presencia de diversas clases de compuestos orgánicos; por ejemplo, las cetonas. Los espectros infrarrojos proporcionan “huellas digitales” de los compuestos orgánicos o sus grupos funcionales.

Se debe hacer una clara distinción entre los términos **selectivo** y **específico**.

- Una reacción o una prueba *selectiva* es la que puede ocurrir con otras sustancias pero que exhibe un grado de preferencia por la sustancia que interesa.
- Una reacción o prueba *específica* es la que ocurre sólo con la sustancia que interesa.

Por desgracia, pocas reacciones son específicas, aunque muchas exhiben selectividad. La selectividad se puede lograr mediante el uso de varias estrategias. He aquí algunos ejemplos:

- Preparación de muestra (por ejemplo, extracciones, precipitaciones)
- Instrumentación (detectores selectivos)
- Derivatización del componente objetivo (por ejemplo, derivatizar grupos funcionales específicos con reactivos de detección)
- Cromatografía, que proporciona una muy eficiente separación

Para el análisis cuantitativo, con frecuencia se conoce la historia de la composición de la muestra (por ejemplo, se sabe que la sangre contiene glucosa), o bien el analista habrá realizado una prueba cualitativa antes de efectuar el más complicado análisis cuantitativo. Los sistemas actuales de medición química a menudo muestran suficiente selectividad para que una medición cuantitativa también pueda servir como cualitativa. Sin embargo, las pruebas cualitativas simples normalmente son más rápidas que los procedimientos cuantitativos. El análisis cualitativo se compone de dos campos: el inorgánico y el orgánico. El primero se cubre por lo general en los cursos introductorios de química, en tanto que el orgánico se deja para después que el estudiante haya cursado química orgánica.

Pocos análisis son específicos. La selectividad se obtiene mediante la preparación y la medición correctas.

Al comparar el análisis cualitativo con el cuantitativo debe considerarse la secuencia de procedimientos analíticos que se siguen, y un ejemplo de ello son las sustancias prohibidas en los Juegos Olímpicos. La lista de ellas incluye alrededor de 500 componentes activos distintos: estimulantes, esteroides, bloqueadores beta, diuréticos, narcóticos, analgésicos, anestésicos locales y sedantes. Algunos son detectables sólo como metabolitos. Dado que se requiere examinar a gran cantidad de atletas en poco tiempo, no resulta práctico efectuar un estudio cuantitativo detallado para cada uno. Hay tres fases en el análisis: la de selección rápida, la de identificación y la de posible cuantificación. En la fase de selección rápida se prueban rápidamente muestras de orina para detectar la presencia de compuestos que las diferenciarían de muestras “normales”. Las diversas técnicas incluyen inmunoensayos, cromatografía de gases y cromatografía de líquidos. Alrededor del 5% de las muestras suelen indicar la presencia de compuestos desconocidos que pueden o no estar prohibidos, pero es necesario identificarlos. Las muestras con un perfil sospechoso durante la fase de selección se someten a un nuevo ciclo de preparación (quizás hidrólisis, extracción, derivatización), dependiendo de la naturaleza de los compuestos que se han detectado. Luego éstos se identifican mediante una combinación altamente selectiva de cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS, gas chromatography/mass spectrometry). En esta técnica, las mezclas complejas se separan mediante cromatografía de gases y luego se detectan por espectrometría de masas (MS), con lo que se obtienen datos estructurales moleculares sobre los compuestos. Los datos de MS combinados con el tiempo de elución del cromatógrafo de gases dan una alta probabilidad de la presencia de un compuesto dado. La GC/MS es costosa y tardada, de modo que se usa sólo cuando es necesario. Después de la fase de identificación, algunos compuestos se deben cuantificar con precisión, ya que pueden estar presentes en bajos niveles, lo que se consideraría normal, pues pueden provenir, por ejemplo, de alimentos, preparaciones farmacéuticas o esteroides endógenos, y se deben confirmar los niveles elevados. Esto se hace mediante técnicas cuantitativas como la espectrofotometría o la cromatografía de gases.

En este texto se trata principalmente el análisis cuantitativo. Al considerar la aplicación de diferentes técnicas se toman ejemplos de las ciencias biológicas, la química clínica, la química ambiental, aplicaciones de sanidad y seguridad ocupacionales, y de análisis industriales.

En este capítulo se describen brevemente los procesos analíticos. Se dan más detalles en capítulos posteriores.

1.3 Comencemos: los procesos analíticos

En la figura 1.1 se muestran los procesos analíticos generales. El químico analítico debe participar en cada paso. La ocupación del analista en realidad es resolver problemas, un aspecto importante del equipo humano que decide qué, por qué y cómo. En seguida se presentan con más detalle las operaciones unitarias más comunes de la química analítica.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA: ¿QUÉ SE DEBE SABER EN REALIDAD? (NO NECESARIAMENTE TODO)

Antes de que el analista pueda diseñar un procedimiento de análisis, debe saber qué información se necesita, quién la necesita, para qué propósito, y qué tipo de muestra se va a analizar. El analista debe tener buena comunicación con el cliente. Esta etapa del análisis es quizá la más importante. El cliente puede ser la Agencia para la Protección del Ambiente (EPA, Environmental Protection Agency), un cliente industrial, un ingeniero o la abuelita del analista, cada uno de los cuales puede tener diferentes criterios o necesidades, y distinta comprensión de lo que implica y significa un análisis químico. Es importante comu-

La forma de realizar un análisis depende de la información que se requiera.

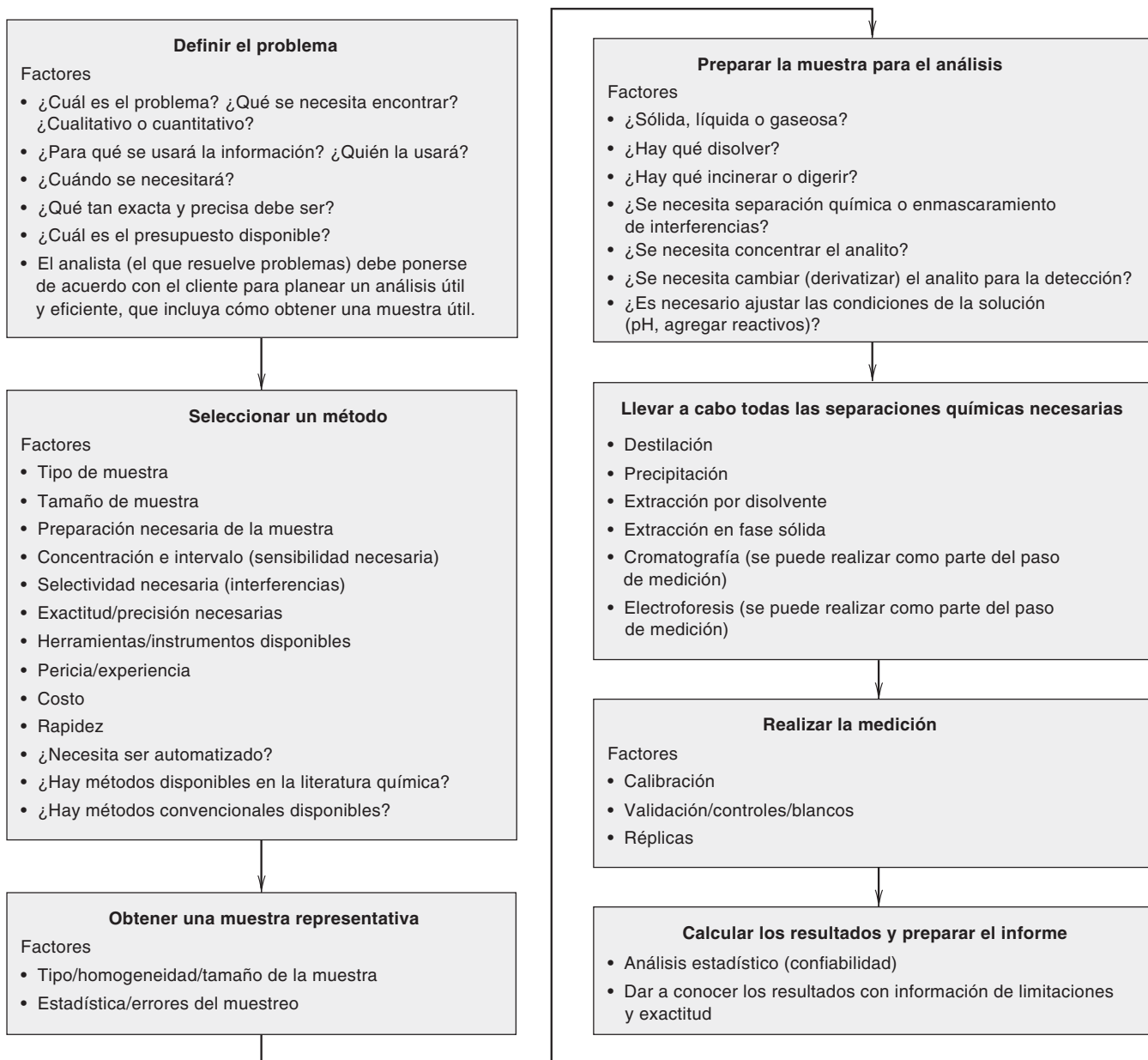


Figura 1.1. Pasos en un análisis.

nicarse en un lenguaje comprensible para ambas partes. Si alguien pone una botella sobre el escritorio y pregunta “¿qué hay aquí?” o “¿esto es seguro?”, tal vez se tenga que explicar que hay 10 millones de compuestos y sustancias conocidos. Una persona que dice: “quiero saber qué elementos hay aquí”, deberá comprender que a 20 dólares por análisis para 85 elementos costará 1 700 dólares demostrar si están presentes todos, cuando quizás el interés sea sólo por algunos.

Con frecuencia llegan con el analista personas no profesionales que quieren analizar cosméticos para comercializarlos y hacer una fortuna. Cuando se dan cuenta que puede costarles gran cantidad de dinero determinar los ingredientes, para lo cual se necesita una serie de análisis complicados, se ven obligados a reconsiderarlo.

El concepto de “seguro” o “cero/nada” es difícil de definir y de entender para muchos. No le toca al analista decirle a alguien que su agua es segura. Lo más que puede hacer es presentar los datos analíticos (y dar una indicación del margen de exactitud). La persona debe decidir si es seguro beberla, quizás apoyándose en otros expertos. Asimismo, nunca se da a conocer una respuesta como “cero”, sino como inferior al nivel de detección, el cual se basa en el dispositivo o instrumento de medición. La metodología y el equipo son limitados, y eso es todo lo que se puede informar. Sin embargo, algunos instrumentos modernos pueden medir cantidades o concentraciones ridículamente pequeñas, por ejemplo partes en 10^{12} (en el sistema estadounidense, partes por trillón). Esto da lugar a un dilema al elaborar los protocolos (que con frecuencia son de naturaleza política). Pudiera entrar en vigor una ley que exija concentración cero de un efluente químico en el agua. En la práctica, el nivel aceptable se define por qué tan baja concentración se puede detectar; y la muy baja detectabilidad puede estar muy por debajo de la presencia natural de la sustancia química o debajo de los niveles a los cuales se puede reducir de manera razonable. Los analistas y los químicos deben comunicar con mucha claridad lo que representan las mediciones.

Una vez que se define el problema se determinará cómo ha de obtenerse la muestra, cuánto de ella se necesita, qué tan sensible debe ser el método, su exactitud y precisión,¹ y qué separaciones pueden necesitarse para eliminar las interferencias. Para determinar componentes en concentraciones traza por lo general no se requiere la precisión que ameritan los componentes principales, pero se deberá tener cuidado para eliminar la contaminación de trazas durante el análisis.

Una vez conocida la medición que se requiere, el método analítico por aplicar dependerá de varios factores, entre ellos la pericia y la capacitación del analista en diferentes técnicas e instrumentos; las instalaciones, el equipo y los instrumentos disponibles; la sensibilidad y precisión requeridas; el costo y presupuesto disponibles, así como el tiempo necesario para el análisis y para cuándo se necesitan los resultados. En los libros de consulta a menudo hay uno o más procedimientos estándar para la determinación de un **analito** (el componente que se va a determinar) en un **tipo de muestra** dado. Esto no significa que el método vaya a ser necesariamente aplicable a otros tipos de muestra. Por ejemplo, un método estándar de la EPA para muestras de agua freática puede dar resultados erróneos si se aplica al análisis de aguas negras. La literatura química (revistas) contiene muchas descripciones específicas de análisis. La serie *Chemical Abstracts* (<http://info.cas.org>), publicada por la *American Chemical Society*, es un buen sitio para comenzar una búsqueda de literatura. Contiene resúmenes de todos los artículos que aparecen en las principales revistas químicas del mundo. Hay disponibles índices anuales y acumulativos, y muchas bibliotecas tienen instalaciones para búsqueda por computadora. Se pueden consultar por separado las principales revistas de química analítica. Entre ellas están: *Analytica Chimica Acta*, *Analytical Chemistry*, *Analytical Letters*, *Analyst*, *Applied Spectroscopy*, *Clinica Chimica Acta*, *Clinical Chemistry*, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, *Journal of Chromatography*, *Spectrochimica Acta*, y *Talanta*. Aunque tal vez no se describa el análisis específico que interesa, el analista puede usar la información de la literatura sobre un analito dado para diseñar un esquema adecuado de análisis. Por último, el analista tal vez tenga que apoyarse en la experiencia y el conocimiento para desarrollar un método analítico para una muestra dada. En las referencias de literatura del apéndice A se describen diversos procedimientos para el análisis de diferentes sustancias.

En los capítulos 24 a 26 se dan ejemplos de la manera en que se realizan análisis de tipos particulares de muestras. Estos capítulos describen análisis clínicos, bioquímicos y ambientales que se realizan de manera habitual. Las diversas técnicas que se describen en este texto se utilizan para los análisis específicos. Por tanto, será útil leer estos capítulos

La manera de realizar un análisis dependerá de la experiencia del analista, el equipo disponible, el costo y el tiempo necesario.

El *analito* es la sustancia que se busca en el *análisis*. Su concentración es la que se *determina*.

Chemical Abstracts es una buena fuente de la literatura.

¹ Exactitud se define como el grado de acuerdo entre un valor medido y un valor verdadero. Precisión es el grado de acuerdo entre las mediciones de réplica de la misma cantidad y la exactitud no necesariamente implicada. Estos términos se comentan con más detalle en el capítulo 3.

de aplicaciones, tanto ahora como después de terminar la mayor parte de este curso, a fin de lograr una apreciación de lo que implica analizar muestras reales y por qué se hacen los análisis.

Una vez que se ha definido el problema se pueden iniciar los siguientes pasos.

OBTENCIÓN DE UNA MUESTRA REPRESENTATIVA: NO SE PUEDE ANALIZAR TODO EL MATERIAL

Un análisis químico por lo regular se realiza sólo en una pequeña porción del material que se va a caracterizar. Si la cantidad de material es muy pequeña y no se necesita para uso futuro, entonces toda la muestra se puede usar para el análisis. El residuo de pólvora en una mano puede ser un ejemplo. Sin embargo, con mayor frecuencia el material que se va a caracterizar es de valor y se debe alterar tan poco como sea posible en el muestreo.

El material que se va a muestrear puede ser sólido, líquido o gaseoso; suele ser homogéneo o heterogéneo en su composición. En el primer caso, una simple muestra tomada al azar será suficiente para el análisis. En el segundo caso, la variación en toda la muestra puede ser importante, en cuyo caso se obtendrán varias muestras individuales. Si se necesita la composición bruta, entonces será necesario aplicar técnicas especiales para obtener una muestra representativa. Por ejemplo, al analizar el contenido promedio de proteína de un embarque de granos se puede tomar una pequeña muestra de cada saco, o de cada décimo saco para un embarque grande, y se pueden combinar las pequeñas muestras para obtener una **muestra compuesta**. Cuando el material es grande, el muestreo se hace mejor si se ha movido con objeto de tener acceso. Cuanto más grande sea el tamaño de la partícula, mayor deberá ser la muestra compuesta. La muestra compuesta se debe reducir en tamaño para obtener una **muestra de laboratorio** de varios gramos, de la cual se tomarán de unos pocos gramos a miligramos para el análisis (**muestra de análisis**). La reducción de tamaño puede hacer necesario tomar porciones (por ejemplo, dos cuartos) y mezclarlas en varios pasos, así como moler y cribar para obtener un polvo uniforme para el análisis. Los métodos de muestreo de sólidos, líquidos y gases se explican en el capítulo 2.

En el caso de fluidos biológicos, las condiciones en las cuales se toma la muestra pueden ser importantes; por ejemplo, cuando un paciente acaba de comer. La composición de la sangre varía en forma considerable antes y después de los alimentos, y para muchos análisis se toma una muestra después de que el paciente ha ayunado durante cierto número de horas. A las muestras de sangre se les pueden agregar conservadores, como fluoruro de sodio, para la preservación de glucosa y anticoagulantes; estos aditivos pueden afectar determinado análisis.

Las muestras de sangre se pueden analizar como sangre total, o se separan para obtener plasma o suero, de acuerdo con los requisitos del análisis de que se trate. Lo más común es que la concentración de la sustancia externa a los glóbulos rojos (la concentración extracelular) sea una indicación significativa de la condición fisiológica, por lo cual se toma suero o plasma para el análisis.

Si se recolecta sangre entera y se deja reposar durante varios minutos, la proteína soluble, **fibrinógeno**, se convertirá, por una compleja serie de reacciones químicas (en las que participa el ion calcio) en la proteína insoluble **fibrina**, que forma la base de un gel, o **coágulo**. Los glóbulos rojos y blancos de la sangre quedan atrapados en las redes de fibrina y contribuyen a la solidez del coágulo, aunque no son necesarios para el proceso de coagulación. Después de formarse el coágulo se encoge y segrega un fluido color paja, el **suero**, que no se coagula y permanece fluido en forma indefinida. El proceso de coagulación se puede evitar añadiendo una pequeña cantidad de un **anticoagulante**, como la heparina, o una sal de citrato (es decir, un acomplexador de calcio). Para el análisis se puede tomar una alícuota de la sangre entera no coagulada o los glóbulos rojos se pueden centrifugar hacia el fondo y se puede analizar el **plasma** ligero remanente, de color rosáceo. El plasma y el suero son esencialmente idénticos en composición química, con la única diferencia de que al segundo se le ha quitado el fibrinógeno.

La *muestra compuesta* consta de varias porciones del material que se va a probar. La *muestra de laboratorio* es una pequeña porción de la primera, homogeneizada. La *muestra de análisis* es la que realmente se analiza. Véase el capítulo 2 para métodos de muestreo.

El *suero* es el fluido separado de la sangre coagulada. El *plasma* es el fluido separado de la sangre no coagulada. Es lo mismo que el suero, pero contiene fibrinógeno, la proteína de la coagulación.

En los libros de consulta sobre áreas específicas de análisis se encuentran detalles de muestreo de otros materiales. Véanse las referencias al final del capítulo para algunas citas.

Se deben tomar ciertas precauciones en el **manejo y almacenamiento de las muestras** para evitar o reducir al mínimo la contaminación, la pérdida, la descomposición o el cambio de matriz. En general, se debe evitar la contaminación y la alteración de la muestra por lo siguiente: 1) el recipiente, 2) la atmósfera, 3) la luz. Asimismo, se debe establecer una cadena de custodia o cuidados, y será absolutamente necesaria para cualquier análisis que pueda formar parte de procesos legales. En el caso de O.J. Simpson, por ejemplo, hubo videos en los noticieros de televisión que mostraban a personas manejando las muestras supuestamente sin el cuidado adecuado, colocándolas en la cajuela caliente de un automóvil. Aunque esto pudo no haber afectado los análisis mismos ni la corrección de las muestras analizadas, le dio a la defensa material para desacreditar los análisis.

La muestra debe ser protegida de la atmósfera y de la luz. Ésta, por ejemplo, puede ser una sustancia alcalina que reaccionará con el dióxido de carbono del aire. Las muestras de sangre en las que se va a analizar el CO_2 deben protegerse de la atmósfera.

Se debe considerar la estabilidad de la muestra. La glucosa, por ejemplo, es inestable, y a las muestras de sangre se les debe agregar un conservador como fluoruro de sodio. Por supuesto, la preservación no debe interferir en el análisis. Las proteínas y las enzimas tienden a desnaturizarse con el tiempo, y se deben analizar sin demora. Los componentes traza se pueden perder durante el almacenamiento por adsorción en las paredes del recipiente.

Las muestras de orina son inestables, y el fosfato de calcio precipita atrapando iones metálicos y otras sustancias de interés. La precipitación se puede evitar conservando la orina acidulada (pH 4.5), por lo general mediante la adición de 1 a 2 mL de ácido acético glacial por cada 100 mL de muestra. Se almacena en refrigeración. La orina, así como la sangre entera, el suero, el plasma y las muestras de tejidos también se pueden congelar para almacenamiento prolongado. Las muestras de sangre desproteinada son más estables que las muestras sin tratar.

Las muestras de gases corrosivos con frecuencia reaccionan con el contenedor. El dióxido de azufre, por ejemplo, es problemático. En los gases de escape de un automóvil, el SO_2 se pierde por disolución en el vapor de agua condensado del escape. En tales casos, es mejor analizar el gas por un proceso de corriente.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA EL ANÁLISIS: TAL VEZ DEBA ALTERARSE

El primer paso en el análisis de una muestra es medir la cantidad que se va a analizar (por ejemplo, volumen o peso de la muestra). Esto será necesario para calcular la composición porcentual a partir de la cantidad hallada de analito. El tamaño de la muestra analítica debe medirse con el grado de precisión y exactitud que se requiere para el análisis. Para las mediciones de peso en general se usa una balanza analítica sensible a 0.1 mg. Las muestras sólidas se analizan a menudo sobre base seca, y se deben secar en un horno a 110 a 120°C durante 1 a 2 h, y enfriar en un desecador antes de pesarlas, si la muestra es estable a las temperaturas de secado. Algunas muestras pueden necesitar temperaturas más altas y tiempo de calentamiento más largo (por ejemplo, durante toda la noche), debido a la gran afinidad entre la humedad y la superficie de la muestra. La cantidad de muestra que se toma dependerá de la concentración del analito y cuánto se necesita para aislarlo y medirlo. La determinación de un componente principal puede necesitar sólo un par de cientos de miligramos de muestra, en tanto que los componentes traza suelen necesitar varios gramos. De ordinario se toman **muestras réplica** para el análisis, con objeto de obtener datos estadísticos sobre la precisión del análisis y así proporcionar resultados más confiables.

Los análisis pueden ser de naturaleza no destructiva; por ejemplo, en la medición de plomo en pintura mediante fluorescencia de rayos X, en el que la muestra se bombardea con un haz de rayos X y se mide la radiación X de reemisión. Mas a menudo, la muestra debe estar en forma de solución para la medición, y los sólidos se deben disolver. Los

Se debe tener cuidado de no alterar ni contaminar la muestra.

Lo primero que se debe hacer es medir el tamaño de la muestra que se va a analizar.

Las muestras sólidas por lo regular se deben poner en solución.

Incineración es la combustión de la materia orgánica. *Digestión* es la oxidación húmeda de la materia orgánica.

El pH de la solución de la muestra por lo regular tendrá que ajustarse.

¡Siempre corra un blanco!

materiales inorgánicos se pueden disolver en diversos medios ácidos, redox o acomplejantes. El material resistente al ácido puede necesitar fusión con un fundente ácido o básico y manejarse en estado fundido para hacerlo soluble en ácido diluido o agua. La fusión con carbonato de sodio, por ejemplo, forma carbonatos solubles en ácido.

Los materiales orgánicos que se van a analizar para determinar componentes inorgánicos, por ejemplo metales traza, se pueden destruir mediante **incineración en seco**. La muestra se quema lentamente en un horno a 400 a 700°C, dejando un residuo inorgánico que es soluble en ácido diluido. En forma alternativa, la materia orgánica se puede destruir mediante **digestión húmeda**, calentándola con ácidos oxidantes. Es común utilizar una mezcla de ácidos nítrico y sulfúrico. En ocasiones, los fluidos biológicos se pueden analizar directamente; a menudo, sin embargo, las proteínas interfieren y se deben remover. Tanto la incineración seca como la digestión húmeda son útiles para esta remoción. Las proteínas también se pueden precipitar con varios reactivos y filtrarse o separarse mediante centrifugación para obtener un **filtrado libre de proteínas** (PFF, protein free filtrate).

Si el analito es de naturaleza orgánica no se pueden usar estos métodos de oxidación. En este caso, el analito se puede extraer de la muestra o dializar, o bien disolverse la muestra en un disolvente adecuado. Tal vez pueda medirse el analito en forma no destructiva. Un ejemplo es la determinación directa de proteína en forrajes mediante espectrometría de infrarrojo cercano.

Una vez que una muestra está en solución, las condiciones de la solución se deben ajustar para la siguiente etapa del análisis (paso de separación o de medición). Por ejemplo, es posible que el pH se tenga que ajustar, o se tenga que añadir un reactivo para que reaccione con otros componentes y “enmascarar” su interferencia. Quizá se tenga que hacer reaccionar al analito con un reactivo para convertirlo a una forma adecuada para la medición o la separación. Por ejemplo, se puede formar un producto colorido que será medido por espectrometría o convertir el analito a una forma que se pueda volatilizar para su medición por cromatografía de gases. El análisis gravimétrico de hierro como Fe_2O_3 requiere que todo el hierro esté presente como hierro(III), su forma común. Por otro lado, una determinación volumétrica por reacción con ion dicromato requiere que todo el hierro se convierta en hierro(II) antes de la reacción, y el paso de reducción se tendrá que incluir en la preparación de la muestra.

Los disolventes y reactivos que se usan para la disolución y la preparación de la solución deben ser de alta pureza (grado reactivo). Aun así, es posible que permanezcan trazas de impurezas del analito. Por eso es necesario preparar y analizar **blancos** replicados, en especial para análisis de trazas. Un blanco teóricamente consiste en todos los productos químicos que contiene el problema y los usados en el análisis en las mismas cantidades (incluyendo el agua) y se corre a través de todo el procedimiento analítico. El resultado del blanco se resta de aquel de la muestra analítica para llegar a la concentración neta del analito en la solución de la muestra. Si el blanco es apreciable puede invalidar el análisis. Con frecuencia es imposible hacer un blanco perfecto para un análisis.

EFFECTUAR LAS SEPARACIONES QUÍMICAS NECESARIAS

Con objeto de eliminar las interferencias, proporcionar a la medición una selectividad adecuada o preconcentrar al analito para mayor sensibilidad o medición más exacta, el analista a menudo debe realizar una o más etapas de separación. Es preferible separar el analito de la matriz de la muestra a fin de minimizar pérdidas del analito. Los pasos de separación pueden incluir precipitación, extracción con un disolvente inmiscible, cromatografía, diálisis y destilación.

EFFECTUAR LA MEDICIÓN: EL ANALISTA DECIDE EL MÉTODO

El método empleado para la medición cuantitativa real del analito dependerá de un número de factores, y no es de menor importancia la cantidad de analito presente, así como la

exactitud y la precisión que se requieren. Muchas técnicas disponibles tienen grados variables de selectividad, sensibilidad, exactitud y precisión, costo y rapidez. El **análisis gravimétrico** por lo regular comprende la separación selectiva del analito por precipitación, seguida de una medición no selectiva de la masa (del precipitado). En el **análisis volumétrico** o **titulométrico**, el analito reacciona con un volumen medido de reactivo de concentración conocida en un proceso que se denomina **titulación**. Un cambio en alguna propiedad física o química señala la terminación de la reacción. Los análisis gravimétrico y volumétrico pueden dar resultados exactos y precisos de hasta unas pocas partes por millar (una décima de 1%) o mejor. Si bien exigen cantidades relativamente grandes (en milimoles o miligramos) de analito, son muy adecuados para la medición de componentes principales. El análisis volumétrico es más rápido que el gravimétrico y, por tanto, se prefiere cuando es aplicable.

Las técnicas instrumentales se usan para muchos análisis y constituyen la disciplina del **análisis instrumental**. Se basan en la medición de una propiedad física de la muestra; por ejemplo, una propiedad eléctrica o la absorción de radiación electromagnética. Los ejemplos incluyen la espectrofotometría (ultravioleta, visible o infrarroja), la fluorometría, la espectroscopia atómica (de absorción, de emisión), la espectrometría de masas, la espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN o NMR, nuclear magnetic resonance), la espectroscopia de rayos X (de absorción, de fluorescencia), la química electroanalítica (potenciométrica, voltamperométrica, electrolítica), la cromatografía (de gases, de líquidos) y la radioquímica. Las técnicas instrumentales por lo general son más sensibles y selectivas que las técnicas clásicas, pero son menos precisas, en el orden de 1 a 5% más o menos. Estas técnicas de ordinario son mucho más costosas, en términos de capital, pero dependiendo del número de análisis pueden ser menos costosas cuando se consideran los costos de personal. En general son más rápidas, se pueden automatizar y ser capaces de medir más de un analito a la vez. Las técnicas de cromatografía son especialmente potentes para analizar mezclas complejas; permiten realizar de manera simultánea los pasos de separación y medición. Los componentes se separan cuando se les hace pasar (eluye) a través de una columna del material adecuado que interactúa con los analitos en grados variables, y los analitos se descubren mediante un detector adecuado cuando salen de la columna, para dar una señal instantánea de un máximo en proporción con la cantidad de analito.

En la tabla 1.1 se comparan diversos métodos analíticos que se describen en este texto con respecto a sensibilidad, precisión, selectividad, rapidez y costo. Los números dados pueden exceder en aplicaciones específicas, y los métodos suelen aplicarse a otros usos; pero éstos son representativos de las aplicaciones más comunes. Las menores concentraciones determinadas por titulometría necesitan usar una técnica instrumental para la medición de la titulación. La selección de una técnica, cuando es aplicable más de una, dependerá desde luego de la disponibilidad de equipo y personal experimentado, así como de la preferencia del analista. Como ejemplos, se puede usar la espectrofotometría para determinar la concentración de nitrato en agua de río en el nivel de 1 ppm ($1.6 \times 10^{-5} M$), usando la reacción de diazotización con nitrato para producir un color. El fluoruro en el dentífrico se puede determinar en forma potenciométrica usando un electrodo selectivo al ion fluoruro. En la gasolina se puede separar y determinar una mezcla compleja de hidrocarburos usando la técnica de cromatografía de gases. La glucosa en sangre se puede determinar cinéticamente por la velocidad de reacción enzimática entre glucosa y oxígeno, catalizada por la enzima oxidasa de glucosa, con medición de la rapidez de agotamiento del oxígeno o la tasa de producción de peróxido de hidrógeno. La pureza de una barra de plata se puede determinar gravimétricamente disolviendo una pequeña muestra en ácido nítrico y precipitando con cloruro y pesando el precipitado purificado.

Los diversos métodos para determinar un analito se pueden clasificar como **absolutos** o **relativos**. Los métodos absolutos se basan en constantes fundamentales conocidas con precisión para calcular la cantidad de analito; por ejemplo, los pesos atómicos. En el análisis gravimétrico se prepara y se pesa un derivado insoluble del analito de composición

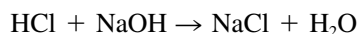
Los instrumentos son más selectivos y sensibles que los métodos volumétricos y gravimétricos, pero pueden ser menos precisos.

La mayoría de los métodos necesitan la calibración con una norma.

Tabla 1.1
Comparación de diferentes métodos analíticos

<i>Método</i>	<i>Intervalo aproximado (mol/L)</i>	<i>Precisión aproximada (%)</i>	<i>Selectividad</i>	<i>Rapidez</i>	<i>Costo</i>	<i>Usos principales</i>
Gravimetría	10^{-1} - 10^{-2}	0.1	Pobre-moderada	Lenta	Bajo	Inorgánico
Titulometría	10^{-1} - 10^{-4}	0.1-1	Pobre-moderada	Moderada	Bajo	Inorgánico-orgánico
Potenciometría	10^{-1} - 10^{-6}	2	Buena	Rápida	Bajo	Inorgánico
Electrogravimetría, culombimetría	10^{-1} - 10^{-4}	0.01-2	Moderada	Lenta-moderada	Moderado	Inorgánico-orgánico
Voltamperometría	10^{-3} - 10^{-10}	2-5	Buena	Moderada	Moderado	Inorgánico-orgánico
Espectrofotometría	10^{-3} - 10^{-6}	2	Buena-moderada	Rápida-moderada	Bajo-moderado	Inorgánico-orgánico
Fluorimetría	10^{-6} - 10^{-9}	2-5	Moderada	Moderada	Moderado	Orgánico
Espectroscopia atómica	10^{-3} - 10^{-9}	2-10	Buena	Rápida	Moderado-alto	Inorgánico-multielem.
Cromatografía	10^{-3} - 10^{-9}	2-5	Buena	Rápida-moderada	Moderado-alto	Orgánico multielem.
Métodos cinéticos	10^{-2} - 10^{-10}	2-10	Buena-moderada	Rápida-moderada	Moderado	Inorgánico, orgánico, enzimas

química conocida, como en la formación de AgCl para determinación de cloruros. El precipitado contiene una fracción conocida del analito, en este caso fracción de Cl = p.at. Cl/p.fórm. AgCl = 35.453/143.32 = 0.24737.² Así, es sencillo obtener la cantidad de Cl contenida en el precipitado pesado. Sin embargo, la mayoría de los métodos son relativos en el sentido de que necesitan comparación con alguna solución de concentración conocida. En los análisis titulométricos, por ejemplo, el analito se hace reaccionar con la solución de un reactivo en una relación estequiométrica conocida. El ácido clorhídrico, por ejemplo, reacciona con hidróxido de sodio en una relación 1:1:



Se mide el volumen de solución de hidróxido de sodio necesario para reaccionar por completo con la muestra de ácido clorhídrico. Si se conoce la concentración de la solución de hidróxido de sodio en moles por litro, entonces se puede calcular el número de moles de NaOH agregados (volumen $\times$ molaridad), y así se conoce el número de moles de HCl de la muestra. Por tanto, en este método relativo es necesario preparar una solución reaccionante (hidróxido de sodio) de concentración conocida con exactitud.

La mayor parte de los métodos instrumentales de análisis son relativos. Los instrumentos registran una señal debida a alguna propiedad física de la solución. Por ejemplo, los espectrofotómetros miden la fracción de la radiación electromagnética de una fuente de luz que absorbe la muestra. Esta fracción se debe relacionar con la concentración de analito en comparación con la fracción absorbida por una concentración estándar del analito. En otras palabras, la instrumentación debe estar **calibrada**.

La respuesta del instrumento puede estar relacionada lineal o no linealmente con la concentración de analito. La calibración se obtiene preparando una serie de soluciones estándar del analito a concentraciones conocidas y midiendo la respuesta del instrumento a cada una de éstas (por lo regular después de tratarlas de la misma manera que las muestras) para preparar una **curva de calibración analítica** de respuesta contra concentración. La concentración de una muestra desconocida se determina entonces por la respuesta usando la curva de calibración. Con los instrumentos actuales controlados por computadora, esto se hace a menudo en forma electrónica o digital, y se obtiene una lectura directa de la concentración.

La matriz de la muestra puede afectar la respuesta del instrumento al analito. En tales casos, la calibración se puede obtener por el **método de adiciones de estándar**. Una porción de la muestra se mezcla con una cantidad conocida de estándar, y el aumento en la señal se debe al estándar. De esta manera, el estándar se somete al mismo entorno que el analito. Estas técnicas de calibración se explican en más detalle cuando se describa el uso de los instrumentos específicos.

Una curva de calibración es la respuesta del instrumento como función de la concentración.

La calibración por adiciones de estándar se usa para contrarrestar los efectos de la matriz de la muestra.

CÁLCULO DE RESULTADOS E INFORME DE DATOS: ÉSTE ES EL OBJETIVO GENERAL

Una vez que se ha determinado la concentración de analito en la solución preparada de la muestra, los resultados se usan para calcular la cantidad de analito en la muestra original. Se puede informar una cantidad *relativa* o una *absoluta*. Por lo regular se da una composición relativa, por ejemplo en tanto por ciento o en partes por millón, junto con el valor medio, para expresar la exactitud. Se pueden realizar análisis de réplicas (tres o más) y es posible manifestar una precisión del análisis; por ejemplo, desviación estándar. El conocimiento de la precisión es importante porque da el grado de incertidumbre en el resultado (véase cap. 3). El analista debe evaluar con sumo cuidado si los resultados son razonables y si se relacionan con el problema analítico planteado originalmente. Recuérdese que el cliente a menudo carece de preparación científica, de modo que puede tomar un número como absoluto. Sólo

El analista debe dar el consejo de experto sobre la importancia de un resultado.

² p. at. = peso atómico; p. fórm. = peso fórmula.

el analista puede poner en perspectiva ese número y es importante que tenga buena comunicación e interacción con el “cliente” acerca de lo que representa el análisis.

1.4 Validación de un método: ¿se debe demostrar que funciona!

Se debe tener mucho cuidado para que los resultados sean exactos en un análisis. Puede haber dos tipos de errores: *aleatorios* y *sistemáticos*. Toda medición supone cierta imprecisión, que deriva en una distribución aleatoria de los resultados; por ejemplo, una distribución gaussiana. El experimento se puede diseñar para estrechar el intervalo de éste, pero no se puede eliminar. Un error sistemático es el que sesga consistentemente el resultado en una dirección. La matriz de la muestra puede suprimir la señal del instrumento; una pesa de la balanza analítica puede tener un error, con desviación alta o baja, o una muestra podría no estar lo suficientemente seca.

La mejor manera de validar un método es analizar un material de referencia estándar, con composición conocida.

La calibración correcta de un instrumento es apenas el primer paso para asegurar la exactitud. Al desarrollar un método, las muestras se deberían emparejar con cantidades conocidas del analito (por encima de y más allá de lo que ya está presente en la muestra). Las cantidades determinadas (recuperadas) por el procedimiento de análisis (después de sustraer la cantidad aparentemente presente en la muestra, determinada por el mismo procedimiento) deben estar dentro de la exactitud requerida en el análisis. Se puede validar un nuevo método por comparación de los resultados de la muestra con los obtenidos con otro método aceptado. Hay varias fuentes de estándares certificados o materiales de referencia que se pueden analizar para asegurar la exactitud del método que se usa. Por ejemplo, comercialmente se dispone de estándares de control de calidad ambiental para pesticidas en agua o contaminantes prioritarios en suelos. El National Institute of Standards and Technology (NIST) prepara materiales de referencia estándar (SRM, standard reference materials) de diferentes composiciones de matriz (por ejemplo, acero, hojas trituradas) que han sido certificados en cuanto al contenido de analitos específicos mediante medición cuidadosa por lo menos por dos técnicas independientes. Los valores se asignan con intervalos estadísticos. Varios organismos y empresas comerciales pueden proporcionar muestras para pruebas tipo competencia o a ciegas en las que se someten muestras de control para análisis aleatorios realizados por los laboratorios participantes. El laboratorio no conoce el valor de control antes de hacer el análisis.

Los estándares se deben analizar en forma intermitente con las muestras. También se debe analizar una *muestra de control* por lo menos una vez al día, y graficarse los resultados como función del tiempo para preparar una *gráfica de control de calidad*, que se compara con la desviación estándar conocida del método. Se supone que la cantidad medida es constante con respecto al tiempo, con una distribución gaussiana, y hay probabilidad de 1 en 20 de que los valores caigan fuera de dos desviaciones estándar del valor conocido, y una probabilidad de 1 en 100 de que se aleje 2.5 desviaciones estándar. Los números que los excedan sugieren errores no compensados, como mal funcionamiento del instrumento, deterioro de los reactivos o calibración incorrecta.

La buena práctica de laboratorio (validación) es necesaria para asegurar la exactitud de los análisis.

Los reglamentos gubernamentales exigen protocolos establecidos cuidadosos, así como la validación de los métodos y los análisis cuando se usan para propósitos oficiales o legales. Para asegurar la validación de los análisis se han establecido lineamientos de la *buena práctica de laboratorio* (GLP, good laboratory practices). Por supuesto, se aplican idealmente a todos los análisis. Estos lineamientos se explican en detalle en el capítulo 4.

1.5 Intervalo: ¿de qué tamaño debe ser la muestra?

Los métodos analíticos se clasifican con frecuencia de acuerdo con el tamaño de la muestra. Tal clasificación es arbitraria y no hay una línea divisoria precisa. El análisis se puede

Tabla 1.2

Clasificación de los métodos analíticos de acuerdo con el tamaño de la muestra

Método	Peso de la muestra (mg)	Volumen de la muestra (μL) ^a
Meso	>100	>100
Semimicro	10-100	50-100
Micro	1-10	<50
Ultramicro	<1	

^a μL = microlitro. Algunas veces se usa el símbolo λ (lambda) en vez de μL .

clasificar como **meso**, **semimicro**, **micro** o **ultramicro**; las últimas dos categorías se clasifican a menudo como “análisis de trazas”. En la tabla 1.2 se dan las clasificaciones aproximadas de acuerdo con el peso o volumen de la muestra. Las clasificaciones por volumen son las que se emplean en los laboratorios clínicos. Para las operaciones micro y ultramicro se necesitan técnicas especiales de manejo y microbalanzas.

ANALIZAR Y DETERMINAR: SON DIFERENTES

Los términos *analizar* y *determinar* tienen dos significados diferentes. Se dice que una muestra se **analiza** para medir parte de sus componentes o todos ellos. Las sustancias medidas se llaman **analitos**. El proceso de medir el analito se llama **determinación**. Por tanto, al analizar la sangre para medir su contenido de cloruros se determina la concentración de cloruros.

Los componentes de la muestra se pueden clasificar como **principales** (>1%), **menores** (0.1-1%) o **trazas** (<0.1%). Unas pocas partes por millón o menos de un componente se pueden clasificar como **ultratrazas**.

Un análisis puede ser **completo** o **parcial**; es decir, se pueden determinar ya sea todos los componentes o sólo algunos seleccionados. Con mayor frecuencia, el análisis se solicita para dar a conocer una sustancia específica o quizás una clase de sustancias.

Se *analiza* una muestra para *determinar* la cantidad de analito.

1.6 Algunos sitios útiles en la red

Además de las diversas fuentes de artículos y libros que hemos mencionado y los listados del apéndice A (Literatura de Química Analítica), hay varios sitios en la red con recursos complementarios para los químicos analíticos. Éstos, por supuesto, cambian a menudo y hay disponibles otros nuevos. Sin embargo, los siguientes son buenos puntos de arranque para obtener información útil.

Química en general

1. www.acs.org. Página principal de la American Chemical Society. Información sobre revistas, reuniones, química en las noticias, bases de datos de búsqueda (incluyendo *Chemical Abstracts*) y mucho más.
2. www.chemweb.com. Éste es un club virtual para químicos. El sitio contiene bases de datos y listas relativas a la química e incorpora grupos de discusión que se enfocan en áreas específicas, como la química analítica. Es necesario registrarse, pero es gratis.
3. www.chemsoc.org. Ésta es una red de las sociedades químicas, sostenida por la Royal Society of Chemistry, de Inglaterra, con información de alrededor de 30 so-

ciedades químicas nacionales. Tiene una tabla periódica virtual y se puede descargar un protector de pantalla de la tabla periódica.

4. <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/java/scienceopticsu/powersof10/index.html>. Vea este escenario visual de Potencias de Diez, desde protones hasta vistas de la Vía Láctea a 10 millones de años luz de la Tierra.

Química analítica

1. www.acs-analytical.duq.edu. Ésta es la página principal de la División de Química Analítica de la American Chemical Society. Hay varios vínculos y recursos en todo este sitio que pueden llevar por el Internet a sitios relacionados con la química analítica.
2. www.chem.uni-potsdam.de/linkcenter/analchem.html. Éste es un centro de vínculos de química analítica que conecta con sitios de universidades y otros en todo el mundo.
3. www.cstl.nist.gov/nist839. El sitio de la división analítica del National Institute of Standards and Technology (NIST). Suministra información de cada una de sus cinco divisiones: Métodos Espectroquímicos, Métodos Analíticos Orgánicos, Metrología de Gases y Métodos Clásicos, Espectrometría Molecular y Métodos Microfluídicos, y Métodos Analíticos Nucleares.
4. www.rsc.org/lap/rscom/dab/analdiv.htm. El sitio de la División Analítica de la Royal Society of Chemistry, de Inglaterra. El equivalente británico de la ACS, División de Química Analítica.
5. <http://chemweb.chem.uconn.edu/Microchem/Index.html>. Sitio de la American Microchemical Society; tiene vínculos con sociedades, conferencias y profesores de química analítica.
6. <http://analytical.chemweb.com/home>. El foro de química analítica del sitio Chemweb anterior.
7. www.asdlib.org. Biblioteca digital de ciencias analíticas (ASDL). En sus inicios, pero llegará a ser el sitio predilecto para listas de websites revisados por colegas, que se ocupa de pedagogía y técnicas.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- La ciencia analítica trata de la caracterización química de la materia: ¿Qué, cuánto? p. 1
- El analista debe saber exactamente qué información se requiere, y obtener una muestra representativa, pp. 5, 8
- Pocas mediciones son específicas, de modo que se realizan operaciones para lograr alta selectividad, p. 9
- Se debe seleccionar el método adecuado para la medición, p. 10
- Es importante la validación, p. 14
- Hay muchos sitios de red útiles que tratan de química analítica, p. 15

Preguntas

1. ¿Qué es la química analítica?
2. Distinguir entre análisis cualitativo y cuantitativo.
3. Describir los pasos que comúnmente se siguen en un procedimiento analítico. Explicar brevemente cada paso.
4. Distinguir entre analizar, determinar, muestra y analito.
5. ¿Qué es un blanco?
6. Enumerar algunas de las técnicas comunes de medición que se usan en química analítica.
7. Enumerar algunos procedimientos de separación que se utilizan en química analítica.
8. Definir el análisis instrumental.
9. ¿Qué es una curva de calibración?
10. Distinguir entre una reacción específica y una reacción selectiva.
11. Sugerir un método según la tabla 1.1 para realizar los siguientes análisis: a) la pureza del NaCl en sal de mesa, b) el contenido de ácido acético del vinagre, c) el pH del agua de una piscina.

Referencias recomendadas

GENERAL

1. J. Tyson. *Analysis. What Analytical Chemists Do*. Londres: Royal Society of Chemistry, 1988. Libro breve que explica en forma muy concisa lo que hacen los químicos analíticos y cómo lo hacen.
2. R. W. Murray. "Analytical Chemistry Is What Analytical Chemists Do", Editorial, *Anal. Chem.*, **66** (1994) 682A.
3. G. M. Hieftje. "But Is It Analytical Chemistry?", *Am. Lab.*, Oct. (1993) 53.
4. T. Kuwana, Chair. *Curricular Developments in the Analytical Sciences*. Informe de los talleres de trabajo realizados en 1996 y 1997. Patrocinados por la National Science Foundation (kuwana@sunflower.com).
5. R. A. DePalma y A. H. Ullman. "Professional Analytical Chemistry in Industry. A Short Course to Encourage Students to Attend Graduate School", *J. Chem. Ed.*, **68** (1991) 383. Descripción de un curso corto de química analítica industrial para maestros y estudiantes que los científicos de Procter & Gamble Company impartieron en universidades, por invitación, para explicar lo que hacen los químicos analíticos en la industria. El punto principal es "el químico analítico como profesional en la resolución de problemas" (parry.d@pg.com).
6. C. A. Lucy. "How To Succeed in Analytical Chemistry: A Bibliography of Resources from the Literature", *Talanta*, **51** (2000) 1125. Revisión de la literatura para dar información sobre cómo adquirir equipo, cómo escribir un manuscrito y cómo obtener un empleo en química analítica.
7. G. D. Christian. "Evolution and Revolution in Quantitative Analysis", *Anal. Chem.* **67** (1995) 532A. Explora la historia de la química analítica desde el principio de la humanidad.

ENCICLOPEDIAS Y MANUALES

8. R. A. Meyers, editor en jefe. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester: Wiley, 2000. Conjunto de 15 volúmenes: 10 volúmenes sobre aplicaciones y 5 sobre teoría e instrumentación.

9. A. Townsend, editor en jefe. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Londres: Academic, 1995. Conjunto de 10 volúmenes con amplia cobertura de la práctica de la ciencia analítica. Cubre todas las técnicas que determinan elementos, compuestos y grupos de compuestos específicos en cualquier matriz física o biológica.
10. J. A. Dean. *Analytical Chemistry Handbook*. Nueva York: McGraw Hill, 1995. Cobertura detallada de técnicas convencionales húmedas e instrumentales, operaciones preliminares de análisis, métodos de separación preliminar y estadística en el análisis químico.

MUESTREO

11. F. F. Pitard. *Pierre Gy's Sampling Theory and Sampling Practice*. Vol. 1: *Heterogeneity and Sampling*. Vol. II: *Sampling Correctness and Sampling Practice*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1989.
12. P. M. Gy y A. G. Boyle. *Sampling for Analytical Purposes*. Chichester: Wiley, 1998. Guía condensada por Pierre Gy a su fórmula originalmente desarrollada para el muestreo de materiales sólidos, pero igualmente válida para muestrear líquidos y medios de fases múltiples.
13. P. M. Gy. *Sampling of Heterogeneous and Dynamic Material Systems*. Amsterdam: Elsevier, 1992.
14. G. E. Baiulescu, P. Dumitrescu y P. Gh. Zugravescu. *Sampling*. Nueva York: Ellis Horwood, 1991.
15. N. T. Crosby, ed. *General Principles of Good Sampling Practice*. Londres: Royal Society of Chemistry, 1995.
16. P. M. Gy. "Introduction to Theory of Sampling I. Heterogeneity of a Population of Uncorrelated Units", *Trends Anal. Chem.* **14**(2) (1995) 67.
17. P. M. Gy. "Tutorial: Sampling or Gambling?", *Process Control and Quality*, **6** (1994) 97.
18. B. Kratochvil y J. K. Taylor. "Sampling for Chemical Analysis", *Anal. Chem.*, **53** (1981) 924A.
19. B. Kratochvil. "Sampling for Microanalysis: Theory and Strategies", *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **337** (1990) 808.
20. J. F. Vicard y D. Fraisse. "Sampling Issues", *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **348** (1994) 101.
21. J. M. Hungerford y G. D. Christian. "Statistical Sampling Errors as Intrinsic Limits on Detection in Dilute Solutions", *Anal. Chem.*, **58** (1986) 2567.

INTERFERENCIAS

22. W. E. Van der Linden. "Definition and Classification of Interference in Analytical Procedures", *Pure & Appl. Chem.*, **61** (1989) 91.

SOLUCIONES ESTÁNDAR

23. B. W. Smith y M. L. Parsons. "Preparation and Standard Solutions. Critically Selected Compounds", *J. Chem., Ed.*, **50** (1973) 679. Describe la preparación de soluciones estándar de 72 metales y no metales inorgánicos.
24. M. H. Gabb y W. E. Latchem. *A Handbook of Laboratory Solutions*. Nueva York: Chemical Publishing, 1968.
25. <http://pubs.acs.org/reagent/committee.html>. American Chemical Society Committee on Analytical Reagents.

CALIBRACIÓN

- 26.** H. Mark. *Principles and Practice of Spectroscopic Calibration*. Nueva York: Wiley, 1991.

MATERIALES ESTÁNDAR DE REFERENCIA

- 27.** H. Klich y R. Walker. "COMAR—The International Database for Certified Reference Materials", *Fresenius' J. Anal. Chem.* **345** (1993) 104.
- 28.** Office of Standard Reference Materials, Room B311, Chemistry Building, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland 20899.
- 29.** National Research Council of Canada, Division of Chemistry, Ottawa K1A 0R6, Canadá.
- 30.** R. Alvarez, S. D. Rasberry y G. A. Uriano. "NBS Standard Reference Materials: Update 1982", *Anal. Chem.* **54** (1982) 1239A.
- 31.** R.W. Seward y R. Mavrodineanu. "Standard Reference Material: Summary of the Clinical Laboratory Standards Issued by the National Bureau of Standards", *NBS* (NIST) *Special Publications* 260-271, Washington, DC, 1981.
- 32.** *Standard Coal Samples*. Disponibles en el U.S. Department of Energy, Pittsburgh Mining Technology Center, P. O. Box 10940, Pittsburgh, PA 15236. Las muestras se han caracterizado para 14 propiedades, incluyendo elementos principales y de trazas.



Capítulo dos

HERRAMIENTAS Y OPERACIONES BÁSICAS DE LA QUÍMICA ANALÍTICA

“Primero obtén los datos, luego modifícalos como te plazca.”

—Mark Twain

Leer este capítulo antes de realizar experimentos.

En química analítica se requieren mediciones para obtener los datos. En todo el texto se habla de equipo e instrumentos analíticos específicos disponibles para el analista, y su relación con técnicas específicas de medición. En este capítulo se describen las herramientas más comunes para la mayor parte de los análisis, las cuales serán necesarias para llevar a cabo los experimentos, como la balanza analítica y el material de vidrio volumétrico; los hornos de secado y los filtros. La explicación detallada de la manipulación física y el uso de este equipo la puede hacer mejor el instructor de laboratorio, donde el estudiante puede ver y practicar con equipo real, en especial porque tanto el equipo como su operación varían de un laboratorio a otro. En el texto se mencionan algunos de los procedimientos generales de la buena técnica de laboratorio.

2.1 Cuaderno de anotaciones del laboratorio: el registro crítico

Un buen registro de laboratorio ayudará a asegurar análisis confiables.

El lector debe darse cuenta que en el laboratorio analítico, más que en ninguna otra parte, la limpieza y el orden son de suma importancia. Esto también se aplica para el cuaderno de anotaciones. *En cuanto se obtengan los datos* se deben registrar en forma permanente con tinta. Cuando se entre al laboratorio analítico se advertirá la ventaja de este ordenamiento. Antes que nada, hay un ahorro de tiempo al no tener que reorganizar ni volver a escribir los datos. Quizá también haya ahorro adicional de tiempo si el analista se ha acostumbrado a estar mejor organizado para llevar a cabo las operaciones del análisis y escribir los datos en forma ordenada. Los riesgos de error se reducen. Además, si se efectúa un registro inmediato se podrán detectar posibles errores en las mediciones o los cálculos.

los; los datos no se perderán ni se transferirán en forma incorrecta si se registran directo en el cuaderno de anotaciones en vez de anotarlos en hojas sueltas.

Es de especial importancia para el químico analítico en la práctica y para aplicaciones en el trabajo el uso del cuaderno de registro del laboratorio para anotar directamente observaciones y mediciones. Es esencial la documentación completa para laboratorios forenses o industriales, para consideraciones legales o de patente. En los laboratorios de investigación industrial, el cuaderno de anotaciones por lo general debe ser firmado (testificado) y fechado por otra persona familiarizada con el trabajo, para asegurar la prioridad legal de patente, si es aplicable.

A continuación se ilustra un ejemplo de una hoja de registro bien efectuada, con datos correctamente registrados, para el análisis volumétrico en el laboratorio de una muestra de carbonato de sodio:

Fecha: 7 de septiembre de 2003

Análisis de una muestra de carbonato de sodio comercial

Principio: El carbonato se disuelve en agua y se titula hasta el punto de equivalencia con verde de bromocresol usando ácido clorhídrico estándar. El ácido clorhídrico se estandariza contra carbonato de sodio como estándar primario. Se pesa el carbonato de sodio y la muestra comercial por diferencia.

Referencia: Experimento 7

Reacción de titulación: $\text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+ = \text{H}_2\text{CO}_3$

Estandarización

$$M(\text{HCl}) = \frac{\text{mg Na}_2\text{CO}_3}{f \text{ wt Na}_2\text{CO}_3 (\text{mg/mmol}) \times \frac{1}{2} (\text{mmol Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol HCl}) \times \text{mL HCl}}$$

$$= \frac{\text{mg Na}_2\text{CO}_3}{105.99 (\text{mg/mmol}) \times \frac{1}{2} \times \text{mL HCl}}$$

	#1	#2	#3
Frasco + muestra	24.2689 g	24.0522 g	23.8597 g
Menos muestra	24.0522 g	23.8597 g	23.6269 g
g Na ₂ CO ₃	0.2167 g	0.1925 g	0.2328 g
mg Na ₂ CO ₃	216.7 mg	192.5 mg	232.8 mg
Lectura de la bureta	40.26 mL	35.68 mL	43.29 mL
Lectura inicial	0.03 mL	0.00 mL	0.02 mL
Volumen neto	40.23 mL	35.68 mL	43.27 mL
Molaridad:	0.1016 ₄ M	0.1018 ₀ M	0.1015 ₂ M

Promedio: 0.1016₅

Desv. estándar: 1.6 partes en 10¹²

Intervalo: 2.8 partes en 10¹²

Carbonato de sodio anhidro comercial

$$\% \text{Na}_2\text{CO}_3 = \frac{M \times \text{mL} \times f \text{ wt Na}_2\text{CO}_3 \times \frac{1}{2} (\text{mmol Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol HCl})}{\text{mg muestra}} \times 100$$

$$= \frac{0.1016_5 (\text{mmol/mL}) \times \text{mL} \times 105.99 (\text{mg/mmol}) \times \frac{1}{2}}{\text{mg muestra}} \times 100$$

Frasco + muestra	25.6728 g	25.4673 g	25.2371 g
Menos muestra	25.4673 g	25.2371 g	25.0027 g
g muestra	0.2055 g	0.2302 g	0.2344 g
mg muestra	205.5 mg	230.2 mg	234.4 mg
Lectura de bureta	35.67 mL	40.00 mL	40.70 mL
Lectura inicial	0.00 mL	0.01 mL	0.05 mL
Volumen neto	35.67 mL	39.99 mL	40.65 mL
% Na ₂ CO ₃	93.50%	93.58%	93.42%
Media: 93.50			
Desv. estándar: 0.9 partes por 10 ¹²			
Intervalo: 1.7 partes por 10 ¹²			

El ejemplo anterior es una versión abreviada en la que se omiten el cálculo completo y las operaciones numéricas. Para mantener un registro completo se deberán incluir en el cuaderno de anotaciones las operaciones de cálculo para rastrear posteriormente un error, si fuese necesario.

Más que llenar todo el espacio del cuaderno de anotaciones del laboratorio, se recomienda dejar páginas alternas para notas informales (por ejemplo, la página izquierda, dejando la derecha para el resumen de datos). También es importante registrar los datos con el número correcto de cifras significativas. Las cifras significativas se explican en el capítulo 3, y se debe revisar este material antes de comenzar a trabajar en el laboratorio.

Es importante el número correcto de cifras significativas en las mediciones y los cálculos para dar a un análisis su interpretación correcta. Véase capítulo 3.

Documentación del cuaderno de anotaciones del laboratorio

El cuaderno de anotaciones del laboratorio es un registro del trabajo del químico analista. Se documenta todo lo que hace el analista. Es la fuente de datos, publicaciones e informes reglamentarios. El éxito o fracaso del producto o servicio de una empresa puede depender de qué tan bien se organice esta documentación. El cuaderno de anotaciones se convierte en un documento legal para asuntos de patentes, de normas oficiales (validación, inspecciones, acciones legales) y temas parecidos. Recuerdese que “si no está escrito, no se hizo”. En el cuaderno de anotaciones es donde se registran las ideas originales que pueden constituir la base de una patente y, por tanto, es importante registrar qué había en esas ideas y cuándo.

¿Cuáles son las características de un cuaderno de anotaciones bien manejado? Varían con las preferencias individuales; pero aquí se presentan algunas buenas reglas:

- Usar un cuaderno de cubierta dura (no de hojas sueltas).
- Numerar consecutivamente las páginas.
- Anotar sólo con tinta.
- Nunca arrancar hojas; si no se usan páginas, cruzarlas con una línea.
- Fechar cada página, firmarla y pedir que la firme y feche (quizás un poco después) alguien más, declarando “Leído y entendido por _____”.
- Registrar el nombre del proyecto, por qué se está realizando y las referencias bibliográficas, si las hay.
- Registrar todos los datos el mismo día que se obtengan.

Un comentario acerca de *cuadernos electrónicos*. El software de los instrumentos modernos permite al analista recabar, almacenar y procesar datos directamente de la señal del instrumento con base en una calibración correcta. Es importante que el software y la calibración estén validados, así como el resto del análisis, como parte de una buena práctica de laboratorio, lo cual se analiza en el capítulo 4.

2.2 Materiales y reactivos de laboratorio

La tabla 2.1 contiene una lista de los materiales que se usan en la fabricación de aparatos comunes de laboratorio. El vidrio de borosilicato (marcas Pyrex, Kimax) es el material más comúnmente usado para utensilios de laboratorio, como vasos de precipitados, matraces, pipetas y buretas. Es estable para soluciones calientes y para cambios rápidos de

Tabla 2.1
Propiedades de los materiales de laboratorio

<i>Material</i>	<i>Temperatura máxima de trabajo (°C)</i>	<i>Sensibilidad al choque térmico</i>	<i>Inactividad química</i>	<i>Notas</i>
Vidrio de borosilicato	200	Cambio de 150°C sin problemas	Lo afectan ligeramente las soluciones alcalinas al calentar	Marcas registradas: Pyrex (Corning Glass Works); Kimax (Owens-Illinois)
Vidrio suave		Pobre	Lo afectan las soluciones alcalinas	Libre de boro. Marca registrada: Corning
Vidrio resistente al álcali		Más sensible que el borosilicato		
Vidrio de cuarzo	1 050	Excelente	Resistente a la mayor parte de los ácidos y halógenos	Crisoles de cuarzo usados para fusiones
Vidrio de alta sílice	1 000	Excelente	Más resistente a los álcalis que el de borosilicato	Similar al vidrio de cuarzo
Porcelana	1 100 (vidriado) 1 400 (sin vidriar)	Bueno	Excelente	Marca registrada: Vycor (Corning)
Platino	ca. 1 500		Resistente a la mayor parte de los ácidos y sales fundidas. Lo afecta el agua regia, los nitratos fundidos, cianuros y cloruros a >1 000°C. Aleaciones con oro, plata y otros metales	Por lo regular aleado con iridio o rodio para aumentar la dureza. Crisoles de platino para fusiones y tratamiento con HF
Níquel y hierro			Las muestras fundidas se contaminan con el metal	Crisoles de Ni y Fe usados para fusiones con peróxido
Acero inoxidable	400-500	Excelente	No lo atacan los álcalis ni los ácidos, salvo el HCl concentrado, el H ₂ SO ₄ diluido y el HNO ₃ concentrado en ebullición	
Polietileno	115		No lo atacan las soluciones alcalinas ni el HF. Lo atacan la mayor parte de los disolventes orgánicos (acetona y etanol pasan la prueba)	Plástico flexible
Poliestireno	70		No lo ataca el HF. Lo atacan muchos disolventes orgánicos	Algo quebradizo
Teflón	250		Inerte a la mayor parte de productos químicos	Útil para almacenamiento de soluciones y reactivos para análisis de metales traza. Crisoles de cuarzo usados para fusiones

En análisis, casi siempre se usan productos químicos grado reactivo. Los estándares primarios se usan para preparar soluciones volumétricas estándar.

temperatura. Para más aplicaciones específicas hay otros materiales que pueden tener ventajas con respecto a la resistencia química, estabilidad térmica y otras.

Los diferentes grados de productos químicos se encuentran en la lista de la guarda posterior del libro. En general, sólo se deben usar los reactivos *grado reactivo* de la *American Chemical Society (ACS)* o *estándares primarios*.

La American Chemical Society publica un compendio de pruebas para evaluar la pureza y calidad de los productos químicos básicos de laboratorio. Los reactivos que no hacen referencia a la ACS cumplen con las especificaciones del propio fabricante de los reactivos, las cuales varían entre los diversos proveedores.

Los productos químicos grado reactivo, además de cumplir con los requisitos mínimos de pureza, se pueden suministrar con un informe del análisis de impurezas (impreso en la etiqueta). Los productos químicos de estándar primario por lo general tienen una pureza mínima de 99.95%. Se analizan y se imprimen los resultados en la etiqueta. Son más costosos que los productos químicos grado reactivo y se usan sólo para preparar soluciones estándar o para la estandarización de una solución por reacción (titulación). No todos los productos químicos están disponibles en grado de estándar primario. Hay grados especiales de disolventes para propósitos especiales; por ejemplo, grados espectrales o cromatográficos. Éstos se purifican en forma específica para remover impurezas que podrían interferir en la aplicación de que se trata. Del mismo modo, hay ácidos analizados para contenido de metales traza que se refinan especialmente y se prueban en mayor detalle para detectar trazas de impurezas elementales, por lo general en el intervalo de partes por 10^9 (ppb o partes por billón, según el sistema estadounidense).

Además de los productores comerciales, el National Institute of Standards and Technology suministra productos químicos grado estándar primario. La *Special Publication 260 del NIST* cataloga materiales de referencia estándar. (Véase <http://ts.nist.gov/ts/htdocs/230/232/232.htm> para información acerca del programa SRM y la lista de estándares de referencia.) Los estándares de referencia son materiales complejos, como aleaciones que han sido cuidadosamente analizadas para determinar los ingredientes, y se usan para verificar o calibrar un procedimiento analítico.

Las concentraciones de ácidos y bases comercialmente disponibles se ubican en la lista de la parte interior de la guarda posterior.

2.3 La balanza analítica: herramienta indispensable

La balanza mide la masa.

Registrar el peso es una parte necesaria para casi cualquier análisis, tanto para medir la muestra como para preparar soluciones estándar. En química analítica se manejan pesos más bien pequeños, en el orden de unos pocos gramos hasta unos pocos miligramos o menos. Las pesadas estándar de laboratorio se hacen por lo general con tres o cuatro cifras significativas y, por tanto, el dispositivo para pesar debe ser exacto y sensible. Hay diversas maneras complejas de lograr estos objetivos, pero el dispositivo más útil y versátil es la **balanza analítica**.

La mayor parte de las balanzas analíticas que se usan actualmente son electrónicas. Sin embargo, todavía se emplea la balanza mecánica de un solo platillo, por lo cual se describirá su operación. Ambos tipos se basan en la comparación de un peso contra otro (la electrónica para calibración) y tienen en común factores como el ajuste del punto cero y la amortiguación por aire. En realidad se manejan masas, más que pesos. El **peso** de un objeto es la fuerza que ejerce sobre él la atracción gravitacional. Esta fuerza será diferente en distintos lugares de la Tierra. Por otra parte, la **masa** es la cantidad de materia de la que está hecho el objeto, y es invariable.

BALANZAS ELECTRÓNICAS: LAS MÁS CONVENIENTES

Es más conveniente usar balanzas electrónicas.

Las modernas balanzas electrónicas ofrecen comodidad en la pesada y presentan menos errores y fallas mecánicas que las balanzas mecánicas. Se eliminan las operaciones de ajustar



Figura 2.1. Balanza analítica electrónica. (Cortesía de Denver Instrument Co. Las imágenes son propiedad de Denver Instrument Company.)

pesos, girar y leer micrómetros, y detener brazo y platillos, necesarias en las balanzas mecánicas; esto acelera en forma notable la medición. La figura 2.1 muestra una balanza electrónica con carátula digital, y la figura 2.2 ilustra el principio operativo de la balanza electrónica. No hay pesas ni cuchillas como en las balanzas mecánicas. El platillo se asienta sobre el brazo de un suspensor móvil (2), y este sistema móvil está compensado por una fuerza electromagnética constante. La posición del suspensor es monitoreada por un escaneador eléctrico de posición (1), que devuelve el sistema de pesado a la posición cero. La corriente de compensación es proporcional al peso colocado sobre el platillo. Esta corriente se envía en forma digital a un microprocesador que la convierte en el correspondiente valor de peso que aparece en la pantalla digital. El peso del contenedor se puede restar automáticamente.

Estas balanzas usan el principio de compensación de fuerza electromagnética, descrito por primera vez por Angstrom en 1895, pero todavía usan el principio de comparación de un peso con otro. La balanza se “pone en cero” o se calibra mediante un peso conocido. Cuando se coloca la muestra en el platillo, su peso se compara electrónicamente con el conocido. Ésta es una forma de autocalibración. Las balanzas modernas pueden tener características como compensación por desviaciones del cero verdadero y promedio de las variaciones debidas a vibraciones del edificio.

Se usa una sola barra de control para encender y apagar la balanza, para poner la carátula en cero y para tarar automáticamente un contenedor sobre el platillo. Como los

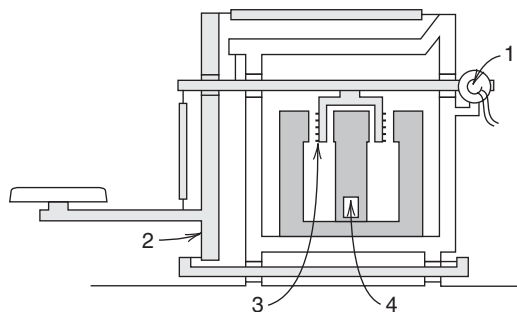


Figura 2.2. Principio de operación de la balanza electrónica: 1) escaneador de posición; 2) suspensor; 3) bobina; 4) sensor de temperatura. (Según K.M. Lang, *American Laboratory*, marzo 1983, p. 72. Reproducción autorizada por American Laboratory, Inc.)

resultados están disponibles como señal eléctrica se pueden procesar fácilmente mediante una computadora personal y almacenarse. Se pueden calcular automáticamente estadísticas de pesadas.

Las balanzas analíticas electrónicas se pueden adquirir con diferentes capacidades de pesado y con distintas legibilidades. Una macrobalanza tiene una capacidad promedio de 160 g, legible hasta 0.1 mg, y una semimicrobalanza tiene una capacidad promedio de alrededor de 30 g, legible hasta 0.01 mg. Las microbalanzas pesan hasta 1 μg y hay disponibles ultramicrobalanzas sensibles a 0.1 μg o menos.

¡Hay disponibles balanzas electroquímicas de cuarzo con capacidad de 100 μg que pueden detectar cambios de 1 ng (10^{-9} g)! La balanza utiliza un disco delgado de cristal de cuarzo que oscila, por ejemplo, a 10 MHz. La frecuencia de oscilación cambia con cualquier cambio en la masa, y el cambio de frecuencia medido por el instrumento se convierte en unidades de masa. Una película de oro se evapora sobre cuarzo, y el sustrato de oro se puede cubrir con el material que interese. Se pueden medir cambios de masa tan pequeños como un reducido porcentaje de un recubrimiento de monopelícula de átomos o moléculas sobre la superficie de oro. Se pueden registrar cambios de masa con respecto al tiempo.

BALANZA MECÁNICA DE UN SOLO PLATILLO

Las balanzas mecánicas están siendo reemplazadas por balanzas electrónicas, pero todavía hay muchas en uso (y son excelentes balanzas), por lo cual se describen aquí.

La balanza mecánica analítica es una palanca de primera clase que compara dos masas. La figura 2.3 ilustra una de estas balanzas. El fulcro A está entre los puntos de aplicación de las fuerzas B y C . El término M_1 representa la masa desconocida, y M_2 una masa conocida. El principio de operación se basa en el hecho de que, en el equilibrio, $M_1L_1 = M_2L_2$. Si L_1 y L_2 se construyen para ser tan iguales como sea posible, entonces en el equilibrio, $M_1 = M_2$. Se coloca entonces en el brazo de la balanza un fiel que apunta hacia una escala para indicar cuándo se ha alcanzado el estado de equilibrio. El operador ajusta el valor de M_2 hasta que el fiel regresa a su posición original en la escala cuando la balanza no se encuentra cargada. Aunque la masa está determinada, la relación de masas es la misma que la relación de pesos cuando se usa una balanza de brazos iguales; por esto se acostumbra usar el término *peso* en vez de *masa*, y así se dice que el operador *está pesando*. Las masas conocidas se llaman **pesas estándar**.

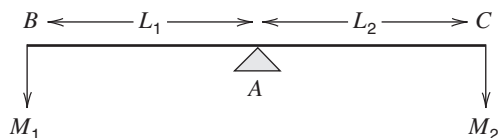
La mayor parte de las pesadas analíticas con balanzas mecánicas se hacen con una balanza de un solo platillo. La figura 2.4 muestra un diagrama esquemático de una balanza mecánica común de un solo platillo (véase más adelante la descripción de las balanzas electrónicas modernas).

Método de pesada de cerdos de Burns: "1) Se consigue una tabla perfectamente recta y se equilibra colocándola sobre un burro de los que se usan para cortar madera; 2) se coloca al cerdo en un extremo de la tabla; 3) se apilan rocas sobre el otro extremo hasta que la tabla quede de nuevo perfectamente equilibrada; 4) se calcula cuidadosamente el peso de las rocas." —Robert Burns.

Una palanca (asimétrica) de primera clase tiene como pivote un fulcro o el filo de una cuchilla y el platillo está en un extremo, sobre el cual se coloca el objeto. Sin embargo, no hay platillo en el otro extremo para colocar pesas. Cuando la balanza no está en uso, hay una serie de pesas que totalizan 160 a 200 g en el lado del platillo del brazo. Estas pesas son contrabalanceadas por una sola pesa al otro lado del brazo, que también actúa como parte de un pistón de amortiguamiento. Cuando se coloca un objeto en el platillo se *quitan* pesas individuales de este lado del brazo para restaurar el equilibrio. Esto se logra mediante perillas al frente de la balanza que levantan las pesas o combinaciones de pesas del brazo. Así, las pesas nunca se tocan con la mano. Estas pesas levantadas serán iguales al peso del objeto que está sobre el platillo.

En realidad, el brazo no se pone completamente en equilibrio, pero las pesas se quitan sólo hasta el gramo entero o 0.1 g más próximo, dependiendo de la balanza. El

Figura 2.3. Principio de la balanza analítica.



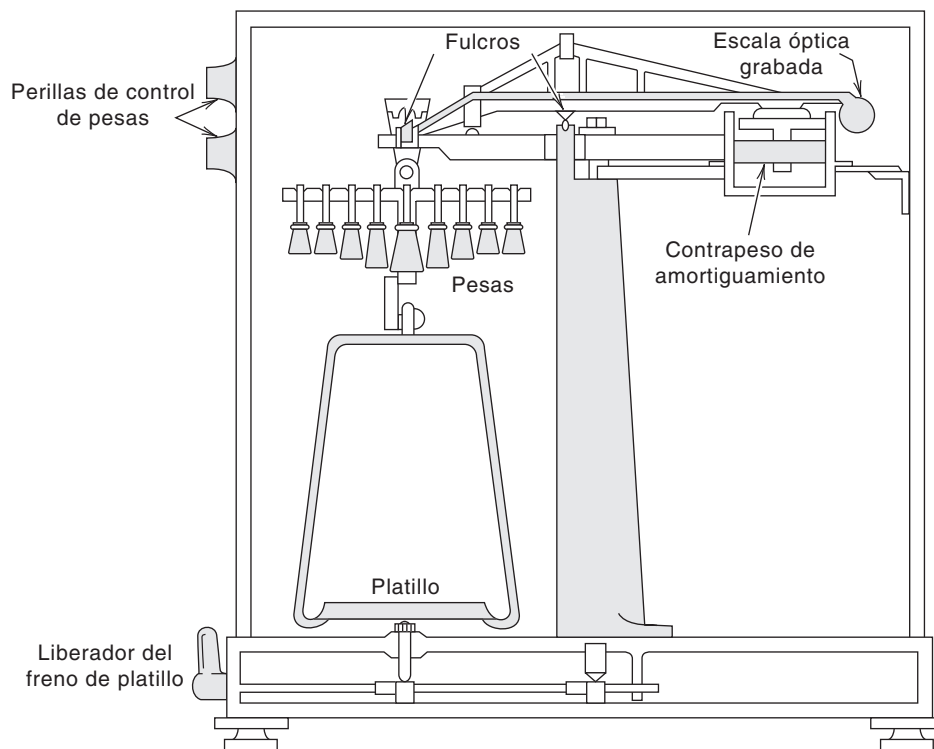


Figura 2.4. Diagrama esquemático de una balanza típica de un solo platillo.

desequilibrio del brazo se registra en forma óptica y automáticamente en una escala vernier mediante un rayo luminoso que refleja una escala óptica grabada en el brazo. En esta escala se leen los últimos dígitos (cerca de 0.1 mg). Asimismo, el desequilibrio se puede leer en un contador digital.

La lectura o posición original sin carga se llama **punto cero**, y la posición bajo carga se llama **punto de reposo**. En operación, el punto de reposo se hace coincidir con el punto cero. El punto cero por lo general se ajusta para que marque cero ajustando el vernier mediante una perilla.

Las balanzas de un solo platillo están bajo carga constante de 160 o 200 g, característica necesaria porque no regresan a un estado de equilibrio. La sensibilidad de la balanza varía con la carga porque está dominada por el centro de gravedad del brazo; el brazo se flexiona ligeramente bajo la carga, ocasionando un cambio en el centro de gravedad y en la sensibilidad. La calibración del vernier o de la carátula digital de una balanza de un solo platillo para leer la cantidad de desequilibrio se realiza con una sensibilidad dada; es decir, a una carga dada. Por tanto, la carga debe permanecer constante.

Todas las pesas de una balanza de un solo platillo están ocultas y se quitan por medio de perillas de control al frente de la balanza: una para las décimas (por ejemplo, 10 a 90 g); una para las unidades (1 a 9 g) y, si es aplicable, una para unidades de 0.1 (0.1 a 0.9 g); las pesas que se quitan se registran en un contador al frente de la balanza. El brazo se pone rápidamente en reposo mediante un amortiguador de pistón de aire.

Se debe tener cuidado de no dañar los fulcros en tanto la balanza no esté en operación y mientras se colocan o se quitan objetos del platillo. Se usa una perilla de frenado del brazo de tres posiciones para proteger los fulcros y el brazo. La posición central frena el platillo y el brazo; una segunda posición libera parcialmente el platillo, para usarse mientras se encuentra el peso aproximado del objeto sobre el platillo, y una tercera posición libera por completo el platillo para permitir que la balanza se ponga en reposo.

La figura 2.5 es una balanza común de un solo platillo. Las pesadas se pueden hacer en menos de un minuto con estas balanzas.

Verificar siempre el punto cero antes de hacer pesadas.

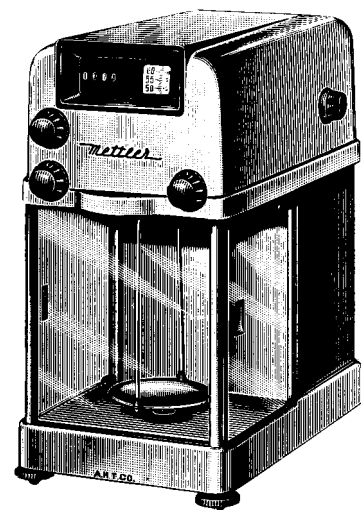


Figura 2.5. Balanza común de un solo platillo. (Cortesía de Arthur H. Thomas Company.)

BALANZAS SEMIMICRO Y MICRO

La mayor parte de las pesadas cuantitativas se hacen a 0.1 mg.

Hasta aquí, la explicación se ha limitado a balanzas convencionales macro o analíticas. Éstas realizan pesadas cercanas a 0.1 mg, y pueden manejar cargas hasta de 100 o 200 g, lo cual es satisfactorio para la mayor parte de pesadas analíticas de rutina. Todas las clases de balanzas descritas se pueden hacer más sensibles cambiando los parámetros que afectan la sensibilidad, por ejemplo disminuyendo la masa del brazo y los platillos; aumentando la longitud del brazo y cambiando el centro de gravedad del brazo. Se puede usar material más ligero para el brazo, ya que no necesita ser tan robusto como el brazo de una balanza convencional.

La *semimicrobalanza* es sensible a alrededor de 0.01 mg, y la *microbalanza* es sensible a alrededor de 0.001 mg (1 μ g). Por tanto, los límites de carga de estas balanzas son menores que el de la balanza convencional y se debe tener más cuidado en su uso.

DESVIACIÓN DEL PUNTO CERO

El punto cero de una balanza no es una constante que se pueda determinar o ajustar y olvidar. Se desviará por diversas razones que incluyen cambios de temperatura, humedad y electricidad estática. Por tanto, se debe verificar el punto cero por lo menos una vez cada media hora durante el periodo de uso de la balanza.

PESAJE EN VACÍO: EL MÁS EXACTO

¡Un objeto con un volumen de 1 mL experimenta una fuerza de flotación de 1.2 mg!

Las pesadas que se hacen en una balanza darán, desde luego, el peso en el aire. Cuando un objeto desplaza en el aire su volumen sufre un empuje de flotación igual al peso del aire que desplaza (**principio de Arquímedes**: véase en el recuadro del capítulo 1 cómo se originó la química analítica). La densidad del aire es 0.0012 g (1.2 mg) por mililitro. Si la densidad de las pesas y la densidad del objeto que se pesa son iguales, entonces sufrirán un empuje de flotación igual, y el peso registrado será igual al peso en el vacío, donde no hay flotación. Si las densidades son notablemente diferentes, las diferencias en empujes de flotación producirán un pequeño error en la pesada: uno flotará más que el otro, y esto dará como resultado un desequilibrio. Tal situación se da cuando se pesan objetos muy densos [por ejemplo, recipientes de platino (densidad = 21.4) o mercurio (densidad = 13.6)] o bien objetos ligeros y voluminosos [por ejemplo agua (densidad $\approx$ 1)]; y en un trabajo cuidadoso se debe hacer una corrección de este error. Para comparar, la densidad de las pesas que se usan en las balanzas es alrededor de 8. Véase la referencia 14 para correcciones por empuje de flotación en aire con una balanza de un solo platillo (la referencia 10 describe la calibración de las pesas en una balanza de un solo platillo).

El empuje de flotación del recipiente de pesaje se descarta, ya que el peso se resta.

En realidad, en la mayor parte de los casos no es necesaria la corrección porque el error que se produce por la flotación se cancela en los cálculos de composición porcentual. El mismo error ocurrirá en el numerador (como la concentración de una solución estándar o el peso de un precipitado gravimétrico) y en el denominador (como el peso de la muestra). Desde luego, todas las pesadas se deben hacer con los materiales en el mismo tipo de recipiente (la misma densidad) para conservar constante el error.

Las correcciones por flotación por lo regular son importantes para la calibración del material de vidrio de laboratorio.

Un ejemplo de uso de la corrección en vacío es la calibración de equipo de vidrio de laboratorio. Se mide la masa de agua o mercurio vertida en estos equipos; a partir del conocimiento de la densidad del líquido a la temperatura especificada se puede calcular su volumen por la masa. Incluso en estos casos, la corrección por flotación es de sólo una parte por mil. Para la mayoría de los objetos que se pesan, los errores por flotación se pueden ignorar. Los manuales contienen tablas para convertir peso de agua o de mercurio en el aire a volumen a diferentes temperaturas, usando pesas de latón.

Los pesos de objetos en el aire se pueden corregir a peso en el vacío mediante

$$W_{\text{vac}} = W_{\text{air}} + W_{\text{air}} \left(\frac{0.0012}{D_o} - \frac{0.0012}{D_w} \right) \quad (2.1)$$

donde W_{vac} = peso en el vacío, g
 W_{air} = peso observado en el aire, g
 D_o = densidad del objeto
 D_w = densidad de las pesas
 0.0012 = densidad del aire

La densidad de las pesas de latón es 8.4, y la de las pesas de acero inoxidable es 7.8. Un cálculo con agua como el objeto basta para convencerse de que, incluso en este caso, la corrección será de sólo una parte por mil.

Ejemplo 2.1

Una manera cómoda de calibrar pipetas es pesar el agua medida por ellas. A partir de la densidad del agua a la temperatura dada se puede calcular el volumen vertido. Supóngase que se debe calibrar una pipeta de 20 mL. Un frasco vacío tapado pesa 29.278 g. Se vierte agua en él con la pipeta, y ahora pesa 49.272 g. Si se usan pesas de latón, ¿cuál es el peso del agua vertida corregida a peso en el vacío?

La misma corrección por flotación se aplica para las balanzas mecánicas y electrónicas (que están calibradas con pesas de densidad conocida).

Solución

El aumento en peso es el peso del agua en el aire:

$$49.272 - 29.278 = 19.994 \text{ g}$$

La densidad del agua es 1.0 g/mL (a 2 cifras significativas de 10 a 30°C; véase la tabla 2.4). Por tanto,

$$W_{\text{vac}} = 19.994 + 19.994 \left(\frac{0.0012}{1.0} - \frac{0.0012}{8.4} \right) = 20.015 \text{ g}$$

Ejemplo 2.2

Recalcular el peso del agua vertida por la pipeta en el ejemplo 2.1 usando pesas de acero inoxidable con densidad de 7.8 g/cm³.

Solución

No redondear sino hasta el final del cálculo. Se obtiene entonces el mismo valor:

$$W_{\text{vac}} = 19.994 + 19.994 \left(\frac{0.0012}{1.0} - \frac{0.0012}{7.8} \right) = 20.015 \text{ g}$$

Esto ilustra que las correcciones por flotación de la tabla 2.4 son válidas para cualquier tipo de pesa.

FUENTES DE ERROR EN LA PESADA

Se han mencionado diversas fuentes posibles de error, como la desviación del punto cero, las pesas y el empuje de flotación. El cambio en la temperatura ambiente o la temperatura del objeto que se pesa tal vez sea la mayor fuente de error, ocasionando una desviación en el punto cero o en el punto de reposo debida a convecciones de las corrientes de aire. Los objetos calientes o fríos se deben poner a temperatura ambiente antes de pesarse. Las muestras higroscópicas pueden absorber humedad; se deben evitar al máximo las atmósferas de humedad notablemente alta y la exposición al aire antes y durante la pesada.

REGLAS GENERALES PARA EL PESAJE

Se ha visto que hay diversos tipos de balanzas, y que su operación será diferente según el fabricante. La operación específica de una balanza dada la explicará el instructor. Los principales objetivos son: 1) proteger los fulcros; 2) proteger todas las partes contra el polvo y la corrosión; 3) evitar la contaminación o cambio en la carga (de la muestra o del recipiente), y 4) evitar errores por corrientes de aire (convección de aire). En seguida se dan algunas reglas con las que el usuario debe familiarizarse antes de pesar con cualquier tipo de balanza analítica:

¡Aprenda estas reglas!

1. Nunca manejar con los dedos los objetos que se van a pesar. Se debe usar un trozo de papel limpio o pinzas.
2. Pesar a temperatura del laboratorio y evitar así corrientes de aire de convección.
3. Nunca colocar productos químicos directo sobre el platillo; pesarlos en un recipiente (pesafiltros, plato de pesada), o en papel para polvos. Siempre retirar de inmediato las sustancias que se derramen, usando una escobilla suave.
4. Siempre cerrar la puerta de la caja de la balanza antes de hacer la pesada. Las corrientes de aire desestabilizan la balanza.
5. Si se usa balanza mecánica, nunca colocar objetos ni pesas sobre los platillos ni quitarlos sin asegurar el freno de brazo y el freno de platillo.

PESAJE DE SÓLIDOS

Para muestras higroscópicas es necesario pesar por diferencia.

Los materiales químicos sólidos (no metálicos) normalmente se pesan y se secan en un **pesafiltros**. La figura 2.6 muestra algunos de ellos. Tienen bocas y tapones de vidrio esmerilado de conicidad estándar, y las muestras higroscópicas (que absorben agua del aire) es posible pesarlas con el frasco tapado herméticamente. Las pesadas de réplica se pueden realizar en forma más conveniente por **diferencia**, por lo menos con las balanzas mecánicas más lentas. Con balanzas electrónicas no se ahorra mucho tiempo. La muestra en el pesafiltros se pesa y luego se retira una porción de muestra (por ejemplo, con pequeños golpes) y se transfiere cuantitativamente a un recipiente apropiado para la disolución de la muestra. El pesafiltros y la muestra se vuelven a pesar, y a partir de la diferencia en peso, se calcula el peso de la muestra retirada. Se quita la siguiente muestra y se repite la pesada para calcular su peso por diferencia, y así sucesivamente. Esto se ilustra bajo el título de “El cuaderno de anotaciones del laboratorio” para el experimento de carbonato de sodio comercial.

Es evidente que por esta técnica sólo se requiere un promedio de una pesada por cada muestra, más una pesada adicional para la primera. Sin embargo, cada peso representa la diferencia entre dos pesadas, de modo que el error experimental total está dado por el

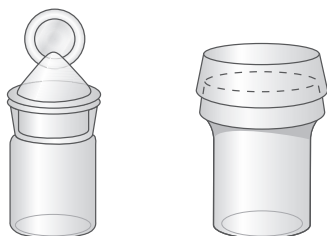


Figura 2.6. Botellas de pesado.

error combinado de ambas pesadas. El pesaje por diferencia *con el frasco tapado* se debe usar si la muestra es higroscópica o si por cualquier razón no se puede exponer a la atmósfera antes de la pesada. Si no hay peligro por exposición atmosférica, no es necesario tapar el frasco.

Para el **pesado directo** se usa un **plato de pesar** (figura 2.7), o bien papel de pesar o una navecilla de pesar de plástico. El plato, el papel o la navecilla se pesan vacíos y luego con la muestra. Esto necesita dos pesadas para cada muestra. La muestra pesada se transfiere con la ayuda de un pincel de pelo de camello después de dar unos golpecitos al recipiente que se usó para pesar. La pesada directa sólo es satisfactoria si la muestra no es higroscópica.

Para pesadas muy cuidadosas (por ejemplo, con exactitud de unas pocas décimas de miligramo) se debe tener cuidado de no contaminar el recipiente de pesado con material extraño que pudiera afectar el peso. Se debe tener especial cuidado de no dejar sudor de las manos en el recipiente, porque esto podría alterar bastante la exactitud del peso. Es mejor manejar el recipiente con un trozo de papel. Las muestras sólidas a menudo se deben secar hasta peso constante. Siempre se dejará que las muestras adquieran la temperatura del cuarto de balanza antes de pesar.

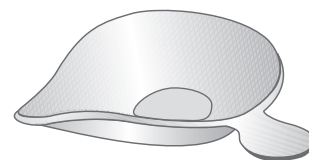


Figura 2.7. Plato de pesar.

PESAJE DE LÍQUIDOS

El pesaje de líquidos normalmente se hace por pesada directa. El líquido se transfiere a un recipiente tarado (por ejemplo, un pesafiltros), que se tapa para evitar la evaporación durante la pesada, y luego se pesa. Si se pesa una muestra líquida por diferencia, extrayendo con pipeta una alícuota del pesafiltros, el interior de la pipeta se debe enjuagar varias veces después de la transferencia. Se debe tener cuidado de no perder muestra por la punta de la pipeta durante la transferencia.

TIPOS DE PESADA: ¿QUÉ EXACTITUD SE REQUIERE?

Hay dos tipos de pesada en química analítica: la **aproximada** y la **exacta**. Las pesadas aproximadas a dos o tres cifras significativas se usan normalmente cuando sólo es necesario saber con exactitud, dentro de un pequeño porcentaje, la cantidad de la sustancia que se va a pesar. Ejemplos de esto son los reactivos que se disuelven y más tarde se estandarizan contra un estándar conocido, o el cuarteo o división de reactivos que se han de secar y luego pesar con exactitud, o simplemente aquellos que se van a agregar directo para ajustar las condiciones de una solución. Es decir, sólo se requieren pesadas aproximadas cuando el peso no forma parte del cálculo en los resultados analíticos. No es necesario hacer pesadas aproximadas en balanzas analíticas; éstas se hacen en balanzas de triple brazo, de carga superior o de torsión.

Las pesadas exactas se reservan para obtener el peso de una muestra que se va a analizar, el peso del producto secado en los procedimientos gravimétricos o el peso de un reactivo secado que se usa como estándar en una determinación; estos pesos por lo general se deben conocer con cuatro cifras significativas para usarse en el cálculo del resultado analítico. **Estas pesadas se hacen sólo en una balanza analítica, por lo regular hasta cerca de 0.1 mg.** Rara vez se pesa una cantidad exacta predeterminada de reactivo (por ejemplo, 0.5000 g); más bien se pesa una cantidad aproximada (alrededor de 0.5 g), la cual se pesa con exactitud (por ejemplo, para dar 0.5129 g). Algunos productos químicos nunca se pesan en una balanza analítica. Los glóbulos de hidróxido de sodio, por ejemplo, son tan higroscópicos que absorben continuamente humedad. El peso de una cantidad dada de hidróxido de sodio no es reproducible (y su pureza no se conoce). Para obtener una solución de concentración conocida de hidróxido de sodio se pesa el hidróxido de sodio en una balanza ordinaria y se disuelve; luego se estandariza la solución contra una solución estándar de ácido.

Sólo se tienen que hacer algunas pesadas en balanza analítica: las que forman parte de los cálculos cuantitativos.

2.4 Cristalería volumétrica: también es indispensable

Aunque las mediciones exactas de volúmenes se pueden evitar en los métodos gravimétricos de análisis, sí se requieren para casi cualquier otro tipo de análisis que utilice soluciones.

MATRACES VOLUMÉTRICOS

Los matraces volumétricos contienen un volumen exacto.

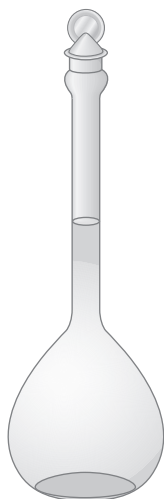


Figura 2.8. Matraz volumétrico.

Los matraces volumétricos se usan para diluir una muestra o solución hasta cierto volumen. Vienen en varios tamaños, desde 2 L o más hasta 1 mL. La figura 2.8 muestra un matraz volumétrico común. Estos matraces están diseñados para **contener** un volumen exacto a la temperatura especificada (20 o 25°C) cuando la parte inferior del menisco (la curvatura cóncava de la superficie superior del agua en una columna, causada por la acción capilar; véase la figura 2.14) toca apenas la marca de “lleno” alrededor del cuello del matraz. El coeficiente de dilatación del vidrio es pequeño, y para las fluctuaciones de temperatura ambiente se puede considerar constante. Estos matraces están marcados con las siglas “TC” (to contain = capacidad). Otros recipientes menos exactos, como las probetas graduadas, también están marcados “TC”. Muchos de éstos traen una marca del fabricante para indicar la incertidumbre de medición de recipiente; por ejemplo, un matraz volumétrico de 250 mL es “ ± 0.24 mL”, equivalente a un margen de error de 0.1 por ciento.

Inicialmente se agrega una pequeña cantidad de diluyente (por lo regular agua destilada). Los reactivos nunca se deben añadir directo a una superficie seca de vidrio, ya que el vidrio es muy absorbente. Cuando se usa un matraz volumétrico, una solución se debe preparar por pasos. El reactivo deseado (ya sea sólido o líquido) se pone en el matraz y luego se agrega diluyente hasta llenar alrededor de dos tercios del matraz (teniendo cuidado de enjuagar cualquier reactivo que haya quedado en la junta de vidrio esmerilado). Es bueno agitar con movimiento giratorio el matraz con la solución antes de agregar más diluyente hasta el cuello del matraz, para realizar la mayor parte del mezclado (o disolución en el caso de un sólido). Finalmente, se añade diluyente hasta que la parte inferior del menisco esté nivelada con la parte media de la marca de calibración (a nivel del ojo). Si hay gotitas de agua en el cuello del frasco por encima del menisco se secan con un trozo de papel absorbente. También se seca la boca esmerilada para el tapón.

Por último, la solución se mezcla enérgicamente como sigue: se mantiene el tapón firmemente en su sitio usando el pulgar o la palma de la mano; se invierte el matraz y se hace girar o se sacude *vigorosamente* durante 5 a 10 s. Se coloca de nuevo boca arriba y se deja que la solución drene por el cuello del matraz. Se repite por lo menos 10 veces.

Nota: Si el volumen del líquido rebasa la marca de calibración, todavía es posible salvar la solución como sigue: se pega en el cuello del matraz una tira delgada de papel y se marca en ella con un lápiz afilado la posición del menisco, evitando error de paralaje. Después de quitar del matraz la solución perfectamente mezclada, se llena con agua el matraz hasta la marca de calibración. Luego, mediante una bureta o una pequeña pipeta graduada en volumen, se agrega agua al frasco hasta que el menisco suba hasta la marca sobre la tira de papel. Se anota y registra el volumen así añadido y se usa para corregir matemáticamente el cálculo de concentración.

PIPETAS

La pipeta se usa para trasvasar un volumen dado de solución. Así, se usa a menudo para verter cierta fracción (**alícuota**) de una solución. Para determinar la fracción se debe conocer el volumen original de solución de la cual se toma la alícuota, pero no tiene que estar todo presente con tal de que no se haya evaporado o diluido. Hay dos tipos ordinarios de pipetas: la **pipeta volumétrica** o **de traslado** y la **pipeta de medición** o **graduada** (véanse las figuras 2.9 y 2.10). Hay variantes de la segunda que se llaman también **pipetas clínicas** o **serológicas**.

Las pipetas volumétricas miden un volumen exacto.

Las pipetas están diseñadas para **proporcionar** un volumen específico a una temperatura dada, y están marcadas “TD” (to deliver = para proporcionar, verter). Aquí también se puede considerar constante el volumen con pequeños cambios de temperatura. Las pipetas están calibradas de modo que se toma en cuenta el drenado de la película que permanece en las paredes de vidrio. El drenado de la película varía algo con el tiempo que tarda el vertido; por lo regular se permite que la solución drene bajo la fuerza de gravedad y poco después de verter la solución se remueve la pipeta. Se debe adoptar un tiempo uniforme de drenado.

La pipeta volumétrica se usa para mediciones exactas, pues está diseñada para medir sólo un volumen y se calibra a ese volumen. En general se consigue una exactitud hasta de cuatro cifras significativas, aunque con la calibración adecuada se pueden obtener cinco cifras si es necesario. Véanse en la tabla de la *guarda posterior* las tolerancias de pipetas volumétricas de clase A. Las pipetas de medición son de canal recto, marcadas a diferentes intervalos de volumen. No son tan exactas porque la falta de uniformidad del diámetro interno del dispositivo tendrá un efecto relativamente mayor sobre el volumen total que en el caso de pipetas con forma de bulbo. Asimismo, el drenado de la película variará según el volumen vertido. En el mejor de los casos se puede esperar una exactitud hasta de tres cifras significativas, a menos que se haga el esfuerzo de calibrar la pipeta para que mida un volumen dado.

La mayor parte de las pipetas volumétricas se calibran para proporcionar la cantidad indicada quedando un pequeño volumen en la punta. Éste no se debe sacudir ni soplar. Al verter, la pipeta se mantiene verticalmente y la punta toca el lado del recipiente para asegurar un vertido suave sin salpicaduras, y de modo que se quede el volumen correcto en la punta. La fuerza de atracción del líquido sobre la pared del recipiente extraerá parte de éste.

Algunas pipetas son de **soplar** (incluyendo pipetas de medición calibradas a todo el volumen de la punta). El volumen final de la solución se debe soplar hacia fuera de la punta para verter la cantidad calibrada. Estas pipetas son fáciles de identificar porque siempre tienen una o dos **bandas esmeriladas** alrededor de la boquilla superior. (Éstas no se deben confundir con la banda de color que se usa sólo como código de color para el volumen de la pipeta.) La solución no se sopla hacia fuera sino hasta que ha drenado por completo por gravedad. Soplar para aumentar el caudal de vertido cambiará el volumen de drenado de la película.

Se dispone de pipetas volumétricas en tamaños de 100 a 0.5 mL o menos. Las pipetas de medición y las serológicas tienen capacidades totales que van desde 25 hasta 0.1 mL. Las pipetas de medición se pueden usar para mediciones exactas, en especial para pequeños volúmenes, si están calibradas al volumen que se desea. Las pipetas de medición más grandes por lo regular vierten demasiado rápido para permitir un drenado tan rápido como el vertido, y tienen un diámetro interior demasiado grande para permitir la lectura exacta.

Al usar una pipeta, siempre se debe secar el exterior de la punta después del llenado. Si se usa un solvente distinto al agua, o si la solución es viscosa, las pipetas se deben recalibrar para el nuevo disolvente o la nueva solución para tomar en cuenta la diferencia en el caudal de drenado.

Las pipetas se llenan por succión usando un bulbo de hule para pipetas, una bomba de pipetas u otro dispositivo de pipeteo. Antes de usar una pipeta se practica llenarla con agua. Ninguna solución se debe pipetear por succión con la boca.

PIPETAS TIPO JERINGA

Éstas se pueden usar para mediciones tanto de macrovolúmenes como de microvolúmenes. La marca de calibración en las jeringas puede no ser muy exacta, pero la reproducibilidad puede ser excelente si se usa un dispensador automático, como un dispositivo de resorte



Figura 2.9. Pipetas de traslado o volumétricas.

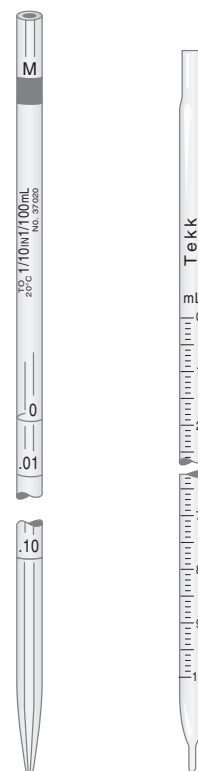
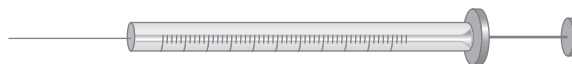


Figura 2.10. Pipetas de medición.

Figura 2.11. Jeringa Hamilton de microlitros.



Las pipetas tipo jeringa son útiles para proporcionar volúmenes de microlitros.

que regresa el émbolo hasta el mismo nivel cada vez. El volumen que se proporciona de esta manera está libre de errores de drenado, porque el émbolo fuerza la solución hacia fuera. El volumen proporcionado se puede calibrar con exactitud. Las pipetas de jeringa de microlitros se usan para la introducción de muestras en los cromatógrafos de gases. En la figura 2.11 se ilustra una jeringa típica. Están equipadas con una punta de aguja, y las tolerancias son tan buenas como las que se encuentran para otras micropipetas. Además, se puede proporcionar cualquier volumen que se desee dentro de los límites de la jeringa.

Las pipetas tipo jeringa antes descritas son útiles para proporcionar la cantidad exacta de soluciones viscosas o disolventes volátiles; con estos materiales, el drenado de la película sería un problema en las pipetas convencionales. Las pipetas de jeringa son adecuadas para el vertido rápido y también para el mezclado completo de la solución que se proporciona con otra como resultado de una rápida expulsión de la jeringa.

Un segundo tipo de pipetas de jeringa es el que se muestra en la figura 2.12. Este tipo es cómodo para el dispensado (vaciado) rápido con una sola mano de volúmenes fijos en procedimientos de rutina, y se usa extensamente en el laboratorio de química clínica. Contiene una punta desechable de plástico que no se moja (por ejemplo, de polipropileno), para reducir tanto el error de película como la contaminación. Un botón de pulgar opera un émbolo de resorte que se detiene en la posición de admisión o en la posición de descarga; esta última está más allá de la primera para asegurar un dispensado completo. La muestra nunca está en contacto con el émbolo, y está por completo contenida en la punta de plástico. Estas pipetas están disponibles en volúmenes de 1 a 1 000 μL , y cuentan con una reproducibilidad dentro de 1 a 2% o mejor, dependiendo del volumen.



Figura 2.12. Pipetas de desplazamiento digital de un solo canal o de multicanales y placas de micropozos. (Cortesía de Thermo Labsystems.)

Por lo general no es necesario conocer el volumen real que proporcionan éstas y otras micropipetas porque se usan en mediciones relativas. Por ejemplo, la misma pipeta se puede usar para una muestra y un volumen igual de solución estándar para calibrar el instrumento que se usa para la medición. La precisión en el volumen dispensado suele ser más importante que el volumen absoluto dosificado. La norma que se usa en Europa para calibración de pipetas (donde se fabrican muchas de ellas) es la alemana DIN 126650 (o la norma internacional similar ISO 8655). Las calibraciones se basan en pruebas gravimétricas (pesado de agua). La norma DIN no da límites separados para exactitud y precisión; más bien usa un límite combinado de error igual a la exactitud porcentual más dos veces la desviación estándar; es decir, da un intervalo dentro del cual existe 95% de confianza de que caerá el volumen dispensado (véase el capítulo 3 para una explicación de la desviación estándar y los niveles de confianza). En la tabla 2.2 se da una lista de los errores DIN para pipetas de desplazamiento de un solo canal. En la tabla 2.3 se dan exactitudes y precisiones para una pipeta de un solo canal de modelo típico.

Además de las jeringas operadas manualmente, existen jeringas controladas en forma electrónica, de volumen variable, que funcionan mediante un motor para dosificaciones automáticas repetitivas. También se pueden adquirir pipetas con jeringas múltiples para dosificaciones simultáneas, por ejemplo, con 12 o 16 canales. Éstas son útiles para introducir soluciones en placas de micropozos que se usan en laboratorios de biotecnología o química clínica que procesan miles de muestras (véase la figura 2.12). Se puede encontrar más información sobre pipetas de desplazamiento de los fabricantes más representativos, por ejemplo en www.finnepipette.com y www.eppendorf.com

El volumen puede no conocerse con exactitud, pero es reproducible.

BURETAS

La bureta se usa para dosificación exacta de una cantidad variable de solución. Su uso principal es en **titulaciones**, en las cuales se agrega una solución estándar a la solución de muestra hasta que se alcanza el **punto final** o de **equivalencia** (la detección de la culminación de la reacción). La bureta convencional para macrotitulaciones está graduada de 0 a 50 mL, en incrementos de 0.1 mL (véase la figura 2.13). El volumen dispensado se puede leer hasta cerca de 0.01 mL por interpolación (buena hasta ± 0.02 o ± 0.03 mL). También

Tabla 2.2

Límites de error DIN 12650 para pipetas de un solo canal de desplazamiento de aire^a

Volumen nominal (μL)	Error máximo (μL)	Error relativo (%)
1	± 0.15	± 15.0
2	± 0.20	± 10.0
5	± 0.30	± 6.0
10	± 0.30	± 3.0
20	± 0.40	± 2.0
50	± 0.80	± 1.6
100	± 1.50	± 1.5
200	± 2.00	± 1.0
500	± 5.00	± 1.0
1 000	± 10.00	± 1.0
2 000	± 20.00	± 1.0
5 000	± 50.00	± 1.0
10 000	± 100.00	± 1.0

^a Estos límites aplican a fabricantes con entorno controlado. Si las pruebas las hace un usuario en un entorno normal de laboratorio, los límites de la tabla pueden valer el doble.

Cortesía de Thermo Labsystems Oy, Finlandia.

Tabla 2.3
Exactitud y precisión para pipetas digitales Finnpiquette de un solo canal

Intervalo (μL)	Incremento (μL)	Volumen (μL)	Exactitud		Precisión ^a	
			(μL)	(%)	s.d. (μL)	CV (%)
0.2-2	0.01	2	± 0.050	± 2.5	0.040	2.0
		0.2	± 0.024	± 12.0	0.020	10.0
0.5-10	0.1	10	± 0.100	± 1.0	0.050	0.5
		1	± 0.025	± 2.5	0.020	2.0
0.5-10	0.1	10	± 0.100	± 1.0	0.080	0.8
		1	± 0.035	± 3.5	0.030	3.0
2-20	0.1	20	± 0.200	± 1.0	0.080	0.4
		2	± 0.060	± 3.0	0.030	1.5
5-40	0.5	40	± 0.240	± 0.6	0.120	0.3
		5	± 0.100	± 2.0	0.100	2.0
10-100	1.0	100	± 0.80	± 0.8	0.20	0.2
		10	± 0.30	± 3.0	0.10	1.0
20-200	1.0	200	± 1.20	± 0.6	0.40	0.2
		20	± 0.36	± 1.8	0.14	0.7
200-1 000	5.0	1 000	± 6.00	± 0.6	2.00	0.2
		200	± 1.80	± 0.9	0.60	0.3
100-1 000	5.0	1 000	± 6.00	± 0.6	2.00	0.2
		100	± 1.00	± 1.0	0.60	0.6

^a s.d. = desviación estándar, CV = coeficiente de variación.
Cortesía de Thermo Labsystems Oy, Finlandia.

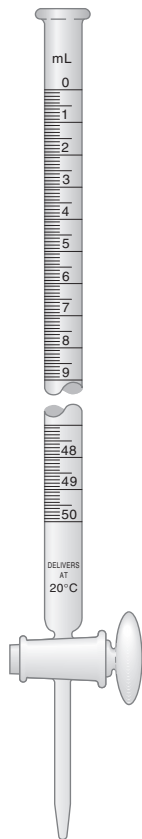


Figura 2.13. Bureta típica.

se pueden obtener buretas con capacidades de 10, 25 y 100 mL, y hay disponibles microburetas con capacidades de 2 mL, en las que el volumen está marcado en incrementos de 0.01 mL, y se puede estimar hasta cerca de 0.001 mL. Se usan ultramicroburetas de 0.1 mL, graduadas en intervalos de 0.001 mL (1 μL) para titulaciones en microlitros.

El drenado de la película es un factor en las buretas convencionales, como en las pipetas, y puede ser una variable si el caudal de dosificación no es constante. La práctica usual es vaciar a un ritmo moderadamente lento, alrededor de 15 a 20 mL por minuto, y luego esperar varios segundos después de la dispensación para permitir que el drenado se estabilice. En la práctica real, el caudal de proporcionamiento es de sólo unas pocas gotas por minuto cerca del punto final, y no hay brecha de tiempo entre el caudal de proporcionamiento y el caudal de drenado. Al alcanzar el punto de equivalencia se proporcionan fracciones de gota abriendo apenas la válvula de la bureta y luego poniendo en contacto la punta de la bureta con la pared del recipiente de titulación. La fracción de gota se arrastra luego en la solución con agua destilada.

CUIDADO Y USO DE LA CRISTALERÍA VOLUMÉTRICA

Hasta ahora se han mencionado algunas precauciones en el uso de los matraces volumétricos, las pipetas y las buretas. El instructor de laboratorio dará a los estudiantes las indicaciones detalladas para el uso de cada una de estas herramientas. En seguida se da una explicación de algunas precauciones y de la buena técnica de laboratorio.

La limpieza de los instrumentos de vidrio es de máxima importancia. Si hay películas de suciedad o grasa, los líquidos no drenarán de manera uniforme y dejarán brechas sin agua o gotitas sobre las paredes. En estas condiciones, la calibración será errónea. La limpieza inicial se debe hacer mediante enjuagues repetidos con agua; luego se trata de

limpiar con ácido nítrico diluido y se enjuaga con más agua. El uso de un cepillo de buretas o tubos de ensayo ayuda en la limpieza de las buretas y los cuellos de los matraces volumétricos; pero se debe tener cuidado de no rayar las paredes interiores. Las pipetas se deben girar para cubrir toda la superficie con detergente. Hay soluciones comerciales de limpieza que son muy eficaces.

Las pipetas y las buretas se deben enjuagar por lo menos dos veces con la solución con la cual se van a llenar. Si están mojadas con alguna solución se deben enjuagar primero con agua, y luego un mínimo de *tres* veces con la solución que se va a usar; alrededor de 20% del volumen de la bureta o de la pipeta es adecuado para cada enjuague. Si un matraz volumétrico está mojado con una solución que contenía anteriormente deberá enjuagarse sólo con tres porciones de agua, ya que más tarde se llenará hasta la marca también con agua. No es necesario secarlo.

Obsérvese que el equipo analítico de vidrio no se debe someter a la práctica común de los laboratorios de química orgánica de secar, ya sea en un horno (esto puede afectar el volumen de la cristalería calibrada) o con una toalla, ni tampoco por enjuague con un disolvente orgánico volátil, como acetona (que puede causar contaminación). En general, no es necesario secar el equipo. El procedimiento preferido es enjuagarlo con la solución que lo llenará.

El cuidado al leer el volumen evitará el error de paralaje; es decir, el error debido a alineamiento incorrecto del ojo del observador, el menisco y la escala. Esto se aplica en la lectura de cualquier escala, como la escala del fiel de una balanza analítica. La posición correcta es con el ojo al mismo nivel que el menisco. Si el nivel del ojo está arriba del menisco, el volumen leído será menor que el real; lo opuesto sucederá si el nivel del ojo está demasiado abajo.

Después de usar el equipo de vidrio, normalmente se puede limpiar lo suficiente mediante enjuague inmediato con agua. Si se ha dejado que el equipo se seque, se puede limpiar primero con detergente. Los matraces volumétricos se deben guardar con el tapón puesto, y de preferencia llenos con agua destilada. Las buretas se deben llenar con agua destilada y cerrar con un tapón de caucho cuando no estén en uso.

RECOMENDACIONES PARA LA TITULACIÓN EXACTA Y PRECISA

Algunas buretas tienen una válvula de teflón, y ésta no necesita lubricación. Asegurarse de que esté suficientemente apretado para evitar fugas, pero no tan apretado que haga difícil la rotación. Si la bureta tiene una válvula de vidrio puede haber necesidad de engrasarla. Se aplica uniformemente a la válvula una capa delgada de grasa para válvulas de bureta (no lubricante de silicón), usando muy poca cerca del orificio y cuidando de que no entre grasa en el orificio. La válvula se inserta y se hace girar. Debe haber una capa uniforme y transparente de grasa, y la válvula no debe tener fugas. Si hay demasiado lubricante se puede forzar el interior de la junta o entrar a la punta de la bureta y obstruirla. La grasa se puede quitar de la punta de la bureta y el orificio de la válvula usando un alambre fino. Si la bureta tiene válvula de teflón, no necesita lubricación. La bureta se llena por encima de la marca cero y se abre la válvula para llenar la punta. Revisar si hay burbujas de aire en la punta; si las hay, podrían salir de la punta durante la titulación, ocasionando un error de lectura. Sacar las burbujas abriendo y cerrando rápidamente la válvula para dejar que entre un chorro de solución de titulación a la punta, o dando golpecitos a la punta mientras fluye la solución. No deben quedar burbujas en el cuerpo de la bureta. Si las hay, posiblemente se deba a que la bureta está sucia.

La lectura inicial de la bureta se toma dejándola que drene lentamente hasta la marca cero. Se espera unos pocos segundos para asegurarse que el drenado de la película ha alcanzado al menisco. Se lee la bureta hasta la marca más cercana de 0.02 mL (para una bureta de 50 mL). La lectura inicial puede ser 0.00 mL o mayor. La lectura se toma mejor colocando el dedo exacto detrás del menisco, o usando un iluminador de menisco (véase

Se enjuagan las pipetas y las buretas con la solución que se va a medir.

Evitar los errores de paralaje al leer volúmenes en buretas o pipetas.

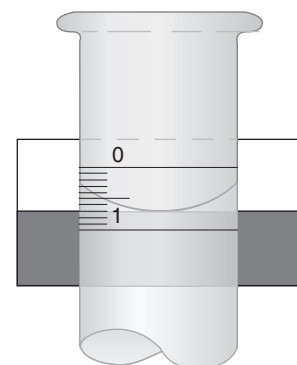


Figura 2.14. Iluminador de menisco para la bureta.

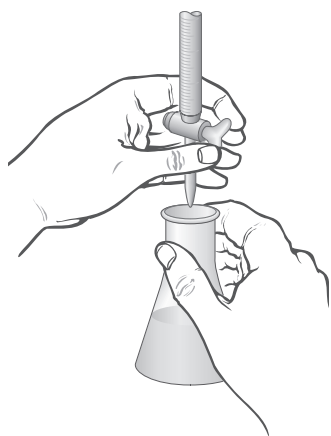


Figura 2.15. Técnica correcta para la titulación.

Las titulaciones subsiguientes se pueden acelerar usando las primeras para *aproximarse* a los volúmenes de punto de equivalencia.

El equipo de vidrio clase A es suficiente para la mayor parte de los análisis. Se puede calibrar a especificaciones NIST.

Las variaciones o las incertidumbres en cada lectura son aditivas. Véase Propagación del error, en el capítulo 3.

la figura 2.14). El iluminador de menisco tiene un campo blanco y negro, y el campo negro se posiciona exactamente debajo del menisco. Evitar el error de paralaje haciendo la lectura a nivel del ojo.

La titulación se realiza con la solución de muestra en un matraz Erlenmeyer. El matraz se coloca sobre un fondo blanco, y la punta de la bureta se acomoda dentro del cuello del matraz. El matraz se hace girar con la mano derecha mientras la válvula se manipula con la izquierda (véase la figura 2.15), o lo que resulte más cómodo. Este agarre de la bureta mantiene ligera presión hacia dentro de la válvula para asegurar que no haya fugas. La solución se puede agitar más eficientemente mediante un agitador magnético y una barra de agitación.

Al progresar la titulación, el indicador cambia de color en la cercanía donde cae el titulante, debido a excesos locales, pero rápidamente regresa al color original al dispersarse el titulante en la solución para reaccionar con la muestra. Al acercarse al punto de equivalencia, el regreso al color original ocurre más lentamente, ya que la solución diluida se debe mezclar con más energía para consumir todo el titulante. En este punto, el titulante se debe detener y se enjuagan los lados del matraz con agua destilada de la pizeta. Una gota de la bureta equivale a cerca de 0.02 a 0.05 mL, y el volumen se lee a cerca de 0.02 mL. Por tanto, es necesario dividir las gotas cerca del punto final. Esto se puede hacer girando lentamente la válvula hasta que salga una fracción de gota de la punta de la bureta, cerrando luego la válvula. La fracción de gota se desprende poniendo en contacto la punta con la pared del matraz, y se lava al interior con la pizeta, o bien se transfiere con una varilla agitadora de vidrio. Habrá un cambio de color repentino y permanente (con duración mínima de 30 s) en el punto de equivalencia, al agregar una fracción de gota.

La titulación se hace por lo regular por triplicado. Después de realizar la primera titulación se puede calcular el volumen aproximado para las titulaciones de réplica a partir de los pesos de las muestras y la molaridad del titulante. Esto ahorrará tiempo en las titulaciones. El volumen no se debe calcular con una aproximación más cercana a 0.1 mL con objeto de evitar sesgos en la lectura.

Después de terminar una titulación, el titulante sobrante se debe desechar; nunca se devolverá a la botella original.

Si se mide una propiedad física de la solución, por ejemplo el potencial, para detectar el punto de equivalencia, la titulación se realiza en un vaso de precipitados con agitación magnética, de modo que se puedan colocar electrodos dentro de la solución.

TOLERANCIAS Y PRECISIÓN DEL EQUIPO DE VIDRIO

El Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST) ha prescrito ciertas *tolerancias* o errores absolutos para diferentes piezas de equipo de vidrio volumétrico, y algunas de éstas aparecen en la lista de la *guarda posterior* del libro. Para volúmenes mayores de alrededor de 25 mL, la tolerancia está dentro de una parte por 10^{12} relativa, pero es mayor para volúmenes menores. La letra “A”, estampada en un matraz volumétrico, una bureta o una pipeta, indica que cumple con las tolerancias de clase A. Esto no dice nada acerca de la precisión del volumen dispensado. Se puede comprar equipo volumétrico de vidrio que cumpla con las especificaciones o que esté certificado por el NIST, pero a un precio notablemente mayor que el equipo de vidrio sin certificar. El equipo de vidrio menos costoso puede tener tolerancias del doble que las especificadas por el NIST. Sin embargo, es asunto sencillo calibrar este equipo con una exactitud tan buena o mejor que las especificaciones NIST (véase el experimento 2).

La precisión de lectura de una bureta de 50 mL es alrededor de ± 0.02 mL. Como una bureta siempre se lee dos veces, la incertidumbre absoluta total puede ser hasta de ± 0.04 mL. La variación de la incertidumbre relativa será inversa al volumen total proporcionado. Se hace evidente que una titulación con una bureta de 50 mL debe usar alrededor

acero inoxidable de densidad 7.8 g/cm^3 . Éstos se usan para dar el volumen del equipo de vidrio que se está calibrando, a partir del peso del agua contenida o proporcionada por el equipo de vidrio (los valores no son significativamente diferentes para pesas de latón de 8.4 g/cm^3 . Véase el ejemplo 2.2). Los volúmenes de vidrio calculados para la temperatura estándar de 20°C incluyen ligeros ajustes para el coeficiente de dilatación o contracción por cambios de temperatura de recipientes de vidrio de borosilicato (Pyrex o Kimax). (El equipo volumétrico tiene un coeficiente cúbico de dilatación de alrededor de 0.000025 por grado centígrado, lo cual da por resultado cambios de alrededor de 0.0025% por grado; para 1 mL, esto es 0.000025 mL por grado.) El agua se expande alrededor de 0.02% por grado alrededor de 20°C . Las correcciones de volumen (concentración) se pueden hacer con los datos de densidad del agua de la tabla 2.4, tomando las relaciones de las densidades relativas.



Ejemplo 2.3

a) Usar la tabla 2.4 para calcular el volumen de la pipeta de 20 mL del ejemplo 2.1, a partir de su peso en el aire. Supóngase que la temperatura es de 23°C . b) Dar el volumen correspondiente a 20°C como resultado de la contracción del vidrio. c) Comparar con el volumen calculado usando el peso en el aire con el calculado usando el peso en el vacío y la densidad del agua (ejemplo 2.1).

Solución

a) De la tabla 2.4, el volumen por gramo en el aire es 1.0035 mL a 23°C :

$$19.994 \text{ g} \times 1.0035 \text{ mL/g} = 20.064 \text{ mL}$$

b) La contracción del vidrio a 20°C relativa a 23°C es 0.0015 mL ($0.000025 \text{ mL/mL}/^\circ\text{C} \times 20 \text{ mL} \times 3^\circ\text{C}$), de modo que el volumen de la pipeta a 20°C es 20.062 mL

c) La densidad del agua a 23°C es 0.99754 g/mL de modo que el peso en el vacío:

$$20.015 \text{ g}/0.99754 \text{ g/mL} = 20.064 \text{ mL}$$

Se obtiene el mismo valor.



Ejemplo 2.4

Se prepara una solución de ácido clorhídrico y se estandariza por titulación con carbonato de sodio estándar primario. La temperatura durante la estandarización es de 23°C y se determina que la concentración es de 0.1127_2 M . El sistema de calentamiento del laboratorio funcionó mal cuando se usó el ácido para titular una muestra problema, y la temperatura de la solución era de 18°C . ¿Cuál era la concentración del titulante?

Solución

$$\begin{aligned}
 M_{18^\circ} &= M_{23^\circ} \times (D_{18^\circ}/D_{23^\circ}) \\
 &= 0.1127_2 \times (0.99859/0.99754) \\
 &= 0.1128_4 M
 \end{aligned}$$

(Véase el capítulo 3 para cifras significativas y el significado de los subíndices numéricos.)

TÉCNICAS PARA CALIBRAR EL MATERIAL DE CRISTALERÍA

Generalmente, el equipo de cristalería se calibra a cinco cifras significativas, la precisión máxima que es posible obtener al llenar o verter soluciones. Por tanto, es necesario el peso neto del agua con cinco cifras. Si el equipo de vidrio excede los 10 mL, esto significa que todo lo que se requiere es pesar hasta 1 mg, lo que se puede lograr con facilidad y comodidad con una balanza granataria en vez de una balanza analítica más sensible. (**Nota:** Si el volumen es grande sin importar el decimal, por ejemplo 99, entonces bastarán cuatro cifras; véase en el capítulo 3 la explicación sobre las cifras significativas. Una pipeta de 10 mL, por ejemplo, se puede calibrar a 9.9997 mL, que es tan exacto como 10.003 mL; es decir, la última cifra es una parte en 10 000.)

1. Calibración de matraces volumétricos. Para calibrar un matraz volumétrico se pesa primero el matraz y el tapón limpios y secos. Luego se llena hasta la marca de aforo con agua destilada. No debe haber gotitas en el cuello; si las hay, se secan con papel absorbente. El matraz y el agua deben estar equilibrados a la temperatura del laboratorio. Se pesa el matraz lleno y luego se registra la temperatura del agua con una precisión de hasta 0.1°C. El aumento en peso representa el peso en aire del agua contenida en el matraz.

2. Calibración de pipetas. Para calibrar una pipeta se pesa un matraz Erlenmeyer con tapón de hule o pesafiltros con tapón o tapa de vidrio, dependiendo del volumen de agua que se va a pesar. Se llena la pipeta con agua destilada (cuya temperatura se ha registrado) y se vierte el agua dentro del matraz o frasco, usando la técnica adecuada de pipeteo. Se tapa rápidamente el contenedor para evitar pérdida por evaporación. Se vuelve a pesar para obtener el peso en aire del agua proporcionada por la pipeta.

3. Calibración de buretas. El procedimiento para calibrar una bureta es similar al de calibración de una pipeta, salvo que se proporcionarán varios volúmenes. El conducto interno de la bureta no es perfectamente cilíndrico, sino un poco “ondulado”, de modo que el volumen real proporcionado variará tanto hacia arriba como hacia abajo de los volúmenes nominales marcados en la bureta conforme se manejen volúmenes mayores. Se determina el volumen en incrementos de 20% del volumen total (por ejemplo, cada 10 mL para una bureta de 50 mL), llenando la bureta cada vez y luego vertiendo el volumen nominal en un matraz seco. (La bureta se llena cada vez para reducir al mínimo los errores de evaporación. También se pueden hacer adiciones sucesivas en el mismo matraz; es decir, se llena la bureta sólo una vez. Se hacen vertidos rápidos.) Como el volumen dispensado no tiene que ser exacto sino cercano al volumen nominal se pueden hacer vaciados moderadamente rápidos, si bien se debe esperar alrededor de 10 a 20 s para el drenado de la película. Se prepara una gráfica de corrección de volumen contra volumen nominal y se trazan líneas rectas entre cada punto. Se interpola a volúmenes intermedios entre las líneas. Las correcciones típicas de volumen para una bureta de 50 mL pueden llegar a cerca de 0.05 mL, más o menos.



Ejemplo 2.5

Se calibra una bureta de 50 mL con incrementos de 10 mL, llenando la bureta cada vez y vertiendo el volumen nominal, con los siguientes resultados:

<i>Lectura de la bureta (mL)</i>	<i>Peso del H₂O vertido (g)</i>
10.02	10.03
20.08	20.03
29.99	29.85
40.06	39.90
49.98	49.86

Se construye una gráfica de corrección de volumen contra volumen vertido. La temperatura del agua es 20°C y se usan pesas de acero inoxidable.

Solución

Según la tabla 2.4.

$$W_{\text{vac}} = 10.03 + 10.03(0.00105) = 10.03 + 0.01 = 10.04 \text{ g}$$

$$\text{Vol.} = 10.04 \text{ g} / 0.9982 \text{ g/mL} = 10.06 \text{ mL}$$

Del mismo modo, para los otros se construye la tabla:

<i>Volumen nominal (mL)</i>	<i>Volumen real (mL)</i>	<i>Corrección (mL)</i>
10.02	10.06	+0.04
20.08	20.09	+0.01
29.99	29.93	-0.04
40.06	40.01	-0.05
49.98	50.00	0.00

Se prepara una gráfica de volumen nominal (eje y) contra volumen de corrección. Usar 10, 20, 30, 40 y 50 mL como volúmenes nominales.

.....

SELECCIÓN DE EQUIPO DE CRISTALERÍA: ¿QUÉ TAN EXACTO TIENE QUE SER?

Sólo ciertos volúmenes se tienen que medir con exactitud: los que forman parte de los cálculos cuantitativos.

Como en las operaciones de pesaje habrá situaciones en las que es necesario saber con exactitud los volúmenes de los reactivos o de las muestras medidas o transferidas (mediciones exactas) y otras en las que sólo se requieren mediciones aproximadas (mediciones gruesas). Si se desea preparar una solución estándar de 0.1 M de ácido clorhídrico, no se puede hacer midiendo un volumen exacto de ácido concentrado y diluyéndolo a un volumen conocido, porque la concentración del ácido comercial no se conoce adecuadamente. Por tanto, se prepara una solución aproximada que luego puede estandarizarse. En la tabla que está en la guarda posterior interior se registra que el ácido comercial es alrededor de 12.4 M. Para preparar 1 L de solución 0.1 M es necesario tomar y diluir alrededor de 8.1 mL. Sería un desperdicio de tiempo medir exactamente este volumen (o el del agua que se

usa para dilución). En vez de esto, una probeta graduada de 10 mL, o una pipeta de medición de 10 mL, será suficiente, y el ácido se puede diluir entonces en un frasco sin graduar de 1 litro. Por otro lado, si se desea diluir con exactitud una solución madre estándar, entonces se debe usar una pipeta volumétrica, y la dilución se debe hacer en un matraz volumétrico. Cualquier medición volumétrica que sea parte de la medición analítica se debe hacer con la exactitud que se exige en la medición analítica. Esto por lo general significa una exactitud de cuatro cifras significativas, y se requieren pipetas y matraces volumétricos. Esto incluye tomar una porción exacta de una muestra, preparar una solución estándar a partir de un reactivo pesado con exactitud, y diluir con exactitud. Las buretas se usan para mediciones precisas de volúmenes variables, como en una titulación. No se requiere gran exactitud en la preparación de los reactivos que se van a usar en un análisis sólo para asegurar condiciones especiales de la solución (por ejemplo, amortiguadores para control de pH), y se puede usar equipo de vidrio menos exacto, por ejemplo, probetas graduadas.

2.5 Preparación de soluciones básicas estándar

Normalmente se utiliza *hidróxido de sodio* como titulante cuando se requiere una base. Debido a que contiene cantidades importantes de agua y carbonato de sodio no se puede usar como estándar primario. Para un trabajo preciso se tiene que remover el carbonato de sodio del NaOH, porque aquél reacciona para formar un amortiguador que disminuye la nitidez del punto de equivalencia. Además, se producirá un error si se estandariza el NaOH usando punto de equivalencia de fenolftaleína (en cuyo caso el CO_3^{2-} se titula sólo hasta HCO_3^-), y así se usa un punto de equivalencia de anaranjado de metilo en la titulación de una muestra (en cuyo caso el CO_3^{2-} se titula a CO_2). En otras palabras, la molaridad efectiva de la base ha aumentado debido a la acción posterior del HCO_3^- .

El carbonato de sodio es esencialmente insoluble en hidróxido de sodio casi saturado. Puede eliminarse de manera conveniente disolviendo el hidróxido pesado en un volumen (mililitros) de agua igual a su peso en gramos. El Na_2CO_3 insoluble se deja sedimentar durante varios días, y luego el líquido superior transparente se decanta² cuidadosamente, o se puede filtrar en un crisol Gooch con una capa de asbesto (no lavar el Na_2CO_3 filtrado). Se prefiere el primer procedimiento por la naturaleza carcinogénica del asbesto. Este procedimiento no funciona con KOH porque el K_2CO_3 permanece soluble.

El agua disuelve el CO_2 del aire. En muchas determinaciones rutinarias que no exigen el máximo grado de exactitud, las impurezas de carbonato o CO_2 en el agua producen un error que es tan pequeño que puede considerarse insignificante. Sin embargo, para la máxima exactitud el CO_2 se debe retirar de toda el agua que se use para preparar soluciones para titulaciones acidobásicas, en especial las soluciones alcalinas. Esto se logra de manera conveniente hirviendo el agua y luego enfriándola bajo un chorro de agua fría.

El hidróxido de sodio normalmente se estandariza titulando una cantidad pesada de ftalato ácido de potasio grado estándar primario (KHP), que es un ácido moderadamente débil ($K_a = 2 \times 10^{-6}$) casi como el ácido acético usando un punto de equivalencia de fenolftaleína. La solución de hidróxido de sodio debe almacenarse en un frasco de plástico para evitar la absorción de CO_2 del aire. Si se requiere tener abierto el frasco (por ejemplo, un frasco sifón), la abertura se protege con un tubo de **ascarita** (asbesto impregnado con NaOH).

Se remueve el Na_2CO_3 preparando una solución saturada de NaOH.

Véase el experimento 6 para preparar y estandarizar hidróxido de sodio.

² La solución se debe guardar en un tubo de ensayo taponado con un material distinto del vidrio, o en otro recipiente adecuado, para mantenerlo aislado del dióxido de carbono atmosférico, que continuaría reaccionando con la solución de hidróxido de sodio para producir carbonato de sodio. Usar un tapón de hule, ya que el álcali concentrado hace que se “suelen” las juntas de vidrio.

2.6 Preparación de soluciones ácidas estándar

El ácido clorhídrico es el titulante más común para la titulación de bases. La mayor parte de los cloruros son solubles y hay pocas reacciones laterales asociadas con este ácido. Es de manejo cómodo. No es un estándar primario (aunque se puede preparar HCl de punto de ebullición constante, que es un estándar primario) y se prepara una concentración aproximada simplemente diluyendo el ácido concentrado. Para trabajo exacto, el agua que se usa para preparar la solución se debe hervir, aunque el uso de agua hervida no es tan importante como con el NaOH; el CO₂ tiene baja solubilidad en soluciones fuertemente ácidas, y tiende a escapar durante la agitación de la solución.

Véase el experimento 7 para preparar y estandarizar ácido clorhídrico.

En general se utiliza estándar primario de carbonato de sodio para estandarizar soluciones de HCl. Su desventaja es que el punto final no es nítido a menos que se use como indicador rojo de metilo, púrpura de metilo, etc., y la solución se hierva en el punto de equivalencia. Se puede usar sin hervir un punto de equivalencia modificado de anaranjado de metilo, pero no es tan nítido. Otra desventaja es el bajo peso molecular del Na₂CO₃. El tris(hidroximetil)aminometano (THAM), (HOCH₂)₃CNH₂ es otro estándar primario que resulta más conveniente. No es higroscópico, pero es todavía una base moderadamente débil ($K_b = 1.3 \times 10^{-6}$), con un peso molecular bajo. El punto final no se complica por liberación de CO₂ y se recomienda como estándar primario, a menos que el HCl se esté usando para titular muestras de carbonato.

Un estándar secundario es menos exacto que un estándar primario.

Si se dispone de una solución estandarizada de NaOH, el HCl se puede estandarizar titulando una alícuota con el NaOH. El punto final es nítido y la titulación es más rápida. La solución de NaOH es un **estándar secundario**. Cualquier error al estandarizarla se reflejará en la exactitud de la solución de HCl. El HCl se titula con la base, más que al revés, para reducir al mínimo la absorción de CO₂ en el matraz de titulación. Se puede usar como indicador fenolftaleína o azul de bromotimol.

2.7 Otros aparatos. Manejo y tratamiento de las muestras

Además de los aparatos para medir la masa y el volumen hay otros implementos o equipos que comúnmente se usan en los procedimientos analíticos.

MUESTREOS DE SANGRE

Para tomar muestras de sangre se usan **jeringas**.³ En general se usan agujas de acero inoxidable o aluminio con jeringas de vidrio o plástico. Esto por lo regular no presenta problemas de contaminación, aunque pueden requerirse precauciones especiales para el análisis de ciertos elementos traza. Con frecuencia se usan **Vacutainers** o dispositivos similares en lugar de jeringas. Éstos son tubos de ensayo al vacío con una tapa de caucho. La aguja se empuja a través de la tapa después de que el otro extremo se ha insertado en la vena, y la sangre se succiona al interior del tubo al vacío. El tubo puede contener un agente anticoagulante para evitar la coagulación de la sangre si se van a analizar muestras de plasma o sangre entera.

Cuando se van a tomar pequeñas cantidades de sangre para microprocedimientos se usa la punción de dedo en vez de la punción de vena. Se puede exprimir hasta 0.5 mL o más de sangre del dedo en un pequeño tubo de recolección, puncionando el dedo con una cuchilla afilada esterilizada.

³ No se debe intentar tomar una muestra de sangre a menos que se haya recibido capacitación específica para hacerlo. Por lo general se asignará un técnico capacitado para este trabajo.

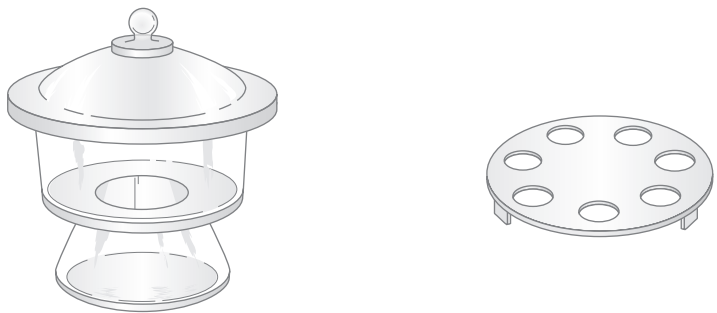


Figura 2.16. Desecador y placa de desecador.

DESECADORES

Se usa un **desecador** para mantener secas las muestras mientras se enfrían y antes de pesarlas y, en algunos casos, para secar muestras húmedas. Las muestras secas o calcinadas y sus contenedores se enfrían en el desecador. En la figura 2.16 se muestra un desecador de vidrio típico. Es un contenedor hermético al aire que mantiene una atmósfera de baja humedad. Se coloca en el fondo un desecante como cloruro de calcio para absorber la humedad. Este desecante se debe cambiar de manera periódica cuando se “agota”. Por lo general adquiere un aspecto de mojado o se formarán terrones por la humedad cuando es tiempo de cambiarlo. De ordinario se coloca un plato de porcelana en el desecador como soporte de los pesafiltros, crisoles y otros recipientes. Se forma un sello a prueba de aire mediante la aplicación de grasa de válvula de bureta al borde del vidrio esmerilado del desecador. Un **desecador al vacío** tiene un brazo lateral en la parte superior para la evacuación, de modo que el contenido se puede mantener bajo vacío y no sólo en una atmósfera de aire seco.

La tapa del desecador sólo se deberá quitar cuando sea necesario, ya que la remoción de la humedad del aire introducido es más bien lenta, y una exposición continua disminuirá la vida útil del desecante. Un crisol al rojo vivo u otro recipiente se debe dejar enfriar en el aire unos 60 s antes de colocarlo en el desecador. De otra manera, el aire dentro del desecador se calentará notablemente antes de cerrar el secador, y al enfriarse el aire, se creará un vacío parcial. Esto dará por resultado la entrada rápida de aire cuando se abra el desecador, con posible derrame o pérdida de muestra como consecuencia. Un pesafiltros caliente no se debe taponar cuando se coloque en un desecador, porque al enfriarse se creará un vacío parcial y el tapón puede quedar atrapado. El tapón se debe colocar en el desecador con el pesafiltros.

En la tabla 2.5 se da una lista de desecantes comúnmente usados y sus propiedades. El óxido de aluminio, el perclorato de magnesio, el óxido de calcio, el cloruro de calcio y el gel de sílice se pueden regenerar calentándolos a 150, 240, 500, 275 y 150°C, respectivamente.

Tabla 2.5
Algunos desecantes comunes

Agente	Capacidad	Delicuescente ^a	Nombre comercial
CaCl ₂ (anhidro)	Alta	Sí	
CaSO ₄	Moderada	No	Drierita (W.A. Hammond Drierite Co.)
CaO	Moderada	No	
MgClO ₄ (anhidro)	Alta	Sí	Anhidrona (J.T. Baker Chemical Co.); Dehidrita (Arthur H. Thomas Co.)
Gel de sílice	Baja	No	
Al ₂ O ₃	Baja	No	
P ₂ O ₅	Baja	Sí	

^a Se vuelve líquido por absorción de humedad.

Las muestras o reactivos secados en horno se enfrían en un desecador antes de pesarlas.



Figura 2.17. Horno de mufla. (Cortesía de Arthur H. Thomas Company.)



Figura 2.18. Horno de secado. (Cortesía de Arthur H. Thomas Company.)

HORNOS

Una **mufla** (figura 2.17) se usa para calentar muestras a altas temperaturas, ya sea para convertir los precipitados a una forma que se pueda pesar o para quemar los materiales orgánicos antes del análisis inorgánico. Debe haber algún medio para regular la temperatura, ya que pueden ocurrir pérdidas de algunos metales a temperaturas superiores a 500°C. En las muflas se pueden alcanzar temperaturas hasta de 1 200°C.

Un **horno de secado** se usa para secar las muestras antes de pesarlas. En la figura 2.18 se muestra un horno de secado ordinario. Estos hornos están bien ventilados para calentamiento uniforme. La temperatura que se utiliza es alrededor de 110°C, pero se pueden obtener temperaturas de 200 a 300°C.

CAMPANAS DE EXTRACCIÓN DE GASES

La **campana de extracción de gases** se utiliza cuando se van a evaporar productos o soluciones químicos. Si se van a evaporar ácido perclórico o soluciones ácidas de perclorato, los gases se deben recolectar o se llevará a cabo la evaporación en campanas de extracción de gases especialmente diseñadas para trabajo con ácido perclórico (es decir, construidas con materiales resistentes al ataque por este ácido).

Cuando se realizan análisis de trazas, como en el de metales traza, se debe tener cuidado de evitar contaminación. La campana convencional de extracción de gases es una de las áreas “más sucias” del laboratorio, ya que succiona aire del laboratorio hacia el interior de la campana y sobre la muestra. Hay disponibles **campanas** o estaciones de trabajo **de flujo laminar** para proporcionar áreas de trabajo muy limpias. Más que tomar aire del laboratorio sin filtrar hacia el área de trabajo, el aire se prefiltra y luego fluye sobre el área de trabajo y sale al cuarto para crear una presión positiva y evitar que fluya hacia dentro el aire no filtrado. La figura 2.19 muestra una estación de trabajo de flujo laminar común. El filtro de alta eficiencia para aire con partículas (HEPA, high-efficiency particulate air) retiene todas las partículas mayores de 0.3 μm del aire. Se prefieren estaciones de flujo laminar vertical cuando se generan gases que no deben entrar en contacto con el operador. Existen instalaciones para extraer gases nocivos.

Las campanas de flujo laminar proporcionan áreas de trabajo limpias.

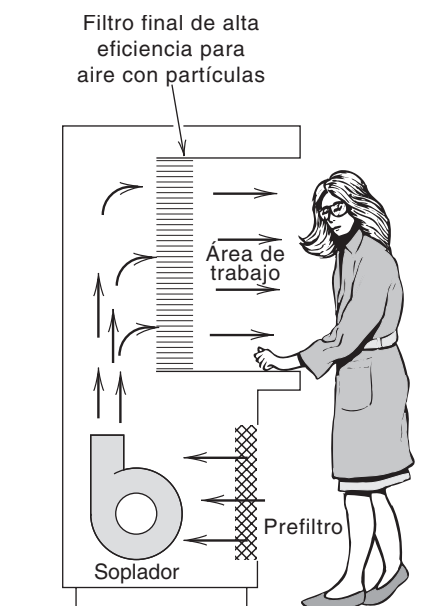


Figura 2.19. Estación de trabajo de flujo laminar. (Cortesía de Dextron, Inc., 344 Bel-tine Boulevard, Minneapolis, MN.)

BOTELLAS DE LAVADO O PIZETAS

En cualquier laboratorio analítico debe tenerse a la mano una **botella de lavado o pizeta** de alguna clase para usarla en la transferencia cuantitativa de precipitados y soluciones, y para lavar los precipitados. Estas pizetas están disponibles comercialmente en una variedad de formas y tamaños, como se ve en la figura 2.20. Además, se pueden construir con un matraz redondo de fondo plano y un tubo de vidrio, como en la figura 2.20b.

CENTRÍFUGAS Y FILTROS

Una **centrífuga** tiene muchas aplicaciones útiles, especialmente en el laboratorio clínico, donde en algunos casos la sangre debe separarse en fracciones, como suero o plasma, y las proteínas han de separarse por precipitación seguida de centrifugación.

Los filtros para precipitados (por ejemplo, en el análisis gravimétrico) son de diversos tipos. El crisol de Gooch, el crisol de vidrio sinterizado y el crisol con filtro de porcelana se ilustran en la figura 2.21. El **crisol de Gooch** es de porcelana y tiene hoyos en el fondo; hay un filtro de vidrio en forma de disco encima del fondo. En lo pasado se

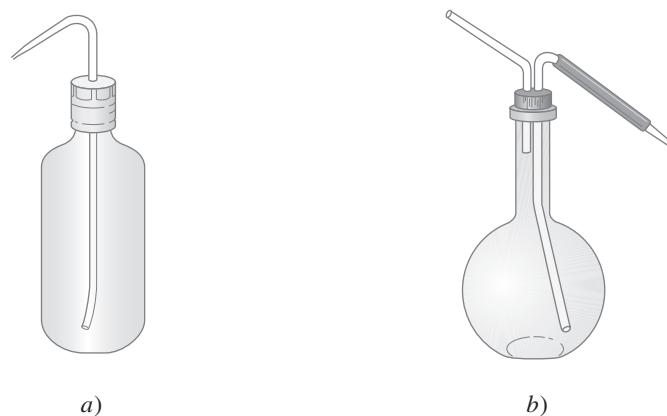
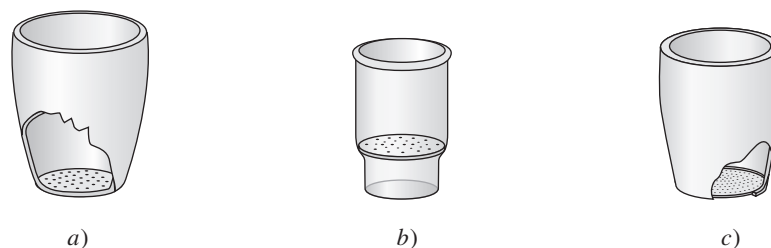


Figura 2.20. Pizetas: a) de polietileno, exprimible; b) de vidrio, de soplado.

Figura 2.21. Crisoles de filtración: a) crisol de Gooch; b) crisol de vidrio sinterizado; c) crisol de filtro de porcelana.



preparaba una capa de asbesto, pero esto es inconveniente y de riesgo potencial, ya que las fibras de asbesto en el aire son carcinogénicas, y el disco de filtro maneja precipitados. El **crisol de filtro sinterizado** contiene un fondo de vidrio sinterizado, que está disponible en porosidad fina (F), media (M) o gruesa (C). El **crisol de filtro de porcelana** contiene un fondo poroso sin vidriar. Los filtros de vidrio no se recomiendan para soluciones concentradas de álcalis debido a la posibilidad de ataque por estas soluciones. Véase la tabla 2.1 para temperaturas máximas de trabajo para diferentes tipos de materiales de crisol.

Los precipitados gelatinosos, como el óxido de hierro hidratado, no se deben filtrar en crisoles filtro porque obstruyen los poros. Incluso con papel filtro, la filtración de los precipitados puede ser lenta.

Los crisoles filtro se usan con un **portacrisol** montado en un matraz de filtrado* (véase figura 2.22). Se conecta un frasco de seguridad entre el matraz y el aspirador.

El **papel filtro sin cenizas** se usa en general para trabajo cuantitativo, en el que el papel se quema y deja un precipitado adecuado para pesarse (véase capítulo 10). Hay diversos grados de papeles filtro para diferentes tipos de precipitados. En la tabla 2.6 se mencionan para papeles Whatman (www.whatman.plc.uk) y Schleicher & Schuell (www.s-and-s.de/english-index.html).

TÉCNICAS DE FILTRACIÓN

Mediante el ajuste correcto del papel filtro se puede aumentar el caudal de filtración. En la figura 2.23 se ilustra un papel filtro doblado adecuadamente. El papel filtro se dobla en

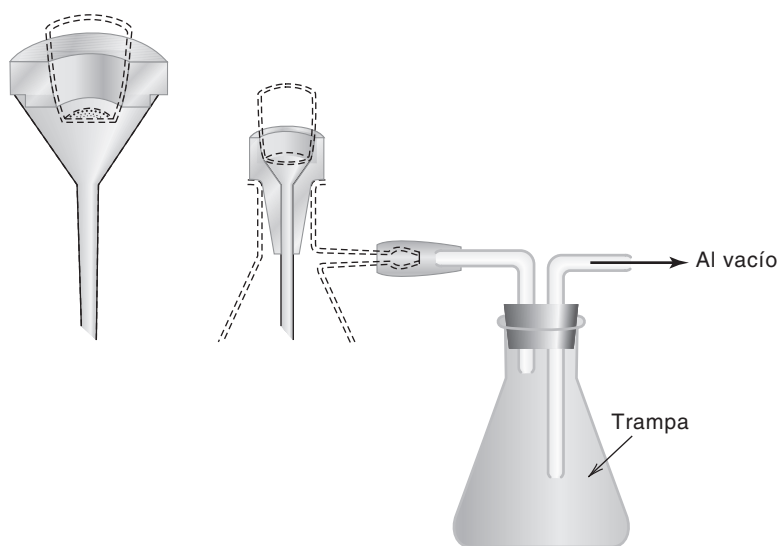


Figura 2.22. Portacrisoles.

*N. del R. T.: Llamado también matraz "kitasato", epónimo del bacteriólogo y médico japonés Shibasaburo Kitasato (1852-1931).

Tabla 2.6

Tipos de papeles filtro

<i>Precipitado</i>	<i>Whatman</i>	<i>Schliecher y Schuell</i>
Muy fino (p. ej., BaSO_4)	No. 42 ($2.5\ \mu\text{m}$)	No. 589/2 o 5, banda azul o roja ($2-4\ \mu\text{m}$)
Pequeño o mediano (p. ej., AgCl)	No. 40 ($8\ \mu\text{m}$)	No. 589/2, banda blanca ($4-12\ \mu\text{m}$)
Gelatinoso o cristales grandes (p. ej., $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$)	No. 41 ($20-25\ \mu\text{m}$)	No. 589/1, banda negra ($>12-25\ \mu\text{m}$)

forma de cono, con las orillas de los dos cuartos solapadas, sin juntarse por completo (separadas 3 mm). Se rasga alrededor de 6 mm de la esquina del lado interior. Esto permitirá un buen sellado contra el embudo para evitar que se succionen burbujas de aire. Después de colocar el papel doblado en el embudo se moja con agua destilada. El tallo del embudo se llena de agua y la parte superior del papel mojado se presiona contra el embudo para hacer un sello. Con un ajuste correcto, no se succionarán burbujas de aire al interior del embudo, y la succión producida por el peso del agua en el tallo aumentará el caudal de filtración. Esta última debe iniciarse de inmediato. El precipitado no debe ocupar más de un tercio a una mitad del filtro en el embudo, porque muchos precipitados tienden a “arrastrarse”. No se permita que el nivel de agua rebase el borde superior del papel.

Se dejará sedimentar el precipitado en el vaso de precipitados antes de iniciar la filtración. Entonces se puede decantar la mayor parte del líquido transparente y filtrar a caudal rápido antes que el precipitado llene los poros del papel filtro.

Se debe tener cuidado al decantar y transferir el precipitado para evitar pérdidas. Esto se hace correctamente usando un agitador de vidrio y una pizeta, como se ilustra en la figura 2.24. La solución se decanta vertiéndola a lo largo de la varilla de vidrio, que la guía hacia dentro del filtro sin salpicar. El precipitado se lava más fácilmente cuando todavía se encuentra en el vaso de precipitados. Después de haber decantado el licor madre, se lavan los lados del vaso de precipitados con varios mililitros de líquido de lavado y luego se permite que el precipitado se sedimente como antes. Se decanta el líquido de lavado en el filtro y se repite la operación de lavado dos o tres veces. Luego se transfiere al filtro el precipitado sosteniendo con una mano la varilla de vidrio y el vaso, como se ilustra, y se saca el precipitado del vaso por lavado con líquido de la pizeta.

Si el precipitado se debe recolectar cuantitativamente, como en el análisis gravimétrico, las últimas porciones de precipitado se remueven de las paredes del vaso mediante un **gendarme de hule, varilla o agitador de vidrio** (figura 2.25). Se remueve por lavado el resto del precipitado desalojado del vaso y del gendarme. Si el precipitado se está recolectando en un papel filtro, entonces en vez del gendarme se puede frotar un trozo de papel filtro sin cenizas en las paredes del vaso para quitar los últimos residuos del precipitado y agregarlos al filtro. Éste se debe sostener con un par de tenazas.

Después de haber transferido el precipitado al filtro se lava con cinco o seis pequeñas porciones del líquido de lavado. Esto es más eficaz que usar un gran volumen. Se distribuye el líquido alrededor del borde superior del filtro para empujar por lavado el precipitado hacia abajo del cono. Se debe permitir que cada porción drene antes de agregar la siguiente. Verificar que el lavado esté completo mediante pruebas del agente precipitante en las últimas gotas de los lavados.

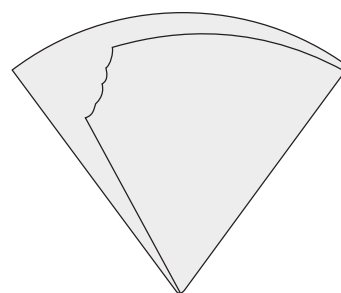


Figura 2.23. Papel filtro correctamente doblado.

Dejar que el precipitado sedimente antes de filtrar.

Lavar el precipitado mientras está en el vaso de precipitados.

Se prueba que el lavado esté completo.



Figura 2.24. Técnica correcta para transferir un precipitado.



Figura 2.25. Gendarme de hule.

2.8 Calcinación de precipitados. Análisis gravimétrico

Si el precipitado se va a calcinar en un crisol filtro de porcelana, primero se tiene que quitar la humedad con bajo calentamiento. La calcinación se puede hacer en una mufla o por calentamiento con un mechero. Si se usa un mechero, el crisol filtro se debe colocar en un crisol de porcelana o platino para evitar que los gases reductores de la llama se difundan a través de los poros del filtro.

Cuando los precipitados se recolectan en papel filtro, el filtro cónico que contiene el precipitado se quita del embudo, se aplana el borde superior y las esquinas se doblan hacia dentro. Luego se dobla el borde superior y se coloca el papel y su contenido en un crisol con la mayor parte del precipitado en el fondo. Ahora el papel se debe secar y quemar. El crisol se coloca con un ángulo de inclinación en un soporte triangular, con la tapa del crisol ligeramente abierta, como se ilustra en la figura 2.26. La humedad se quita con el mechero a fuego bajo, teniendo cuidado de evitar salpicaduras. Se aumenta gradualmente el calentamiento cuando sale la humedad y comienza a quemarse el papel. Se debe tener cuidado de no dirigir la porción reductora de la llama dentro del crisol. Un aumento repentino en el volumen del humo generado indica que el papel está a punto de inflamarse con llamas, y se debe retirar el crisol. Si hay llamas se deben extinguir rápido cerrando el crisol con la tapa. Indudablemente aparecerán partículas de carbón en la cubierta, las cuales tendrán que entrar en ignición. Por último, cuando ya no se detecte humo, se termina de quemar el papel aumentando poco a poco la temperatura de la llama. El residuo de carbón debe brillar en brasas pero no inflamarse. Se continúa calentando hasta que se quemen todo el carbón y los alquitranes en el crisol. El crisol y el precipitado están ahora listos para la calcinación, la cual se puede continuar con el mechero a la temperatura máxima, o con la mufla.

Antes de recolectar el precipitado en un filtro crisol o transferirlo a un crisol, éste se debe secar hasta peso constante (por ejemplo, una hora de calentamiento, seguida de calentamientos de media hora) si se va a secar el precipitado, o se debe calentar hasta peso constante si el precipitado se va a incinerar. Se considera que se ha alcanzado el peso constante con una balanza analítica de estudiante cuando las pesadas sucesivas concuerdan dentro de alrededor de 0.3 o 0.4 mg. El crisol con el precipitado se calienta hasta peso constante de manera similar. Después del primer calentamiento, el tiempo de calentamiento se puede reducir a la mitad. Se deja enfriar el crisol en un desecador durante por lo menos media hora antes de pesar. Los crisoles al rojo se dejan enfriar hasta que desaparezca la incandescencia antes de colocarlos en el desecador (usar tenazas para crisoles, por lo general niqueladas o de acero inoxidable, para minimizar la contaminación por herrumbre). Antes de pesar un crisol cubierto, verificar si hay calor radiante colocando la mano cerca (no tocarlo).

La calcinación inicial se hace lentamente.

¡Se seca y se pesa el crisol antes de agregar el precipitado!

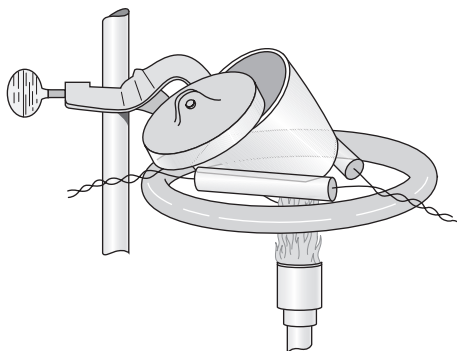


Figura 2.26. Crisol y tapa apoyados en un triángulo de alambre para quemar el papel.

Véase el capítulo 3 para consideraciones estadísticas importantes en el muestreo.

2.9 Obtención de la muestra. ¿Es sólida, líquida o gaseosa?

Recolectar una muestra representativa es un aspecto de la química analítica que a menudo no preocupa al estudiante analítico principiante porque se supone que las muestras que se le entregan son homogéneas y representativas. No obstante, este proceso puede ser el aspecto más importante de un análisis. La significación y la exactitud de las mediciones pueden estar limitadas por el proceso de muestreo. A menos que el muestreo se haga de manera correcta, se convierte en el eslabón débil en la cadena del análisis. Algunas veces una vida puede depender del manejo correcto de una muestra de sangre durante y después de la toma de muestra. Si el analista recibe una muestra y no participa activamente en el proceso de muestreo, entonces los resultados que obtenga se pueden atribuir sólo a la muestra “tal como se recibió”. Y se debe documentar la cadena de custodia, como antes se mencionó.

Muchas sociedades profesionales han especificado instrucciones definidas para muestrear ciertos materiales [por ejemplo, la American Society for Testing and Materials (ASTM: www.astm.org), la Association of Official Analytical Chemists International (AOAC International: www.aoac.org), y la American Public Health Association (APHA: www.apha.org)]. Mediante la aplicación adecuada de la experiencia y la estadística, estos materiales se pueden muestrear con la misma exactitud con la que se realiza el análisis. A menudo, sin embargo, la decisión se deja al analista. La facilidad o complejidad del muestreo dependerá, por supuesto, de la naturaleza de la muestra.

El problema está en obtener una muestra que sea representativa del todo. Ésta se conoce como **muestra compuesta**. Su tamaño puede variar desde unos pocos gramos o menos hasta varios kilogramos, dependiendo del tipo de material a granel. Una vez que se ha obtenido una muestra compuesta representativa, tal vez se tenga que reducir a un tamaño suficientemente pequeño para el manejo. Ésta se llama la **muestra**. Una vez que se obtiene se analiza una alícuota o porción de ella. Esta alícuota se llama **muestra para análisis**. Se pueden realizar varios análisis de réplica en la misma muestra tomando alícuotas separadas.

En el laboratorio clínico, normalmente es satisfactoria la muestra compuesta para usarse como muestra, porque no es grande y es homogénea (por ejemplo, muestras de sangre y orina). La cantidad de muestra de análisis por lo regular será desde unos pocos mililitros hasta una fracción de gota (unos pocos microlitros).

En seguida se consideran algunos de los problemas relacionados con la obtención de muestras compuestas de sólidos, líquidos y gases.

1. Sólidos. La falta de homogeneidad del material, la variación en tamaño de partícula y la variación dentro de la partícula hacen que el muestreo de sólidos sea más difícil que el de otros materiales. La forma más fácil de muestrear un material, pero en general la menos confiable, es la **muestra al azar**, que se presume representativa. La muestra al azar será satisfactoria sólo si el material del que se toma es homogéneo. Para resultados más confiables, es mejor tomar como muestra compuesta 1/50 a 1/100 del material total, a no ser que la muestra sea bastante homogénea. Cuanto mayor sea el tamaño de partícula, mayor debe ser la muestra compuesta.

El momento más fácil y confiable para tomar muestras de grandes volúmenes de materiales sólidos es mientras éstos se están moviendo. En esta forma, se puede extraer para muestreo cualquier porción del volumen del material. Así se puede realizar un muestreo sistemático para obtener alícuotas que representen todas las porciones del lote. En seguida se dan algunos ejemplos.

En la carga o descarga de sacos de cemento se puede obtener una muestra representativa tomando cada quincuagésimo saco, o bien tomar una muestra de cada uno de los sacos. Durante el movimiento de granos en carretillas de mano se pueden tomar carretilladas representativas, o bien una palada de cada carretilla. Todas estas alícuotas se combinan para formar una muestra compuesta.



Muestreo (de la colección de revistas de la Biblioteca Othmer de la Chemical Heritage Foundation).

2. Líquidos. Estos materiales tienden a ser homogéneos y son mucho más fáciles de muestrear. Los líquidos se mezclan por difusión pero muy lentamente, por lo que deben agitarse para obtener una mezcla homogénea. Si el material es realmente homogéneo, bastará con una muestra simple al azar. Para fines prácticos, este método es satisfactorio para tomar muestras de sangre. Las recolecciones de muestras de orina de 24 horas por lo general son más confiables que los especímenes aislados.

Sin embargo, el momento de muestreo de los fluidos biológicos es muy importante. La composición de la sangre varía de manera considerable antes y después de los alimentos, y para muchos análisis se toma la muestra cuando el paciente ha ayunado durante varias horas. Al tomar muestras de sangre se pueden añadir conservadores como fluoruro de sodio para la conservación de glucosa, y anticoagulantes.

Las muestras de sangre se pueden analizar como sangre entera, o bien separarse para obtener *plasma* o *siero*, según las necesidades del análisis específico. Más comúnmente, la concentración de la sustancia externa a los glóbulos rojos (la concentración extracelular) será una indicación significativa de las condiciones fisiológicas, y por esta razón se toma el suero o el plasma para análisis.

Si las muestras líquidas no son homogéneas o si son suficientemente pequeñas, se pueden agitar y muestrear de inmediato. Por ejemplo, en el líquido puede haber partículas que han tendido a sedimentarse. Las masas grandes de líquidos se muestrean mejor después de un traslado, o si están en una tubería, después de pasar por una bomba donde han sufrido un mezclado enérgico. Las masas grandes estacionarias de líquido se pueden muestrear con un *muestreador ladrón*, que es un dispositivo para obtener alícuotas a diferentes profundidades en diagonal, más que en vertical. Las alícuotas separadas de líquidos suelen analizarse en forma individual, o se pueden combinar en una muestra compuesta y hacer un análisis de réplica. Este último procedimiento probablemente se prefiera porque el analista tiene entonces alguna idea de la precisión del análisis.

3. Gases. El método habitual para tomar muestras de gases utiliza el desplazamiento de un líquido. Debe ser un líquido en el que la muestra tenga poca solubilidad y con el cual no reaccione. El mercurio es el líquido que se emplea más comúnmente. El mercurio se deja salir lentamente desde el fondo del contenedor, lo cual succiona el gas al interior por la parte superior. Este procedimiento permite recolectar una muestra promedio durante un periodo relativamente largo. En algunos casos es satisfactoria una muestra tomada al azar. Para tomar, por ejemplo, una muestra de aliento, el sujeto puede soplar en una bolsa al vacío. El escape de un automóvil se puede recolectar en una bolsa grande de plástico al vacío.

Puede ser necesario o no conocer el volumen de una muestra bruta de gas recolectada. Con frecuencia se mide la *concentración* de cierto analito en la muestra de gas, más que la *cantidad*. Por supuesto, la temperatura y la presión de la muestra serán importantes en la determinación del volumen y, por tanto, de la concentración.

El muestreo de gas aquí mencionado no se aplica a componentes gaseosos disueltos en líquido, como CO_2 u O_2 en la sangre. Éstos se tratan como muestras líquidas, y entonces se manejan de la manera adecuada para medir el gas en el líquido o liberarlo del líquido para la medición.

Véase el capítulo 24 para más información sobre muestreo de fluidos biológicos.

Véase el capítulo 26 para más información sobre obtención de muestras ambientales.

2.10 Operaciones de secado y preparación de una solución del analito

En general, después de tomar una muestra se debe preparar una solución del analito antes de continuar el análisis. Puede requerirse secar la muestra, y se debe pesar o medir el

volumen. Si la muestra es ya una solución (por ejemplo suero, orina o agua), entonces puede estar indicada una extracción, precipitación o concentración del analito, y esto también suele ser válido para otras muestras.

En esta sección se describen medios comunes para preparar soluciones de materiales inorgánicos y orgánicos. Se incluyen la disolución de metales y compuestos orgánicos en diversos ácidos o en fundentes básicos (fusión), la destrucción de materiales orgánicos y biológicos para la determinación de los componentes inorgánicos (mediante digestión húmeda o calcinación seca), y la remoción de proteínas de los materiales biológicos para que no interfieran en el análisis de componentes orgánicos o inorgánicos.

SECADO DE LA MUESTRA

Las muestras sólidas suelen contener cantidades variables de agua adsorbida. Con materiales inorgánicos, por lo general la muestra se seca antes de pesarla. Esto se consigue colocándola en un horno de secado a 105 a 110°C durante una o dos horas. Otro tipo de agua no esencial, como la atrapada dentro de los cristales, puede necesitar temperaturas más altas para su remoción.

Durante el secado se debe considerar la descomposición o las reacciones laterales de la muestra. El material inestable al calor se puede secar poniéndolo en un desecador; el empleo de un desecador al vacío acelera el proceso de secado. Si la muestra se pesa sin secar, los resultados se deben informar sobre la base “tal cual está”.

Las muestras de plantas y tejidos normalmente se pueden secar por calor. Véase el capítulo 1 para una explicación de las diversas bases de peso (húmeda, seca y cenizas) que se usan para dar a conocer los resultados analíticos para estas muestras.

DISOLUCIÓN DE MUESTRAS

Antes de medir el analito, por lo general se requiere algún tipo de alteración para ponerlo en solución o, para muestras biológicas, liberarlo de sustancias orgánicas que interfieran, como las proteínas. Hay dos tipos de preparaciones de muestra: las preparaciones que destruyen totalmente la matriz de la muestra y las no destructivas o parcialmente destructivas. El primer tipo se puede usar de ordinario sólo cuando el analito es inorgánico o se puede convertir a un derivado inorgánico para medirlo (por ejemplo, el análisis Kjeldahl, en el que el nitrógeno orgánico se convierte a ion amonio; véase más adelante). El segundo tipo se debe usar si el analito que se va a medir es una sustancia orgánica

DISOLUCIÓN DE SÓLIDOS INORGÁNICOS

Los ácidos minerales fuertes son buenos disolventes para muchos materiales inorgánicos. El *ácido clorhídrico* es un buen disolvente general para metales que están por arriba del hidrógeno en la serie electromotriz. El *ácido nítrico* es un ácido oxidante fuerte que disuelve la mayor parte de los metales comunes, las aleaciones no ferrosas y los sulfuros “insolubles en ácido”.

Cuando se calienta el *ácido perclórico* para evaporar el agua se convierte en un ácido muy fuerte y eficiente en estado deshidratado. Disuelve la mayoría de los metales comunes y destruye trazas de materia orgánica. Se debe usar con extrema precaución porque reacciona en forma explosiva con muchas sustancias fácilmente oxidables, en especial con la materia orgánica.

Algunos materiales inorgánicos no se disuelven en ácidos, y se debe emplear la **fusión** con un **fundente** ácido o básico en estado fundido para hacerlos solubles. La muestra se mezcla con el fundente en una relación de muestra a fundente de alrededor de 1 a 10 o 20, y la combinación se calienta en un crisol adecuado hasta que el fundente se funde.

Se usan fusiones cuando los ácidos no disuelven la muestra.

Cuando el material fundido se aclara, por lo general en unos 30 minutos, la reacción está completa. El sólido enfriado se disuelve luego en ácido diluido o en agua. Durante el proceso de fusión, los materiales insolubles reaccionan con el fundente para formar un producto soluble. El carbonato de sodio es uno de los fundentes básicos más útiles, y produce carbonatos solubles en ácido.

DESTRUCCIÓN DE MATERIALES ORGÁNICOS PARA ANÁLISIS INORGÁNICO. COMBUSTIÓN U OXIDACIÓN ÁCIDA

Los tejidos animales y vegetales, los fluidos biológicos y los compuestos orgánicos por lo regular se descomponen por **digestión húmeda** con un ácido oxidante a ebullición o con una mezcla de ácidos, o por **calcinación seca** a alta temperatura (400 a 700°C) en una mufla. En la digestión húmeda, los ácidos oxidan la materia orgánica a dióxido de carbono, agua y otros productos volátiles que se evaporan, dejando las sales o los ácidos de los componentes inorgánicos. En la calcinación seca, el oxígeno atmosférico sirve como oxidante: es decir, la materia orgánica se quema, dejando un residuo inorgánico. Se pueden usar auxiliares oxidantes en la calcinación seca.

1. Calcinación seca. Aunque los analistas usan diversos tipos de calcinación seca y combinaciones de digestión húmeda, casi con la misma frecuencia, tal vez la técnica que más comúnmente se emplea es la calcinación seca simple sin auxiliares químicos. Se pueden recuperar trazas de plomo, zinc, cobalto, antimonio, cromo, molibdeno, estroncio y hierro con poca pérdida por retención o volatilización. Casi siempre se puede utilizar un crisol de porcelana. El plomo se volatiliza a temperaturas por encima de 500°C, especialmente si hay cloruro presente, como en la sangre o la orina. Para plomo, se prefiere usar crisoles de platino para minimizar las pérdidas por retención.

Si se agrega a la muestra un material oxidante se aumenta la eficiencia de calcinación. El nitrato de magnesio es uno de los auxiliares más útiles, que permite recuperar arsénico, cobre y plata, además de los elementos antes citados.

Los líquidos y los tejidos húmedos se secan en un baño de vapor o por calentamiento suave antes de colocarlos en una mufla. El calor del horno se debe aplicar gradualmente hasta plena temperatura para evitar la combustión rápida y el espumado.

Después de terminar la calcinación seca, el residuo por lo general se lixivia del recipiente con 1 a 2 mL de ácido clorhídrico caliente concentrado o 6 M, y se transfiere a un matraz o vaso de precipitados para el tratamiento siguiente.

Otra técnica de secado es la de **calcinación a baja temperatura**. Se usa una descarga de radiofrecuencia para producir radicales de oxígeno activados que son muy reactivos y atacan la materia orgánica a temperaturas bajas. Se pueden mantener temperaturas menores de 100°C y se reducen al mínimo las pérdidas por volatilidad. La introducción de los elementos del contenedor y de la atmósfera se reduce, y lo mismo sucede con las pérdidas por retención. Estudios con radiorastreadores han demostrado que 17 elementos representativos se recuperan de manera cuantitativa después de la oxidación completa del sustrato orgánico.

El **análisis elemental** en el caso de compuestos orgánicos (por ejemplo, para carbono o hidrógeno) se realiza por lo general por **combustión con oxígeno** en un tubo, seguida de un tren de absorción. El oxígeno se pasa sobre la muestra en una navetilla de platino, que se calienta y convierte cuantitativamente el carbono en CO₂ y el hidrógeno en H₂O. Estos gases de combustión pasan al tren de absorción en donde se absorben en tubos prepesados que contienen un absorbente adecuado. Por ejemplo, se usa **ascarita** (hidróxido de sodio en asbesto) para absorber el CO₂, y **dehidrita** (perclorato de magnesio) para absorber el H₂O. El aumento de peso de los tubos de absorción es una medida del CO₂ y el H₂O liberados de la muestra. Los detalles de esta técnica son importantes, y si el lector tiene oportunidad de usarla, debe consultar textos más amplios sobre análisis elementales.

En la calcinación seca se quema la materia orgánica.

En la digestión húmeda, la materia orgánica se oxida con un ácido oxidante.

2. Digestión húmeda. La digestión húmeda con una mezcla de ácidos nítrico y sulfúrico es el segundo procedimiento de oxidación utilizado más a menudo. Por lo regular se usa una pequeña cantidad (por ejemplo, 5 mL) de ácido sulfúrico con mayores volúmenes de ácido nítrico (20 a 30 mL). Las digestiones húmedas normalmente se realizan en matraces Kjeldahl (figura 2.28). El ácido nítrico destruye la mayor parte de la materia orgánica, pero no se calienta lo suficiente para destruir las últimas trazas. Se evapora durante el proceso de digestión, hasta que sólo queda ácido sulfúrico y se generan humos densos y blancos de SO_3 que vuelven por reflujo al matraz. En este punto, la solución se pone muy caliente, y el ácido sulfúrico actúa sobre el material orgánico restante. Entonces puede ocurrir carbonización si hay materia orgánica considerable o muy resistente. Si persiste la materia orgánica se puede agregar más ácido nítrico. La digestión continúa hasta que la solución se aclara. Todos los procedimientos se deben realizar en una campana de extracción de gases.

Una mezcla mucho más eficiente de digestión utiliza ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico en una relación de volúmenes de alrededor de 3:1:1. Suelen bastar 10 mL de esta mezcla para 10 g de tejido fresco o sangre. El ácido perclórico es un agente oxidante extremadamente eficiente cuando está deshidratado y caliente, y destruye las últimas trazas de materia orgánica con relativa facilidad. Las muestras se calientan hasta que se evapora el ácido nítrico y aparecen los gases de ácido perclórico, que son menos densos que el SO_3 , pero llenan más fácilmente el matraz. El ácido perclórico caliente se hierve, por lo general hasta que aparecen los humos de SO_3 , indicando la evaporación de todo el ácido perclórico. Se debe agregar suficiente ácido nítrico al principio para disolver y destruir la mayor parte de la materia orgánica, y debe haber ácido sulfúrico presente para evitar que la muestra se seque; de otra manera hay peligro de explosión por el ácido perclórico. Se debe usar una campana diseñada especialmente para trabajar con ácido perclórico para todas las digestiones que lo incluyan.

Esta mezcla es aún más eficiente si se agrega una pequeña cantidad de catalizador de molibdeno(VI). Tan pronto como se evaporan el agua y el ácido nítrico, la oxidación procede vigorosamente con producción de espuma, y la digestión queda completa en unos pocos segundos. El tiempo de digestión se reduce considerablemente.

El ácido perclórico se debe usar con precaución.

También se usa comúnmente una mezcla de ácidos nítrico y perclórico. El ácido nítrico se evapora primero, y se debe tener cuidado de evitar la evaporación del ácido perclórico al grado de sequedad, o puede ocurrir una violenta explosión; este procedimiento *no se recomienda* a menos que se tenga considerable experiencia en procedimientos de digestión. **Nunca se debe agregar el ácido perclórico directo a material orgánico o biológico.** Siempre se agrega primero un exceso de ácido nítrico. Las explosiones con ácido perclórico por lo general se asocian a la formación de peróxidos, y el ácido se vuelve de color oscuro (por ejemplo, marrón amarillento) antes de la explosión. Ciertos compuestos orgánicos, como el etanol, la celulosa y los alcoholes polihídricos, pueden hacer que el ácido perclórico caliente concentrado estalle violentamente; se supone que esto se debe a la formación de perclorato de etilo.

Una mezcla de ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico permite recobrar cuantitativamente zinc, selenio, arsénico, cobre, cobalto, plata, cadmio, antimonio, cromo, molibdeno, estroncio y hierro. Con frecuencia se pierde el plomo si se usa ácido sulfúrico. La mezcla de ácidos nítrico y perclórico se puede usar para plomo y todos los elementos ya mencionados. El ácido perclórico debe estar presente para evitar pérdidas de selenio. Mantiene condiciones de oxidación fuertes y evita la carbonización, que dará como resultado la formación de compuestos volátiles de estados inferiores de oxidación del selenio. Las muestras que contengan mercurio no se pueden incinerar en seco. Se debe hacer digestión húmeda con calentamiento usando un aparato de reflujo debido a la naturaleza volátil del mercurio y sus compuestos. A menudo se prefieren procedimientos en frío o a la temperatura de laboratorio para obtener la destrucción parcial de la materia orgánica. Por ejemplo, en las muestras de orina que contienen una cantidad relativamente pequeña de materia orgánica en comparación con la sangre, el mercurio se puede reducir al elemento con cobre(I) y clorhidrato de hidroxilamina, y la materia orgánica se puede destruir con permanganato de potasio a temperatura de laboratorio. Entonces se puede disolver el mercurio y continuar el análisis.

Muchos compuestos nitrogenados se pueden determinar por **digestión Kjeldahl** para convertir el nitrógeno en sulfato de amonio. La mezcla de digestión se compone de ácido sulfúrico y sulfato de potasio para elevar el punto de ebullición del ácido y aumentar así su eficiencia. También se añade un catalizador (por ejemplo cobre o selenio). Después de la destrucción de la materia orgánica se agrega hidróxido de sodio para alcalinizar la solución, y se destila el amoníaco en un exceso de ácido clorhídrico estándar. El exceso de ácido se contratitula con álcali estándar para determinar la cantidad de amoníaco que se recogió. Si se conoce la composición porcentual de nitrógeno en el compuesto de interés se puede calcular la cantidad del compuesto a partir de la cantidad de amoníaco que se determinó. Éste es el método más exacto para determinar proteínas. La proteína contiene un porcentaje definido de nitrógeno, que se convierte en sulfato de amonio durante la digestión. Véase el capítulo 8 para mayores detalles.

Los méritos relativos de los métodos de oxidación se han estudiado ampliamente. Sin embargo, todavía no hay acuerdo respecto a cuál debe preferirse. Se recomienda la calcinación ácida por su simplicidad y relativa libertad de errores positivos (contaminación), ya que se añaden pocos reactivos o ninguno. Los posibles errores de la oxidación seca son la volatilización de elementos y pérdidas por retención en las paredes del recipiente. Los metales adsorbidos en el recipiente pueden a su vez contaminar las muestras futuras. La digestión húmeda se considera superior en términos de rapidez (aunque sí requiere más atención del operador), bajo nivel de temperatura y menores pérdidas por retención. El principal error atribuido a la digestión húmeda es la introducción de impurezas de los reactivos necesarios para la reacción. Este problema se ha reducido al mínimo al disponerse de ácidos comerciales grado reactivo con mayor pureza, y ahora se pueden obtener comercialmente ácidos de alta pureza especialmente preparados. El tiempo necesario para calcinación o digestión varía según la muestra y la técnica que se utilice. Es común un tiempo de 2 a 4 h para calcinación seca, y de media a una hora para digestión húmeda.

En la digestión Kjeldahl, el nitrógeno se convierte a ion amonio, que luego se destila como amoníaco y se titula.

Tanto la calcinación seca como la digestión húmeda tienen ventajas y limitantes.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS EN MICROONDAS

Ahora se usan extensamente los hornos de microondas para llevar a cabo el secado y la descomposición ácida de las muestras con rapidez y eficiencia. Los hornos de laboratorio están especialmente diseñados para contrarrestar las limitaciones de los hornos domésticos; esto se explica más adelante. Las ventajas de las digestiones con microondas incluyen la reducción de los tiempos de disolución de horas a minutos y bajos niveles de tiempo perdido debido a que se requieren menores cantidades de reactivos.

1. ¿Cómo calientan las microondas? Las microondas se ubican entre la radiación infrarroja y las ondas de radio en el espectro electromagnético, en el intervalo de frecuencia de 300 a 300 000 Mhz (3×10^8 a 3×10^{11} Hz, o comenzando aproximadamente a $1\,000\,\mu\text{m}$ de longitud de onda; véase la figura 16.2). Los hornos de microondas consisten en un campo eléctrico y un campo magnético perpendicular al eléctrico. El campo eléctrico se encarga de la transferencia de energía entre la fuente de microondas y la muestra irradiada. La energía de microondas afecta a las moléculas de dos maneras: rotación de dipolo y conducción iónica. La primera es la más importante. Cuando la energía de microondas pasa por la muestra, las moléculas que tienen momentos dipolares tratarán de alinearse con el campo eléctrico, y las más polares tienen la interacción más fuerte con el campo. Este movimiento molecular (rotación) da por resultado el calentamiento. La transferencia de energía, función del momento dipolar y la constante dieléctrica, es más eficiente cuando las moléculas pueden relajarse rápidamente; es decir, cuando el tiempo de relajación iguala a la frecuencia de las microondas. Las moléculas grandes, como los polímeros, se relajan lentamente; pero una vez que la temperatura aumenta y se relajan más rápido, pueden absorber la energía con mayor eficiencia. Sin embargo, las moléculas pequeñas, como las del agua, se relajan más rápido que la energía resonante de microondas, y se mueven más lejos de la frecuencia de resonancia y absorben menos energía al calentarse.

El efecto de conducción iónica surge porque las especies iónicas en presencia de un campo eléctrico migran en una dirección o en la otra. La energía se transfiere del campo eléctrico, provocando interacciones iónicas que aceleran el calentamiento de una solución. Los absorbentes iónicos se vuelven fuertes absorbentes de energía de microondas al calentarse, ya que la conductancia iónica aumenta con la temperatura. El agua desionizada se calienta lentamente, pero si se añade sal, se calienta con mayor rapidez. Los ácidos, por supuesto, son buenos conductores y se calientan rápidamente.

En resumen, la energía de las microondas calienta al provocar movimiento de las moléculas debido a la rotación del dipolo y al movimiento de los iones debido a la conductancia iónica. La energía de las microondas interactúa con diferentes materiales de diferentes maneras. Los materiales reflejantes, como los metales, son buenos conductores del calor: no se calientan y, en vez de esto, reflejan la energía de las microondas. Los materiales transparentes son aislantes porque transmiten la energía de microondas y tampoco se calientan. Los materiales absorbentes, las moléculas y iones antes mencionados, son los que reciben las microondas y se calientan. La energía de microondas es demasiado baja para romper enlaces químicos (característica que ha generado interés en el uso de la energía de microondas para acelerar las reacciones químicas en las síntesis). Las propiedades de los materiales reflejantes se aprovechan para diseñar sistemas de digestión en microondas.

Las microondas calientan al hacer que las moléculas giren y los iones migren.

Los hornos domésticos de microondas no sirven para el calentamiento de pequeñas muestras.

2. Diseño de hornos de microondas para laboratorio. Los hornos domésticos de microondas se usaron inicialmente para propósitos de laboratorio; pero pronto se hizo evidente que había que hacer modificaciones. Las muestras de laboratorio normalmente son mucho más pequeñas que las muestras de alimentos que se cocinan, de manera que no absorben mucho de la energía producida por el magnetrón del horno. La energía no absorbida por la muestra rebota de regreso al magnetrón, haciendo que se sobrecaliente y se queme; también puede producirse un arco eléctrico. Por todo esto, los hornos de laboratorio están diseñados para proteger el magnetrón de energía parásita. Los principales componentes de estos hornos (figura 2.27) incluyen el magnetrón, un aislante, una guía de ondas, la cavidad y un agitador distribuidor de radiación de microondas. La energía de microondas generada por el magnetrón se propaga por la guía de ondas en la cavidad. El agitador distribuidor distribuye la energía en diferentes direcciones. El aislante, hecho de material ferromagnético y colocado entre el magnetrón y la guía de ondas, refleja la energía de microondas que regresa de la cavidad dentro de una carga cerámica enfriada por ventilador, manteniéndola lejos del magnetrón.

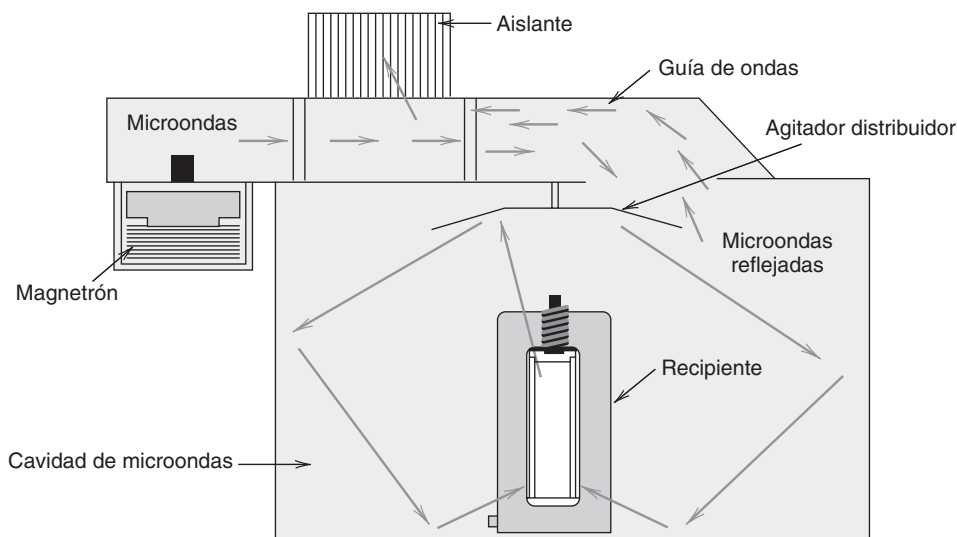


Figura 2.27. Esquema del sistema de microondas. [Según G. Leblanc, *LC/GC Suppl.*, 17(6S) (1999) S30.] (Cortesía de *LC/GC Magazine*.)

La frecuencia que se usa para cocinar resulta ser buena también para la química y el estándar es 2 450 MHz. Comúnmente se usan potencias de 1 200 W.

3. Digestiones ácidas. Las digestiones normalmente se hacen en recipientes cerrados de plástico, ya sea Teflón PFA (perfluoroalcoxi-etileno) o policarbonato (aislantes). Esto es para evitar vapores de ácido en el horno. Proporciona ventajas adicionales. La presión aumenta y se eleva el punto de ebullición del ácido (el ácido se sobrecalienta). Así, las digestiones se realizan con mayor rapidez. Asimismo, los metales volátiles no se pierden. Los hornos modernos permiten el control de la presión y la temperatura (sonda térmica de fibra óptica, transparente a la energía de microondas). El control de temperatura ha permitido usar el horno para extracciones moleculares asistidas por microondas manteniendo la temperatura lo suficientemente baja para evitar descomposición molecular.

DESTRUCCIÓN PARCIAL O NO DESTRUCCIÓN DE LA MATRIZ DE LA MUESTRA

Evidentemente, cuando la sustancia que se va a determinar es de naturaleza orgánica, se deben emplear medios no destructivos de preparación de muestras. Para la determinación de elementos metálicos, algunas veces también es innecesario destruir la estructura molecular de la muestra, en especial con fluidos biológicos. Por ejemplo, varios metales en el suero o en la orina se pueden determinar por espectroscopia de absorción atómica, por aspiración directa de la muestra o una muestra diluida en una flama. Los componentes de materiales sólidos, como suelos, algunas veces se pueden extraer por medio de un reactivo adecuado. Es necesario realizar trituración y mezclado completos y un reflujo para extraer el analito. Se pueden extraer muchos metales traza de suelos con cloruro de amonio o una solución de ácido acético 1 M. Algunos, como el selenio, se pueden destilar en forma de cloruro o bromuro volátil.

FILTRADOS LIBRES DE PROTEÍNA

Las proteínas en los fluidos biológicos interfieren con muchos análisis y se deben remover de manera no destructiva. Diversos reactivos precipitan (coagulan) las proteínas. Algunos de los más comunes son el ácido tricloroacético (TCA), el ácido tungstico (tungstato de sodio más ácido sulfúrico), e hidróxido de bario más sulfato de zinc (una mezcla neutra). Normalmente se trata un volumen medido de la muestra (por ejemplo, suero) con un volumen medido de reactivo. Después de la precipitación de la proteína (unos 10 min), la muestra se filtra a través de papel filtro seco sin lavado, o bien se centrifuga. Luego se toma una alícuota del **filtrado libre de proteínas** (PFF) para el análisis. Los detalles para preparar tipos específicos de filtrados libres de proteínas se dan en el capítulo 22 (bajo “Recolección y conservación de muestras”), así como en los experimentos que los requieran.

Véase el capítulo 24 para la preparación de filtrados libres de proteína.

TÉCNICAS DE LABORATORIO PARA SECADO Y DISOLUCIÓN

Cuando se va a secar una muestra sólida en un pesafiltros se quita la tapa del frasco, y para evitar derrames, ambos se colocan en un vaso de precipitados y se cubren con un vidrio de reloj con costillas.* En el vaso se debe colocar alguna forma de identificación.

La mezcla pesada se puede disolver en un vaso de precipitados o en un matraz Erlenmeyer. Si hay alguna efervescencia se cubre el recipiente con un vidrio de reloj. Después de que la disolución esté completa, se lavan hacia abajo las paredes del recipiente con agua destilada. También se lava el vidrio de reloj de modo que los lavados caigan dentro del recipiente. Puede requerirse evaporar la solución para disminuir el volumen. Esto se hace

Téngase cuidado al secar o disolver muestras.

*N. del R. T.: Si el lector nunca ha visto uno, puede buscarlos como *ribbed watch glass* en algún catálogo de material de vidrio o en la red.

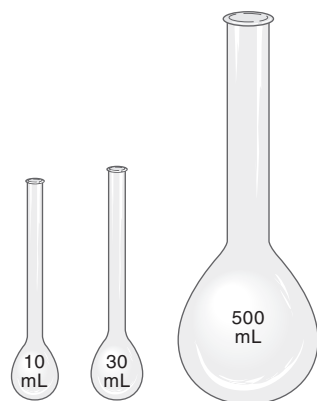


Figura 2.28. Matraces Kjeldahl.

mejor cubriendo el vaso de precipitados con un vidrio de reloj con costillas, de modo que deje espacio para la evaporación. Se debe aplicar calor bajo para evitar la ebullición violenta; puede usarse satisfactoriamente un baño de vapor o una parrilla de calentamiento de temperatura variable.

El empleo de un **matraz Kjeldahl** para la disolución evita algunas de las dificultades de salpicaduras o el borboteo. Los matraces Kjeldahl también son útiles para realizar digestiones. Derivan su nombre de su uso original en digerir muestras para el análisis de nitrógeno Kjeldahl. Son adecuados para todos los tipos de digestión húmeda de muestras orgánicas y la disolución ácida de metales. Los matraces Kjeldahl vienen en varios tamaños, desde 10 hasta 800 mL. Algunos de éstos se muestran en la figura 2.28. La muestra y los ácidos adecuados se colocan en el fondo redondo del matraz, y éste se inclina mientras se calienta. De esta manera el ácido se puede hervir o refluir con poco peligro de pérdida por “borboteo”. El matraz se puede calentar con una llama o en gradillas especiales de digestión Kjeldahl, calentadas eléctricamente, que se encargan de elevar la temperatura en forma simultánea a varias muestras.

2.11 Seguridad de laboratorio

Es **importante** familiarizarse con las reglas y procedimientos de seguridad del laboratorio antes de llevar a cabo experimentos. Consultar el apéndice D y el material suministrado por el instructor. Obtener una copia gratis de la referencia 32.

Antes de iniciar cualquiera de los experimentos es importante familiarizarse con los procedimientos de seguridad del laboratorio. El apéndice D explica las reglas generales de seguridad. Se debe leer este material antes de comenzar los experimentos. El instructor dará lineamientos específicos y reglas para la operación en el laboratorio y el manejo de desechos de productos químicos. Para una explicación más completa sobre seguridad en el laboratorio se sugiere consultar *Safety in Academic Chemistry Laboratories*, publicado por la American Chemical Society (referencia 32). Esta guía explica la protección del personal y el protocolo de laboratorio, las técnicas recomendadas de laboratorio, los riesgos químicos, las instrucciones sobre la lectura y comprensión de las hojas de seguridad de materiales (MSDSs), y el equipo de seguridad y los procedimientos de urgencia. Se dan reglas para el desecho de desperdicios, terminología de clasificación de desechos, normas de laboratorio de la *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) referente a exposiciones a productos químicos peligrosos y los requisitos de EPA. El manejo y tratamiento de peróxidos inorgánicos y orgánicos se explican en detalle y se da una extensa



(Cortesía de Merck KGaA. Reproducido con permiso.)

¡Siempre proteja sus ojos en el laboratorio!

lista de productos químicos incompatibles, y otra sobre las capacidades máximas permisibles de contenedores para líquidos inflamables y combustibles. Este útil folleto es de lecturas recomendadas para estudiantes e instructores. Se puede obtener una copia gratuita en la *American Chemical Society*, Washington, DC (1-800-227-5558).

The Waste Management Manual for Laboratory Personnel, también publicado por la American Chemical Society, da una visión general de los reglamentos oficiales (referencia 33).

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Mantener un buen cuaderno de anotaciones, p. 20
- Usar productos químicos grado reactivo, p. 24
- Cómo usar la balanza analítica, p. 24
- Equipo de cristalería volumétrico y cómo usarlo, pp. 32, 36
- Cómo calibrar el equipo de vidrio, p. 39
- Cómo preparar soluciones estándar ácidas y básicas, pp. 43, 44
- Aparatos comunes de laboratorio para manejar y tratar las muestras, p. 44
- Cómo filtrar y preparar precipitados para análisis gravimétrico, p. 48
- Cómo muestrear sólidos, líquidos y gases, p. 52
- Cómo preparar una solución del analito, p. 53

Preguntas

1. Describir los aparatos básicos que se usan para mediciones volumétricas. En una lista, indicar si cada uno de ellos está diseñado para contener o para proporcionar el volumen especificado.
2. Describir el principio y la operación de la balanza analítica.
3. ¿Por qué una microbalanza es más sensible que una balanza analítica?
4. ¿Qué significa TD en el equipo de vidrio?, ¿y TC?
5. Explicar la pesada por diferencia.
6. Distinguir entre el punto cero y el punto de reposo de una balanza.
7. Dar una lista de las reglas generales para el uso de la balanza.
8. Describir la preparación de una solución estándar de HCl y una solución estándar de NaOH.
9. Describir los principios de calcinación seca y digestión húmeda de materiales orgánicos y biológicos. Indicar en una lista las ventajas de cada una.
10. ¿Cuáles son dos medios principales para disolver materiales inorgánicos?
11. ¿Qué es un PFF? ¿Cómo se prepararía?
12. ¿Qué conjunto de condiciones se debe evitar cuidadosamente para usar con seguridad el ácido perclórico para digerir materiales orgánicos?
13. ¿Qué es una muestra compuesta? ¿Una muestra? ¿Una muestra de análisis? ¿Una muestra al azar?
14. ¿Qué pasa cuando la energía de microondas calienta las muestras?

Problemas

CALIBRACIÓN DE EQUIPO DE CRISTALERÍA/ CORRECCIONES DE TEMPERATURA

15. Se calibra un matraz volumétrico de 25 mL llenándolo hasta la marca de aforo con agua destilada, equilibrada a 22°C. El matraz seco con tapón pesa 27.278 g, y el matraz lleno con tapón pesa 52.127 g. La balanza usa pesas de acero inoxidable. ¿Cuál es el volumen del matraz? ¿Cuál es a los 20°C estándar?
16. Se calibra una pipeta de 25 mL a 25°C usando pesas de acero. El peso del volumen dispensado de agua es 24.971 g. ¿Cuál es el volumen de la pipeta a 25 y 20°C?
17. Se calibra una bureta de 50 mL en invierno, a 20°C, con las siguientes correcciones:

Lectura de la bureta (mL)	Corrección (mL)
10	+0.02
20	+0.03
30	0.00
40	-0.04
50	-0.02

Se usa la bureta en un día cálido de verano a 30°C. ¿Cuáles son entonces las correcciones?

18. Se prepara una solución estándar a 21°C y luego se usa a 29°C. Si la concentración estandarizada es 0.05129 M, ¿cuál es cuando se usa la solución?

Referencias recomendadas

REACTIVOS Y ESTÁNDARES

1. *Reagent Chemicals, American Chemical Society Specifications*, 9a. ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 2000.
2. *Dictionary of Analytical Reagents*, Londres: Chapman & Hall, 1993. Datos sobre más de 10 000 reactivos.
3. J. R. Moody y E. S. Beary, "Purified Reagents for Trace Metal Analysis", *Talanta*, **29** (1982), 1003. Describe preparaciones subebullición de ácidos de alta pureza.
4. R. C. Richter, D. Link y H. M. Kingston, "On-Demand Production of High-Purity Acids in Analytical Laboratory", *Spectroscopy*, **15**(1)(2000) 38. Describe la preparación usando un sistema comercial subebullición.
5. www.thornsmithlabs.com. Thorn Smith Laboratories proporciona materiales preempacados para experimentos de estudiantes en química analítica (muestras problema y estándares); www.sigma-aldrich.com/analytical. Proveedor de soluciones estándar.

BALANZAS ANALÍTICAS

6. D. F. Rohrbach y M. Pickering, "A Comparison of Mechanical and Electronic Balances", *J. Chem. Ed.*, **59**(1982) 418.
7. R. M. Schoonover, "A Look at the Electronic Analytical Balance", *Anal. Chem.*, **54**(1982) 973A.

8. K. M. Lang, "Time-Saving Applications of Electronic Analytical Balances", *Am. Lab.*, marzo (1983) 72.

CALIBRACIÓN DE PESOS

9. W. D. Abele, "Laboratory Note: Time-Saving Applications of Electronic Balances", *Am. Lib.*, **13**(1981) 154. Se explica la calibración de pesos usando estándares de masa calibrados por el National Institute of Standards and Technology.
10. D. F. Swineheart, "Calibration of Weights in a One-Pan Balance", *Anal. Lett.*, **10**(1977) 1123.

CALIBRACIÓN DE EQUIPO VOLUMÉTRICO

11. G. D. Christian, "Coulometric Calibration of Micropipets", *Microchem. J.*, **9**(1965) 16.
12. M. R. Masson, "Calibration of Plastic Laboratory Ware", *Talanta*, **28**(1981) 781. Se presentan tablas para usarse en calibración de recipientes de polipropileno.
13. W. Ryan, "Titrimetric and Gravimetric Calibration of Pipettors: A Survey", *Am. J. Med. Technol.*, **48**(1982) 763. Se describe la calibración de pipeteadoras de 1 a 500 μL .
14. M. R. Winward, E. M. Wooley y E. A. Butler, "Air Buoyancy Corrections for Single-Pan Balances", *Anal. Chem.*, **49**(1977) 2126.
15. R. M. Schoonover y F. E. Jones, "Air Buoyancy Corrections in High-Accuracy Weighing on Analytical Balances", *Anal. Chem.*, **53**(1981) 900.

LABORATORIOS LIMPIOS

16. J. R. Moody, "The NBS Clean Laboratories for Trace Element Analysis", *Anal. Chem.*, **54**(1982) 1358A.

MUESTREO

17. J. A. Bishop, "An Experiment in Sampling", *J. Chem. Ed.*, **35**(1958) 31.
18. J. R. Moody, "The Sampling, Handling and Storage of Materials for Trace Analysis", *Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. A*, **395**(1982) 669.
19. G. E. Baiulescu, P. Dumitrescu y P. Gh. Zugravescu, *Sampling*, Chichester: Ellis Horwood, 1991.

PREPARACIÓN Y DISOLUCIÓN DE MUESTRAS

20. G. D. Christian, "Medicine, Trace Elements, and Atomic Absorption Spectroscopy", *Anal. Chem.*, **41**(1)(1969) 24A. Describe la preparación de soluciones de fluidos y tejidos biológicos.
21. G. D. Christian, E. C. Knoblock y W. C. Purdy, "Polarographic Determination of Selenium in Biological Materials", *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists*, **48**(1965) 877; R. K. Simon, G. D. Christian y W. C. Purdy, "Coulometric Determination of Arsenic in Urine", *Am. J. Clin. Pathol.*, **49** (1968) 207. Describa los usos de Mo(VI) y catalice las digestiones.
22. T. T. Gorsuch, "Radiochemical Investigations on the Recovery for Analysis of Trace Elements in Organic and Biological Materials", *Analyst*, **84**(1959) 135.
23. S. Nobel y D. Nobel, "Determination of Mercury in Urine", *Clin. Chem.*, **4**(1958) 150. Describe la digestión a temperatura de laboratorio.

24. G. Knapp, "Mechanical Techniques for Simple Decomposition and Element Preconcentration", *Mikrochim. Acta*, **II**(1991) 445. Da una lista de mezclas ácidas y usos para digestiones y otros métodos de descomposición.

DIGESTIÓN EN MICROONDAS

25. H. M. Kingston y L. B. Jassie, eds., *Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice*. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1988.
26. H. M. Kingston y S. J. Haswell, eds., *Microwave-Enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample Preparation, and Applications*, Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997.
27. H. M. Kingston y L. B. Jassie, "Microwave Energy for Acid Decomposition at Elevated Temperatures and Pressures Using Biological and Botanical Samples", *Anal. Chem.*, **58**(1986) 2534.
28. R. A. Nadkarni, "Applications of Microwave Oven Sample Dissolution in Analysis", *Anal. Chem.*, **56**(1984) 2233.
29. B. D. Zehr, "Development of Inorganic Microwave Dissolutions", *Am. Lab.*, December (1992) 24. También enumera las propiedades de mezclas ácidas útiles.
30. J. K. Poudrier, "The Microwave Oven as a Specialized Instrument", *Today's Chemist at Work* (American Chemical Society), julio/agosto (1995) 29.
31. www.cemx.com. CEM es un fabricante de hornos de microondas para laboratorio.

SEGURIDAD DE LABORATORIO

32. *Safety in Academic Chemistry Laboratories*, 6th ed., American Chemical Society, Committee on Chemical Safety. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1995.
33. *The Waste Management Manual for Laboratory Personnel*, Task Force on RCRA, American Chemical Society, Department of Government Relations and Science Policy. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1990.
34. A. K. Furr, ed., *CRC Handbook of Laboratory Safety*, 4th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.
35. M.-A. Armour, *Hazardous Laboratory Chemicals Disposal Guide*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.
36. R. J. Alaimo, ed., *Handbook of Chemical Health and Safety*, Washington, D.C.: American Chemical Society, 2001.
37. M. S. Lesny, "It's a Bad, Bad, Bad, Bad World", *Today's Chemist at Work* (American Chemical Society), diciembre (2000) 26. Explica y da una lista de numerosos sitios de red gubernamentales, no gubernamentales y universitarios, de salud y seguridad.

HOJAS DE DATOS DE SEGURIDAD DE LABORATORIO

38. <http://siri.org/msds>. Base de datos en línea con ligas a otros sitios MSDS de riesgos de laboratorio.
39. www.env-sol.com. Solutions Software Corporation.

Capítulo tres

MANEJO DE DATOS Y HOJAS DE CÁLCULO EN QUÍMICA ANALÍTICA



“Los hechos son implacables; las estadísticas son mucho más flexibles.”

—Mark Twain

“43.8% de las estadísticas no valen nada.”

—Anónimo

Aunque el manejo de datos normalmente se lleva a cabo después de que éstos se recaban en un análisis, en este texto se trata el tema al principio porque será necesario tener un conocimiento del análisis estadístico cuando se realicen experimentos en el laboratorio. Asimismo, las estadísticas son necesarias para entender el significado de los datos que se recaban y así delimitar cada paso del análisis. El diseño de experimentos (incluyendo el tamaño de la muestra, la exactitud de las mediciones y el número de análisis que se requieren) se determina a partir de una comprensión correcta de lo que representan los datos.

La disponibilidad de hojas de cálculo para procesar datos ha vuelto muy eficientes los cálculos estadísticos y los cálculos en general. Primero se presentarán al lector detalles de diversos cálculos que se desarrollan a lo largo del texto, los cuales son necesarios para entender cabalmente los diferentes principios; asimismo, en todo el libro se introducirá el uso de la hoja de cálculo para ilustrar cómo aprovechar este software para los cálculos de rutina. En este capítulo se introducen los principios acerca del uso de las hojas de cálculo.

3.1 Exactitud y precisión: hay diferencia

Exactitud es el grado de concordancia entre el valor medido y el valor verdadero. Rara vez se conoce un valor verdadero absoluto, por lo que una definición más realista de exactitud sería la concordancia entre un valor medido y el valor verdadero *aceptado*.

Mediante una buena técnica analítica, como la de hacer comparaciones con una muestra estándar conocida de composición similar, se puede llegar a una suposición razonable sobre la exactitud de un método dentro de las limitaciones del conocimiento de la muestra “conocida” (y de las mediciones). La exactitud con la que se conoce el valor de

Exactitud es qué tanto se acerca el tiro al blanco. *Precisión* es qué tan cerca están uno de otro los tiros repetidos. Es casi imposible tener exactitud sin una buena precisión.

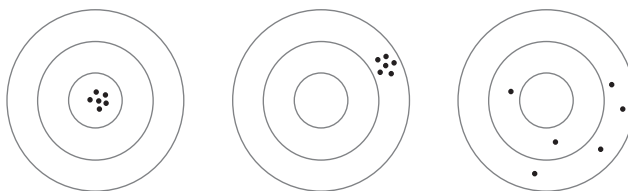


Figura 3.1. Exactitud contra precisión.

La buena precisión no garantiza la exactitud.

“Para estar seguro de dar en el blanco, tire primero, y a cualquier cosa a la que le pegue, llámelo ‘blanco’.”
—Ashleigh Brilliant

una muestra estándar depende finalmente de alguna medición que tendrá en ella un límite dado de certidumbre.

Precisión se define como el grado de concordancia entre mediciones replicadas de la misma cantidad. Es decir, es la repetibilidad de un resultado. La precisión se puede expresar como la desviación estándar, el coeficiente de variación, el intervalo de los datos o un intervalo de confianza (por ejemplo, 95%) alrededor del valor medio. La buena precisión no asegura una buena exactitud. Podría ser el caso, por ejemplo, si hubiera un error sistemático en el análisis. Una pesa que se usa para medir cada una de las muestras puede presentar un error. Este error no afecta la precisión, pero sí afecta la exactitud. Por otro lado, la precisión puede ser relativamente baja y la exactitud, más o menos por probabilidad, puede ser buena. Como todos los análisis reales se conocen, cuanto más alto sea el grado de precisión, mayor será la probabilidad de obtener un valor verdadero. Es infructuoso esperar que un valor sea exacto si la precisión es escasa, y el químico analítico se esfuerza por obtener resultados repetibles para asegurar la exactitud máxima posible.

Estos conceptos se pueden ilustrar con un blanco como en la figura 3.1. Supóngase que se está en práctica de tiro al blanco y se dispara una serie de tiros y que todos caen en el blanco (figura de la izquierda). Se es tan preciso como exacto. En la figura de en-medio, se es preciso (mano y ojos firmes), pero inexacto. Quizá la mira del arma esté desalineada. En la figura de la derecha, ocurre imprecisión y, por tanto, quizás inexactitud. Por lo que es posible apreciar se necesita buena precisión para buena exactitud, pero no la garantiza.

Como se verá más adelante, cuantas mediciones se hagan, más confiable será la medición de precisión. El número de mediciones necesarias dependerá de la precisión que se requiera y de la reproducibilidad conocida del método.

3.2 Los errores determinados son sistemáticos

Los errores determinados o sistemáticos son no aleatorios y ocurren cuando algo anda mal con la medición.

Hay dos clases principales de errores que pueden afectar la exactitud o la precisión de una cantidad medida. Los **errores determinados** son aquellos que, como su nombre lo indica, son determinables y tal vez sea posible evitar o corregir. Pueden ser constantes, como en el caso de una pesa descalibrada que se usa para hacer todas las pesadas, o llegar a ser variables, pero de tal naturaleza que se pueden cuantificar y corregir, como una bureta cuyas lecturas de volumen están en error en diferentes cantidades a diferentes volúmenes.

El error puede ser proporcional al tamaño de la muestra o bien cambiar de manera más compleja. Con más frecuencia, la variación es unidireccional, como en el caso de la pérdida por solubilidad de un precipitado (error negativo). Sin embargo, puede ser de signo aleatorio. Un ejemplo de esto es el cambio en el volumen y la concentración de soluciones que ocurren con modificaciones en la temperatura. Esto se puede corregir midiendo la temperatura de la solución. Los errores determinados medibles se clasifican como **errores sistemáticos**.

Algunos errores determinados comunes son los siguientes:

1. *Errores instrumentales.* Incluyen equipo defectuoso, pesas descalibradas, equipo de vidrio no calibrado.
2. *Errores operativos.* Incluyen errores personales, y se pueden reducir con la experiencia y el cuidado del analista en las manipulaciones físicas necesarias. Las operaciones en que pueden darse estos errores incluyen trasvasado de soluciones, efervescencia y borboteo durante la disolución de la muestra, el secado incompleto de las muestras, y otros. Es difícil hacer correcciones para estos errores. Otros errores personales incluyen errores matemáticos en los cálculos y prejuicio al estimar las mediciones.
3. *Errores del método.* Éstos son los errores más graves de un análisis. La mayor parte de los errores anteriores se pueden reducir al mínimo o corregir, pero errores inherentes al método no es posible cambiarlos a menos que las condiciones de la determinación se alteren. Algunas fuentes de errores de método incluyen coprecipitación de impurezas, ligera solubilidad de un precipitado, reacciones laterales, reacciones incompletas e impurezas en los reactivos. A veces la corrección puede ser relativamente sencilla; por ejemplo, al correr un **reactivo en blanco**. Una determinación de reactivos en blanco es el análisis de los reactivos solamente. Es práctica normal hacer estas determinaciones en blanco y restar los resultados de los de la muestra. Cuando los errores se vuelven intolerables se debe seguir otro camino para el análisis. Sin embargo, algunas veces el analista se ve forzado a aceptar un método dado en ausencia de otro mejor.

Los errores determinados pueden ser *aditivos* o *multiplicativos*, dependiendo de la naturaleza del error o de cómo intervienen en el cálculo. Para detectar errores sistemáticos en el análisis, es práctica común añadir a una muestra una cantidad conocida de estándar y medir su recuperación (véase “Validación de un método” en el capítulo 1). El análisis de muestras de referencia también ayuda a proteger contra errores de método o instrumentales.

3.3 Los errores indeterminados son aleatorios

La segunda clase de errores incluye los **errores indeterminados**, que a menudo se llaman accidentales o aleatorios, los cuales representan la incertidumbre experimental que ocurre en cualquier medición. Estos errores se revelan por pequeñas diferencias en mediciones sucesivas hechas por el mismo analista bajo condiciones prácticamente idénticas, y no se pueden predecir ni estimar. Estos errores accidentales siguen una distribución aleatoria, por lo cual suelen aplicarse leyes matemáticas de probabilidad para llegar a alguna conclusión respecto del resultado de una serie de mediciones.

Rebasaría el alcance de este texto entrar en la probabilidad matemática, pero se puede decir que los errores indeterminados deben seguir una **distribución normal**, o **curva de Gauss**. En la figura 3.2 se muestra una de estas curvas. El símbolo σ representa la *desviación estándar* de una población infinita de mediciones, y esta medida de la precisión define la dispersión de la distribución normal de población como se muestra en la figura

Los errores indeterminados son aleatorios y no se pueden evitar.

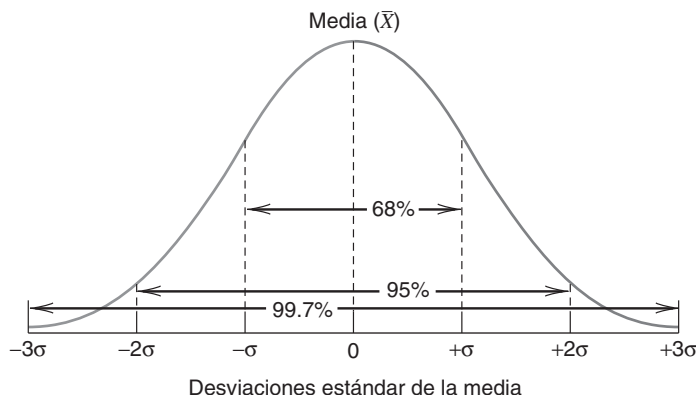


Figura 3.2. Curva de error normal.

“Los errores indeterminados son de una variedad infinita, en contraste con los errores detectables, que por definición son limitados.”

—Tom Gibb.

3.2. Es evidente que debiera haber pocos errores muy grandes y que debe haber un número igual de errores positivos y negativos.

Los errores indeterminados realmente se originan de la capacidad limitada del analista para controlar las condiciones externas y hacer correcciones para dichas condiciones, o la incapacidad para reconocer la aparición de factores que darán por resultado errores. Algunos errores aleatorios tienen su origen en la naturaleza más estadística de las cosas; por ejemplo, los errores del conteo nuclear. A veces, al cambiar las condiciones, desaparece algún error desconocido. Por supuesto, será imposible eliminar todos los errores aleatorios posibles en un experimento, y el analista debe contentarse con minimizarlos a un nivel tolerable o insignificante.

3.4 Cifras significativas: ¿cuántos números se necesitan?

El último dígito de una medición tiene cierta incertidumbre y no es posible incluir más dígitos.

El eslabón débil en la cadena de cualquier análisis es la medición que se puede hacer con la menor exactitud. Es inútil aumentar el esfuerzo para hacer las otras mediciones del análisis más exactas que esta medición limitante. El número de cifras significativas se puede definir como **el número necesario de dígitos para expresar los resultados de una medición congruente con la precisión medida**. Como hay incertidumbre (imprecisión) en cualquier medición de por lo menos ± 1 en la última cifra significativa, el número de cifras significativas incluye todos los dígitos que se conocen, más el primer dígito incierto. Cada dígito denota la cantidad real que especifica. Por ejemplo, en el número 237 se tienen 2 centenas, 3 decenas y 7 unidades.

El dígito 0 puede ser una parte significativa de la medición, o bien usarse sólo para colocar el punto decimal. El número de cifras significativas en una medición es independiente de la colocación del punto decimal. Considérese, por ejemplo, el número 92.067. Este número tiene cinco cifras significativas, sin importar dónde se coloque el punto decimal. Por ejemplo, 92 067 μm , 9.2067 cm, 0.92067 dm y 0.092067 m tienen todos el mismo número de cifras significativas. Simplemente representan diferentes formas (unidades) de expresar una medición. El cero entre el punto decimal y el nueve en el último número se usa sólo para colocar el punto decimal. No hay duda que cualquier cero que esté *junto* a un punto decimal es significativo o bien se usa para colocar el punto decimal. En el número 727.0, el cero no se usa para localizar el punto decimal; es más bien una parte significativa del número. La ambigüedad puede surgir si un cero *precede* al punto decimal. Si cae entre otros dos dígitos diferentes de cero, entonces el cero será significativo. Éste es el caso con 92 067. En el número 936 600, es imposible determinar si uno de los ceros, ambos o ninguno se usa sólo para colocar el punto decimal, o si son parte de la medición. Es mejor, en casos como éste, escribir sólo las cifras significativas de las que

se está seguro, y luego ubicar el punto decimal por notación científica. Así, 9.3660×10^5 tiene cinco cifras significativas, pero 936 600 tiene seis dígitos, uno de ellos para colocar el punto decimal.



Ejemplo 3.1

Indicar en una lista la cantidad correcta de cifras significativas de los siguientes números e indicar cuáles ceros son significativos.

0.216; 90.7; 800.0; 0.0670

Solución

0.216	tres cifras significativas
90.7	tres cifras significativas; el cero es significativo
800.0	cuatro cifras significativas; todos los ceros son significativos
0.0670	tres cifras significativas; sólo el último cero es significativo

Si un número se escribe como 500, podría representar 500 ± 100 . Si se escribe como 500., entonces es 500 ± 1 .

La significatividad del último dígito de una medición se puede ilustrar como sigue. Supóngase que cada miembro de una clase mide la longitud de una varilla, usando la misma varilla métrica. Considérese, además, que la varilla métrica está graduada en incrementos de 1 mm. Las mediciones se pueden estimar hasta la más cercana división de 0.1 (0.1 mm) por interpolación; pero el último dígito es incierto, ya que es sólo una estimación. Una serie de lecturas de los miembros de la clase podría ser

36.4 mm
36.8 mm
36.0 mm
37.1 mm
36.6 mm (promedio)

MULTIPLICACIÓN Y DIVISIÓN: PENSAR EN TÉRMINOS RELATIVOS

En muchas mediciones se incluye un dígito estimado que es incierto (por ejemplo, el dígito de décimas de milímetro en el ejemplo anterior). Ésta es la última cifra significativa en la medición; cualquiera de los dígitos más allá de ella no tienen sentido. En la multiplicación y en la división, la incertidumbre de este dígito se arrastra a través de todas las operaciones matemáticas, lo cual limita el número de dígitos ciertos en la respuesta. En el resultado de una multiplicación o división hay por lo menos el grado de incertidumbre relativa (la incertidumbre como función de la respuesta) que hay en el operador con menor grado de certidumbre, es decir, el que tiene el menor número de cifras significativas. Se designará este número limitante como el **número clave**. Si hay más de un operador con el mismo número mínimo de cifras significativas, entonces el que tenga la magnitud absoluta más pequeña, sin considerar el punto decimal (unidades) es el número clave (ya que su incertidumbre es la mayor). Por ejemplo, la incertidumbre absoluta sin considerar el punto decimal de 0.0344 es 344, y para 5.39 es 539.

La respuesta a una multiplicación o a una división no puede ser más exacta que el operador que se conoce con menor exactitud.

Ejemplo 3.2

En los siguientes pares de números, elegir el que representaría el número clave en una multiplicación o división. a) 42.67 o 0.0967; b) 100.0 o 0.4570; c) 0.0067 o 0.10.

Solución

- a) 0.0967 (tiene tres cifras significativas)
- b) 100.0 (ambos tienen cuatro cifras significativas, pero la incertidumbre aquí es una parte por mil contra una parte en 4 600)
- c) 0.10 [ambos tienen dos cifras significativas, pero la incertidumbre aquí es 10% (una parte en 10) contra alrededor de una parte en 70]

Ejemplo 3.3

Dar la respuesta de la siguiente operación con el máximo número de cifras significativas e indicar el número clave.

$$\frac{35.63 \times 0.5481 \times 0.05300}{1.1689} \times 100\% = 88.5470578\%$$

Solución

El número clave es 35.63. La respuesta es, por tanto, 88.55%, y no tiene sentido llevar la operación a más de cinco cifras (la quinta cifra se usa para redondear la cuarta). El 100% de este cálculo es un número absoluto, ya que se usa sólo para mover el punto decimal, y tiene un número infinito de cifras significativas. Obsérvese que el número clave tiene una incertidumbre relativa, en el mejor de los casos, de una parte en 3 600, y por tanto el resultado tiene una incertidumbre relativa, en el mejor de los casos de una parte en 3 600; así, el resultado tiene una incertidumbre relativa por lo menos de esta magnitud (es decir, alrededor de 2.5 partes en 8 900). El objetivo de este cálculo es expresar el resultado al menos hasta la precisión del número con menor certidumbre, pero reconocer la magnitud de su incertidumbre. *El número final se determina por la medición de las cifras significativas.* (De igual manera, al hacer una serie de mediciones se debe procurar hacer cada una hasta el mismo grado de incertidumbre relativa.)

Se usa un subíndice numérico para indicar un grado añadido de incertidumbre. Se usa cuando el número es menor que el número clave.

Si la magnitud del resultado, sin considerar el punto decimal ni el signo, es *menor* que la del número clave, *se puede poner una cifra adicional en el resultado con objeto de expresar el grado mínimo de incertidumbre*, pero se escribe como subíndice para indicar que es más dudosa.

Ejemplo 3.4

Dar el resultado de la siguiente operación con el máximo número de cifras significativas e indicar el número clave:

$$\frac{42.68 \times 891}{132.6 \times 0.5247} = 546.57$$

Solución

El número clave es 891. Como la magnitud absoluta del resultado (su magnitud sin considerar las unidades) es menor que el número clave, se vuelve 546.₆. El último 6 se escribe como subíndice para indicar que es más dudoso. Nuevamente, el número clave tiene una incertidumbre relativa de alrededor de una parte en 900, de modo que el resultado tiene una incertidumbre por lo menos de 6 partes en 5 500 (0.6 partes en 550).

En la multiplicación y en la división, el resultado de cada paso de una serie de operaciones se puede redondear estadísticamente hasta el número de cifras significativas que se van a retener en el resultado final. Pero, por congruencia en el resultado final, es preferible llevar una cifra adicional hasta el final y luego redondear.

SUMA Y RESTA: PENSAR EN TÉRMINOS ABSOLUTOS

Las sumas y las restas se manejan de manera un tanto diferente. Se manejan números absolutos más que números relativos. Aquí no se tiene un número clave y la colocación del punto decimal es importante para determinar cuántas cifras serán significativas. Supóngase que se desea calcular el peso molecular del Ag_2MoO_4 a partir de los pesos atómicos individuales:

El resultado de una suma o una resta se conoce con el mismo número de unidades que el número que contenga la menor unidad significativa.

Ag	107.87	0
Ag	107.87	0
Mo	95.94	
O	15.99	94
O	15.99	94
O	15.99	94
O	15.99	94
	375.67	76

El peso atómico del molibdeno se conoce sólo hasta la unidad atómica más cercana a 0.01. Como esta unidad tiene en sí misma un elemento de incertidumbre, no se puede sustentar que es posible conocer el peso molecular de un compuesto con molibdeno con una aproximación más cercana a 0.01 unidades atómicas. Por tanto, el valor conocido con mayor exactitud para el peso molecular del Ag_2MoO_4 es 375.68. Todos los números que se sumen o resten se pueden redondear a la última cifra significativa antes de sumar o restar. Pero de nuevo, por congruencia en el resultado, se debe llevar una cifra adicional y luego redondear el resultado a una cifra menos.

Resumiendo la importancia de las cifras significativas, surgen dos preguntas: primera, ¿con qué exactitud se debe *conocer* un resultado específico? Si sólo se desea saber si hay 12 o 13% de una sustancia en una muestra, entonces sólo es necesario hacer las mediciones con dos cifras significativas. Si la muestra pesa alrededor de 2 g, entonces no hay necesidad de pesarla con una exactitud mayor que 0.1 g. La segunda pregunta es con cuánta exactitud *se puede hacer* cada medición requerida. Obviamente, si sólo se puede leer la absorbencia de la luz de una solución colorida hasta tres cifras (por ejemplo, $A = 0.447$), sería inútil pesar la muestra a más de tres cifras (por ejemplo, 6.67 g).

Cuando un número en una medición es pequeño (sin considerar el punto decimal) comparado con los de otras mediciones, hay alguna justificación para hacer la medición con una cifra adicional. Esto se puede visualizar como sigue: supóngase que se quiere pesar dos objetos de masas esencialmente iguales y se desea pesarlos con la misma precisión, por ejemplo, cerca de 0.1 mg, o una parte por mil. El primer objeto pesa 99.8 mg, pero el segundo pesa 100.1 mg. Ya se han pesado ambos objetos con igual exactitud, pero

se ha retenido una cifra significativa adicional en uno de ellos. Esta analogía también puede relacionarse con la justificación para agregar una cifra significativa adicional cuando el resultado de una operación matemática es menor que el número clave.

Cuando se conoce el número clave de una serie de mediciones, entonces la exactitud total se puede mejorar, si se desea, haciendo mayor el número clave (por ejemplo, aumentando el tamaño de la muestra) o haciendo la medición con una cifra adicional si es posible (por ejemplo, pesando con una cifra adicional). Esto sería deseable cuando el número es pequeño en magnitud en comparación con los de otras mediciones (sin considerar el punto decimal) con objeto de acercar su incertidumbre a la de los otros.

Por tanto, al llevar a cabo operaciones analíticas se deben medir las cantidades con la misma incertidumbre *absoluta* cuando se suma o se resta, y con la misma incertidumbre *relativa* cuando se multiplica o se divide.

Si un cálculo contiene tanto multiplicación y división como suma y resta, los pasos individuales se deben tratar por separado. Como buena práctica, retener una cifra extra en los cálculos intermedios hasta el resultado final (a menos que se elimine por sí sola en un paso subsiguiente). Cuando se usa una calculadora, todos los dígitos se pueden conservar en ella hasta el final. No suponer que un número producido por una calculadora es correcto. Siempre tratar de estimar el tamaño de la respuesta que se espera. Si se espera 2% y la lectura es 0.02, probablemente se olvidó multiplicar por 100, o si se espera 20% y la respuesta es 4.3, tal vez se cometió un error de cálculo o quizás un error de medición.

Es buena práctica llevar una cifra extra durante los cálculos por pasos y luego quitarla por redondeo en el número final.

“Verifique la respuesta que ha elaborado una vez más, antes de decírsela a nadie.”

—Edmund C. Berkely.

Ejemplo 3.5

Proporcionar el resultado del siguiente cálculo con el número máximo de cifras significativas:

$$\frac{\left(\frac{97.7}{32.42} \times 100.0\right) + 36.04}{687}$$

Solución

$$\frac{301.36 + 36.04}{687} = \frac{337.4}{687} = .0491_1$$

En la primera operación, el número clave es 97.7 y el resultado es 301.₃₆. Se lleva una quinta cifra adicional hasta el paso de suma y luego se redondea a cuatro cifras porque la división tiene sólo tres cifras significativas. En el paso de división, el número clave es 687; pero como la magnitud absoluta del resultado es menor se lleva una cifra más. Obsérvese que, si en el primer paso se hubiera redondeado a 301.₄, el numerador se habría convertido en 337.₅ y el resultado final debería ser 0.491₃ (todavía dentro de la incertidumbre experimental).

LOGARITMOS: PENSAR EN LA MANTISA

En los logaritmos, la mantisa es la que determina el número de cifras significativas.

Al cambiar de logaritmos a antilogaritmos y viceversa, el número con el que se está operando y la mantisa del logaritmo tienen el mismo número de cifras significativas. (Véase el apéndice B para un repaso del uso de logaritmos.) Todos los ceros en la mantisa son

significativos. Supóngase, por ejemplo, que se desea calcular el pH de una solución $2.0 \times 10^{-3} M$ de HCl de $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$. Entonces,

$$\text{pH} = -\log 2.0 \times 10^{-3} = -(-3 + 0.30) = 2.70$$

El -3 es la característica (de 10^{-3}), un número puro determinado por la posición del decimal. El 0.30 es la mantisa del logaritmo de 2.0 y por tanto tiene sólo dos dígitos. De este modo, aunque se conozca la concentración con dos cifras, el pH (el logaritmo) tiene tres cifras. Si se desea tomar el antilogaritmo de una mantisa, el número correspondiente tendrá de igual manera el mismo número de dígitos que la mantisa. El antilogaritmo de 0.072 (la mantisa contiene tres cifras $.072$) es 1.18 , y el logaritmo de 12.1 es 1.083 (1 es la característica, y la mantisa tiene tres dígitos, $.083$).

3.5 Redondeo

Si el dígito que sigue a la última cifra significativa es mayor que 5, el número se redondea al siguiente dígito mayor. Si es menor que 5, el número se redondea al valor de la última cifra significativa:

$$9.47 = 9.5$$

$$9.43 = 9.4$$

Siempre se redondea al número par si el último dígito es un 5.

Si el último dígito es 5, el número se redondea al dígito par más cercano:

$$8.65 = 8.6$$

$$8.75 = 8.8$$

$$8.55 = 8.6$$

Esto se basa en la predicción estadística de que hay igual probabilidad de que la última cifra significativa antes del 5 sea par o impar. Es decir, en un muestreo adecuadamente grande habrá un número igual de dígitos pares e impares que precedan al 5. Todos los dígitos no significativos se deben eliminar por redondeo. La regla del número par sólo se aplica cuando el dígito eliminado es exactamente 5 (no ... 51, por ejemplo).

3.6 Modos de expresar la exactitud

Hay varias maneras y unidades en que se puede expresar la exactitud, suponiendo un valor verdadero aceptado para comparación.

ERRORES ABSOLUTOS

La diferencia entre el valor verdadero y el valor medido, con atención al signo, es el **error absoluto**, y se reporta en las mismas unidades que la medición. Si una muestra de 2.62 g de material da en el análisis 2.52 g , el error absoluto es -0.10 g . Si el valor medido es el promedio de varias mediciones, el error se llama **error medio**. El error medio también se puede calcular tomando una diferencia promedio, con atención al signo, entre los resultados *individuales* de las pruebas y el valor real.

ERROR RELATIVO

El error absoluto o error medio expresado como porcentaje del valor real es el **error relativo**. El análisis anterior tiene un error relativo de $(-0.10/2.62) \times 100\% = -3.8\%$. La **exactitud relativa** es el valor medido o medio expresado como porcentaje del valor verdadero. El análisis anterior tiene una exactitud relativa de $(2.52/2.62) \times 100\% = 96.2\%$. Se debe poner el énfasis en que no se sabe que ningún número sea “verdadero”, y el error relativo y la exactitud relativa se basan en la media de dos conjuntos de mediciones.

El error relativo se puede expresar en unidades que no sean porcentajes. En trabajos muy exactos, normalmente se manejan errores de menos de 1% y conviene usar una unidad menor. Uno por ciento de error equivale a una parte en 100. También equivale a 10 partes en 1 000. Esta última unidad se usa por lo común para expresar pequeñas incertidumbres. Es decir, la incertidumbre se expresa en **partes por mil**, que se abrevia partes por 10^{12} . El número 23 expresado como partes por mil del número 6 725 sería 23 partes por 6 725, o 3.4 partes por 10^{12} . La unidad partes por mil se usa a menudo para expresar la exactitud de la medición.



Ejemplo 3.6

Los resultados de un análisis son 36.97 g, en comparación con el valor aceptado de 37.06 g. ¿Cuál es el error relativo en partes por mil?

Solución

$$\text{Error absoluto} = 36.97 \text{ g} - 37.06 \text{ g} = -0.09 \text{ g}$$

$$\text{Error relativo} = \frac{-0.09}{37.06} \times 1\,000\text{‰} = -2.4 \text{ ppm}$$

‰ significa partes por mil, del mismo modo que % significa partes por 100.

3.7 Desviación estándar: la operación estadística más importante

“Si la reproducibilidad resulta un problema, realiza la prueba una sola vez.”

—Anónimo.

Cada conjunto de resultados analíticos se debe acompañar de una indicación de la **precisión** del análisis. Hay varias maneras aceptables de indicar la precisión.

La desviación estándar σ de una serie infinita de datos experimentales está dada teóricamente por

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \mu)^2}{N}} \quad (3.1)$$

donde x_i representa las mediciones individuales y μ la media del número infinito de mediciones (que debe representar el valor “verdadero”). Esta ecuación es válida estrictamente sólo si $N \rightarrow \infty$, donde N es el número de mediciones. En la práctica, las desviaciones individuales se deben calcular con respecto a la media de un número limitado de mediciones $\bar{x}$, en la cual se anticipa que $\bar{x} \rightarrow \mu$, aunque no se tiene la seguridad de que sea así; $\bar{x}$ está dada por $\sum (x_i/N)$.

Para un conjunto de N mediciones es posible calcular N desviaciones independientes de la variable con respecto a algún número de referencia. Pero si el número de referencia elegido es la media estimada, $\bar{x}$, la suma de las desviaciones individuales (conservando los signos) debe totalizar necesariamente cero, y así los valores de $N - 1$ desviaciones son adecuados para definir el n -ésimo valor. Es decir, sólo hay $N - 1$ desviaciones independientes de la media; cuando se han seleccionado $N - 1$ valores, el último está predeterminado. En efecto, se ha usado un grado de libertad de los datos al calcular la media, dejando $N - 1$ **grados de libertad** para calcular la precisión.

Como resultado, la **desviación estándar estimada s de un conjunto finito de datos experimentales** (por lo general $N < 30$) se aproxima más estrechamente a σ si el número de grados de libertad se sustituye por $N - 1$ se ajusta para la diferencia entre $\bar{x}$ y μ).

Véase la sección 3.15 y la ecuación 3.17 para otra manera de calcular s para cuatro números o menos.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (3.2)$$

El valor de s es entonces sólo un estimado de σ , y se aproximará más a σ al aumentar el número de mediciones. Como en un análisis se manejan números cortos de mediciones, la precisión se representa necesariamente como s .



Ejemplo 3.7

Calcular la media y la desviación estándar del siguiente conjunto de resultados analíticos: 15.67, 15.69 y 16.03 g.

Solución

x_i	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$
15.67	0.13	0.0169
15.69	0.11	0.0121
16.03	0.23	0.0529
Σ 47.39	Σ 0.47	Σ 0.0819

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} = \frac{47.39}{3} = 15.80$$

$$s = \sqrt{\frac{0.0819}{3 - 1}} = 0.20 \text{ g}$$

La desviación estándar también se puede calcular usando la siguiente ecuación equivalente:

$$s = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2/N}{N - 1}} \quad (3.3)$$

Esta ecuación es útil para calcular con calculadora. De hecho, muchas calculadoras tienen un programa de desviación estándar que automáticamente calcula la desviación estándar de los datos individuales que se introducen.

Ejemplo 3.8

Calcule la desviación estándar para los datos del ejemplo 3.7 usando la ecuación 3.3.

Solución

x_i	x_i^2
15.67	245.55
15.69	246.18
<u>16.03</u>	<u>256.96</u>
Σ 47.39	Σ 748.69

$$s = \sqrt{\frac{748.69 - (47.39)^2/3}{3 - 1}} = 0.21 \text{ g}$$

La diferencia de 0.01 g del ejemplo 3.7 no es estadísticamente significativa, ya que la variación es por lo menos de ± 0.2 g. Al aplicar esta fórmula es importante conservar un dígito extra o incluso dos en x_i^2 para el cálculo.

La precisión mejora proporcionalmente al cuadrado del número de mediciones.

El cálculo de la desviación estándar que se ha considerado hasta ahora es el estimado del error probable de una sola medición. La media aritmética de una serie de N mediciones tomadas de una población infinita muestra menor dispersión del “valor verdadero” que una observación individual. La dispersión disminuye al aumentar N ; al hacerse muy grande N , el promedio de las muestras se aproximará al promedio de la población μ , y la dispersión se aproxima a cero. Puede demostrarse que la media aritmética derivada de N mediciones es $\sqrt{N}$ veces más confiable que una sola medición. Por tanto, el error aleatorio en la media de una serie de cuatro observaciones es la mitad del correspondiente a una sola observación. En otras palabras, la **precisión de la media** de una serie de N mediciones es inversamente proporcional a la raíz cuadrada de N de la desviación de los valores individuales. Por tanto,

Desviación estándar de la media = $s_{\text{media}} = \frac{s}{\sqrt{N}}$

(3.4)

La desviación estándar de la media se llama a veces *error estándar*.

La desviación estándar se expresa algunas veces como la **desviación relativa estándar** (rsd), que simplemente es la desviación estándar expresada como fracción de la media; por lo regular se expresa como *porcentaje* de la media (% rsd), la cual a menudo se denomina **coeficiente de variación**.

Ejemplo 3.9

Se obtuvieron las siguientes pesadas replicadas: 29.8, 30.2, 28.6 y 29.7 mg. Calcular la desviación estándar de los valores individuales y la desviación estándar de la media. Expresar en valores absolutos (unidades de medición) y relativos (% de la medición).

Solución

x_i	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$
29.8	0.2	0.04
30.2	0.6	0.36
28.6	1.0	1.00
29.7	0.1	0.01
Σ 118.3	Σ 1.9	Σ 1.41

$$\bar{x} = \frac{118.3}{4} = 29.6$$

$$s = \sqrt{\frac{1.41}{4 - 1}} = 0.69 \text{ mg (absoluta); } \frac{0.69}{29.6} \times 100\% = 2.3\% \text{ (coeficiente de variación)}$$

$$s_{\text{media}} = \frac{0.69}{\sqrt{4}} = 0.34 \text{ mg (absoluta); } \frac{0.34}{29.6} \times 100\% = 1.1\% \text{ (relativa)}$$

La precisión de una medición se puede mejorar al aumentar el número de observaciones. En otras palabras, la dispersión $\pm s$ de la curva normal en la figura 3.2 se hace más pequeña al aumentar el número de observaciones y tendería a cero cuando el número de observaciones tendiera al infinito. Sin embargo, como se vio en la ecuación 3.4, la desviación de la media no disminuye en proporción directa al número de observaciones, sino a la raíz cuadrada del número de éstas. Se llega a un punto en el que un pequeño aumento en la precisión requiere un aumento injustificadamente grande en el número de observaciones. Por ejemplo, para disminuir la desviación estándar por un factor de 10 se requieren 100 veces más observaciones.

El límite práctico de réplicas útiles se alcanza cuando la desviación estándar de los errores aleatorios es comparable con la magnitud de los errores determinados o sistemáticos (a menos, por supuesto, que éstos se puedan identificar y corregir). Esto se debe a que los errores sistemáticos en una determinación no se pueden evitar por repetición.

La importancia de s en relación con la curva normal de distribución se muestra en la figura 3.2. El tratamiento matemático del que se derivó la curva revela que 68% de las desviaciones individuales caen dentro de una desviación estándar (para una población infinita) de la media, 95% son menos de dos veces la desviación estándar, y 99% son menos de 2.5 veces la desviación estándar, de manera que una buena aproximación es que 68% de los valores individuales caigan dentro del intervalo $\bar{x} \pm s$, 95% caerán dentro de $\bar{x} \pm 2s$, 99% caerán dentro de $\bar{x} \pm 2.5s$ y así sucesivamente.

En realidad, estos intervalos de porcentaje se derivaron al suponer un número infinito de mediciones. Entonces hay dos razones por las cuales el analista no puede estar 95% cierto de que el valor verdadero cae dentro de $\bar{x} \pm 2s$. La primera es que se hace un número limitado de mediciones, y cuantas menos mediciones se hagan se tendrá menor certeza. La segunda razón es que la curva de distribución normal supone que no hay errores determinados, sino sólo aleatorios. Los errores determinados, en efecto, desvían la curva de error normal con respecto al valor verdadero. Se puede obtener un estimado de la certeza real de que un número caiga dentro de s mediante el cálculo del *límite de confianza* (véase más adelante).

Es evidente que hay una variedad de maneras en que se puede reportar la precisión de un número. Siempre que se reporte un número como $\bar{x} \pm x$, se debe calificar bajo qué condiciones es esto válido; es decir, cómo se llegó a $\pm x$. Por ejemplo, puede representar s , $2s$, s (media) o al coeficiente de variación.

“Se necesita la aleatoriedad para que los cálculos estadísticos resulten correctos.”

—Anónimo

El verdadero valor caerá 95% del tiempo dentro de $\bar{x} \pm 2s$ para un número infinito de mediciones. Véase el límite de confianza y el ejemplo 3.15.

La varianza es igual a s^2 .

Un término que a veces es útil en estadística es la **varianza**. Es igual al cuadrado de la desviación estándar, s^2 . Se usará para determinar la propagación del error y en la prueba F más adelante (sección 3.13).

3.8 Uso de las hojas de cálculo en química analítica

Una hoja de cálculo es un eficaz programa de cómputo que se puede usar para diversas funciones, como análisis de datos y graficación. Las hojas de cálculo son útiles para organizar datos, hacer cálculos repetitivos y mostrar los cálculos en forma de gráfica. Tienen funciones establecidas que incluyen, por ejemplo, desviación estándar y otras funciones estadísticas para llevar a cabo cálculos sobre datos que el usuario introduce. Los programas más comunes de hojas de trabajo incluyen Microsoft Excel, Lotus 1-2-3 y Quattro Pro. Todos operan básicamente en la misma forma, pero difieren algo en los comandos específicos y en la sintaxis. Por su extensa disponibilidad y popularidad se usará Excel en las ilustraciones.

Quien ha usado un programa de hojas de cálculo estará familiarizado con las funciones básicas, pero aquí se resumen los aspectos más útiles para aplicaciones en química analítica. Se debe consultar el manual de hojas de cálculo para información más detallada. Asimismo, la opción Ayuda de Excel en la barra de herramientas proporciona información específica.

Existe un excelente tutorial sobre uso de hojas de trabajo Excel preparado por la facultad de la Universidad del Estado de California en Stanislaus: <http://science.csustan.edu/tutorial/Excel/index.htm>. Se describen las funciones básicas de la hoja de cálculo, incluyendo la introducción de datos y fórmulas, el formateo de celdas, la graficación y el análisis de regresión. Esto es de mucha ayuda y definitivamente se debería leer antes de continuar. El sitio de red www.wku.edu/~conteed/CHEM330 en la Western Kentucky University brinda instrucciones resumidas para la graficación al usar ya sea Microsoft Excel o Lotus 1-2-3. Se recomiendan los vínculos [excelhandout.html](http://www.wku.edu/~conteed/CHEM330/excelhandout.html) y [lotushandout.html](http://www.wku.edu/~conteed/CHEM330/lotushandout.html).

Una hoja de cálculo se compone de **celdas** ordenadas en **columnas** (tituladas A, B, C, ...) y **filas** (numeradas 1, 2, 3, ...). Una celda individual se identifica con la letra de su columna y el número de su fila; por ejemplo, B3. En la figura 3.3 se señalan los identificadores escritos en algunas de las celdas como ilustración. Cuando se hace clic al puntero del ratón (la cruz) sobre una celda individual, se vuelve una **celda activa** (con bordes oscuros); el identificador de la celda activa se encuentra en la parte izquierda superior de la barra de fórmula y el contenido de la celda se muestra a la derecha del signo igual sobre la barra.

LLENADO DEL CONTENIDO DE LA CELDA

Se puede anotar *texto*, *números* o *fórmulas* en celdas específicas. Las fórmulas son la clave de la utilidad de las hojas de cálculo, ya que permiten aplicar el mismo cálculo a muchos números. Se ilustra esto con cálculos de los pesos de agua proporcionados por dos pipetas de 20 mL diferentes, por la diferencia en los pesos de un matraz con agua y del mismo matraz vacío. Consultar la figura 3.4 al ir avanzando según los pasos.

Se abre una hoja de cálculo de Excel haciendo clic en el ícono de Excel (o el programa Microsoft Excel en Inicio: Programas). Se anotarán texto, números y fórmulas. Se hace

	A	B	C	D	E
1	A1	B1	C1	etc.	
2	A2	B2	C2	etc.	
3	A3	B3	C3	etc.	
4					
5					

Figura 3.3. Celdas de la hoja de cálculo.

	A	B	C	D
1	Pesos netos			
2				
3	Pipeta	1	2	
4	Peso del matraz + agua, g	47.702	49.239	
5	Peso del matraz, g	27.687	29.199	
6	Peso del agua, g	20.015	20.040	
7				
8	celda B6=B4-B5			
9	celda C6=C4-C5			
10				

Figura 3.4. Llenado de celdas.

doble clic sobre la celda específica para activarla. Se registra la información como sigue (la información tecleada sobre una celda queda registrada al oprimir la tecla Enter):

Celda A1: pesos netos

Celda A3: pipeta

Celda A4: peso de matraz + agua, g

Celda A5: peso del matraz, g

Celda A6: peso del agua, g

Para hacer correcciones se hace doble clic sobre la celda y luego se edita el texto (también se puede editar el texto en la barra de fórmula). Si se da un solo clic, el nuevo texto reemplaza al viejo. Para ajustar las celdas A y darle cabida al texto largo, se coloca el puntero del ratón sobre la línea entre A y B sobre la fila superior y se arrastra hacia la derecha hasta que aparezca todo el texto. Esto mueve también a la derecha las otras celdas.

Celda B3: 1

Celda C3: 2

Celda B4: 47.702

Celda C4: 49.239

Celda B5: 27.687

Celda C5: 29.199

Celda B6: =B4-B5

También se puede anotar la fórmula como sigue: se teclea =, luego se hace clic en B4, a continuación se ingresa el signo – (menos) y finalmente se hace clic en B5. Es necesario formatear las celdas B4 a C6 a tres puntos decimales. Dicho bloque de celdas se selecciona haciendo clic en una esquina y se selecciona hasta la esquina opuesta del bloque. En la barra de Menú se hace clic en Formato:Celdas:Número. Para cifras decimales se teclea 3 y se hace clic en Aceptar (OK).*

Después se agrega la fórmula a la celda C6. Hay dos maneras: se teclea de nuevo, o se copia (alimenta) la fórmula en la celda B6. Se coloca el puntero del ratón sobre la esquina inferior derecha de la celda B6 y se arrastra a la celda C6. Esto alimenta la fórmula a la celda C6 (o a celdas adicionales a la derecha si hay más columnas de pipeta). También se pueden copiar fórmulas en celdas seleccionadas al hacer clic en Editar:Llenar:Abajo (o a la derecha).

Si se hace doble clic en B6 se muestra la fórmula en la celda y destaca las otras celdas contenidas en la fórmula. Se hace lo mismo con C6. Cuando se activa la celda con un solo clic o con doble clic, la fórmula se muestra en la barra de fórmula.

* N. del R. T.: En las más recientes versiones de Excel esta opción ya está presente como íconos sobre la barra de herramientas denominada Formato (se selecciona iniciando desde el comando Ver si no se encuentra activa ya sobre el monitor). Seleccionar las casillas que se van a modificar y se hace clic, según se requiera, sobre los íconos  o ; el primero de ellos reduce el número de cifras después del punto y el segundo las aumenta. Conforme esto ocurre el programa redondea la última cifra automáticamente, aunque conserva el valor completo en la memoria.

GUARDANDO LA HOJA DE CÁLCULO

La hoja de cálculo que acaba de crear se guarda al hacer clic en Archivo:Guardarcomo. Se recomienda guardar los documentos primero en el Escritorio y posteriormente se pueden arrastrar a la carpeta que se desee; por ejemplo, Mis Documentos. De esta manera no se extravían. Entonces se selecciona Escritorio en la parte superior; se da al documento un Nombre de Archivo en la parte inferior; por ejemplo, “Calibración de pipetas”. Luego se hace clic en Guardar. Si se desea colocar el documento guardado en un disco se puede arrastrar del escritorio al disco abierto.

IMPRESIÓN DE LA HOJA DE CÁLCULO

Se hace clic en Archivo:Configuración de Página. Normalmente, una hoja de cálculo se imprime en formato vertical, en papel carta ($8\frac{1}{2} \times 11$ pulgadas). Si hay muchas columnas puede ser mejor imprimir en formato horizontal. Si se quiere que aparezcan las líneas divisorias se hace clic en Hoja:Líneas de división. Ahora el documento está listo para imprimirse. Se hace clic en Imprimir:Aceptar. Sólo se imprimirá el área de trabajo de la hoja de cálculo, no los identificadores de columnas y filas.

REFERENCIAS DE CELDA RELATIVAS Y ABSOLUTAS

En el ejemplo anterior se usaron referencias *relativas* de celda al copiar la fórmula. La fórmula en la celda B6 decía “restar la celda de arriba de la que está arriba de ella”. La fórmula copiada en C6 decía lo mismo respecto a las celdas arriba de ella.

Algunas veces se requiere incluir en cada cálculo una celda específica que contenga, por ejemplo, una constante. Para hacer esto, se identifica en la fórmula como una referencia *absoluta*. Esto se hace colocando un signo de \$ frente a los identificadores de columna y fila, por ejemplo, \$B\$2. Al colocar este signo frente a ambos se asegura que, moviéndose ya sea a través de columnas o filas, la celda así marcada permanecerá como una referencia absoluta.

Se puede ilustrar esto creando una hoja de cálculo para establecer las medias de diferentes series de números. Se llena la hoja de cálculo como sigue (véase la figura 3.5):

A1: medias de titulaciones
A3: tit. núm.
B3: serie A, mL
C3: serie B, mL
B4: 39.27
B5: 39.18
B6: 39.30
B7: 39.20
C4: 45.59
C5: 45.55
C6: 45.63
C7: 45.66
A4: 1

Se puede teclear en cada uno de los números de titulación (1 a 4), pero hay formas automáticas de incrementar una cadena de números. Se hace clic en Editar:Rellenar:Serie. Se marca Columnas y Lineal, y se deja el Incremento en 1. Para Límite se teclea 4 y se hace clic en Aceptar. De esta manera, los números 2 a 4 quedan insertados en la hoja de cálculo. También se podría seleccionar primero las celdas que se van a llenar (comenzando con la A4). Así no es necesario insertar un Límite. Otra forma de incrementar una serie es hacerlo por fórmula. En la celda A5 se teclea $=A4 + 1$. Luego se copia hacia abajo al seleccionar desde A5 hacia abajo; luego se hace clic en Editar:Rellenar:Abajo. (Ésta es una referencia

	A	B	C	D
1	Medias de las titulaciones			
2				
3	Tit. núm.	Serie A, mL	Serie B, mL	
4	1	39.27	45.59	
5	2	39.18	45.55	
6	3	39.30	45.63	
7	4	39.22	45.66	
8	Media:	39.24	45.61	
9	Desv. estándar	0.053150729	0.047871355	
10				
11	Celda B8=	SUM(B4:B7)/\$A\$7 Copiar a la derecha en la celda C8.		
12	Celda B9=	STDEV(B4:B7) Copiar a la derecha en la celda C9.		
13	Se han puesto en negritas las celdas donde se introdujeron fórmulas.			

Figura 3.5. Referencias de celda relativas y absolutas.

relativa.) O bien se puede seleccionar la celda A5, hacer clic en su esquina derecha inferior y arrastrarla a la celda A7. Esto automáticamente copia la fórmula en las otras celdas.

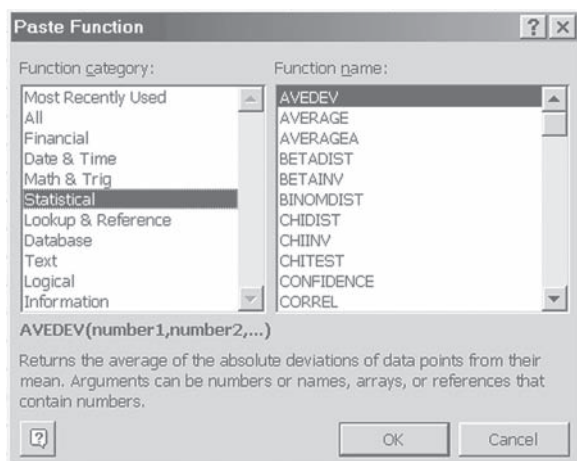
Ahora se desea insertar una fórmula en la celda B8 para calcular la media. Ésta será la suma dividida entre el número de titulaciones (celda A7).

$$B8: =\text{suma}(B4:B7)/A\$7$$

Se colocan signos \$ en el divisor porque será una *referencia absoluta* que se quiere copiar a la derecha, en la celda C8. La colocación del signo \$ antes de los identificadores de columna y fila asegura que la celda se tratará como absoluta si se copia, ya sea horizontal o vertical. La expresión suma(B4:B7) es una *sintaxis* en el programa para sumar una serie de números, desde la celda B4 hasta la B7. En lugar de teclear las coordenadas de la celda, también se puede teclear “=(“, y luego se hace clic en la celda B4, se arrastra hasta la celda B7 y se tecldea “)”. Ahora se ha calculado la media para la serie A. Se desea hacer lo mismo para la serie B. Se selecciona la celda B8, se hace clic en su esquina inferior derecha y se arrastra a la celda C8. ¡Voilà, ya está calculada la siguiente media! Se hace doble clic en la celda C8 y se verá que la fórmula tiene el mismo divisor (*referencia absoluta*), pero la suma es una *referencia relativa*. Si no se hubieran tecleado los signos \$ para hacer absoluto el divisor, la fórmula habría supuesto que era relativa, y el divisor en la celda C8 sería la celda B7.

USO DE LAS FUNCIONES ESTADÍSTICAS DE EXCEL

Excel tiene un gran número de funciones matemáticas y estadísticas que se pueden usar para cálculos en lugar de escribir fórmulas propias. A continuación se muestran las funciones estadísticas para calcular automáticamente la media. Se selecciona una celda vacía y se hace clic en f_x , en la barra de herramientas. Aparece la ventana Pegar Función. Se selecciona Estadísticas en la categoría de Función y aparece la siguiente ventana:



Se selecciona PROMEDIO para Nombre de la función. Se hace clic en Aceptar, y para Número se teclea B4:B7 y se hace clic en Aceptar. Se calcula el mismo promedio que el obtenido con la fórmula propia. También se puede teclear en la celda activada la sintaxis =promedio(B4:B7). Pruébalo.

Se calculará ahora la desviación estándar de los resultados. Se selecciona la celda B9. Bajo Función Estadística se selecciona DESVEST para Nombre de la función. Como alternativa, se puede teclear en la celda B9 la sintaxis =desvest(B4:B7). Ahora se copia la fórmula a la celda C9. Se realiza el cálculo de desviación estándar usando la ecuación 3.2 y se compara con los valores de Excel. El cálculo para la serie A es ± 0.05 mL. El valor en la hoja de cálculo, por supuesto, se debe redondear a ± 0.05 mL.

SINTAXIS ÚTILES

Excel tiene numerosas funciones o sintaxis matemáticas y estadísticas que se pueden usar para simplificar la configuración de los cálculos. Probar los nombres de Función para la categoría Matemáticas y Trigonométricas y para la categoría Estadísticas bajo f_x en la barra de herramientas. Algunas que resultarán útiles para este texto son:

Funciones matemáticas y trigonométricas

LOG10	Calcula el logaritmo base 10 de un número
PRODUCTO	Calcula los productos de una serie de números
POTENCIA	Calcula el resultado de un número elevado a una potencia
RAÍZ	Calcula la raíz cuadrada de un número

Funciones estadísticas

PROMEDIO	Calcula la media de una serie de números
MEDIANA	Calcula la mediana de una serie de números
DESVEST	Calcula la desviación estándar de una serie de números
PRUEBA,T	Calcula la probabilidad asociada con la prueba t de Student
VAR	Calcula la varianza de una serie de números

Las sintaxis se pueden teclear, seguidas del bloque de celdas en paréntesis, como se hizo anteriormente.

Este tutorial debe dar al lector las bases para otras aplicaciones de hojas de cálculo. Se puede escribir cualquier fórmula que esté en este libro en una celda activa e insertar los datos adecuados para los cálculos. Obviamente, se puede realizar una variedad de análisis de datos. Se pueden preparar gráficas de los datos, por ejemplo una curva de calibración de la respuesta de un instrumento contra concentración, junto con información estadística. Se ilustrará esto más adelante en el capítulo.

3.9 La propagación de errores no sólo es aditiva

Cuando se explicaron las cifras significativas, se dijo que la incertidumbre relativa en el resultado de una multiplicación o de una división no podría ser mejor que la incertidumbre relativa en el operador que tuviera la peor incertidumbre. Asimismo, la incertidumbre absoluta en el resultado de una suma o resta no podría ser mejor que la incertidumbre absoluta en el número con la mayor incertidumbre absoluta. Sin conocimiento específico de las incertidumbres, se supuso una incertidumbre de por lo menos ± 1 en el último dígito de cada número.

A partir del conocimiento de las incertidumbres de cada número es posible estimar la incertidumbre real en un resultado. Los errores en los números individuales se propagarán en toda la serie de cálculos, ya sea en forma relativa o absoluta, dependiendo de si la operación es una multiplicación o división o si es una suma o resta.

SUMA Y RESTA: PENSAR EN VARIANZAS

Considerar la suma y resta de los siguientes números:

$$(65.06 \pm 0.07) + (16.13 \pm 0.01) - (22.68 \pm 0.02) = 58.51 (\pm?)$$

Las varianzas absolutas de sumas y restas son aditivas.

Las incertidumbres incluidas representan los errores aleatorios o indeterminados asociados a cada número, expresados como desviaciones estándar de los números. El máximo error de la sumatoria, expresado como desviación estándar, sería ± 0.10 ; es decir, podría ser $+0.10$ o -0.10 si todas las incertidumbres tuvieran casualmente el mismo signo. La incertidumbre mínima sería 0.00 si todas se combinaran por azar para cancelarse. Estos dos extremos no son altamente probables, y estadísticamente la incertidumbre caerá en algún punto intermedio. Para la suma y resta, las *incertidumbres absolutas* son aditivas. El error más probable se representa por la raíz cuadrada de la suma de las *varianzas absolutas*. Es decir, la varianza absoluta del resultado es la suma de las varianzas individuales. Para $a = b + c - d$,

$$s_a^2 = s_b^2 + s_c^2 + s_d^2 \quad (3.5)$$

$$s_a = \sqrt{s_b^2 + s_c^2 + s_d^2} \quad (3.6)$$

En el ejemplo anterior,

$$\begin{aligned} s_a &= \sqrt{(\pm 0.07)^2 + (\pm 0.01)^2 + (\pm 0.02)^2} \\ &= \sqrt{(\pm 49 \times 10^{-4}) + (\pm 1 \times 10^{-4}) + (\pm 4 \times 10^{-4})} \\ &= \sqrt{\pm 54 \times 10^{-4}} = \pm 7.3 \times 10^{-2} \end{aligned}$$

De modo que el resultado es 58.51 ± 0.07 . El número ± 0.07 representa la incertidumbre absoluta. Si se desea expresarla como incertidumbre relativa, ésta sería

$$\frac{\pm 0.07}{58.51} \times 100\% = \pm 0.12\%$$



Ejemplo 3.10

Se han recibido tres embarques de mineral de uranio de pesos iguales. El análisis de los tres minerales indicó contenidos de $3.978 \pm 0.004\%$, $2.536 \pm 0.003\%$ y $3.680 \pm 0.003\%$, respectivamente. ¿Cuál es el contenido promedio de uranio en los minerales y cuáles son las incertidumbres absoluta y relativa?

Solución

$$\bar{x} = \frac{(3.978 \pm 0.004\%) + (2.536 \pm 0.003\%) + (3.680 \pm 0.003\%)}{3}$$

La incertidumbre en la sumatoria es

$$\begin{aligned}s_a &= \sqrt{(\pm 0.004)^2 + (\pm 0.003)^2 + (\pm 0.003)^2} \\ &= \sqrt{(\pm 16 \times 10^{-6}) + (\pm 9 \times 10^{-6}) + (\pm 9 \times 10^{-6})} \\ &= \sqrt{\pm 34 \times 10^{-6}} = \pm 5.8 \times 10^{-3}\% \text{ U}\end{aligned}$$

Por tanto, la incertidumbre absoluta es

$$\bar{x} = \frac{10.194}{3} \pm 0.006\% = 3.398 \pm 0.006\% \text{ U}$$

Obsérvese que, como no hay incertidumbre en el divisor 3, la incertidumbre *relativa* en el contenido de uranio es

$$\frac{5.8 \times 10^{-3}\% \text{ U}}{3.398\% \text{ U}} = 2 \times 10^{-3} \text{ o } 0.2\%$$

.....

MULTIPLICACIÓN Y DIVISIÓN: PENSAR EN VARIANZAS RELATIVAS

Considerar la siguiente operación:

Las varianzas relativas de la multiplicación y la división son aditivas.

$$\frac{(13.67 \pm 0.02)(120.4 \pm 0.2)}{4.623 \pm 0.006} = 356.0 (\pm ?)$$

Aquí, las *incertidumbres relativas* son aditivas, y el error más probable se representa por la raíz cuadrada de la suma de las varianzas relativas. Es decir, la varianza relativa del resultado es la suma de las varianzas relativas individuales.

Para $a = bc/d$,

$$(s_a)_{\text{rel}} = (s_b)_{\text{rel}} + (s_c)_{\text{rel}} + (s_d)_{\text{rel}} \quad (3.7)$$

$$(s_a)_{\text{rel}} = \sqrt{(s_b)_{\text{rel}}^2 + (s_c)_{\text{rel}}^2 + (s_d)_{\text{rel}}^2} \quad (3.8)$$

En el ejemplo anterior,

$$(s_b)_{\text{rel}} = \frac{\pm 0.02}{13.67} = \pm 0.0015$$

$$(s_c)_{\text{rel}} = \frac{\pm 0.2}{120.4} = \pm 0.0017$$

$$(s_d)_{\text{rel}} = \frac{\pm 0.006}{4.623} = \pm 0.0013$$

$$\begin{aligned}(s_a)_{\text{rel}} &= \sqrt{(\pm 0.0015)^2 + (\pm 0.0017)^2 + (\pm 0.0013)^2} \\ &= \sqrt{\pm 2.2 \times 10^{-6} + (\pm 2.9 \times 10^{-6}) + (\pm 1.7 \times 10^{-6})} \\ &= \sqrt{\pm 6.8 \times 10^{-6}} = \pm 2.6 \times 10^{-3}\end{aligned}$$

La incertidumbre absoluta está dada por

$$\begin{aligned}s_a &= a \times (s_a)_{\text{rel}} \\ &= 356.0 \times (\pm 2.6 \times 10^{-3}) = \pm 0.93\end{aligned}$$

De modo que la respuesta es 356.0 ± 0.9 .

Ejemplo 3.11

Calcular la incertidumbre en el número de milimoles de cloruro contenidos en 250.0 mL de una muestra cuando se titulan tres alícuotas iguales de 25.00 mL con nitrato de plata con los siguientes resultados: 36.78, 36.82 y 36.75 mL. La molaridad de la solución de AgNO_3 es $0.1167 \pm 0.0002 M$.

Solución

El volumen medio es

$$\frac{36.78 + 36.82 + 36.75}{3} = 36.78 \text{ mL}$$

La desviación estándar es

x_i	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$
36.78	0.00	0.0000
36.82	0.04	0.0016
36.75	0.03	0.0009
	Σ	0.0025

$$s = \sqrt{\frac{0.0025}{3 - 1}} = 0.035 \quad \text{Volumen medio} = 36.78 \pm 0.04 \text{ mL}$$

$$\text{mmol Cl}^- \text{ titulados} = (0.1167 \pm 0.0002 \text{ mmol/mL})(36.78 \pm 0.04 \text{ mL}) = 4.292 (\pm?)$$

$$(s_b)_{\text{rel}} = \frac{\pm 0.0002}{0.1167} = \pm 0.0017$$

$$(s_c)_{\text{rel}} = \frac{\pm 0.035}{36.78} = \pm 0.00095$$

$$\begin{aligned} (s_a)_{\text{rel}} &= \sqrt{(\pm 0.0017)^2 + (\pm 0.00095)^2} \\ &= \sqrt{(\pm 2.9 \times 10^{-6}) + (\pm 0.90 \times 10^{-6})} \\ &= \sqrt{\pm 3.8 \times 10^{-6}} \\ &= \pm 1.9 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

La incertidumbre absoluta en los milimoles de Cl^- es

$$4.292 \times (\pm 0.0019) = \pm 0.0082 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol Cl}^- \text{ en 25 mL} = 4.292 \pm 0.0082 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol Cl}^- \text{ en 250 mL} = 10(4.292 \pm 0.0082) = 42.92 \pm 0.08 \text{ mmol}$$

Obsérvese que se ha retenido una cifra extra en los cálculos hasta el resultado final. Aquí, la incertidumbre absoluta determinada es proporcional al tamaño de la muestra; así, por ejemplo, no permanecería constante para el doble del tamaño de muestra.

Si hay una combinación de multiplicación/división y suma/resta en un cálculo, las incertidumbres de estas operaciones se deben combinar.

Ejemplo 3.12

Se han recibido tres embarques de mineral de hierro con los siguientes pesos: 2 852, 1 578 y 1 877 lb. Hay una incertidumbre en los pesos de ± 5 lb. El análisis de los minerales da $36.28 \pm 0.04\%$, $22.68 \pm 0.03\%$ y $49.23 \pm 0.06\%$, respectivamente. Se deben pagar 300 dólares por tonelada corta de hierro. ¿Cuánto se debería pagar por estos tres embarques y cuál es la incertidumbre en el pago?

Solución

Se necesita calcular el peso de hierro en cada embarque con las incertidumbres y luego sumar estos pesos para obtener el peso total de hierro y la incertidumbre en éste. Las incertidumbres relativas en los pesos son

$$\frac{\pm 5}{2\,852} = \pm 0.0017 \quad \frac{\pm 5}{1\,578} = \pm 0.0032 \quad \frac{\pm 5}{1\,877} = \pm 0.0027$$

Las incertidumbres relativas en los análisis son

$$\frac{\pm 0.04}{36.28} = \pm 0.0011 \quad \frac{\pm 0.03}{22.68} = \pm 0.0013 \quad \frac{\pm 0.06}{49.23} = \pm 0.0012$$

Los pesos de hierro en los embarques son

$$\frac{(2\,852 \pm 5 \text{ lb})(36.28 \pm 0.04\%)}{100} = 1\,034.7(\pm?) \text{ lb Fe}$$

$$(s_a)_{\text{rel}} = \sqrt{(\pm 0.0017)^2 + (\pm 0.0011)^2} = \pm 0.0020$$

$$s_a = 1\,034.7 \times (\pm 0.0020) = \pm 2.1 \text{ lb}$$

$$\text{lb Fe} = 1\,034.7 \pm 2.1$$

(Se llevará una cifra adicional en todo lo que sigue.)

$$\frac{(1\,578 \pm 5 \text{ lb})(22.68 \pm 0.03\%)}{100} = 357.89(\pm?) \text{ lb Fe}$$

$$(s_a)_{\text{rel}} = \sqrt{(\pm 0.0032)^2 + (\pm 0.0013)^2} = \pm 0.0034$$

$$s_a = 357.89 \times (\pm 0.0034) = \pm 1.2 \text{ lb}$$

$$\text{lb Fe} = 357.9 \pm 1.2 \text{ lb}$$

$$\frac{(1\,877 \pm 5 \text{ lb})(49.23 \pm 0.06\%)}{100} = 924.05(\pm?) \text{ lb Fe}$$

$$(s_a)_{\text{rel}} = \sqrt{(\pm 0.0027)^2 + (\pm 0.0012)^2} = \pm 0.0030$$

$$s_a = 924.05 \times (\pm 0.0030) = \pm 2.8 \text{ lb}$$

$$\text{lb Fe} = 924.0 \pm 2.8 \text{ lb}$$

$$\text{Fe total} = (1\,034.7 \pm 2.1 \text{ lb}) + (357.9 \pm 1.2 \text{ lb}) + (924.0 \pm 2.8 \text{ lb})$$

$$= 2\,316.6(\pm?) \text{ lb}$$

$$s_a = \sqrt{(\pm 2.1)^2 + (\pm 1.2)^2 + (\pm 2.8)^2} = \pm 3.7 \text{ lb}$$

$$\text{Fe total} = 2\,317 \pm 4 \text{ lb}$$

$$\text{Precio} = (2\,316.6 \pm 3.7 \text{ lb})(\$0.15/\text{lb}) = \$347.49 \pm 0.56$$

Por tanto, se debe pagar $\$347.50 \pm 0.60$.

Ejemplo 3.13

Se determina el contenido de ácido acético en vinagre titulando con una solución estándar (concentración conocida) de hidróxido de sodio hasta el punto final de fenolftaleína. Se pesa una muestra de vinagre de aproximadamente 5 mL en una balanza analítica en un pesafiltros (el aumento en peso representa el peso de la muestra) y se encuentra que pesa 5.0268 g. La incertidumbre al hacer una sola pesada es ± 0.2 mg. El hidróxido de sodio se debe estandarizar con precisión (determinar su concentración) titulando pesos conocidos de ftalato ácido de potasio de alta pureza, y tres de estas titulaciones dan molaridades de 0.1167, 0.1163 y 0.1164 *M*. Se usa un volumen de 36.78 mL de solución de hidróxido de sodio para titular la muestra. La incertidumbre en la lectura de la bureta es ± 0.02 mL. ¿Cuál es el porcentaje de ácido acético en el vinagre y cuál es la incertidumbre?

Solución

Se requieren dos pesadas para obtener el peso de la muestra: la del frasco vacío y la del frasco más la muestra. Cada una tiene una incertidumbre de ± 0.2 mg, y por tanto la incertidumbre del peso neto de la muestra (la diferencia de los dos pesos) es

$$s_{wt} = \sqrt{(\pm 0.2)^2 + (\pm 0.2)^2} = \pm 0.3 \text{ mg}$$

La media de la molaridad del hidróxido de sodio es 0.1165 *M* y su desviación estándar es ± 0.0002 *M*. De igual modo, se necesitan dos lecturas de buretas (inicial y final) para obtener el volumen de base dispensado, y la incertidumbre total es

$$s_{vol} = \sqrt{(\pm 0.02)^2 + (\pm 0.02)^2} = \pm 0.03 \text{ mL}$$

Los moles de ácido acético son iguales a los moles de hidróxido de sodio usados para titularlo, de modo que el porcentaje de ácido acético es

%HOAc

$$= \frac{(0.1165 \pm 0.0002) \text{ mmol mL}^{-1} (36.78 \pm 0.03) \text{ mL} \times 60.05 (\text{mg mmol}^{-1} \text{ ácido acético})}{(5.0268 \pm 0.3) \text{ mg}} \times 100\% = 5.119 \pm ?\%$$

La incertidumbre en el peso molecular del ácido acético se supone que es insignificante (en realidad se podría calcular con seis cifras para ser exacto).

$$(s_M)_{rel} = \frac{\pm 0.0002}{0.1165} = \pm 0.0017$$

$$(s_{vol})_{rel} = \frac{\pm 0.03}{36.78} = \pm 0.00082$$

$$(s_{wt})_{rel} = \frac{\pm 0.3}{5.0268} = \pm 0.000060$$

	A	B
1	N1	0.1167
2	N2	0.1163
3	N3	0.1164
4	DESVEST:	0.000208
5	Celda B4:	
6	DESVEST(B1:B3)	

La incertidumbre en el análisis es

$$(s_{\text{total}})_{\text{rel}} = \sqrt{(\pm 0.0017)^2 + (\pm 0.00082)^2 + (\pm 0.00060)^2} = \pm 0.0020$$

$$s_{\text{total}} = 5.119 \times 0.0020 = \pm 0.010\% \text{ ácido acético}$$

Por lo cual, el contenido de ácido acético es $5.119 \pm 0.010\%$. La incertidumbre relativa es 0.4 partes en 10^{12} .

El factor que limitaba más la incertidumbre era la varianza en la molaridad de la solución de hidróxido de sodio. Esto ilustra la importancia de la calibración cuidadosa, que se explica en el capítulo 2.

.....

3.10 Cifras significativas y propagación del error

Antes se observó que la incertidumbre total en un cálculo determina con cuánta exactitud se puede conocer el resultado. En otras palabras, la incertidumbre establece el número de cifras significativas. Considérese el siguiente ejemplo:

$$(73.1 \pm 0.2)(2.245 \pm 0.008) = 164.1 \pm 0.7$$

El número de cifras significativas en el resultado está determinado por la incertidumbre debida a la propagación del error.

Se justifica conservar cuatro cifras aun cuando el número clave tenga tres. Aquí no se tiene que llevar una cifra adicional como subíndice, porque ya se ha indicado la incertidumbre real. Obsérvese que la mayor incertidumbre relativa en los multiplicadores es 0.0036, en tanto que la del resultado es 0.0043; así, debido a la propagación del error, se conoce el resultado con una exactitud algo menor que el número clave. El número clave (el que tiene la mayor incertidumbre), cuando se conocen las incertidumbres reales, puede no ser necesariamente el que tenga el menor número de dígitos. Por ejemplo, la incertidumbre relativa en 78.1 ± 0.2 es 0.003, en tanto que la de 11.21 ± 0.08 es 0.007.

Supóngase, por ejemplo, que se tiene el siguiente cálculo:

$$(73.1 \pm 0.9)(2.245 \pm 0.008) = 164.1 \pm 2.1 = 164 \pm 2$$

Ahora la incertidumbre del resultado está en la posición de las unidades, de modo que las cifras más allá de esta posición carecen de sentido. En este ejemplo, la incertidumbre del número clave y la del resultado son similares (± 0.012), ya que la incertidumbre en el otro multiplicador es significativamente menor.

Ejemplo 3.14

Proporcionar los resultados de los siguientes cálculos con el número correcto de cifras significativas:

a) $(38.68 \pm 0.07) - (6.16 \pm 0.09) = 32.52$

b)
$$\frac{(12.18 \pm 0.08)(23.04 \pm 0.07)}{3.247 \pm 0.006} = 86.43$$

Solución

- a) La incertidumbre absoluta calculada en el resultado es ± 0.11 . Por tanto, el resultado es 32.5 ± 0.1 .
- b) La incertidumbre relativa calculada en el resultado es 0.0075, por lo que la incertidumbre absoluta es $0.0075 \times 86.43 = 0.65$. Por tanto, la respuesta es 86.4 ± 0.6 , aunque se conocen todos los otros números con cuatro cifras; hay incertidumbre sustancial en el cuarto dígito, lo cual conduce a la incertidumbre en el resultado. La incertidumbre relativa en dicho resultado es 0.0075, y la mayor incertidumbre relativa en los otros números es 0.0066, muy similar.

3.11 Gráficas de control

Una **gráfica de control de calidad** es una gráfica contra el tiempo de una cantidad medida que se supone constante (con una distribución de Gauss) para corroborar que la medición permanece dentro de un intervalo estadísticamente aceptable. Puede ser una gráfica día a día del valor medido de un estándar que se usa de manera intermitente con las muestras. La gráfica de control se compone de una línea central que representa el valor conocido o supuesto del control y ya sea uno o dos pares de líneas de límite, los **límites de control interior** y **exterior**. Por lo regular se conoce la desviación estándar del procedimiento (un buen estimado de σ) y se usa para establecer los límites de control.

En la figura 3.6 se ilustra un ejemplo de una gráfica de control de los resultados día a día del análisis de una muestra combinada de calcio en suero o una muestra de control que se analiza al azar y a ciegas con las muestras de cada día. Un límite de control interno útil es de dos desviaciones estándar, ya que sólo hay una posibilidad en 20 de que una medición individual exceda la pureza por azar. Esto podría representar un límite de alarma. El límite externo podría ser de 2.5 o 3σ , en cuyo caso sólo hay una posibilidad en 100 o una posibilidad en 500 de que una medición caiga fuera de este intervalo en ausencia de error sistemático. En general se analiza un control con cada lote de muestras (por ejemplo, 20 muestras), de modo que cada día se pueden obtener varios puntos de control. La media de éstos se puede graficar cada día. La dispersión aleatoria de éstos se puede esperar que sea menor en $\sqrt{N}$, en comparación con los puntos individuales.

Se debe poner especial atención a las tendencias en una dirección; es decir, que los puntos caigan en un lado de la línea central. Esto sugeriría ya sea que el control tiene error o que hay un error sistemático en la medición. Una tendencia de los puntos a caer fuera de los límites de control indicaría la presencia de uno o más errores determinados en la medición, y el analista debería verificar si no hay deterioro de reactivos, mal funcionamiento del instrumento, efectos ambientales o de otra naturaleza. Las tendencias deben mostrar

Una gráfica de control se construye analizando periódicamente una muestra de control “conocida”.

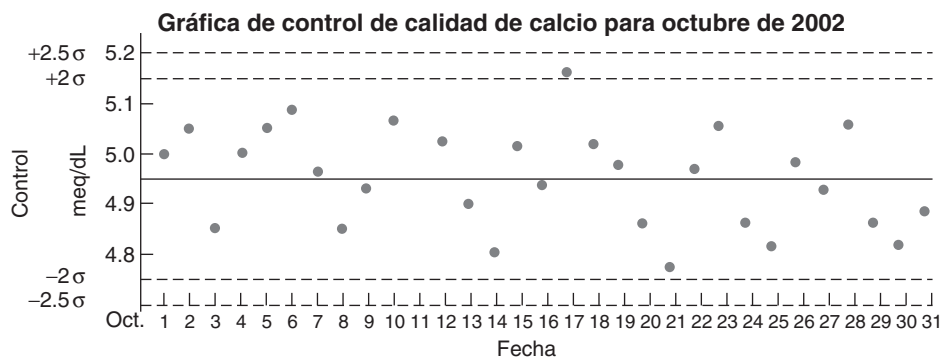


Figura 3.6.

Gráfica típica de control de calidad.

contaminación de los reactivos, calibración incorrecta o estándar erróneos, o cambio en el lote de control.

3.12 El límite de confianza. ¿Qué tan seguro se está?

El valor verdadero cae dentro del límite de confianza, que se estima usando t en el nivel de confianza que se desea.

El cálculo de la desviación estándar para un conjunto de datos proporciona una indicación de la precisión inherente a un procedimiento o análisis específico. Pero a menos que haya un gran número de datos, no da por sí mismo información acerca de qué tan próxima podría estar la media experimentalmente determinada $\bar{x}$ al valor medio verdadero μ . Sin embargo, la teoría estadística permite estimar el intervalo dentro del cual podría caer el valor verdadero dentro de una probabilidad dada, definida por la media experimental y la desviación estándar. Este intervalo se llama **intervalo de confianza** y sus límites se conocen como **límites de confianza**. La probabilidad de que el valor verdadero caiga dentro del intervalo se llama **probabilidad** o **nivel de confianza**, y en general se expresa como porcentaje. El nivel de confianza está dado por

$$\text{Nivel de confianza} = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$$

(3.9)

donde t es un factor estadístico que depende del número de grados de libertad y el nivel de confianza que se desea. El número de grados de libertad es uno menos que el número de mediciones. Los valores de t a diferentes niveles de confianza y grados de libertad ν se dan en la tabla 3.1. Obsérvese que el nivel de confianza es simplemente el producto de t y la desviación estándar de la media ($s/\sqrt{N}$). (**El nivel de confianza para una sola observación, x , cuando N es 1, está dado por $x \pm ts$, y es mayor que el de la media por un factor $\sqrt{N}$; t es el número de mediciones que se usan para determinar s .**)

Tabla 3.1
Valores de t para ν grados de libertad para varios niveles de confianza^a

ν	Nivel de confianza			
	90%	95%	99%	99.5%
1	6.314	12.706	63.657	127.32
2	2.920	4.303	9.925	14.089
3	2.353	3.182	5.841	7.453
4	2.132	2.776	4.604	5.598
5	2.015	2.571	4.032	4.773
6	1.943	2.447	3.707	4.317
7	1.895	2.365	3.500	4.029
8	1.860	2.306	3.355	3.832
9	1.833	2.262	3.250	3.690
10	1.812	2.228	3.169	3.581
15	1.753	2.131	2.947	3.252
20	1.725	2.086	2.845	3.153
25	1.708	2.060	2.787	3.078
∞	1.645	1.960	2.576	2.807

^a $\nu = N - 1$ = grados de libertad.

Ejemplo 3.15

Se analiza una muestra de carbonato de sodio comercial en el laboratorio de química analítica por titulación con ácido clorhídrico estándar. El análisis se realiza por triplicado, con los siguientes resultados: 93.50, 93.58 y 93.43% de Na_2CO_3 . ¿Dentro de qué intervalo existe 95% de confianza de que caiga el valor verdadero?

Solución

La media es 93.50%. La desviación estándar s se calcula en 0.075% de Na_2CO_3 (absoluto; se calcula con una hoja de cálculo). En el nivel de confianza de 95% y dos grados de libertad, $t = 4.303$, y

$$\begin{aligned}\text{Nivel de confianza} &= \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \\ &= 93.50 \pm \frac{4.303 \times 0.075}{\sqrt{3}} \\ &= 93.50 \pm 0.19\%\end{aligned}$$

Un nivel de confianza demasiado alto dará un amplio intervalo que puede abarcar números no aleatorios. Un nivel de confianza demasiado bajo dará un intervalo estrecho y excluye números aleatorios válidos. Por lo general se aceptan como razonables niveles de confianza de 90 a 95%.

De manera que se tiene 95% de confianza de que, en ausencia de un error determinado, el valor verdadero cae dentro de 93.31 a 93.69%. Obsérvese que para un número infinito de mediciones se habría predicho, con 95% de confianza, que el valor verdadero cae dentro de dos desviaciones estándar (figura 3.2); se ve que, para $\nu = \infty$, t es en realidad 1.96 (tabla 3.1), y así, el nivel de confianza sería realmente alrededor del doble de la desviación estándar de la media (que se aproxima a σ para un alto valor de N).

Compárese con la figura 3.2, donde 95% de los valores caen dentro de $2s$.

Se debe recordar, según la sección 3.7 y la figura 3.2, que se tiene 68% de confianza de que el valor verdadero caiga dentro de $\pm 1\sigma$, 95% de confianza de que se encuentre en $\pm 2\sigma$, y 99% de confianza de que caiga dentro de $\pm 2.5\sigma$. Obsérvese que es posible estimar una desviación estándar a partir de un intervalo declarado de confianza, y viceversa, estimar un intervalo de confianza a partir de una desviación estándar. Si un valor medio es 27.37 ± 0.06 g en el intervalo de confianza de 95%, entonces, como esto representa dos desviaciones estándar para un número adecuadamente grande de mediciones, la desviación estándar es 0.03 g. Si se sabe que la desviación estándar es 0.03 g, entonces éste es el intervalo de confianza en el nivel de confianza de 68%, o es 0.06 g en el nivel de confianza de 95%. Para pequeños números de mediciones, t será mayor, lo cual cambia proporcionalmente estos números.

Al aumentar el número de mediciones, tanto t como $s/\sqrt{N}$ disminuyen, y se obtiene como resultado que el intervalo de confianza se estrecha. De modo que cuantas más mediciones se hagan, mayor confianza se tendrá en que el valor verdadero caiga dentro de un intervalo dado o, a la inversa, que el intervalo se estrechará a un nivel de confianza dado. Sin embargo, t disminuye de manera exponencial al aumento de N , del mismo modo en que lo hace la desviación estándar de la media (véase la tabla 3.1), de manera que finalmente se llega a un punto de retornos disminuidos en el cual el aumento de confianza no se justifica con el aumento en el número de análisis necesarios.

3.13 Pruebas de significancia. ¿Hay diferencia?

Al desarrollar un nuevo método analítico, a menudo es deseable comparar los resultados de ese método con los de un método aceptado (quizá de norma). Sin embargo, ¿cómo se puede decir si hay una diferencia significativa entre el método nuevo y el aceptado? De nuevo se recurre a la estadística para encontrar la respuesta.

Decidir si un conjunto de resultados es significativamente diferente de otro depende no sólo de la diferencia en las medias, sino también de la cantidad de datos disponibles y de la dispersión. No hay tablas estadísticas que muestren qué tan grande debe ser una diferencia para que se considere que no ha ocurrido por casualidad. La prueba F evalúa las diferencias entre la dispersión de los resultados, en tanto que la prueba t atiende a las diferencias entre las medias.

LA PRUEBA F

La prueba F se usa para determinar si dos varianzas son estadísticamente diferentes.

Ésta es una prueba diseñada para indicar si hay una diferencia significativa entre dos métodos con base en sus desviaciones estándar. F se define en términos de las varianzas de los dos métodos, donde la **varianza** es el cuadrado de la desviación estándar:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (3.10)$$

donde $s_1^2 > s_2^2$. Hay dos grados de libertad diferentes, ν_1 y ν_2 , y se definen como $N - 1$ para cada caso.

Si el valor de F calculado por la ecuación 3.10 excede un valor tabulado de F en el nivel de confianza seleccionado, entonces hay una diferencia significativa entre las varianzas de los dos métodos. En la tabla 3.2 se da una lista de valores F a 95% del nivel de confianza.

Tabla 3.2

Valores de F al nivel de confianza 95%

	$\nu_1 = 2$	3	4	5	6	7	8	9	10	15	20	30
$\nu_2 = 2$	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.5
3	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.70	8.66	8.62
4	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.86	5.80	5.75
5	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.62	4.56	4.50
6	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	3.94	3.87	3.81
7	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.51	3.44	3.38
8	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.22	3.15	3.08
9	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.01	2.94	2.86
10	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.85	2.77	2.70
15	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.40	2.33	2.25
20	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.20	2.12	2.04
30	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.01	1.93	1.84

Ejemplo 3.16

Se está desarrollando un nuevo procedimiento colorimétrico para determinar el contenido de glucosa en suero de sangre. Se ha elegido el procedimiento estándar Folin-Wu para comparar con éste sus resultados. De los dos siguientes conjuntos de análisis de réplica de la misma muestra, determinar si la varianza de este método difiere significativamente de la del método estándar.

Método nuevo (mg/dL)	Método Folin-Wu (mg/dL)
127	130
125	128
123	131
130	129
131	127
126	125
129	
media ($\bar{x}_1$) 127	media ($\bar{x}_2$) 128

Solución

$$s_1^2 = \frac{\sum (x_{i1} - \bar{x}_1)^2}{N_1 - 1} = \frac{50}{7 - 1} = 8.3$$

$$s_2^2 = \frac{\sum (x_{i2} - \bar{x}_2)^2}{N_2 - 1} = \frac{24}{6 - 1} = 4.8$$

$$F = \frac{8.3}{4.8} = 1.73$$

Las varianzas se ordenan de manera que el valor de F sea >1 . El valor F tabulado para $\nu_1 = 6$ y $\nu_2 = 5$ es 4.95. Como el valor calculado es menor que éste, se concluye que no hay diferencia significativa en la precisión de los dos métodos; es decir, las desviaciones estándar son sólo de error aleatorio y no dependen de la muestra.

LA PRUEBA T DE STUDENT. ¿HAY DIFERENCIAS EN LOS MÉTODOS?

Con frecuencia, el analista desea decidir si hay diferencia estadística entre los resultados obtenidos usando dos procedimientos diferentes; es decir, si ambos miden en realidad lo mismo. La prueba t es muy útil para hacer estas comparaciones.

En este método se comparan dos conjuntos de mediciones de réplicas hechas con dos métodos diferentes; uno de ellos será el *método de prueba*, y el otro es un método *aceptado*. Se calcula un valor estadístico de t y se compara con el valor tabulado para el número dado de pruebas al nivel de confianza deseado (tabla 3.1). Si el valor calculado de t *excede* el valor tabulado de t , entonces hay una *diferencia significativa* entre los resultados de los dos métodos a ese nivel de confianza. Si no excede el valor tabulado, en-

La prueba t se usa para determinar si dos conjuntos de mediciones son estadísticamente diferentes.

tonces se puede predecir que no hay diferencia significativa entre los métodos. Esto de ninguna manera implica que los dos resultados sean idénticos.

En seguida se describirán tres maneras en que se puede usar una prueba t . Si hay disponible un valor aceptado de μ (de otras mediciones), entonces se puede usar la prueba para determinar si un método de análisis específico da resultados estadísticamente iguales a μ a un nivel dado de confianza. Si no hay disponible un valor aceptado, entonces se puede realizar una serie de análisis de réplica de una sola muestra usando dos métodos, o bien se puede realizar una serie de análisis en un conjunto de muestras diferentes por los dos métodos. Uno de ellos debe ser un método aceptado. Se describirán estos usos diversos de la prueba t .

1. Prueba t cuando se conoce un valor aceptado. Obsérvese que la ecuación 3.9 es una representación del valor verdadero μ . Se puede escribir que

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \quad (3.11)$$

De aquí se desprende que

$$\pm t = (\bar{x} - \mu) \frac{\sqrt{N}}{s} \quad (3.12)$$

Si se dispone de un buen estimado del valor “verdadero” de otros análisis, por ejemplo un material de referencia estándar del National Institute of Standards and Technology (NIST) (o lo definitivo en análisis químico, un peso atómico), entonces la ecuación 3.12 se puede usar para determinar si el valor obtenido de un método a prueba es estadísticamente igual al valor aceptado.

Ejemplo 3.17

Se está desarrollando un procedimiento para determinar trazas de cobre en materiales biológicos utilizando una digestión húmeda seguida de medición por espectrofotometría de absorción atómica. Para probar la validez del método se obtiene un material de referencia estándar NIST de hojas de árboles frutales y se analiza este material. Se muestrean y analizan cinco réplicas y se encuentra que la media de los resultados es 10.8 ppm, con una desviación estándar de ± 0.7 ppm. El valor tabulado es 11.7 ppm. ¿Da este método un valor estadísticamente correcto al nivel de confianza de 95%?

Solución

$$\begin{aligned} \pm t &= (\bar{x} - \mu) \frac{\sqrt{N}}{s} \\ &= (10.8 - 11.7) \frac{\sqrt{5}}{0.7} \\ &= 2.9 \end{aligned}$$

Hay cinco mediciones, de modo que hay cuatro grados de libertad ($N - 1$). En la tabla 3.1 se ve que el valor tabulado de t al nivel de confianza de 95% es 2.776. Esto es *menos*

que los valores calculados, de modo que hay un error determinado en el nuevo procedimiento; es decir, hay una probabilidad de 95% de que la diferencia entre el valor de referencia y el valor medido no se deba al azar.

.....

A partir de la ecuación 3.12, nótese que al mejorar la precisión, es decir, al hacerse más pequeña s , el valor calculado de t se hace mayor. Por tanto, hay mayor probabilidad de que el valor tabulado de t sea menor que éste. Es decir, al mejorar la precisión es más fácil distinguir diferencias no aleatorias. Si se observa de nuevo la ecuación 3.12, esto significa que al disminuir s debe reducir la diferencia entre los dos métodos ($\bar{x} - \mu$) para que la diferencia se adjudique sólo a error aleatorio. Lo que esto significa es que comparando conjuntos muy grandes de muestras, con una s más pequeña, casi siempre conducirá a una diferencia estadísticamente significativa, aunque un resultado de esta naturaleza no necesariamente es importante debido al gran número de muestras que describen mejor la población.

2. Comparación de las medias de dos muestras. Cuando se aplica la prueba t a dos conjuntos de datos, en la ecuación 3.12 se reemplaza μ por la media del segundo conjunto. El valor recíproco de la desviación estándar de la media ($\sqrt{N}/s$) se reemplaza por la de las diferencias entre las dos, la cual es (y esto puede demostrarse fácilmente):

$$\sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}} / s_p$$

donde s_p es la desviación estándar combinada de las mediciones individuales de dos conjuntos:

$$\pm t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_p} \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}} \quad (3.13)$$

La desviación estándar combinada que se describe en seguida se usa algunas veces para obtener una estimación mejorada de la precisión de un método, y se usa para calcular la precisión de los dos conjuntos de datos en una prueba t pareada. Es decir, más que confiar en un solo conjunto de datos para describir la precisión de un método, en ocasiones es preferible realizar varios conjuntos de análisis, por ejemplo en días diferentes o con distintas muestras, con composiciones ligeramente variadas. Si el error indeterminado (aleatorio) se supone igual para cada conjunto, entonces los datos de los conjuntos diferentes se pueden combinar. Esto da una estimación más confiable de la precisión de un método que la que se obtiene de un solo conjunto. La **desviación estándar combinada** s_p está dada por

$$s_p = \sqrt{\frac{\sum(x_{i1} - \bar{x}_1)^2 + \sum(x_{i2} - \bar{x}_2)^2 + \cdots + \sum(x_{ik} - \bar{x}_k)^2}{N - k}} \quad (3.14)$$

donde $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_k$ son las medias de cada k conjuntos de análisis, y $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ik}$ son los valores individuales en cada conjunto. N es el número total de mediciones y es igual a $(N_1 + N_2 + \cdots + N_k)$. Si se realizan cinco conjuntos de 20 análisis cada uno, $k = 5$ y $N = 100$. (El número de muestras en cada conjunto no necesita ser igual.) $N - k$ corresponde a los grados de libertad obtenidos a partir de $(N_1 - 1) + (N_2 - 1) + \cdots + (N_k - 1)$; para cada subconjunto se pierde un grado de libertad. Esta ecuación representa una combinación de las ecuaciones para desviaciones estándar de cada conjunto de datos.

La prueba F no se puede aplicar a las varianzas de los dos métodos en lugar de suponer que son estadísticamente iguales antes de aplicar la prueba t .

Al aplicar la prueba t entre dos métodos se supone que ambos métodos tienen esencialmente la misma desviación estándar; es decir, cada uno representa la precisión de la población (la misma σ). Esto se puede verificar utilizando la prueba F descrita anteriormente.

Ejemplo 3.18

Se desarrolla un nuevo método gravimétrico para hierro(III) en el que el hierro se precipita en forma cristalina con un compuesto “jaula” de organoboro. La exactitud del método se verifica analizando el hierro en la muestra de mineral y comparando con los resultados obtenidos mediante la precipitación acostumbrada con amoníaco, pesando el Fe_2O_3 . Los resultados expresados como porcentaje Fe para cada análisis son los siguientes:

Método de prueba	Método de referencia
20.10%	18.89%
20.50	19.20
18.65	19.00
19.25	19.70
19.40	19.40
19.99	$\bar{x}_2 = 19.24\%$
$\bar{x}_1 = 19.65\%$	

¿Hay diferencia significativa entre los dos métodos?

Solución

x_{i1}	$x_{i1} - \bar{x}_1$	$(x_{i1} - \bar{x}_1)^2$	x_{i2}	$x_{i2} - \bar{x}_2$	$(x_{i2} - \bar{x}_2)^2$
20.10	0.45	0.202	18.89	0.35	0.122
20.50	0.85	0.722	19.20	0.04	0.002
18.65	1.00	1.000	19.00	0.24	0.058
19.25	0.40	0.160	19.70	0.46	0.212
19.40	0.25	0.062	19.40	0.16	0.026
19.99	0.34	0.116			
		$\sum(x_{i1} - \bar{x}_1)^2 = 2.262$		$\sum(x_{i2} - \bar{x}_2)^2 = 0.420$	

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0.262/5}{0.420/4} = 4.31$$

Esto es menos que el valor tabulado (6.26), de modo que los dos métodos tienen desviaciones estándar comparables y se puede aplicar la prueba t

$$\begin{aligned}
 s_p &= \sqrt{\frac{\sum(x_{i1} - \bar{x}_1)^2 + \sum(x_{i2} - \bar{x}_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}} \\
 &= \sqrt{\frac{2.262 + 0.420}{6 + 5 - 2}} = 0.546 \\
 \pm t &= \frac{19.65 - 19.24}{0.546} \sqrt{\frac{(6)(5)}{6 + 5}} = 1.2_3
 \end{aligned}$$

La t tabulada para nueve grados de libertad ($N_1 + N_2 - 2$) al nivel de confianza 95% es 2.262 de modo que no hay diferencia estadística en los resultados de los dos métodos.

En lugar de comparar dos métodos usando una muestra se podrían comparar dos muestras usando un solo método de análisis de manera idéntica a los ejemplos anteriores.

3. Prueba pareada t . En el laboratorio de química clínica a menudo se prueba un nuevo método contra otro aceptado analizando varias muestras diferentes de composición ligeramente variable (dentro del intervalo fisiológico). En este caso, el valor t se calcula en una forma ligeramente diferente. Se calcula la diferencia entre cada una de las mediciones pareadas de cada muestra. Se calcula una diferencia promedio $\bar{D}$, y las desviaciones individuales de cada una con respecto a $\bar{D}$ se usan para calcular una desviación estándar, s_d . El valor t se calcula mediante

$$t = \frac{\bar{D}}{s_d} \sqrt{N} \quad (3.15)$$

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum (D_i - \bar{D})^2}{N - 1}} \quad (3.16)$$

donde D_i es la diferencia individual entre los dos métodos para cada muestra, considerando el signo, y $\bar{D}$ es la media de todas las diferencias individuales.

Ejemplo 3.19

Se desarrolla un nuevo método analítico para determinar el nitrógeno de urea en la sangre (BUN). Se desea determinar si este método difiere de manera significativa de un método estándar para analizar un intervalo de concentraciones en muestra que se espera encontrar en forma sistemática en el laboratorio. Se ha determinado que los dos métodos tienen precisiones comparables. En seguida se dan dos conjuntos de resultados para un número de muestras individuales.

Muestra	Nuevo método (mg/dL)	Método estándar (mg/dL)	D_i	$D_i - \bar{D}$	$(D_i - \bar{D})^2$
A	10.2	10.5	-0.3	-0.6	0.36
B	12.7	11.9	0.8	0.5	0.25
C	8.6	8.7	-0.1	-0.4	0.16
D	17.5	16.9	0.6	0.3	0.09
E	11.2	10.9	0.3	0.0	0.00
F	11.5	11.1	0.4	0.1	0.01
			Σ 1.7		Σ 0.87
			$\bar{D} = 0.28$		

Solución

$$s_d = \sqrt{\frac{0.87}{6 - 1}} = 0.42$$

$$t = \frac{0.28}{0.42} \times \sqrt{6} = 1.6_3$$

El valor t tabulado al nivel de confianza 95% para cinco grados de libertad es 2.571. Por tanto, $t_{\text{calc}} < t_{\text{tabla}}$, y no hay diferencia significativa entre los dos métodos a este nivel de confianza.

Por lo regular, una prueba en el nivel de confiabilidad del 95% se considera significativa, en tanto que una en el nivel de confianza 99% es altamente significativa. Es decir, cuanto menor sea el valor t calculado, mayor será la confianza de que no hay diferencia significativa entre los dos métodos. Si se emplea un nivel de confianza demasiado bajo (por ejemplo, 80%) hay riesgo de concluir erróneamente que hay una diferencia significativa entre dos métodos (error tipo I). Por otro lado, un nivel de confianza demasiado alto requerirá que la diferencia sea demasiado grande para detectarla (error tipo II). Si un valor t calculado es cercano al valor tabular de t en el nivel de confianza 95% se deben realizar más pruebas para determinar en forma definitiva si los dos métodos son significativamente diferentes.

3.14 Rechazo de un resultado: la prueba Q

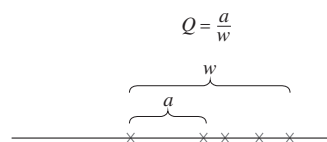
Tercera ley de Finagle: En cualquier recolección de datos, la cifra más obviamente correcta, más allá de toda verificación, es el error.

Con frecuencia, cuando se realiza una serie de análisis de réplicas, uno de los resultados parece diferir notablemente de los otros. Se tendrá que tomar una decisión entre rechazar o retener el resultado. Por desgracia, no hay criterios uniformes que se puedan usar para decidir si un resultado sospechoso se puede atribuir a un error accidental más que a una variación casual. Es tentador eliminar los valores extremos de un conjunto de datos porque alterarán la estadística calculada de modo desfavorable; es decir, aumentarán la desviación estándar y la varianza (medidas de la dispersión), y pueden alterar sustancialmente la media reportada. La única base confiable para el rechazo ocurre cuando es posible decidir que se pudo haber cometido un error específico al obtener el resultado dudoso. Ningún resultado debe retenerse en casos en los que ha ocurrido un error conocido en su recolección.

La experiencia y el sentido común pueden servir como base práctica para juzgar la validez de una observación particular, como sería una prueba estadística. A menudo, el analista experimentado adquirirá una buena idea de la precisión que se debe esperar con un método particular, y reconocerá cuándo es sospechoso un resultado específico.

Además, un analista que conoce la desviación estándar que se espera de un método puede rechazar un punto de los datos que caiga fuera de $2s$ o $2.5s$ de la media, porque hay aproximadamente una probabilidad en 20 o una probabilidad en 100 de que esto ocurra.

La prueba Q se usa para determinar si un punto “descarriado” se debe a un error determinado. Si no es así, entonces cae dentro del error aleatorio esperado y se debe retener.



“Y ahora, la secuencia de acontecimientos sin un orden específico.”

—Dan Rather, locutor noticioso de televisión.

Se ha sugerido y usado una amplia gama de pruebas estadísticas para determinar si una observación se debe rechazar. En todas estas pruebas se establece un intervalo dentro del cual deben caer las observaciones estadísticamente significativas. La dificultad en todas ellas estriba en determinar cuál debe ser el intervalo. Si es demasiado pequeño, entonces se rechazarán datos perfectamente válidos; y si es demasiado grande, entonces se retendrán mediciones erróneas en una proporción de tiempo demasiado alta. La **prueba Q** es, entre las diversas pruebas que se han sugerido, una de las más correctas estadísticamente para un número bastante pequeño de observaciones, y se recomienda cuando es necesaria una prueba. La relación Q se calcula ordenando los datos en forma decreciente. La diferencia entre el número sospechoso y su más cercano vecino (a) se divide entre el intervalo (w), es decir, la diferencia entre el número más alto y el más bajo. Se hace referencia a la figura al margen, $Q = a/w$. Esta relación se compara con valores tabulados de Q . Si es igual o mayor que el valor tabulado, la observación sospechosa se puede rechazar. Los valores tabulados de Q a los niveles de confianza de 90, 95 y 99% se dan en la tabla 3.3. Si Q excede el valor tabulado para un número dado de observaciones y un nivel dado de confianza, la medición cuestionable se puede rechazar, por ejemplo con una confianza de 95% de que haya algún error definido en esta medición.

Tabla 3.3
Cociente de rechazo, *Q*, a diferentes niveles de confianza^a

Núm. de observaciones	Nivel de confianza		
	<i>Q</i> ₉₀	<i>Q</i> ₉₅	<i>Q</i> ₉₉
3	0.941	0.970	0.994
4	0.765	0.829	0.926
5	0.642	0.710	0.821
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	0.412	0.466	0.568
15	0.338	0.384	0.475
20	0.300	0.342	0.425
25	0.277	0.317	0.393
30	0.260	0.298	0.372

^a Adaptado de D. B. Rorabacher, *Anal. Chem.*, **63**(1991) 139.

Ejemplo 3.20

Se informó el siguiente conjunto de análisis de cloruro en alícuotas separadas de un suero combinado: 103, 106, 107 y 114 meq/L. Un valor resulta sospechoso. Determinar si se puede atribuir a error accidental en el nivel de confianza de 95 por ciento.

Solución

El resultado sospechoso es 114 meq/L. Difiere de su vecino más cercano, 107 meq/L, en 7 meq/L. El intervalo es de 114 a 103, es decir, 11 meq/L. Por tanto, *Q* es 7/11 = 0.64. El valor tabulado para cuatro observaciones es 0.829. Como el *Q* calculado es menor que el *Q* tabulado, el número sospechoso se puede atribuir a error aleatorio y no se debe rechazar.

Para un pequeño número de mediciones (por ejemplo, tres a cinco), la discrepancia de la medición debe ser bastante grande antes de que se pueda rechazar por este criterio y es probable que se puedan retener resultados erróneos. Esto provocaría un cambio significativo en la media aritmética porque la media está fuertemente influida por un valor discordante. Por esta razón, se ha sugerido que debe reportarse la mediana en vez de la media cuando no se puede rechazar un número discordante de un pequeño número de mediciones. La **mediana** es el resultado medio de un número impar de resultados, o el promedio del par central para un número par, cuando están ordenados por orden de magnitud. La mediana tiene la ventaja de que no se encuentra indebidamente influida por un valor muy desviado. En el ejemplo anterior, la mediana se podía tomar como el promedio de los dos valores medios; [= (106 + 107)/2 = 106]. Esto se compara con una media de 108, que está más influida por el número sospechoso.

Se sugiere el siguiente procedimiento para la interpretación de los datos de tres a cinco mediciones, si la precisión es considerablemente peor que la esperada, y si una de las observaciones es bastante diferente de las otras del conjunto.

Se debe reportar la mediana cuando un punto discordante claramente no se puede rechazar.

1. Estimar la precisión que se puede esperar razonablemente para el método al decidir si un número dado es realmente cuestionable. Obsérvese que, para tres mediciones con dos de los puntos muy cercanos, es probable que falle la prueba Q (véase el párrafo siguiente).
2. Se verifican los datos que llevan al número sospechoso para ver si se puede identificar un error definido.
3. Si no se pueden recabar nuevos datos se hace una prueba Q .
4. Si la prueba Q indica retención del número discordante se considera reportar la mediana en vez de la media para un pequeño conjunto de datos.
5. Como último recurso, se hace otro análisis. La concordancia del nuevo resultado con los datos aparentemente válidos antes recabados apoyará la opinión de que se debe rechazar el resultado sospechoso. Se debe evitar, sin embargo, hacer continuamente experimentos hasta obtener la respuesta “correcta”.

La prueba Q no se debe aplicar a tres puntos de datos si dos son idénticos. En ese caso, la prueba casi siempre indica rechazo del tercer valor, sin importar la magnitud de la desviación, porque a es igual a w , y Q_{calc} es siempre igual a 1. Lo mismo se aplica, obviamente, para tres puntos de datos idénticos en cuatro mediciones, y así sucesivamente.

3.15 Estadística para conjuntos pequeños de datos

La estadística de poblaciones grandes no se aplica estrictamente para pequeñas poblaciones.

En secciones anteriores se han explicado formas de estimar, para una población normalmente distribuida, el valor central (media, $\bar{x}$), la dispersión de resultados (desviación estándar, s) y los límites de confianza (prueba t). Estos valores estadísticos son estrictamente válidos para una población grande. En química analítica por lo regular se manejan menos de 10 resultados, y para un análisis dado, quizá 2 o 3. Para tales conjuntos pequeños de datos pueden ser más adecuados otros estimados.

La prueba Q de la sección anterior está diseñada para pequeños conjuntos de datos, y ahí se mencionaron algunas reglas para manejar resultados sospechosos.

LA MEDIANA PUEDE SER MEJOR QUE LA MEDIA

La mediana puede ser más representativa del valor verdadero que la media para números pequeños de mediciones.

La mediana M se puede usar como un estimado del valor central. Tiene la ventaja de que no está notablemente influida por valores externos (discordantes) que sí influyen notablemente en la media, $\bar{x}$. En la tabla 3.4 se da la eficiencia de M , que se define como la relación de las varianzas de distribución de muestras de estas dos estimaciones del valor medio “verdadero”, y se simboliza mediante E_M . Varía desde 1 para sólo dos observaciones (donde la mediana es necesariamente idéntica a la media) hasta 0.64 para números grandes de observaciones. El valor numérico de la eficiencia implica que la mediana de, por ejemplo, 100 observaciones donde la eficiencia es esencialmente 0.64, aporta tanta información acerca del valor central de la población como la media calculada a partir de 64 observaciones. La mediana de 10 observaciones es tan eficiente para aportar la información como la media de $10 \times 0.71 = 7$ observaciones. Lo deseable puede ser usar la mediana para evitar decidir si existe un error grande, es decir, hacer uso de la prueba Q . Se ha demostrado que para tres observaciones de una población normal, la mediana es mejor que la media de los dos mejores valores de los tres (los dos más próximos).

Tabla 3.4

Eficiencias y factores de conversión para 2 a 10 observaciones^a

Núm. de observaciones	Eficiencia		Factor de desviación de la dispersión, K_R	Factor de confianza de la dispersión (t)	
	De la mediana, E_M	Del intervalo, E_R		$t_{r0.95}$	$t_{r0.99}$
2	1.00	1.00	0.89	6.4	31.83
3	0.74	0.99	0.59	1.3	3.01
4	0.84	0.98	0.49	0.72	1.32
5	0.69	0.96	0.43	0.51	0.84
6	0.78	0.93	0.40	0.40	0.63
7	0.67	0.91	0.37	0.33	0.51
8	0.74	0.89	0.35	0.29	0.43
9	0.65	0.87	0.34	0.26	0.37
10	0.71	0.85	0.33	0.23	0.33
∞	0.64	0.00	0.00	0.00	0.00

^a Adaptada de R. B. Dean y W. J. Dixon, *Anal. Chem.*, **23**(1951) 636.

DISPERSIÓN EN LUGAR DE DESVIACIÓN ESTÁNDAR

La dispersión R para un pequeño conjunto de mediciones es altamente eficiente para describir el espectro en el que se ubican los resultados. La eficiencia de la dispersión E_R que se muestra en la tabla 3.4 es prácticamente idéntica a la de la desviación estándar para cuatro mediciones o menos. Esta alta eficiencia relativa se debe al hecho de que la desviación estándar es una estimación deficiente de la dispersión para un número pequeño de observaciones, aunque sigue siendo la mejor estimación conocida para un conjunto dado de datos. Para convertir la dispersión a una medición de la variación en la que se encuentran los datos que sea independiente del número de observaciones, se debe multiplicar por el **factor de desviación**, K , dado en la tabla 3.4. Este factor ajusta la dispersión R de modo que refleje en promedio la desviación estándar de la población, que se representa por s :

$$s_r = RK_R \quad (3.17)$$

En el ejemplo 3.9, la desviación estándar de los cuatro pesos es 0.69 mg. La dispersión es 1.6 mg. Multiplicando por K_R para cuatro observaciones, $s_r = 1.6 \text{ mg} \times 0.49 = 0.78 \text{ mg}$. Al aumentar N , la eficiencia de la dispersión disminuye en relación con la desviación estándar.

La mediana M se puede usar para calcular la desviación estándar, con objeto de reducir al mínimo la influencia de valores externos. Tomando de nuevo el ejemplo 3.9, la desviación estándar calculada usando la mediana, 29.8, en lugar de la media en la ecuación 3.2, es 0.73 mg en lugar de 0.69 mg.

LÍMITES DE CONFIANZA USANDO LA DISPERSIÓN

Los límites de confianza se podrían calcular usando s_r que se obtuvo de la dispersión, en lugar de s en la ecuación 3.9, y una tabla t correspondiente pero diferente. Sin embargo, es más conveniente calcular los límites directamente de la dispersión como

$$\text{Nivel de confianza} = \bar{x} \pm Rt_r \quad (3.18)$$

El factor para convertir R a s_r se ha incluido en la cantidad, t_r , que se tabula en la tabla 3.4 para niveles de confianza de 99 y 95%. El límite de confianza calculado en el nivel de confianza 95% en el ejemplo 3.15 usando la ecuación 3.18 es $93.50 \pm 0.19 (1.3) = 93.50 \pm 0.25\% \text{ Na}_2\text{CO}_3$.

La dispersión es una medida de la variación de resultados tan buena como la desviación estándar para cuatro mediciones o menos.

3.16 Mínimos cuadrados lineales. Cómo graficar la línea recta correcta

“Si se requiere un ajuste a una línea recta, obtenga sólo dos puntos de datos.”

—Anónimo.

El analista enfrenta a menudo la necesidad de graficar datos que caen en una línea recta, como en una curva de calibración analítica. La graficación, es decir el ajuste de curva, tiene gran importancia para obtener datos analíticos. Es la curva de calibración la que se usa para calcular la concentración desconocida. La predictibilidad y la congruencia de la línea recta determina la exactitud del cálculo de la incógnita. Todas las mediciones tienen un grado de incertidumbre, y lo mismo sucede con la línea recta graficada. La graficación se hace a menudo en forma intuitiva; es decir, simplemente trazando “a ojo” la mejor línea recta, colocando una regla a través de los puntos que, invariablemente, tienen alguna dispersión. Una mejor forma es aplicar la estadística para definir el mejor acomodo de los datos a una línea recta. La disponibilidad de funciones estadísticas en hojas de cálculo hace sencillo llevar a cabo ajustes a líneas rectas o incluso no lineales. Así pues, en primera instancia se revisarán los cálculos que se llevan a cabo en el acomodo de curvas y la evaluación estadística.

Si se supone una relación de línea recta, entonces los datos deben obedecer a la ecuación

$$y = mx + b \quad (3.19)$$

donde y es la *variable dependiente*, x es la *variable independiente*, m es la *pendiente* de la curva, y b es la *intersección* con el eje de ordenadas (y); y normalmente es la variable medida, la cual se grafica como función de la variable x (véase la figura 3.7). En una curva de calibración de un espectrofotómetro, y representaría las absorbencias medidas y x las concentraciones de los estándares. El problema, entonces, es establecer valores para m y b .

GRÁFICAS DE CUADRADOS MÍNIMOS

Se puede demostrar estadísticamente que la mejor línea recta a través de una serie de puntos experimentales es la línea para la cual la *suma de los cuadrados de las desviaciones (los residuales) de los puntos de la línea es mínima*. Esto se conoce como **método de los mínimos cuadrados**. Si x es la variable fija (por ejemplo, la concentración) y y es la variable medida (la absorbencia en una medición espectrofotométrica, el área de máximos en una medición cromatográfica, etc.), entonces será de interés la desviación vertical de y desde la línea a un valor dado de x (x_i). Si y_1 es el valor *en la línea*, éste es igual a $mx_i + b$. El cuadrado de la suma de las diferencias, S , es entonces

$$S = \sum (y_i - y_1)^2 = \sum [y_i - (mx_i + b)]^2 \quad (3.20)$$

La ecuación supone que no hay error en x , la variable independiente.

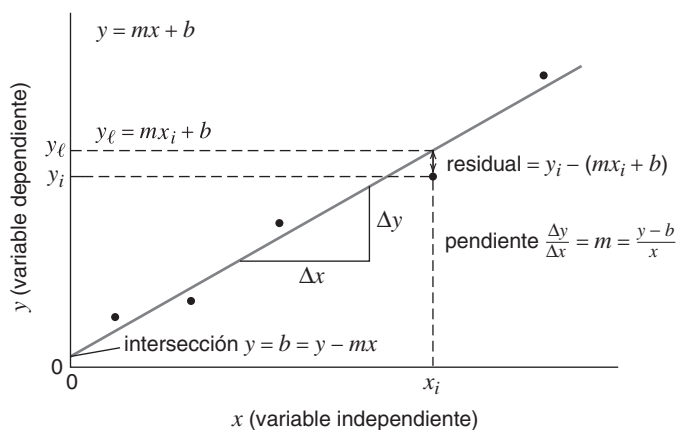


Figura 3.7. Gráfica de línea recta.

La línea es más recta cuando S pasa por un mínimo. Esto se obtiene mediante el uso del cálculo diferencial, igualando a cero las derivadas de S con respecto a m y b y resolviendo para m y b . El resultado es

$$m = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2} \quad (3.21)$$

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad (3.22)$$

donde $\bar{x}$ es la media de todos los valores de x_i y $\bar{y}$ es la media de todos los valores de y_i . El uso de diferencias en los cálculos es tedioso, y la ecuación 3.21 se puede transformar en una forma más fácil de hacerlo, en especial si se dispone de una calculadora:

$$m = \frac{\sum x_i y_i - [(\sum x_i \sum y_i)/n]}{\sum x_i^2 - [(\sum x_i)^2/n]} \quad (3.23)$$

donde n es el número de puntos de datos.



Ejemplo 3.21

Se determina la riboflavina (vitamina B₂) en una muestra de cereal midiendo la intensidad de fluorescencia en solución en ácido acético al 5%. Se preparó una curva de calibración midiendo las intensidades de fluorescencia de una serie de estándares de concentraciones crecientes. Se obtuvieron los siguientes datos. Usar el método de mínimos cuadrados para obtener la línea más recta para la curva de calibración y para calcular la concentración de riboflavina en la solución de muestra. La intensidad de fluorescencia de la muestra fue 15.4.

Riboflavina, μg/mL (x_i)	Intensidad de fluorescencia unidades arbitrarias (y_i)	x_i^2	$x_i y_i$
0.000	0.0	0.0000	0.00
0.100	5.8	0.0100	0.58
0.200	12.2	0.0400	2.44
0.400	22.3	0.160 ₀	8.92
0.800	43.3	0.640 ₀	34.6 ₄
$\sum x_i = 1.500$	$\sum y_i = 83.6$	$\sum x_i^2 = 0.850_0$	$\sum x_i y_i = 46.5_8$

$$(\sum x_i)^2 = 2.250$$

$$n = 5$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} = 0.300_0 \quad \bar{y} = \frac{\sum y_i}{n} = 16.7_2$$

Solución

Usando las ecuaciones 3.23 y 3.22.

$$m = \frac{46.5_8 - [(1.500 \times 83.6)/5]}{0.850_0 - 2.250/5} = 53.7_5 \text{ unidades de fluorescencia/ppm}$$

$$b = 16.7_2 - (53.7_5 \times 0.300_0) = 0.6_0 \text{ unidades de fluorescencia}$$

La pendiente y la intersección de mínimos cuadrados definen la línea recta más probable.

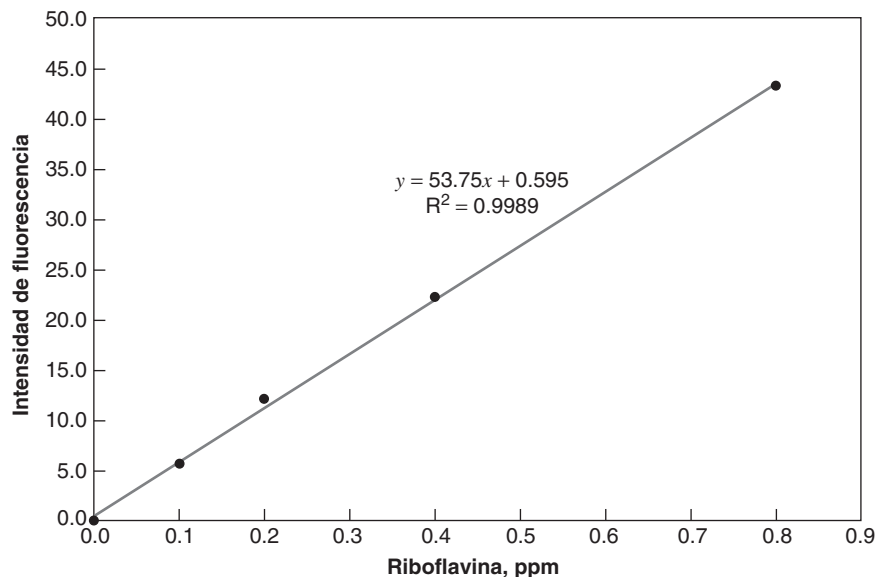


Figura 3.8. Gráfica de mínimos cuadrados de los datos del ejemplo 3.21.

En el cálculo se ha retenido el número máximo de cifras significativas. Como los valores experimentales de y se obtienen sólo hasta la primera posición decimal, se pueden redondear m y b hasta el primer decimal. La ecuación de la línea recta es (FU = unidades de fluorescencia; ppm = $\mu\text{g/mL}$)

$$y(\text{FU}) = 53.8(\text{FU/ppm})x(\text{ppm}) + 0.6(\text{FU})$$

La concentración de la muestra es

$$15.4 = 53.8x + 0.6$$

$$x = 0.275 \mu\text{g/mL}$$

Para preparar un trazado real de la línea se toman dos valores arbitrarios de x suficientemente apartados y se calculan los valores de y correspondientes (o viceversa) y se usan estos puntos para trazar la línea. La intersección $y = 0.6$ (en $x = 0$) se podría usar como uno de los puntos. A $0.500 \mu\text{g/mL}$, $y = 27.5$. En la figura 3.8 se muestra una gráfica de los datos experimentales y la línea de mínimos cuadrados trazada a través de ellos. Esta gráfica se trazó usando Excel, con la ecuación de la línea y el cuadrado del coeficiente de correlación (una medida de la concordancia entre las dos variables; esto se explicará más adelante). El programa da automáticamente números adicionales; obsérvese la concordancia con los valores calculados para la pendiente y la intersección.

.....

LAS DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LA PENDIENTE Y LA INTERSECCIÓN DETERMINAN LA INCERTIDUMBRE DE LA INCÓGNITA

Las desviaciones estándar de m y b dan una ecuación con la que se calcula la incertidumbre en la incógnita usando la propagación de errores.

Cada punto de datos en la línea de mínimos cuadrados muestra una distribución normal (gaussiana) alrededor de la línea en el eje y . La desviación de cada y_i de la línea es $y_i - y_l = y - (mx + b)$, como en la ecuación 3.20. La desviación estándar de cada una de estas desviaciones sobre el eje y está dada por una ecuación análoga a la ecuación 3.2,

salvo que hay dos grados de libertad menos, ya que dos se usan para definir la pendiente y la intersección:

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum[y_i - (mx_i + b)]^2}{N - 2}} = \sqrt{\frac{[\sum y_i^2 - (\sum y_i)^2/N] - m^2[\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2/N]}{N - 2}} \quad (3.24)$$

Esta cantidad también se llama *desviación estándar de la regresión*, *sr*. Se puede usar el valor s_y para obtener incertidumbres para la pendiente m y la intersección b de la línea de mínimos cuadrados, ya que están relacionadas con la incertidumbre en cada valor de y . Para la pendiente:

$$s_m = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum(\bar{x} - x_i)^2}} = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2/N}} \quad (3.25)$$

donde $\bar{x}$ es la media de todos los valores x_i . Para la intersección:

$$s_b = s_y \sqrt{\frac{s_y \sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} = s_y \sqrt{\frac{1}{N - (\sum x_i)^2/\sum x_i^2}} \quad (3.26)$$

Al calcular la concentración desconocida, x_i , de la ecuación 3.19 que representa la línea de mínimos cuadrados, todas las incertidumbres en y , m y b se propagan de la manera habitual, lo cual permite determinar la incertidumbre en la concentración desconocida.



Ejemplo 3.22

Estimar la incertidumbre en la pendiente, la intersección y y para la gráfica de mínimos cuadrados del ejemplo 3.21 y la incertidumbre en la concentración determinada de riboflavina.

Solución

Para despejar todas las incertidumbres se requieren valores para $\sum y_i^2$, $(\sum y_i)^2$, $\sum x_i^2$, $(\sum x_i)^2$ y m^2 . Del ejemplo 3.21; $(\sum y_i)^2 = (83.6)^2 = 6\,989.0$; $\sum x_i^2 = 0.850_0$; $(\sum x_i)^2 = 2.250$ y $m^2 = (53.7_5)^2 = 2.88_9$. Los valores de $(y_i)^2$ son; $(0.0)^2$, $(5.8)^2$, $(12.2)^2$, $(22.3)^2$ y $(43.3)^2 = 0.0$, 33.6, 148.8, 497.3 y 1 874.9 y $\sum y_i^2 = 2\,554.6$ (llevando cifras extra). Por la ecuación 3.24,

$$s_y = \sqrt{\frac{(2\,554.6 - 6\,989.0/5) - (53.7_5)^2(0.850_0 - 2.250/5)}{5 - 2}} = \pm 0.6_3 \text{ FU}$$

De la ecuación 3.25,

$$s_m = \sqrt{\frac{(0.6_3)^2}{0.850_0 - 2.250/5}} = \pm 1.0 \text{ FU/ppm}$$

De la ecuación 3.26,

$$s_b = 0.6_3 \sqrt{\frac{0.850_0}{5(0.850_0) - 2.250}} = \pm 0.4_1 \text{ FU}$$

Por tanto, $m = 53.8 \pm 1.0$ y $b = 0.6 \pm 0.4$.

La concentración desconocida de riboflavina se calcula mediante

$$x = \frac{(y \pm s_y) - (b \pm s_b)}{m \pm s_m} = \frac{(15.4 \pm 0.6) - (0.6 \pm 0.4)}{53.8 \pm 1.0} = 0.27_5 \pm ?$$

Aplicando el principio de la propagación de error (varianzas absolutas en el numerador aditivo, varianzas relativas en el paso de división aditivo) se calcula que $x = 0.27_5 \pm 0.01_4$ ppm.

.....

Véase el capítulo 16 para el cálculo de la desviación estándar de la regresión en una hoja de cálculo y la desviación estándar de una incógnita para esto.

3.17 Coeficiente de correlación y coeficiente de determinación

El **coeficiente de correlación** se usa como medida de la correlación entre dos variables. Cuando las variables x y y están correlacionadas entre sí más que relacionadas funcionalmente (es decir, no son directamente dependientes una de otra), no se habla del “mejor” valor correspondiente a un valor dado de x , sino sólo del valor más “probable”. Cuanto más cercanos son los valores observados a los valores más probables, más definida es la relación entre x y y . Este postulado es la base de varias medidas numéricas del grado de correlación.

El **coeficiente de correlación de Pearson** es uno de los más cómodos para calcular. Está dado por

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{ns_x s_y} \quad (3.27)$$

donde r es el coeficiente de correlación, n es el número de observaciones, s_x es la desviación estándar de x , s_y es la desviación estándar de y , x_i y y_i son los valores individuales de las variables x y y , respectivamente, y $\bar{x}$ y $\bar{y}$ son sus medias. El uso de diferencias en el cálculo a menudo es tedioso y la ecuación se puede transformar en una forma más conveniente:

$$\begin{aligned} r &= \frac{\sum x_i y_i - n\bar{x}\bar{y}}{\sqrt{(\sum x_i^2 - n\bar{x}^2)(\sum y_i^2 - n\bar{y}^2)}} \\ &= \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i^2 \sum y_i^2}{\sqrt{[n\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n\sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}} \end{aligned} \quad (3.28)$$

A pesar de su apariencia impresionante, la ecuación 3.28 probablemente sea la más conveniente para calcular r , en especial con una calculadora.

El valor máximo de r es 1. Cuando esto ocurre, hay correlación exacta entre las dos variables. Cuando el valor de r es cero (esto ocurre cuando xy es igual a cero) hay completa independencia de las variables. El valor mínimo de r es -1 . Un coeficiente de correlación negativo indica que la dependencia supuesta es opuesta a lo que existe y, por tanto, es un coeficiente positivo para la relación inversa.

Un coeficiente de correlación cercano a 1 significa que hay relación directa entre dos variables. Por ejemplo, absorbencia y concentración.

Ejemplo 3.23

Calcular el coeficiente de correlación para los datos del ejemplo 3.19, tomando su método como x y el método estándar como y .

Solución

Se calcula que $\sum x_i^2 = 903.2$, $\sum y_i^2 = 855.2$, $\bar{x} = 12.0$, $\bar{y} = 11.7$ y $\sum x_i y_i = 878.5$. Por tanto, de la ecuación 3.28,

$$r = \frac{878.5 - (6)(12.0)(11.7)}{\sqrt{[903.2 - (6)(12.0)^2][855.2 - (6)(11.7)^2]}} = 0.991$$

Se puede calcular un coeficiente de correlación para una curva de calibración para determinar el grado de correlación entre las variables medidas instrumentales y la concentración de la muestra. Como regla general, $0.90 < r < 0.95$ indica una curva aceptable; $0.95 < r < 0.99$ indica una buena curva, y $r > 0.99$ indica una linealidad excelente. A veces, con mucho cuidado se puede obtener una $r > 0.999$.

El coeficiente de correlación da una ponderación igual a las variables dependiente e independiente, lo cual casi nunca es verdad en mediciones científicas. El valor de r tiende a dar más confianza en la bondad del ajuste a la curva. El ajuste debe ser bastante escaso antes de que r llegue a menos de 0.98, y es realmente muy malo cuando r es menor que 0.9.

Una medida más conservadora de la precisión del ajuste es el cuadrado del coeficiente de correlación, r^2 , y esto es lo que la mayoría de los programas estadísticos calculan, incluyendo Excel (véase la figura 3.8). Un valor r de 0.90 corresponde a un valor de r^2 de 0.81 solamente, en tanto que un r de 0.95 equivale a un r^2 de 0.90. La bondad del ajuste se determina por el número de nueves. De modo que 3 nueves (0.999) o más representan un ajuste excelente. En lo sucesivo se usará r^2 como medida del ajuste. Éste también se llama **coeficiente de determinación**.

Se debe mencionar que es posible tener un alto grado de correlación entre dos métodos (r^2 cercano a la unidad), pero teniendo una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de cada uno de acuerdo con la prueba t . Esto sucedería, por ejemplo, si hubiera un error constante determinado en un método. Esto haría las diferencias significativas (no debidas al azar), pero habría una correlación directa entre los resultados [r^2 sería cercano a la unidad, pero la pendiente (m) puede no ser cercana a la unidad, o la intersección (b) puede no ser cercana a cero]. En principio, se podría aplicar un factor empírico de corrección (una constante) para hacer que los resultados por cada método fueran iguales en todo el intervalo de concentración que se analiza.

El coeficiente de determinación (r^2) es una mejor medida del ajuste.

3.18 Uso de hojas de cálculo para graficar curvas de calibración

La disponibilidad de hojas de cálculo hace innecesario graficar datos en papel de gráfica y hacer cálculos manuales para el análisis y estadística de regresión de mínimos cuadrados. Se usarán los datos del ejemplo 3.21 para preparar la gráfica que se muestra en la figura 3.8, usando Excel.

Se abre una nueva hoja de cálculo y se anota:

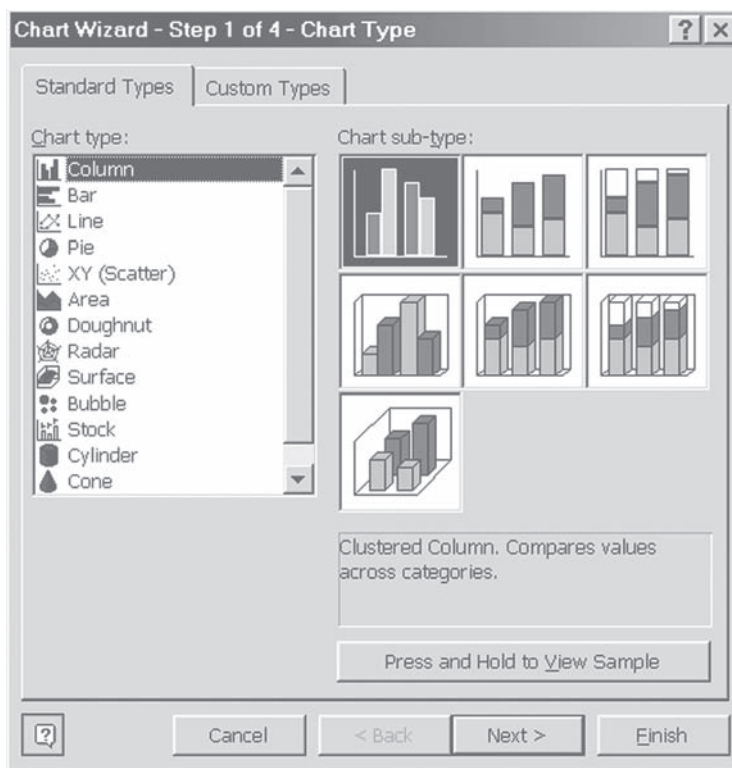
Celda A1: Riboflavina, ppm (ajustar la anchura de la columna para que admita el texto).

Celda B 1: Intensidad de fluorescencia.

Celda A3: 0.000
Celda A4: 0.100
Celda A5: 0.200
Celda A6: 0.400
Celda A7: 0.800
Celda B3: 0.0
Celda B4: 5.8
Celda B5: 12.2
Celda B6: 22.3
Celda B7: 43.3

A los números dentro de las celdas se les da un formato que muestre tres posiciones decimales para la columna A y uno para la columna B.

Se hace clic en el ícono Asistente para Gráficos en la barra de herramientas (el ícono que tiene dibujadas barras verticales). Aparecerá Paso 1–Tipo de gráfica



Continuar con esta secuencia de datos:

Seleccionar el Tipo de Gráfico XY (Dispersión) y el Subtipo de Gráfico Dispersión (sin líneas)

Clic en Siguiente

Intervalo de datos: anotar A3:B7 (hacer clic en Serie y colocar las identificaciones de las celdas que contienen los valores X y Y).

Seleccionar “Columnas”

Clic en Siguiente

Título del Gráfico: Curva de calibración

Eje de valores (X): anotar Riboflavina

Eje de valores (Y): anotar Intensidad de fluorescencia

Líneas de división: se remueve la selección de Líneas principales

Leyenda: se remueve Mostrar leyenda

Rótulos de datos: ninguno (se prueba “Mostrar Valores” y se observan los datos introducidos en cada punto de la línea)

Clic en Siguiente

Clic en Una hoja nueva: Gráfico 1

Clic en Finalizar.

La gráfica de calibración está trazada en una nueva hoja de Excel.

Ahora se desea ingresar la ecuación de mínimos cuadrados y el valor r^2 . Hacer clic sobre la figura y aparecerá Gráfico en la barra de herramienta. Hacer clic en Gráfico y continuar:

Hacer clic en Agregar línea de tendencia

Lineal

Opciones

Mostrar Ecuación en Gráfico

Mostrar Valor de R cuadrada en Gráfico

Clic en Aceptar

Ahora aparece la gráfica. Se hace clic en ella para remover los marcadores de extremos. Se puede mover a la izquierda la ecuación sobre la línea a la izquierda y amplificarla. Se hace clic en la ecuación. Se destaca con pequeños cuadros. Se hace clic en la esquina y se arrastra a la izquierda hacia abajo de la línea. Se puede aumentar el tamaño de la letra. Se hace clic en Formato: seleccione Rótulos de Datos: Fuente. Seleccionar el tamaño 14 y clic en Aceptar. Arrastrar la ecuación más cerca de la línea. También se puede aumentar el tamaño de letra de los rótulos siguiendo los mismos pasos, así como para el título.

Para eliminar el fondo gris se hace clic en el área gris y luego en Formato: Área de trazado. Se hace clic en el cuadro de color blanco y luego en Aceptar. La gráfica que se ha preparado tendrá un aspecto similar al de la figura 3.8.

Cuando se prepare la gráfica se pueden seleccionar inicialmente las celdas que se quiere graficar (A3:B7), y las ubicaciones se colocarán automáticamente en el Intervalo de Datos. En lugar de colocar la gráfica en una nueva hoja se pudo haber seleccionado Como objeto en Hoja 1. Esto la habría colocado en la hoja de cálculo en la que se anotaron los datos. Se puede ajustar su posición y tamaño haciendo clic en ella y arrastrando las esquinas. La figura 3.9 muestra la gráfica insertada en la hoja de cálculo. Intentar esto. Una vez que se tiene la gráfica insertada en la hoja de cálculo, ésta se convierte en un trazado genérico para nuevos datos; es decir, si se cambian los datos en las columnas A y B, automáticamente se grafica una nueva línea. Intentar esto. (Se debe guardar la hoja de cálculo/gráfica original y renombrar la nueva.) Se puede imprimir sólo la gráfica haciendo clic en ella para seleccionarla.

3.19 Pendiente, intersección y coeficiente de determinación

Se pueden usar las funciones estadísticas de Excel para calcular la pendiente y la intersección para una serie de datos y el valor R^2 sin gráfica. Se abre una nueva hoja de cálculo y se anotan los datos de calibración del ejemplo 3.21, como en la figura 3.9, en las celdas A3:B7. En la celda A9 se anota Intersección; en la celda A10, Pendiente, y en la celda A11, R^2 . Se selecciona la celda B9, se hace clic en f_x :Estadística, y se baja hasta INTERSECCIÓN bajo Nombre de la función, y se hace clic en Aceptar. Para x conocidas, se anota el bloque A3:A7, y para las y conocidas, B3:B7. Se hace clic en Aceptar y aparece

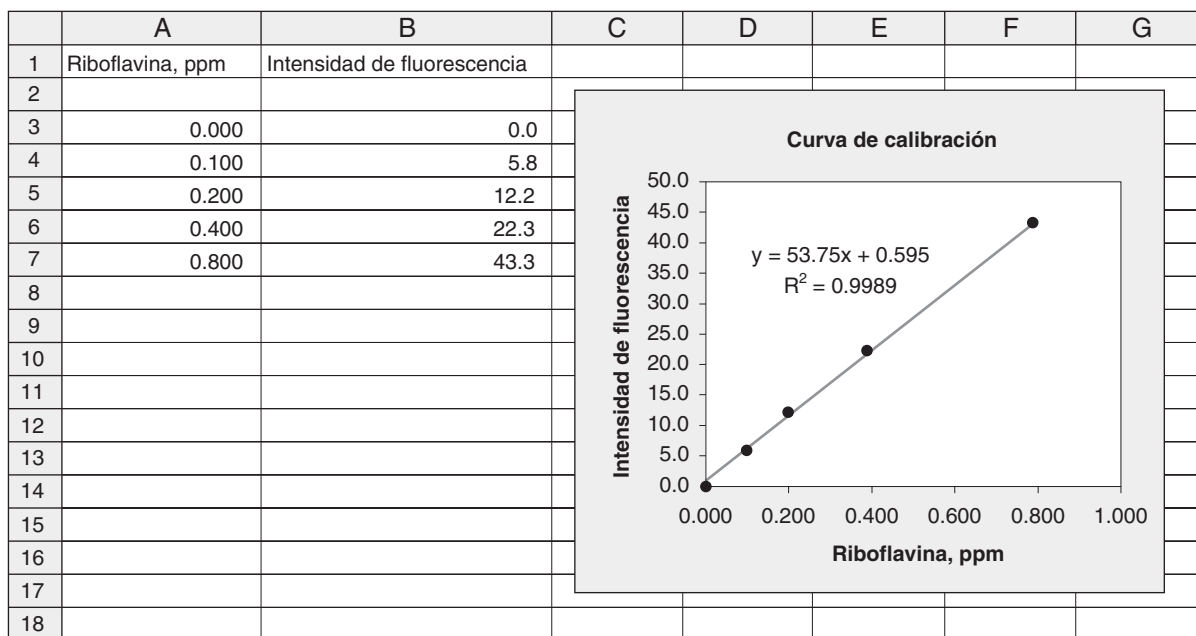


Figura 3.9. Curva de calibración insertada en la hoja de cálculo (Hoja 1).

la intersección en la celda B9. Ahora se repite, seleccionando la celda B10, bajando hasta Pendiente e introduciendo los mismos bloques. La pendiente aparece en la celda B10. Se repite de nuevo, seleccionando la celda B11 y bajando hasta RAÍZ. Aparece R^2 en la celda B11. Comparar con los valores de la figura 3.9.

3.20 LINEST para estadísticas adicionales

El programa LINEST de Excel (en español, ESTIMACIÓN.LINEAL) permite obtener rápidamente diversas funciones estadísticas para un conjunto de datos, en particular la pendiente y su desviación estándar, la intersección con el eje y su desviación estándar, el coeficiente de determinación y el error estándar de la estimación, además de otras funciones que no se tratarán ahora. Estimación.lineal (Linest) calcula automáticamente un total de 10 funciones en dos columnas de la hoja de cálculo.

Abrir una nueva hoja de cálculo y anotar los datos de calibración del ejemplo 3.21, como se hizo antes, en las celdas A3:B7. Referirse a la figura 3.10. Los datos estadísticos se colocarán en 10 celdas que se van a rotular como se indica a continuación. Los datos se colocarán en las celdas B9:C13. Insertar los rótulos como sigue:

- Celda A9: pendiente
- Celda A10: desv.est.
- Celda A11: R^2
- Celda A12: F
- Celda A13: suma. regr. cuad.
- Celda D9: intersec.
- Celda D10: desv.est.
- Celda D11: error est. de estim.
- Celda D12: grad.lib.
- Celda D13: suma cuad.resid.

	A	B	C	D	E
1	Riboflavina, ppm	Intensidad de fluorescencia			
2					
3	0.000	0.0			
4	0.100	5.8			
5	0.200	12.2			
6	0.400	22.3			
7	0.800	43.3			
8					
9	pendiente	53.75	0.595	intersec.	
10	desv. est.	1.017759	0.419633	desv. est.	
11	R ²	0.998926	0.643687	error est. de estim.	
12	F	2 789.119	3	d.f.	
13	suma resid. cuad.	1 155.625	1.243	suma resid. cuad.	

Figura 3.10. Uso de ESTIMACIÓN.LINEAL (LINEST) para estadísticas.

Se seleccionan las celdas B9:C13 y se hace clic en f_x . De Funciones estadísticas se baja hasta ESTIMACIÓN.LINEAL (LINEST) y se hace clic aquí y luego en Aceptar. Para Conocido_y se anota B3:B7, y para Conocido_x, A3:A7. Luego, en cada una de las casillas rotuladas Constante y Estadística, se teclea “verdadero”. Ahora se debe usar el teclado para ejecutar los cálculos. Se oprime Mayúsculas + Control + Intro y se suelta. Los datos estadísticos aparecen en las celdas seleccionadas. Esta combinación de teclas se debe usar siempre que se ejecute una función sobre un bloque de celdas, como aquí. La pendiente está en la celda B9 y su desviación estándar en la celda B10. La intersección en la celda C9 y su desviación estándar en la celda C10. El coeficiente de determinación está en la celda B11. Se comparan las desviaciones estándar con las calculadas en el ejemplo 3.22, y la pendiente, la intersección y R² con el ejemplo 3.21 en la figura 3.8.

La celda C11 contiene el error estándar de la estimación (o la desviación estándar de la regresión) y es una medida del error al estimar valores de y. Cuanto menor sea ésta, más cercanos están los números a la línea. Las otras celdas contienen datos que no se considerarán aquí: la celda B12 es el valor F; la celda C12, los grados de libertad (que se usaron para F); la celda B13 contiene la suma de los cuadrados de la regresión, y la celda C13, la suma de los cuadrados de los residuales.

¿Cuántas cifras significativas se conservan para la línea de mínimos cuadrados? Las desviaciones estándar dan la respuesta. La pendiente tiene una desviación estándar de 1.0, por lo que se escribe como 53.8 ± 1.0 como la óptima. La desviación estándar de la intersección es ± 0.42 , de modo que la pendiente se escribe 0.6 ± 0.4 . Véase también el ejemplo 3.22.

3.21 Paquetes de software de estadística

Excel ofrece diversas funciones estadísticas listadas en el menú de Herramientas. Se abre Complementos y se elige Herramientas para Análisis. Se hace clic en Aceptar y se vuelve a la hoja de cálculo. Ahora, cuando se abra el menú de Herramientas se encontrará Análisis de Datos. Se abre y se verá una lista de 19 programas estadísticos. Si se experimenta con ellos, se encontrará que algunos son muy útiles. Un complemento que es muy útil es Solver, para resolver fórmulas complicadas. Su uso se describe en el capítulo 6.

3.22 Límites de detección: el cero no existe

Las explicaciones anteriores han versado sobre métodos estadísticos para estimar la confiabilidad de análisis en niveles específicos de confianza, los cuales, a fin de cuentas,

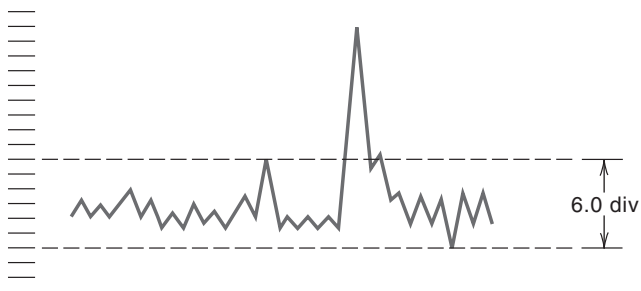


Figura 3.11. Nivel de ruido pico a pico como base para el límite de detección. Las fluctuaciones de fondo representan las señales de fondo registradas continuamente, y la medición de analito está representada por la señal de picos. Una señal de analito “detectable” sería de 12 divisiones sobre una línea trazada a través del promedio de las fluctuaciones de la línea base.

La concentración que da una señal igual a tres veces la desviación estándar del fondo por lo general se toma como el límite de detección.

quedan determinados por la precisión del método. Todos los métodos instrumentales tienen un grado de ruido asociado con la medición que limita la cantidad de analito que se puede detectar. El ruido se refleja en la precisión de la réplica en blanco o señal de fondo, y el ruido puede aparecer incluso cuando no hay señal significativa de réplica en blanco. Esto puede deberse a fluctuaciones en la corriente oscura de un tubo fotomultiplicador, parpadeo de la flama en un instrumento de absorción atómica, y otros factores.

El límite de detección es el nivel más bajo de concentración que se puede determinar como estadísticamente diferente de una muestra blanco de un analito. Hay numerosas formas en que se han definido los límites de detección. Por ejemplo, la concentración que da dos veces el ruido pico a pico de una serie de mediciones de señal de fondo (o de una señal de fondo registrada continuamente) se puede tomar como el límite de detección (véase la figura 3.11). Un límite de detección generalmente aceptado es la concentración que da una señal de tres veces la desviación estándar de la señal de fondo.

Ejemplo 3.24

Se hace una serie de mediciones secuenciales de absorbencias de línea base para determinar la pureza de aspirinas en tabletas usando una solución en blanco. Las lecturas de absorbencia son 0.002, 0.000, 0.008, 0.006 y 0.003. Una solución estándar de 1 ppm de aspirina da una lectura de absorbencia de 0.051. ¿Cuál es el límite de detección?

Solución

La desviación estándar de las lecturas en blanco es ± 0.0032 unidades de absorbencia, y la media de las lecturas en blanco es 0.004 unidades de absorbencia. El límite de detección es la concentración de analito que da una lectura de $3 \times 0.0032 = 0.0096$ unidades de absorbencia por encima de la señal blanco. La lectura neta para el estándar es $0.051 - 0.004 = 0.047$. El límite de detección correspondería a 1 ppm ($0.0096/0.047$) = 0.2 ppm, y daría una lectura de absorbencia total de $0.0096 + 0.004 = 0.014$.

La precisión en el límite de detección es por definición alrededor del 33%. Para mediciones cuantitativas, las concentraciones deben ser por lo menos 10 veces el límite de detección (2 ppm en el ejemplo anterior).

Ha habido varios intentos para ubicar el concepto de límite de detección sobre una base estadística más firme. La Convención Internacional de Armonización (ICH, International Conference on Harmonization; véase el capítulo 4) de Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos para Uso Humano ha propuesto lineamientos para validación de métodos analíticos (Referencia 18). El lineamiento ICH Q2B para metodología de validación sugiere un cálculo basado en la desviación estándar, s , de la respuesta y la pendiente o sensibilidad, S , de la curva de calibración a niveles que tienden al límite. Para el límite de detección (LOD)

$$\text{LOD} = 3.3(s/S) \quad (3.29)$$

y para el límite de cuantificación (LOQ)

$$\text{LOQ} = 10(s/S) \quad (3.30)$$

La desviación estándar de la respuesta se puede determinar con base en la desviación estándar, ya sea del blanco, la desviación estándar residual de la línea de regresión de mínimos cuadrados o la desviación estándar de la intersección con y de la línea de regresión. Para obtener las últimas dos se puede usar la función estadística de Excel.

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry) usa un valor de 3 en la ecuación 3.29 (para mediciones del blanco), derivado de un nivel de confianza de 95% para un número razonable de mediciones. El nivel de confianza, por supuesto, varía con el número de mediciones y se deben tomar siete a 10 mediciones. La conclusión es que se debe considerar un límite de detección como una guía aproximada del desempeño y no hacer esfuerzos para determinarlo con demasiada precisión.

3.23 Estadística del muestreo. ¿Cuántas muestras? ¿De qué tamaño?

La adquisición de una muestra analítica válida es quizá la parte más importante de cualquier análisis. El muestreo físico de diferentes tipos de materiales (sólidos, líquidos, gases) se expone en el capítulo 2. Aquí se describen algunas de las consideraciones estadísticas en el muestreo.

PRECISIÓN DE UN RESULTADO: EL MUESTREO ES LA CLAVE

La mayoría de las veces, la exactitud y la precisión de un análisis están limitadas por el paso de muestreo más que por el de medición. La varianza general de un análisis es la suma de la varianza del muestreo y la varianza de las operaciones analíticas restantes; es decir,

$$s_o^2 = s_s^2 + s_a^2 \quad (3.31)$$

Si se conoce la varianza debida al muestreo (por ejemplo, por haber realizado muestreos múltiples del material que interesa y haberlo analizado con una técnica precisa de medición), entonces poco se gana por la reducción de s_a a menos de $\frac{1}{3}$ de S_s . Por ejemplo, si la desviación estándar absoluta para el muestreo es 3.0%, y la del análisis es 1.0%, entonces $s_o^2 = (1.0)^2 + (3.0)^2 = 10.0$, o $s_o = 3.2\%$. Aquí, 94% de la imprecisión se debe a muestreo, y sólo 6% se debe a la medición (s_o aumenta de 3.0 a 3.2%, de modo que 0.2% se debe a la medición). Si la imprecisión del muestreo es relativamente grande, es mejor usar un método más rápido, menos preciso y analizar más muestras.

Poco se gana mejorando la varianza analítica a menos de un tercio de la varianza de muestreo. Es mejor analizar más muestras usando un método más rápido aunque menos preciso.

Lo que realmente interesa es el valor y la varianza del valor verdadero. La varianza total es $s_{\text{total}}^2 = s_g^2 + s_s^2 + s_a^2$, donde s_g^2 describe la “verdadera” variabilidad del analito *en el sistema*, cuyo valor es el objetivo del análisis. Para la interpretación confiable del análisis químico, el muestreo combinado y la varianza analítica no deben exceder 20% de la varianza total. [Véase M. H. Ramsey, “Appropriate Precision: Matching Analytic Precision Specifications to the Particular Application”, *Anal. Proc.*, **30**(1993) 110.]

EL “VALOR VERDADERO”

El intervalo dentro del cual cae el valor verdadero para el contenido de analito en un material a granel se puede estimar mediante una prueba *t* a un nivel de confianza dado (ecuación 3.11). Aquí, $\bar{x}$ es el promedio de los resultados analíticos para el material específico que se analiza, y *s* es la desviación estándar que se obtiene previamente del análisis de muestras de material similar, o del análisis presente si hay muestras suficientes.

TAMAÑO MÍNIMO DE MUESTRA

Se han desarrollado lineamientos estadísticos para el muestreo correcto de materiales heterogéneos con base en la varianza de muestreo. El tamaño mínimo de los incrementos individuales para una población bien mezclada de diferentes clases de partículas se puede estimar por la **constante de muestreo de Ingamell, K_s** :

$$wR^2 = K_s \quad (3.32)$$

A mayor tamaño de muestra, menor varianza.

donde *w* es el peso de la muestra analizada y *R* es el porcentaje de desviación estándar *relativa* de la composición de la muestra. K_s representa el peso de la muestra para 1% de incertidumbre de muestreo a nivel de confianza de 68%, y se obtiene determinando la desviación estándar por la medición de una serie de muestras de peso *w*. En efecto, esta ecuación dice que la varianza de la muestra es inversamente proporcional al peso de la muestra.



Ejemplo 3.25

La constante de muestreo de Ingamell para el análisis del contenido de nitrógeno de muestras de trigo es 0.50 g. ¿Qué peso de muestra se debe tomar para obtener una precisión de muestreo con el 0.2% de desviación estándar relativa en el análisis?

Solución

$$w (0.2)^2 = 0.50 \text{ g}$$

$$w = 12.5 \text{ g}$$

Obsérvese que no es probable que se analice toda la muestra. La muestra bruta de 12.5 g se triturará finalmente y se analizarán unos pocos cientos de miligramos del material homogéneo. Si la muestra no se homogeneiza, entonces tendría que llevarse a cabo un análisis total.

NÚMERO MÍNIMO DE MUESTRAS

El número de incrementos individuales de muestras que se necesitan para obtener un nivel dado de confianza en los resultados analíticos se estima mediante

$$n = \frac{t^2 s_s^2}{r^2 \bar{x}^2} \quad (3.33)$$

donde t es el valor de la t de Student para el nivel de confianza deseado, s_s^2 es la varianza de muestreo, r es la desviación estándar relativa *aceptable* del promedio de los resultados analíticos, $\bar{x}$, s_s es la desviación estándar *absoluta*, en las mismas unidades que $\bar{x}$, y por tanto n es adimensional. Los valores de s_s y $\bar{x}$ se obtienen de las mediciones preliminares o conocimiento previo. Como r es igual a $s_s/\bar{x}$ se puede escribir

$$n = \frac{t^2 s_s^2}{s_x^2} \quad (3.34)$$

s_s y s_x se pueden expresar entonces como desviaciones estándar, ya sea relativas o absolutas, siempre y cuando ambas se expresen del mismo modo. Como n inicialmente no se conoce, antes que nada se estima el valor t para el nivel de confianza dado, y se usa un procedimiento iterativo para calcular n .

Ejemplo 3.26

El contenido de hierro en un lote mezclado de mineral a granel es alrededor de 5% (peso/peso), y la desviación estándar relativa de muestreo, s_s , es 0.021 (2.1% de desviación estándar relativa). ¿Cuántas muestras se deben tomar para obtener una desviación estándar relativa, r , de 0.016 (1.6% de desviación estándar relativa) en los resultados en el nivel de confianza de 95% [es decir, la desviación estándar s_x para el contenido de hierro de 5% es 0.08% (peso/peso)]?

Solución

Se puede usar la ecuación (3.33) o la (3.34). En este caso se usará la segunda. Se considera $t = 1.96$ (para $n = \infty$, tabla 3.1) en el nivel de confianza de 95%. Se calcula un valor preliminar de n . Luego se usa esta n para seleccionar un valor más aproximado de t y se recalcula n . Se continúa la iteración hasta una n constante.

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.021)^2}{(0.016)^2} = 6.6$$

Para $n = 7$, $t = 2.365$.

$$n = \frac{(2.365)^2 (0.021)^2}{(0.016)^2} = 9.6$$

Para $n = 10$, $t = 2.23$.

$$n = \frac{(2.23)^2 (0.021)^2}{(0.016)^2} = 8.6 \approx 9$$

Véase si se obtiene el mismo resultado usando la ecuación (3.33).

La ecuación 3.33 es válida para una **distribución gaussiana** de la concentración del analito en el material en bruto; es decir, se centra alrededor de x y 68% de los valores caen dentro de una desviación estándar, o 95% dentro de dos desviaciones estándar. En este caso, la varianza de la población, σ^2 , es pequeña en comparación con el valor verdadero. Si la concentración sigue una **distribución de Poisson**, es decir, si sigue una distribución aleatoria en el material a granel tal que el valor verdadero o medio $\bar{x}$ se aproxime a la varianza s_s^2 de la población, entonces la ecuación 3.33 se simplifica un poco:

$$n = \frac{t^2}{r^2 \bar{x}} \cdot \frac{s_s^2}{\bar{x}} = \frac{t^2}{r^2 \bar{x}} \quad (3.35)$$

Nótese que, como s_s^2 es igual a $\bar{x}$, la parte derecha de la expresión se vuelve igual a 1; pero las unidades no se cancelan. En este caso, cuando la distribución de concentración es más amplia que estrecha, se necesitan muchas muestras más para obtener un resultado representativo del análisis.

Si el analito se presenta en terrones o en placas, la estrategia de muestreo se complica. Las placas se pueden considerar como estratos separados y muestrearse en forma separada. Si los materiales en bruto se segregan o se estratifican y se desea la composición promedio, entonces el número de muestras de cada estrato debe estar en proporción al tamaño del estrato.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Exactitud y precisión, pp. 65, 66
- Tipos de errores en las mediciones, p. 68
- Cifras significativas en las mediciones y los cálculos, pp. 66, 67
- Desviación estándar, p. 74
- Cómo usar las hojas de cálculo, p. 78
- Propagación de errores, p. 82
- Gráficas de control, p. 89
- Estadística: niveles de confianza, pruebas t , pruebas F , p. 90
- Rechazo de un resultado, p. 98
- Gráficas de mínimos cuadrados y coeficiente de determinación, pp. 102, 106
- Uso de las hojas de cálculo para trazar curvas de calibración, p. 107
- Límites de detección, p. 111
- Estadística del muestreo, p. 113

Preguntas

1. Distinguir entre exactitud y precisión.
2. ¿Qué es un error determinado y uno indeterminado?
3. La siguiente es una lista de errores comunes que se encuentran en los laboratorios de investigación. Clasificar cada error como determinado o indeterminado, y a su vez, cada uno de ellos como instrumentales, operativos o metódicos: a) una muestra in-

cógnita que se está pesando es higroscópica; *b*) un componente de una mezcla que se analiza en forma cuantitativa por cromatografía de gases reacciona con el empaque de la columna; *c*) una muestra radiactiva se cuenta repetidamente sin ningún cambio en las condiciones dando un conteo ligeramente diferente en cada ensayo; *d*) la punta de una pipeta que se usa en un análisis se rompe; *e*) al medir las mismas alturas de picos de un cromatograma, dos técnicos informan diferentes alturas cada uno.

Problemas

Para los problemas estadísticos, realizar los cálculos primero manualmente y luego con las funciones estadísticas de Excel para ver si se obtienen las mismas respuestas.

CIFRAS SIGNIFICATIVAS

4. ¿Cuántas cifras significativas tiene cada uno de los números siguientes? *a*) 200.06, *b*) 6.030×10^{-4} y *c*) 7.80×10^{10} .
5. ¿Cuántas cifras significativas tiene cada uno de los siguientes números? *a*) 0.02670; *b*) 328.0; *c*) 7 000.0, y *d*) 0.00200.
6. Calcular el peso molecular del LiNO_3 con el número correcto de cifras significativas.
7. Calcular el peso molecular del PdCl_2 con el número correcto de cifras significativas.
8. Dar la respuesta del siguiente problema con el máximo número de cifras significativas: $50.00 \times 27.8 \times 0.1167$.
9. Dar la respuesta de lo siguiente con el máximo número de cifras significativas: $(2.776 \times 0.0050) - (6.7 \times 10^{-3}) + (0.036 \times 0.0271)$.
10. Un analista quiere analizar en forma espectrofotográfica el contenido de cobre de una muestra de bronce. Si la muestra pesa alrededor de 5 g y si la absorbencia (*A*) se va a leer a la más próxima 0.001 unidad de absorbencia, ¿con qué exactitud se debe pesar la muestra? Supóngase que el volumen de la solución medida se ajustará para obtener error mínimo en la absorbencia; es decir, de modo que $0.1 < A < 1$.

EXPRESIONES DE LOS RESULTADOS

11. Una muestra estándar de suero que contiene 102 meq/L de cloruro se analizó por titulación coulombimétrica con ion de plata. Se obtuvieron resultados duplicados de 101 y 98 meq/L. Calcular: *a*) el valor medio; *b*) el error absoluto del valor medio, y *c*) el error relativo en porcentaje.
12. Una carga de pellets de combustible nuclear se pesó para determinar si caían dentro de los lineamientos de control. Los pesos fueron 127.2, 128.4, 127.1, 129.0 y 128.1 g. Calcular: *a*) la media; *b*) la mediana, y *c*) el intervalo.
13. Calcular el error absoluto y el relativo en porcentaje y en partes por 10^{12} en lo siguiente:

	Valor medido	Valor aceptado
<i>a</i>)	22.62 g	22.57 g
<i>b</i>)	45.02 mL	45.31 mL
<i>c</i>)	2.68%	2.71%
<i>d</i>)	85.6 cm	85.0 cm

DESVIACIÓN ESTÁNDAR

14. Se analizan los contenidos de estaño y zinc en una muestra de latón con los siguientes resultados: *a*) Zn: 33.27, 33.37 y 33.34%, y *b*) Sn: 0.022, 0.025 y 0.026%. Calcular la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada análisis.
15. Se analizan réplicas de muestras de agua para determinar su dureza, con los siguientes resultados: 102.2, 102.8, 103.1 y 102.3 ppm de CaCO_3 . Calcular: *a*) la desviación estándar; *b*) la desviación estándar relativa; *c*) la desviación estándar de la media, y *d*) la desviación estándar relativa de la media.
16. Se analizan réplicas de muestras de una aleación de plata y se determina que contienen 95.67, 95.61, 95.71 y 95.60% de Ag. Calcular: *a*) la desviación estándar; *b*) la desviación estándar de la media, y *c*) la desviación estándar relativa de la media (por ciento) de los resultados individuales.

PROPAGACIÓN DEL ERROR

17. Calcular la incertidumbre en las respuestas de lo siguiente: *a*) $(128 \pm 2) + (1\,025 \pm 8) - (636 \pm 4)$, *b*) $(16.25 \pm 0.06) - (9.43 \pm 0.03)$, *c*) $(46.1 \pm 0.4) + (935 \pm 1)$.
18. Calcular la incertidumbre absoluta en las respuestas de lo siguiente; *a*) $(2.78 \pm 0.04)(0.00506 \pm 0.00006)$, *b*) $(36.2 \pm 0.4)/(27.1 \pm 0.6)$, *c*) $(50.23 \pm 0.07)(27.86 \pm 0.05)/(0.1167 \pm 0.0003)$.
19. Calcular la incertidumbre absoluta en la respuesta de lo siguiente: $[(25.0 \pm 0.1)(0.0215 \pm 0.0003) - (1.02 \pm 0.01)(0.112 \pm 0.001)](17.0 \pm 0.2)/(5.87 \pm 0.01)$.

LÍMITE DE CONFIANZA

20. Las siguientes molaridades se calcularon por la estandarización en réplicas de una solución: 0.5026, 0.5029, 0.5023, 0.5031, 0.5025, 0.5032, 0.5027 y 0.5026 M. Suponiendo que no hay errores determinados, ¿dentro de qué dispersión se puede estar con una certidumbre del 95% de que el verdadero valor medio de la molaridad cae?
21. La determinación del nivel de sodio en porciones separadas de una muestra de sangre por medición con electrodos selectivos de iones dio los siguientes resultados: 139.2, 139.8, 140.1 y 139.4 meq/L. ¿Cuál es la dispersión dentro de la cual cae el verdadero valor, suponiendo que no hay error determinado: *a*) a 90% del nivel de confianza, *b*) a 95% del nivel de confianza, y *c*) a 99% del nivel de confianza?
22. Se midió en forma espectrofotométrica el plomo en hojas a la orilla de un camino mediante reacción con ditizona. La desviación estándar para un análisis por triplicado fue 2.3 ppm. ¿Cuál es el límite de confianza de 90%?
23. La desviación estándar establecida para la determinación de cloruro en sangre por titulación coulombimétrica es 0.5 meq/L. ¿Cuál es el límite de confianza de 95% para una determinación por triplicado?
24. Estimar la dispersión de la verdadera molaridad de la solución en el nivel de confianza de 90% de la estandarización del problema 31.

PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

25. Se realiza un estudio para ver si hay correlación entre la concentración de cromo en la sangre y una enfermedad que se sospecha. Se analizan muestras de sangre de una serie de voluntarios que tienen antecedentes de la enfermedad y otros indicadores de susceptibilidad, y se comparan con los resultados del análisis de muestras de sujetos de control sanos. A partir de los siguientes resultados, determinar si las diferencias entre los dos grupos se pueden atribuir a casualidad o si son reales. Grupo de control

(partes por 10^9 Cr): 15, 23, 12, 18, 9, 28, 11, 10. Grupo con la enfermedad: 25, 20, 35, 32, 15, 40, 16, 10, 22, 18.

- 26.** Se evalúa un método enzimático para determinar alcohol en vino por comparación con un método de cromatografía de gases (GC, gas-chromatography). La misma muestra se analiza varias veces por ambos métodos, con los siguientes resultados (% etanol). Método enzimático: 132.1, 12.7, 12.6, 13.3, 13.3; método de GC: 13.5, 13.3, 13.0, 12.9. ¿El método enzimático da el mismo valor que el método por GC en el nivel de confianza de 95%?
- 27.** Un laboratorio evalúa la precisión de un método colorimétrico para creatinina en suero en el que la muestra se hace reaccionar con picrato alcalino para producir un color. En lugar de realizar un conjunto de análisis se realizan varios conjuntos con diferentes muestras durante varios días, con objeto de tener una mejor estimación de la precisión del método. A partir de los siguientes datos de absorbencia, calcular la desviación estándar combinada.

Día 1 (muestra A)	Día 2 (muestra B)	Día 3 (muestra C)
0.826	0.682	0.751
0.810	0.655	0.702
0.880	0.661	0.699
0.865		0.724
$\bar{x}_A = 0.845$	$\bar{x}_B = 0.666$	$\bar{x}_C = 0.719$

- 28.** Se dieron a conocer las siguientes determinaciones en réplica en una muestra de sangre, usando espectrofotometría de absorción atómica (AAS, atomic absorption spectrophotometry) y un nuevo método colorimétrico. ¿Hay diferencia significativa en la precisión de los dos métodos?

AAS (mg/dL)	Colorimétrico (mg/dL)
10.9	9.2
10.1	10.5
10.6	9.7
11.2	11.5
9.7	11.6
10.0	9.3
Media 10.4	10.1
	11.2
	Media 10.4

- 29.** El dicromato de potasio es un agente oxidante que se usa para determinación volumétrica de hierro por titulación de hierro(II). Aunque el dicromato de potasio es un material de alta pureza que se puede usar para la preparación directa de una solución estándar de concentración conocida, la solución a menudo se estandariza por titulación de una cantidad conocida de hierro(II) que se prepara a partir de alambre de hierro de alta pureza o de hierro electrolítico, usando el mismo procedimiento que para la muestra. Esto se debe a que el color del hierro(III) producido en la titulación tiende a enmascarar el color del indicador (que se usa para detectar el punto final de la titulación), lo que ocasiona un ligero error. Se estandarizó una solución preparada para ser 0.1012 M, con los siguientes resultados: 0.1017, 0.1019, 0.1016, 0.1015 M. ¿Es

válida la suposición de que los valores de titulación son estadísticamente diferentes de la concentración preparada real?

30. En la industria nuclear se llevan registros detallados de la cantidad de plutonio que se recibe, se transporta y se usa. Cada embarque de pellets de plutonio que se recibe se analiza cuidadosamente para verificar que la pureza, y por tanto la cantidad total, sean lo que declara el proveedor. Se analiza un embarque específico con los siguientes resultados: 99.93, 99.87, 99.91 y 99.86%. La pureza declarada como se recibió del proveedor es 99.95%. ¿Es aceptable el embarque?

PRUEBA Q

31. Al estandarizar una solución se obtuvieron en réplica las siguientes molaridades: 0.1067, 0.1071, 0.1066 y 0.1050. ¿Puede descartarse uno de los resultados como debido a error accidental en el nivel de confianza de 95%?
32. ¿Puede rechazarse cualquiera de los datos del problema 14 en el nivel de confianza de 95%?
33. Se ha establecido la precisión de un método y se obtienen los siguientes datos: 22.23, 22.18, 22.25, 22.09 y 22.17%. ¿Es 22.09% una medición válida en el nivel de confianza de 95%?

ESTADÍSTICA PARA CONJUNTOS PEQUEÑOS DE DATOS

34. Para el problema 15, estimar la desviación estándar de la dispersión. Comparar con la desviación estándar calculada en el problema.
35. Para el problema 20, usar la dispersión para estimar el límite de confianza en el nivel de confianza de 95% y comparar con el valor calculado en el problema usando la desviación estándar.
36. Para el problema 21, usar la dispersión para estimar los límites de confianza en los niveles de confianza de 95 y 99%, y comparar con los valores calculados en el problema usando desviación estándar.

MÍNIMOS CUADRADOS

37. Calcular la pendiente de la línea del ejemplo 3.21 usando la ecuación 3.22. Comparar con el valor calculado utilizando la ecuación 3.23.
38. Se prepara una curva de calibración para determinación colorimétrica de fósforo en orina haciendo reaccionar soluciones estándar de fosfato con molibdeno (VI) y reduciendo el complejo de ácido fosfomolibdico para producir el color azul característico. La absorbencia medida A se grafica contra la concentración de fósforo. A partir de los siguientes datos, determinar la curva lineal de mínimos cuadrados y calcular la concentración de fósforo en la muestra de orina:

ppm P	A
1.00	0.205
2.00	0.410
3.00	0.615
4.00	0.820
Muestra de orina	0.625

39. Calcular las incertidumbres en la pendiente y la intersección de la línea de mínimos cuadrados del problema 38 y la incertidumbre de la concentración de fósforo en la muestra de orina.

COEFICIENTE DE CORRELACIÓN

40. A partir de los datos siguientes, determinar el coeficiente de correlación entre la cantidad de toxina producida por un hongo y el porcentaje de extracto de levadura en el medio de cultivo.

Muestra	% Extracto de levadura	Toxina (mg)
a)	1.000	0.487
b)	0.200	0.260
c)	0.100	0.195
d)	0.010	0.007
e)	0.001	0.002

41. Los cultivos descritos en el problema 40 tenían los siguientes pesos fungales secos: muestra a) 116 mg, b) 53 mg, c) 37 mg, d) 8 mg y e) 1 mg. Determinar el coeficiente de correlación entre el peso seco y la cantidad producida de toxina.
42. Se está desarrollando un método nuevo para la determinación de colesterol en suero en el cual se mide la rapidez de agotamiento de oxígeno con un electrodo de oxígeno en la reacción del colesterol con oxígeno, catalizada por la enzima oxidasa de colesterol. Los resultados de varias muestras se comparan con los del método estándar colorimétrico de Lieberman. A partir de los siguientes datos, determinar por la prueba t si hay diferencia estadística significativa entre los dos métodos y calcular el coeficiente de correlación. Se supone que los dos métodos tienen precisiones similares.

Muestra	Método enzimático (mg/dL)	Método colorimétrico (mg/dL)
1	305	300
2	385	392
3	193	185
4	162	152
5	478	480
6	455	461
7	238	232
8	298	290
9	408	401
10	323	315

LÍMITE DE DETECCIÓN

43. Se determina el aluminio en plantas mediante un procedimiento fluorométrico. Siete blancos preparados dan lecturas de fluorescencia de 0.12, 0.18, 0.25, 0.11, 0.16, 0.26 y 0.16 unidades. Una solución estándar de 1.0 de aluminio dio una lectura de 1.25. ¿Cuál es el límite de detección? ¿Cuál sería la lectura total a este nivel?

ESTADÍSTICA DE MUESTREO

44. Las muestras de cuatro décimas de gramo de pintura de un puente, analizadas para determinar su contenido de plomo por un método preciso ($<1\%$ de desviación estándar relativa), dan una precisión relativa de muestreo, R , de 5% . ¿Qué peso de muestra debe tomarse para mejorar esto a 2.5% ?

45. La concentración de cobre en una muestra de mineral es de alrededor de 3% (peso/peso). ¿Cuántas muestras se deben analizar para obtener una desviación estándar relativa porcentual de 5% en el resultado analítico al nivel de confianza de 95%, si la precisión del muestreo es de 0.15% (peso/peso)?

Referencias recomendadas

ESTADÍSTICA

1. P. C. Meier y R. E. Zund, *Statistical Methods in Analytical Chemistry*, 2a. ed., Nueva York, Wiley, 2000.
2. J. C. Miller y J. N. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4a. ed., Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 2000.
3. J. C. Miller y J. N. Miller, "Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry. A Review. Part 1. Statistics of Repeated Measurements" "Part 2. Calibration and Regression Methods", *Analyst*, **113** (1998) 1351; **116** (1991) 3.
4. M. Otto, *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*. Londres: Wiley, 1999.

PRUEBA Q

5. R. B. Dean y W. J. Dixon, "Simplified Statistics for Small Numbers of Observations", *Anal. Chem.*, **23** (1951) 636.
6. W. J. Blaedel, V. W. Meloche y J. A. Ramsay, "A Comparison of Criteria for the Rejection of Measurements", *J. Chem. Educ.*, **28** (1951) 643.
7. D. B. Rorabacher, "Statistical Treatment for Rejection of Deviant Values; Critical Values of Dixon's 'Q' Parameter and Related Sub-Range Ratios at the 90% Confidence Level", *Anal. Chem.*, **63** (1991) 139.
8. C. E. Efstathiou, "A Test for the Simultaneous Detection of Two Outliers Among Extreme Values of Small Data Sets", *Anal. Lett.*, **26** (1993) 379.

CONTROL DE CALIDAD

9. J. K. Taylor, "Quality Assurance of Chemical Measurements", *Anal. Chem.*, **53** (1981) 1588A.
10. J. K. Taylor, "Quality Assurance of Chemical Measurements", Boca Ratón, Florida: CRC Press/Lewis, 1987.
11. J. K. Taylor, "Validation of Analytical Methods", *Anal. Chem.*, **55** (1983) 600A.
12. J. O. Westgard, P. L. Barry y M. P. Hunt, "A Multi-Rule Shewhart Chart for Quality Control in Clinical Chemistry", *Clin. Chem.*, **27** (1981) 493.

MÍNIMOS CUADRADOS

13. P. Galadi y B. R. Kowalski, "Partial Least Squares Regression (PLS): A Tutorial", *Anal. Chim. Acta*, **185** (1986) 1.

LÍMITES DE DETECCIÓN

14. G. L. Long y J. D. Winefordner, "Limit of Detection. A Closer Look at the IUPAC Definition", *Anal. Chem.*, **55** (1983) 712A.

15. J. P. Foley y J. G. Dorsey, "Clarification of the Limit of Detection in Chromatography", *Chromatographia*, **18** (1984) 503.
16. J. E. Knoll, "Estimation of the Limit of Detection in Chromatography", *J. Chromatogr. Sci.*, **23** (1985) 422.
17. Analytical Methods Committee, "Recommendations for the Definition, Estimation and Use of the Detection Limit", *Analyst*, **112** (1987) 199.
18. ICH-Q2B, *Validation of Analytical Procedures: Methodology* (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Ginebra, Suiza, noviembre, 1996).

ESTADÍSTICA DE MUESTREO

19. B. Kratochvil y J. K. Taylor, "Sampling for Chemical Analysis", *Anal. Chem.*, **53** (1981) 924A.
20. M. H. Ramsey, "Sampling as a Source of Measurement Uncertainty: Techniques for Quantification and Comparison with Analytical Sources", *J. Anal. Atomic Spectrosc.*, **13** (1998) 97.
21. G. Brands, "Theory of Sampling. I. Uniform Inhomogeneous Material", *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **314** (1983) 6; II. "Sampling for Segregated Material", *Z. Anal. Chem.*, **314** (1983) 646.
22. N. T. Crosby e I. Patel, eds., *General Principles of Good Sampling Practice*, Cambridge, Inglaterra: Royal Society of Chemistry, 1995.
23. S. K. Thompson, *Sampling*, Nueva York: Wiley, 1992.

HOJAS DE CÁLCULO

24. D. Diamond y V. C. A. Hanratty, *Spreadsheet Applications in Chemistry Using Microsoft Excel*. Nueva York: Wiley, 1997.
25. H. Freiser, *Concepts and Calculations in Analytical Chemistry: Spreadsheet Approach*. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1992.
26. R. De Levie, *How to Use Excel in Analytical Chemistry and in General Scientific Data Analysis*. Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press, 2001.



Capítulo cuatro

BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO: CERTEZA DE CALIDAD DE LAS MEDICIONES ANALÍTICAS

“Podemos vencer a la gravedad, pero a veces la tarea resulta abrumadora.”

—Werner von Braun

En el capítulo 1 se describieron los principios generales para la realización de análisis cuantitativos, y en los capítulos 2 y 3 se explicaron los aspectos de la metodología de muestreo y las estadísticas, así como el análisis y manejo correcto de los datos. Cuando el analista se adhiere a estos lineamientos generales es muy probable que las mediciones sean correctas, y si se usan métodos bien establecidos, seguro se obtendrán resultados aceptables (exactos). No obstante, dependiendo del uso que se vaya a dar a los resultados, tal vez esto no sea suficiente para satisfacer al cliente. Esto es especialmente cierto si las mediciones son para propósitos reglamentarios o para análisis forenses que puedan tener que defenderse en una corte judicial. Como resultado, los conceptos de *buenas prácticas de laboratorio* (GLP, good laboratory practice), *validación de métodos* y *certeza de calidad* para laboratorios de pruebas han evolucionado como una forma de certificación, en la medida de lo posible, de que los resultados del análisis son correctos dentro de los límites prescritos o documentados. Diversas dependencias gubernamentales de Estados Unidos (EPA, FDA) y organizaciones privadas (por ejemplo, AOAC International, ASTM) han publicado sus propios lineamientos específicos para GLP o para validación de métodos y certeza de calidad. En seguida se describirán algunos de estos lineamientos, aunque todos ellos tienen elementos en común. Se describirán primero los elementos básicos para la GLP.

Finalmente, la gerencia del laboratorio y los analistas deben usar el sentido común al juzgar qué procedimiento de certeza de calidad se debe llevar a cabo con base en el objetivo del análisis, la experiencia, los métodos disponibles, las limitaciones de tiempo y costo, y otras consideraciones similares. Pero cuanto más estrechamente se pueda apegar el analista a los lineamientos aceptados, mayor confianza se tendrá en los resultados. Recuerdese que un buen análisis es más que simplemente recibir una muestra y realizar un análisis de una sola vez. Si no se documenta correctamente, el esfuerzo, el tiempo y el costo del análisis se pueden desperdiciar.

¿Por qué tener buenas prácticas de laboratorio?

La respuesta a esta pregunta tal vez sea obvia. Pero se puede ilustrar por el bochorno que sufrió uno de los más prestigiados laboratorios analíticos del mundo, el del FBI. En 1995 participaba en la investigación de un caso muy notorio, el de la explosión intencional del edificio federal Alfred P. Murrah en Oklahoma, que arrasó parcialmente el edificio, mató a 168 personas e hirió a centenas. El laboratorio del FBI había realizado análisis de los explosivos en la escena del incidente y aportó pruebas clave para el juicio. El jurado encontró a Timothy McVeigh culpable de todos los cargos de conspiración, explosión de bomba y asesinato en primer grado. Pero el grupo de defensores legales de McVeigh, buscando debilidades en la fiscalía, introdujo un informe de 157 páginas del Departamento de Justicia sobre el laboratorio del FBI, que se había emitido recientemente, con una lista de varias políticas y prácticas supuestamente descuidadas (sólo se admitieron tres páginas como prueba). El informe era resultado de una investigación de 18 meses realizada por un soplón del laboratorio, quien presentó cientos de quejas alegando contaminación en el laboratorio de la unidad de explosivos, entre cientos de otras acusaciones. ¡El soplón incluso fue testigo de la defensa en el juicio! Aunque el equipo del Departamento de Justicia no encontró pruebas de contaminación, y la mayoría de las aseveraciones del soplón no se probaron, el equipo sí encontró pruebas de documentación insuficiente de los resultados de las pruebas, preparación incorrecta de los informes de laboratorio y administración inadecuada de los registros, así como sistema incorrecto de conservación de registros. Por tanto, el Departamento de Justicia llegó a la conclusión de que la gerencia no había establecido procedimientos y protocolos de validación, ni los había hecho cumplir. La investigación dio como resultado 40 sugerencias sistémicas para corregir o mejorar laboratorios y procedimientos de laboratorio, incluyendo la obtención de acreditación por parte del Consejo de Acreditación de Laboratorios de la American Society of Crime Laboratory Directors (ASCLD/LAB). Algunas de las prácticas que debió instituir el laboratorio incluían:

- Cada investigador que analice pruebas debe preparar y firmar un informe por separado.
- Todos los expedientes de los casos deben contener notas, impresiones, gráficas y otros registros de datos que usaron para llegar a las conclusiones.
- El laboratorio debe desarrollar un sistema de conservación y recuperación de registros.
- Se deben refinar los procedimientos escritos para el manejo de pruebas y para evitar la contaminación.

Es verdad que ahora muchos de estos cuidados importantes para el FBI no son aplicables para muchos otros laboratorios. Pero ilustran la importancia de instituir buenas prácticas de laboratorio. Si el laboratorio del FBI hubiese sido más diligente en el cuidado de sus prácticas se habría evitado el alboroto de esta investigación.

4.1 ¿Qué son las buenas prácticas de laboratorio?

La definición exacta de buena práctica de laboratorio depende de quién la defina y para qué propósito. Una definición amplia comprende temas como la organización del laboratorio, la administración, el personal, la instalación, el equipo, las operaciones, la validación de métodos, la certeza de la calidad y la conservación de registros. El objetivo es certificar

que cada etapa del análisis sea válido. Los aspectos que requieren atención especial variarán para cada laboratorio.

Las buenas prácticas de laboratorio las han establecido organismos mundiales como la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) y la International Organization of Standards (ISO). Las dependencias gubernamentales las han adoptado para sus propósitos como reglas que deben seguir los laboratorios al analizar sustancias sujetas a reglamentación. Los ejemplos incluyen formulaciones farmacéuticas, alimentos y muestras ecológicamente importantes.

Las GLP se pueden definir como “un agrupamiento de reglas, procedimientos operativos y prácticas establecidos por una organización dada que se consideran obligatorios con objeto de certificar la calidad y la corrección de los resultados que produce un laboratorio” (M. Valcarcel, *Principles of Analytical Chemistry*: Berlín: Springer, 2000, p. 323). Todas las GLP contienen dos elementos comunes: procedimientos operativos estándar (SOP, standard operating procedures) y una unidad de certeza de calidad (QAU, quality assurance unit). Los **procedimientos operativos estándar** brindan descripciones detalladas de las actividades que realiza el laboratorio. Ejemplos de esto son la cadena de custodia, el manejo y la preparación de muestras, el método analítico, el mantenimiento de los instrumentos, el archivo (conservación de registros) y aspectos similares. Proporcionan procedimientos detallados para el análisis de muestras que deberán seguir los analistas o técnicos. En general, éstos son más detallados que los métodos desarrollados que aparecen en las publicaciones científicas, ya que pueden variar el nivel de entrenamiento y la experiencia de diferentes miembros del personal de laboratorio, aun cuando los químicos analíticos experimentados puedan requerir menos supervisión.

La **unidad de certeza de calidad** por lo general es independiente del laboratorio y responde a la gerencia de la organización a la que está afiliado el laboratorio. La QAU es responsable de que se efectúen procedimientos de calidad y de su evaluación en forma continua; esto incluye auditorías frecuentes al laboratorio.

Las GLP certifican que se informen resultados correctos.

El laboratorio debe tener una SOP para cada método.

La QAU se encarga de certificar que se efectúen buenas prácticas de laboratorio. Cada miembro del laboratorio es responsable de seguirlas.

Primero se identifica el problema y los requisitos; luego se selecciona el método para cumplir estos requisitos.

4.2 Validación de métodos analíticos

La validación de métodos es el proceso de documentar o probar que un método analítico proporciona datos analíticos aceptables para el uso que se propone.

Los conceptos básicos del proceso de validación cubren dos aspectos:

- El **problema** y los requisitos de datos
- El **método** y sus características de desempeño

Como se mencionó en el capítulo 1, el proceso analítico se beneficia cuando el analista puede participar en la definición del problema, es decir, en asegurar que se planteen las preguntas adecuadas. Cuando los requisitos de datos están mal concebidos o son irreales, las mediciones analíticas pueden ser innecesariamente costosas si el método seleccionado es más exacto de lo que se requiere, o pueden ser inadecuadas si el método es menos exacto de lo que se necesita, o de valor cuestionable si no se conoce la exactitud del método. El primer paso en el desarrollo y validación de métodos es el establecimiento de requisitos mínimos, que esencialmente son las especificaciones del método para el propósito que se persigue. ¿Qué tan exacto y preciso tiene que ser? ¿Cuál es la concentración que se tiene como objetivo?

JERARQUÍA DE LA METODOLOGÍA

En el capítulo 1 se describió el procedimiento general para establecer cómo procederá un análisis. La jerarquía de la metodología (tabla 4.1) se puede considerar como sigue:

Técnica → método → procedimiento → protocolo

Tabla 4.1

Jerarquía de la metodología analítica^a

	<i>Definición</i>	<i>Ejemplo</i>
Técnica	Principio científico útil para dar información de la composición.	Espectrofotometría.
Método	Adaptación bien determinada de una técnica para un propósito de medición seleccionado.	Método de <i>para</i> -rosanilina para la medición de bióxido de azufre.
Procedimiento	Instrucciones por escrito necesarias para aplicar un método.	ASTM D2914: método estándar de prueba para el contenido de dióxido de azufre en la atmósfera (método West-Gaeke).
Protocolo	Conjunto de instrucciones definitivas que se deben seguir, sin excepción, si los resultados analíticos han de ser aceptados para un propósito determinado.	Método de referencia de EPA para la determinación de dióxido de azufre en la atmósfera (método de <i>para</i> -rosanilina).

^a Tomado de J. K. Taylor, *Anal. Chem.*, **55**(1983) 600A. Publicado en 1983 por la American Chemical Society.

Éstos son pasos importantes en el desarrollo de un método para un propósito específico que finalmente conducen a un método validado y atienden a la lista de características de validación antes indicadas. El nivel de jerarquía que se alcanza o se usa dependerá de la necesidad.

Una **técnica** es el principio científico seleccionado para dar información acerca de la composición. La espectrofotometría proporciona información acerca de la concentración, a partir de la luz absorbida por la solución preparada de muestra. Un **método** es la adaptación de la técnica (usando la química adecuada) de manera que sea selectiva para un analito dado. Un **procedimiento** consiste en las instrucciones por escrito necesarias para utilizar el método (aquí es donde se entra al área más amplia de las GLP); no necesariamente alcanza la categoría de un método estándar. Finalmente, un **protocolo** es un conjunto de instrucciones prescritas específicamente, las cuales se deben seguir, sin excepción, si los resultados han de ser aceptados para un propósito; por ejemplo, para la reglamentación o la acción de EPA; el método ha sido validado para proporcionar resultados exactos para el analito especificado en la matriz especificada y, por tanto, es un **método de referencia**.

PROCESO DE VALIDACIÓN

La necesidad de validar un método y el procedimiento que se ha de seguir son temas de decisión profesional, aunque en la actualidad existen procedimientos y lineamientos bastante bien prescritos que ayudan en la toma de decisiones.

Las organizaciones gubernamentales e internacionales han establecido lineamientos para la correcta validación de métodos, en especial para métodos de presentación reglamentaria. Por lo general incluyen estudios sobre:

- Selectividad
- Linealidad
- Exactitud
- Precisión
- Sensibilidad
- Intervalo
- Límite de detección
- Límite de cuantificación
- Consistencia

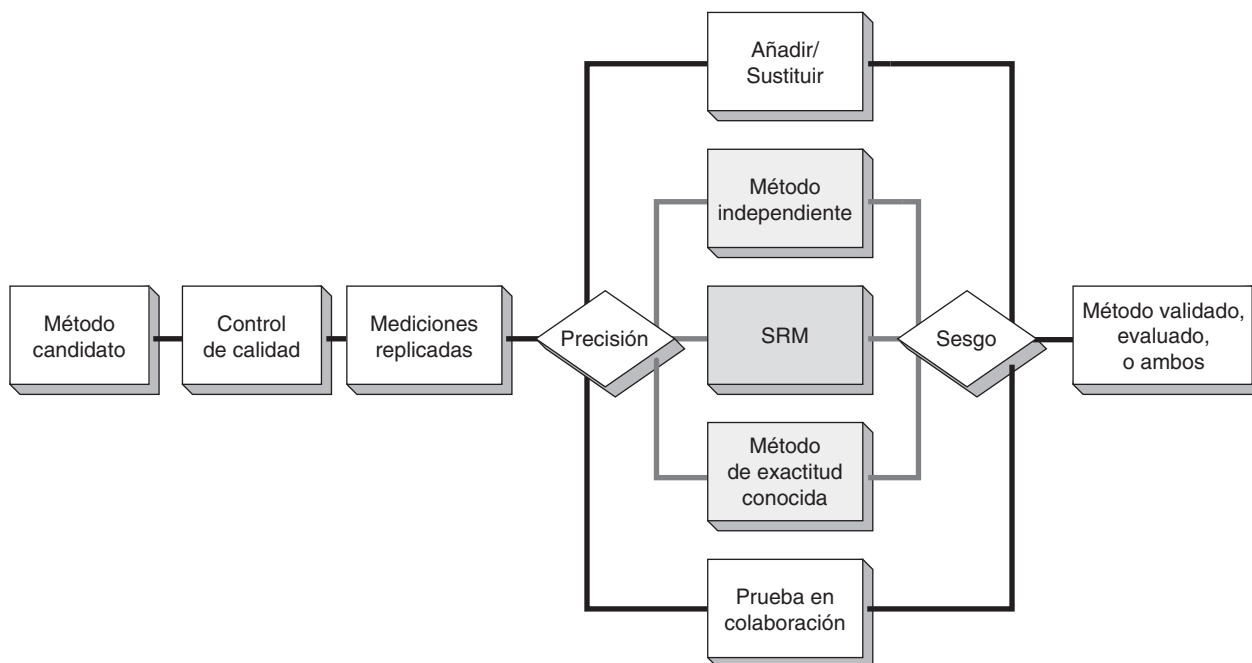


Figura 4.1. Proceso general para la evaluación, validación, o ambas, de la metodología. [Re-impresión de J. K. Taylor, *Anal. Chem.*, **55**(1983) 600A. Publicado en 1983 por la American Chemical Society.]

Estos estudios se practican mejor durante el desarrollo de un método (si un método no tiene la sensibilidad necesaria, ¿para qué continuar?) La figura 4.1 es una visión general del proceso de validación. Los diferentes aspectos se explican en los siguientes párrafos.

SELECTIVIDAD

La selectividad es el grado en que el método puede medir al analito de interés en las matrices de las muestras que se analizan sin interferencia de la matriz (incluyendo otros analitos). Los efectos de la matriz pueden ser positivos o negativos. La respuesta analítica del analito en presencia de componentes potenciales de la muestra se compara con la respuesta de una solución que contenga sólo el analito. La selección de una metodología adecuada de medición es clave. Los métodos, incluso los previamente validados en términos generales, pueden no tener la seguridad de ser válidos para determinada matriz de la muestra.

LINEALIDAD

Un estudio de linealidad verifica que la respuesta sea linealmente proporcional a la concentración del analito en el intervalo de concentración de las soluciones de muestra. El estudio debe realizarse usando soluciones estándar a cinco niveles de concentración, en el intervalo de 50 a 150% de la concentración de referencia del analito. Cinco niveles de concentración deben permitir la detección de curvatura de la curva de calibración. Cada estándar se debe medir por lo menos tres veces.

Los datos de linealidad se juzgan a menudo con base en el coeficiente de determinación (r^2) y la intersección con el eje y de la línea de regresión lineal. Un valor $r^2 > 0.998$ es indicio de ajuste aceptable de los datos a la línea de regresión. La intersección con el eje y debe ser un pequeño porcentaje de la concentración de referencia del analito, por ejemplo, $< 2\%$. Aunque estas evaluaciones estadísticas son una forma práctica de evaluar

la linealidad, no la garantizan. Siempre se debe hacer una inspección visual de la curva de calibración. A menudo la linealidad se desvía un poco en los valores alto y bajo (razón de que se puedan preferir gráficas de mínimos cuadrados *ponderados*, en las que se da mayor peso en la línea de regresión a los puntos de la curva que tienen la menor desviación). Una forma de evaluar el intervalo de linealidad es graficar un *factor de respuesta* (RF) contra concentración.

$$\text{Factor de respuesta} = (\text{señal} - \text{intersección con eje } y) / \text{concentración} \quad (4.1)$$

La respuesta por unidad de concentración debe ser casi constante para una buena linealidad.

Si se obtiene una gráfica con pendiente cero, esto indica que la respuesta va a ser lineal en este intervalo de concentración. Un cambio del factor de respuesta en el intervalo de concentración de calibración, por ejemplo, dentro de 2 a 3% del factor de respuesta en el nivel de referencia o del RF promedio se puede considerar como una linealidad aceptable. La línea de regresión en la figura 3.8 es $y = mx + b$. La intersección con el eje y es 0.595. En la figura 4.2 se muestra una gráfica del factor de respuesta contra concentración. La pendiente de la línea es -1.48 RF/1 ppm . Esto corresponde a -1.0 en el intervalo de concentración de 0.1 a 0.8 ppm, que es 1.8% del valor promedio de RF de 54.4. Ésta es una linealidad aceptable.

Si la curva de calibración se desvía de la linealidad en el intervalo de 50 a 150% del nivel de referencia, la selección de un intervalo más estrecho, por ejemplo de 80 a 120%, puede dar la linealidad deseada.

EXACTITUD

La exactitud de un método es la cercanía del valor obtenido al valor verdadero para la muestra. Tal vez éste sea el parámetro más difícil de evaluar. Se debe considerar el muestreo y el tratamiento de la muestra, además de la exactitud del método de medición. La exactitud del método se puede determinar en una de tres maneras. En orden creciente de importancia, éstas son:

- Estudios de recuperación
- Comparación de resultados usando otro método que se sabe que es exacto
- Análisis de un material de referencia

Los *estudios de referencia* se llevan a cabo añadiendo una cantidad conocida del analito, ya sea a una matriz en blanco (una muestra que tiene un nivel no medible del analito de prueba) o añadiendo una muestra en la que se mide por el mismo procedimiento el analito

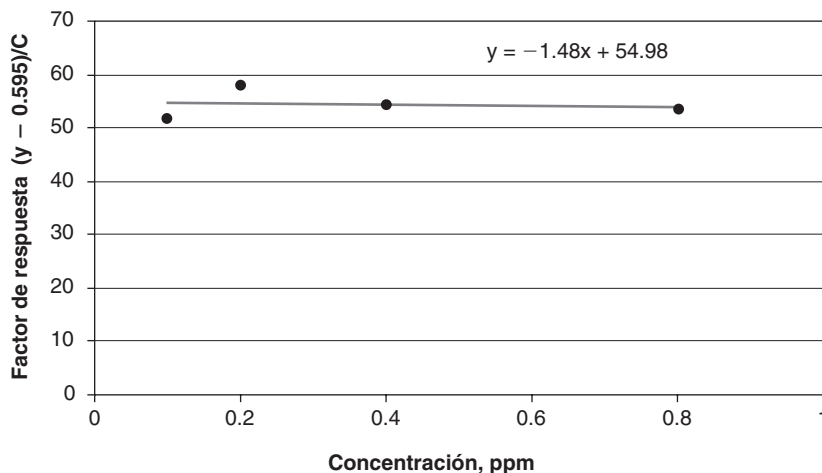


Figura 4.2. Gráfica de factor de respuesta para la figura 3.8. La intersección con el eje y se resta de la correspondiente intensidad de fluorescencia para cada concentración (0.1, 0.2, 0.4 y 0.8 ppm) y se divide entre cada concentración.

de fondo y se resta del valor total (muestra + añadido) para obtener la recuperación. Las muestras añadidas se deben preparar a tres niveles, los extremos y a mitad del intervalo. Se deben preparar por lo menos por triplicado.

Un mejor método de validación consiste en realizar el análisis por *dos métodos independientes*, de los cuales el segundo método se sabe que es exacto para la matriz de muestra que interesa. Idealmente, incluso el tratamiento de la muestra debería ser diferente. En la literatura científica (revistas, libros de referencia, libros de métodos estándar) será posible encontrar a menudo un método que sea aplicable a la muestra (pero que tal vez no sea adecuado para usarse debido al costo, a la falta de equipo, etc.). Si no se puede encontrar alguno que se haya aplicado a la matriz de la muestra, pero se conoce uno que generalmente es aplicable y exacto, entonces ése es el que se debe usar. Si los resultados por un método y por el otro concuerdan, es un buen indicio de que ambos funcionan bien para la muestra. Si no concuerdan, entonces no será posible sacar alguna conclusión, ya que cualquiera de los dos puede dar resultados erróneos con la muestra específica, aunque quizá sea más probable que el nuevo método sea el culpable.

La forma ideal de validar un método consiste en analizar la composición de un *material de referencia* idéntico a la muestra. El National Institute of Standards (NIST) tiene como fin garantizar mediciones exactas y compatibles mediante el desarrollo, la certificación y la distribución de *materiales estándar de referencia* (SRM, standard reference materials). El programa SRM tiene más de 1 000 SRM disponibles para usarse en: 1) mediciones básicas en ciencia y meteorología; 2) análisis ambiental; 3) mediciones sanitarias, y 4) materiales industriales y producción. El NIST tiene estándares para composición química, propiedades físicas, materiales de ingeniería y otros (<http://ts.nist.gov/ts/htdocs/230/232info/index.htm>). Sirve como principal punto de contacto para la interconexión con esfuerzos similares en el sector privado, otras dependencias federales y entidades internacionales. Otros programas incluyen la American Society for Testing and Materials (ASTM), la American Association for Clinical Chemistry (AACC), la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), la International Organization for Standardization (ISO) y la Unión Europea (UE). Se puede obtener información sobre cada una de estas entidades en sus sitios de red.

Los estándares de composición química están certificados para las concentraciones dadas con un intervalo estadístico (desviación estándar) dado. Si el método cae a una distancia de dos desviaciones estándar del valor certificado, hay una probabilidad de 95% de que haya una diferencia significativa (no aleatoria) entre los resultados. Dependiendo de los niveles de concentración que se están midiendo se puede establecer que la medición debe estar, por ejemplo, dentro de $\pm 2\%$ del valor certificado, o quizá $\pm 10\%$ si es un análisis de trazas, y así sucesivamente.

Tal vez no se cuente con materiales de referencia idénticos en composición a la muestra, sino similares. Con todo, éstos darán un alto nivel de confianza en la validación.

Cuando se hagan mediciones en materiales de referencia o por comparación con otro método, las consideraciones estadísticas sugieren que se hagan por lo menos seis grados de medición (seis mediciones) para una validación adecuada.

PRECISIÓN

La precisión de un método analítico se obtiene por análisis múltiples de una muestra homogénea. La precisión general del método se puede determinar incluyendo la preparación de la muestra. Tales datos de precisión se obtienen en el laboratorio en un día usando alícuotas de la muestra homogénea que han sido preparadas en forma independiente. Tal precisión interlaboratorios se denomina *repetibilidad*. La precisión interlaboratorios, si es adecuada, también se determina como parte de una medición de *reproducibilidad* o *consistencia* del método (véase lo que sigue).

También se puede determinar la precisión de las diferentes etapas del análisis, por ejemplo, la precisión de introducir una muestra dentro de un cromatógrafo de gases deter-

La exactitud se determina mejor siguiendo el análisis de un material estándar de referencia.

Se deben realizar por lo menos siete mediciones para validación estadística.

La repetibilidad es la precisión interna del laboratorio.

minada al efectuar inyecciones múltiples de la misma solución de muestra. Nuevamente, las consideraciones estadísticas determinan que se deben hacer por lo menos siete mediciones para cada paso de la evaluación.

SENSIBILIDAD

La sensibilidad es la capacidad de distinguir dos concentraciones diferentes y es determinada por la pendiente de la curva de calibración. Se puede medir la pendiente o las muestras de concentraciones muy próximas a niveles de concentración alto, intermedio y bajo. La sensibilidad y la precisión dictarán con cuántas cifras significativas se debe informar una medición. No se reporta 11.25% cuando el método apenas puede distinguir diferencias de 0.1% (diferencias relativas de 1%).

INTERVALO

El intervalo de trabajo de un método es el intervalo de concentración dentro del cual se obtienen exactitudes y precisiones aceptables. En general, también se incluye la linealidad. La exactitud y la precisión aceptables se definen al establecer los criterios para el método. La precisión, por supuesto, variará con la concentración, que se vuelve peor a bajas concentraciones (figura 4.3), y a veces a altas concentraciones, como en las mediciones espectrofotométricas.

LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección se debe determinar a partir de la definición que se dio en el capítulo 3. En general, se analizan réplicas en blanco de la matriz de la muestra para determinar el valor medio del blanco y su desviación estándar. Luego se añade analito a una matriz cerca del límite de detección (por ejemplo, para dar una señal de 10 veces la desviación estándar por arriba de la señal media de la réplica en blanco). El límite de detección es la concentración calculada para dar una respuesta igual a la señal en blanco más tres desviaciones estándar.

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Éste es igual a la concentración mínima de analito que se puede medir en la matriz de la muestra a un nivel aceptable de precisión y exactitud. Una precisión aceptable es una desviación estándar relativa de 10 a 20%, dependiendo de los niveles medidos de concentración. En ausencia de una precisión especificada se usa la concentración que dé una señal de 10 desviaciones estándar por arriba del blanco.

CONSISTENCIA

Ya se ha definido la precisión de un método. La *repetibilidad* es la precisión a largo plazo durante varias semanas. La *consistencia* se refiere a la precisión de un laboratorio durante

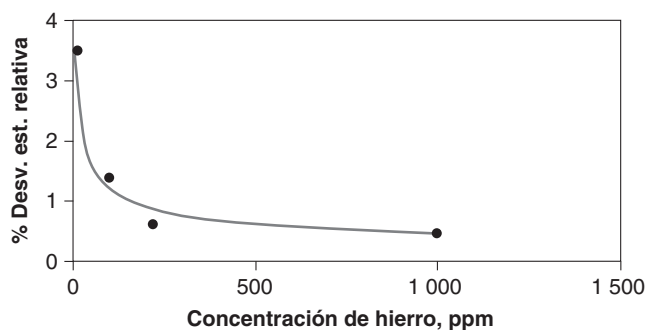


Figura 4.3. Dependencia de la desviación estándar relativa con respecto a la concentración.

muchos días, lo cual puede incluir múltiples analistas, múltiples instrumentos, diferentes fuentes de reactivos, diferentes columnas cromatográficas, etc. Un estudio de consistencia identificará aquellos factores que contribuyan a la variabilidad de los resultados y que no deben cambiarse. Esto se relaciona con la *consistencia* o *confiabilidad* del método, que se refiere a su sensibilidad a pequeños cambios deliberados o incontrolados en parámetros como el tamaño de la muestra, la temperatura, el pH de la solución, la concentración de los reactivos, el tiempo de reacción, etc. Incluye una evaluación de la estabilidad de los reactivos, los estándares y las muestras en el tiempo. Cada parámetro se debe probar por separado, a menos que se diseñen experimentos estadísticamente más complicados de análisis factorial para modificar varios parámetros al mismo tiempo, pero esto no se tratará aquí.

La *reproducibilidad* (o *transferibilidad*) es el análisis de la misma muestra entre laboratorios, en los cuales se analiza una muestra homogénea sirviendo uno de ellos como laboratorio de comparación primaria. Un estudio de reproducibilidad por lo general se enfoca en el *sesgo* entre laboratorios, además de la precisión. El objetivo es que el sesgo esté comprendido dentro de límites definidos aceptables.

La variabilidad entre laboratorios es alrededor del doble de la variabilidad intralaboratorio.

Verificación de realidad en la variabilidad entre laboratorios

¿Es significativa la variabilidad entre laboratorios? ¿Es diferente de la variabilidad intralaboratorios? La respuesta a ambas preguntas es sí. Y varía con la concentración. William Horwitz y colaboradores documentaron la variabilidad entre laboratorios durante dos décadas examinando más de 10 000 conjuntos de datos entre laboratorios (véase R. H. Albert, *Chemical & Engineering News*, 13 de septiembre, 1999, p. 2). Ellos desarrollaron una expresión que relaciona la desviación estándar de los resultados entre laboratorios, s_R , con la concentración, C (expresada como fracción decimal, por ejemplo $1 \text{ mg/kg} = 10^{-6}$). Encontraron que $s_R = 0.02 C^{0.85}$ o, como desviación estándar relativa entre laboratorios, d.e.r. (%) = $2C^{-0.15}$. Estas expresiones indican que, a partir de materiales puros ($C = 1$) con un s_R de 2%, la precisión entre laboratorios aumenta por un factor de 2 por cada disminución de una veintena en la concentración. Esto sigue siendo válido independientemente del analito, del método, de la matriz o de la fecha. La precisión de diferentes tipos de análisis, ya sean agrícolas, geológicos o farmacéuticos, no cambió durante medio siglo, ni siquiera con el advenimiento de la instrumentación moderna. Así, la desviación estándar relativa para niveles residuales de pesticida de 1 ppm (1 mg/kg ; 10^{-6}) es de 16%. (Hágase el cálculo usando cualquiera de las fórmulas. Se facilita insertando la ecuación en Excel.)

El hecho de que esta función empírica obedezca las estadísticas de estudios en colaboración se prueba mediante un estudio separado [M. Thompson y P. J. Lothian, *J. AOAC Int.*, **80**(1997) 6786], en el cual se demostró que la variabilidad entre laboratorios es alrededor del doble de la variabilidad intralaboratorios. La variabilidad para analitos probados por EPA con extensa certeza de calidad incorporada al procedimiento fue algo mejor que lo que se había predicho según lo anterior [véase *J. AOC Int.*, **79**(1996) 589], pero los análisis costaron aproximadamente 1 000 dólares cada uno, además de que fueron lentos. Hay una compensación evidente entre el esfuerzo de certeza de calidad, así como el costo y el tiempo.

Revisar la figura 4.1, que pone en contexto la mayoría de los conceptos y pasos de validación que se han explicado para un método candidato. En seguida se explicará el control de calidad en el contexto de certeza de calidad.

4.3 Certeza de calidad. ¿Todavía funciona el método?

Una vez que se ha validado el método, un aspecto importante en su aplicación es asegurar que funcione correctamente. La **certeza de calidad** (QA, quality assurance) es la aplicación de procedimientos para asegurar y documentar que un método sigue funcionando como es necesario y es parte de la responsabilidad de la unidad de certeza de calidad. Incluye documentación escrita de validación del método, procedimientos que se siguieron y la cadena de custodia de la muestra. Varios procedimientos de **control de calidad** se basan en mediciones cuantitativas. En seguida se mencionan las actividades comunes de control de calidad.

La certeza de calidad es un procedimiento continuo de verificación para certificar el desempeño correcto del método.

GRÁFICAS DE CONTROL

El laboratorio debe mantener una gráfica continua de control de calidad (véase la figura 3.6) para cada método. Cada día se hacen análisis ciegos y aleatorios de un material de referencia de contenido conocido de analito, o de preferencia con cada lote de muestras. Si los valores medidos caen fuera de los límites prescritos de desviación estándar se debe verificar si no hay un error sistemático como deterioro de reactivos o desajuste del instrumento (que requiera una nueva calibración).

DOCUMENTACIÓN Y ARCHIVO

Es una parte tediosa y tardada, pero muy importante, de la certeza de calidad. Todas las actividades que realiza el laboratorio relacionadas con la certeza de calidad se deben documentar por escrito. Incluyen el registro de la cadena de custodia de la muestra, la calibración y el funcionamiento de los instrumentos, los procedimientos operativos estándar, los datos de mediciones originales, los resultados y los informes. Se debe indicar el responsable individual de cada documento; esto significa que debe ir firmado y fechado por quien lo llevó a cabo o es responsable de los datos.

PRUEBA DE COMPETENCIA

Una manera de documentar el desempeño del laboratorio es participar en estudios de colaboración con otros laboratorios. Un grupo oficial proporciona a los laboratorios alícuotas del mismo material homogéneo para su análisis. El objetivo es comparar resultados entre laboratorios y las incertidumbres en los resultados. La media de los resultados de los laboratorios participantes se puede usar como referencia, si no se sabe la concentración real. O mejor aún, se usa un material certificado de referencia cuya concentración y certeza se conoce (no por los laboratorios participantes). La segunda alternativa resulta mejor si los laboratorios usan diferentes métodos.

Un modo de expresar los resultados de un ejercicio de prueba en colaboración es reportar la calificación z del laboratorio, una medida de su desviación del estándar de concentración conocida:

$$z = \frac{\bar{X}_i - \hat{X}}{s} \quad (4.2)$$

donde $\bar{X}$ es la media de i mediciones de réplica del laboratorio, $\hat{X}$ es la concentración aceptada, y s es la desviación estándar de la concentración aceptada.



Ejemplo 4.1

Se acepta participar en un estudio de colaboración para determinación de calcio en suero. Se envía a los laboratorios una muestra que contiene 5.2 meq/dL, con desviación estándar de ± 0.2 meq/dL, para análisis mediante espectroscopia de absorción atómica. Se obtienen resultados triplicados de 5.0, 4.7 y 4.8 meq/dL. ¿Cuál es el valor z para el laboratorio? ¿Qué significan estos resultados?

Solución

La media es 4.8 meq/dL con desviación estándar de ± 0.15 meq/dL. El valor z es

$$z = \frac{4.8 - 5.2}{0.2} = -2.0$$

Esto significa que la z que se informó es baja, con diferencia de dos desviaciones estándar del valor aceptado. Hay una probabilidad de 95% de que esta diferencia se deba a un error sistemático no aleatorio. Asimismo, el intervalo para una desviación estándar de las mediciones es de 4.6 a 5.0 meq/dL. El intervalo aceptado es 5.0 a 5.4 para una desviación estándar. Hay sólo 68% de probabilidad de que el valor se traslape con el intervalo aceptado.

La figura 4.4 muestra los resultados de una prueba representativa de competencia en colaboración. No es poco común que varios laboratorios estén fuera de intervalos aceptables.

4.4 Acreditación de laboratorios

Otra forma de evaluación externa es la acreditación de laboratorios por parte de una organización formal o una dependencia gubernamental. Esto por lo general es voluntario, pero puede ser requisito para laboratorios que manejen mediciones reglamentarias. La acreditación es un procedimiento por el cual un cuerpo de autoridad otorga un reconocimiento formal de que el laboratorio es competente para llevar a cabo tareas específicas. El procedimiento de acreditación puede tomar la forma de inspección cualitativa de las operaciones del laboratorio para verificar que se siguen políticas de buenas prácticas de laboratorio, es decir, documentación adecuada y conservación correcta de datos, validación, pruebas de competencia, etc. Además, puede incluir medición de los materiales de referencia presen-

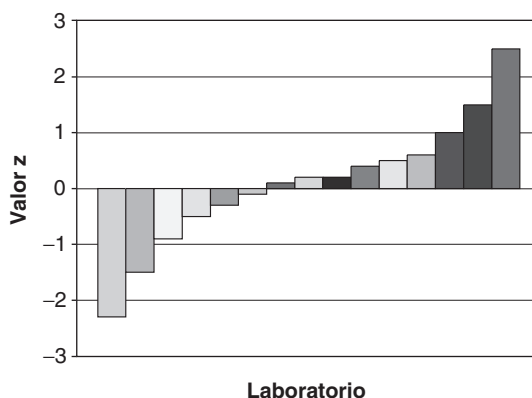


Figura 4.4. Distribuciones de valores z representativos para pruebas de competencia para una serie de laboratorios.

tados. En cualquier caso, la certificación implicará auditorías periódicas del laboratorio, que pueden ser sin previo aviso.

4.5 Registros electrónicos y firmas electrónicas: CFR 21, parte 11

La mayor parte de las tareas de laboratorio dependen de computadoras para su ejecución, desde el registro de muestras hasta el informe. La forma tradicional de mantener registros para auditorías, acciones reglamentarias y similares ha consistido en hacer una impresión para firma, presentación y archivo. Este proceso consume tiempo, requiere instalaciones para archivo, los registros se pueden perder o traspapelar, y en parte se cancela el propósito de las computadoras. Si los registros aceptables y las firmas se archivan electrónicamente, esto mejorará la eficiencia; dará acceso más rápido a los documentos, mejorará la capacidad de buscar en las bases de datos y ver información desde perspectivas múltiples para determinar tendencias o pautas. La FDA (Food and Drug Administration) trabajó durante seis años con la industria farmacéutica para desarrollar procedimientos de instalación de sistemas de registro sin papel bajo los actuales reglamentos de buenas prácticas de manufactura (GMP). En 1997, la FDA promulgó la regla definitiva sobre registros electrónicos, firmas y presentaciones electrónicas, que se conoce como *Código 21 de Reglamentos Federales* (CFR), parte 11 [“Registros electrónicos; firmas electrónicas”, *Fed. Reg.*, **62**(1997) 1 000, 13 230; **64**(1999) 41 442]. Se puede encontrar en www.fda.gov/ora, bajo Compliance References (Referencias de Cumplimiento). La principal preocupación y el principal reto es que los registros electrónicos se pueden cambiar o falsificar con demasiada facilidad, ya sea por accidente o de manera intencional. La Regla Definitiva proporciona criterios bajo los cuales la FDA considerará que los registros electrónicos son equivalentes a los registros en papel, y las firmas electrónicas, equivalentes a firmas manuscritas, para asegurar la integridad, exactitud y autenticidad de la información almacenada en los sistemas.

REGISTROS ELECTRÓNICOS

Se necesita la validación electrónica para documentar la integridad, el respaldo y la recuperación, el archivo y la restauración de datos, así como la forma de usar firmas electrónicas. Un sistema de validación debe ser bueno durante toda la vida útil del software. Si se cambia o actualiza, los datos deben ser transferibles.

Un problema es que los registros electrónicos forman parte de bases de datos, que son dinámicas, es decir, su contenido cambia al agregarse nueva información. Peor aún, los datos se pueden cambiar o borrar sin dejar rastro y en forma tal que puede destruir los datos originales. El acceso al sistema debe reservarse a individuos autorizados. Se harán verificaciones periódicas del sistema. Debe haber marcas de auditoría selladas con fecha y hora. Si se hacen cambios en la base de datos, la marca de auditoría debe mostrar quién y cuándo hizo los cambios, así como los valores antiguos y nuevos, y por qué se modificaron los datos.

FIRMAS ELECTRÓNICAS

El acceso al sistema debe estar reservado para personas autorizadas. El tipo de seguridad dependerá de que el sistema sea abierto o cerrado. Las tecnologías de firma electrónica incluyen códigos de identificación (nombres de usuario, contraseñas) y sistemas biométricos más elaborados (basados en la medición de características físicas, como huellas de la palma de la mano, huellas digitales o escaneadores de iris o retina). Estos últimos son costosos y su práctica es menos probable, en especial para usuarios múltiples. Los nombres de usuario y contraseñas deben ser únicos y nunca se deben reasignar. Las contraseñas se deben cambiar en forma periódica.

El CRF 21, parte 11, permite, pero no exige, el uso de registros electrónicos y firmas electrónicas. Al validarse y aceptarse más sistemas, y cuando más fabricantes incorporen sistemas validados, esto se volverá rutinario. Es probable que otras dependencias adopten normas similares.

EPA: CROMERRR

La OEI (Oficina de Información Ambiental) de la EPA ha definido una Reglamentación para Informes y Registros por Medios Electrónicos Cruzados (CROMERRR, por sus siglas en inglés) para eliminar los obstáculos reglamentarios existentes para los informes y registros por medio de un amplio espectro de programas EPA. El documento de 80 páginas se puede encontrar en el URL en www.epa.gov/cdx/cromerrr_rule.pdf (www.epa.gov/cdx es el sitio central de intercambio de datos de EPA). CROMERRR exigirá criterios para registros electrónicos que sean congruentes con el CFR 21, parte 11.

¿Qué pasa con el costo?

Con la certeza de calidad, aunque no es garantía de resultados exactos (véase el recuadro “Verificación de realidad en la variabilidad entre laboratorios”, p. 132), es necesario tener documentación razonable acerca de la exactitud e identificar áreas en las que pueden presentarse causas importantes de inexactitudes, y las acciones tomadas para minimizarlas. Esto, por supuesto, no es gratuito. La práctica de un programa de certeza significará una inversión inicial sustancial, tanto en gastos como en tiempo. Se ha estimado que los costos continuos de certeza de calidad ascienden a 20 a 30% del presupuesto del laboratorio. Por tanto, es importante que el sistema se configure de manera adecuada, tan eficientemente como sea posible (lo cual exigirá que la gerencia comprenda con claridad las necesidades), y que todo el personal de laboratorio lo tome en serio (por supuesto, uno mismo).

Los costos de la certeza de calidad corresponden a una cuarta parte de los costos de laboratorio. ¡Debe hacerse bien!

4.6 Algunas organizaciones oficiales

Varias dependencias gubernamentales y organizaciones nacionales e internacionales han establecido sus propios lineamientos para validación de métodos y buenas prácticas de laboratorio. La mayoría se basan en principios adoptados por organizaciones multinacionales. A continuación se mencionan algunas de las principales. Cada una proporciona información detallada en su sitio de la red. Se puede obtener más (¡mucha más!) información sobre cada organización explorando sus sitios de red. Lo siguiente da una impresión de primera mano del mundo de la normalización y la reglamentación.

International Organization for Standardization (ISO): www.iso.ch

International Conference on Harmonization (ICH): www.ich.com

Organization for Economic Cooperation and Development (OECD): www.oecd.org

Food and Drug Administration (FDA): www.fda.gov/cder

Environmental Protection Agency (EPA): www.epa.gov

Office of Enforcement and Compliance: Laboratory Data Integrity Branch: <http://es.epa.gov/labdata.html>

Office of Solid Waste: www.epa.gov/osw

US-EPA, Region 4, Science and Ecosystem Support Division:
www.epa.gov/region4/sesd

American Association for Clinical Chemistry (AACC): www.aacc.org

American Association of Cereal Chemistry (AACC): www.scisoc.org/aacc

American Oil Chemists Society (AOCS): www.aocs.org

The Society of Quality Assurance (SQA): www.sqa.org

American Society for Testing and Materials (ASTM): www.astm.org

Association of Official Analytical Chemists International (AOAC International):
www.aoac.org

National Institute of Standards and Technology (NIST): www.nist.gov

PRÁCTICA DE LOS PROCEDIMIENTOS DE BUENA PRÁCTICA DE LABORATORIO

El experimento 39 proporciona la práctica de validación de métodos y control de calidad, y el experimento 40 es un ejercicio de prueba de competencia. Son experimentos para efectuarlos en clase por equipo. Se recomienda leerlos, aunque no sean parte de los ejercicios de laboratorio asignados.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Buena práctica de laboratorio: ¿Qué es? ¿Cómo se aplica?, p. 125
- Cómo validar un método: selectividad, linealidad, exactitud, precisión, sensibilidad, intervalo, LOD, LOQ, consistencia, p. 126
- Certeza de calidad: gráficas de control, documentación, pruebas de competencia, p. 133
- Registros electrónicos, p. 135.
- Organizaciones oficiales que proporcionan información de GLP, p. 136

Preguntas

BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (GLP)

1. ¿Qué son las buenas prácticas de laboratorio?
2. ¿Cuáles son los elementos comunes en la práctica de las GLP?
3. ¿Qué son los SOP (Procedimientos Operativos Estándar)?
4. ¿Cuáles son las características de una unidad de certeza de calidad?

VALIDACIÓN DE MÉTODOS

5. ¿Cuáles son los dos aspectos de un proceso de validación?
6. ¿Cuál es el primer paso en el desarrollo de un método?
7. Distinguir entre una técnica, un método, un procedimiento y un protocolo.
8. ¿Cuáles son las características esenciales de la mayor parte de los procesos de validación de métodos?

- 9. ¿Cuál es el factor de respuesta?
- 10. ¿Cuáles son las maneras de evaluar la linealidad de una calibración?
- 11. ¿Cuáles son los principales modos de evaluar la exactitud de un método?
- 12. ¿Cuántas mediciones se deben hacer para obtener una validación estadística razonable?
- 13. Distinguir entre repetibilidad, consistencia y reproducibilidad de un método.
- 14. ¿Cuáles son los requisitos principales para la validación de registros electrónicos y firmas electrónicas?

CERTEZA DE CALIDAD

- 15. ¿Qué es certeza de calidad? ¿Y el control de calidad?
- 16. ¿Cuáles son algunos de los procedimientos típicos de control de calidad?
- 17. ¿Qué es una calificación z ?
- 18. ¿Qué es la acreditación de laboratorios?

Problemas

VALIDACIÓN

- 19. Preparar una curva de calibración para las mediciones de etanol en sangre por cromatografía de gases. El área de picos registrada como función de la concentración es:

Concentración, % (peso/vol)	Área de picos (unidades arbitrarias)
0	0.0
0.020	43
0.040	80
0.080	155
0.120	253
0.160	302
0.200	425

Graficar la curva de calibración usando Excel y determinar la línea de mínimos cuadrados indicando la intersección con el eje y y la pendiente. Calcular el factor de respuesta y la pendiente de la gráfica contra concentración. ¿Qué porcentaje del factor de respuesta promedio es el cambio de RF en el intervalo de calibración?

- 20. Calcular la variación entre laboratorios con desviación estándar relativa de 16% anotada para niveles de pesticida de 1 ppm en el recuadro “Verificación de realidad en la variabilidad entre laboratorios”. Realizar el cálculo usando ambas fórmulas dadas. Colocar cada fórmula en una celda de la hoja de cálculo de Excel para realizar los cálculos.

CERTEZA DE CALIDAD

- 21. Se participa en un estudio de colaboración para medir plomo en hojas. Se entrega a los laboratorios participantes un material homogéneo de referencia estándar de hojas trituradas, certificado con un contenido de 10.3 ± 0.5 ppm de plomo. Se analiza la muestra usando digestión ácida y espectrometría de absorción atómica. El informe es 9.8 ± 0.3 ppm para siete alícuotas analizadas. ¿Cuál es el valor z para el laboratorio?

EJERCICIO DE INTERNET

22. Consultar los sitios de red de por lo menos tres de las dependencias gubernamentales y sociedades profesionales anotadas en la sección 4.6; ir a los vínculos que tratan de validación de métodos. Documentar las similitudes y diferencias entre ellos.

Referencias recomendadas

SITIOS DE RED

1. www.labcompliance.com/index.htm. Contiene una extensa variedad de información relacionada con temas de cumplimiento. Se verifica el vínculo Regulations. Se define la terminología utilizada. Se trata de un excelente tutorial sobre GLP.
2. <http://21cfrpart11.com>. Este sitio comercial que trata de temas relacionados con el cumplimiento incluye vínculos útiles.
3. www.PDA.org. Tiene una conferencia en línea sobre temas de validación de computadoras y CFR 21, parte 11.
4. www.isric.n1/GLP.htm. Centro internacional de referencia e información sobre suelos. Proporciona el boletín de suelos 74 de la FAO, "Lineamientos para la gerencia de calidad en laboratorios de suelos y plantas".
5. www.waters.com. El sitio de red de esta empresa tiene un vínculo a la Introducción a la validación (bajo Applications), que da un buen resumen sobre el proceso de validación, para la validación de métodos USP y para los lineamientos de validación de métodos ICH.

BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

6. J. M. Miller y J. B. Crowther, eds., *Analytical Chemistry in a GMP Environment: A Practical Guide*. Nueva York: Wiley, 2000.
7. J. Kenkel, *A Primer on Quality in the Analytical Laboratory*. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2000.
8. W. Garner, M. S. Barge y P. Ussary, ed., *Good Laboratory Practice Standards*. Washington, D.C.: American Chemical Society (Oxford), 1992.

CERTEZA DE CALIDAD/CONTROL DE CALIDAD

9. H. Marchandise, "Quality and Accuracy in Analytical Chemistry", *Fresenius' Anal. Chem.*, **345** (1993) 82.
10. H. Y. Aboul-Enein, R-I. Stefan y G-E. Baiulescu, *Quality and Reliability in Analytical Chemistry*. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2000.
11. F. E. Prichard, *Quality in the Analytical Chemistry Laboratory*. Nueva York: Wiley, 1999.
12. M. Sargent y G. MacKay, eds., *Guidelines for Achieving Quality in Trace Analysis*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemists, 1995 (disponible en la American Chemical Society).
13. J. M. Green, "A Practical Guide to Analytical Method Validation", *Anal. Chem.* **68** (1996) 305A.
14. M. Swartz e I. S. Krull, *Analytical Method Development and Validation*. Nueva York: Marcel Dekker, 1997.
15. L. Huber, *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*. Buffalo Grove, Illinois: Interpharm, 1999.

16. M. Stoeppler, W. R. Wolf y P. S. Jenks, eds., *Reference Materials for Chemical Analysis: Certification, Availability and Proper Usage*. Nueva York: Wiley, 2001.
17. D. G. Rhoads, *Lab Statistics Fun and Easy: A Practical Approach to Method Validation*. Washington, D.C.: AACC (American Association for Clinical Chemistry), 1999.
18. D. A. Sanders, *Passing Your ISO 9000/QS-9000 Audit: A Step-by-Step Guide*. Washington, D.C.: AACC, 1996.
19. R. D. McDowall, "Validation of Spectrometry Software. Part II: Roles of Validation Plan and User Requirement Specifications", *Spectroscopy*, **16** (7) (2001) 30, www.spectroscopyonline.com. Explica los aspectos técnicos del plan de validación y lo que debe incluir.
20. J. Kenkel, *A Primer on Quality in the Analytical Laboratory*, Boca Ratón, Florida: Lewis, 1999.

Capítulo cinco

CÁLCULOS ESTEQUIOMÉTRICOS: EL CABALLO DE BATALLA DEL ANALISTA



La química analítica trata de mediciones de sólidos y su concentración en soluciones, a partir de lo cual se calculan masas. Por tanto, se preparan soluciones de concentraciones conocidas que se pueden usar para calibrar instrumentos o para titular soluciones de muestra. Se calcula la masa del analito en una solución a partir de su concentración y del volumen. Se calcula la masa del producto que se espera de la masa de los reactivos. Todos estos cálculos precisan del conocimiento de la **estequiometría**, es decir, las relaciones en las que reaccionan los productos químicos, a partir de lo cual se aplican factores de conversión adecuados para llegar a los resultados calculados deseados.

En este capítulo se revisan los conceptos fundamentales de masa, moles y equivalentes; las formas en que se pueden expresar los resultados analíticos para sólidos y líquidos, y los principios de análisis volumétrico y cómo se usan las relaciones estequiométricas en las titulaciones para calcular la masa de analito.

La estequiometría trata de las relaciones en las que reaccionan los reactivos.

5.1 Repaso de conocimientos fundamentales

El análisis cuantitativo se basa en unos pocos conceptos fundamentales atómicos y moleculares que se revisarán a continuación. Sin duda esto ya se ha estudiado en un curso general de química, pero aquí se revisan brevemente porque son fundamentales para los cálculos cuantitativos.

LO BÁSICO: PESOS ATÓMICOS, MOLECULARES Y DE FÓRMULA

El peso atómico en gramos para cualquier elemento es el peso de un número específico de átomos de ese elemento, y ese número es el mismo de un elemento a otro. Un peso atómico en gramos para cualquier elemento contiene exactamente el mismo número de átomos de ese elemento como átomos de carbono hay en 12 g exactamente de carbono-12. Éste es el número de Avogadro, 6.023×10^{23} átomos/átomo-gramo en peso.*

* *N. del R. T.*: Una manera diferente de expresar el número de Avogadro (y que causa menos confusiones) es $6.023 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$. El concepto de mol se detalla en seguida.

Como los elementos que existen de manera natural consisten en mezclas de isótopos, los pesos atómicos químicos serán un promedio de los pesos de los isótopos de cada elemento tomando en cuenta su abundancia natural relativa. Así, ninguno de los elementos tiene un peso entero. Por ejemplo, el bromo tiene dos isótopos: ^{79}Br , con peso atómico 78.981338, con abundancia relativa de 100.0, y ^{81}Br , con peso atómico 80.9162921, con abundancia relativa de 97.28 (es decir, 50.69 y 49.31%, respectivamente). Esto da como promedio 79.904, el peso atómico natural que se usa en los cálculos químicos. Otra medición que usan los químicos es **peso molecular en gramos** (gmw, gram-molecular weight), que se define como la suma de los pesos atómicos de los átomos que forman un compuesto. El término **peso fórmula en gramos** (gfw, gram-formula weight) es una descripción más exacta para sustancias que no existen como moléculas sino como compuestos iónicos (electrólitos fuertes: ácidos, bases, sales). Algunas veces se usa el término **masa molar** en vez de peso fórmula en gramos. Aquí se usará simplemente el término **peso fórmula** en todos los cálculos.

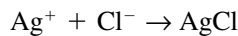
Se usará peso fórmula (p. fórm.) para expresar gramos por mol.

¿QUÉ ES UN DALTON?

Los biólogos y los químicos usan a veces la unidad **dalton** para reportar masas de grandes sustancias proteínicas, como cromosomas, ribosomas, virus y mitocondrias, en las que el término peso molecular sería inadecuado. La masa de un solo átomo de carbono-12 es equivalente a 12 dáltones, y un dalton es, por tanto, 1.661×10^{-24} g, el valor recíproco del número de Avogadro. El número de dáltones en una sola molécula es numéricamente equivalente al peso molecular (g/mol). Hablando estrictamente, no es correcto usar el dalton como unidad de peso molecular, y se debe reservar para los tipos de sustancias que se mencionaron. Por ejemplo, la masa de una célula bacteriana de *Escherichia coli* es alrededor de 1×10^{-12} g, o 6×10^{11} dáltones.

MOLES: LA UNIDAD BÁSICA PARA IGUALAR LAS COSAS

El químico sabe que los átomos y las moléculas reaccionan en proporciones definidas. Por infortunio, no puede contar cómodamente el número de átomos o moléculas que participan en una reacción. Sin embargo, si ha determinado sus masas relativas, puede describir sus reacciones sobre la base de las masas relativas de átomos y moléculas que reaccionan y no del número de átomos y moléculas que lo hacen. Por ejemplo, en la reacción



se sabe que un ion plata se combina con un ion cloruro. Se sabe, además, que como el peso atómico de la plata es 107.870 y el del cloro es 35.453, se combinarán 107.870 unidades de masa de la plata con 35.453 unidades de masa del cloro. Para simplificar los cálculos, los químicos han desarrollado el concepto de **mol**, que es el número de Avogadro (6.023×10^{23}) de átomos, moléculas, iones u otra especie. Numéricamente, es el número atómico, molecular o de fórmula de una sustancia, expresada en **gramos**.¹

Ahora bien, como un mol de cualquier sustancia contiene el mismo número de átomos o moléculas que un mol de cualquiera otra, los átomos reaccionarán en la misma relación molar que la relación atómica en su reacción. En el ejemplo anterior, un ion plata reacciona con un ion cloruro, y así cada mol de ion plata reaccionará con un mol de ion cloruro. (Cada 107.87 g de Ag reaccionarán con 35.453 g de Cl.)

Hay 6.023×10^{23} átomos en un mol de átomos.

¹ En realidad, el término *peso atómico en gramos* es más correcto para los átomos; *peso fórmula en gramos* para sustancias iónicas, y *peso molecular en gramos* para moléculas; pero aquí se usará *moles* en sentido amplio para incluir todas las sustancias. En vez de peso fórmula en gramos, se usará simplemente *peso fórmula* (p. fórm.).



Ejemplo 5.1

Calcular el número de gramos en un mol de $\text{CaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Solución

Un mol es el peso fórmula expresado en gramos. El peso fórmula es

Ca	40.08
S	32.06
11 O	176.00
14 H	14.11
	262.25 g/mol

El número de moles de una sustancia se calcula mediante

$$\text{Moles} = \frac{\text{gramos}}{\text{peso fórmula (g/mol)}} \quad (5.1)$$

donde el peso fórmula representa el peso atómico o molecular de la sustancia.

Por tanto,

$$\text{Moles Na}_2\text{SO}_4 = \frac{\text{g}}{\text{p. fórm.}} = \frac{\text{g}}{142.04 \text{ g/mol}}$$

$$\text{Moles Ag}^+ = \frac{\text{g}}{\text{p. fórm.}} = \frac{\text{g}}{107.870 \text{ g/mol}}$$

Como en muchos experimentos se manejan cantidades muy pequeñas, una forma más conveniente de medir es el **milimol**. La fórmula para calcular milimoles es

$\text{g/mol} = \text{mg/mmol} = \text{peso fórmula}$; $\text{g/L} = \text{mg/mL}$; $\text{mol/L} = \text{mmol/mL} = \text{molaridad}$.

$$\text{Milimoles} = \frac{\text{miligramos}}{\text{peso fórmula (mg/mmol)}} \quad (5.2)$$

Del mismo modo en que se puede calcular el número de moles a partir del gramaje de material, se pueden calcular los gramos de material a partir del número de moles:

$$\begin{aligned} \text{g Na}_2\text{SO}_4 &= \text{moles} \times \text{p. fórm.} = \text{moles} \times 142.04 \text{ g/mol} \\ \text{g Ag} &= \text{moles} \times \text{p. fórm.} = \text{moles} \times 107.870 \text{ g/mol} \end{aligned}$$

De nuevo, en general se trabaja con cantidades de milimoles, de modo que

$$\text{Miligramos} = \text{milimoles} \times \text{peso fórmula (mg/mmol)} \quad (5.3)$$

Obsérvese que g/mol es lo mismo que mg/mmol; g/L es lo mismo que mg/mL, y mol/L es lo mismo que mmol/mL.

Ejemplo 5.2

Calcular el número de moles en 500 mg de Na_2WO_4 (tungstato de sodio).

Solución

$$\frac{500 \text{ mg}}{293.8 \text{ mg/mmol}} \times 0.001 \text{ mol/mmol} = 0.00170 \text{ mol}$$

Ejemplo 5.3

¿Cuántos miligramos hay en 0.250 mmol de Fe_2O_3 (óxido férrico)?

Solución

$$0.250 \text{ mmol} \times 159.7 \text{ mg/mmol} = 39.9 \text{ mg}$$

5.2 ¿Cómo se expresan las concentraciones de las soluciones?

Los químicos expresan las concentraciones de las soluciones de varias maneras, algunas más útiles que otras en los cálculos cuantitativos. Aquí se revisarán las unidades comunes de concentración que usan los químicos. Su uso en cálculos cuantitativos volumétricos se tratará con mayor detalle más adelante.

MOLARIDAD: LA MÁS AMPLIAMENTE USADA

El concepto de mol es útil para expresar concentraciones de soluciones, especialmente en química analítica, donde es necesario conocer las relaciones volumétricas en las que reaccionarán soluciones de diferentes sustancias. Una solución **uno-molar** se define como la que contiene un mol de sustancia en cada litro de esa solución. Ésta se prepara disolviendo un mol de la sustancia en el solvente y diluyendo hasta un volumen final de un litro en un matraz volumétrico, o bien se puede disolver una fracción o un múltiplo del mol y diluirlo hasta la fracción o múltiplo de litro correspondiente (por ejemplo, 0.01 mol en 10 mL). Más generalmente, la **molaridad** de una solución se expresa como moles por litro, o como milimoles por mililitro. Molar se abrevia como *M*, y se habla de la *molaridad* de la solución cuando se menciona su concentración. Una solución uno-molar de nitrato de plata y una solución uno-molar de cloruro de sodio reaccionarán sobre la base de volúmenes iguales, ya que reaccionan en una relación de 1:1: $\text{Ag}^+ + \text{Cl}^- \rightarrow \text{AgCl}$. De manera más general, se pueden calcular los moles de sustancia en cualquier volumen de una solución como sigue

$$\begin{aligned} \text{Moles} &= (\text{moles/litro}) \times \text{litros} \\ &= \text{molaridad} \times \text{litros} \end{aligned}$$

(5.4)

El litro es una unidad poco práctica para las cantidades relativamente pequeñas que se encuentran en las titulaciones, por lo que normalmente se trabaja con mililitros. Esto es lo que mide la bureta, de modo que

En química analítica con frecuencia se trabaja con milimoles. ¡Recuérdese esta fórmula!

$$\begin{aligned}\text{Milimoles} &= \text{molaridad} \times \text{mililitros} \\ (\text{o } \text{mmol} &= M \times \text{mL})\end{aligned}\quad (5.5)$$

Ejemplo 5.4

Se prepara una solución disolviendo 1.26 g de AgNO_3 en un matraz volumétrico de 250 mL y diluyendo a volumen. Calcular la molaridad de la solución de nitrato de plata. ¿Cuántos milimoles de AgNO_3 se disolvieron?

Solución

$$M = \frac{1.26 \text{ g}/169.9 \text{ g/mol}}{0.250 \text{ L}} = 0.0297 \text{ mol/L (o } 0.0297 \text{ mmol/mL)}$$

Entonces,

$$\text{Milimoles} = (0.0297 \text{ mmol/mL})(250 \text{ mL}) = 7.42 \text{ mmol}$$

Es importante recordar que *las unidades en un cálculo se deben combinar para dar las unidades correctas en la respuesta*. Así, en este ejemplo, los gramos se cancelan para dejar la unidad correcta, moles/litro, o molaridad. El uso de unidades en el cálculo para verificar si las unidades finales son correctas se llama **análisis dimensional**. El uso exacto del análisis dimensional es esencial para configurar correctamente los cálculos.

Siempre se debe usar análisis dimensional para configurar correctamente un cálculo. No se trata sólo de memorizar una fórmula.

Ejemplo 5.5

¿Cuántos gramos por mililitro de NaCl contiene una solución 0.250 M ?

Solución

$$0.250 \text{ mol/L} = 0.250 \text{ mmol/mL}$$

$$0.250 \text{ mmol/mL} \times 58.4 \text{ mg/mmol} \times 0.001 \text{ g/mg} = 0.0146 \text{ g/mL}$$

Ejemplo 5.6

¿Cuántos gramos de Na_2SO_4 se deben pesar para preparar 500 mL de una solución 0.100 M ?

Solución

$$500 \text{ mL} \times 0.100 \text{ mmol/mL} = 50.0 \text{ mmol}$$

$$50.0 \text{ mmol} \times 142 \text{ mg/mmol} \times 0.001 \text{ g/mg} = 7.10 \text{ g}$$



Ejemplo 5.7

Calcular la concentración de ion potasio en gramos por litro después de mezclar 100 mL de KCl 0.250 M y 200 mL de K₂SO₄ 0.100 M.

Solución

$$\begin{aligned}
 \text{mmol K}^+ &= \text{mmol KCl} + 2 \times \text{mmol K}_2\text{SO}_4 \\
 &= 100 \text{ mL} \times 0.250 \text{ mmol/mL} \\
 &\quad + 2 \times 200 \text{ mL} \times 0.100 \text{ mmol/mL} \\
 &= 65.0 \text{ mmol en 300 mL} \\
 \frac{65.0 \text{ mmol} \times 39.1 \text{ mg/mmol} \times 0.001 \text{ g/mg} \times 1\,000 \text{ mL/L}}{300 \text{ mL}} &= 8.47 \text{ g/L}
 \end{aligned}$$

El peso equivalente (o el número de unidades reaccionantes) depende de la reacción química. Puede variar más a menudo en las reacciones redox, cuando se obtienen diferentes productos.

NORMALIDAD

Aunque la molaridad se usa extensamente en química, algunos químicos usan una unidad de concentración en análisis cuantitativo que se llama **normalidad** (*N*). Una solución **uno-normal** contiene un equivalente por litro. Un **equivalente** representa la masa de material que da un *número de Avogadro de unidades reaccionantes*. Una unidad reaccionante es un *protón* o un *electrón* (véanse la sección 5.6, ecuaciones 5.40 y 5.41). El número de equivalentes está dado por el número de moles multiplicado por el número de unidades reaccionantes por molécula o átomo; el **peso equivalente** es el peso fórmula dividido entre el número de unidades reaccionantes. La tabla 5.1 presenta una lista de unidades reaccionantes que se usan para diferentes tipos de reacciones. Para los ácidos y las bases, el número de unidades reaccionantes se basa en el número de protones (es decir, iones hidrógeno) que un ácido aporta o con el que una base reacciona; para las reacciones de oxidorreducción, éste se basa en el número de electrones que un agente oxidante o reductor toma o aporta. Así, por ejemplo, el ácido sulfúrico, H₂SO₄, tiene dos unidades reaccionantes o protones; es decir, hay dos equivalentes de protones en cada mol. Por tanto,

$$\text{Peso equivalente} = \frac{98.08 \text{ g/mol}}{2 \text{ eq/mol}} = 49.04 \text{ g/eq}$$

g/eq = mg/meq = peso equivalente; eq/L = meq/mL = normalidad.

De esta manera, la normalidad de una solución de ácido sulfúrico es el doble de su molaridad, es decir, $N = (\text{g/peso eq})/\text{L}$. El número de equivalentes está dado por

$$\text{Núm. de equivalentes (eq)} = \frac{\text{peso (g)}}{\text{peso eq. (g/eq)}} = \text{normalidad (eq/L)} \times \text{volumen (L)} \quad (5.6)$$

Tabla 5.1

Unidades reaccionantes en diferentes procesos químicos

Tipo de reacción	Unidad reaccionante
Ácido-base	H ⁺
Oxidación-reducción	Electrón

Igual que con la molaridad, en general se trabaja con cantidades de miliequivalentes, y

$$\text{meq} = \frac{\text{mg}}{\text{peso eq (mg/meq)}} = \text{normalidad (meq/mL)} \times \text{mL} \quad (5.7)$$

En química clínica, los equivalentes se definen a menudo en términos del número de cargas en un ion más que en el número de unidades reaccionantes. Así, por ejemplo, el peso equivalente de Ca^{2+} es la mitad de su peso atómico, y el número de equivalentes es el doble de moles. Este uso es conveniente para los cálculos de electroneutralidad. Los equivalentes se explican con mayor detalle en la sección 5.3.

Aunque la normalidad se ha usado ampliamente en el pasado y se encuentra en la literatura científica, no se usa en forma tan extensa en la actualidad como la molaridad. En la sección 5.6 se analiza la normalidad, para aquellos que sí la usan. En la mayor parte de este texto se usarán moles y molaridad, de modo que no habrá ambigüedad sobre lo que representa la concentración. Los cálculos de molaridad exigen un conocimiento de la estequiometría de las reacciones, es decir, la relación en la que reaccionan las sustancias. La revista *Analytical Chemistry* no permite usar la normalidad en los artículos que publica, pero otras publicaciones sí lo hacen.

No hay ambigüedad en una concentración molar.

FORMALIDAD EN VEZ DE MOLARIDAD

Los químicos usan algunas veces el término **formalidad** para soluciones de sales iónicas que no existen como moléculas en estado sólido ni en solución. La concentración se da como **formal** (*F*). De manera operativa, la formalidad es idéntica a la molaridad: la primera se reserva algunas veces para describir las concentraciones de composición de las soluciones (es decir, la concentración analítica total), y la segunda para concentraciones de equilibrio. Por conveniencia, se usará sólo la molaridad, una práctica común.

La formalidad es numéricamente igual a la molaridad.

MOLALIDAD: LA CONCENTRACIÓN INDEPENDIENTE DE LA TEMPERATURA

Además de la molaridad y la normalidad, otra unidad útil de concentración es la **molalidad**, *m*. Una solución uno-**molal** contiene un mol por 1 000 g de **disolvente**. La concentración molal es conveniente en mediciones fisicoquímicas de las propiedades coligativas de las sustancias, como el abatimiento del punto de congelación, la disminución de la presión de vapor y la presión osmótica porque las propiedades dependen sólo del número de partículas de soluto presentes en la solución por mol de disolvente. Las concentraciones molales no dependen de la temperatura como las concentraciones molares y las normales (ya que el volumen del disolvente en las concentraciones molares y normales depende de la temperatura).

La molalidad no cambia con la temperatura.

CÁLCULOS DE DENSIDAD. ¿CÓMO SE CONVIERTE A MOLARIDAD?

Las concentraciones de muchos ácidos y bases comerciales bastante concentrados se dan por lo regular en términos de porcentaje en peso. A menudo es necesario preparar soluciones de una molaridad aproximada dada de estas sustancias. Para hacer esto, se debe conocer la densidad con objeto de calcular la molaridad. **Densidad** es el peso por unidad de volumen a una temperatura especificada, que por lo regular es g/mL o g/cm³ a 20°C (un mililitro es el volumen que ocupa 1 cm³).

Algunas veces, las sustancias aparecen en las listas con **gravedad específica** en vez de densidad. La gravedad específica se define como la relación de la masa de un cuerpo (por ejemplo, una solución), por lo regular a 20°C a la masa de un volumen igual de agua a 4°C (o algunas veces a 20°C). Es decir, la gravedad específica es una *relación de las densidades de las dos sustancias*. Es una cantidad adimensional. Como la densidad del agua a 4°C es 1.00000 g/mL, la densidad y la gravedad específica son iguales cuando se refie-

ren al agua a 4°C. Cuando la gravedad específica se refiere a agua a 20°C, la densidad es igual a la gravedad específica $\times$ 0.99821 (la densidad del agua es 0.99821 g/mL a 20°C).

Para 4°C como referencia:

$$\begin{aligned}\text{Gravedad específica} &= \frac{\text{g/mL de solución } (T^{\circ}\text{C})}{\text{g/mL de H}_2\text{O } (4^{\circ}\text{C}) \text{ (es decir, 1.0000 g/mL)}} \\ &= 1.0000 \text{ a } 4^{\circ}\text{C} \text{ (para soluciones diluidas con densidad cercana a la del agua: } D_{\text{H}_2\text{O}} = 1.0000 \text{ g/mL)} \\ &= 0.99820 \text{ a } 20^{\circ}\text{C} \text{ (} D_{\text{H}_2\text{O}} = 0.99820 \text{ g/mL)}\end{aligned}$$

(Para $T^{\circ}\text{C}$, densidad de la solución = gravedad específica $\times$ 1.0000)

Para 20°C como referencia:

$$\begin{aligned}\text{Gravedad específica} &= \frac{\text{g/mL de solución } (T^{\circ}\text{C})}{\text{g/mL de H}_2\text{O } (20^{\circ}\text{C}) \text{ (es decir, 0.99820 g/mL)}} \\ &= 1.0000 \text{ a } 20^{\circ}\text{C} \text{ (para soluciones diluidas: } D_{\text{H}_2\text{O}} = 0.99820 \text{ g/mL)} \\ &= 1.0018 \text{ a } 4^{\circ}\text{C} \text{ (} D_{\text{H}_2\text{O}} = 1.0000 \text{ g/mL)}\end{aligned}$$

(Para $T^{\circ}\text{C}$, densidad de la solución = gravedad específica $\times$ 0.99820)

Ejemplo 5.8

¿Cuántos mililitros de ácido sulfúrico concentrado, de 94.0% (g/100 g de solución), densidad 1.831 g/cm³, se necesitan para preparar 1 litro de solución 0.100 M?

Solución

Considerar 1 cm³ = 1 mL. El ácido concentrado contiene 0.940 g de H₂SO₄ por gramo de solución y la solución pesa 1.831 g/mL. El producto de estos dos números, entonces, da los gramos de H₂SO₄ por mililitro de solución:

$$\begin{aligned}M &= \frac{(0.940 \text{ g H}_2\text{SO}_4/\text{g solución})(1.831 \text{ g/mL})}{98.1 \text{ g/mol}} \times 1\,000 \text{ mL/L} \\ &= 17.5 \text{ mol H}_2\text{SO}_4/\text{L solución}\end{aligned}$$

Se debe diluir esta solución para preparar 1 litro de solución 0.100 M. Se debe tomar el mismo número de milimoles de H₂SO₄ que contendrá la solución final. Como mmol = $M \times \text{mL}$, y mmol de ácido diluido = mmol de ácido concentrado,

$$0.100 \text{ M} \times 1\,000 \text{ mL} = 17.5 \text{ M} \times \text{mL}$$

$$x = 5.71 \text{ mL de ácido concentrado que se deben diluir en } 1\,000 \text{ mL}^*$$

* *N. del R. T.*: La transformación de concentración porcentual en masa en molaridad puede llevarse a cabo mediante una fórmula de fácil memorización: $M = 10 C \rho / M$, donde C es la concentración porcentual en masa (debe introducirse a esta ecuación en “%”) (en este ejercicio, 94 y no 0.9), ρ es la densidad (introdúzcase en g/mL) y M es el peso fórmula (en g/mol). Deben respetarse todas estas indicaciones con respecto a las unidades para que M quede en moles/L: la constante 10 es un factor de ajuste que se encarga precisamente de que así ocurra.

La molaridad y la normalidad son las concentraciones más útiles en el análisis cuantitativo. En seguida se explican cálculos que las usan para análisis volumétricos.

Véanse las secciones 5.5 y 5.6 para cálculos volumétricos usando molaridad o normalidad.

CONCENTRACIONES ANALÍTICAS Y DE EQUILIBRIO: NO SON LO MISMO

Los químicos analíticos preparan soluciones de concentraciones analíticas conocidas, pero las sustancias disueltas pueden disociarse parcial o totalmente para dar concentraciones de equilibrio de diferentes especies. El ácido acético, por ejemplo, es un ácido débil que se disocia unos pocos puntos porcentuales, dependiendo de la concentración.



para dar cantidades de equilibrio del protón y del ion acetato. Cuanto más diluidas sean las soluciones, mayor será la disociación. Con frecuencia se usan estas concentraciones de equilibrio en cálculos que incluyen constantes de equilibrio (véase el capítulo 6), por lo general usando concentraciones en molaridad. La **molaridad analítica** se representa como C_x , en tanto que la **molaridad de equilibrio** está dada por $[X]$. Una solución de CaCl_2 1 M (molaridad analítica) da en el equilibrio CaCl_2 0 M, Ca^{2+} 1 M y Cl^- 2 M (molaridades de equilibrio). Por tanto, se dice que la solución es 1 M en Ca^{2+} .

La concentración analítica representa la concentración total de la sustancia disuelta, es decir, la suma de todas las especies de la sustancia en solución = C_x .

Una concentración de equilibrio es la de una forma disuelta dada de la sustancia = $[X]$.

DILUCIONES: PREPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN CORRECTA

A menudo se preparan soluciones diluidas a partir de soluciones primarias más concentradas. Por ejemplo, se puede preparar una solución de HCl diluida a partir de HCl concentrado para uso en titulaciones (después de estandarización). O se puede tener una solución primaria estándar a partir de la cual se podrá preparar una serie de soluciones estándar más diluidas. Los milimoles de la solución primaria tomados para dilución serán idénticos a los milimoles de la solución final diluida.

Los milimoles que se toman para dilución serán los mismos que los milimoles en la solución diluida, es decir $M_{\text{primaria}} \times \text{mL}_{\text{primarios}} = M_{\text{diluida}} \times \text{mL}_{\text{diluidos}}$

Ejemplo 5.9

Se va a preparar una curva de calibración para determinación espectrofotométrica de permanganato. Se cuenta con una solución primaria 0.100 M de KMnO_4 y una serie de matraces volumétricos de 100 mL. ¿Qué volúmenes de solución primaria se tendrá que pipetear en los matraces para preparar estándares de soluciones de KMnO_4 1.00, 2.00, 5.00 y 10.0×10^{-3} M?

Solución

100 mL de solución 1.00×10^{-3} M de KMnO_4 contendrán

$$100 \text{ mL} \times 1.00 \times 10^{-3} \text{ mmol/mL} = 0.100 \text{ mmol KMnO}_4$$

Se debe pipetear esta cantidad de la solución primaria.

$$0.100 \text{ mmol/mL} \times x \text{ mL} = 0.100 \text{ mmol}$$

$$x = 1.00 \text{ mL de solución primaria}$$

De igual manera, para las otras soluciones se necesitarán 2.00, 5.00 y 10.0 mL de solución primaria, que se diluirán a 100 mL.

Ejemplo 5.10

Se analiza una muestra de mineral para determinar contenido de manganeso, disolviéndola y oxidando el manganeso a permanganato para medición espectrofotométrica. El mineral contiene alrededor de 5% de Mn. Se disuelve una muestra de 5 g y se diluye a 100 mL después del paso de oxidación. ¿Qué tanto se debe diluir la solución para que quede dentro del rango de la curva de calibración que se preparó en el ejemplo 5.9; es decir, alrededor de $3 \times 10^{-3} M$ de permanganato?

Solución

La solución contiene $0.05 \times 5 \text{ g de muestra} = 0.25 \text{ g de Mn}$. Esto corresponde a $0.25 \text{ g} / (55 \text{ g Mn/mol}) = 4.5 \times 10^{-3} \text{ mol MnO}_4^- / 100 \text{ mL} = 4.5 \times 10^{-3} M$. Para $3 \times 10^{-3} M$, se debe diluir $4.5 \times 10^{-2} / 3 \times 10^{-3} = 15$ veces. Si se tiene un matraz volumétrico de 100 mL,

$$4.5 \times 10^{-2} M \times x \text{ mL} = 3 \times 10^{-3} M \times 100 \text{ mL}$$

$$x = 6.7 \text{ mL necesarios para dilución a 100 mL}$$

Como se necesita pipetear con exactitud, tal vez se podría tomar una alícuota exacta de 10 mL, que daría alrededor de $4.5 \times 10^{-3} M$ de permanganato para la medición.

MÁS CÁLCULOS DE DILUCIONES

Recuérdese: los milimoles son los mismos antes y después de diluir.

Se puede usar la relación $M \times \text{mL} = \text{mmol}$ para calcular la dilución que se requiere para preparar una concentración dada de una solución a partir de una solución más concentrada. Por ejemplo, si se desea preparar 500 mL de solución $0.100 M$ diluyendo una solución más concentrada, se pueden calcular los milimoles de la solución que deberán tomarse. A partir de esto, se puede calcular el volumen de la solución más concentrada para diluirla a 500 mL.

Ejemplo 5.11

Se desea preparar 500 mL de una solución $0.100 M$ de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a partir de una solución $0.250 M$. ¿Qué volumen de la solución $0.250 M$ se debe diluir a 500 mL?

Solución

$$M_{\text{final}} \times \text{mL}_{\text{final}} = M_{\text{original}} \times \text{mL}_{\text{original}}$$

$$0.100 \text{ mmol/mL} \times 500 \text{ mL} = 0.250 \text{ mmol/mL} \times \text{mL}_{\text{original}}$$

$$\text{mL}_{\text{original}} = 200 \text{ mL}$$

Ejemplo 5.12

¿Qué volumen de solución $0.40 M$ de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ se debe agregar a 50 mL de NaOH $0.30 M$ para dar una solución $0.50 M$ en OH^- ?

Solución

Sea $x = \text{mL Ba(OH)}_2$. El volumen final es $(50 + x) \text{ mL}$

$$\text{mmol OH}^- = \text{mmol NaOH} + 2 \times \text{mmol Ba(OH)}_2$$

$$0.50 \text{ M} \times (50 + x) \text{ mL} = 0.30 \text{ M NaOH} \times 50 \text{ mL} + 2 \times 0.40 \text{ M Ba(OH)}_2 \times x \text{ mL}$$

$$x = 33 \text{ mL Ba(OH)}_2$$

Con frecuencia el analista tiene que manejar diluciones seriales de una muestra o solución estándar. De nuevo, para obtener la concentración final simplemente se debe seguir la pista del número de milimoles y de los volúmenes.

Ejemplo 5.13

Se debe determinar el contenido de hierro en una muestra mediante espectrofotometría, haciendo reaccionar Fe^{2+} con 1,10-fenantrolina para que la solución tome un color naranja. Para esto es necesario preparar una serie de estándares contra los cuales se pueda comparar la absorbencia o intensidad de color (es decir, se debe obtener una curva de calibración). Se elabora así una solución primaria de hierro $1.000 \times 10^{-3} \text{ M}$ con sulfato de hierro(II) y amonio. Se preparan los estándares de trabajo A y B agregando con la pipeta 2.000 y 1.000 mL, respectivamente, de esta solución a matraces volumétricos de 100 mL y se diluye a volumen. Los estándares de trabajo C, D y E se preparan agregando 20.00, 10.000 y 5.000 mL del estándar de trabajo A a matraces volumétricos de 100 mL y se diluyen a volumen. ¿Cuáles son las concentraciones de las soluciones de trabajo que se prepararon?

Solución

$$\begin{aligned} \text{Solución A: } M_{\text{primaria}} \times \text{mL}_{\text{primaria}} &= M_A \times \text{mL}_A \\ (1.000 \times 10^{-3} \text{ M})(2.000 \text{ mL}) &= M_A \times 100.0 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$M_A = 2.000 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$\text{Solución B: } (1.000 \times 10^{-3} \text{ M})(1.000 \text{ mL}) = M_B \times 100.0 \text{ mL}$$

$$M_B = 1.000 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$\text{Solución C: } M_A \times \text{mL}_A = M_C \times \text{mL}_C$$

$$(2.000 \times 10^{-5} \text{ M})(20.00 \text{ mL}) = M_C \times 100.0 \text{ mL}$$

$$M_C = 4.000 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$\text{Solución D: } (2.000 \times 10^{-5} \text{ M})(10.00 \text{ mL}) = M_D \times 100.0 \text{ mL}$$

$$M_D = 2.000 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$\text{Solución E: } (2.000 \times 10^{-5} \text{ M})(5.000 \text{ mL}) = M_E \times 100.0 \text{ mL}$$

$$M_E = 1.000 \times 10^{-6} \text{ M}$$

Estos cálculos se aplican a todos los tipos de reacciones, incluyendo ácido-base, redox, precipitación y reacciones complejométricas. El requisito principal antes de hacer los cálculos es saber la relación en la que reaccionan las sustancias, es decir, comenzar con una reacción balanceada.

Los procedimientos de preparación de soluciones en la literatura química a menudo indican la dilución de soluciones primarias concentradas, y los autores pueden usar diferentes términos. Por ejemplo, un procedimiento puede indicar dilución 1 + 9 (soluto +

El método de dilución “soluto + disolvente” no se debe usar para diluciones cuantitativas.

disolvente) de ácido sulfúrico. O se puede indicar una dilución 1:10 (volumen original: volumen final). El primer procedimiento pide diluir una solución concentrada a 1/10 de su concentración original agregando 1 parte a 9 partes de disolvente; el segundo procedimiento requiere diluir a 10 veces el volumen original. El primer procedimiento no da una dilución de exactamente 10 veces porque los volúmenes no son por completo aditivos, en tanto que el segundo sí la da (por ejemplo, agregar con pipeta 10 mL a un matraz volumétrico de 100 mL y diluir a volumen. ¡Se debe llenar parcialmente con agua antes de agregar el ácido sulfúrico!). El método soluto + disolvente es bueno para reactivos cuya concentración no es necesario conocer con exactitud.

5.3 Expresiones de resultados analíticos: hay muchas formas

Y = yotta = 10^{24}
 Z = zetta = 10^{21}
 E = exa = 10^{18}
 P = peta = 10^{15}
 T = tera = 10^{12}
 G = giga = 10^9
 M = mega = 10^6
 k = kilo = 10^3
 d = deci = 10^{-1}
 c = centi = 10^{-2}
 m = mili = 10^{-3}
 μ = micro = 10^{-6}
 n = nano = 10^{-9}
 p = pico = 10^{-12}
 f = femto = 10^{-15}
 a = atto = 10^{-18}
 z = zepto = 10^{-21}
 y = yocto = 10^{-24}

La masa y el peso en realidad son diferentes. Véase el capítulo 2. En lo sucesivo se hará referencia a masas, pero se usarán las expresiones masa y peso en forma indistinta.

Hay muchas formas de dar a conocer los resultados de los análisis, y el químico analista principiante debe familiarizarse con algunas de las expresiones y unidades de medida que suelen emplearse. Casi siempre, los resultados se dan en *concentración*, ya sea con base en peso o en volumen: la cantidad de analito por unidad de peso o por volumen de muestra. Las unidades que se usan para el analito varían.

Primero se revisarán las unidades comunes de peso y volumen en el sistema métrico, y posteriormente se describirán métodos para expresar los resultados. El gramo (g) es la unidad básica de masa, y es la unidad que más a menudo se utiliza en los macroanálisis. Para pequeñas muestras o componentes en trazas, los químicos usan unidades más pequeñas. El miligramo (mg) es 10^{-3} g; el microgramo (μg) es 10^{-6} g y el nanogramo (ng) es 10^{-9} g. La unidad básica de volumen es el litro (L). El mililitro (mL) es 10^{-3} L, y se usa comúnmente en el análisis volumétrico. El microlitro (μL) es 10^{-6} L (10^{-3} mL), y el nanolitro (nL) es 10^{-9} L (10^{-6} mL) (los prefijos para cantidades aún menores incluyen pico para 10^{-12} y femto para 10^{-15}).

MUESTRAS SÓLIDAS

Los cálculos para muestras sólidas se basan en el peso.² La forma más común de expresar los resultados de macrodeterminaciones es dar el peso del analito como **porcentaje** del peso de la muestra (base peso/peso). Las unidades de peso del analito y la muestra son las mismas. Por ejemplo, una muestra de piedra caliza que pesa 1.267 g y que contiene 0.3684 g de hierro contendría

$$\frac{0.3684 \text{ g}}{1.267 \text{ g}} \times 100\% = 29.08\% \text{ Fe}$$

La fórmula general para calcular el porcentaje sobre la base peso/peso, que es lo mismo como partes por ciento, es entonces

$$\% \text{ (peso/peso)} = \left[\frac{\text{peso del soluto (g)}}{\text{peso de la muestra (g)}} \right] \times 10^2 (\%/g \text{ soluto}/g \text{ muestra}) \quad (5.8)$$

Es importante observar que en estos cálculos, los gramos de soluto *no* se cancelan con los gramos de solución; las fracciones representan gramos de soluto por gramo de muestra. La multiplicación por 10^2 (gramos de muestra por gramo de soluto) convierte a gramos de soluto por 100 g de muestra. Como los factores de conversión para convertir peso de soluto y peso de la muestra (pesos expresados en cualquier unidad) a gramos de solutos y gramos

² En realidad se basan en la masa, pero el término *peso* se usa comúnmente. Véase el capítulo 2 para una descripción y determinación de masa y peso.

de muestra son siempre los mismos, los factores de conversión siempre se cancelan. Así, podemos usar cualquier peso en la definición.

Las concentraciones a nivel de trazas por lo regular se dan en unidades más pequeñas, como **partes por mil** (ppt según el sistema norteamericano o ‰), **partes por millón** (ppm) o **partes por billón** (ppb, donde un billón representa aquí 10^9). Éstas se calculan de manera similar a las partes por ciento (%):

1 ppt (miles o 10^{12}) =
1 000 ppm = 1 000 000 ppb
(10^9); 1 ppm = 1 000 ppb =
1 000 000 ppt (billones).

$$\text{pt (peso/peso)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{peso muestra (g)}} \right] \times 10^3 \text{ (ppt/g de soluto/g de muestra)} \quad (5.9)$$

$$\text{ppm (peso/peso)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{peso muestra (g)}} \right] \times 10^6 \text{ (ppm/g de soluto/g de muestra)} \quad (5.10)$$

$$\text{ppb (peso/peso)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{peso muestra (g)}} \right] \times 10^9 \text{ (ppb/g de soluto/g de muestra)} \quad (5.11)$$

Se puede usar cualesquiera unidades de peso en los cálculos, siempre y cuando el peso del analito y el de la muestra estén en las mismas unidades. **Partes por trillón** (partes por 10^{12}) se abrevia también ppt, por lo que se debe ser cuidadoso para definir a cuál de las dos se refiere. En el ejemplo anterior, se tiene 29.08 partes por cien de hierro en la muestra, o 290.8 partes por mil; 2 908 partes por diez mil; 29 080 por cien mil, y 290 800 partes por millón (290 800 g de hierro por 1 millón de gramos de muestra; 290 800 lb de hierro por millón de libras de muestra, etc.). Calculando a la inversa, 1 ppm corresponde a 0.0001 partes por 100, o $10^{-4}\%$. La tabla 5.2 resume las relaciones de concentración para ppm y ppb. Obsérvese que ppm es simplemente mg/kg, o $\mu\text{g/g}$, y que ppb es $\mu\text{g/kg}$, o ng/g.

ppt = mg/g = g/kg
ppm = $\mu\text{g/g}$ = mg/kg
ppb = ng/g = $\mu\text{g/kg}$

Ejemplo 5.14

Se analizó una muestra de tejido vegetal de 2.6 g y se encontró que contenía $3.6 \mu\text{g}$ de zinc. ¿Cuál es la concentración de zinc en la planta en ppm? ¿Y en ppb?

Solución

$$\frac{3.6 \mu\text{g}}{2.6 \text{ g}} = 1.4 \mu\text{g/g} \equiv 1.4 \text{ ppm}$$

$$\frac{3.6 \times 10^3 \text{ ng}}{2.6 \text{ g}} = 1.4 \times 10^3 \text{ ng/g} \equiv 1\,400 \text{ ppb}$$

Una ppm es igual a 1 000 ppb. Una ppb es igual a $10^{-7}\%$.

Tabla 5.2

Unidades comunes para expresar concentraciones traza

Unidad	Abreviatura	peso/peso	peso/vol	vol/vol
Partes por millón (1 ppm = $10^{-4}\%$)	ppm	mg/kg $\mu\text{g/g}$	mg/L $\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{L/L}$ nL/mL
Partes por billón (1 ppb = $10^{-7}\%$ = 10^{-3} ppm)	ppb	$\mu\text{g/kg}$ ng/g	$\mu\text{g/L}$ ng/mL	nL/L pL/mL ^a
Porcentaje en miligramos	mg%	mg/100 g	mg/100 mL	

^a pL = picolitro = 10^{-12} L.

Los químicos clínicos a veces prefieren usar la unidad **por ciento en miligramos** (mg%) en vez de ppm para pequeñas concentraciones. Esta unidad se define como miligramos de analito por 100 g de muestra. La muestra del ejemplo 5.14 contendría $(3.6 \times 10^{-3} \text{ mg}/2.6 \text{ g}) \times 100 \text{ mg\%} = 0.14 \text{ mg\%}$ de zinc.

MUESTRAS LÍQUIDAS

Un decilitro es 0.1 L o 100 mL.

Se pueden informar los resultados para muestras líquidas sobre la base peso/peso, como en lo que antecede, o sobre la **base peso/volumen**. Lo segundo es tal vez más común, por lo menos en el laboratorio clínico. Los cálculos son similares a los anteriores. El porcentaje sobre la base peso/volumen es igual a gramos de analito por 100 mL de muestra, en tanto que mg% es igual a miligramos del analito por 100 mL de muestra. Esta última unidad la usan con frecuencia los químicos clínicos para fluidos biológicos y su terminología aceptada es *miligramos por decilitro* (mg/dL) para distinguir de mg% sobre la base peso/peso. Siempre que una concentración se exprese como porcentaje debe especificarse, si no está claro, si la base es peso/vol o peso/peso. Las partes por millón, por billón o por trillón también se pueden expresar sobre la base de peso/volumen; ppm se calcula como mg/L o $\mu\text{g/mL}$; ppb (sobre la base de 10^9) se calcula como $\mu\text{g/L}$ o ng/mL, y ppt (sobre la base de 10^{12}) se calcula como pg/mL o ng/L. También se pueden usar los siguientes cálculos fundamentales:

$$\begin{aligned}\text{ppm} &= \mu\text{g/mL} = \text{mg/L} \\ \text{ppb} &= \text{ng/mL} = \mu\text{g/L} \\ \text{ppt} &= \text{pg/mL} = \text{ng/L}\end{aligned}$$

$$\% \text{ (peso/vol)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{vol muestra (mL)}} \right] \times 10^3 \text{ (\%/g de soluto/mL de muestra)} \quad (5.12)$$

$$\text{ppm (peso/vol)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{vol muestra (mL)}} \right] \times 10^6 \text{ (ppm/g de soluto/mL de muestra)} \quad (5.13)$$

$$\text{ppb (peso/vol)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{vol muestra (mL)}} \right] \times 10^9 \text{ (ppb/g de soluto/mL de muestra)} \quad (5.14)$$

$$\text{ppt (peso/vol)} = \left[\frac{\text{peso soluto (g)}}{\text{vol muestra (mL)}} \right] \times 10^{12} \text{ ppt/g de soluto/mL de muestra} \quad (5.15)$$

Obsérvese que % (peso/vol) no es libras/100 gal de solución; las unidades se deben expresar en gramos de soluto y mililitros de solución.

Ejemplo 5.15

Se analizó una muestra de suero de 25.0 μL para determinar contenido de glucosa y se encontró que contenía 26.7 μg . Calcular la concentración de glucosa en ppm y en mg/dL.

Solución

$$25.0 \cancel{\mu\text{L}} \times \frac{1 \text{ mL}}{1\,000 \cancel{\mu\text{L}}} = 2.50 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

$$26.7 \cancel{\mu\text{g}} \times \frac{1 \text{ g}}{10^5 \cancel{\mu\text{g}}} = 2.67 \times 10^{-5} \text{ g}$$

$$\text{ppm} = \frac{2.67 \times 10^{-5} \text{ g glucosa}}{2.50 \times 10^{-2} \text{ mL suero}} \times 10^6 \mu\text{g/g} = 1.07 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$$

o

$$\frac{26.7 \mu\text{g glucosa}}{0.0250 \text{ mL suero}} = 1.07 \times 10^3 \mu\text{g/mL} = \text{ppm}$$

$$\text{mg/dL} = \frac{26.7 \mu\text{g glucosa} \times 10^{-3} \text{ mg}/\mu\text{g}}{0.025 \text{ mL suero}} \times 100 \text{ mL/dL} = 107 \text{ mg/dL}$$

[Obsérvese la relación entre ppm (peso/vol) y mg/dL.]

¿Cuánto representa 1 ppm en términos de moles por litro? Depende del peso fórmula, pero se puede ver la relación *aproximada* entre las concentraciones en partes por millón (o partes por billón) y en moles por litro suponiendo un peso fórmula de 100 para un analito. Entonces, como $1 \text{ ppm} = 10^{-3} \text{ g/L}$, es igual a $(10^{-3} \text{ g/L})(10^2 \text{ g/mol}) = 10^{-5} \text{ mol/L}$. Del mismo modo, $1 \text{ ppb} = 10^{-8} \text{ mol/L}$. Obsérvese que esta última concentración es más pequeña que la concentración de iones hidrógeno en el agua pura (10^{-7} mol/L). Por supuesto, esta relación es aproximada y varía con el peso fórmula. Las soluciones de una parte por millón de zinc y de cobre, por ejemplo, no tienen la misma molaridad. Inversamente, soluciones de igual molaridad de diferentes especies no son iguales en términos de ppm a menos que los pesos fórmula sean iguales. La primera concentración se basa en el número de moléculas por unidad de volumen, en tanto que la segunda se basa en el peso de la especie por unidad de volumen.

A continuación se harán algunas conversiones reales usando pesos fórmula reales. Comenzando con una solución que contiene 2.5 ppm de benceno, el peso fórmula (C_6H_6) es 78.1. La concentración en moles por litro es $(2.5 \times 10^{-3} \text{ g/L})/(78 \text{ g/mol}) = 3.8 \times 10^{-5} \text{ g/mol}$. Otra solución contiene $5.8 \times 10^{-8} \text{ M}$ de plomo. La concentración en partes por billón es $(5.8 \times 10^{-8} \text{ mol/L})(207 \text{ g/mol}) = 1.2_0 \times 10^{-5} \text{ g/L}$. Para partes por billón ($\mu\text{g/L}$), entonces $(1.2_0 \times 10^{-5} \text{ g/L})/(10^6 \mu\text{g/g}) = 1.2_0 \times 10^1 \text{ mg/L} = 12 \text{ ppb}$. Una muestra de agua de beber que contenga 350 $\mu\text{g/L}$ de tetracloruro de carbono tiene una concentración en partes por trillón (ng/L) de $(350 \times 10^{-12} \text{ g/L})/(10^9 \text{ ng/g}) = 350 \times 10^{-3} \text{ ng/L} = 0.35 \text{ ppt}$. La concentración molar es $(350 \times 10^{-12} \text{ g/L})/(154 \text{ g/mol}) = 2.3 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$ (el agua tratada con cloro puede contener trazas de hidrocarburos clorados, lo cual sigue siendo muy bajo).

Un punto clave que se debe recordar es que las soluciones de iguales concentraciones sobre la base de peso/peso o peso/volumen no tienen el mismo número de moléculas ni de especies reaccionantes, pero las soluciones de la misma molaridad sí lo tienen.

Para un peso fórmula de 100:
 $1 \text{ ppm} = 10^{-5} \text{ M}$
 $1 \text{ ppb} = 10^{-8} \text{ M}$ (según el sistema norteamericano)

Ejemplo 5.16

- a) Calcular la concentración molar de soluciones, de 1.00 ppm cada una, de Li^+ y Pb^{2+} .
 b) ¿Qué peso de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ tendrá que disolverse en 1 L de agua para preparar una solución de 100 ppm de Pb^{2+} ?

Solución

- a) Concentración de $\text{Li} = 1.00 \text{ ppm} = 1.00 \text{ mg/L}$. Concentración de $\text{Pb} = 1.00 \text{ ppm} = 1.00 \text{ mg/L}$

$$M_{\text{Li}} = \frac{1.00 \text{ mg Li/L} \times 10^{-3} \text{ g/mg}}{6.94 \text{ g Li/mol}} = 1.44 \times 10^{-4} \text{ mol/L Li}$$

$$M_{\text{Pb}} = \frac{1.00 \text{ mg Pb/L} \times 10^{-3} \text{ g/mg}}{207 \text{ g Pb/mol}} = 4.83 \times 10^{-6} \text{ mol/L Pb}$$

Como el plomo es mucho más pesado que el litio, un peso dado contiene menor número de moles, y su concentración molar es menor.

b) $100 \text{ ppm Pb}^{2+} = 100 \text{ mg/L} = 0.100 \text{ g/L}$

$$\frac{0.100 \text{ g Pb}}{207 \text{ g/mol}} = 4.83 \times 10^{-4} \text{ mol Pb}$$

Por tanto, se requiere $4.83 \times 10^{-4} \text{ mol Pb(NO}_3)_2$.

$$4.83 \times 10^{-4} \text{ mol} \times 283.2 \text{ g Pb(NO}_3)_2/\text{mol} = 0.137 \text{ g Pb(NO}_3)_2$$

.....

Para soluciones diluidas, peso/ peso $\approx$ peso/vol.

Las unidades de concentración peso/peso y peso/vol se relacionan por la densidad. Numéricamente son iguales para soluciones acuosas con una densidad de 1 g/mL.

Si el analito es un líquido disuelto en otro, los resultados se pueden expresar sobre la base **volumen/volumen**. Sin embargo, lo más probable es que esta fórmula se encuentre sólo en raras ocasiones. En esos casos se manejan los cálculos de la misma manera que los anteriores, usando las mismas unidades de volumen para el soluto y para la muestra. Los análisis de gases se pueden informar sobre las bases de peso/peso, peso/volumen o volumen/volumen.

Lo mejor es especificar siempre qué forma de expresión se usa. En ausencia de etiquetas claras, lo mejor es suponer que los sólidos se reportan por lo regular como peso/peso, los gases como vol/vol y los líquidos pueden ser peso/peso (reactivos de ácido concentrado o base concentrada), peso/vol (la mayoría de las soluciones acuosas), o vol/vol (la industria de bebidas alcohólicas de Estados Unidos).

Los químicos clínicos frecuentemente prefieren usar una unidad distinta al peso para expresar la cantidad de electrólitos principales en los fluidos biológicos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , H_2PO_4^- , etc.). Esta unidad es el **miliequivalente** (meq). En este contexto, el miliequivalente se define como el número de milimoles del analito multiplicado por la carga del ion del analito. Los resultados generalmente se reportan como meq/L. Este concepto se emplea para dar una visión general del equilibrio de electrólitos. El médico puede darse cuenta con una sola mirada si la concentración total de electrólitos ha aumentado o disminuido de manera notable. Por supuesto, los miliequivalentes de cationes serán iguales a los miliequivalentes de aniones. Un mol de un catión monovalente (+1) (1 eq) y medio mol de un anión divalente (−2) (1 eq) tienen el mismo número de cargas positivas y negativas (un mol cada uno). Como ejemplo de equilibrio de electrólitos o cargas, la tabla 5.3 resume los promedios de composiciones de los electrólitos principales normalmente presentes en el plasma sanguíneo humano y en la orina. El capítulo 24 explica los intervalos y la significación fisiológica de algunos componentes químicos del cuerpo humano.

Tabla 5.3
Composición de electrólitos principales del plasma humano normal^a

Cationes	meq/L	Aniones	meq/L
Na ⁺	143	Cl [−]	104
K ⁺	4.5	HCO ^{3−}	29
Ca ²⁺	5	Proteína	16
Mg ²⁺	2.5	HPO ₄ [−]	2
		SO ₄ ^{2−}	1
		Ácidos orgánicos	3
Total	155	Total	155

Los equivalentes de cationes y aniones deben ser iguales.

^a Reproducida de Joseph S. Annino, *Clinical Chemistry*, 3a. ed., pub. por Boston: Little, Brown, 1964.

Se pueden calcular fácilmente los miliequivalentes de una sustancia a partir de su peso en miligramos, como sigue (de manera similar a la forma en que se calcularon los milimoles):

$$\text{meq} = \frac{\text{mg}}{\text{peso eq (mg/meq)}} = \frac{\text{mg}}{\text{p. fórm (mg/mmol)/}n \text{ (meq/mmol)}} \quad (5.16)$$

$n = \text{carga del ion}$

El peso equivalente del Na^+ es $23.0 \text{ (mg/mmol)}/1 \text{ (meq/mmol)} = 23.0 \text{ mg/meq}$. El peso equivalente del Ca^{2+} es $40.1 \text{ (mg/mmol)}/2 \text{ (meq/mmol)} = 20.0 \text{ mg/meq}$.

Ejemplo 5.17

La concentración de ion zinc en suero sanguíneo es alrededor de 1 ppm. Expresar esto como meq/L.

Solución

$$1 \text{ ppm} = 1 \mu\text{g/mL} = 1 \text{ mg/L}$$

El peso equivalente de Zn^{2+} es $65.4 \text{ (mg/mmol)}/2 \text{ (meq/mmol)} = 32.7 \text{ mg/meq}$. Por tanto,

$$\frac{1 \text{ mg Zn/L}}{32.7 \text{ mg/meq}} = 3.06 \times 10^{-2} \text{ meq/L Zn}$$

Esta unidad se usa realmente para los componentes electrolíticos principales, como se muestra en la tabla 5.3, más que para los componentes traza, como en este ejemplo.

REPORTE DE CONCENTRACIONES COMO DIFERENTES ESPECIES QUÍMICAS

Hasta este punto ha quedado más o menos implícito que el analito se determina en la forma en que existe o para la cual se quieren reportar los resultados. Sin embargo, a menudo esto no es verdad. Por ejemplo, en el análisis de contenido de hierro de un mineral se puede determinar el hierro en forma de Fe_2O_3 y luego reportarlo como % Fe, o se puede determinar el hierro en forma de Fe^{2+} (por ejemplo, por titulación) y reportarlo como % Fe_2O_3 . Esto es perfectamente correcto mientras se conozca la relación entre lo que se mide y lo que se desea. Por tanto, si se determina el contenido de calcio en agua, es probable que se quiera reportar en partes por millón (mg/L) de CaCO_3 (ésta es la forma típica de expresar la *dureza del agua*). Se sabe que cada gramo de Ca^{2+} es equivalente a (o podría convertirse en) peso fórmula CaCO_3 /peso fórmula Ca^{2+} gramos de CaCO_3 . Es decir, multiplicando los miligramos de Ca^{2+} determinados por $100.09/40.08$ se obtendría el número equivalente de miligramos de CaCO_3 . El calcio no tiene por qué existir en esta forma (se puede incluso ignorar en qué forma existe); simplemente se ha calculado el peso que podría existir y se reporta el resultado como si existiese. Las operaciones específicas necesarias para calcular el peso del componente que se desea se describen más adelante.

En este punto se deben mencionar algunos de los diferentes criterios de peso que se usan para expresar los resultados con tejidos biológicos y sólidos. La muestra se puede pesar en una de tres formas físicas: húmeda, seca o incinerada. Esto se puede aplicar también a fluidos, aunque suele emplearse el volumen del fluido. El peso húmedo se toma con la muestra fresca, sin tratar. El peso seco se toma después de haber secado la muestra

Los resultados se pueden expresar en cualquier forma del analito.

La dureza del agua debida al ion calcio se expresa en ppm de CaCO_3 .

por calentamiento, desecación o liofilización. Si la sustancia de prueba es inestable al calor, la muestra no se debe secar por calentamiento. El peso del residuo de cenizas después de que la materia orgánica se ha quemado es la tercera base de pesaje. Ésta se puede usar, obviamente, sólo para análisis mineral (inorgánico).

5.4 Análisis volumétrico: ¿cómo se hacen los cálculos estequiométricos?

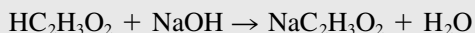
Los análisis volumétricos o titulométricos se cuentan entre las técnicas analíticas más útiles y exactas, en especial para cantidades de milimoles de analito. Son rápidos, se pueden automatizar y se pueden aplicar a cantidades más pequeñas de analito cuando se combinan con una técnica instrumental sensible para detectar la terminación de la reacción de titulación; un ejemplo de lo anterior es la medición de pH. Las titulaciones manuales se usan en la actualidad en situaciones que exigen alta precisión para números relativamente pequeños de muestras. Se usan, por ejemplo, para calibrar o validar más métodos rutinarios instrumentales. Las titulaciones automatizadas son útiles cuando se deben procesar grandes cantidades de muestras (una titulación se puede automatizar, por ejemplo, mediante un cambio de color o un cambio de pH que activa una bureta motorizada para detener el vertido: el volumen proporcionado se puede entonces registrar en un contador digital; se da un ejemplo de esto al final del capítulo 14). En esta sección se describen los tipos de titulaciones que se pueden llevar a cabo y se dan los principios aplicables a todos los tipos, incluyendo los principios y requisitos tanto de la misma titulación como de las soluciones estándar. La relación volumétrica antes descrita en este capítulo se puede usar para calcular información cuantitativa acerca del analito que se titula. Los cálculos en el análisis volumétrico se dan en las secciones 5.5 a 5.7, incluyendo título de molaridad y normalidad y contratitulaciones.

TITULACIÓN: ¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS?

Se calculan los moles de un analito que se titula a partir de los moles agregados de titulante y la relación en la que ambos reaccionan.

En una **titulación**, la sustancia de prueba (analito) en un matraz reacciona con un reactivo en solución cuya concentración se conoce y el cual se adiciona mediante una bureta. A este reactivo se le refiere como **solución estándar** y suele denominársele **titulante**. Se mide el volumen de titulante que se requiere para reaccionar en forma completa con el analito. Como se conoce tanto la concentración como la reacción entre el analito y el reactivo, se puede calcular la cantidad de analito. Los requisitos de una titulación son los siguientes:

1. La reacción debe ser **estequiométrica**; es decir, debe haber una reacción bien definida y conocida entre el analito y el titulante. En la titulación de ácido acético en vinagre con hidróxido de sodio, por ejemplo, tiene lugar una reacción bien definida:



2. La reacción debe ser **rápida**. La mayoría de las reacciones iónicas, como la antes mencionada, son muy rápidas.
3. *No debe haber reacciones laterales*, y la reacción debe ser específica. Si hay sustancias que interfieran, se deben remover. En el ejemplo antes mencionado, no debe haber otros ácidos presentes.

4. Debe haber un *cambio notable en alguna propiedad de la solución cuando se termina la reacción*. Puede ser un cambio en el color de la solución o en alguna propiedad eléctrica u otra propiedad física de la solución. En la titulación de ácido acético con hidróxido de sodio hay un notable aumento del pH de la solución cuando la reacción termina. Por lo regular se provoca un cambio de color mediante la adición de un **indicador**, cuyo color depende de las propiedades de la solución, por ejemplo, el pH.
5. El punto en el que se agrega una cantidad equivalente o estequiométrica de titulante se llama **punto de equivalencia**. El punto en el que *se observa que la reacción terminó* se llama **punto final**; es decir, cuando se detecta un cambio en alguna propiedad de la solución. El punto final debe coincidir con el punto de equivalencia, o debe estar a un intervalo reproducible de éste.
6. La reacción debe ser **cuantitativa**. Es decir, el equilibrio de la reacción debe estar sesgado a la derecha, de modo que ocurra un cambio suficientemente *nítido* en el punto final para obtener la exactitud deseada. Si el equilibrio no está lo suficientemente a la derecha, entonces habrá cambio gradual en la propiedad que marca el punto final (por ejemplo, el pH), y esto será difícil de detectar con precisión.

El *punto de equivalencia* es el final teórico de la titulación, en el que el número de moles = número de moles. El *punto final* es el final observado de la titulación.

SOLUCIONES ESTÁNDAR: HAY DIFERENTES CLASES

Una solución estándar se prepara disolviendo una cantidad pesada con gran exactitud de un material de alta pureza que se llama **estándar primario** y diluyendo hasta un volumen conocido con exactitud en un matraz volumétrico. Ahora bien, si el material no es lo suficientemente puro, se prepara una solución para dar aproximadamente la concentración deseada y ésta se **estandariza** mediante una titulación con una cantidad pesada de un estándar primario. Por ejemplo, el hidróxido de sodio no es lo suficientemente puro como para preparar directamente una solución estándar. Por tanto, se estandariza titulado un ácido estándar primario, como ftalato ácido de potasio (KHP). El ftalato ácido de potasio es un sólido que se puede pesar con exactitud. Los cálculos de estandarización se comentan más adelante.

Un **estándar primario** debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Debe ser *100.00% puro*, aunque es tolerable una impureza de 0.01 a 0.02% si se conoce con exactitud.
2. Debe ser *estable a las temperaturas de secado*, y debe ser estable indefinidamente a temperatura de laboratorio. El estándar primario siempre se seca antes de pesarlo.³
3. Debe ser *fácilmente disponible* y razonablemente económico.
4. Aunque no es necesario, es deseable que tenga un *peso fórmula elevado*. Esto es con objeto de que se tenga que pesar una cantidad relativamente grande para que sea suficiente para titular. El error relativo al pesar una cantidad mayor de material será menor que para una cantidad pequeña.
5. Si se va a usar para titulación, debe tener las *propiedades necesarias para la titulación* antes mencionadas. En particular, el equilibrio de la reacción debe ubicarse muy a la derecha, de manera que se obtenga un punto final muy nítido.

Una solución estandarizada por titulación con un estándar primario es en sí misma un estándar secundario. Será menos exacta que un estándar primario, debido a los errores en las titulaciones.

Un alto peso fórmula significa que se debe tomar un peso mayor para un número dado de moles. Esto reduce el error de pesada.

³ Hay unas cuantas excepciones cuando el estándar primario es un hidrato.

CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS VOLUMÉTRICOS. ¿CUÁNTAS CLASES HAY?

Hay cuatro clases generales de métodos volumétricos o titulométricos.

1. *Ácido-base*. Muchos compuestos, tanto inorgánicos como orgánicos, son ácidos o bases y se pueden titular con una solución estándar de una base fuerte o un ácido fuerte. Los puntos finales de estas titulaciones son fáciles de detectar, ya sea por medio de un indicador o mediante seguimiento del cambio de pH con un medidor de pH. La acidez y la basicidad de muchos ácidos y bases orgánicos se pueden acentuar titulando en un *disolvente no acuoso*. El resultado es un punto final más nítido, y los ácidos y bases más débiles se pueden titular de esta manera.
2. *Precipitación*. En el caso de precipitación, el titulante forma un producto insoluble con el analito. Un ejemplo es la titulación de ion cloruro con solución de nitrato de plata para formar precipitado de cloruro de plata. De nuevo, se pueden usar indicadores para detectar el punto final, o se puede monitorear eléctricamente el potencial de la solución.
3. *Complejométrico*. En las titulaciones complejométricas el titulante es un reactivo que forma un complejo soluble en agua con el analito, un ion metálico. El titulante a menudo es un **agente quelante**.⁴ También se puede llevar a cabo la titulación inversa. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es uno de los agentes quelantes más útiles usados para titulación. Reacciona con un gran número de elementos, y las reacciones se pueden controlar por ajuste del pH. Se pueden usar indicadores para formar un complejo altamente colorido con el ion metálico.
4. *Reducción-oxidación*. Estas titulaciones “redox” consisten en la titulación de un agente oxidante con un agente reductor, o viceversa. Un agente oxidante gana electrones, y un agente reductor cede electrones en la reacción entre ambos. Debe haber una diferencia suficientemente grande entre las capacidades oxidantes y reductoras de estos agentes para que la reacción llegue a su culminación y dé un punto final nítido; es decir, uno debe ser un agente oxidante bastante fuerte (tendencia elevada a ganar electrones), y el otro un agente reductor bastante fuerte (tendencia elevada a perder electrones). Se pueden usar indicadores adecuados para estas titulaciones, o se pueden emplear diversos medios electrométricos para detectar el punto final.

Estos diferentes tipos de titulaciones y los medios de detectar los puntos finales se tratarán por separado en capítulos subsiguientes.

5.5 Cálculos volumétricos. Uso de la molaridad

Se usará la molaridad en la mayor parte del texto para cálculos volumétricos. Sin embargo, otra unidad de concentración útil para cálculos volumétricos es la **normalidad**, que usa el concepto de **equivalentes** y **pesos equivalentes** en vez de moles y pesos de fórmula. La concentración normal depende de la reacción en particular, y ésta se debe especificar. Algunos instructores prefieren introducir el concepto de normalidad, y es probable que los estudiantes lo encuentren en libros de referencia. Por tanto, se da un repaso de equivalencia y normalidad después de la explicación de los cálculos que usan molaridad.

⁴ Un agente quelante (el término se deriva de la palabra griega que significa *garra*) es un tipo de agente complejante que contiene dos o más grupos capaces de formar un complejo con un ion metálico. El EDTA posee seis de estos grupos.

En este capítulo se han revisado algunas de las formas de expresar concentraciones. Los conceptos básicos se resumen en seguida.

$$\begin{aligned} \text{Moles} &= \frac{\text{g}}{\text{p. fórm. (g/mol)}} & \text{Milimoles} &= \frac{\text{mg}}{\text{p. fórm. (mg/mmol)}} & (5.17) \\ \text{Concentración molar} = M &= \frac{\text{mol}}{\text{L}} & M &= \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} & (5.18) \end{aligned}$$

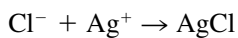
Es importante aprender bien estas relaciones. Son la base de todos los cálculos volumétricos, de la preparación de soluciones y de las diluciones. ¡Piense correctamente en las unidades!

Reordenando estas ecuaciones, se obtienen las expresiones para calcular otras cantidades.

$$\begin{aligned} M (\text{mol/L}) \times L &= \text{mol} & M (\text{mmol/mL}) \times \text{mL} &= \text{mmol} & (5.19) \\ g &= \text{mol} \times \text{p. fórm. (g/mol)} & \text{mg} &= \text{mmol} \times \text{p. fórm. (mg/mmol)} & (5.20) \\ g &= M (\text{mol/L}) \times L \times \text{p. fórm. (g/mol)} & & & (5.21) \\ \text{mg} &= M (\text{mmol/mL}) \times \text{mL} \times \text{p. fórm. (mg/mmol)} & & & \end{aligned}$$

En las titulaciones por lo regular se trabaja con cantidades en milimoles (mmol) y en mililitros (mL). Por tanto, las ecuaciones del lado derecho son más útiles. Obsérvese que la expresión para el peso fórmula contiene el mismo valor numérico, ya sea que esté en g/mol o mg/mmol. Obsérvese también que se debe tener cuidado al utilizar cantidades “mili” (milimoles, miligramos, mililitros). El uso incorrecto podría dar por resultado errores de cálculo de mil veces.

Si se necesitan 25.0 mL de AgNO_3 0.100 M para titular una muestra que contiene cloruro de sodio, la reacción es



Como Ag^+ y Cl^- reaccionan sobre una base molar 1:1, el número de milimoles de Cl^- es igual al número de milimoles de Ag^+ que se requiere para la titulación. Se pueden calcular los miligramos de NaCl como sigue:

Para reacciones 1:1, $\text{mmol}_{\text{analito}} = \text{mmol}_{\text{titulante}}$.

$$\begin{aligned} \text{mmol}_{\text{NaCl}} &= \text{mL}_{\text{AgNO}_3} \times M_{\text{AgNO}_3} \\ &= 25.0 \text{ mL} \times 0.100 (\text{mmol/mL}) = 2.50 \text{ mmol} \\ \text{mg}_{\text{NaCl}} &= \text{mmol} \times \text{p. fórm.}_{\text{NaCl}} \\ &= 2.50 \text{ mmol} \times 58.44 \text{ mg/mmol} = 146 \text{ mg} \end{aligned}$$

Se puede calcular el porcentaje del analito A que reacciona en *base molar 1:1* con el titulante usando la siguiente fórmula general:

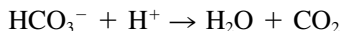
$$\begin{aligned} \% A &= \text{fracción}_{\text{analito}} \times 100\% = \frac{\text{mg}_{\text{analito}}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{mmol} \times \text{p. fórm.}_{\text{analito}} (\text{mg/mmol})}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= \frac{M_{\text{titulante}} (\text{mmol/mL}) \times \text{mL}_{\text{titulante}} \times \text{p. fórm.}_{\text{analito}} (\text{mg/mmol})}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \end{aligned} \quad (5.22)$$

¡Piense correctamente en las unidades!

Obsérvese que este cálculo es un resumen de los pasos individuales de cálculo para llegar a la fracción de analito en la muestra usando un análisis dimensional correcto. Se debe usar en ese sentido en vez de simplemente memorizar una fórmula.

Ejemplo 5.18

Una muestra de 0.4671 g que contiene bicarbonato de sodio se disolvió y se tituló con una solución estándar de ácido clorhídrico 0.1067 M, consumiendo 40.72 mL. La reacción es



Calcular el porcentaje de bicarbonato de sodio en la muestra.

Solución

Los milimoles de bicarbonato de sodio son igual a los milimoles de ácido usados para titularlos, ya que reaccionan en una relación 1:1.

$$\text{mmol}_{\text{HCl}} = 0.1067 \text{ mmol/mL} \times 40.72 \text{ mL} = 4.344_8 \text{ mmol}_{\text{HCl}} \equiv \text{mmol NaHCO}_3$$

(Se llevan cifras extra, por lo que se obtiene un resultado idéntico al de todos los pasos juntos, como se ve adelante.)

$$\text{mg}_{\text{NaHCO}_3} = 4.3448 \text{ mmol} \times 84.01 \text{ mg/mmol} = 365.0_1 \text{ mg NaHCO}_3$$

$$\% \text{ NaHCO}_3 = \frac{365.0_1 \text{ mg NaHCO}_3}{467.1 \text{ mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% = 78.14\% \text{ NaHCO}_3$$

o, combinando todos los pasos,

$$\begin{aligned} \% \text{ NaHCO}_3 &= \frac{M_{\text{HCl}} \times \text{mL}_{\text{HCl}} \times \text{p. fórm}_{\text{NaHCO}_3}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= \frac{0.1067 \text{ mmol HCl/mL} \times 40.72 \text{ mL HCl} \times 84.01 \text{ mg NaHCO}_3/\text{mmol}}{467.1 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 78.14\% \text{ NaHCO}_3 \end{aligned}$$

ALGUNAS COSAS ÚTILES QUE CONVIENE SABER CUANDO SE EFECTÚAN CÁLCULOS DE MOLARIDAD

Cuando la reacción no es 1:1, se usa un factor de conversión para igualar los moles de analito y titulante.

Muchas sustancias no reaccionan en base molar 1:1, de modo que el sencillo cálculo del ejemplo anterior no se puede aplicar a todas las reacciones. Sin embargo, es posible escribir una fórmula generalizada para los cálculos, aplicable a *todas* las reacciones, basada en la **ecuación balanceada** para las reacciones.

Considérese la reacción general



donde A es el analito, T es el titulante, y ambos reaccionan en la relación a/t para dar productos P. Entonces, expresando las unidades y usando el análisis dimensional,

¡Aún se debe seguir pensando correctamente en las unidades!
Se ha agregado $\text{mmol}_{\text{analito}}/$
 $\text{mmol}_{\text{titulante}}$.

$$\text{mmol}_{\text{A}} = \text{mmol}_{\text{T}} \times \frac{a}{t} (\text{mmol A/mmole T}) \quad (5.24)$$

$$\text{mmol}_{\text{A}} = M_{\text{T}} (\text{mmol/mL}) \times \text{mL}_{\text{T}} \times \frac{a}{t} (\text{mmol A/mmole T}) \quad (5.25)$$

$$\text{mg}_A = \text{mmol}_A \times \text{p. fórm.}_A \text{ (mg/mmol)} \quad (5.26)$$

$$\begin{aligned} \text{mg}_A &= M_T \text{ (mmol/mL)} \times \text{mL}_T \times \frac{a}{t} \text{ (mmol A/mmol T)} \\ &\quad \times \text{p. fórm.}_A \text{ (mg/mmol)} \end{aligned} \quad (5.27)$$

Obsérvese que el factor a/t sirve para igualar el analito y el titulante. Para evitar un error al configurar el factor, resulta útil recordar que cuando se calcula la cantidad de analito se debe multiplicar la cantidad de titulante por la relación a/t (a aparece primero). De manera inversa, si se está calculando la cantidad de titulante (por ejemplo, molaridad) a partir de una cantidad conocida de analito titulada, se debe multiplicar la cantidad de analito por la relación t/a (t aparece primero). Por supuesto, la mejor manera de determinar la relación correcta es hacer siempre un análisis dimensional para obtener las unidades correctas.

De igual manera a como se derivó la ecuación 5.22, se pueden seguir las etapas para llegar a una expresión general con la que se pueda calcular el porcentaje del analito A en una muestra determinada por medio de la titulación de una muestra de peso conocido con una solución estándar del titulante T:

$$\begin{aligned} \% A &= \text{fracción}_{\text{analito}} \times 100\% = \frac{\text{mg}_{\text{analito}}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{mmol}_{\text{titulante}} \times (a/t)(\text{mmol}_{\text{analito}}/\text{mmol}_{\text{titulante}}) \times \text{p. fórm.}_{\text{analito}} \text{ (mg/mmol)}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= \frac{M_{\text{titulante}} \text{ (mmol/mL)} \times \text{mL}_{\text{titulante}} \times (a/t)(\text{mmol}_{\text{analito}}/\text{mmol}_{\text{titulante}}) \times \text{p. fórm.}_{\text{analito}} \text{ (mg/mmol)}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \\ &\quad \times 100\% \end{aligned}$$

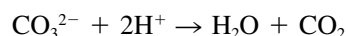
(5.28)

De nuevo, obsérvese que simplemente se usa análisis dimensional; es decir, se realizan cálculos por pasos en los que las unidades se cancelan para dar las unidades deseadas. En este procedimiento general, el análisis dimensional incluye el factor estequiométrico a/t que convierte milimoles de titulante en un número equivalente de milimoles de analito titulado.



Ejemplo 5.19

Se analiza una muestra de 0.2638 g de carbonato de sodio comercial por titulación del carbonato de sodio con la solución estándar de ácido clorhídrico 0.1288 M , que consume 38.27 mL. La reacción es



Calcular el porcentaje de carbonato de sodio en la muestra.

Solución

Los milimoles de carbonato de sodio son iguales a la mitad de los milimoles de ácido usado para titularlo, ya que reaccionan en una relación 1:2 ($a/t = \frac{1}{2}$).

$$\begin{aligned} \text{mmol}_{\text{HCl}} &= 0.1288 \text{ mmol/mL} \times 38.27 \text{ mL} = 4.929 \text{ mmol HCl} \\ \text{mmol}_{\text{Na}_2\text{CO}_3} &= 4.929 \text{ mmol HCl} \times \frac{1}{2} \text{ (mmol Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol HCl)} = 2.4645 \text{ mmol Na}_2\text{CO}_3 \end{aligned}$$

$$\text{mg}_{\text{Na}_2\text{CO}_3} = 2.464_5 \text{ mmol} \times 105.99 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol} = 261.2_1 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3$$

$$\% \text{ Na}_2\text{CO}_3 = \frac{261.2_1 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3}{263.8 \text{ mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% = 99.02\% \text{ Na}_2\text{CO}_3$$

O, combinando todos los pasos,

$$\begin{aligned} \% \text{ Na}_2\text{CO}_3 &= \frac{M_{\text{HCl}} \times \text{mL}_{\text{HCl}} \times \frac{1}{2}(\text{mmol Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol HCl}) \times \text{p. fórm.}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= \frac{0.1288 \text{ mmol HCl} \times 38.27 \text{ mL HCl} \times \frac{1}{2}(\text{mmol Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol HCl}) \times 105.99 (\text{mg Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol})}{263.8 \text{ mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\ &= 99.02\% \text{ Na}_2\text{CO}_3 \end{aligned}$$

.....

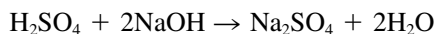


Ejemplo 5.20

¿Cuántos mililitros de solución 0.25 *M* de H₂SO₄ reaccionarán con 10 mL de una solución 0.25 *M* de NaOH?

Solución

La reacción es



Se requerirá la mitad de los milimoles de H₂SO₄ de los que están presentes de NaOH, por lo que se puede considerar el siguiente balance:

$$M_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times \text{mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = M_{\text{NaOH}} \times \text{mL}_{\text{NaOH}} \times \frac{1}{2}(\text{mmol H}_2\text{SO}_4/\text{mmol NaOH})$$

Por tanto,

$$\begin{aligned} \text{mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4} &= \frac{0.25 \text{ mmol NaOH/mL} \times 10 \text{ mL NaOH} \times \frac{1}{2}(\text{mmol H}_2\text{SO}_4/\text{mmol NaOH})}{0.25 \text{ mmol H}_2\text{SO}_4/\text{mL}} \\ &= 5.0 \text{ mL H}_2\text{SO}_4 \end{aligned}$$

Obsérvese que, en este caso, se multiplica la cantidad de titulante por la relación *a/t* (mmol de analito/mmol de titulante).

.....



Ejemplo 5.21

Una muestra de ácido salicílico impuro, C₆H₄(OH)COOH (un protón tituable) se analiza por titulación. ¿De qué tamaño se debe tomar la muestra para que el porcentaje de pureza sea igual a cinco veces los mililitros de NaOH 0.0500 *M* usados para titularla?

Solución

Sea $x = \text{mL de NaOH}$ y el % del ácido salicílico (HA) = $5x$:

$$\% \text{ HA} = \frac{M_{\text{NaOH}} \times \text{mL}_{\text{NaOH}} \times 1 \text{ (mmol HA/mmol NaOH)} \times \text{p. fórm.}_{\text{HA}} \text{ (mg/mmol)}}{\text{mg}_{\text{muestra}}}$$

$$\times 100\%$$

$$5x\% = \frac{0.0500 \text{ M} \times x \text{ mL NaOH} \times 1 \times 138 \text{ mg HA/mmol}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\%$$

$$\text{mg}_{\text{muestra}} = 138 \text{ mg}$$

Se pueden aplicar los ejemplos anteriores de cálculos ácido-base a las titulaciones que se describen en el capítulo 8.

CÁLCULOS DE ESTANDARIZACIÓN Y TITULACIÓN: UNA ES LO CONTRARIO DE LA OTRA

Cuando no se dispone de un material titulante de pureza alta o por lo menos conocida, la concentración de la solución titulante se debe determinar con exactitud mediante estandarización. La **estandarización** consiste en titular una cantidad pesada con exactitud (un número conocido de milimoles) de un estándar primario. A partir del volumen de titulante utilizado para titular el estándar primario, se puede calcular la concentración molar del titulante.

En la estandarización, se desconoce la concentración del titulante y se conocen los moles de analito (estándar primario).

Si se toma el analito A de la ecuación 5.23 como estándar primario,

$$\text{mmol}_{\text{estándar}} = \frac{\text{mg}_{\text{estándar}}}{\text{p. fórm.}_{\text{estándar}} \text{ (mg/mmol)}}$$

$$\begin{aligned} \text{mmol}_{\text{titulante}} &= M_{\text{titulante}} \text{ (mmol/mL)} \times \text{mL}_{\text{titulante}} \\ &= \text{mmol}_{\text{estándar}} \times t/a \text{ (mmol}_{\text{titulante}}/\text{mmol}_{\text{estándar}}) \end{aligned}$$

$$M_{\text{titulante}} \text{ (mmol/mL)} = \frac{\text{mmol}_{\text{estándar}} \times t/a \text{ (mmol}_{\text{titulante}}/\text{mmol}_{\text{estándar}})}{\text{mL}_{\text{titulante}}}$$

O, combinando todos los pasos,

$$M_{\text{titulante}} \text{ (mmol/mL)} = \frac{\text{mg}_{\text{estándar}}/\text{p. fórm.}_{\text{estándar}} \text{ (mg/mmol)} \times t/a \text{ (mmol}_{\text{titulante}}/\text{mmol}_{\text{estándar}})}{\text{mL}_{\text{titulante}}}$$

¡Otra vez, las unidades!

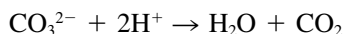
(5.29)

Obsérvese una vez más que el análisis dimensional (cancelación de unidades) da como resultado las unidades deseadas de mmol/mL.



Ejemplo 5.22

Se prepara una solución 0.1 M de ácido clorhídrico diluyendo 120 veces ácido clorhídrico concentrado. Éste se estandariza titulado 0.1876 g de un estándar primario de carbonato de sodio seco:



La titulación consumió 35.86 mL de ácido. Calcular la concentración molar del ácido clorhídrico.

Solución

Los milimoles de ácido clorhídrico son iguales a dos veces los milimoles de carbonato de sodio titulado.

$$\begin{aligned}\text{mmol}_{\text{Na}_2\text{CO}_3} &= 187.6 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3 / 105.99 \text{ (mg Na}_2\text{CO}_3/\text{mmol)} = 1.770_0 \text{ mmol Na}_2\text{CO}_3 \\ \text{mmol}_{\text{HCl}} &= M_{\text{HCl}} \text{ (mmol/mL)} \times 35.86 \text{ mL HCl} = 1.770_0 \text{ mmol Na}_2\text{CO}_3 \\ &\quad \times 2 \text{ (mmol HCl/mmol Na}_2\text{CO}_3)\end{aligned}$$

$$M_{\text{HCl}} = \frac{1.770_0 \text{ mmol Na}_2\text{CO}_3 \times 2 \text{ (mmol HCl/mmol Na}_2\text{CO}_3)}{35.86 \text{ mL HCl}} = 0.09872 \text{ M}$$

O, combinando todos los pasos,

$$\begin{aligned}M_{\text{HCl}} &= \frac{(\text{mg}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}/\text{p. fórm.}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}) \times (2/1)(\text{mmol HCl/mmol Na}_2\text{CO}_3)}{\text{mL}_{\text{HCl}}} \\ &= \frac{[187.6 \text{ mg}/105.99 \text{ (mg/mmol)}] \times 2 \text{ (mmol HCl/mmol Na}_2\text{CO}_3)}{35.86 \text{ mL}} \\ &= 0.09872 \text{ mmol/mL}\end{aligned}$$

Obsérvese que se multiplicó la cantidad de analito, Na_2CO_3 , por la relación t/a (mmol de titulante/milimoles de analito). Además, aunque todas las mediciones fueron con cuatro cifras significativas, se calculó el peso fórmula del Na_2CO_3 con cinco cifras. Esto se debe a que, con cuatro cifras, éste se habría convertido en el número clave con una incertidumbre de alrededor de una parte en mil, en comparación con 187.6, con una incertidumbre de alrededor de la mitad ($1\ 876 \approx 2\ 000$). No es mala práctica, como rutina, tomar el peso fórmula con una cifra adicional, en especial si se tiene acceso a una calculadora.

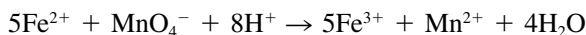
.....

Los siguientes ejemplos ilustran cálculos de titulación para diferentes tipos de reacciones y de estequiometría.



Ejemplo 5.23

El hierro(II) en una solución acidificada se titula con una solución 0.0206 M de permanganato de potasio:



Si la titulación consumió 40.2 mL, ¿cuántos miligramos de hierro hay en la solución?

Solución

Los milimoles de hierro que hay son cinco veces los de permanganato que reaccionan con el hierro, de modo que

$$\text{mmol}_{\text{Fe}} = \frac{\text{mg}_{\text{Fe}}}{\text{p. fórm.}_{\text{Fe}}} = M_{\text{KMnO}_4} \times \text{mL}_{\text{KMnO}_4} \times \frac{5}{1} \text{ (mmol Fe/mmol KMnO}_4\text{)}$$

$$\begin{aligned}
 \text{mg}_{\text{Fe}} &= 0.0206 \text{ mmol KMnO}_4/\text{mL} \times 40.2 \text{ mL KMnO}_4 \times 5 (\text{mmol Fe}/\text{mmol MnO}_4^-) \\
 &\quad \times 55.8 \text{ mg Fe}/\text{mmol} \\
 &= 231 \text{ mg Fe}
 \end{aligned}$$

Se usan cálculos de este tipo para las titulaciones redox que se describirán en el capítulo 14.

La siguiente es una lista de reacciones típicas de precipitación y complejométricas, y los factores para calcular los miligramos de analito a partir de los milimoles de titulante.⁵

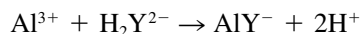
$\text{Cl}^- + \text{Ag}^+ \rightarrow \text{AgCl}$	$\text{mg}_{\text{Cl}^-} = M_{\text{Ag}^+} \times \text{mL}_{\text{Ag}^+} \times 1 (\text{mmol Cl}^-/\text{mmol Ag}^+) \times \text{p. fórm.}_{\text{Cl}^-}$
$2\text{Cl}^- + \text{Pb}^{2+} \rightarrow \text{PbCl}_2$	$\text{mg}_{\text{Cl}^-} = M_{\text{Pb}^{2+}} \times \text{mL}_{\text{Pb}^{2+}} \times 2 (\text{mmol Cl}^-/\text{mmol Pb}^{2+}) \times \text{p. fórm.}_{\text{Cl}^-}$
$\text{PO}_4^{3-} + 3\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}_3\text{PO}_4$	$\text{mg}_{\text{PO}_4^{3-}} = M_{\text{Ag}^+} \times \text{mL}_{\text{Ag}^+} \times \frac{1}{3} (\text{mmol PO}_4^{3-}/\text{mmol Ag}^+) \times \text{p. fórm.}_{\text{PO}_4^{3-}}$
$2\text{CN}^- + \text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}(\text{CN})_2^-$	$\text{mg}_{\text{CN}^-} = M_{\text{Ag}^+} \times \text{mL}_{\text{Ag}^+} \times 2 (\text{mmol CN}^-/\text{mmol Ag}^+) \times \text{p. fórm.}_{\text{CN}^-}$
$2\text{CN}^- + 2\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}[\text{Ag}(\text{CN})_2]$	$\text{mg}_{\text{CN}^-} = M_{\text{Ag}^+} \times \text{mL}_{\text{Ag}^+} \times 1 (\text{mmol CN}^-/\text{mmol Ag}^+) \times \text{p. fórm.}_{\text{CN}^-}$
$\text{Ba}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{BaSO}_4$	$\text{mg}_{\text{Ba}^{2+}} = M_{\text{SO}_4^{2-}} \times 1 (\text{mmol Ba}^{2+}/\text{mmol SO}_4^{2-}) \times \text{p. fórm.}_{\text{Ba}^{2+}}$
$\text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightarrow \text{CaY}^{2-} + 2\text{H}^+$	$\text{mg}_{\text{Ca}^{2+}} = M_{\text{EDTA}} \times 1 (\text{mmol Ca}^{2+}/\text{mmol EDTA}) \times \text{p. fórm.}_{\text{Ca}^{2+}}$

Estas fórmulas son cálculos útiles con las titulaciones de precipitación y complejométricas que se describirán en los capítulos 8 y 11.



Ejemplo 5.24

Se determina el aluminio por titulación con EDTA:



Una muestra de 1.00 g consume 20.5 mL de EDTA para la titulación. El EDTA se estandarizó titulando 25.0 mL de una solución 0.100 M de CaCl_2 , que consumió 30.0 mL de EDTA. Calcular el porcentaje de Al_2O_3 en la muestra.

Solución

Como el Ca^{2+} y el EDTA reaccionan en una relación molar de 1:1.

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{0.100 \text{ mmol CaCl}_2/\text{mL} \times 25.0 \text{ mL CaCl}_2}{30.0 \text{ mL EDTA}} = 0.0833 \text{ mmol/mL}$$

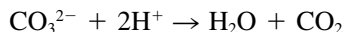
Los milimoles de Al^{3+} son iguales a los milimoles EDTA usados en la titulación de la muestra, pero hay la mitad de este número de milimoles de Al_2O_3 (ya que $1 \text{ Al}^{3+} \rightarrow \frac{1}{2} \text{ Al}_2\text{O}_3$). Por tanto,

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Al}_2\text{O}_3 &= \frac{M_{\text{EDTA}} \times \text{mL}_{\text{EDTA}} \times \frac{1}{2} (\text{mmol Al}_2\text{O}_3/\text{mmol EDTA}) \times \text{p. fórm.}_{\text{Al}_2\text{O}_3}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\
 \% \text{ Al}_2\text{O}_3 &= \frac{0.0833 \text{ mmol EDTA/mL} \times 20.5 \text{ mL EDTA} \times \frac{1}{2} \times 101.96 \text{ mg Al}_2\text{O}_3/\text{mmol}}{1\,000 \text{ mg muestra}} \\
 &\quad \times 100\% = 8.71\% \text{ Al}_2\text{O}_3
 \end{aligned}$$

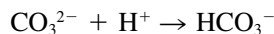
⁵ $\text{H}_4\text{Y} = \text{EDTA}$ en la última ecuación.

¿QUÉ SUCEDE SI EL ANALITO Y EL TITULANTE REACCIONAN EN RELACIONES DIFERENTES?

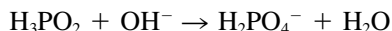
Como el lector pudo haberse percatado por su curso inicial de química, algunas sustancias pueden reaccionar para dar diferentes productos. El factor que se usa para calcular los milimoles de una de estas sustancias a partir de los milimoles del titulante que reaccionaron con ella dependerá de la reacción específica. El carbonato de sodio, por ejemplo, puede reaccionar como base diprótica o monoprótica:



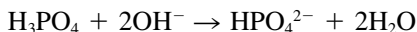
o



En el primer caso, $\text{mmol Na}_2\text{CO}_3 = \text{mmol ácido} \times \frac{1}{2}$ ($\text{mmol CO}_3^{2-}/\text{mmol H}^+$). En el segundo caso, $\text{mmol Na}_2\text{CO}_3 = \text{mmol ácido}$. Del mismo modo, el ácido fosfórico se puede titular como ácido monoprótico o diprótico:

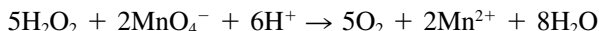


o



Ejemplo 5.25

En solución ácida, el permanganato de potasio reacciona con H_2O_2 para formar Mn^{2+} :



En solución neutra, reacciona con el MnSO_4 para formar MnO_2 :



Calcular el número de mililitros de KMnO_4 0.100 M que reaccionarán con 50.0 mL de H_2O_2 0.200 M y con 50.0 mL de MnSO_4 0.200 M.

Solución

¡Es importante llevar la cuenta de los milimoles!

El número de milimoles de MnO_4^- será igual a dos quintos del número de milimoles de H_2O_2 que reaccionaron:

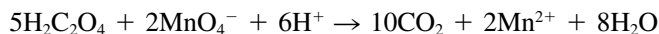
$$\begin{aligned} M_{\text{MnO}_4^-} \times \text{mL}_{\text{MnO}_4^-} &= M_{\text{H}_2\text{O}_2} \times \text{mL}_{\text{H}_2\text{O}_2} \times \frac{2}{5} \text{ (mmol MnO}_4^-/\text{mmol H}_2\text{O}_2) \\ \text{mL}_{\text{MnO}_4^-} &= \frac{0.200 \text{ mmol H}_2\text{O}_2/\text{mL} \times 50.0 \text{ mL H}_2\text{O}_2 \times \frac{2}{5}}{0.100 \text{ mmol MnO}_4^-/\text{mL}} = 40.0 \text{ mL KMnO}_4 \end{aligned}$$

El número de milimoles de MnO_4^- que reaccionan con Mn^{2+} será igual a dos tercios del número de milimoles de Mn^{2+} :

$$\begin{aligned} M_{\text{MnO}_4^-} \times \text{mL}_{\text{MnO}_4^-} &= M_{\text{Mn}^{2+}} \times \frac{2}{3} \text{ (mmol MnO}_4^-/\text{mmol Mn}^{2+}) \\ \text{mL}_{\text{MnO}_4^-} &= \frac{0.200 \text{ mmol Mn}^{2+}/\text{mL} \times 50.0 \text{ mL Mn}^{2+} \times \frac{2}{3}}{0.100 \text{ mmol MnO}_4^-/\text{mL}} = 66.7 \text{ mL KMnO}_4 \end{aligned}$$

Ejemplo 5.26

El ácido oxálico, $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, es un agente reductor que reacciona con el KMnO_4 como sigue:



Sus dos protones son igualmente titulables con una base. ¿Cuántos mililitros de NaOH 0.100 M y KMnO_4 reaccionarán con 500 mg de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$?

Solución

$$\text{mmol NaOH} = 2 \times \text{mmol H}_2\text{C}_2\text{O}_4$$

$$0.100\text{ mmol/mL} \times x\text{ mL NaOH} = \frac{500\text{ mg H}_2\text{C}_2\text{O}_4}{90.0\text{ mg/mmol}} \times 2\text{ (mmol OH}^-\text{/mmol H}_2\text{C}_2\text{O}_4\text{)}$$

$$x = 111\text{ mL NaOH}$$

$$\text{mmol KMnO}_4 = \frac{2}{5} \times \text{mmol H}_2\text{C}_2\text{O}_4$$

$$0.100\text{ mmol/mL} \times x\text{ mL KMnO}_4 = \frac{500\text{ mg H}_2\text{C}_2\text{O}_4}{90.0\text{ mg/mmol}} \times \frac{2}{5}\text{ (mmol KMnO}_4\text{/mmol H}_2\text{C}_2\text{O}_4\text{)}$$

$$x = 22.2\text{ mL KMnO}_4$$

Ejemplo 5.27

Se mezclan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ y $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ puros (tres protones reemplazables, KH_3A_2) en una proporción tal que un gramo de la mezcla reaccionará con volúmenes iguales de KMnO_4 0.100 M , y NaOH 0.100 M . ¿Cuál es la proporción?

Solución

Supóngase 10.0 mL de titulante, de modo que hay 1.00 mmol de NaOH o KMnO_4 . La acidez se debe al $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4(\text{KH}_3\text{A}_2)$:

$$\text{mmol KH}_3\text{A}_2 = \text{mmol NaOH} \times \frac{1}{3}\text{ (mmol KH}_3\text{A}_2\text{/mmol OH}^-\text{)}$$

$$1.00\text{ mmol NaOH} \times \frac{1}{3} = 0.333\text{ mmol KH}_3\text{A}_2$$

Del ejemplo 5.26, cada mmol de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4(\text{Na}_2\text{A})$ reacciona con $\frac{2}{5}\text{ mmol}$ de KMnO_4 .

$$\begin{aligned}\text{mmol KMnO}_4 &= \text{mmol Na}_2\text{A} \times \frac{2}{5}\text{ (mmol MnO}_4^-/\text{mmol Na}_2\text{A)} + \text{mmol KH}_3\text{A}_2 \\ &\times \frac{4}{5}\text{ (mmol MnO}_4^-/\text{mmol KH}_3\text{A}_2)\end{aligned}$$

$$1.00\text{ mmol KMnO}_4 = \text{mmol Na}_2\text{A} \times \frac{2}{5} + 0.333\text{ mmol KH}_3\text{A}_2 \times \frac{4}{5}$$

$$\text{mmol Na}_2\text{A} = 1.83\text{ mmol}$$

La relación es 1.83 mmol de $\text{Na}_2\text{A}/0.333\text{ mmol}$ de $\text{KH}_3\text{A}_2 = 5.50\text{ mmol}$ de $\text{Na}_2\text{A}/\text{mmol}$ KH_3A_2 . La relación en peso es

$$\frac{5.50\text{ mmol Na}_2\text{A} \times 134\text{ mg/mmol}}{218\text{ kg KH}_3\text{A}_2/\text{mmol}} = 3.38\text{ g Na}_2\text{A/g KH}_3\text{A}_2$$

SI LA REACCIÓN ES LENTA, SE HACE RETROTITULACIÓN

En las contratitulaciones se toma un número conocido de milimoles de reactivo en exceso del analito y se titula la porción que no reaccionó.

Algunas veces una reacción es lenta y no permite obtener un punto final nítido. Un ejemplo es la titulación de tabletas antiácidas con un ácido fuerte como el HCl. En estos casos, una **retrotitulación** dará a menudo resultados útiles. En esta técnica, se agrega a la muestra una cantidad medida del reactivo, que normalmente sería el titulante, de modo que haya un ligero exceso. Después de permitir que la reacción con el analito llegue a su terminación, la cantidad del reactivo en exceso (el que no reaccionó) se determina por titulación con otra solución estándar: la reacción del analito también se puede acelerar en presencia del reactivo en exceso, de modo que, sabiendo el número de milimoles de reactivo que se tomaron y midiendo el número de milimoles que quedaron sin reaccionar, se puede calcular el número de milimoles de muestra que reaccionaron con el reactivo:

$$\text{mmol de reactivo que reaccionaron} = \text{mmol tomados} - \text{milimoles contratitulados}$$

$$\text{mg de analito} = \text{mmol de reactivo que reaccionó}$$

$$\times \text{factor (mmol analito/mmol reactivo)}$$

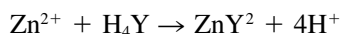
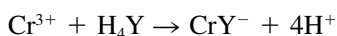
$$\times \text{p. fórm. analito (mg/mmol)}$$

Ejemplo 5.28

El cromo(III) reacciona lento con el EDTA (H_4Y) y por esta razón se determina por retrotitulación. Una preparación farmacéutica que contiene cromo(III) se analizó tratando una muestra de 2.63 g con 5.00 mL de EDTA 0.0103 M. Después de la reacción, el EDTA que no reaccionó se retrotituló con 1.32 mL de una solución 0.0122 M de zinc(II). ¿Cuál es el porcentaje de cloruro de cromo en la preparación farmacéutica?

Solución

Tanto el Cr^{3+} como el Zn^{2+} reaccionan en relación 1:1 con el EDTA:



Los milimoles de EDTA que se tomaron fueron

$$0.0103 \text{ mmol EDTA/mL} \times 5.00 \text{ mL EDTA} = 0.0515 \text{ mmol EDTA}$$

Los milimoles de EDTA sin reaccionar fueron

$$0.0112 \text{ mmol Zn}^{2+}/\text{mL} \times 1.32 \text{ mL Zn}^{2+} = 0.0148 \text{ EDTA sin reaccionar}$$

Los milimoles de EDTA que reaccionaron fueron

$$0.0515 \text{ mmol tomados} - 0.0148 \text{ mmol remanentes} = 0.0367 \text{ mmol EDTA} \equiv \text{mmol Cr}^{3+}$$

Los miligramos de CrCl_3 titulados fueron

$$0.0367 \text{ mmol CrCl}_3 \times 158.4 \text{ mg/mmol} = 5.81 \text{ mg CrCl}_3$$

$$\% \text{ CrCl}_3 = \frac{5.81 \text{ mg CrCl}_3}{2.630 \text{ mg muestra}} \times 100\% = 221\% \text{ CrCl}_3$$

O, combinando todos los pasos,

% CrCl₃

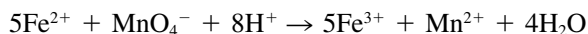
$$\begin{aligned}
 &= \frac{(M_{\text{EDTA}} \times \text{mL}_{\text{EDTA}} - M_{\text{Zn}} \times \text{mL}_{\text{Zn}^{2+}}) \times 1(\text{mmol CrCl}_3/\text{mmol EDTA}) \times \text{p. fórm. CrCl}_3}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\
 &= \frac{(0.0103 \text{ mmol EDTA/mL} \times 5.00 \text{ mL EDTA} - 0.0112 \text{ mmol Zn}^{2+}/\text{mL} \times 1.32 \text{ mL Zn}^{2+}) \times 1 \times 158.4 \text{ mg CrCl}_3/\text{mmol}}{2.630 \text{ mg muestra}} \\
 &\quad \times 100\% \\
 &= 0.221\% \text{ CrCl}_3
 \end{aligned}$$

Ejemplo 5.29

Se analiza una muestra de 0.200 g de pirolusita para determinar el contenido de manganeso, como sigue. Se agregan 50.0 mL de una solución 0.100 M de sulfato de hierro(II) y amonio para reducir el MnO₂ a Mn²⁺. Después de que se completa la reducción, el exceso de ion ferroso se titula en solución ácida con KMnO₄ 0.200 M, que consume 15.0 mL. Calcular el porcentaje de manganeso en la muestra como Mn₃O₄ (sólo puede haber una parte del manganeso, o ninguna, en esta forma, pero se puede hacer el cálculo sobre la suposición de que existe).

Solución

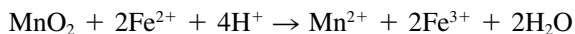
La reacción entre el Fe²⁺ y el MnO₄⁻ es



El reactivo puede reaccionar en diferentes proporciones con el analito y el titulante.

y por tanto el número de milimoles de Fe²⁺ en exceso es igual a cinco veces las que se puedan adicionar de MnO₄⁻ para que reaccione completamente con él.

La reacción entre Fe²⁺ y MnO₂ es



por lo que los milimoles de MnO₂ presentes serán la mitad de los milimoles de Fe²⁺ que reaccionan con el MnO₂. Los milimoles de Mn₃O₄ son un tercio de los de MnO₂ (1 MnO₂ → $\frac{1}{3}$ Mn₃O₄). Por tanto,

$$\begin{aligned}
 \text{mmol Fe}^{2+} \text{ que reaccionaron} &= 0.100 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{mL} \times 50.0 \text{ mL Fe}^{2+} - 0.0200 \text{ mmol MnO}_4^-/\text{mL} \\
 &\quad \times 15.0 \text{ mL MnO}_4^- \times 5 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{mmol MnO}_4^- \\
 &= 3.5 \text{ mmol Fe}^{2+} \text{ que reaccionaron} \\
 \text{mmol MnO}_2 &= 3.5 \text{ mmol Fe}^{2+} \times \frac{1}{2} (\text{mmol MnO}_2/\text{mmol Fe}^{2+}) = 1.75 \text{ mmol MnO}_2 \\
 \text{mmol Mn}_3\text{O}_4 &= 1.75 \text{ mmol MnO}_2 \times \frac{1}{3} (\text{mmol Mn}_3\text{O}_4/\text{mmol MnO}_2) \\
 &= 0.583 \text{ mmol Mn}_3\text{O}_4 \\
 \% \text{ Mn}_3\text{O}_4 &= \frac{0.583 \text{ mmol Mn}_3\text{O}_4 \times 228.8 (\text{mg Mn}_3\text{O}_4/\text{mmol})}{200 \text{ mg muestra}} \times 100\% \\
 &= 66.7\% \text{ Mn}_3\text{O}_4
 \end{aligned}$$

O, combinando todos los pasos,

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Mn}_3\text{O}_4 &= \{ [M_{\text{Fe}^{2+}} \times \text{mL}_{\text{Fe}^{2+}} - M_{\text{MnO}_4^-} \times \text{mL}_{\text{MnO}_4^-} \times 5(\text{mmol Fe}^{2+}/\text{mmol MnO}_4^-) \\
 &\quad \times \frac{1}{2} (\text{mmol MnO}_2/\text{mmol Fe}^{2+}) \times \frac{1}{3} (\text{mmol Mn}_3\text{O}_4/\text{mmol MnO}_2) \\
 &\quad \times \text{p. fórm.}_{\text{Mn}_3\text{O}_4}] / \text{mg}_{\text{muestra}} \} \times 100\% \\
 &= \frac{(0.100 \times 50.0 - 0.0200 \times 15.0 \times 5) \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{3} \times 228.8 \text{ mg/mmol}}{200} \\
 &\quad \times 100\% \\
 &= 66.7\% \text{ Mn}_3\text{O}_4
 \end{aligned}$$

.....

5.6 Normalidad: una forma diferente de hacer cálculos volumétricos⁶

Muchas sustancias no reaccionan con una proporción molar 1:1, de modo que soluciones de igual concentración molar no reaccionarán en una proporción volumétrica de 1:1. Mediante la introducción de los conceptos de equivalentes y normalidad, se pueden hacer cálculos en estos casos similares a los cálculos molares para las reacciones en relación molar 1:1. Para hacerlo, se define una nueva unidad de concentración llamada **normalidad**. El símbolo N significa **normal**, igual que M significa molar. La normalidad de una solución es igual al número de **equivalentes** de sustancia por litro de solución:

$$N = \frac{\text{eq}}{\text{L}} = \frac{\text{meq}}{\text{ml}} \quad (5.30)$$

donde meq significa **miliequivalentes**.

Los equivalentes se basan en el mismo concepto que las moles, pero el número de equivalentes dependerá del número de **unidades reaccionantes** que suministra cada molécula o el número con el cual reacciona. Por ejemplo, si se tiene un mol de HCl, se tiene un mol de H^+ para reaccionar como ácido. Por tanto, se tiene un equivalente de H^+ . Por otro lado, si se tiene un mol de H_2SO_4 , se tienen dos moles de la unidad reaccionante H^+ y dos equivalentes de H^+ . El número de equivalentes se puede calcular a partir del número de moles por

$$\begin{aligned}
 \text{eq} &= \text{mol} \times \text{núm. de unidades reaccionantes por molécula} \\
 \text{meq} &= \text{mmol} \times \text{núm. de unidades reaccionantes por molécula}
 \end{aligned}$$

¿QUÉ ES EL PESO EQUIVALENTE?

El **peso equivalente** es el peso de una sustancia en gramos que aporta un mol de la unidad reaccionante. Así, para el HCl, el peso equivalente es igual al peso fórmula. Para el H_2SO_4 ,

El número de unidades reaccionantes dependerá de la reacción. Con frecuencia varía en diferentes reacciones de redox.

⁶ El concepto de equivalente y normalidad, aunque históricamente útil, no se usa tan ampliamente en la actualidad para los cálculos como la molaridad. Estudiar esta sección si el instructor lo pide; de otra manera, se puede pasar por alto.

se necesita sólo la mitad del número de moléculas para aportar un mol de H^+ , de modo que el peso equivalente es la mitad del peso fórmula:

$$\text{peso eq. HCl} = \frac{\text{p. fórm.}_{\text{HCl}} \text{ (g/mol)}}{1 \text{ (eq/mol)}}$$

$$\text{peso eq. H}_2\text{SO}_4 = \frac{\text{p. fórm.}_{\text{H}_2\text{SO}_4} \text{ (g/mol)}}{2 \text{ (eq/mol)}}$$

Ejemplo 5.30

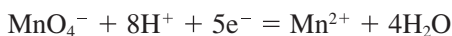
Calcular los pesos equivalentes de las siguientes sustancias: a) NH_3 , b) $H_2C_2O_4$ (en reacción con NaOH) y c) $KMnO_4$ [$Mn(VII)$ se reduce a Mn^{2+}].

Solución

a)
$$\text{peso eq.} = \frac{NH_3 \text{ g/mol}}{1 \text{ eq/mol}} = \frac{17.03}{1} = 17.03 \text{ g/eq}$$

b)
$$\text{peso eq.} = \frac{H_2C_2O_4 \text{ g/mol}}{2 \text{ eq/mol}} = \frac{90.04}{2} = 45.02 \text{ g/eq}$$

c) El Mn sufre un cambio de cinco electrones (el electrón se representa e^-) del número de oxidación +7 a +2:



$$\text{peso eq.} = \frac{KMnO_4 \text{ g/mol}}{5 \text{ eq/mol}} = \frac{158.04}{5} = 31.608 \text{ g/eq}$$

Del mismo modo que se puede calcular el número de moles a partir del número de gramos dividiendo entre el peso fórmula, se puede también calcular el número de equivalentes de una sustancia dividiendo entre el peso equivalente:

$$\boxed{\text{eq} = \frac{g}{\text{peso eq. (g/eq)}} \quad \text{meq} = \frac{mg}{\text{peso eq. (mg/meq)}}} \quad (5.31)$$

Entonces, la normalidad de una solución se calcula a partir del número de equivalentes y el volumen:

$$\boxed{N = \frac{\text{eq}}{L} = \frac{g/\text{peso eq. (g/eq)}}{L} \quad N = \frac{\text{meq}}{mL} = \frac{mg/\text{peso eq. (mg/meq)}}{mL}} \quad (5.32)$$

Ejemplo 5.31

Calcular la normalidad de las soluciones que contienen lo siguiente: a) 5.300 g/L de Na_2CO_3 (cuando el CO_3^{2-} reacciona con dos protones); b) 5.267 g/L de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (el Cr se reduce a Cr^{3+}).

Solución

a) El CO_3^{2-} reacciona con 2H^+ para dar H_2CO_3 :

$$N = \frac{5.300 \text{ g/L}}{(105.99/2) \text{ g/eq}} = 0.1000 \text{ eq/L}$$

b) El Cr(VI) se reduce a Cr^{3+} con un cambio total de 6e^- /molécula de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$:



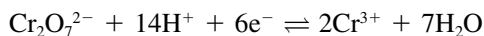
$$N = \frac{5.267 \text{ g/L}}{(294.19/6) \text{ g/eq}} = 0.1074 \text{ eq/L}$$

Se puede usar una semirreacción redox balanceada en vez de cambiar el número de oxidación para determinar el peso equivalente.

No siempre es necesario usar los pesos equivalentes para calcular los equivalentes. Se puede usar también un *factor estequiométrico*, n (unidades de eq/mol), para convertir entre moles y equivalentes. Así,

$$\begin{aligned} \text{Equivalentes} &= \text{moles} \times n \text{ (eq/mol)} \\ N \text{ (eq/L)} &= M \text{ (mol/L)} \times n \text{ (eq/mol)} \\ \text{peso eq. (g/eq)} &= \frac{\text{p. fórm. (g/mol)}}{n \text{ (eq/mol)}} \end{aligned}$$

En las reacciones de oxidación-reducción no se tiene que depender de los números de oxidación; en vez de esto se puede usar la semirreacción balanceada. Por ejemplo, cuando el dicromato se reduce a Cr^{3+} , la semirreacción es



De modo que $n = 6$ (6 electrones/mol de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), por lo cual una solución 0.1 M es $0.1 M \times 6 \text{ (eq/mol)} = 0.6 N$.

Los cálculos de normalidad se tratan como las reacciones 1:1 en cálculos de molaridad.

La ventaja de expresar las concentraciones en normalidad y las cantidades en equivalentes es que un equivalente de la sustancia A **SIEMPRE** reaccionará con un equivalente de la sustancia B. Así, un equivalente de NaOH ($\equiv 1 \text{ mol}$) reaccionará con un equivalente de HCl ($\equiv 1 \text{ mol}$), o con un equivalente de H_2SO_4 ($\equiv \frac{1}{2} \text{ mol}$). Por tanto, se puede calcular el peso de analito a partir del número de equivalentes de titulante porque este último es igual a los equivalentes de analito.

Se debe destacar el hecho de que el número de equivalentes, o la normalidad, depende de la reacción específica. El Na_2CO_3 , por ejemplo, puede reaccionar ya sea con un H^+ ($\text{CO}_3^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^-$) o dos H^+ ($\text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$). En el primer caso, hay una unidad reaccionante, en comparación con las dos en el segundo caso. Así, existe riesgo al usar las unidades de la normalidad, los equivalentes o el peso equivalente; esto es, *son completamente dependientes de la reacción particular*, y esto se debe especificar. Si se

encuentra una solución 0.1000 *N* de KMnO_4 , no podría saberse de antemano si debe referirse a la reducción del permanganato a Mn^{2+} (la reacción común en solución ácida) o a MnO_2 (que ocurre en solución neutra). La primera reacción corresponde a una transferencia de cinco electrones (número de unidades reactantes), y la segunda a un cambio de tres electrones. Si la molaridad está dada, no hay duda de cuál es la concentración. Así, la normalidad depende del conocimiento y de la disponibilidad de una reacción balanceada, en tanto que la molaridad no. Una solución 1 *M* de KMnO_4 siempre es 1 *M*, pero puede ser 5 *N* o 3 *N*, dependiendo de cómo se use.

Debe recordarse que el número de unidades reaccionantes de un compuesto, y por tanto el número de equivalentes, dependerá del proceso en el que esté participando. Si A es la muestra y T es el titulante,

$$\text{meq}_A = \text{meq}_T \quad (5.33)$$

$$\text{meq}_A = \frac{\text{mg}_A}{\text{peso eq.}_A \text{ (mg/meq)}} = N_T \text{ (meq/mL)} \times \text{mL} \quad (5.34)$$

$$\text{mg}_A = \text{meq}_T = \text{peso eq.}_A \text{ (mg/meq)} \quad (5.35)$$

$$\text{mg}_A = N_T \text{ (meq/mL)} \times \text{mL}_T \times \text{peso eq.}_A \text{ (mg/meq)} \quad (5.36)$$

El peso equivalente se determina de la misma manera que para T; es decir, ¿cuántas unidades reaccionantes libera A o con cuántas reacciona por molécula?

Ahora se puede escribir una ecuación general para calcular el porcentaje de un componente en la muestra (análoga a la ecuación 5.22):

$$\% A = \frac{N_T \text{ (meq/mL)} \times \text{mL}_T \times 1 \text{ (meq}_A/\text{meq}_T) \times \text{peso eq.}_A \text{ (mg/meq)}}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \quad (5.37)$$

El factor $\text{meq}_A/\text{meq}_T$ siempre es la unidad. Así se entiende en todos los cálculos de análisis dimensional.



Ejemplo 5.32

Una muestra de 0.4671 g que contiene bicarbonato de sodio (una base monoácida) se disuelve y se titula con una solución estándar de ácido clorhídrico, que consume 40.72 mL. El ácido clorhídrico se estandarizó titulando 0.1876 g de carbonato de sodio, lo cual consumió 37.86 mL de ácido (véase el ejemplo 5.18 para la reacción). Calcular el porcentaje de bicarbonato de sodio en la muestra.

Solución

El Na_2CO_3 es una base que reacciona con dos H^+ por molécula:

$$\begin{aligned} N_{\text{HCl}} &= \frac{\text{meq}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}}{\text{mL}_{\text{HCl}}} = \frac{\text{mg}_{\text{Na}_2\text{CO}_3} / \text{p. fórm.}_{\text{Na}_2\text{CO}_3} / 2}{\text{mL}_{\text{HCl}}} \\ &= \frac{187.6 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3 / (105.99 / 2 \text{ mg/meq})}{37.86 \text{ mL HCl}} = 0.09350 \text{ meq/mL HCl} \end{aligned}$$

% NaHCO₃

$$\begin{aligned}
 &= \frac{N_{\text{HCl}} \times \text{mL}_{\text{HCl}} \times (\text{p. fórm. NaHCO}_3/1)}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% \\
 &= \frac{0.09350 \text{ meq HCl/mL} \times 40.72 \text{ mL HCl} \times (84.01/1 \text{ mg NaHCO}_3/\text{meq})}{476.1 \text{ mg}_{\text{muestra}}} \\
 &\quad \times 100\% \\
 &= 67.18\% \text{ NaHCO}_3
 \end{aligned}$$

Es importante recordar que un equivalente de una sustancia siempre reaccionará con un equivalente de su contraparte. Es útil reconocer que, como

$$\text{meq}_A = \text{meq}_B \quad (5.38)$$

por lo que será posible calcular los volúmenes de dos soluciones que reaccionarán a través de

$$N_A (\text{meq/mL}) \times \text{mL}_A = N_T (\text{meq/mL}) \times \text{mL}_T \quad (5.39)$$

Ejemplo 5.33

¿Cuántos mililitros de una solución 0.25 *M* de H₂SO₄ reaccionará con 10 mL de una solución 0.25 *M* de NaOH?

Solución

Dado que hay dos unidades reaccionantes por molécula de H₂SO₄, la normalidad de esta solución será el doble de su molaridad:

$$\begin{aligned}
 2\text{NaOH} + \text{H}_2\text{SO}_4 &\rightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \\
 N_{\text{H}_2\text{SO}_4} &= 2 (\text{eq/mol}) \times 0.25 (\text{mol/L}) = 0.50 \text{ eq/L}
 \end{aligned}$$

La normalidad del NaOH será la misma que su molaridad, ya que consumirá una unidad reaccionante por molécula:

$$\begin{aligned}
 N_{\text{NaOH}} &= 0.25 \text{ eq/L} \\
 \text{meq}_{\text{H}_2\text{SO}_4} &= \text{meq}_{\text{NaOH}} \\
 N_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times \text{mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4} &= N_{\text{NaOH}} \times \text{mL}_{\text{NaOH}} \\
 \therefore 0.50 \text{ meq/mL} \times \text{mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4} &= 0.25 \text{ meq/mL} \times 10 \text{ mL} \\
 \text{mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4} &= 5.0 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

También se puede usar un procedimiento similar a la ecuación 5.29 para calcular la dilución necesaria para preparar cierta normalidad de una solución a partir de una solución más concentrada, de manera similar a la dilución para la molaridad (véase el ejemplo 5.22).

En la tabla 5.4 se resume la relación entre unidades basadas en moles y unidades basadas en equivalentes.

Tabla 5.4

Comparación de unidades basadas en moles y en equivalentes

$\text{mol} \times n(\text{eq/mol}) = \text{eq}$	$\text{mmol} \times n(\text{meq/mmol}) = \text{meq}$
$M(\text{mol/L}) \times n(\text{eq/mol}) = N(\text{eq/L})$	$M(\text{mmol/L}) \times n(\text{meq/mmol}) = N(\text{meq/mL})$
$\text{p. fórm. (g/mol)} \div n(\text{eq/mol}) = \text{peso eq. (g/eq)}$	$\text{p. fórm. (mg/mmol)} \div n(\text{meq/mmol}) = \text{peso eq. (mg/meq)}$

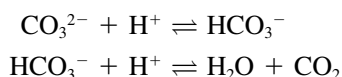
UNIDADES REACCIONANTES EN LOS CÁLCULOS DE NORMALIDAD: PROTONES Y ELECTRONES

1. Ácido-base. Como se ha mencionado, la unidad reaccionante para ácidos y bases es el protón H^+ . Si la sustancia reacciona como ácido, se debe determinar el número de protones reactivos que tiene por molécula. Si reacciona como base, se debe determinar el número de protones con los que reaccionará por molécula. Entonces,

$$\text{peso eq.} = \frac{\text{p. fórm.}}{\text{núm. de H}^+} \quad (5.40)$$

Esto dependerá de la reacción específica que se elija. Con H_2SO_4 , ambos protones son fuertemente ionizados, por lo cual hay dos equivalentes de unidades reactantes por mol de H_2SO_4 . Éstos reaccionan juntos para dar un solo punto final, lo cual corresponde a la titulación de ambos protones. En el H_3PO_4 , el primer protón está ionizado con mucha fuerza, la ionización del segundo es débil, y la del tercero es demasiado débil para titularlo. De esta manera, será posible titular *por etapas* al primer protón y al segundo para obtener dos puntos finales separados, en tanto que el tercero es demasiado débil para dar un punto final detectable. Si se elige titular sólo al primer protón, entonces habrá sólo una unidad reaccionante por molécula de H_3PO_4 *en esta reacción particular*. El número de equivalentes será, por tanto, igual al número de moles de H_3PO_4 . Sin embargo, si se elige titular dos protones (para aumentar al doble el volumen de titulación y mejorar la precisión relativa), el número de equivalentes será el doble del número de moles.

El Na_2CO_3 es una base fuerte que reaccionará con un ácido para producir NaHCO_3 . El NaHCO_3 es una base débil y se puede titular un paso más hasta ácido carbónico:



El número de unidades reaccionantes (protones) depende de qué reacción se elija.

Nuevamente, se pueden tener dos puntos finales separados, y el número de equivalentes (y de peso equivalente) dependerá de cuál reacción se elija. Por tanto, es esencial conocer la reacción que está teniendo lugar antes de comenzar un cálculo.

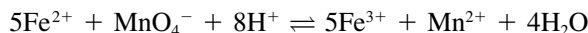
Ejemplo 5.34

Se prepara una solución de carbonato de sodio disolviendo 0.212 g de Na_2CO_3 y diluyendo a 100 mL. Calcular la normalidad de la solución: a) si se usa como base monoacídica y b) si se usa como base diacídica.

Solución

$$\begin{aligned} \text{a)} \quad N &= \frac{\text{mg}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}/(\text{Na}_2\text{CO}_3/1)}{\text{mL}} = \frac{212 \text{ mg}/(106.0/1 \text{ mg/meq})}{100 \text{ mL}} = 0.0200 \text{ meq/mL} \\ \text{b)} \quad N &= \frac{\text{mg}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}/(\text{Na}_2\text{CO}_3/2)}{\text{mL}} = \frac{212 \text{ mg}/(106.0/2 \text{ mg/meq})}{100 \text{ mL}} = 0.0400 \text{ meq/mL} \end{aligned}$$

2. Reducción-oxidación. La unidad reaccionante en una reacción de reducción-oxidación es el electrón. Un agente reductor libera electrones y al hacerlo se oxida, y un agente oxidante absorbe electrones y al hacerlo se reduce. Por ejemplo, en la reacción



cada Fe^{2+} (agente reductor) pierde un electrón, y cada MnO_4^- (agente oxidante) gana cinco electrones al reducirse de Mn^{7+} a Mn^{2+} . El número de unidades reaccionantes se trata como se hizo con los ácidos y las bases. Así,

$$\text{peso eq.} = \frac{\text{p. fórm.}}{\text{núm. de moles de electrones ganados o perdidos}} \quad (5.41)$$

En este ejemplo, el número de equivalentes de hierro es igual a su número de moles y el peso equivalente es igual al peso atómico del hierro. Hay un número de equivalentes igual a cinco veces los moles de permanganato, y su peso equivalente es una quinta parte de su peso fórmula. Pero igual que con los ácidos y las bases, un equivalente de agente reductor reaccionará con un equivalente de agente oxidante.

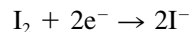


Ejemplo 5.35

El yodo (I_2) es un agente oxidante que en las reacciones con agentes reductores se reduce a ion yoduro (I^-). ¿Cuántos gramos de I_2 se deben pesar para preparar 100 mL de solución 0.100 N de I_2 ?

Solución

Como cada molécula de I_2 consume dos electrones,



El peso equivalente es la mitad del peso fórmula:

$$\text{peso eq.} = \frac{\text{p. fórm.}_{\text{I}_2} \text{ (g/mol)}}{2 \text{ (eq/mol)}}$$

$$N \times \text{mL} = \text{meq} = \frac{\text{mg}_{\text{I}_2}}{\text{peso eq.}} = \frac{\text{mg}_{\text{I}_2}}{\text{p. fórm.}_{\text{I}_2}/2}$$

$$0.100 \text{ meq/mL} \times 100 \text{ mL} = \frac{\text{mg}_{\text{I}_2}}{254/2 \text{ mg/meq}}$$

$$\text{mg}_{\text{I}_2} = 0.100 \text{ meq/mL} \times 100 \text{ mL} \times (254/2 \text{ mg/meq}) = 1270 \text{ mg}$$

Por tanto, se pesarían 1.27 g.

Ejemplo 5.36

Calcular la normalidad de una solución de 0.25 g/L de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ tanto si reacciona como ácido como si reacciona como agente reductor.

La normalidad del $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ depende de que reaccione como ácido o como agente redox.

Solución

El peso equivalente como ácido es la mitad de su peso fórmula:

$$\therefore N_{\text{ácido}} = \frac{250 \text{ mg}/(90.04/2 \text{ mg/meq})}{1\,000 \text{ mL}} = 0.00555 \text{ meq/mL}$$

Cada ion oxalato gana dos electrones al oxidarse a CO_2 (cada carbono se oxida desde un estado de oxidación de +3 hasta +4). Por tanto, el peso equivalente será la mitad del peso fórmula, y la normalidad como agente reductor será la misma que como ácido.

RESUMEN DE LOS CÁLCULOS DE NORMALIDAD

Aquí se resumen las ecuaciones que más a menudo se usan al aplicar el concepto de normalidad a titulaciones volumétricas:

$$\text{meq} = \frac{\text{mg}}{\text{peso eq. (mg/meq)}} \quad (5.42)$$

$$N = \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \quad (5.43)$$

Una de las siguientes ecuaciones se usará normalmente para calcular los resultados de una titulación en la que la sustancia A se titula con la sustancia T: ¡Pensar en unidades!

$$N_T (\text{meq/mL}) \times \text{mL}_T \times \text{peso eq.}_A (\text{mg/meq}) = \text{mg}_A \quad (5.44)$$

$$\frac{N_T (\text{meq/mL}) \times \text{mL}_T \times \text{peso eq.}_A (\text{mg/meq})}{\text{mg}_{\text{muestra}}} \times 100\% = \% A \quad (5.45)$$

5.7 Título: cómo hacer cálculos de rutina rápidos

Para titulaciones de rutina, a menudo conviene calcular el **título** del titulante. El título es el peso de analito químicamente equivalente a 1 mL del titulante, por lo regular expresado en miligramos. Por ejemplo, si una solución de dicromato de potasio tiene un título de 1.267 mg Fe, cada mililitro de dicromato de potasio reaccionará con 1.267 mg de hierro, y el peso del hierro titulado se obtiene simplemente multiplicando el volumen de titulante usado por el título. El título se puede expresar en términos de cualquier forma del analito que se desee, por ejemplo, miligramos de FeO o de Fe_2O_3 .

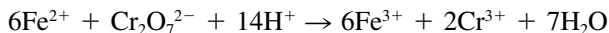
Título = miligramos de analito que reaccionan con 1 mL de titulante.

Ejemplo 5.37

Una solución estándar de dicromato de potasio contiene 5.442 g/L. ¿Cuál es su título en términos de miligramos de Fe_3O_4 ?

Solución

El hierro se titula como Fe^{2+} , y cada $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ reaccionará con 6Fe^{2+} o el hierro de $2\text{Fe}_3\text{O}_4$:



La molaridad de la solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ es

$$M_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}} = \frac{\text{g/L}}{\text{p. fórm.}_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}} = \frac{5.442 \text{ g/L}}{294.19 \text{ g/mol}} = 0.01850 \text{ mol/L}$$

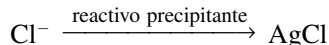
Por tanto, el título es

$$\begin{aligned} 0.01850 \left(\frac{\text{mmol K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}{\text{mL}} \right) &\times \frac{2}{1} \left(\frac{\text{mmol Fe}_3\text{O}_4}{\text{mmol K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} \right) \times 231.54 \left(\frac{\text{mg Fe}_3\text{O}_4}{\text{mmol Fe}_3\text{O}_4} \right) \\ &= 8.567 \text{ mg Fe}_3\text{O}_4/\text{mL K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \end{aligned}$$

5.8 Relaciones de pesos: son necesarias para los cálculos gravimétricos

En la técnica del análisis gravimétrico (capítulo 7) el analito se convierte a una forma insoluble que se pesa. A partir del peso del precipitado que se forma y la relación de pesos entre el analito y el precipitado, se puede calcular el peso del analito. Aquí se revisarán algunos de los conceptos de cálculo.

El analito casi siempre se pesa en una forma diferente de la que se quiere reportar. Por tanto, se debe calcular el peso de la sustancia deseada a partir del peso del precipitado gravimétrico. Se puede hacer esto usando una proporción directa. Por ejemplo, si se está analizando para determinar el porcentaje de cloro en una muestra pesándolo como AgCl , se puede escribir



Un mol de AgCl se deriva de un mol de Cl^- , de modo que

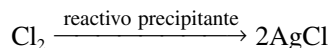
$$\frac{\text{g Cl}^-}{\text{g AgCl}} = \frac{\text{p. at. Cl (g Cl/mol Cl)}}{\text{p. fórm. AgCl (g AgCl/mol AgCl)}} \times \frac{1 \text{ mol Cl}}{1 \text{ mol AgCl}}$$

o

$$\text{g Cl}^- = \text{g AgCl} \times \frac{\text{p. at. Cl}}{\text{p. fórm. AgCl}} \text{ (g Cl/g AgCl)}$$

En otras palabras, el peso de Cl contenido en el AgCl o usado para crear el AgCl es igual al peso de AgCl por la **fracción** de Cl en el AgCl.

El cálculo del peso correspondiente de Cl₂ que estaría contenido en la muestra procedería así:



Se derivan dos moles de AgCl de cada mol de Cl₂, de modo que

$$\frac{\text{g Cl}_2}{\text{g AgCl}} = \frac{\text{p. fórm. Cl}_2 (\text{g Cl}_2/\text{mol Cl}_2)}{\text{p. fórm. AgCl} (\text{g AgCl}/\text{mol AgCl})} \times \frac{1 \text{ mol Cl}_2}{2 \text{ mol AgCl}}$$

y

$$\text{g Cl}_2 = \text{g AgCl} \times \frac{\text{p. fórm. Cl}_2}{2 (\text{p. fórm. AgCl})} (\text{g Cl}_2/\text{g AgCl})$$

o

$$\text{g AgCl} \times \frac{70.906 \text{ g Cl}_2/\text{mol Cl}_2}{(2 \text{ mol AgCl}/\text{mol Cl}_2)(143.32 \text{ g AgCl}/\text{mol AgCl})} = \text{g Cl}_2$$

¡Recuérdese nuevamente llevar la cuenta de las unidades!

También se puede escribir

$$\text{g AgCl} \times \frac{1 \text{ mol AgCl}}{143.32 \text{ g AgCl}} \times \frac{1 \text{ mol Cl}_2}{2 \text{ mol AgCl}} \times \frac{70.906 \text{ g Cl}_2}{1 \text{ mol Cl}_2} = \text{g Cl}_2$$

El **factor gravimétrico** (GF, gravimetric factor) es la relación apropiada del peso fórmula de la sustancia *buscada* con el de la sustancia *pesada*:

El factor gravimétrico es el peso del analito por unidad de peso de precipitado.

$$\text{GF} = \text{factor gravimétrico} = \frac{\text{p. fórm. de la sustancia buscada}}{\text{p. fórm. de la sustancia pesada}} \times \frac{a}{b} (\text{moles sust. buscada}/\text{moles sust. pesada})$$

(5.46)

donde *a* y *b* son los enteros que hacen los pesos fórmula en el numerador y el denominador químicamente equivalentes. En los ejemplos anteriores, los factores gravimétricos eran (Cl/AgCl) × 1/1 y (Cl₂/AgCl) × 1/2. Obsérvese que uno de los pesos de fórmula o ambos se pueden multiplicar por un entero para conservar el mismo número de átomos del elemento clave en el numerador y el denominador.

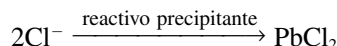
El peso de la sustancia buscada se obtiene multiplicando el peso del precipitado por el factor gravimétrico:

$$\text{peso (g)} \times \frac{\text{p. fórm. de la sustancia buscada}}{\text{p. fórm. de la sustancia pesada}} \times \frac{a}{b} = \text{buscada (g)} \quad (5.47)$$

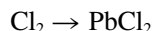
Obsérvese que las *especies* y las *unidades* de las ecuaciones se pueden verificar por análisis dimensional (cancelación de especies y unidades iguales). Por ejemplo,

$$\text{g AgCl} \times \frac{1}{2} (\text{mol Cl}_2 / \text{mol AgCl}) \times \frac{\text{Cl}_2 (\text{g Cl}_2/\text{mol Cl}_2)}{\text{AgCl} (\text{g AgCl}/\text{mol AgCl})} = \text{g Cl}_2$$

Obsérvese también que se ha calculado la cantidad de Cl_2 gaseoso *derivable* de la muestra, en lugar de la cantidad de ion Cl^- , la forma en que probablemente esté presente en la muestra y la forma en la que se pesa. Si se precipita el cloruro como PbCl_2 ,



y



entonces,

$$\text{g Cl}^- = \text{g PbCl}_2 \times \frac{2(\text{p. fórm. Cl})}{\text{p. fórm. PbCl}_2} (\text{g Cl/g PbCl}_2) = \text{g PbCl}_2 \times \text{GF}$$

o

$$\text{g Cl}_2 = \text{g PbCl}_2 \times \frac{\text{p. fórm. Cl}_2}{\text{p. fórm. PbCl}_2} (\text{g Cl}_2/\text{g PbCl}_2) = \text{g PbCl}_2 \times \text{GF}$$

La conversión del peso de una sustancia a peso equivalente de otra se hace usando el análisis dimensional de las unidades para llegar al peso deseado. El factor gravimétrico es una etapa de ese cálculo, y es útil para cálculos rutinarios. Es decir, si se conoce el factor gravimétrico, simplemente se multiplica el peso del precipitado por el factor gravimétrico para llegar al peso del analito.

Gramos de analito = gramos precipitados $\times$ GF.

Ejemplo 5.38

Calcular el peso de bario y el peso de Cl presente en 25.0 g de BaCl_2 .

Solución

$$5.0 \text{ g BaCl}_2 \times 1 (\text{mol Ba/mol BaCl}_2) \times \frac{137.3 (\text{g Ba/mol Ba})}{208.2 (\text{g BaCl}_2/\text{mol BaCl}_2)} = 16.5 \text{ g Ba}$$

$$25.0 \text{ g BaCl}_2 \times \frac{1}{2} (\text{mol Cl/mol BaCl}_2) \times \frac{35.45 (\text{g Cl/mol Cl})}{208.2 (\text{g BaCl}_2/\text{mol BaCl}_2)} = 8.51 \text{ g Cl}$$

Ejemplo 5.39

Se determina el aluminio en un mineral disolviéndolo y luego precipitándolo con una base, como $\text{Al}(\text{OH})_3$, y posteriormente calcinándolo a Al_2O_3 , que se pesa. ¿Cuánto peso de aluminio había en la muestra si el precipitado calcinado pesó 0.2385 g?

Solución

$$\text{g Al}_2\text{O}_3 \times \frac{2}{1} (\text{mol Al/mol Al}_2\text{O}_3) \times \frac{\text{Al}(\text{g Al/mol Al})}{\text{Al}_2\text{O}_3 (\text{g Al}_2\text{O}_3/\text{mol Al}_2\text{O}_3)} = \text{g Al}_2\text{O}_3$$

$$0.2385 \text{ g Al}_2\text{O}_3 = \frac{2}{1} \times \frac{26.982 (\text{g Al/mol Al})}{101.96 (\text{g Al}_2\text{O}_3/\text{mol Al}_2\text{O}_3)} = 0.1262_3 \text{ g Al}$$

El factor gravimétrico es

$$\frac{2 \text{ Al}}{\text{Al}_2\text{O}_3} (\text{g Al/g Al}_2\text{O}_3) = \frac{2 (26.982 \text{ g Al/mol Al})}{101.96 (\text{g Al}_2\text{O}_3/\text{mol Al}_2\text{O}_3)} = 0.52927 (\text{g Al/g Al}_2\text{O}_3)$$

o $0.2385 \text{ g Al}_2\text{O}_3 \times 0.52927 (\text{g Al/g Al}_2\text{O}_3) = 0.12623 \text{ g Al}$

En seguida se dan otros ejemplos de factores gravimétricos:

<i>Buscado</i>	<i>Pesado</i>	<i>Factor gravimétrico</i>
SO_3	BaSO_4	$\frac{\text{SO}_3 \text{ p. fórm.}}{\text{BaSO}_4 \text{ p. fórm.}}$
Fe_3O_4	Fe_2O_3	$\frac{2\text{Fe}_3\text{O}_4 \text{ p. fórm.}}{3\text{Fe}_2\text{O}_3 \text{ p. fórm.}}$
Fe	Fe_2O_3	$\frac{2\text{Fe p. fórm.}}{\text{Fe}_2\text{O}_3 \text{ p. fórm.}}$
MgO	$\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$	$\frac{2\text{MgO p. fórm.}}{\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 \text{ p. fórm.}}$
P_2O_5	$\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$	$\frac{\text{P}_2\text{O}_5 \text{ p. fórm.}}{\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 \text{ p. fórm.}}$

Las operaciones de los análisis gravimétricos se describen en detalle en el capítulo 10.

En el capítulo 7 se dan más ejemplos de cálculos gravimétricos.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Cómo calcular molaridades y moles (ecuaciones clave: 5.4, 5.5), p. 144
- Cómo expresar los resultados analíticos, p. 152
- Cómo calcular peso y porcentaje del analito a partir de molaridades, volúmenes y relaciones de reacción (ecuaciones clave: 5.5, 5.17 a 5.22, 5.27), p. 160
- Normalidad como unidad alternativa de concentración (ecuaciones clave: 5.30 a 5.32; 5.36), p. 170
- Relaciones de peso para análisis gravimétrico (ecuación clave: 5.47), p. 180

Preguntas

1. Distinguir entre las expresiones de concentración sobre las bases peso/peso, peso/volumen, volumen/volumen.
2. Expresar ppm y ppb sobre la base peso/peso, peso/volumen, volumen/volumen.
3. Definir el término “peso equivalente” que se usa para los electrolitos en química clínica. ¿Por qué se usa?
4. Enumerar los requisitos de una titulación. ¿Cuáles son las cuatro clases de titulaciones?

5. ¿Cuál es el punto de equivalencia de una titulación? ¿Y el punto final?
6. ¿Qué es una solución estándar? ¿Cómo se prepara?
7. ¿Cuáles son los requisitos de un estándar primario?
8. ¿Por qué un estándar primario debe tener un peso fórmula alto?

Problemas

CÁLCULOS DE PESO/MOL

9. Calcular los gramos de sustancia que se necesitan para preparar las siguientes soluciones: *a)* 250 mL de NaNO_3 al 5% (peso/vol); *b)* 500 mL de NH_4NO_3 al 1% (peso/vol); *c)* 1 000 mL de AgNO_3 al 10.0% (peso/vol).
10. ¿Cuál es el porcentaje peso/vol del soluto en cada una de las siguientes soluciones? *a)* 52.3 g Na_2SO_4 /L; *b)* 275 g KBr en 500 mL; *c)* 3.65 g SO_2 en 200 mL.
11. Calcular los pesos fórmula de las siguientes sustancias: *a)* $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; *b)* $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$; *c)* $\text{Ag}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; *d)* $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.
12. Calcular el número de milimoles contenidos en 500 mg de cada una de las siguientes sustancias: *a)* BaCrO_4 , *b)* CHCl_3 , *c)* $\text{KIO}_3 \cdot \text{HIO}_3$, *d)* MgNH_4PO_4 , *e)* $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, *f)* $\text{FeSO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.
13. Calcular el número de gramos de cada una de las sustancias del problema 12 que tendrían que disolverse y diluir a 100 mL para preparar una solución 0.200 M.
14. Calcular el número de miligramos de cada una de las siguientes sustancias que se tendrían que pesar para preparar las soluciones de la siguiente lista: *a)* 1.00 L de NaCl 1.00 M; *b)* 0.500 L de sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) 0.200 M; *c)* 10.0 mL de sacarosa 0.500 M; *d)* 0.0100 L de Na_2SO_4 0.200 M; *e)* 250 mL de KOH 0.500 M; *f)* 250 mL de NaCl al 0.900% (g/100 mL de solución).
15. El almacén del laboratorio cuenta con las siguientes soluciones: HCl 0.100 M, NaOH 0.0200 M, KOH 0.0500 M, HBr al 10.0% (peso/vol), y Na_2CO_3 al 5.00% (peso/vol). ¿Qué volúmenes de estas soluciones serían necesarios para obtener las siguientes cantidades de solutos? *a)* 0.0500 mol HCl, *b)* 0.0100 mol NaOH, *c)* 0.100 mol KOH, *d)* 5.00 g HBr, *e)* 4.00 g Na_2CO_3 , *f)* 1.00 mol HBr, *g)* 0.500 mol Na_2CO_3 .

CÁLCULOS DE MOLARIDAD

16. Calcular las concentraciones molares de todos los cationes y aniones en una solución preparada mezclando 10.0 mL de cada una de las siguientes soluciones: 0.100 M $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$, 0.100 M KNO_3 y 0.100 M K_2SO_4 .
17. Una solución que contiene 10.0 mmol de CaCl_2 se diluye a 1 L. Calcular el número de gramos de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ por mililitro de la solución final.
18. Calcular la molaridad de cada una de las siguientes soluciones: *a)* 10.0 g de H_2SO_4 en 250 mL de solución, *b)* 6.00 g de NaOH en 500 mL de solución; *c)* 25.0 g AgNO_3 en 1.00 L de solución.
19. Calcular el número de gramos en 500 mL de cada una de las siguientes soluciones: *a)* 0.100 M Na_2SO_4 , *b)* 0.250 M $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, *c)* 0.667 M $\text{Ca}(\text{C}_9\text{H}_6\text{ON})_2$.
20. Calcular los gramos de cada sustancia que se requiere para preparar las siguientes soluciones: *a)* 250 mL de 0.100 M KOH, *b)* 1.00 L de 0.0275 M $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, *c)* 500 mL de 0.0500 M CuSO_4 .
21. ¿Cuántos mililitros de ácido clorhídrico concentrado al 38% (peso/peso), gravedad específica 1.19, se necesitan para preparar 1 L de solución 0.100 M? (suponer que la densidad y la gravedad específica son iguales dentro de tres cifras significativas).

22. Calcular la molaridad de cada una de las siguientes soluciones comerciales de ácidos o bases: *a)* HClO_4 al 70.0%, gravedad específica 1.668, *b)* HNO_3 al 69.0%, gravedad específica 1.409; *c)* H_3PO_4 al 85.0%, gravedad específica 1.689; *d)* $\text{HC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ (ácido acético) al 99.5%, gravedad específica 1.051; *e)* NH_3 al 28%, gravedad específica 0.898 (supóngase que la densidad y la gravedad específica son iguales dentro de tres cifras significativas).

CÁLCULOS DE PPM

23. Una solución contiene $6.0 \mu\text{mol}$ de Na_2SO_4 en 250 mL. ¿Cuántas ppm de sodio contiene? ¿Y de sulfato?
24. Una solución (100 mL) que contiene 325 ppm de K^+ se analiza precipitándola como tetrafenilborato, $\text{K}(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B}$, disolviendo el precipitado en solución de acetona, y midiendo la concentración de ion tetrafenilborato, $(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B}^-$, en la solución. Si el volumen de la solución de acetona es de 250 mL, ¿cuál es la concentración de tetrafenilborato en ppm?
25. Calcular las concentraciones molares de soluciones de 1.00 ppm de cada una de las siguientes especies: *a)* AgNO_3 , *b)* $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, *c)* CO_2 , *d)* $(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, *e)* HCl , *f)* HClO_4 .
26. Calcular las concentraciones en ppm de soluciones $2.50 \times 10^{-4} M$ de cada una de los siguientes especies: *a)* Ca^{2+} , *b)* CaCl_2 , *c)* HNO_3 , *d)* KCN , *e)* Mn^{2+} , *f)* MnO_4^- .
27. Se quiere preparar 1 L de una solución que contenga 1.00 ppm de Fe^{2+} . ¿Cuántos gramos de sulfato de hierro(II) y amonio, $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, se deben disolver y diluir en 1 L? ¿Cuál sería la molaridad de esta solución?
28. Se analiza una muestra de 0.456 g de un mineral para determinar contenido de cromo y se determina que contiene 0.560 mg de Cr_2O_3 . Expresar la concentración de Cr_2O_3 en la muestra como: *a)* porcentaje, *b)* partes por millar y *c)* partes por millón.
29. ¿Cuántos gramos de NaCl se deben pesar para preparar 1 L de una solución de 100 ppm de: *a)* Na^+ y *b)* Cl^- ?
30. Se tiene una solución de 250 ppm de K^+ como KCl . A partir de ésta, se quiere preparar una solución $0.00100 M$ de Cl^- . ¿Cuántos mililitros se deben diluir a 1 L?
31. ¿Cuántos gramos de K^+ contiene un litro de una solución de 500 ppm de KClO_3 ?

CÁLCULOS DE DILUCIÓN

32. Una porción de 12.5 mL de una solución se diluyen a 500 mL y se determina que su molaridad es de 0.125. ¿Cuál es la molaridad de la solución original?
33. ¿Qué volumen de H_2SO_4 0.50 M se debe agregar a 65 mL de H_2SO_4 0.20 M para dar una solución final de 0.35 M? Supóngase que los volúmenes son aditivos.
34. ¿Cuántos mililitros de H_2SO_4 0.10 M se deben agregar a 50 mL de NaOH 0.10 M para dar una solución 0.050 M en H_2SO_4 ? Se supone que los volúmenes son aditivos.
35. Se pide a un químico que prepare soluciones estándar de trabajo de glucosa 1.00×10^{-5} , 2.00×10^{-5} , 5.00×10^{-5} y $1.00 \times 10^{-4} M$ a partir de una solución primaria 0.100 M. Se dispone de matraces volumétricos de 100 mL y pipetas con volúmenes de 1.00, 2.00, 5.00 y 10 mL. Describir un procedimiento para preparar los estándares de trabajo.
36. Se analiza por espectrofotometría una muestra de 0.500 g para determinar manganeso disolviéndola en ácido, transfiriéndola a un matraz de 250 mL donde se diluye a volumen. Se analizan tres alícuotas transfiriendo porciones de 50 mL con una pipeta a matraces Erlenmeyer de 500 mL y haciéndolas reaccionar con un agente oxidante, peroxodisulfato de potasio, para convertir el manganeso a permanganato. Después de la reacción, se transfieren cuantitativamente a matraces volumétricos de 250 mL, se

diluyen a volumen y se miden por espectrofotometría. Por comparación con los estándares, la concentración promedio en la solución final se determina que es $1.25 \times 10^{-5} M$. ¿Cuál es el porcentaje de manganeso en la muestra?

CÁLCULOS DE ESTANDARIZACIÓN

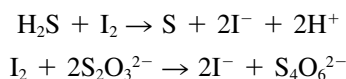
37. Se sabe que una preparación de carbonato de sodio comercial contiene 98.6% de Na_2CO_3 . Si una muestra de 0.678 g necesita 36.8 mL de solución de ácido sulfúrico para neutralización completa, ¿cuál es la molaridad de la solución de ácido sulfúrico?
38. Una solución 0.1 M de hidróxido de sodio se va a estandarizar titulando ácido sulfámico estándar ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$). ¿Qué peso de ácido sulfámico se debe tomar para que el volumen de NaOH vertido de la bureta sea alrededor de 40 mL?

CÁLCULOS DE ANÁLISIS

39. Una muestra de ácido cítrico grado USP ($\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, tres protones titulables) se analiza titulándola con solución 0.1087 M de NaOH. Si una muestra de 0.2678 g necesita 38.31 mL para la titulación, ¿cuál es la pureza de la preparación? (UPS exige 99.5%).
40. Se titula calcio en una muestra de 200 μL de suero con una solución $1.87 \times 10^{-4} M$ de EDTA, que consume 2.47 mL. ¿Cuál es la concentración de calcio en la sangre en mg/dl?
41. Una muestra de 0.372 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ impuro se titula con AgNO_3 0.100 M, que consume 27.2 mL. Calcular: a) el porcentaje de Cl en la muestra y b) el porcentaje de pureza del compuesto.
42. Un mineral de hierro se analiza para determinar contenido de hierro por disolución en ácido, convirtiendo el hierro en Fe^{2+} y luego titulando con una solución 0.0150 M de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Si se consumen 35.6 mL para titular el hierro en una muestra de mineral de 1.68 g, ¿cuánto hierro hay en la muestra, expresado como porcentaje de Fe_2O_3 ? (véase el ejemplo 5.37 para la reacción de titulación).
43. Se determina calcio en una muestra de 2.00 g por precipitación de CaC_2O_4 , disolviendo éste en ácido y titulando el oxalato con KMnO_4 0.0200 M. ¿Qué porcentaje de CaO hay en la muestra si se necesitan 35.6 mL de KMnO_4 para la titulación? (La reacción es $5\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 + 2\text{MnO}_4^- + 6\text{H}^+ \rightarrow 10\text{CO}_2 + 2\text{Mn}^{2+} + 8\text{H}_2\text{O}$.)
44. Se prepara una solución de permanganato de potasio disolviendo 4.68 g de KMnO_4 en agua y diluyendo a 500 mL. ¿Cuántos mililitros de esta solución reaccionarán con el hierro en 0.500 g de una mena de este metal que contiene 35.6% de Fe_2O_3 ? (Véase el ejemplo 5.29 para la reacción de titulación.)
45. Una muestra contiene BaCl_2 más materia inerte. ¿Qué peso se debe tomar para que, cuando se titule la solución con AgNO_3 0.100 M, los mililitros de titulante sean iguales al porcentaje de BaCl_2 en la muestra?
46. Una muestra de 0.250 g de AlCl_3 impuro se titula con AgNO_3 0.100 M, que consume 48.6 mL. ¿Qué volumen de EDTA 0.100 M reaccionaría con una muestra de 0.350 g? (El EDTA reacciona con el Al^{3+} en una relación de 1:1.)
47. Una muestra de 425.2 g de un ácido orgánico monoprótico purificado se titula con NaOH 0.1027 M, que consume 28.78 mL. ¿Cuál es el peso fórmula del ácido?
48. La pureza de una muestra de 0.287 g de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ se determina titulando con una solución estándar de HCl, con un consumo de 37.8 mL. La solución de HCl se estandarizó precipitando AgCl en una alícuota de 25.0 mL y pesando (se obtuvieron 0.462 g de AgCl). ¿Cuál es la pureza del $\text{Zn}(\text{OH})_2$?
49. Una muestra de $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ puro (tres hidrógenos reemplazables) consume 46.2 mL de NaOH 0.100 M para la titulación. ¿Cuántos mililitros de KMnO_4 0.100 M reaccionarán con una muestra del mismo tamaño? (Véase el problema 43 para la reacción con KMnO_4 .)

RETROTITULACIONES

- 50.** Una muestra de 0.500 g que contiene Na_2CO_3 más materia inerte se analiza mediante la adición de 50.0 mL de HCl 0.100 *M*, un ligero exceso, hirviendo para eliminar el CO_2 y luego retrotitulando el exceso de ácido con NaOH 0.100 *M*. Si se consumen 5.6 mL de NaOH en la retrotitulación, ¿cuál es el porcentaje de Na_2CO_3 en la muestra?
- 51.** Se analiza una solución de peróxido de hidrógeno agregando un ligero exceso de una solución estándar de KMnO_4 y retrotitulando el KMnO_4 remanente con solución estándar de Fe^{2+} . Se toma una muestra de 0.587 g de la solución de H_2O_2 , se agregan 25.0 mL de solución 0.0215 *M* de KMnO_4 y la retrotitulación consume 5.10 mL de solución 0.112 *M* de Fe^{2+} . ¿Cuál es el porcentaje de H_2O_2 en la muestra? (Véanse los ejemplos 5.25 y 5.29 para las reacciones.)
- 52.** El contenido de azufre de una muestra de acero se determina convirtiéndolo en H_2S gaseoso, que absorbe el H_2S en 10.0 mL de solución 0.00500 *M* de I_2 , y luego contra-titulando el exceso de I_2 con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.00200 *M*. Si se consumen 2.6 mL de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ para la titulación, ¿cuántos miligramos de azufre contiene la muestra?
Reacciones:

**TÍTULO**

- 53.** Expresar el título de una solución 0.100 *M* de EDTA en mg de BaO /mL.
- 54.** Expresar el título de una solución 0.0500 *M* de KMnO_4 en mg de Fe_2O_3 /mL.
- 55.** El título de una solución de nitrato de plata es 22.7 mg de Cl /mL. ¿Cuál es su título en mg de Br /mL?

CÁLCULOS DE PESO EQUIVALENTE

- 56.** Calcular el peso equivalente de las siguientes sustancias como ácidos o bases: *a*) HCl , *b*) $\text{Ba}(\text{OH})_2$, *c*) $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$, *d*) H_2SO_3 , *e*) $\text{HC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ (ácido acético).
- 57.** Calcular la molaridad de una solución 0.250 *N* de cada uno de los ácidos o bases del problema 56.

PESO EQUIVALENTE

- 58.** Calcular el peso equivalente del KHC_2O_4 : *a*) como ácido y *b*) como agente reductor al entrar en reacción con MnO_4^- ($5\text{HC}_2\text{O}_4^- + 2\text{MnO}_4^- + 11\text{H}^+ \rightarrow 10\text{CO}_2 + 2\text{Mn}^{2+} + 8\text{H}_2\text{O}$).
- 59.** El óxido mercuríco, HgO , se puede analizar por reacción con yoduro y luego titulándolo con un ácido: $\text{HgO} + 4\text{I}^- \rightarrow \text{HgI}_4^{2-} + 2\text{OH}^-$. ¿Cuál es su peso equivalente?
- 60.** Calcular los gramos de un equivalente de cada una de las siguientes sustancias para la reacción que se indica: *a*) FeSO_4 ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$), *b*) H_2S ($\rightarrow \text{S}^0$), *c*) H_2O_2 ($\rightarrow \text{O}_2$), *d*) H_2O_2 ($\rightarrow \text{H}_2\text{O}$).
- 61.** Se usa $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ para titular Ag^+ para dar AgCl . ¿Cuántos miliequivalentes están contenidos en 0.5000 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$?

NORMALIDAD

- 62.** Se prepara una solución disolviendo 7.82 g de NaOH y 9.26 g de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ en agua y diluyendo hasta 500 mL. ¿Cuál es la normalidad de la solución como una base?

63. ¿Qué peso de trióxido de arsénico, As_2O_3 , se requiere para preparar 1 L de solución 0.1000 N de arsénico(III)? (El arsénico 3+ se oxida a 5+ en las reacciones de redox.)
64. Si 2.73 g $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (tres protones ionizables) con 2.0% de impurezas inertes y 1.68 g de $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (un protón ionizable) se disuelven en agua y se diluyen a 250 mL, ¿cuál es la normalidad de la solución como ácido suponiendo ionización completa?
65. Una solución de $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (tres hidrógenos reemplazables) es 0.200 N como ácido. ¿Cuál es su normalidad como agente reductor? (Véase el problema 43 para su reacción como agente reductor.)
66. Se mezclan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ y $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ en una proporción por peso tal que la normalidad de la solución resultante como agente reductor sea 3.62 veces la normalidad como ácido. ¿Cuál es la proporción? (Véase el problema 43 para su reacción como agente reductor.)
67. ¿Qué peso de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ se necesita para preparar 1.000 L de solución 0.1000 N? (En la reacción, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$.)

CÁLCULOS DE EQUIVALENTES DE CARGAS

68. Se informa una concentración de cloruro como 300 mg/dL. ¿Cuál es la concentración en meq/L?
69. Se informa una concentración de calcio como 5.00 meq/L. ¿Cuál es la concentración en mg/dL?
70. Una muestra de orina tiene una concentración de cloruro de 150 meq/L. Si se supone que el cloruro está presente en la orina como cloruro de sodio, ¿cuál es la concentración de NaCl en g/L?

CÁLCULOS GRAVIMÉTRICOS

71. ¿Qué peso de manganeso está presente en 2.58 g de Mn_3O_4 ?
72. El zinc se determina precipitándolo y pesándolo como $\text{Zn}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$.
- a) ¿Qué peso de zinc está contenido en una muestra que da 0.348 g de precipitado?
- b) ¿Qué peso de precipitado se formaría a partir de 0.500 g de zinc?
73. Calcular los factores gravimétricos para:

<i>Sustancia buscada</i>	<i>Sustancia pesada</i>
Mn	Mn_3O_4
Mn_2O_3	Mn_3O_4
Ag_3S	BaSO_4
CuCl_2	AgCl
MgI_2	PbI_2

Referencias recomendadas

1. T. P. Hadjiioannou, G. D. Christian, C. E. Efstathiou y D. Nikolelis, *Problem Solving in Analytical Chemistry*, Oxford: Pergamon, 1988.
2. Q. Fernando y M. D. Ryan, *Calculations in Analytical Chemistry*, Nueva York: Harcourt Brace Jovanovich, 1982.
3. M. R. F. Ashworth, *Titrimetric Organic Analysis*, Nueva York: Interscience, 1964.

Capítulo seis

CONCEPTOS GENERALES DE EQUILIBRIO QUÍMICO



“La peor forma de desigualdad es tratar de hacer desiguales las cosas iguales.”
—Aristóteles

Aunque las reacciones químicas puedan avanzar hasta completarse, *nunca* van en una sola dirección. De hecho, las reacciones alcanzan un equilibrio en el que la rapidez de reacción en ambas direcciones resulta igual. En este capítulo se repasará el concepto de equilibrio y las constantes de equilibrio, y se describirán procedimientos generales para cálculos que usan las constantes de equilibrio. Se revisará la actividad de especies iónicas junto con el cálculo de coeficientes de actividad. Estos valores son necesarios para cálculos que usan constantes de equilibrio termodinámico; es decir, para el efecto de iones diversos que se describe al final del capítulo. También se usan en los cálculos potenciométricos (capítulo 13).

6.1 Reacciones químicas: el concepto de rapidez

En 1863, Guldberg y Waage describieron lo que ahora llamamos la ley de acción de masas, que establece que la rapidez de una reacción química es proporcional a las “masas activas” de las sustancias reaccionantes presentes en cualquier momento. Las masas activas pueden ser concentraciones o presiones. Guldberg y Waage derivaron una constante de equilibrio al definir el equilibrio como la condición en la cual la rapidez de las reacciones hacia adelante y en sentido inverso es igual. Considérese la reacción química



De acuerdo con Guldberg y Waage, la rapidez de la reacción hacia adelante es igual a una constante por la concentración de cada especie elevada a la potencia del número de moléculas que participan en la reacción; es decir,¹

$$\text{Rapidez}_f = k_f[A]^a[B]^b \quad (6.2)$$

¹ [] representa moles/litro, y aquí representa la concentración efectiva. La concentración efectiva se comenta bajo el efecto de diversos iones, donde se hablará de actividades.

donde rapidez_f representa la rapidez de reacción hacia adelante (de formación de productos) y k_f es la **constante de rapidez**, la cual depende de factores como temperatura y la presencia de catalizadores. $[A]$ y $[B]$ representan las concentraciones molares de A y B. De igual manera, para la reacción inversa, Guldberg y Waage escribieron

$$\text{Rapidez}_b = k_b[C]^c[D]^d \quad (6.3)$$

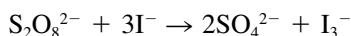
y para un sistema en equilibrio, la rapidez hacia adelante y en sentido inverso resulta igual:

$$k_f[A]^a[B]^b = k_b[C]^c[D]^d \quad (6.4)$$

Reordenando estas ecuaciones se obtiene la **constante molar de equilibrio** (que es válida para soluciones diluidas) para la K de la reacción:

$$\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} = \frac{k_f}{k_b} = K \quad (6.5)$$

La expresión aquí obtenida corresponde a la constante de equilibrio, *si bien el método de derivación no tiene validez general*. Esto se debe a que la rapidez de reacción realmente depende del *mecanismo*, determinado por el número de especies que colisionan entre sí, en tanto que la expresión de la constante de equilibrio depende sólo de la *estequiometría* de la reacción química. La suma de los exponentes en la constante de rapidez da el *orden* de la reacción, y éste puede ser totalmente diferente de la estequiometría de la reacción (véase el capítulo 22). Un ejemplo es la rapidez de reducción de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ con I^- :



La rapidez está dada realmente por $k_f[\text{S}_2\text{O}_8^{2-}][\text{I}^-]$ (una reacción de segundo orden), y no por $k_f[\text{S}_2\text{O}_8^{2-}][\text{I}^-]^3$, como podría esperarse por la reacción química balanceada (se predeciría una reacción de cuarto orden). La única base teórica sólida para la constante de equilibrio proviene de argumentos termodinámicos. Véase energía libre de Gibbs en la sección 6.3 para el cálculo termodinámico de los valores de constantes de equilibrio.

El valor de K se puede calcular en forma empírica si se miden las concentraciones de A, B, C y D en equilibrio. Obsérvese que cuanto más favorable sea la constante de rapidez de la reacción hacia adelante en relación con la reacción hacia atrás, mayor será la constante de equilibrio, y más hacia la derecha se ubicará la reacción al equilibrio.

Cuando se inicia la reacción entre A y B, la rapidez de la reacción hacia adelante es grande porque las concentraciones de A y B son elevadas, en tanto que la reacción hacia atrás es lenta porque las concentraciones de C y D son pequeñas (esta rapidez inicialmente es cero). Al progresar la reacción, A y B disminuyen, y C y D aumentan, de modo que la rapidez de la reacción hacia adelante disminuye mientras que la de la reacción en sentido inverso aumenta (figura 6.1). Finalmente, la rapidez de ambas se vuelve igual y el sistema se

En el equilibrio, la rapidez de la reacción en sentido inverso es igual a la reacción hacia adelante.

Cuanto mayor sea la constante de equilibrio, más hacia la derecha estará la reacción al equilibrio.

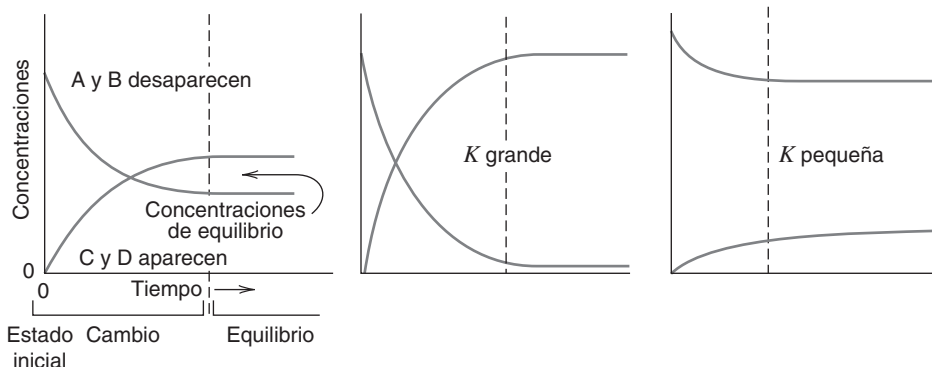


Figura 6.1. Progreso de una reacción química.

halla en estado de equilibrio. En este punto, las concentraciones individuales de A, B, C y D permanecen constantes (los valores relativos dependerán de la estequiometría de la reacción y de qué tan a la derecha esté el equilibrio). Sin embargo, el sistema permanece en equilibrio dinámico, y las reacciones hacia adelante y hacia atrás continúan con igual rapidez.

Se observará que la expresión de la constante de equilibrio es la relación en la que aparecen las concentraciones de los productos en el numerador y las de los reactivos en el denominador. Esto es bastante arbitrario, pero es la convención aceptada. De este modo, una constante de equilibrio grande indica que el equilibrio está muy desplazado hacia la derecha.

Aunque una reacción específica puede tener una constante muy grande, se debe señalar que puede llevarse a cabo *de derecha a izquierda* si al inicio hay concentraciones de los productos suficientemente grandes. Asimismo, la constante de equilibrio no dice nada acerca de la *rapidez* con la que procederá una reacción hacia el equilibrio. De hecho, algunas reacciones pueden ser tan lentas que no son susceptibles de ser medidas. La constante de equilibrio simplemente expresa la tendencia de que ocurra una reacción, y en qué dirección, no si es lo suficientemente rápida como para que sea factible en la práctica. (Véase el capítulo 22 sobre métodos cinéticos de análisis para la medición de la rapidez de reacción y su aplicación a los análisis.)

Para la reacción descrita en la ecuación 6.1, la rapidez de aproximación al equilibrio tal vez sea diferente para la reacción hacia adelante o hacia atrás; es decir, si se comienza con una mezcla de C y D, la rapidez de aproximación al equilibrio puede ser mucho más lenta o rápida que la reacción opuesta.

Una gran constante de equilibrio no asegura que una reacción se vaya a dar con una rapidez notable.

6.2 Tipos de equilibrio

Se pueden escribir constantes de equilibrio para muchos tipos de procesos químicos. Algunos de ellos aparecen en la tabla 6.1. Los equilibrios pueden representar disociación (ácido/base, solubilidad), formación de productos (complejos), reacciones (redox), una distribución o reparto entre dos fases (agua y disolvente no acuoso: extracción por disolvente; adsorción de un compuesto desde una fase acuosa por una superficie activa, como en cromatografía, etc.). A continuación y en capítulos posteriores se describen algunos de estos equilibrios.

Se pueden escribir constantes de equilibrio para disociaciones, asociaciones, reacciones o distribuciones.

6.3 La energía libre de Gibbs y la constante de equilibrio

La tendencia de que ocurra una reacción se define termodinámicamente a partir de su cambio en **entalpía** (ΔH) y en **entropía** (ΔS). La entalpía es el calor absorbido cuando tiene lugar una reacción endotérmica bajo presión constante. Cuando hay desprendimiento

Tabla 6.1
Tipos de equilibrio

Equilibrio	Reacción	Constante de equilibrio
Disociación ácido-base	$HA + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + A^-$	K_a , constante de acidez
Solubilidad	$MA \rightleftharpoons M^{n+} + A^{n-}$	K_{sp} , producto de solubilidad
Formación de complejos	$M^{n+} + aL^{b-} \rightleftharpoons ML_a^{(n-ab)+}$	K_f , constante de formación
Reducción-oxidación	$A_{red} + B_{ox} \rightleftharpoons A_{ox} + B_{red}$	K_{eq} , constante de equilibrio de reacción
Distribución de fase	$A_{H_2O} \rightleftharpoons A_{orgánico}$	K_D , coeficiente de reparto

Todo en el universo tiende hacia un desorden en aumento (mayor entropía), y hacia una energía que disminuye (menor entalpía).

de calor (reacción exotérmica), ΔH es negativa. La entropía es una medición del desorden o aleatoriedad de una sustancia o de un sistema.

Un sistema tenderá siempre hacia una menor energía y aleatoriedad aumentada, es decir, menor entalpía y mayor entropía. Por ejemplo, una piedra en una colina tenderá a rodar espontáneamente hacia abajo de la colina (estado de menor energía), y una caja de canicas ordenada por colores tenderá a ordenarse al azar cuando se agita. El efecto combinado de entalpía y entropía está dado por la **energía libre de Gibbs**, G

$$G = H - TS \quad (6.6)$$

donde T es la temperatura absoluta en grados kelvin; G es una medida de la energía del sistema, y un sistema tiende espontáneamente a estados de menor energía. El cambio en energía de un sistema a temperatura constante está dado por

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (6.7)$$

Una reacción espontánea da por resultado cesión de energía y abatimiento de la energía libre. En el equilibrio, la energía libre no cambia.

De esta manera, un proceso será *espontáneo cuando ΔG sea negativa*; será espontáneo en sentido inverso cuando ΔG sea positiva, y estará en equilibrio cuando ΔG sea cero. Por tanto, una reacción se favorece por la cesión de calor (ΔH negativa), como en las reacciones exotérmicas, y por el aumento de entropía (ΔS positiva). Tanto ΔH como ΔS pueden ser positivas o negativas, y las magnitudes relativas de cada una y la temperatura determinarán si ΔG será negativa, de modo que la reacción sea espontánea.

La entalpía estándar H° , la entropía estándar S° y la energía libre estándar G° representan las cantidades termodinámicas para un mol de una sustancia en estado estándar ($P = 1 \text{ atm}$, $T = 298 \text{ K}$, concentración unitaria). Entonces,

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (6.8)$$

ΔG° se relaciona con la constante de equilibrio de una reacción mediante

$$K = e^{-\Delta G^\circ/RT} \quad (6.9)$$

o

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K = -2.303RT \log K \quad (6.10)$$

Una constante de equilibrio grande es consecuencia de una energía libre negativa grande.

donde R es la constante de los gases ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$). Por tanto, si se conoce la energía libre estándar de una reacción, se puede calcular la constante de equilibrio. Obviamente, cuanto mayor sea ΔG° (cuando sea negativa), mayor será K . Obsérvese que, aunque ΔG° y ΔG dan información acerca de la espontaneidad de una reacción, no dicen nada acerca de la *rapidez* a la que ocurrirá.

6.4 Principio de Le Châtelier

Se puede desplazar un equilibrio desfavorable si se aumenta la concentración de los reactivos.

La concentración de equilibrio de los reactivos y productos se puede alterar si se aplica tensión al sistema; por ejemplo, cambiando la temperatura, la presión o la concentración de uno de los reactivos. Los efectos de tales cambios se pueden predecir por el **principio de Le Châtelier**, que establece que cuando se aplica tensión a un sistema en el equilibrio químico, el equilibrio se desplazará en el sentido que permita aliviar o contrarrestar esa tensión. A continuación se comentarán los efectos de la temperatura, la presión y las concentraciones sobre los equilibrios químicos.

6.5 Efectos de la temperatura sobre las constantes de equilibrio

Según se ha mencionado, la temperatura influye en las constantes individuales de rapidez para las reacciones hacia adelante y hacia atrás, y en consecuencia también afecta la constante de equilibrio (más correctamente, la temperatura afecta la energía libre: véase la ecuación 6.10). Un aumento en la temperatura desplazará el equilibrio en la dirección que dé por resultado absorción de calor, ya que esto remueve la fuente de tensión. De este modo, una reacción endotérmica hacia adelante (que absorbe calor) se desplazará a la derecha con un aumento en la constante de equilibrio. Sucederá lo contrario para una reacción exotérmica hacia adelante, que libera calor. El grado de desplazamiento dependerá de la magnitud del calor de reacción para el sistema.

Además de influir en la posición del equilibrio, la temperatura tiene efecto pronunciado sobre la rapidez de las reacciones hacia adelante y hacia atrás que participan en el equilibrio, y por tanto influye en la *rapidez* con la que se tiende al equilibrio. Esto se debe a que el número y la energía de las colisiones entre las especies reaccionantes aumentan al elevarse la temperatura. La rapidez de muchas reacciones endotérmicas aumenta alrededor de dos a tres veces por cada 10°C de elevación de la temperatura.

Todas las constantes de equilibrio dependen de la temperatura; como también la rapidez de las reacciones.

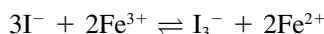
6.6 Efectos de la presión sobre los equilibrios

La presión puede tener gran influencia sobre la posición del equilibrio químico para reacciones que ocurren en fase gaseosa. Un aumento de presión favorece un desplazamiento en la dirección que dé por resultado reducción del volumen del sistema. Sin embargo, para reacciones que ocurren en soluciones, los cambios normales de presión tienen poco efecto en el equilibrio porque los líquidos no se pueden comprimir como los gases.

Para las soluciones, los efectos de la presión por lo regular son intrascendentes.

6.7 Efecto de las concentraciones en los equilibrios

El valor de una constante de equilibrio es independiente de las concentraciones de los reactivos y de los productos. Sin embargo, la *posición* del equilibrio es influida en forma definitiva por las concentraciones. El sentido del cambio se puede predecir fácilmente por el principio de Le Châtelier. Considérese la reacción del hierro(III) con yoduro:



Si los cuatro componentes están en estado de equilibrio, determinado por la constante de equilibrio, la adición o remoción de uno de los componentes daría lugar a que el sistema buscara restablecer el equilibrio. Por ejemplo, supóngase que se agrega más hierro(II) a la solución. Según el principio de Le Châtelier, la reacción se desplazará a la izquierda para aliviar la tensión. El equilibrio finalmente se restablecerá y su posición seguirá estando definida por la misma constante de equilibrio.

Los cambios en la concentración no afectan la constante de equilibrio, pero *sí* la posición del equilibrio.

6.8 Catalizadores

Los catalizadores aumentan o disminuyen la rapidez con la que se llega al equilibrio al afectar la rapidez tanto de la reacción hacia adelante como de la reacción hacia atrás. Pero dado que afectan la rapidez de ambas en el mismo grado, no tienen efecto alguno en el valor de la constante de equilibrio.

Los catalizadores no afectan la constante de equilibrio ni su posición.

Véase el capítulo 22 para usos analíticos de los catalizadores enzimáticos.

Los catalizadores son muy importantes para el químico analítico en reacciones que normalmente son demasiado lentas para ser útiles en forma analítica. Un ejemplo es el uso de catalizador de tetróxido de osmio para acelerar la reacción de titulación entre arsénico(III) y cerio(IV), cuyo equilibrio está muy favorecido pero su rapidez es demasiado baja para ser útil en titulaciones. En realidad, se puede usar la medición del cambio en la rapidez de una reacción cinéticamente lenta en presencia de un catalizador para determinar la concentración de este último.

Para el análisis cuantitativo, los equilibrios deben estar por lo menos 99.9% a la derecha para mediciones precisas. Una reacción que está 75% a la derecha todavía es una reacción “completa”.

Si el equilibrio de una reacción se ubica lo suficientemente a la derecha como para que la cantidad remanente de sustancia que se está determinando (reactivo) sea demasiado pequeña para medirse por la técnica de medición que se utiliza, se considera que la reacción ha llegado a su finalización. Si el equilibrio no está tan favorecido, entonces se puede aplicar el principio de Le Châtelier para hacerlo favorable. Se puede aumentar la concentración de un reactivo o disminuir la concentración de un producto. Asimismo, promover la formación de más producto: 1) permitiendo que escape un producto gaseoso; 2) precipitando el producto; 3) formando un complejo iónico estable del producto en solución, o 4) mediante extracción preferencial.

Por lo anterior, es evidente que el principio de Le Châtelier es el concepto dominante detrás de la mayor parte de las reacciones químicas en el mundo real. Es en especial importante en las reacciones bioquímicas, y los factores externos como la temperatura pueden tener efecto significativo en los equilibrios biológicos. Los catalizadores (enzimas) desempeñan también un papel importante en muchas reacciones biológicas y fisiológicas, como se verá en el capítulo 22.

6.10 Constantes de equilibrio para especies que se disocian o se combinan: electrólitos débiles y precipitados

Las constantes de equilibrio son finitas cuando las disociaciones son menores a 100%.

Cuando una sustancia se disuelve en agua, a menudo se disocia o ioniza parcial o totalmente. Los electrólitos disociados parcialmente se llaman *electrólitos débiles*, y los disociados totalmente *electrólitos fuertes*. Por ejemplo, el ácido acético se ioniza sólo parcialmente en agua y por tanto es un electrólito débil, pero el ácido clorhídrico se ioniza por completo, y en consecuencia se trata de un electrólito fuerte (las disociaciones de ácidos en agua son en realidad reacciones de transferencia de protones: $\text{HOAc} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OAc}^-$). Algunas sustancias se ionizan por completo en agua, pero tienen solubilidad limitada; a éstas se les llamará *sustancias ligeramente solubles*. Las sustancias se pueden combinar en solución para formar un producto disociable, por ejemplo un complejo. Un ejemplo de esto es la reacción del cobre(II) con amoníaco para formar la especie $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$.

Un electrólito débil se disocia sólo en forma parcial. Una sustancia ligeramente soluble es un electrólito fuerte porque la porción que se disuelve se ioniza por completo.

La disociación de electrólitos débiles o la solubilidad de sustancias ligeramente solubles se puede describir de manera cuantitativa mediante las constantes de equilibrio. Las constantes para electrólitos por completo disueltos y disociados son efectivamente infinitas. Considérese la especie disociante AB:

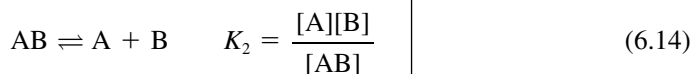
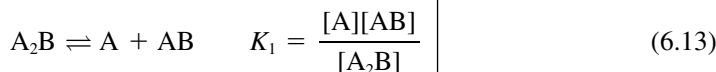


La constante de equilibrio para una disociación así se puede escribir como

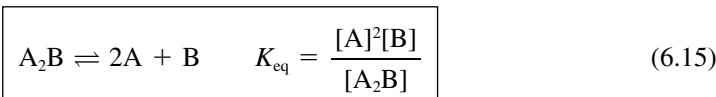
$$\frac{[\text{A}][\text{B}]}{[\text{AB}]} = K_{\text{eq}} \quad (6.12)$$

Cuanto mayor sea K_{eq} , mayor será la disociación. Por ejemplo, cuanto mayor sea la constante de equilibrio de un ácido, más fuerte será el ácido.

Algunas especies se disocian por etapas, y se puede escribir una constante de equilibrio para cada paso de disociación. Un compuesto A_2B , por ejemplo, se puede disociar como sigue



La disociación total del compuesto es la suma de estos dos equilibrios:



Las constantes de disociación sucesivas por etapas se vuelven cada vez más pequeñas.

Si se multiplican las ecuaciones 6.13 y 6.14, se llega a la constante total de equilibrio:

$$\begin{aligned} K_{eq} &= K_1 K_2 = \frac{[A][AB]}{[A_2B]} \cdot \frac{[A][B]}{[AB]} \\ &= \frac{[A]^2[B]}{[A_2B]} \end{aligned} \quad (6.16)$$

Cuando las especies químicas se disocian por etapas como en este caso, las constantes sucesivas de equilibrio por lo general se vuelven progresivamente más pequeñas. Obsérvese que en los cálculos de equilibrio se usa siempre mol/L para concentraciones de soluciones.

Si una reacción se escribe en el sentido inverso se aplican los mismos equilibrios, pero la constante de equilibrio se invierte. Así, en el ejemplo anterior, para $A + B \rightleftharpoons AB$, $K_{eq(inversa)} = [AB]/([A][B]) = 1/K_{eq(adelante)}$. Si K_{eq} para la reacción hacia adelante es 10^5 , entonces K_{eq} para la reacción inversa es 10^{-5} .

$$K_{adelante} = 1/K_{inversa}$$

Se hace uso de conceptos semejantes para la combinación de especies, salvo que en general la constante de equilibrio será mayor que la unidad y no menor, puesto que la reacción está favorecida hacia la formación del producto (por ejemplo, un complejo). En capítulos posteriores se discutirán las constantes de equilibrio para ácidos, complejos y precipitados.

6.11 Cálculos con constantes de equilibrio. ¿Cuánto está en equilibrio?

Las constantes de equilibrio son útiles para calcular las concentraciones de las diversas especies en equilibrio; por ejemplo, la concentración de ion hidrógeno de la disociación de un ácido débil. En esta sección se presenta el procedimiento general para cálculos con constantes de equilibrio. Las aplicaciones para equilibrios específicos se tratan en los capítulos correspondientes.

REACCIONES QUÍMICAS

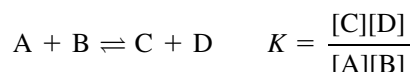
Algunas veces es útil conocer las concentraciones de los reactivos y los productos al equilibrio en una reacción química. Por ejemplo, podría requerirse conocer la cantidad de

reactivo para construir una curva de titulación o para calcular el potencial de un electrodo en la solución. De hecho, éstas son aplicaciones que se consideran en capítulos posteriores. Algunos cálculos de ejemplo ilustrarán el procedimiento general para resolver problemas de equilibrio.



Ejemplo 6.1

Las sustancias A y B reaccionan como sigue para producir C y D:



La constante de equilibrio K tiene un valor de 0.30. Supóngase que 0.20 mol de A y 0.50 mol de B se disuelven en 1.00 L, y que se lleva a cabo la reacción. Calcular las concentraciones de los reactivos y de los productos en el equilibrio.

Solución

La concentración inicial de A es 0.20 M, y la de B es 0.50 M, en tanto que las de C y D son inicialmente 0 M. Cuando la reacción haya llegado al equilibrio, las concentraciones de A y B habrán disminuido y las de C y D habrán aumentado. Sea x la concentración de equilibrio de C o los moles/litro de A y B que reaccionan. Como se obtiene un mol de D con cada mol de C, la concentración de D también será x . Se puede representar la concentración *inicial* de A y B como las **concentraciones analíticas**, C_A y C_B . Las **concentraciones de equilibrio** son $[A]$ y $[B]$. Las concentraciones de A y B disminuirán cada una en x , es decir $[A] = C_A - x$ y $[B] = C_B - x$. De modo que las concentraciones de equilibrio serán:

	[A]	[B]	[C]	[D]
Inicial	0.20	0.50	0	0
Cambio ($x = \text{mmol/mL}$ que reaccionan)	$-x$	$-x$	$+x$	$+x$
Al equilibrio	$0.20 - x$	$0.50 - x$	x	x

Se pueden sustituir estos valores en la expresión de la constante de equilibrio y despejar x :

$$\frac{(x)(x)}{(0.20 - x)(0.50 - x)} = 0.30$$

$$x^2 = (0.10 - 0.70x + x^2)0.30$$

$$0.70x^2 + 0.21x - 0.030 = 0$$

Ésta es una ecuación cuadrática y se puede resolver en forma algebraica mediante la fórmula cuadrática que se da en el apéndice B:

$$\begin{aligned} x &= \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} \\ &= \frac{-0.21 \pm \sqrt{(0.21)^2 - 4(0.70)(-0.030)}}{2(0.70)} \\ &= \frac{-0.21 \pm \sqrt{0.044 + 0.084}}{1.40} = 0.11 \text{ M} \end{aligned}$$

La concentración de equilibrio es la concentración inicial (analítica) menos la cantidad que reaccionó.

$$[A] = 0.20 - x = 0.09 \text{ M}$$

$$[B] = 0.50 - x = 0.39 \text{ M}$$

$$[C] = [D] = x = 0.11 \text{ M}$$

En vez de usar la ecuación cuadrática, se puede hacer uso del **método de aproximaciones sucesivas**. En este procedimiento inicialmente se desprecia x en comparación con las concentraciones iniciales para simplificar los cálculos, y se calcula un valor inicial de x . Luego se puede usar este primer estimado de x para restarlo de C_A y C_B y así dar un estimado inicial de la concentración de equilibrio de A y B, y calcular una nueva x . El proceso se repite hasta que x sea esencialmente constante.

En las aproximaciones sucesivas, se comienza tomando la concentración analítica como la concentración de equilibrio para calcular la cantidad que reaccionó. Luego se repite el cálculo después de restar la cantidad que reaccionó calculada, hasta que sea constante.

$$\begin{aligned} \text{Primer cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20)(0.50)} &= 0.30 \\ x &= 0.173 \end{aligned}$$

Los cálculos convergen más rápidamente si se conserva en todo el proceso un dígito adicional.

$$\begin{aligned} \text{Segundo cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.173)(0.50 - 0.173)} &= 0.30 \\ x &= 0.051 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Tercer cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.051)(0.50 - 0.051)} &= 0.30 \\ x &= 0.14_2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Cuarto cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.142)(0.50 - 0.142)} &= 0.30 \\ x &= 0.079 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Quinto cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.079)(0.50 - 0.079)} &= 0.30 \\ x &= 0.12_4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sexto cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.124)(0.50 - 0.124)} &= 0.30 \\ x &= 0.093 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Séptimo cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.093)(0.50 - 0.093)} &= 0.30 \\ x &= 0.11_4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Octavo cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.114)(0.50 - 0.114)} &= 0.30 \\ x &= 0.10_4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Noveno cálculo} \quad \frac{(x)(x)}{(0.20 - 0.100)(0.50 - 0.100)} &= 0.30 \\ x &= 0.11_0 \end{aligned}$$

Se tomará 0.11 como valor de equilibrio de x , ya que es esencialmente una repetición del séptimo cálculo. Obsérvese que en estas iteraciones, x oscila por encima y por debajo del valor de equilibrio. Cuanto mayor sea x comparada con C , mayores serán las oscilaciones y

Se puede reducir el número de iteraciones tomando el promedio de las dos primeras para la siguiente.

se necesitarán más iteraciones para alcanzar el valor de equilibrio (como en este ejemplo, que no es el mejor para este método). Hay una forma más eficiente de completar la iteración. Se toma el promedio de la primera y la segunda para la tercera iteración, que debe ser cercana al valor final (en este caso 0.11₂). Una o dos iteraciones indicarán que se ha alcanzado el punto de equilibrio. ¡Inténtelo!

.....

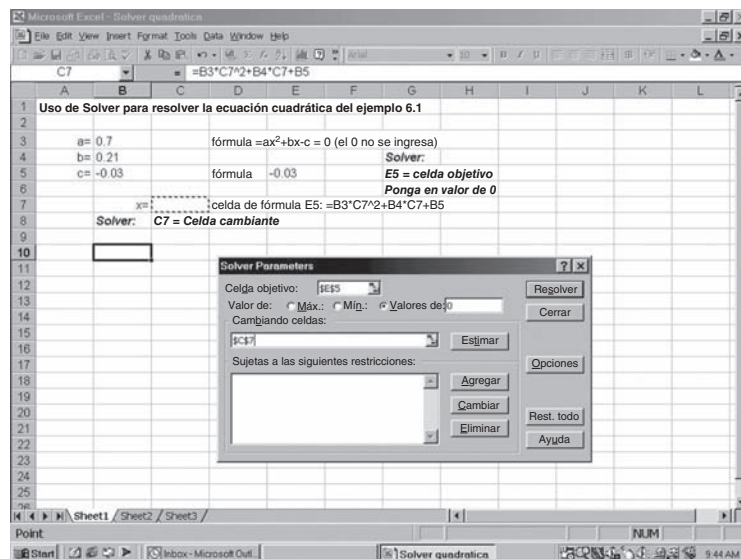
En el ejemplo 6.1 quedaron sin reaccionar cantidades residuales considerables de A aun cuando B estaba en exceso, debido a que la constante de equilibrio no era muy grande. De hecho, el equilibrio estaba sólo a mitad del camino a la derecha, ya que C y D tenían aproximadamente la misma concentración que A. En la mayor parte de las reacciones de interés analítico, las constantes de equilibrio son grandes, y el equilibrio se ubica bastante hacia la derecha. En estos casos, las concentraciones de equilibrio de los reactivos que no están en exceso por lo general son muy pequeñas en comparación con el resto de las concentraciones. Esto simplifica los cálculos.

EXCEL SOLVER PARA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS. LA ECUACIÓN CUADRÁTICA

Microsoft Excel tiene un programa muy útil que se llama *Solver*. Para usar este programa, primero se debe ordenar una ecuación para que dé una fórmula igual a un valor conocido. Solver calcula efectivamente la fórmula en sentido inverso, comenzando por la respuesta de la fórmula (el valor conocido) y, por iteración, resuelve para el valor o valores de una o más de las variables de la fórmula que den por resultado la respuesta correcta (otros programas de hojas de cálculo tienen programas de resolución similares).

Como se dijo antes, para aplicar un programa Solver, se debe ordenar la ecuación de modo que dé una fórmula igual a un valor conocido. Éste puede ser un valor que se quiera minimizar (como en los mínimos cuadrados), maximizar, igualar a cero o a cualquier otro número fijo. Cuando se hace esto, la variable o las variables (cuyos valores se quieren calcular) se encuentran a un lado de la fórmula. En el ejemplo 6.1, se ordena la ecuación para que dé una fórmula igual a cero: $0.70x^2 + 0.21x - 0.30 = 0$. La variable es x .

El programa Solver por lo general se encuentra en Herramientas en la hoja de cálculo de Excel. Si no lo tiene ahí, tal vez se trate de un Complemento que se tiene que activar marcándolo en el cuadro de Complementos. Una vez que se haya localizado Solver, se hace clic en éste y se abrirá el cuadro de diálogo Parámetros de Solver. A continuación se muestra el cuadro de diálogo con los datos ya insertados para el ejemplo 6.1:



Es necesario introducir tres parámetros. “Celda objetivo:” es donde se introduce la celda que contiene la fórmula introducida. Es opcional introducir los signos \$ a la celda. Si se hace clic en la celda para introducir (ya sea antes o después de abrir Solver), los signos \$ entran automáticamente. “Valor de la celda objetivo:” es donde se introduce el valor para el que se establece la ecuación (en este caso, 0). Finalmente, “Cambiando las celdas:” se anota la celda o las celdas que contiene o contienen la variable o variables (x , en este caso). Si se tiene más de una celda variable, se inserta una coma entre cada identificación de celda. Como no se sabe el valor de la celda x , se puede dejar vacía o se puede anotar en ella un valor estimado inicial.

Para la ecuación que se ha elegido, se crea una hoja de cálculo con celdas que contengan las constantes a , b y c ; es decir, 0.70, 0.21 y -0.030 , que se usarán en la fórmula; la variable x ; la fórmula $(0.70x^2 + 0.21x - 0.30)$: $=[\text{celda } 0.70]*[\text{celda } x]^2 + [\text{celda } 0.21]*[\text{celda } x] + [\text{celda } -0.030]$. Se etiqueta cada celda. En la hoja de cálculo que se muestra antes, las constantes están en las celdas B3, B4 y B5. La variable x está en la celda C7, y la fórmula es $B3*C7^2 + B4*C7 + B5$. La fórmula se agrega a la celda E5. Obsérvese que E5 muestra un valor de -0.03 (es decir, el valor de c) porque x todavía no tiene un valor.

Se hace clic en Solver. Cuando aparezca el cuadro de diálogo de parámetros, se hace clic en “Celda objetivo:” (ésta debe estar vacía; si no, se elimina cualquier número de celda que esté en ella) y en seguida se hace clic en la celda E5 (o se teclea E5). Se hace lo mismo en “Cambiando las celdas:”, haciendo clic en la celda C7 para agregar los datos. En “Valor de la celda objetivo:”, se hace clic en “Valores de:” y se anota cero. Ahora todo está preparado para resolver la fórmula. Pero antes de hacerlo, se debe hacer clic en “Opciones” y observar la casilla de “Precisión”, donde se muestra la precisión como 0.000001 (10^{-6}). Este número debe ser por lo menos 100 veces más pequeño que el número más pequeño con el que se trabaja (a , b y c en este caso), y la solución, x . Éste es el caso para este problema; pero si se encuentran problemas donde no es así, se deberán insertar más ceros en el número de Precisión; por ejemplo, cuando la magnitud de la respuesta calculada está en el orden de la precisión introducida (en cuyo caso se debe repetir el cálculo con Solver).

Se cierra la ventana de Opciones de Solver y se hace clic en Resolver, y aparecerá un mensaje de que “Solver encontró una solución”, y se verá que la respuesta para x es 0.10565:

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Uso de Solver de Excel para resolver la ecuación cuadrática, ejemplo 6.1.							
2								
3	a=	0.7		fórmula $=ax^2+bx-c = 0$ (el 0 no se ingresa)				
4	b=	0.21					Solver:	
5	c=	-0.03		fórmula:	-8E-08		E5 = celda objetivo	
6							Ponga en valor de 0	
7		x=	0.10565	celda de fórmula E5: $=B3*C7^2+B4*C7+B5$				
8		Solver:	C7 = Celda cambiante					

La fórmula es igual a $-8E-08$, un número muy pequeño que resulta de las iteraciones (esencialmente igual a cero).

Matemáticamente, la ecuación cuadrática siempre tiene también una solución negativa para x (la cual no nos interesa porque no tiene sentido químico). Ese valor de x se puede obtener restringiendo el resultado, para que sea menor a 0 en la casilla “Sujetas a las siguientes restricciones:”. Se hace clic en “Agregar”. Para “Referencia de la celda:”, se hace clic en C7. Se ajusta la flecha para que cambie a $\leq$. En el cuadro de diálogo “Restricción:”, se anota 0. Luego se hace clic en Aceptar, se hace clic en Resolver y se verá la respuesta, $x = -0.40565$ (y la fórmula $= -9E-07$).

Si se hace clic en “Opciones” en el cuadro de diálogo de Solver, se pueden establecer límites que alterarán ligeramente el resultado final. Se usará Solver en otras ocasiones para ayudar a resolver problemas tediosos.

Ejemplo 6.2

Se supone que en el ejemplo 6.1, la constante de equilibrio fue 2.0×10^{16} . Calcular las concentraciones de equilibrio de A, B, C y D.

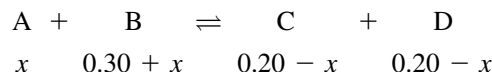
Solución

Si la constante de equilibrio de una reacción es muy grande, x es muy pequeña en comparación con la concentración analítica, lo cual simplifica los cálculos.

Como K es muy grande, la reacción de A con B será prácticamente completa hacia la derecha dejando sólo trazas de A en el equilibrio. Sea x la concentración de equilibrio de A. Una cantidad de B igual a A habrá reaccionado para formar una cantidad equivalente de C y D (alrededor de 0.20 M para cada uno). Se pueden resumir las concentraciones de equilibrio como sigue:

$$\begin{aligned} [A] &= x \\ [B] &= (0.50 - 0.20) + x = 0.30 + x \\ [C] &= 0.20 - x \\ [D] &= 0.20 - x \end{aligned}$$

o considerando el equilibrio,



Básicamente, se ha dicho que toda la cantidad A se convierte en una cantidad similar de C y D, salvo por una pequeña cantidad x . Ahora, x será muy pequeña en comparación con 0.20 y 0.30 , y se puede despreciar, de modo que se puede expresar

$$\begin{aligned} [A] &= x \\ [B] &\approx 0.30 \\ [C] &\approx 0.20 \\ [D] &\approx 0.20 \end{aligned}$$

La única concentración desconocida es $[A]$. Sustituyendo estos valores en la expresión de la constante de equilibrio, se tiene

$$\frac{(0.20)(0.20)}{(x)(0.30)} = 2.0 \times 10^{16}$$

$$x = [A] = 6.7 \times 10^{-18}\text{ M (analíticamente indetectable)}$$

Se descarta x comparada con C (producto) si $C \leq 0.01 K_{\text{eq}}$ en una reacción.

En este caso, el cálculo se simplificó considerablemente despreciando x en comparación con las otras concentraciones. Si x fuera significativo frente a las demás concentraciones, la solución se hubiera tenido que recalcular mediante la fórmula cuadrática o por el método de aproximaciones sucesivas, comenzando con el primer estimado de x . **En general, si el valor de x es menor que cerca de 5% de la concentración supuesta, se puede despreciar.** En este caso, el error en la misma x es por lo regular 5% o menos. **Esta**

simplificación de ordinario será válida si la concentración del producto es menor que 1% en K_{eq} ; es decir $\leq 0.01 K_{eq}$.

Ejemplo 6.3

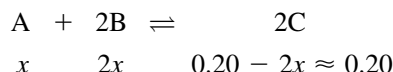
A y B reaccionan como sigue:



Se supone que 0.10 mol de A reaccionan con 0.20 mol de B en un volumen de 1 000 mL; $K = 1.0 \times 10^{10}$. ¿Cuáles son las concentraciones al equilibrio de A, B y C?

Solución

Se tienen cantidades estequiométricamente iguales de A y B, de modo que virtualmente ambas reaccionan por completo, quedando sólo trazas como remanentes. Sea x la concentración de equilibrio de A. En el equilibrio, se tiene



Para cada mol de A, ya sea que reaccione o que se produzca, se producen o se consumen dos moles de C y se consumen o producen dos moles de B. Sustituyendo en la expresión de la constante de equilibrio,

$$\frac{(0.20)^2}{(x)(2x)^2} = 1.0 \times 10^{10}$$

$$\frac{0.040}{4x^3} = 1.0 \times 10^{10}$$

$$x = [A] = \sqrt[3]{\frac{4.0 \times 10^{-2}}{4.0 \times 10^{10}}} = \sqrt[3]{1.0 \times 10^{-12}} = 1.0 \times 10^{-4} M$$

$$B = 2x = 2.0 \times 10^{-4} M$$

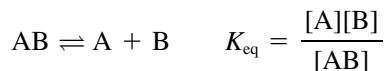
(analíticamente detectable pero no apreciable en comparación con la concentración inicial).

EQUILIBRIOS DE DISOCIACIÓN

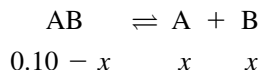
Los cálculos que se refieren a especies que se disocian no son muy diferentes del ejemplo que se acaba de dar para reacciones químicas.

Ejemplo 6.4

Calcular las concentraciones de equilibrio de A y B en una solución 0.10 M de un electrolito débil AB con una constante de equilibrio de 3.0×10^{-6} .

Solución

Tanto [A] como [B] son desconocidas e iguales. Si x representa sus concentraciones de equilibrio, la concentración de AB en el equilibrio es igual a su concentración analítica inicial menos x .



Se desprecia x en comparación con C (concentración analítica) si $C \geq 100 K_{eq}$ en una disociación.

El valor de K_{eq} es bastante pequeño, de modo que tal vez se justifique despreciar x en comparación con 0.10. De otro modo se tendría que usar una ecuación cuadrática. Sustituyendo en la expresión de K_{eq} ,

$$\frac{(x)(x)}{0.10} = 3.0 \times 10^{-6}$$

$$x = [A] = [B] = \sqrt{3.0 \times 10^{-7}} = 5.5 \times 10^{-4} M$$

6.12 Efecto del ion común: desplazamiento del equilibrio

Los equilibrios se pueden afectar notablemente por la adición de una o más de las especies presentes, como lo predice el principio de Le Châtelier. El ejemplo 6.5 ilustra este principio.



Ejemplo 6.5

Recalcular la concentración de A en el ejemplo 6.4 suponiendo que la solución contiene también B 0.20 M.

Solución

La concentración de equilibrio se puede representar como sigue:

	[AB]	[A]	[B]
Inicial	0.10	0	0.20
Cambio (x = mmol/ml de AB disociado)	$-x$	$+x$	$+x$
Equilibrio	$0.10 - x$ ≈ 0.10	x	$0.20 + x$ ≈ 0.20

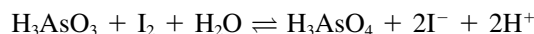
El valor de x será menor ahora que antes debido al efecto del ion común de B, de modo que puede ser insignificante en comparación con las concentraciones iniciales. Sustituyendo en la expresión de constante de equilibrio,

$$\frac{(x)(0.20)}{(0.10)} = 3.0 \times 10^{-6}$$

$$x = 1.5 \times 10^{-6} M$$

La concentración de A disminuyó casi 400 veces.

El efecto del ion común se puede usar para hacer que las reacciones analíticas sean más favorables o cuantitativas. El ajuste de la acidez, por ejemplo, se usa a menudo para desplazar los equilibrios. Las titulaciones con dicromato de potasio, por ejemplo, se favorecen en solución ácida, ya que los protones se consumen en sus reacciones. Las titulaciones con yodo, un agente oxidante débil, por lo regular se hacen en solución ligeramente alcalina para desplazar el equilibrio hacia la culminación de la reacción, por ejemplo al titular arsénico(III):



Ajustar el pH es una forma común de desplazar el equilibrio.

6.13 Procedimiento sistemático para cálculos de equilibrio: cómo resolver cualquier problema de equilibrio

Ahora que se ha llegado a cierta familiaridad con los problemas de equilibrio, se considerará un procedimiento sistemático para calcular las concentraciones que funcionarán con todos los equilibrios sin que importe su complejidad. Este procedimiento consiste en identificar las concentraciones desconocidas y *escribir un conjunto de ecuaciones simultáneas de igual número que el número de incógnitas*. Se hacen suposiciones de simplificación con respecto a la concentración relativa de las especies (procedimiento no distinto del que ya se siguió) para acortar la solución de las ecuaciones. Este procedimiento incluye escribir expresiones para el **balance de masa** de las especies y una expresión para el **balance de carga** de las especies como parte de las ecuaciones. Se describirá primero cómo se llega a estas expresiones.

ECUACIONES DE BALANCE DE MASA

El principio del balance de masa se basa en la ley de la conservación de las masas y establece que el número de átomos de un elemento permanece constante en las reacciones químicas, puesto que los átomos no se generan ni se destruyen. El principio se expresa matemáticamente igualando las concentraciones, por lo regular en molaridades. Se escriben las ecuaciones para todos los equilibrios químicos pertinentes a partir de las cuales se escriben las relaciones apropiadas entre las concentraciones de las especies.

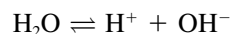


Ejemplo 6.6

Escribir la ecuación de balance de masa para una solución 0.100 M de ácido acético.

Solución

Los equilibrios son



Se sabe que la concentración analítica del ácido acético es igual a la suma de las concentraciones de equilibrio de todas sus especies:

$$C_{\text{HOAc}} = [\text{HOAc}] + [\text{OAc}^-] = 0.100 \text{ M}$$

Se puede escribir una segunda expresión del balance de masa para la concentración de equilibrio de H^+ , que se deriva tanto del HOAc como del H_2O . Se obtiene un H^+ por cada OAc^- , y uno por cada OH^- :

$$[\text{H}^+] = [\text{OAc}^-] + [\text{OH}^-]$$

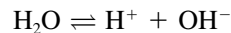
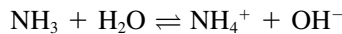
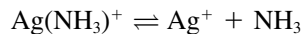
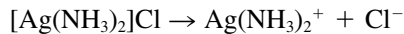
En un balance de masa, la concentración analítica es igual a la suma de las concentraciones de las especies en equilibrio derivadas del compuesto original (o un múltiplo apropiado).

Ejemplo 6.7

Escribir las ecuaciones respecto del balance de masa para una solución $1.0 \times 10^{-5} M$ de $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$.

Solución

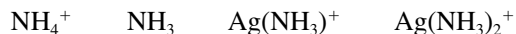
Los equilibrios son



La concentración de Cl^- es igual a la concentración de la sal que se disoció; es decir, $1.00 \times 10^{-5} M$. De igual manera, la suma de las concentraciones de todas las especies de plata es igual a la concentración de Ag en la sal original que se disoció:

$$C_{\text{Ag}} = [\text{Ag}^+] + [\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] + [\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+] = [\text{Cl}^-] = 1.00 \times 10^{-5} M$$

Se tienen las siguientes especies que contienen nitrógeno:



La concentración de N de la última especie es el doble de la concentración de $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$. La concentración total del nitrógeno es el doble de la concentración de la sal original, ya que hay dos NH_3 por molécula, por lo cual se puede escribir

$$C_{\text{NH}_3} = [\text{NH}_4^+] + [\text{NH}_3] + [\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] + 2[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+] = 2.00 \times 10^{-5} M$$

Finalmente, se puede escribir

$$[\text{OH}^-] = [\text{NH}_4^+] + [\text{H}^+]$$

Algunos de los equilibrios y las concentraciones derivadas de ellos pueden ser insignificantes en comparación con los otros y pueden no ser necesarios en los cálculos posteriores; por ejemplo, el último balance de masa.

Se ha visto que se pueden escribir diversas expresiones del balance de masa. Algunas quizá no sean necesarias para los cálculos (podría haber más ecuaciones que incógnitas), o algunas se pueden simplificar o ignorar debido a las pequeñas concentraciones que implican en comparación con las otras. Esto se hará evidente en los cálculos de equilibrio que se dan a continuación.

ECUACIONES DE BALANCE DE CARGA

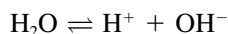
De acuerdo con el **principio de electroneutralidad**, todas las soluciones son eléctricamente neutras; es decir, no hay solución que contenga un exceso detectable de carga positiva o negativa porque la suma de las cargas positivas iguala a la de cargas negativas. Se puede escribir una *sola* ecuación de balance de carga para un conjunto dado de equilibrios.

Ejemplo 6.8

Escribir la ecuación del balance de carga para una solución de H_2S .

Solución

Los equilibrios son



La disociación del H_2S da H^+ y dos especies aniónicas, HS^- y S^{2-} , y la del agua da H^+ y OH^- . La cantidad de H^+ de esa porción del H_2S *completamente* disociado es igual a dos veces la cantidad de S^{2-} formado, y la de la disociación *parcial* (primer paso) es igual a la cantidad formada de HS^- . Es decir, por cada S^{2-} formado, hay 2 H^+ ; por cada HS^- formado, hay 1 H^+ ; y por cada OH^- formado hay 1 H^+ . Ahora, para las especies de una sola carga, la concentración de *carga* es idéntica a la concentración de la *especie*, pero para S^{2-} , la concentración de carga es dos veces la concentración de la especie, de modo que se debe multiplicar la concentración de S^{2-} por 2 para llegar a su concentración de carga. De acuerdo con el principio de electroneutralidad, la concentración de cargas positivas debe igualar la concentración de cargas negativas. Por tanto,

$$[\text{H}^+] = 2[\text{S}^{2-}] + [\text{HS}^-] + [\text{OH}^-]$$

Aunque puede haber más de una fuente para una especie dada (H^+ en este caso), obsérvese que las concentraciones totales de cargas de todas las fuentes siempre son iguales a la concentración neta de equilibrio de la especie multiplicada por su carga.

En un balance de carga, la suma de las concentraciones de cargas de las especies catiónicas es igual a la suma de las concentraciones de cargas de las especies aniónicas en equilibrio.

La concentración de carga es igual a la concentración molar multiplicada por la carga de una especie.

Ejemplo 6.9

Escribir una expresión de balance de carga para una solución que contiene KCl , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y KNO_3 . Descartar la disociación del agua.

Solución

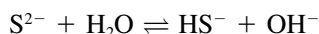
$$[\text{K}^+] + 3[\text{Al}^{3+}] = [\text{Cl}^-] + 2[\text{SO}_4^{2-}] + [\text{NO}_3^-]$$

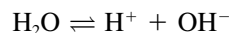
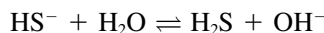
Ejemplo 6.10

Escribir una ecuación de balance de carga para una solución saturada de CdS .

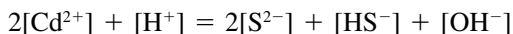
Solución

Los equilibrios son





De nuevo, las concentraciones de cargas para las especies de una sola carga (H^+ , OH^- , HS^-) serán iguales a las concentraciones de las especies. Sin embargo, para Cd^{2+} y S^{2-} , las concentraciones de cargas serán el doble de sus concentraciones. Otra vez se deben igualar las concentraciones de cargas positivas y negativas



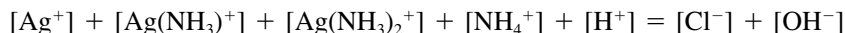
.....



Ejemplo 6.11

Escribir una ecuación de balance de carga para el ejemplo 6.7.

Solución



Como todas las especies poseen una sola carga, las concentraciones de las cargas son iguales a las concentraciones molares.

.....

CÁLCULOS DE EQUILIBRIO MEDIANTE EL PROCEDIMIENTO SISTEMÁTICO. LOS PASOS

En el procedimiento sistemático se escribe una serie de ecuaciones en número igual al número de especies desconocidas. Estas ecuaciones se resuelven en forma simultánea mediante aproximaciones para simplificar.

Ahora se puede describir el método sistemático para calcular las concentraciones de equilibrio en problemas con varios equilibrios. Los pasos básicos se resumen como sigue:

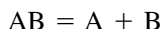
1. Escribir las reacciones químicas apropiadas para el sistema.
2. Escribir las expresiones de constantes de equilibrio para estas reacciones.
3. Escribir todas las expresiones de balance de masa.
4. Escribir las expresiones de balance de carga.
5. Contar el número de especies químicas que participan y el número de ecuaciones *independientes* (de los pasos 2, 3 y 4). Si el número de ecuaciones es mayor que el de especies químicas, o igual a éste, la solución es posible. En este punto se puede llegar a un resultado simplemente por fuerza bruta (matemática).
6. Hacer suposiciones de simplificación respecto de las concentraciones relativas de las especies químicas. En este punto se debe pensar como químico para poder simplificar las *matemáticas*.
7. Calcular la respuesta.
8. Verificar la validez de las suposiciones.

Se examinará uno de los ejemplos con que se trabajó antes, pero usando este procedimiento.

Ejemplo 6.12

Repetir el problema planteado en el ejemplo 6.4 usando el procedimiento sistemático descrito antes.

Reacción química



Expresiones de constante de equilibrio

$$K_{eq} = \frac{[A][B]}{[AB]} = 3.0 \times 10^{-6} \quad (1)$$

Usar las expresiones de constante de equilibrio además de las expresiones de balance de masa y carga para escribir las ecuaciones.

Ecuaciones de balance de masa

$$C_{AB} = [AB] + [A] = 0.10 \text{ M} \quad (2)$$

$$[A] = [B] \quad (3)$$

Recuérdese que C representa la concentración analítica total de AB.

Expresión de balance de carga

No hay tal porque ninguna de las especies posee carga.

Número de expresiones contra número de incógnitas

Hay tres incógnitas ($[AB]$, $[A]$ y $[B]$) y tres expresiones (una de equilibrio y dos de balance de masa).

Suposiciones que simplifican. Se buscan las concentraciones de equilibrio de A, B y AB. Dado que K es pequeña, se disociará muy poca cantidad de AB, de modo que, a partir de (2):

$$[AB] = C_{AB} - [A] = 0.10 - [A] \approx 0.10 \text{ M}$$

Usar las mismas reglas que antes para simplificar las suposiciones (para disociaciones, $C_A \geq 100K_{eq}$, para reacciones, $C \leq 0.01K_{eq}$).

Calcular

$[AB]$ se calculó antes.

$[A]$ se puede calcular mediante (1) y (3):

$$\frac{[A][B]}{0.10} = 3.0 \times 10^{-6}$$

$$[A] = \sqrt{3.0 \times 10^{-7}} = 5.5 \times 10^{-4} \text{ M}$$

$[B]$ se puede calcular a partir de (3):

$$[B] = [A] = 5.5 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Verificar

$$[AB] = 0.10 - 5.5 \times 10^{-4} = 0.10 \text{ M (dentro de las cifras significativas).}$$

Se ve que se obtuvo la misma respuesta que cuando se manejó el problema en forma intuitiva, como en el ejemplo 6.4. Se puede pensar que el procedimiento sistemático es demasiado complicado y formal. Para este problema en extremo sencillo, esta opinión puede estar justificada. Sin embargo, se debe advertir que el procedimiento sistemático será aplicable a *todos* los cálculos de equilibrio, sin que importe la dificultad del problema.

El procedimiento sistemático es aplicable a equilibrios múltiples.

Se puede encontrar que los problemas que implican equilibrios múltiples o muchas especies resultan desesperadamente complicados si se usa sólo un procedimiento intuitivo. Sin embargo, también se debe advertir que una buena “intuición” para los problemas de equilibrio es una cualidad muy valiosa. Se debe tratar de mejorar la intuición respecto de problemas de equilibrio. Dicha intuición proviene de la experiencia acumulada al trabajar con un número de problemas de diferentes clases. Al obtener experiencia, se podrá acortar algo del formalismo del procedimiento sistemático, y será más fácil hacer las suposiciones para simplificar que sean adecuadas.



Ejemplo 6.13

Repetir el problema descrito en el ejemplo 6.5 usando el procedimiento sistemático. Supóngase que la carga en A es +1, la carga en B es -1, y el B adicional (0.20 M) proviene de MB; MB se disocia por completo.

Solución

Reacciones químicas



Expresiones de equilibrio

$$K_{eq} = \frac{[A^+][B^-]}{[AB]} = 3.0 \times 10^{-6} \quad (1)$$

Expresiones de balance de masa

$$C_{AB} = [AB] + [A^+] = 0.10 \text{ M} \quad (2)$$

$$[B^-] = [A^+] + [M^+] = [A^+] + 0.20 \text{ M} \quad (3)$$

Expresión de balance de carga

$$[A^+] + [M^+] = [B^-] \quad (4)$$

Número de expresiones contra número de incógnitas

Obsérvese que por lo regular no es necesario el balance de carga.

Hay tres incógnitas ([AB], [A⁺] y [B⁻]; la concentración de M⁺ se sabe que es 0.20 M) y tres expresiones independientes (una de equilibrio y dos de balance de masa; el balance de carga es igual al segundo balance de masa).

Suposiciones para simplificar

i) Dado que K_{eq} es pequeña, se disociará muy poco de AB, de modo que, a partir de (2),

$$[AB] = 0.10 - [A^+] \approx 0.10 \text{ M}$$

ii) $[A] \ll [M]$, de modo que a partir de (3) o (4):

$$[B^-] = 0.20 + [A^+] \approx 0.20 \text{ M}$$

Calcular

[A] se calcula ahora a partir de (1):

$$\frac{[A^+](0.20)}{0.10} = 3.0 \times 10^{-6}$$

$$[A^+] = 1.5 \times 10^{-6} \text{ M}$$

Verificar

$$i) [AB] = 0.10 - 1.5 \times 10^{-6} = 0.10 \text{ M}$$

$$ii) [B] = 0.20 + 1.5 \times 10^{-6} = 0.20 \text{ M}$$

En general se usarán los procedimientos de aproximación dados en las secciones 6.10 y 6.11, que realmente incluyen muchos de los equilibrios y suposiciones que se usan en el procedimiento sistemático. El uso del procedimiento sistemático para problemas con equilibrios múltiples se explica en el capítulo 8.

Se pueden escribir ahora algunas reglas generales para resolver problemas de equilibrio químico usando el método de aproximación. Estas reglas deben ser aplicables a la disociación ácido-base, formación de complejos, reacciones de oxidación-reducción y otras. Es decir, todos los equilibrios se pueden tratar en forma similar.

1. Escribir los equilibrios que participan.
2. Escribir las expresiones de las constantes de equilibrio y los valores numéricos.
3. A partir del conocimiento de la química relativa al problema, hacer que x represente la concentración de equilibrio de la especie que será desconocida y pequeña en comparación con las otras concentraciones de equilibrio; las otras especies de concentraciones desconocidas y pequeñas serán múltiplos de ésta.
4. Elaborar una lista de las concentraciones al equilibrio de todas las especies, sumando o restando el múltiplo adecuado de x de la concentración analítica donde se necesite.
5. Efectuar las aproximaciones pertinentes despreciando x en comparación con las concentraciones finitas de equilibrio. Esto por lo general es válido si la concentración finita es alrededor de $100 \times K_{eq}$ o mayor. Asimismo, si la x calculada es menor en aproximadamente 5% de la concentración finita, la suposición es válida.
6. Sustituir la representación aproximada de la concentración individual en la expresión de la constante de equilibrio y despejar x .
7. Si las aproximaciones en el paso 5 no son válidas, usar la fórmula cuadrática para despejar x , o bien el método de aproximaciones sucesivas.

La aplicación de estas reglas se hará más clara en los siguientes capítulos cuando se traten en detalle los equilibrios específicos.

6.14 Equilibrios heterogéneos: los sólidos no cuentan

Los equilibrios en los cuales los componentes están en solución de ordinario se alcanzan con bastante rapidez. Si un equilibrio comprende dos fases, la rapidez con la que se alcanza el equilibrio será por lo general sustancialmente más baja que en el caso de las soluciones. Un ejemplo es el equilibrio de distribución de un analito entre una columna cromatográfica (por ejemplo, sólida) y un disolvente de elución. Como el tiempo de equilibrio es infinito, la rapidez de elución del analito a lo largo de la columna cromatográfica debe ser lo suficientemente lenta como para alcanzar el equilibrio. Ni la disolución de un sólido ni la formación de un precipitado serán instantáneas.

Los equilibrios heterogéneos son más lentos que los equilibrios en solución.

La “concentración” de un sólido o de un líquido puro es unitaria.

Otro aspecto en que los equilibrios heterogéneos difieren de los homogéneos es la manera en que los diferentes componentes se alejan del equilibrio. Guldberg y Waage demostraron que cuando un sólido es componente de un proceso químico reversible, su masa activa se puede considerar constante, sin que importe cuánto del sólido esté presente, es decir, agregar más sólido no provoca modificación del equilibrio. Así pues, no es necesario que la expresión de la constante de equilibrio contenga términos de concentración para las sustancias que están presentes como sólidos, y se concluye que el estado estándar de un sólido se toma como el del sólido mismo o unitario. Por ejemplo, para el equilibrio



se escribe que

$$K_{\text{eq}} = [\text{Ca}^{2+}][\text{F}^-]^2$$

Esto mismo es cierto para líquidos puros (no disueltos) en equilibrio, como el mercurio. El estado estándar del agua se toma como la unidad en *soluciones acuosas diluidas*, y el agua no aparece en las expresiones de las constantes de equilibrio.

6.15 Actividad y coeficientes de actividad: la concentración no lo explica todo

La “concentración efectiva” de un ion disminuye al enmascararlo con otros iones “inertes”, y esto representa la actividad del ion.

En general, la presencia de sales diversas (que no contengan los iones comunes al equilibrio en cuestión) provocará aumento en la disociación de un electrólito débil o en la solubilidad de un precipitado. Los cationes atraen a los aniones y viceversa, y así los cationes del analito atraen a los aniones de los diversos electrólitos, y los aniones del analito atraen a los cationes. La atracción de los iones de la reacción de equilibrio por el electrólito disuelto los enmascara de manera formal *disminuyendo su concentración efectiva* y desplazando el equilibrio. Conforme aumenta la carga, ya sea de una sal diversa o de los iones de la reacción de equilibrio, el efecto de la sal diversa por lo general aumenta. Este efecto sobre el equilibrio no está predicho por el principio de Le Châtelier; pero si se piensa en términos de las concentraciones efectivas que se cambian, es análogo en algunos aspectos al efecto del ion común.

Las actividades son importantes en las mediciones potenciométricas. Véase el capítulo 13.

Esta “concentración efectiva” de un ion en presencia de un electrólito se llama **actividad** del ion. La actividad se puede usar para describir cuantitativamente el efecto de las sales en las constantes de equilibrio (véase el efecto salino en seguida). La actividad también es importante en mediciones potenciométricas (véase el capítulo 13). En esta sección se describe cómo calcular la actividad.

EL COEFICIENTE DE ACTIVIDAD

La **actividad** de un ion a_i se define por

$$a_i = C_i f_i \quad (6.17)$$

donde C_i es la concentración del ion i , y f_i es su **coeficiente de actividad**. La concentración se expresa por lo regular como molaridad, y la actividad tiene las mismas unidades que la concentración. El coeficiente de actividad es adimensional, pero los valores numéricos de los coeficientes de actividad sí dependen de la selección del estado estándar. El coeficiente de actividad varía con el número total de iones en la solución y con su carga, y es una corrección para la atracción interiónica. *En soluciones diluidas, menores de 10^{-4} M, el coeficiente de actividad de un solo electrólito es cercano a la unidad, y la actividad es*

aproximadamente igual a la concentración. Al aumentar la concentración de un electrólito o al agregarse una sal diversa, el coeficiente de actividad por lo general disminuye y la actividad se hace menor que la concentración.

FUERZA IÓNICA

A partir de la discusión anterior, se puede ver que el coeficiente de actividad es una función de la concentración total de los electrólitos en solución. La **fuerza iónica** es una medida de la concentración total de electrólitos, y se define por

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad (6.18)$$

donde μ es la fuerza iónica y Z_i es la carga en cada ion individual. Todos los cationes y los aniones presentes en la solución se incluyen en el cálculo. Obviamente, para cada carga positiva habrá una carga negativa.

Para fuerzas iónicas menores de 10^{-4} , los coeficientes de actividad son cercanos a la unidad.

Ejemplo 6.14

Calcular la fuerza iónica de una solución 0.2 M de KNO_3 y una solución 0.2 M de K_2SO_4 .

Solución

Para KNO_3 ,

$$\begin{aligned} \mu &= \frac{C_{\text{K}^+} Z_{\text{K}^+}^2 + C_{\text{NO}_3^-} Z_{\text{NO}_3^-}^2}{2} \\ [\text{K}^+] &= 0.2 \text{ M} \quad [\text{NO}_3^-] = 0.2 \text{ M} \\ \mu &= \frac{0.2 \times (1)^2 + 0.2 \times (1)^2}{2} = 0.2 \end{aligned}$$

Para K_2SO_4 ,

$$\begin{aligned} \mu &= \frac{C_{\text{K}^+} Z_{\text{K}^+}^2 + C_{\text{SO}_4^{2-}} Z_{\text{SO}_4^{2-}}^2}{2} \\ [\text{K}^+] &= 0.4 \text{ M} \quad [\text{SO}_4^{2-}] = 0.2 \text{ M} \end{aligned}$$

de modo que,

$$\mu = \frac{0.4 \times (1)^2 + 0.2 \times (2)^2}{2} = 0.6$$

Obsérvese que debido al SO_4^{2-} , con carga doble, la fuerza iónica del K_2SO_4 es tres veces la del KNO_3 .

Los iones con cargas más altas contribuyen más a la fuerza iónica.

Si está presente más de una sal, la fuerza iónica se calcula a partir de las concentraciones y cargas totales de todos los diferentes iones. Para cualquier electrólito dado, la fuerza iónica será proporcional a la concentración. Los ácidos fuertes que se ionizan por completo se tratan de la misma manera que las sales. Si los ácidos se ionizan parcialmente, entonces la concentración de la especie ionizada se debe estimar a partir de la constante de ionización antes de calcular la fuerza iónica. Los ácidos muy débiles por lo regular se pueden considerar como no ionizados, y no contribuyen a la fuerza iónica.

Ejemplo 6.15

Calcular la fuerza iónica de una solución que consiste en NaCl 0.30 M y Na₂SO₄ 0.20 M.

$$\begin{aligned}\mu &= \frac{C_{\text{Na}^+} Z_{\text{Na}^+}^2 + C_{\text{Cl}^-} Z_{\text{Cl}^-}^2 + C_{\text{SO}_4^{2-}} Z_{\text{SO}_4^{2-}}^2}{2} \\ &= \frac{0.70 \times (1)^2 + 0.30 \times (1)^2 + 0.20 \times (2)^2}{2} \\ &= 0.90\end{aligned}$$

CÁLCULO DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

En 1923, Debye y Hückel derivaron una expresión teórica para calcular los coeficientes de actividad. La ecuación, que se conoce como **ecuación de Debye-Hückel**, es

Esta ecuación se aplica para fuerzas iónicas hasta de 0.2.

$$-\log f_i = \frac{0.51 Z_i^2 \sqrt{\mu}}{1 + 0.33 \alpha_i \sqrt{\mu}} \quad (6.19)$$

La estimación del parámetro del tamaño del ion impone un límite en la exactitud del coeficiente de actividad calculado.

Los números 0.51 y 0.33 son constantes para agua a 25°C, y el primero incluye la potencia $-\frac{3}{2}$, tanto de la constante dieléctrica del disolvente como de la temperatura absoluta; α_i es el **parámetro del tamaño de ion**, que es el diámetro efectivo del ion hidratado en angstroms, Å. Un angstrom es igual a 100 picómetros (1 Å = 10⁻¹⁰ m). Una limitación de la ecuación de Debye-Hückel es la exactitud con que se puede evaluar α_i . Para muchos iones de una sola carga, α_i por lo general es alrededor de 3 Å, y para fines prácticos, la ecuación 6.19 se simplifica a

Esta ecuación se puede usar para fuerzas iónicas menores de 0.01.

$$-\log f_i = \frac{0.51 Z_i^2 \sqrt{\mu}}{1 + \sqrt{\mu}} \quad (6.20)$$

Véase la referencia 9 para una tabulación de valores de α_i .

Para iones comunes de carga múltiple, α_i puede llegar a medir 11 Å. Sin embargo, con fuerzas iónicas menores de 0.01, el segundo término del denominador se vuelve pequeño con respecto a 1, de modo que las incertidumbres en α_i se vuelven relativamente poco importantes y la ecuación 6.20 se puede aplicar a fuerzas iónicas de 0.01 o menores. La ecuación 6.19 se puede aplicar hasta fuerzas iónicas de alrededor de 0.2. La referencia 9 al final del capítulo da una lista de valores de α_i para diferentes iones y también incluye una tabla de coeficientes de actividad calculados, usando la ecuación 6.19, para fuerzas iónicas que van de 0.0005 a 0.1.

Ejemplo 6.16

Calcular los coeficientes de actividad para K⁺ y SO₄²⁻ en una solución 0.0020 M de sulfato de potasio.

Solución

La fuerza iónica es 0.0060, de modo que se puede aplicar la ecuación 6.20:

$$\begin{aligned}
 -\log f_{K^+} &= \frac{0.51(1)^2 \sqrt{0.0060}}{1 + \sqrt{0.0060}} = 0.037 \\
 f_{K^+} &= 10^{-0.037} = 10^{-1} \times 10^{0.963} = 0.918 \\
 -\log f_{SO_4^{2-}} &= \frac{0.51(2)^2 \sqrt{0.0060}}{1 + \sqrt{0.0060}} = 0.14_7 \\
 f_{SO_4^{2-}} &= 10^{-0.14_7} = 10^{-1} \times 10^{0.85_3} = 0.71_3
 \end{aligned}$$

Ejemplo 6.17

Calcular los coeficientes de actividad para K^+ y SO_4^{2-} en una solución 0.020 M de sulfato de potasio.

Solución

La fuerza iónica es 0.060, de modo que se usaría la ecuación 6.19. A partir de la referencia 9 se encuentra que $\alpha_{K^+} = 3 \text{ \AA}$ y $\alpha_{SO_4^{2-}} = 4.0 \text{ \AA}$. Para K^+ , se puede usar la ecuación 6.20:

$$\begin{aligned}
 -\log f_{K^+} &= \frac{0.51(1)^2 \sqrt{0.060}}{1 + \sqrt{0.060}} = 0.10_1 \\
 f_{K^+} &= 10^{-0.101} = 10^{-1} \times 10^{0.899} = 0.79_4
 \end{aligned}$$

Para SO_4^{2-} , usar la ecuación 6.19:

$$\begin{aligned}
 -\log f_{SO_4^{2-}} &= \frac{0.51(2)^2 \sqrt{0.060}}{1 + 0.33 \times 4.0 \sqrt{0.060}} = 0.37_8 \\
 f_{SO_4^{2-}} &= 10^{-1} \times 10^{0.62_2} = 0.41_9
 \end{aligned}$$

Esto último se compara con un valor calculado de 0.39₆ usando la ecuación 6.20. Obsérvese la disminución de los coeficientes de actividad en comparación con K_2SO_4 0.002 M, en especial para el ion SO_4^{2-} .

Para fuerzas iónicas más elevadas se han desarrollado varias ecuaciones empíricas. Quizás una de las más útiles sea la **modificación de Davies** (véase la referencia 8):

$$-\log f_i = 0.51 Z_i^2 \left(\frac{\sqrt{\mu}}{1 + \sqrt{\mu}} - 0.3 \mu \right) \quad (6.21)$$

Úsele esta ecuación para fuerzas iónicas de 0.2 a 0.5. Da coeficientes de actividad crecientes en comparación con la ecuación de Debye-Hückel.

Que es válida para fuerzas iónicas de casi 0.5.

¡Una solución 0.01 *M* de HCl preparada en NaCl 8 *M* tiene una actividad alrededor de 100 veces mayor que en agua! Su pH es realmente 0.0. Véase F. E. Critchfield y J. B. Johnson, *Anal. Chem.*, **30** (1958) 1247 y G. D. Christian, *CRC Crit. Rev. en Anal. Chem.*, **5** (2) (1975) 119-153.

Cuanto mayor sea la carga en los iones diversos, mayor será su efecto sobre la actividad.

La actividad de los no electrolitos es la misma que la concentración hasta fuerzas iónicas de 1.

A muy altas concentraciones de electrolitos, los coeficientes de actividad pueden realmente aumentar y superar la unidad. Esto se debe a que la actividad del disolvente, agua, disminuye y las especies iónicas solvatadas se desolvatan parcialmente. Esto aumenta su reactividad, y por tanto su actividad. Obsérvese que la ecuación 6.21 realmente “corrige” el valor de f_i a un valor mayor al aumentar M .

Se pueden formular algunas conclusiones generales alrededor de la estimación de los coeficientes de actividad.

1. Los coeficientes de actividad de iones de un tipo dado de carga son aproximadamente iguales en soluciones de una fuerza iónica dada, y este coeficiente de actividad es el mismo sin importar sus concentraciones individuales.
2. El comportamiento de los iones se hace menos ideal al aumentar el tipo de carga, lo que origina una menor confianza al calcular los coeficientes de actividad.
3. El coeficiente de actividad calculado de un ion en una solución de electrolitos mixtos será menos exacto que en una solución de un solo electrolito.
4. Los coeficientes de actividad de no electrolitos (moléculas sin carga) se puede considerar en general igual a la unidad para fuerzas iónicas hasta de 0.1, y las desviaciones de esta aproximación son sólo moderadas en fuerzas iónicas tan elevadas como 1. Los ácidos sin disociar, HA, son no electrolitos cuyos coeficientes de actividad se pueden tomar como igual a la unidad.

6.16 Efecto del ion diverso: constante de equilibrio termodinámico y coeficientes de actividad

Al principio de la última sección sobre actividad se mencionó que la presencia de sales diversas por lo general aumenta la disociación de electrolitos débiles debido a un enmascaramiento (o disminución en la actividad) de las especies iónicas producidas en la disociación. Se puede predecir el grado del efecto sobre el equilibrio tomando en cuenta las actividades de las especies en equilibrio.

Hasta ahora, al considerar las constantes de equilibrio se ha supuesto que no hay efecto del ion diverso, es decir, una fuerza iónica de cero y un coeficiente de actividad de 1. Las constantes de equilibrio se deben expresar más exactamente en términos de actividades más que de concentraciones. Considerar la disociación de AB. La **constante de equilibrio termodinámico** (es decir, la constante de equilibrio extrapolada al caso de dilución infinita) K_{eq}° es

$$K_{eq}^\circ = \frac{a_A \cdot a_B}{a_{AB}} = \frac{[A]f_A \cdot [B]f_B}{[AB]f_{AB}} \quad (6.22)$$

Dado que la **constante de equilibrio de concentración** $K_{eq} = [A][B]/[AB]$, entonces

$$K_{eq}^\circ = K_{eq} \frac{f_A \cdot f_B}{f_{AB}} \quad (6.23)$$

Las constantes de equilibrio termodinámico mantienen las fuerzas iónicas.

o

$$K_{\text{eq}} = K_{\text{eq}}^{\circ} \frac{f_{\text{AB}}}{f_{\text{A}} \cdot f_{\text{B}}} \quad (6.24)$$

El valor numérico de K_{eq}° es válido para todas las actividades. $K_{\text{eq}} = K_{\text{eq}}^{\circ}$ con fuerza iónica cero, pero con fuerzas iónicas apreciables, se debe calcular un valor de K_{eq} para cada fuerza iónica usando la ecuación 6.24. Las constantes de equilibrio que aparecen en el apéndice C son para fuerza iónica cero; es decir, se trata realmente de constantes de equilibrio termodinámico. (Existen valores experimentales de K_{eq} a diferentes fuerzas iónicas, y se pueden usar para cálculos de equilibrio a la fuerza iónica indicada usando concentraciones molares, sin tener que calcular coeficientes de actividad.)

Las constantes de equilibrio de concentración se deben corregir por fuerza iónica.

Ejemplo 6.18

El electrólito débil AB se disocia en A^+ y B^- con una constante de equilibrio termodinámico K_{eq}° de 2×10^{-8} . a) Calcular la constante de equilibrio molar K_{eq} . b) Calcular el porcentaje de disociación de una solución $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ de AB en agua y en presencia de una sal diversa de fuerza iónica 0.1, si los coeficientes de actividad de A^+ y B^- son 0.6 y 0.7, respectivamente, a $\mu = 0.1$.

Solución

a)



$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{A}^+][\text{B}^-]}{[\text{AB}]}$$

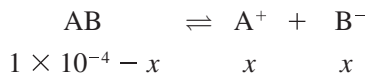
$$K_{\text{eq}}^{\circ} = \frac{a_{\text{A}^+} \cdot a_{\text{B}^-}}{a_{\text{AB}}} = \frac{[\text{A}^+]f_{\text{A}^+} \cdot [\text{B}^-]f_{\text{B}^-}}{[\text{AB}]f_{\text{AB}}}$$

El coeficiente de actividad de una especie neutra es la unidad, de modo que

$$K_{\text{eq}}^{\circ} = \frac{[\text{A}^+][\text{B}^-]}{[\text{AB}]} \cdot f_{\text{A}^+} \cdot f_{\text{B}^-} = K_{\text{eq}} f_{\text{A}^+} \cdot f_{\text{B}^-}$$

$$K_{\text{eq}} = \frac{K_{\text{eq}}^{\circ}}{f_{\text{A}^+} \cdot f_{\text{B}^-}} = \frac{2 \times 10^{-8}}{(0.6)(0.7)} = 5 \times 10^{-8}$$

b)



En agua, $f_{\text{A}^+} = f_{\text{B}^-} \approx 1$ (ya que $\mu < 10^{-4}$, $x \ll 10^{-4}$)

$$\frac{[\text{A}^+][\text{B}^-]}{[\text{AB}]} = 2 \times 10^{-8}$$

$$\frac{(x)(x)}{1.0 \times 10^{-4}} = 2 \times 10^{-8}$$

$$x = 1.4 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$\% \text{ disociado} = \frac{1.4 \times 10^{-6} \text{ M}}{1.0 \times 10^{-4} \text{ M}} \times 100\% = 1.4\%$$

Para sal 0.1 M,

$$\frac{[A^+][B^-]}{[AB]} = 5 \times 10^{-8}$$

$$\frac{(x)(x)}{1.0 \times 10^{-4}} = 5 \times 10^{-8}$$

$$x = 2.2 \times 10^{-6}$$

$$\% \text{ disociado} = \frac{2.2 \times 10^{-6}}{1.0 \times 10^{-4}} \times 100\% = 2.2\%$$

lo cual representa un aumento de 57% en la disociación.

.....

En general se ignorarán los efectos de sales diversas.

Los cálculos a partir de los efectos del ion diverso se ilustran en el capítulo 7 para disociación de ácidos, y en el capítulo 10 para solubilidades de precipitados. Para fines ilustrativos en este libro, en general se ignorarán los efectos del ion diverso en los equilibrios. En la mayor parte de los casos, lo que interesa son los cambios *relativos* en las concentraciones de equilibrio, y despreciar las actividades no cambia los argumentos.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- La constante de equilibrio (ecuaciones clave: 6.12, 6.15), p. 194
- Cálculo de concentraciones de equilibrio, p. 195
- Uso de Excel Solver para resolver la ecuación cuadrática, p. 198
- El procedimiento sistemático para cálculos de equilibrio: ecuaciones de balance de masa y balance de carga, p. 203
- Actividad y coeficientes de actividad (ecuación clave: 6.19), p. 210
- Constantes de equilibrio termodinámico (ecuación clave: 6.22), p. 214

Problemas

CÁLCULOS DE EQUILIBRIO

1. A y B reaccionan como sigue: $A + B \rightleftharpoons C + D$. La constante de equilibrio es 20×10^3 . Si 0.30 mol de A y 0.80 mol de B se mezclan en 1 L, ¿cuáles serían las concentraciones de A, B, C y D una vez finalizada la reacción?
2. A y B reaccionan como sigue: $A + B \rightleftharpoons 2C$. La constante de equilibrio es 5.0×10^6 . Si 0.40 mol de A y 0.70 mol de B se mezclan en 1 L, ¿cuáles serían las concentraciones de A, B y C una vez finalizada la reacción?
3. La constante de disociación para el ácido salicílico, $C_6H_4(OH)COOH$, es 1.0×10^{-3} . Calcular el porcentaje de disociación de una solución $1.0 \times 10^{-3} M$. Hay un protón disociable (véase también el problema 25 de Excel más adelante).
4. La constante de disociación para el ácido cianhídrico HCN es 7.2×10^{-10} . Calcular el porcentaje de disociación de una solución $1.0 \times 10^{-3} M$.
5. Calcular el porcentaje de disociación del ácido salicílico en el problema 3 si la solución contuviera también salicilato de sodio $1.0 \times 10^{-2} M$ (la sal del ácido salicílico).

6. El sulfuro de hidrógeno, H_2S , se disocia por etapas con constantes de disociación de 9.1×10^{-8} y 1.2×10^{-15} , respectivamente. Escribir la reacción de disociación total y la constante total de equilibrio.
7. Fe^{2+} y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ reaccionan como sigue: $6\text{Fe}^{2+} + \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ \rightleftharpoons 6\text{Fe}^{3+} + 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$. La constante de equilibrio para la reacción es 1×10^{57} . Calcular las concentraciones de equilibrio de las especies hierro y cromo si se hacen reaccionar 10 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.02 M en HCl 1.14 M y 10 mL FeSO_4 0.12 M en HCl 1.14 M.

PROCEDIMIENTO SISTEMÁTICO PARA CÁLCULOS DE EQUILIBRIO

8. Escribir expresiones de balance de carga para: a) una solución saturada de Bi_2S_3 ; b) una solución de Na_2S .
9. Escribir las ecuaciones de balance de masa y electroneutralidad para una solución 0.100 M de $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2$.
10. Probar las siguientes relaciones usando los principios de electroneutralidad y balance de masa:
 - a) $[\text{NO}_2^-] = [\text{H}^+] - [\text{OH}^-]$ para una solución 0.2 M de HNO_2
 - b) $[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0.2 - [\text{H}^+] + [\text{OH}^-]$ para una solución 0.2 M de CH_3COOH
 - c) $[\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4] = 0.1 - [\text{H}^+] + [\text{OH}^-] - [\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]$ para una solución 0.1 M de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$
 - d) $[\text{HCN}] = [\text{OH}^-] - [\text{H}^+]$ para una solución 0.1 M de KCN
 - e) $[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = \frac{[\text{OH}^-] - [\text{H}^+] - [\text{HPO}_4^{2-}] - 3[\text{H}_3\text{PO}_4]}{2}$ para una solución 0.1 M de Na_3PO_4
 - f) $[\text{HSO}_4^-] = 0.2 - [\text{H}^+] - [\text{OH}^-]$ para una solución 0.1 M de H_2SO_4 (se supone que la disociación del H_2SO_4 a H^+ y HSO_4^- es cuantitativa).
11. Escribir las ecuaciones de balance de masa para una solución acuosa saturada de BaF_2 que contiene las especies F^- , HF, HF_2^- y Ba^{2+} .
12. Escribir una ecuación de balance de masa para una solución acuosa de $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$.
13. Calcular el pH de una solución 0.100 M de ácido acético usando el procedimiento de balance de carga/masa.

FUERZA IÓNICA

14. Calcular las fuerzas iónicas de las siguientes soluciones: a) 0.30 M NaCl; b) 0.30 M Na_2SO_4 ; c) 0.30 M NaCl y 0.20 M K_2SO_4 ; d) 0.20 M $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y 0.10 M Na_2SO_4 .
15. Calcular las fuerzas iónicas de las siguientes soluciones: a) 0.20 M ZnSO_4 ; b) 0.40 M MgCl_2 ; c) 0.50 M LaCl_3 ; d) 1.0 M $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; e) 1.0 M $\text{Ti}(\text{NO}_3)_3$ + 1.0 M $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

ACTIVIDAD

16. Calcular los coeficientes de actividad de los iones sodio y cloruro para una solución 0.00100 M de NaCl.
17. Calcular los coeficientes de actividad de cada ion en una solución que contiene Na_2SO_4 0.0020 M y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 0.0010 M.
18. Calcular la actividad del ion NO_3^- en una solución 0.0020 M de KNO_3 .
19. Calcular la actividad del ion CrO_4^{2-} en una solución 0.020 M de Na_2CrO_4 .

CONSTANTES DE EQUILIBRIO TERMODINÁMICO

20. Escribir expresiones de las constantes de equilibrio termodinámico para lo siguiente:
 - a) $\text{HCN} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CN}^-$
 - b) $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$

21. Calcular el pH de una solución $5.0 \times 10^{-3} M$ de ácido benzoico: a) en agua; b) en presencia de K_2SO_4 0.05 M.

EJERCICIOS DE EXCEL

22. Escribir un programa de hoja de cálculo para calcular coeficientes de actividad usando la ecuación 6.20.
23. Calcular los coeficientes de actividad para K^+ y SO_4^{2-} del ejemplo 6.16. Comparar los resultados con los valores calculados manualmente en el ejemplo.
24. Calcular los coeficientes de actividad del ejemplo 6.17. Compare los resultados con los valores calculados manualmente en el ejemplo.
25. Usar Excel Solver para calcular la concentración, x , en el problema 3 (se necesita la ecuación cuadrática).
26. Resolver los problemas 16 a 19 con Excel.

Referencias recomendadas

EQUILIBRIOS

1. A. J. Bard, *Chemical Equilibrium*, Nueva York: Harper & Row, 1966.
2. T. R. Blackburn, *Equilibrium: a Chemistry of Solutions*, Nueva York: Holt, Rinehart and Winston, 1969.
3. J. N. Butler, *Ionic Equilibrium. A Mathematical Approach*, Reading, MA: Addison Wesley, 1964.
4. G. M. Fleck, *Ionic Equilibria in Solution*, Nueva York: Holt, Rinehart and Winston, 1966.
5. H. Freiser y Q. Fernando, *Ionic Equilibria in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1963.
6. A. E. Martell y R. J. Motekaitis, *The Determination and Use of Stability Constants*, Nueva York: VCH, 1989.

MÉTODO DE LAS APROXIMACIONES SUCESIVAS

7. S. Brewer, *Solving Problems in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1980.

ACTIVIDAD

8. C. W. Davies, *Ion Association*, Londres: Butterworth, 1962.
9. J. Kielland, "Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions", *J. Am. Chem. Soc.*, **59** (1937), 1675.
10. K. S. Pitzer, *Activity Coefficients in Electrolyte Solutions*, 2a. ed., Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1991.
11. P. C. Meier, "Two-Parameter Debye-Hückel Approximation for the Evaluation of Mean Activity Coefficients of 109 Electrolytes", *Anal. Chim. Acta*, **136** (1982) 363.

Capítulo siete

EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE



“Hay tres efectos secundarios de un ácido. Mejora la memoria a largo plazo, disminuye la memoria a corto plazo, y... se me ha olvidado el tercero.”

—Timothy Leary

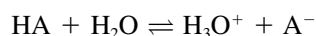
La acidez o basicidad de una solución a menudo es un factor importante en las reacciones químicas. Es de gran importancia el uso de amortiguadores de un pH dado para mantener el pH de la solución en un nivel deseado. Además, los equilibrios ácido-base son importantes para entender las titulaciones ácido-base y los efectos de los ácidos en las especies y en las reacciones, por ejemplo, los efectos de complejamiento o precipitación. En el capítulo 6 se describieron los conceptos fundamentales de las constantes de equilibrio. En este capítulo se describirán con mayor detalle diversos cálculos de equilibrio ácido-base, incluyendo *ácidos y bases débiles*, hidrólisis de *sales de ácidos y bases débiles*, amortiguadores, ácidos polipróticos y sus sales, y *amortiguadores fisiológicos*. Se repasarán primero las teorías ácido-base y el concepto básico de pH.

7.1 Teorías ácido-base: no todas se crearon igual

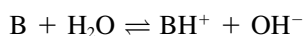
Se han propuesto varias teorías ácido-base para explicar o clasificar las propiedades acídicas o básicas de las sustancias. Tal vez exista más familiaridad con la **teoría de Arrhenius**, que sólo es aplicable al agua. Otras teorías son más generales y son aplicables a otros disolventes. Aquí se describen las teorías comunes ácido-base.

TEORÍA DE ARRHENIUS: H^+ Y OH^-

Arrhenius, como estudiante de posgrado, introdujo una teoría radical en 1894 (por lo cual recibió el premio Nobel): que un **ácido** es cualquier sustancia que se ioniza (parcial o completamente) en agua para dar *iones de hidrógeno* (que se asocian con el disolvente para dar iones hidronio, H_3O^+):



Una **base** se ioniza en agua para dar *iones hidroxilo*. Las bases débiles (parcialmente ionizadas) por lo general se ionizan como sigue:



La teoría de Arrhenius se restringe a soluciones acuosas. Véase *J. Am. Chem. Soc.*, **36** (1912) 353 para las observaciones de Arrhenius acerca de la dificultad que tuvo para que su teoría fuese aceptada.

mientras que las bases fuertes como los hidróxidos metálicos (por ejemplo, NaOH) se disocian como



Esta teoría obviamente se restringe al agua como disolvente.

TEORÍA DE LOS SISTEMAS DE DISOLVENTES:
CATIONES Y ANIONES DEL DISOLVENTE

La teoría de Franklin es similar a la de Arrhenius, pero también es aplicable a otros disolventes ionizables.

En 1905, Franklin introdujo el concepto de sistemas de disolventes para ácidos y bases. Esta teoría reconoce la ionización de un disolvente para dar un catión y un anión; por ejemplo, $2H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-$ o $2NH_3 \rightleftharpoons NH_4^+ + NH_2^-$. Un ácido se define como un soluto que da el *catión del disolvente*, en tanto que una base es un soluto que da el *anión del disolvente*. Así, NH_4Cl es un ácido fuerte en amoníaco líquido (igual que el HCl en agua: $HCl + H_2O \rightarrow H_3O^+ + Cl^-$), mientras que el $NaNH_2$ es una base fuerte en amoníaco (similar al $NaOH$ en agua); estos dos compuestos se ionizan para dar el catión y el anión del disolvente, respectivamente. El etanol se ioniza como sigue: $2C_2H_5OH \rightleftharpoons C_2H_5OH_2^+ + C_2H_5O^-$. Por tanto, el etóxido de sodio, $NaOC_2H_5$, es una base fuerte en este disolvente.

TEORÍA DE BRØNSTED-LOWRY: ACEPTANDO Y CEDIENDO PROTONES

La teoría de Brønsted-Lowry supone una transferencia de protones de un ácido a una base; es decir, pares conjugados.

La teoría de los sistemas de disolventes es adecuada para disolventes ionizables, pero no es aplicable para reacciones ácido-base en disolventes no ionizables, como el benceno o el dioxano. En 1923, Brønsted y Lowry describieron por separado lo que ahora se conoce como teoría de **Brønsted-Lowry**. Esta teoría sostiene que un **ácido** es cualquier sustancia que puede *donar un protón*, y una **base** es cualquier sustancia que puede *aceptar un protón*. Así, se puede escribir una “media reacción”



El ácido y la base de una media reacción se llaman **pares conjugados**. Los protones libres no existen en solución, y debe haber un aceptor de protones (base) antes de que un donador de protones (ácido) libere su protón. Es decir, debe haber una combinación de dos medias reacciones. En la tabla 7.1 se ilustran algunas reacciones ácido-base en diferentes disolventes. En el primer ejemplo, el ion acetato es la base conjugada del ácido acético, y el ion amonio es el ácido conjugado del amoníaco. Los primeros cuatro ejemplos representan la ionización de un ácido o una base en un disolvente, en tanto que los otros representan una reacción de neutralización entre un ácido y una base en el disolvente.

Tabla 7.1
Reacciones ácido-base de Brønsted

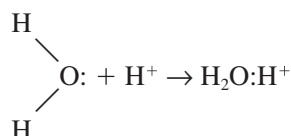
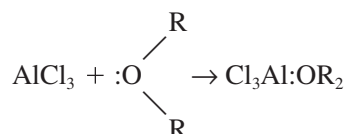
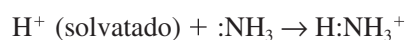
Disolvente	Ácido ₁	+	Base ₂	→	Ácido ₂	+	Base ₁
NH ₃ (líq.)	HOAc		NH ₃		NH ₄ ⁺		OAc ⁻
H ₂ O	HCl		H ₂ O		H ₃ O ⁺		Cl ⁻
H ₂ O	NH ₄ ⁺		H ₂ O		H ₃ O ⁺		NH ₃
H ₂ O	H ₂ O		OAc ⁻		HOAc		OH ⁻
H ₂ O	HCO ₃ ⁻		OH ⁻		H ₂ O		CO ₃ ²⁻
C ₂ H ₅ OH	NH ₄ ⁺		C ₂ H ₅ O ⁻		C ₂ H ₅ OH		NH ₃
C ₆ H ₆	H picrato		C ₆ H ₅ NH ₂		C ₆ H ₅ NH ₃ ⁺		picato ⁻

Según la definición anterior, es evidente que una sustancia no puede actuar como ácido a menos de que esté presente una base para aceptar protones. Así, los ácidos sufrirán ionización completa o parcial en disolventes básicos, como el agua, el amoníaco líquido o el etanol, dependiendo de la basicidad del disolvente y de la fortaleza del ácido, aunque, en disolventes neutros o “inertes”, la ionización será insignificante. Por otro lado, la ionización en el disolvente no es un requisito previo para una reacción ácido-base, como en el último ejemplo de la tabla, donde el ácido pícrico reacciona con anilina.

TEORÍA DE LEWIS: ACEPTANDO Y CEDIENDO PARES DE ELECTRONES

También en 1923, G. N. Lewis introdujo la teoría electrónica de los ácidos y las bases. En la teoría de Lewis, un ácido es una sustancia que puede aceptar un par de electrones, y una base es una sustancia que puede donar un par de electrones. La segunda a menudo contiene un oxígeno o un nitrógeno como donador de electrones. Así, sustancias que no contienen hidrógeno podrían ser incluidas como ácidos. Ejemplos de reacciones ácido-base en la teoría de Lewis son las siguientes:

La teoría de Lewis supone una donación (coparticipación) de electrones de una base a un ácido.



En el segundo ejemplo, el cloruro de aluminio es un ácido y el éter es una base.

7.2 Equilibrios ácido-base en agua

Según lo anterior, cuando un ácido o una base se disuelve en agua se disocia, o **ioniza**, y el grado de ionización depende de la fuerza del ácido. Un electrólito “fuerte” se disocia por completo, en tanto que uno “débil” se disocia de manera parcial. La tabla 7.2 es una lista de algunos electrólitos comunes, unos fuertes y otros débiles. En el apéndice C hay otros ácidos y bases débiles.

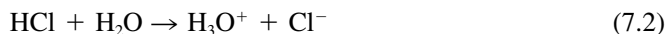
Tabla 7.2

Algunos electrólitos fuertes y algunos electrólitos débiles

<i>Fuertes</i>	<i>Débiles</i>
HCl	HC ₂ H ₃ O ₂ (ácido acético)
HClO ₄	NH ₃
H ₂ SO ₄ ^a	C ₆ H ₅ OH (fenol)
HNO ₃	HCHO ₂ (ácido fórmico)
NaOH	C ₆ H ₅ NH ₂ (anilina)
NaC ₂ H ₃ O ₂	

^a El primer protón se ioniza por completo en solución diluida, pero el segundo protón se ioniza parcialmente ($K_2 = 10^{-2}$).

El ácido clorhídrico es fuerte, y su ionización es completa:



Una constante de equilibrio para la ecuación 7.2 tendría un valor infinito. El protón H^+ existe en agua como ion hidratado, el **ion hidronio**, H_3O^+ . Tal vez existen hidratos más altos, en especial el H_9O_4^+ . El ion hidronio se escribe como H_3O^+ por conveniencia y para enfatizar su comportamiento Brønsted.

El ácido acético¹ es débil y se ioniza sólo parcialmente (unos pocos puntos porcentuales):



Se puede escribir una **constante de equilibrio** para esta reacción:

$$K_a^\circ = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot a_{\text{OAc}^-}}{a_{\text{HOAc}} \cdot a_{\text{H}_2\text{O}}} \quad (7.4)$$

donde K_a° es la **constante termodinámica de acidez** (véase la sección 6.16) y a es la **actividad** de la especie indicada. Los cationes o los aniones de una sal también pueden reaccionar parcialmente con agua después de disociarse; por ejemplo, el ion acetato a partir de una sal disociada de acetato, para dar HOAc.

Se puede considerar que la actividad representa la concentración efectiva de un ion (como se describe en el capítulo 6). Los efectos de los protones en las reacciones con frecuencia están gobernados por sus actividades, y la actividad la determina un medidor de pH, ampliamente utilizado (véase el capítulo 13). Los métodos para predecir los valores numéricos de los coeficientes de actividad se describieron en el capítulo 6.

En soluciones diluidas la actividad del agua permanece esencialmente constante y se toma como 1 en el estado estándar. Por tanto, la ecuación 7.4 se puede escribir como

$$K_a^\circ = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot a_{\text{OAc}^-}}{a_{\text{HOAc}}} \quad (7.5)$$

La autoprotólisis es la autoionización de un disolvente para dar un catión y un anión; por ejemplo $2\text{CH}_3\text{OH} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{OH}^+ + \text{CH}_3\text{O}^-$.

El agua pura se ioniza ligeramente, o sufre **autoprotólisis**:



La constante de equilibrio para esto es

$$K_w^\circ = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot a_{\text{OH}^-}}{a_{\text{H}_2\text{O}}^2} \quad (7.7)$$

De nuevo, la actividad del agua es constante en soluciones diluidas (su concentración es esencialmente constante a $\sim 55.3 \text{ M}$), de modo que

$$K_w^\circ = a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot a_{\text{OH}^-} \quad (7.8)$$

Se usará H^+ en vez de H_3O^+ , por simplificación. En general, también se usarán concentraciones molares en lugar de actividades.

donde K_w° es la **constante termodinámica de autoprotólisis**, o **autoionización**.

Los cálculos se simplifican si se descartan los coeficientes de actividad. Esta simplificación ocasiona sólo errores ligeros para soluciones diluidas, y se usará concentración molar en todos los cálculos. Esto ilustrará de manera satisfactoria los equilibrios corres-

¹ Se usará el símbolo OAc^- para representar al ion acetato, $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}^-$.

pondientes. La mayor parte de las soluciones que se tratarán son más bien diluidas, y a menudo interesarán los cambios relativos de pH (y los cambios grandes), en cuyo caso los pequeños errores son insignificantes. Se simplificarán las expresiones, como H^+ en vez de H_3O^+ . Esto no es incongruente, ya que las aguas de solvatación asociadas a otros iones o moléculas (por ejemplo, iones metálicos) por lo general no se escriben, y H_3O^+ no es de cualquier manera una representación exacta de la especie presente.

La **concentración molar** se representará con corchetes [] alrededor de la especie. Las ecuaciones simplificadas para las reacciones anteriores son:



$$K_a = \frac{[H^+][OAc^-]}{[HOAc]} \quad (7.11)$$



$$K_w = [H^+][OH^-] \quad (7.13)$$

K_a y K_w son las **constantes molares de equilibrio**.

A $25^\circ C$, $K_w = 1.0 \times 10^{-14}$. El producto de la concentración de ion hidrógeno y la concentración de ion hidroxilo en solución acuosa *siempre* es igual a 1.0×10^{-14} a la temperatura del laboratorio:

$$[H^+][OH^-] = 1.0 \times 10^{-14} \quad (7.14)$$

Entonces, en agua pura las concentraciones de estas dos especies son iguales, ya que no hay otras fuentes de H^+ ni de OH^- , salvo la disociación del H_2O :

$$[H^+] = [OH^-]$$

Por tanto,

$$[H^+][H^+] = 1.0 \times 10^{-14}$$

$$[H^+] = 1.0 \times 10^{-7} M \equiv [OH^-]$$

Si se agrega un ácido al agua, se puede calcular la concentración de ion hidroxilo si se sabe la concentración de ion hidrógeno del ácido. *Salvo cuando la concentración de ion hidrógeno del ácido es muy pequeña, $10^{-6} M$ o menor, se puede ignorar cualquier contribución al $[H^+]$ por la ionización del agua.*

Es una fortuna para los químicos (y en especial para los estudiantes!) que la naturaleza haya hecho que K_w fuera un número uniforme único a la temperatura del laboratorio. Hubiera sido muy complicado hacer cálculos de pH con K_w como 2.39×10^{-13} . Sin embargo, en la sección 7.4 tendrán que hacerse (para otras temperaturas).

Ejemplo 7.1

Se prepara una solución $1.0 \times 10^{-3} M$ de ácido clorhídrico. ¿Cuál es la concentración de ion hidroxilo?

Solución

Como el ácido clorhídrico es un electrólito fuerte y se disocia por completo, la concentración de H^+ es $1.0 \times 10^{-3} M$. Por tanto,

$$(1.0 \times 10^{-3})[OH^-] = 1.0 \times 10^{-14}$$

$$[OH^-] = 1.0 \times 10^{-11} M$$

7.3 La escala de pH

Las escalas p se usan para comprimir un intervalo de números de varias decenas de magnitud.

La concentración de H^+ o de OH^- en solución acuosa puede variar en intervalos extremadamente amplios, desde 1 M o mayor hasta 10^{-14} M o menor. Construir una gráfica de concentración de H^+ contra alguna variable sería muy difícil si la concentración cambiara, por ejemplo, de 10^{-1} a 10^{-13} M. Este intervalo es común en una titulación. Es más conveniente comprimir la escala de acidez poniéndola en una base logarítmica. El **pH** de una solución lo definió Sørensen como

$$pH = -\log[H^+] \quad (7.15)$$

El pH es realmente $-\log a_{H^+}$. Esto es lo que se determina en un medidor de pH (electrodo de vidrio). Véase el capítulo 13.

El signo menos se usa porque la mayor parte de las concentraciones que se encuentran son menores que 1 M, y por tanto esta designación da un número positivo (más estrictamente, el pH se define en la actualidad como $-\log a_{H^+}$, pero se usará la definición más sencilla de la ecuación 7.15). En general, **p (lo-que-sea) = $-\log$ (lo-que-sea)**, y este método de notación se usará posteriormente para otros números que puedan variar en grandes cantidades, o muy grandes o pequeños (por ejemplo, las constantes de equilibrio).



Ejemplo 7.2

Calcular el pH de una solución 2.0×10^{-3} M de HCl.

Solución

El HCl se disocia por completo, de modo que

$$[H^+] = 2.0 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$pH = -\log(2.0 \times 10^{-3}) = 3 - \log 2.0 = 3 - 0.30 = 2.70$$



La concentración de ion hidroxilo se puede definir de igual manera:

$$pOH = -\log[OH^-] \quad (7.16)$$

Una solución 1 M de HCl tiene un pH de 0 y un pOH de 14. Una solución 1 M de NaOH tiene un pH de 14 y un pOH de 0.

La ecuación 7.13 se puede usar para calcular la concentración de ion hidroxilo si se conoce la concentración de ion hidrógeno, y viceversa. La ecuación en forma logarítmica para un cálculo más directo del pH o del pOH es

$$-\log K_w = -\log[H^+][OH^-] = -\log[H^+] - \log[OH^-] \quad (7.17)$$

$$pK_w = pH + pOH \quad (7.18)$$

A 25°C,

$$14.00 = pH + pOH \quad (7.19)$$

Ejemplo 7.3

Calcular el pOH y el pH de una solución $5.0 \times 10^{-2} M$ de NaOH.

Solución

$$[\text{OH}^-] = 5.0 \times 10^{-2} M$$

$$\text{pOH} = -\log(5.0 \times 10^{-2}) = 2 - \log 5.0 = 2 - 0.70 = 1.30$$

$$\text{pH} + 1.30 = 14.00$$

$$\text{pH} = 12.70$$

o

$$[\text{H}^+] = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{5.0 \times 10^{-2}} = 2.0 \times 10^{-13} M$$

$$\text{pH} = -\log(2.0 \times 10^{-13}) = 13 - \log 2.0 = 13 - 0.30 = 12.70$$

Ejemplo 7.4

Calcular el pH de una solución preparada mezclando 2.0 mL de una solución de un ácido fuerte con pH 3.00 y 3.0 mL de una base fuerte de pH 10.00.

¡Lleve la cuenta de los milimoles!

Solución

$$[\text{H}^+] \text{ de solución ácida} = 1.0 \times 10^{-3} M$$

$$\text{mmol H}^+ = 1.0 \times 10^{-3} M \times 2.0 \text{ mL} = 2.0 \times 10^{-3} \text{ mmol}$$

$$\text{pOH de solución básica} = 14.00 - 10.00 = 4.00$$

$$[\text{OH}^-] = 1.0 \times 10^{-4} M$$

$$\text{mmol OH}^- = 1.0 \times 10^{-4} M \times 3.0 \text{ mL} = 3.0 \times 10^{-4} \text{ mmol}$$

Hay un exceso de ácido.

$$\text{mmol H}^+ = 0.0020 - 0.0003 = 0.0017 \text{ mmol}$$

$$[\text{H}^+] = 0.0017 \text{ mmol} / 5.0 \text{ mL} = 3.4 \times 10^{-4} M$$

$$\text{pH} = -\log 3.4 \times 10^{-4} = 4 - 0.53 = 3.47$$

Ejemplo 7.5

El pH de una solución es 9.67. Calcular su concentración de ion hidrógeno.

Solución

$$-\log[\text{H}^+] = 9.67$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-9.67} = 10^{-10} \times 10^{0.33}$$

$$[\text{H}^+] = 2.1 \times 10^{-10} M$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$$

Una solución 10 M de HCl debe tener un pH de -1 y un pOH de 15.

¡El pH del HCl 10^{-9} M no es 9!

Cuando $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-]$, se dice que la solución es **neutra**. Si $[\text{H}^+] > [\text{OH}^-]$, entonces la solución es **ácida**. Y si $[\text{H}^+] < [\text{OH}^-]$, la solución es **alcalina**. Las concentraciones de ion hidrógeno y de ion hidroxilo en agua pura a 25°C son cada una 10^{-7} M, y el pH del agua es 7. Por tanto, un pH de 7 es neutro. Valores de pH mayores a éste son alcalinos, y valores de pH menores que éste son ácidos. Lo contrario es verdad para los valores del pOH. Un pOH de 7 también es neutro. Obsérvese que el producto de $[\text{H}^+]$ y $[\text{OH}^-]$ siempre es 10^{-14} a 25°C , y la suma de pH y pOH siempre es 14. Si la temperatura es diferente de 25°C , entonces K_w es diferente de 1.00×10^{-14} , y una solución neutra tendrá H^+ y OH^- diferentes a 10^{-7} M (véase más adelante).

Los estudiantes viven a menudo con la ilusión de que es imposible tener un **pH negativo**. No hay base teórica para esto. Un pH negativo simplemente significa que la concentración de ion hidrógeno es mayor a 1 M. En la práctica real, un pH negativo es poco común por dos razones. La primera, que hasta los ácidos fuertes se pueden volver parcialmente no disociados a altas concentraciones. Por ejemplo, el H_2SO_4 de 100% tiene una disociación tan débil que se puede almacenar en recipientes de hierro; las soluciones más diluidas de H_2SO_4 contendrían suficientes protones de la disociación para atacar y disolver al hierro. La segunda razón tiene que ver con la *actividad*, que se ha elegido ignorar para soluciones diluidas. Como el pH es realmente $-\log_{\text{H}^+}$ (esto es lo que indica la lectura de un medidor de pH), una solución 1.1 M en H^+ puede realmente tener un pH positivo porque la actividad del H^+ es menor que 1.0 M.² Esto se debe a que, a estas altas concentraciones, el coeficiente de actividad es menor a la unidad (aunque a concentraciones incluso más altas el coeficiente de actividad se puede volver mayor que la unidad; véase el capítulo 6). Sin embargo, no hay base matemática para no tener un pH negativo (o un pOH negativo), aunque puede ser raro encontrarlo en las soluciones analíticas.

Si la concentración de un ácido o una base es mucho menor que 10^{-7} M, entonces su contribución a la acidez o a la basicidad se podrá ignorar si se compara con la contribución del agua. El pH de una solución 10^{-8} M de hidróxido de sodio no será por tanto significativamente diferente de 7. Si la concentración de un ácido o de una base es alrededor de 10^{-7} M, entonces su contribución no se debe ignorar, y tampoco la del agua; por tanto, se debe tomar la suma de las dos contribuciones.

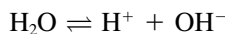


Ejemplo 7.6

Calcular el pH y el pOH de una solución 1.0×10^{-7} M de HCl.

Solución

Equilibrios:



$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1.0 \times 10^{-14}$$

$$[\text{H}^+]_{\text{disoc. de H}_2\text{O}} = [\text{OH}^-]_{\text{disoc. de H}_2\text{O}} = x$$

Como los iones hidrógeno aportados por la ionización del agua no se pueden ignorar si se comparan con el HCl añadido,

$$[\text{H}^+] = C_{\text{HCl}} + [\text{H}^+]_{\text{disoc. de H}_2\text{O}}$$

² Como se verá en el capítulo 13, también es difícil *medir* el pH de una solución que tenga un pH o un pOH negativo porque las altas concentraciones de los ácidos o las bases tienden a producir un error en la medición al introducir en las mediciones un potencial de unión líquida significativo y desconocido.

Entonces,

$$\begin{aligned} ([\text{H}^+]_{\text{HCl}} + x)(x) &= 1.0 \times 10^{-14} \\ (1.00 \times 10^{-7} + x)(x) &= 1.0 \times 10^{-14} \\ x^2 + 1.00 \times 10^{-7} x - 1.0 \times 10^{-14} &= 0 \end{aligned}$$

Usando la ecuación cuadrática para resolver [véase el apéndice B y el uso de Excel Solver (sección 6.11)],

$$x = \frac{-1.00 \times 10^{-7} \pm \sqrt{1.0 \times 10^{-14} + 4(1.0 \times 10^{-14})}}{2} = 6.2 \times 10^{-8} M$$

Por tanto, la concentración *total* de H^+ = $(1.00 \times 10^{-7} + 6.2 \times 10^{-8}) = 1.62 \times 10^{-7} M$:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= -\log 1.62 \times 10^{-7} = 7 - 0.21 = 6.79 \\ \text{pOH} &= 14.00 - 6.79 = 7.21 \end{aligned}$$

o, como $[\text{OH}^-] = x$,

$$\text{pOH} = -\log(6.2 \times 10^{-8}) = 8 - 0.79 = 7.21$$

Obsérvese que, debido a la presencia del H^+ añadido, la ionización del agua se suprime en 38% por el efecto del ion común (principio de Le Châtelier). A concentraciones mayores de ácido (o de base), la supresión es todavía mayor y la contribución del agua se vuelve intrascendente. La contribución se puede considerar intrascendente si la concentración de protones o de iones hidroxilo de un ácido o de una base es de $10^{-6} M$ o mayor.

El cálculo en este ejemplo es más académico que práctico, porque *el dióxido de carbono del aire disuelto en el agua excede estas concentraciones*. Como el dióxido de carbono en el agua forma un ácido, se tiene que tener sumo cuidado para removerlo y mantenerlo fuera del agua para tener una solución de ácido $10^{-7} M$.

Por lo regular se ignora la contribución del agua a la acidez en presencia de un ácido porque su ionización se suprime en presencia de éste.

7.4 El pH a temperaturas elevadas: pH de la sangre

Es una ventaja de la naturaleza, para los estudiantes y los químicos que manejan cálculos de acidez y escalas de pH en soluciones acuosas a temperaturas de laboratorio, que K_w sea un número entero. A 100°C , por ejemplo, $K_w = 5.5 \times 10^{-13}$, y una *solución neutra* tiene

$$\begin{aligned} [\text{H}^+] &= [\text{OH}^-] = \sqrt{5.5 \times 10^{-13}} = 7.4 \times 10^{-7} M \\ \text{pH} &= \text{pOH} = 6.13 \\ \text{p}K_w &= 12.26 = \text{pH} + \text{pOH} \end{aligned}$$

Sin embargo, no todas las mediciones ni todas las interpretaciones se hacen a temperatura de laboratorio, y se debe tomar en cuenta que K_w depende de la temperatura (recuérdese, por el capítulo 6, que las constantes de equilibrio dependen de la temperatura). Un ejemplo importante es el pH del cuerpo. El pH de la sangre a la temperatura corporal (37°C) es 7.35 a 7.45. Este valor representa una solución ligeramente más alcalina en relación con el agua neutra que lo que sería el mismo valor a temperatura de laboratorio. A 37°C , $K_w = 2.5 \times 10^{-14}$, y $\text{p}K_w = 13.60$. El pH (y el pOH) de una *solución neutra* es $13.60/2 = 6.80$. La concentración de ion hidrógeno (y de ion hidróxido) es $\sqrt{2.5 \times 10^{-14}} = 1.6 \times 10^{-7} M$.

Una solución neutra tiene pH < 7 por arriba de la temperatura de laboratorio.

Como una solución neutra de sangre a 37°C tendría pH 6.8, un pH de sangre de 7.4 es más alcalino a 37°C en 0.2 unidades de pH que lo que sería a 25°C. Esto es importante cuando se considera que un cambio de 0.3 unidades de pH en el cuerpo es excesiva.

La concentración de ácido clorhídrico en el estómago es alrededor de 0.1 a 0.02 *M*. Como $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$, el pH a 0.02 *M* sería 1.7. Ésta será la misma *sin importar la temperatura*, porque la concentración del ion hidrógeno es la misma (se omiten los cambios en el volumen del disolvente) y se mediría a cualquier temperatura el mismo pH. Pero aunque el pOH sería de $14.0 - 1.7 = 12.3$ a 25°C, resulta ser de $13.6 - 1.7 = 11.9$ a 37°C.

El pH de la sangre debe medirse a la temperatura del cuerpo para reflejar con exactitud el estado de los amortiguadores de la sangre.

No sólo la temperatura afecta la ionización del agua en el cuerpo y modifica el pH de una solución neutra; también afecta a las constantes de ionización de los ácidos y las bases de donde se derivan los sistemas amortiguadores corporales. Como se verá más adelante en este capítulo, esto influye en el pH de los amortiguadores, por lo que un pH de la sangre de 7.4 medido a 37°C no será el mismo cuando se mida a temperatura de laboratorio, en contraste con el pH del estómago, cuyo valor se determinó por medio de la concentración de un ácido fuerte. Por esta razón, la medición del pH sanguíneo para fines de diagnóstico por lo general se hace a 37°C (véase el capítulo 13). (Si se omiten los cambios en las constantes de equilibrio de los sistemas amortiguadores del cuerpo, el pH medido sería el mismo a 25 o 37°C —recuérdese reajustar la escala de acidez a 37°C— pero esto es sólo académico, ya que las constantes de equilibrio sí cambian.)

7.5 Ácidos y bases débiles: ¿cuál es el pH?

Hasta ahora los cálculos se han limitado a ácidos y bases fuertes, donde la ionización se supone que es completa. Como la concentración de H^+ o de OH^- se determina fácilmente por la concentración de ácido o base, los cálculos son directos. Como se ve en la ecuación 7.3, los ácidos débiles (o las bases débiles) se ionizan sólo parcialmente. Aunque los ácidos minerales (inorgánicos) y las bases minerales (inorgánicas), como HCl , HClO_4 , HNO_3 y NaOH , son electrólitos fuertes que se ionizan totalmente en agua, la mayoría de los ácidos orgánicos y las bases orgánicas, como se encuentran en las aplicaciones clínicas, son débiles.

La constante de ionización se puede usar para calcular la cantidad ionizada, y el pH a partir de ésta. La constante de acidez para el ácido acético a 25°C es 1.75×10^{-5} .

$$\frac{[\text{H}^+][\text{OAc}^-]}{[\text{HOAc}]} = 1.75 \times 10^{-5} \quad (7.20)$$

Cuando se ioniza el ácido acético, se disocia a porciones iguales de H^+ y OAc^- en tal cantidad que el cálculo del lado izquierdo de la ecuación 7.20 siempre será igual a 1.75×10^{-5} .



Si la concentración original de ácido acético es *C* y la concentración de la especie ionizada de ácido acético (H^+ y OAc^-) es *x*, entonces la concentración final para cada especie en el equilibrio está dada por



Ejemplo 7.7

Calcular el pH y el pOH de una solución $1.00 \times 10^{-3} M$ de ácido acético.

Solución



Las concentraciones de las diversas especies son las siguientes:

	$[\text{HOAc}]$	$[\text{H}^+]$	$[\text{OAc}^-]$
Inicial	1.00×10^{-3}	0	0
Cambio ($x = \text{mmol/mL}$ HOAc ionizado)	$-x$	$+x$	$+x$
Al equilibrio	$1.00 \times 10^{-3} - x$	x	x

De la ecuación 7.20,

$$\frac{(x)(x)}{1.00 \times 10^{-3} - x} = 1.75 \times 10^{-5}$$

La solución es la de una ecuación cuadrática. Si se ioniza menos de alrededor de 10 o 15% del ácido, la expresión se puede simplificar ignorando x comparada con C ($10^{-3} M$ en este caso). Éste es un criterio arbitrario (y no muy demandante). La simplificación opera si K_a es menor alrededor de $0.01 C$; es decir, que 10^{-4} a $C = 0.01 M$, 10^{-3} a $C = 0.1 M$, y así sucesivamente. Bajo estas condiciones, el error en el cálculo es 5% o menos (los resultados son demasiado altos para que el error sea significativo), y dentro de la exactitud probable de la constante de equilibrio. El cálculo se simplifica a

Si $C_{\text{HA}} > 100 K_a$, x se puede ignorar si se compara con C_{HA} .

$$\frac{x^2}{1.00 \times 10^{-3}} = 1.75 \times 10^{-5}$$

$$x = 1.32 \times 10^{-4} M \equiv [\text{H}^+]$$

Por tanto,

$$\text{pH} = -\log 1.32 \times 10^{-4} = 4 - \log 1.32 = 4 - 0.12 = 3.88$$

$$\text{pOH} = 14.00 - 3.88 = 10.12$$

La simplificación en el cálculo no es notable, en especial si las constantes de equilibrio con frecuencia no se conocen con alto grado de exactitud (a menudo no mejor que $\pm 10\%$). En el ejemplo anterior, la solución de la ecuación cuadrática da por resultado $[\text{H}^+] = 1.26 \times 10^{-4} M$ (5% menor), y $\text{pH} = 3.90$. Este pH está dentro de 0.02 unidades de lo calculado usando la simplificación, lo cual es cercano al límite de exactitud con que se pueden hacer las mediciones de pH, y es un cálculo tan próximo que se justifica, en vista de los errores experimentales en los valores de K_a o K_b y del hecho de que se están usando concentraciones en vez de actividades en los cálculos. En los cálculos se ignoró también la contribución de iones hidrógeno por la ionización del agua (lo cual estaba obviamente justificado); esto en general es permisible, salvo para ácidos muy diluidos ($< 10^{-6} M$) o ácidos muy débiles ($K_a < 10^{-12}$).

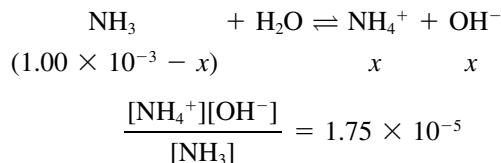
Ecuaciones y cálculos similares sirven para bases débiles.

La exactitud absoluta de las mediciones de pH no es mejor que 0.02 unidades de pH. Véase el capítulo 13.

Ejemplo 7.8

La constante de basicidad K_b para el amoníaco es 1.75×10^{-5} a 25°C (es mera coincidencia que sea igual a K_a para el ácido acético). Calcular el pH y el pOH para una solución $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ de amoníaco.

Solución



Se emplea la misma regla para la aproximación utilizada en un ácido débil. Así,

$$\begin{aligned} \frac{(x)(x)}{1.00 \times 10^{-3}} &= 1.75 \times 10^{-5} \\ x &= 1.32 \times 10^{-4} \text{ M} = [\text{OH}^-] \\ \text{pOH} &= -\log 1.32 \times 10^{-4} = 3.88 \\ \text{pH} &= 14.00 - 3.88 = 10.12 \end{aligned}$$

7.6 Sales de ácidos y bases débiles: no son neutras

En el ejemplo 7.8, la hidrólisis del OAc^- no es diferente de la “ionización” del NH_3 .

La sal de un ácido débil, por ejemplo NaOAc , es un electrólito fuerte, como (casi) todas las sales, y se ioniza por completo. Además, el anión de la sal de un ácido débil es una **base de Brønsted**, que acepta protones. Se hidroliza parcialmente en agua (un ácido de Brønsted) para formar ion hidróxido y el ácido correspondiente no disociado. Por ejemplo,



El HOAc aquí se encuentra sin disociar, y por tanto no contribuye al pH. Esta ionización se conoce también como **hidrólisis** del ion salino. Como se hidroliza, el acetato de sodio es una base débil (la base conjugada del ácido acético). La constante de ionización para la ecuación 7.23 es igual a la constante de basicidad de la sal. Cuanto más débil sea el ácido conjugado, más fuerte será la base conjugada; es decir, más fuertemente se combinará la sal con un protón, como del agua, para desplazar la ionización en la ecuación 7.23 hacia la derecha. *Los equilibrios para estas bases de Brønsted se tratan en forma idéntica a las bases débiles que se acaban de considerar.* Se puede escribir una constante de equilibrio:

$$K_H = K_b = \frac{[\text{HOAc}][\text{OH}^-]}{[\text{OAc}^-]} \quad (7.24)$$

K_H se llama **constante de hidrólisis** de la sal, y es la misma que la constante de basicidad. Se usará K_b para destacar que estas sales pueden tratarse igual que cualquier otra base débil.

El valor de K_b se puede calcular a partir de la K_a del ácido acético y K_w si se multiplican por $[H^+]$ tanto el numerador como el denominador:

$$K_b = \frac{[HOAc] \cdot \frac{[OH^-]}{[H^+]}}{[OAc^-]} \quad (7.25)$$

La cantidad dentro de la línea punteada es K_w y el remanente es $1/K_a$. Por tanto,

$$K_b = \frac{K_w}{K_a} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{1.75 \times 10^{-5}} = 5.7 \times 10^{-10} \quad (7.26)$$

Se ve, por el pequeño valor de K_b , que el ion acetato es una base bastante débil con sólo una pequeña fracción de ionización. *El producto de K_a de cualquier ácido débil y K_b de su base conjugada es siempre igual a K_w :*

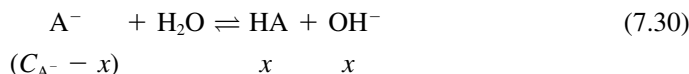
$$K_a K_b = K_w \quad (7.27)$$

Para cualquier sal de un ácido débil HA que se hidroliza en agua,



$$\frac{[HA][OH^-]}{[A^-]} = \frac{K_w}{K_a} = K_b \quad (7.29)$$

El pH de una sal (una base de Brønsted) se calcula de la misma manera que para cualquier otra base débil. Cuando la sal se hidroliza forma una cantidad igual de HA y OH^- . Si la concentración original de A^- es C_{A^-} , entonces



La cantidad x se puede ignorar si se compara con C_{A^-} si $C_{A^-} > 100 K_b$, que en general será el caso para tales bases débilmente ionizadas.

Se puede despejar la concentración de OH^- usando la ecuación 7.29:

$$\frac{[OH^-][OH^-]}{C_{A^-}} = \frac{K_w}{K_a} = K_b \quad (7.31)$$

Si se compara esta ecuación con la expresión algebraica del ejemplo 7.8, se verá que son idénticas:

$$[OH^-] = \sqrt{\frac{K_w}{K_a} \cdot C_{A^-}} = \sqrt{K_b \cdot C_{A^-}} \quad (7.32)$$

Esta ecuación es válida sólo si $C_{A^-} > 100 K_b$, y x se puede despreciar si se compara con C_{A^-} . Si no es así, entonces se debe resolver la fórmula cuadrática como para otras bases en esta situación.

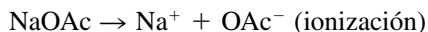


Ejemplo 7.9

Calcular el pH de una solución 0.10 M de acetato de sodio.

Solución

Escribir los equilibrios



Escribir la constante de equilibrio

$$\frac{[\text{HOAc}][\text{OH}^-]}{[\text{OAc}^-]} = K_b = \frac{K_w}{K_a} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{1.75 \times 10^{-5}} = 5.7 \times 10^{-10}$$

Sea x la concentración de HOAc y OH^- en el equilibrio. Entonces, al equilibrio,

$$[\text{HOAc}] = [\text{OH}^-] = x$$

$$[\text{OAc}^-] = C_{\text{OAc}^-} - x = 0.10 - x$$

Puesto que $C_{\text{OAc}^-} \gg K_b$, se puede despreciar x en comparación con C_{OAc^-} . Entonces,

$$\frac{(x)(x)}{0.10} = 5.7 \times 10^{-10}$$

$$x = \sqrt{5.7 \times 10^{-10} \times 0.10} = 7.6 \times 10^{-6} \text{ M}$$

Comparar este último paso con la ecuación 7.32. Comparar también todo el planteamiento y la solución con el ejemplo 7.8. El HOAc que se forma no está dissociado ni contribuye al pH:

$$[\text{OH}^-] = 7.6 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$[\text{H}^+] = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{7.6 \times 10^{-6}} = 1.3 \times 10^{-9} \text{ M}$$

$$\text{pH} = -\log 1.3 \times 10^{-9} = 9 - 0.11 = 8.89$$

Se pueden derivar ecuaciones similares para los cationes de sales de bases débiles (las sales se disocian por completo). Éstos son los **ácidos de Brønsted** y se ionizan (hidrolizan) en agua:



B no se disocia ni contribuye al pH. La constante de acidez es

$$K_H = K_a = \frac{[\text{B}][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{BH}^+]} \quad (7.34)$$

Comparar esta “ionización” de base con la del NH_3 del ejemplo 7.8.

La constante de acidez (constante de hidrólisis) se puede derivar multiplicando el numerador y el denominador por $[\text{OH}^-]$:

$$K_a = \frac{[\text{B}][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{BH}^+]} \cdot \frac{[\text{OH}^-]}{[\text{OH}^-]} \quad (7.35)$$

De nuevo, la cantidad dentro de las líneas punteadas es K_w , en tanto que el remanente es $1/K_b$. Por tanto,

$$\frac{[\text{B}][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{BH}^+]} = \frac{K_w}{K_b} = K_a \quad (7.36)$$

y para NH_4^+ ,

$$K_a = \frac{K_w}{K_b} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{1.75 \times 10^{-5}} = 5.7 \times 10^{-10} \quad (7.37)$$

Por supuesto, K_a se podría haber derivado de la ecuación 7.27. Nuevamente es sólo coincidencia que el valor numérico de K_a para NH_4^+ sea igual a K_b para OAc^- .

La sal de una base débil se ioniza para formar cantidades iguales de B y H_3O^+ (H^+ si se ignora la formación de ion hidronio, como se había hecho antes). Por tanto, se puede despejar la concentración de ion hidrógeno (suponiendo $C_{\text{BH}^+} > 100 K_a$):

$$\frac{[\text{H}^+][\text{H}^+]}{C_{\text{BH}^+}} = \frac{K_w}{K_b} = K_a \quad (7.38)$$

$$[\text{H}^+] = \sqrt{\frac{K_w}{K_b} \cdot C_{\text{BH}^+}} = \sqrt{K_a \cdot C_{\text{BH}^+}} \quad (7.39)$$

Otra vez, esta ecuación sólo es válida si $C_{\text{BH}^+} > 100 K_a$. De otra manera, se debe resolver la fórmula cuadrática.

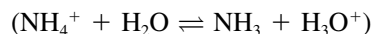
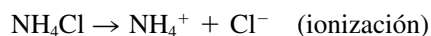


Ejemplo 7.10

Calcular el pH de una solución 0.25 M de cloruro de amonio.

Solución

Escribir los equilibrios



Escribir la constante de equilibrio

$$\frac{[\text{NH}_4\text{OH}][\text{H}^+]}{[\text{NH}_4^+]} = K_a = \frac{K_w}{K_b} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{1.75 \times 10^{-5}} = 5.7 \times 10^{-10}$$

Sea x la concentración final de $[\text{NH}_4\text{OH}]$ y $[\text{H}^+]$. Entonces, al equilibrio,

$$[\text{NH}_4\text{OH}] = [\text{H}^+] = x$$

$$[\text{NH}_4^+] = C_{\text{NH}_4^+} - x = 0.25 - x$$

Como $C_{\text{NH}_4^+} \gg K_a$, x es despreciable en comparación con $C_{\text{NH}_4^+}$. Entonces,

$$\frac{(x)(x)}{0.25} = 5.7 \times 10^{-10}$$

$$x = \sqrt{5.7 \times 10^{-10} \times 0.25} = 1.2 \times 10^{-5} \text{ M}$$

Comparar este último paso con la ecuación 7.39. Comparar también todo el planteamiento y la solución con el ejemplo 7.7. El NH_4OH que se forma no se disocia y no contribuye al pH.

$$[\text{H}^+] = 1.2 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$\text{pH} = -\log(1.2 \times 10^{-5}) = 5 - 0.08 = 4.92$$

7.7 Amortiguadores: conservación del pH constante [o casi]

Una **solución amortiguadora (buffer)**, en inglés) se define como una solución que resiste el cambio de pH cuando se agrega una pequeña cantidad de ácido o base o cuando se diluye la solución. Esto es muy útil para mantener el pH para una reacción en su valor óptimo. Una solución amortiguadora consiste en una mezcla de un ácido débil y su base conjugada, o una base débil y su ácido conjugado a concentraciones o relaciones predeterminadas. Es decir, se tiene una mezcla de un ácido débil y su sal o una base débil y su sal. Considérese un amortiguador de ácido acético-acetato. El equilibrio ácido que gobierna este sistema es



Pero ahora, como se ha agregado una fuente de iones acetato al sistema (por ejemplo, de acetato de sodio), la concentración de iones hidrógeno no coincide ya con la concentración de iones acetato. La concentración de iones hidrógeno es

$$[\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{HOAc}]}{[\text{OAc}^-]} \quad (7.40)$$

Si se toma el logaritmo negativo de cada lado de esta ecuación, se tiene

$$-\log[\text{H}^+] = -\log K_a - \log \frac{[\text{HOAc}]}{[\text{OAc}^-]} \quad (7.41)$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \frac{[\text{HOAc}]}{[\text{OAc}^-]} \quad (7.42)$$

Al invertir el último término logarítmico, éste se vuelve positivo:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{OAc}^-]}{[\text{HOAc}]} \quad (7.43)$$

Esta forma de la ecuación de la constante de ionización se llama **ecuación de Henderson-Hasselbalch**. Es útil para calcular el pH de una solución de un ácido débil que contiene su sal. Se puede escribir una forma general para un ácido débil HA que se ioniza a su sal, A^- y H^+ :



$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (7.45)$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{base conjugada}]}{[\text{ácido}]} \quad (7.46)$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{donador de protones}]} \quad (7.47)$$

El pH de una solución amortiguadora se determina por la relación de las concentraciones del par ácido-base conjugado.

Ejemplo 7.11

Calcular el pH de una solución amortiguadora preparada mediante la adición de 10 mL de ácido acético 0.10 M a 20 mL de acetato de sodio 0.10 M.

Solución

Se necesita calcular la concentración del ácido y la sal en solución. El volumen final es 30 mL:

$$M_1 \times mL_1 = M_2 \times mL_2$$

Para HOAc,

$$0.10 \text{ mmol/mL} \times 10 \text{ mL} = M_{\text{HOAc}} \times 30 \text{ mL}$$

$$M_{\text{HOAc}} = 0.033 \text{ mmol/mL}$$

Para OAc^- ,

$$0.10 \text{ mmol/mL} \times 20 \text{ mL} = M_{OAc^-} \times 30 \text{ mL}$$

$$M_{OAc^-} = 0.067 \text{ mmol/mL}$$

Algo del HOAc se disocia a $H^+ + OAc^-$, y la concentración de equilibrio del HOAc sería la cantidad que se agrega (0.033 M) menos la cantidad disociada, en tanto que la del OAc^- sería la cantidad agregada (0.067 M) más la cantidad de HOAc disociada. Sin embargo, *la cantidad de ácido disociado es muy pequeña*, especialmente en presencia de la sal añadida (la ionización se suprime por el efecto del ion común), y se puede ignorar. Por tanto, se puede suponer que las concentraciones agregadas son las concentraciones de equilibrio:

La ionización del ácido se suprime por la sal, y se puede despreciar.

$$pH = -\log K_a + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{donador de protones}]}$$

$$pH = -\log(1.75 \times 10^{-5}) + \log \frac{0.067 \text{ mmol/mL}}{0.033 \text{ mmol/mL}}$$

$$= 4.76 + \log 2.0$$

$$= 5.06$$

Se pueden usar milimoles de ácido y sal en lugar de molaridad.

Se podría haber acortado el cálculo reconociendo que en el término logarítmico se cancelan los volúmenes, de modo que se puede tomar sólo la relación de milimoles:

$$\text{mmol}_{\text{HOAc}} = 0.10 \text{ mmol/mL} \times 10 \text{ mL} = 1.0 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol}_{\text{OAc}^-} = 0.10 \text{ mmol/mL} \times 20 \text{ mL} = 2.0 \text{ mmol}$$

$$\text{H} = 4.76 + \log \frac{2.0 \text{ mmol}}{1.0 \text{ mmol}} = 5.06$$

.....

La mezcla de un ácido débil y su sal también se puede obtener combinando un exceso de ácido débil con alguna base fuerte para producir una sal por neutralización, o mezclando un exceso de sal con ácido fuerte para producir el componente de ácido débil del amortiguador.

Ejemplo 7.12

Calcular el pH de una solución que se prepara agregando 25 mL de hidróxido de sodio 0.10 M a 30 mL de ácido acético 0.20 M (esto realmente sería una etapa de titulación típica).

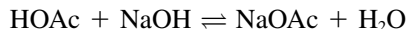
¡Lleve la cuenta de los milimoles de reactantes!

Solución

$$\text{mmol HOAc} = 0.20 \text{ M} \times 30 \text{ mL} = 6.0 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol NaOH} = 0.10 \text{ M} \times 25 \text{ mL} = 2.5 \text{ mmol}$$

Éstos reaccionan como sigue:



Después de la reacción,

$$\text{mmol NaOAc} = 2.5 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol HOAc} = 6.0 - 2.5 = 3.5 \text{ mmol}$$

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{2.5}{3.5} = 4.61$$

.....

El **mecanismo de la acción amortiguadora** para una mezcla de un ácido débil y su sal se puede explicar como sigue. El pH está gobernado por el logaritmo de la relación de la sal y el ácido:

$$\text{pH} = \text{constante} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (7.48)$$

La dilución no cambia la relación de las especies que actúan como amortiguadoras.

Si la solución se diluye, la relación permanece constante y por tanto el pH de la solución no cambia.³ Si se agrega una pequeña cantidad de un ácido fuerte, se combinará con una

³ En realidad, el pH *aumentará* ligeramente porque el coeficiente de actividad de la sal se ha aumentado al disminuir la fuerza iónica. La actividad de una molécula sin carga (es decir, de un ácido no disociado) es igual a su molaridad (véase el capítulo 6), y por tanto aumenta la relación provocando un ligero aumento del pH. Véase el final del capítulo.

cantidad igual del A^- para convertirlo en HA. Es decir, en el equilibrio, $HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$, el principio de Le Châtelier dicta que el H^+ agregado se combinará con A^- para formar HA, con el equilibrio ubicado muy a la izquierda si hay exceso de A^- . El cambio en la relación $[A^-]/[HA]$ es pequeño y por tanto el cambio de pH es pequeño. Si el ácido se hubiera agregado a una solución sin amortiguamiento (por ejemplo, una solución de NaCl), el pH habría disminuido notablemente. Si se agrega una pequeña cantidad de una base fuerte, ésta se combinará con parte del HA para formar una cantidad equivalente de A^- . De nuevo, el cambio en la relación es pequeño.

La cantidad de ácido o base que se puede añadir sin causar un gran cambio en el pH está determinada por la **capacidad amortiguadora** de la solución. Ésta se determina por las concentraciones de HA y A^- . Cuanto mayores sean estas concentraciones, mayor cantidad de ácido o base puede tolerar la solución. La capacidad amortiguadora (intensidad amortiguadora, índice amortiguador) de una solución se define como

La capacidad amortiguadora aumenta con las concentraciones de la especie amortiguadora.

$$\beta = dC_{BOH}/dpH = -dC_{HA}/dpH \quad (7.49)$$

donde dC_{BOH} y dC_{HA} representan el número de moles por litro de base o ácido fuerte, respectivamente, que se necesita para ocasionar un cambio de pH de dpH . La capacidad amortiguadora es un número positivo. Cuanto mayor sea, más resistente a cambios de pH será la solución. Para soluciones amortiguadoras ácido débil/base conjugada con una concentración mayor de 0.001 M, la capacidad amortiguadora es aproximadamente:

$$\beta = 2.303 \frac{C_{HA}C_{A^-}}{C_{HA} + C_{A^-}} \quad (7.50)$$

donde C_{HA} y C_{A^-} representan las concentraciones analíticas del ácido y su sal, respectivamente. Así, si se tiene una mezcla de 0.10 mol/L de ácido acético y 0.10 mol/L de acetato de sodio, la capacidad amortiguadora es

$$\beta = 2.303 \frac{0.10 \times 0.10}{0.10 + 0.10} = 0.050 \text{ mol/L por pH}$$

Si se agrega hidróxido de sodio hasta llegar a 0.0050 mol/L, el cambio de pH será

$$dpH = dC_{BOH}/\beta = 0.0050/0.050 = 0.10 = \Delta pH$$

Además de la concentración, la capacidad amortiguadora depende de la *relación* de HA a A^- . Es *máxima* cuando la relación es igual a la unidad; es decir, cuando $pH = pK_a$:

La capacidad amortiguadora es máxima cuando $pH = pK_a$.

$$pH = pK_a + \log \frac{1}{1} = pK_a \quad (7.51)$$

Esto corresponde al punto medio de una titulación de un ácido débil. En general, la capacidad amortiguadora es satisfactoria en un *intervalo de pH de $pK_a \pm 1$* . La capacidad amortiguadora se explicará con representaciones gráficas en el capítulo 8, cuando se traten las curvas de titulación de ácidos débiles.



Ejemplo 7.13

Una solución amortiguadora tiene una concentración de 0.20 M de ácido acético y acetato de sodio. Calcular el cambio de pH al agregar 1.0 mL de ácido clorhídrico 0.10 M a 10 mL de esta solución.

Solución

Inicialmente, el pH es igual al pK_a , porque la relación $[OAc^-][HOAc]$ es igual a 1. El pH es 4.76. Para calcular el nuevo pH, es necesario determinar las nuevas concentraciones de HOAc y OAc^- . Se comenzó con $10 \times 0.20 = 2.0$ mmol OAc^- por 10 mL. Se agregó $1.0 \times 0.10 = 0.10$ mmol de H^+ y por tanto se convirtieron 0.10 mmol de OAc^- a HOAc:

$$\text{mmol HOAc} = 2.0 + 0.1 = 2.1 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol } OAc^- = 2.0 - 0.1 = 1.9 \text{ mmol}$$

Estas nuevas cantidades de ácido y sal están contenidas en 11 mL, pero de nuevo los volúmenes se cancelaron en los cálculos:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= 4.76 + \log \frac{1.9 \text{ mmol}/11 \text{ mL}}{2.1 \text{ mmol}/11 \text{ mL}} \\ &= 4.76 + \log \frac{1.9 \text{ mmol}}{2.1 \text{ mmol}} = 4.76 + \log 0.90 \\ &= 4.76 + (0.95 - 1) = 4.71 \end{aligned}$$

El cambio en pH es -0.05 . Esto es bastante pequeño, en especial si se considera que, si se hubiera agregado el HCl a una solución neutra no amortiguada, la concentración final habría sido aproximadamente $10^{-2} M$, y el pH habría sido 2.0.

.....

Obsérvese que una solución amortiguadora puede resistir un cambio de pH incluso cuando se agrega una cantidad de ácido o base fuerte mayor (en moles) a la cantidad de equilibrio de H^+ o de OH^- (en moles) en ella. Así, en el ejemplo 7.13, el pH de la solución amortiguadora es 4.76, y $[H^+] = 1.7 \times 10^{-5} M$, de donde los milimoles de H^+ presentes son $(1.7 \times 10^{-5} \text{ mmol/mL})(10 \text{ mL}) = 1.7 \times 10^{-4} \text{ mmol}$ (en equilibrio con los componentes de la solución amortiguadora). Se agregaron 0.10 mmol de H^+ , lo cual representa un exceso; sin embargo, debido a la reserva de los componentes del amortiguador (OAc^- para reaccionar con el H^+ en este caso), el H^+ agregado se consume de modo que el pH permanece relativamente constante, *mientras no se excedan las reservas del amortiguador*.

Se llevan a cabo cálculos similares a las mezclas de una base débil y su sal. Se puede considerar el equilibrio entre la base B y su ácido conjugado BH^+ y luego escribir una K_a para el ácido conjugado (Brønsted):



$$K_a = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} = \frac{K_w}{K_b} \quad (7.53)$$

La forma logarítmica de Henderson-Hasselbalch se deriva exactamente como antes:

$$[H^+] = K_a \cdot \frac{[BH^+]}{[B]} = \frac{K_w}{K_b} \cdot \frac{[BH^+]}{[B]} \quad (7.54)$$

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log \frac{[BH^+]}{[B]} = -\log \frac{K_w}{K_b} - \log \frac{[BH^+]}{[B]} \quad (7.55)$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{B}]}{[\text{BH}^+]} = (\text{p}K_w - \text{p}K_b) + \log \frac{[\text{B}]}{[\text{BH}^+]} \quad (7.56)$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{donador de protones}]} = (\text{p}K_w - \text{p}K_b) + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{donador de protones}]} \quad (7.57)$$

Como $\text{pOH} = \text{p}K_w - \text{pH}$, también se puede escribir, restando ya sea la ecuación 7.56 o la 7.57 de $\text{p}K_w$,

$$\text{pOH} = \text{p}K_b + \log \frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}]} = \text{p}K_b + \log \frac{[\text{donador de protones}]}{[\text{aceptor de protones}]} \quad (7.58)$$

Una mezcla de una base débil y su sal actúa como amortiguador de la misma manera que un ácido débil y su sal. Cuando se agrega un ácido fuerte se combina con algo de la base B para formar la sal BH^+ . A la inversa, una base se combina con BH^+ para formar B. Como el cambio en la relación será pequeño, el cambio en pH será minúsculo. Nuevamente, la capacidad amortiguadora es máxima a un pH igual a $\text{p}K_a = 14 - \text{p}K_b$ (o a $\text{pOH} = \text{p}K_b$), con límite útil de $\text{p}K_a \pm 1$.

$\text{p}K_a = 14 - \text{p}K_b$, para una base débil. La capacidad amortiguadora alcalina es máxima cuando $\text{pOH} = \text{p}K_b$ ($\text{pH} = \text{p}K_a$).



Ejemplo 7.14

Calcular el volumen de amoníaco concentrado y el peso de cloruro de amonio que se tendría que tomar para preparar 100 mL de una solución amortiguadora a pH 10.00 si la concentración final de sal debe ser 0.200 M.

Solución

Se requieren 100 mL de solución 0.200 M de NH_4Cl . Por tanto, $\text{mmol NH}_4\text{Cl} = 0.200 \text{ mmol/mL} \times 100 \text{ mL} = 20.0 \text{ mmol}$

$$\text{mg NH}_4\text{Cl} = 20.0 \text{ mmol} \times 53.5 \text{ mg/mmol} = 1.07 \times 10^3 \text{ mg}$$

Por tanto, se requiere 1.07 g de NH_4Cl . Se calcula la concentración de NH_3 mediante

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{donador de protones}]}$$

$$= (14.00 - \text{p}K_b) - \log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]}$$

$$10.0 = (14.00 - 4.76) + \log \frac{[\text{NH}_3]}{0.200 \text{ mmol/mL}}$$

$$\log \frac{[\text{NH}_3]}{0.200 \text{ mmol/mL}} = 0.76$$

$$\frac{[\text{NH}_3]}{0.200 \text{ mmol/mL}} = 10^{0.76} = 5.8$$

$$[\text{NH}_3] = (0.200)(5.8) = 1.16 \text{ mmol/mL}$$

La molaridad del amoníaco concentrado es 14.8 *M*. Por tanto,

$$100 \text{ mL} \times 1.1_6 \text{ mmol/mL} = 14.8 \text{ mmol/mL} \times \text{mL NH}_3$$

$$\text{mL NH}_3 = 7.8 \text{ mL}$$

.....



Ejemplo 7.15

¿Cuántos gramos de cloruro de amonio y cuántos mililitros de hidróxido de sodio 3.0 *M* se deben agregar a 200 mL de agua y diluir a 500 mL para preparar una solución amortiguadora de pH 9.50 con una concentración de sal de 0.10 *M*?

Solución

Se requiere la relación de $[\text{NH}_3]/[\text{NH}_4^+]$. Del ejemplo 7.14,

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} = 9.24 + \log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]}$$

$$9.50 = 9.24 + \log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]}$$

$$\log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} = 0.26$$

$$\frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} = 10^{0.26} = 1.8$$

La concentración final de NH_4^+ es 0.10 *M*, de modo que

$$[\text{NH}_3] = (1.8)(0.10) = 0.18 \text{ M}$$

$$\text{mmol NH}_4^+ \text{ en la solución final} = 0.10 \text{ M} \times 500 \text{ mL} = 50 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol NH}_3 \text{ en la solución final} = 0.18 \text{ M} \times 500 \text{ mL} = 90 \text{ mmol}$$

El NH_3 se forma de un número igual de milimoles de NH_4Cl . Por tanto, se debe tomar un total de $50 + 90 = 140$ mmol de NH_4Cl :

$$\text{mg NH}_4\text{Cl} = 140 \text{ mmol} \times 53.5 \text{ mg/mmol} = 7.49 \times 10^3 \text{ mg} = 7.49 \text{ g}$$

La cantidad de milimoles de NaOH que se requieren es igual a la de los milimoles de NH_3 :

$$3.0 \text{ M} \times x \text{ mL} = 90 \text{ mmol}$$

$$x = 30 \text{ mL NaOH}$$

.....

Se selecciona un amortiguador con valor de $\text{p}K_a$ cercano al pH deseado.

Se ve que una solución amortiguadora para un pH dado se prepara eligiendo un ácido débil (o una base débil) y su sal, con un *valor de $\text{p}K_a$ cercano al pH que se desea*. Hay varios de esos ácidos y de estas bases, y se puede amortiguar cualquier región de pH mediante una selección adecuada de éstos. Un ácido débil y su sal dan el mejor resultado amortiguador en solución ácida, y una base débil y su sal dan el mejor resultado amortiguador en solución alcalina. Más adelante se describirán algunos amortiguadores útiles para mediciones

en soluciones fisiológicas. Los amortiguadores del National Institute of Standards and Technology (NIST) que se usan para calibrar electrodos de pH se describen en el capítulo 13.

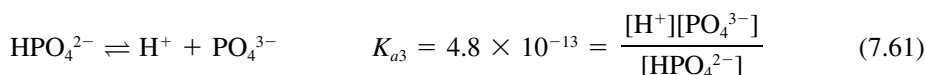
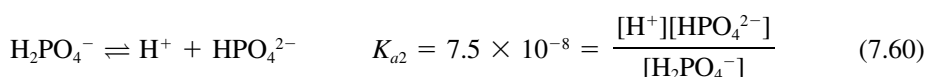
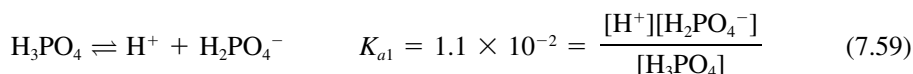
Se puede tener la satisfacción de que en las mezclas amortiguadoras, la sal no reacciona con el agua para hidrolizar como ácido o base, debido a que la reacción se elimina ante la presencia del ácido o la base. En la ecuación 7.28, la presencia de cantidades apreciables de HA o de OH⁻ suprimirá la ionización para cantidades sin importancia. La presencia de B o de H₃O⁺ en la ecuación 7.33 eliminará la ionización.

Véase el capítulo 13 para una lista de amortiguadores estándar NIST.

Las sales del amortiguador no se hidrolizan apreciablemente.

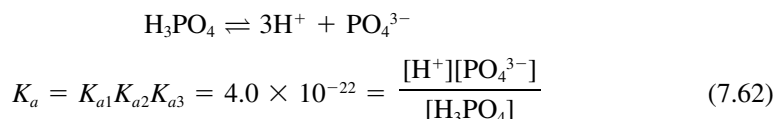
7.8 Ácidos polipróticos y sus sales

Muchos ácidos y muchas bases son polifuncionales; es decir, tienen más de un protón o un ion hidróxido ionizable. Estas sustancias se ionizan por etapas, y para cada uno de ellos se puede escribir una constante de equilibrio. Considérese, por ejemplo, la ionización del ácido fosfórico:



Los valores de K_a de las diferentes etapas de los ácidos polipróticos se hacen progresivamente más pequeños porque la carga negativa va incrementándose y hace más difícil la disociación del siguiente protón.

Recuérdese (capítulo 6) que la ionización total es la suma de estos pasos individuales, y la constante de ionización total es el producto de las constantes individuales de ionización:



Los valores individuales de $\text{p}K_a$ son 1.96, 7.12 y 12.32, respectivamente, para $\text{p}K_{a1}$, $\text{p}K_{a2}$ y $\text{p}K_{a3}$. Para hacer cálculos precisos de pH, se deben tomar en cuenta las contribuciones de protones de cada etapa de ionización. El cálculo exacto es difícil y requiere un tedioso procedimiento iterativo, ya que no se conoce $[\text{H}^+]$ ni las diversas especies de ácido fosfórico. Véanse, por ejemplo, las referencias 7 y 10 para los cálculos.

En la mayor parte de los casos se pueden hacer aproximaciones de manera que cada etapa de ionización se pueda considerar individualmente. Si la diferencia entre constantes sucesivas de ionización es por lo menos 10^4 , cada protón se puede diferenciar en una titulación; es decir, cada uno se titula separadamente para dar cambios en la curva de titulación de pH (si una constante de ionización es menor que alrededor de 10^{-8} , la ionización resulta demasiado pequeña para que aparezca un cambio sensible en la curva de titulación de pH; éste es el caso del tercer protón para el H_3PO_4). Bajo estas condiciones, se simplifican los cálculos porque *el sistema se puede considerar como simplemente una mezcla de tres ácidos débiles*.

Se pueden titular los dos primeros protones de H_3PO_4 por separado. El tercero es demasiado débil para titularlo.

CÁLCULOS AMORTIGUADORES PARA ÁCIDOS POLIPRÓTICOS

El anión del lado derecho de cada etapa de ionización se puede considerar la sal (base conjugada) del ácido del que se deriva. Es decir, en la ecuación 7.59, H_2PO_4^- es la sal del ácido H_3PO_4 ; en la ecuación 7.60, HPO_4^{2-} es la sal del ácido H_2PO_4^- , y en la ecuación

Se pueden preparar amortiguadores de fosfato con un pH centrado alrededor de 1.96 ($\text{p}K_{a1}$), 7.12 ($\text{p}K_{a2}$) y 12.32 ($\text{p}K_{a3}$).

7.61, PO_4^{3-} es la sal del ácido HPO_4^{2-} . Así, cada uno de estos pares constituye un sistema amortiguador y se pueden preparar amortiguadores de ortofosfato para un amplio intervalo de pH. La capacidad amortiguadora óptima de cada par ocurre a un pH que corresponde a su $\text{p}K_a$. El par $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ es un eficaz sistema amortiguador de la sangre (véase más adelante).

Ejemplo 7.16

El pH de la sangre es 7.40. ¿Cuál es la relación de $[\text{HPO}_4^{2-}]/[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ en la sangre (a 25°C)?

Solución

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{donador de protones}]}$$

$$\text{p}K_{a2} = 7.12$$

Por tanto,

$$\text{pH} = 7.12 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

$$7.40 = 7.12 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

$$\frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = \frac{1.9}{1}$$

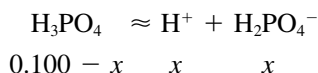
CÁLCULOS DE DISOCIACIÓN PARA ÁCIDOS POLIPRÓTICOS

Como las constantes individuales de ionización son suficientemente distintas, *el pH de una solución de H_3PO_4 se puede calcular titulándola como se haría con cualquier ácido débil.* El H^+ del primer paso de ionización rebasa efectivamente los otros dos pasos de ionización, de modo que la contribución de H^+ de dichos pasos es intrascendente si se compara con la primera ionización. Sin embargo, se debe resolver la ecuación cuadrática, porque K_{a1} es relativamente grande.

Ejemplo 7.17

Calcular el pH de una solución 0.100 M de H_3PO_4 .

Solución



De la ecuación 7.59,

$$\frac{(x)(x)}{0.100 - x} = 1.1 \times 10^{-2}$$

Para despreciar x , C debe ser $\geq 100K_a$. Aquí es sólo 10 veces mayor. Por tanto, se usa la ecuación cuadrática para resolver:

$$x^2 + 0.011x - 1.1 \times 10^{-3} = 0$$

$$x = \frac{-0.011 \pm \sqrt{(0.011)^2 - 4(-1.1 \times 10^{-3})}}{2}$$

$$x = [\text{H}^+] = 0.028 \text{ M}$$

Se trata al H_3PO_4 como un ácido monoprótico. Sin embargo, aquí no se puede despreciar x por comparación con C .

El ácido se ioniza 28%:

$$\text{pH} = -\log 2.8 \times 10^{-2} = 2 - 0.45 = 1.55$$

.....

Se puede determinar que si la suposición de que la única fuente importante de protones es H_3PO_4 fue realista, el H_2PO_4^- sería la siguiente fuente más probable de protones. De la ecuación 7.60, $[\text{HPO}_4^{2-}] = K_{a2} [\text{H}_2\text{PO}_4^-]/[\text{H}^+]$. Suponiendo que la concentración de H_2PO_4^- y la de H^+ , como primera aproximación, son 0.028 M como se calculó, entonces $[\text{HPO}_4^{2-}] \approx K_{a2} = 7.5 \times 10^{-8} \text{ M}$. Esto es muy pequeño en comparación con 0.028 M de H_2PO_4^- , y así la disociación que sigue sin duda es insignificante. El procedimiento queda justificado.

FRACCIONES DE ESPECIES DISOCIANTES A UN pH DADO: VALORES α . ¿CUÁNTO DE CADA ESPECIE?

Con frecuencia se requiere conocer la distribución de las diferentes especies de un ácido poliprótico en función del pH; es decir, a una concentración conocida de ion hidrógeno como en una solución amortiguadora.

Considérese, por ejemplo, la disociación del ácido fosfórico. Los equilibrios están dados en las ecuaciones 7.59 a 7.61. A cualquier pH dado, coexistirán las cuatro especies de ácido fosfórico en equilibrio mutuo, aunque las concentraciones de algunas pueden ser muy pequeñas. Al cambiar el pH, se desplazan los equilibrios y cambian las concentraciones relativas. Es posible derivar ecuaciones generales para calcular la fracción del ácido que existe en una forma dada, a partir de la concentración de iones hidrógeno.

Para una **concentración analítica** total de ácido fosfórico, $C_{\text{H}_3\text{PO}_4}$, se puede escribir

$$C_{\text{H}_3\text{PO}_4} = [\text{PO}_4^{3-}] + [\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{H}_2\text{PO}_4^-] + [\text{H}_3\text{PO}_4] \quad (7.63)$$

H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} y PO_4^{3-} están en equilibrio. El pH define la fracción de cada una.

donde los términos del miembro derecho de la ecuación representan las **concentraciones de equilibrio** de las especies individuales. Al parecer se conoce la concentración inicial total $C_{\text{H}_3\text{PO}_4}$ y se desea encontrar las fracciones o concentraciones de las especies individuales en equilibrio.

Se definen entonces

$\alpha_0 = \frac{[\text{H}_3\text{PO}_4]}{C_{\text{H}_3\text{PO}_4}}$	$\alpha_1 = \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{C_{\text{H}_3\text{PO}_4}}$	$\alpha_2 = \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{C_{\text{H}_3\text{PO}_4}}$
$\alpha_3 = \frac{[\text{PO}_4^{3-}]}{C_{\text{H}_3\text{PO}_4}}$	$\alpha_0 + \alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3 = 1$	

donde las α son las **fracciones** de cada especie presente en equilibrio. Obsérvese que los subíndices denotan el número de protones disociados o la carga de la especie. Se puede usar la ecuación 7.63 y las expresiones de constantes de equilibrio 7.59 a 7.61 para obtener una expresión para $C_{H_3PO_4}$ en términos de la especie deseada. Esta expresión se sustituye en la ecuación apropiada para obtener α en términos de $[H^+]$ y las constantes de equilibrio. Con objeto de calcular α_0 , por ejemplo, se pueden reordenar las ecuaciones 7.59 a 7.61 para despejar todas las especies, excepto $[H_3PO_4]$ y sustituir en la ecuación 7.63:

$$[PO_4^{3-}] = \frac{K_{a3}[HPO_4^{2-}]}{[H^+]} \quad (7.64)$$

$$[HPO_4^{2-}] = \frac{K_{a2}[H_2PO_4^-]}{[H^+]} \quad (7.65)$$

$$[H_2PO_4^-] = \frac{K_{a1}[H_3PO_4]}{[H^+]} \quad (7.66)$$

Se desea que todas estas expresiones contengan sólo $[H_3PO_4]$ (y $[H^+]$, la variable). Sustituyendo la ecuación 7.66 para $[H_2PO_4^-]$ en la ecuación 7.65:

$$[HPO_4^{2-}] = \frac{K_{a1}K_{a2}[H_3PO_4]}{[H^+]^2} \quad (7.67)$$

Y luego la ecuación 7.67 en la ecuación 7.64 para $[HPO_4^{2-}]$:

$$[PO_4^{3-}] = \frac{K_{a1}K_{a2}K_{a3}[H_3PO_4]}{[H^+]^3} \quad (7.68)$$

Finalmente, se pueden sustituir las ecuaciones 7.66 a 7.68 en la ecuación 7.63:

$$C_{H_3PO_4} = \frac{K_{a1}K_{a2}K_{a3}[H_3PO_4]}{[H^+]^3} + \frac{K_{a1}K_{a2}[H_3PO_4]}{[H^+]^2} + \frac{K_{a1}[H_3PO_4]}{[H^+]} + [H_3PO_4] \quad (7.69)$$

Se puede dividir cada lado de la expresión entre $[H_3PO_4]$ para obtener $1/\alpha_0$ o sustituir la expresión en el denominador de la expresión de α_0 para obtener un valor para α_0 ($[H_3PO_4]$ se cancela). Con la primera opción, se tiene

$$\frac{1}{\alpha_0} = \frac{K_{a1}K_{a2}K_{a3}}{[H^+]^3} + \frac{K_{a1}K_{a2}}{[H^+]^2} + \frac{K_{a1}}{[H^+]} + 1 \quad (7.70)$$

o, con la segunda, se llega a:

$$\alpha_0 = \frac{1}{(K_{a1}K_{a2}K_{a3}/[H^+]^3) + (K_{a1}K_{a2}/[H^+]^2) + (K_{a1}/[H^+]) + 1} \quad (7.71)$$

cualquiera de las dos se puede reordenar a

$$\alpha_0 = \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + K_{a1}[H^+]^2 + K_{a1}K_{a2}[H^+] + K_{a1}K_{a2}K_{a3}} \quad (7.72)$$

Usar esta ecuación para calcular la fracción de H_3PO_4 en solución.

Se pueden usar procedimientos similares para obtener expresiones para otras α . Para α_1 , por ejemplo, las expresiones de constante de equilibrio se resolverían para todas las

especies en términos de $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ y se harían las sustituciones en la ecuación 7.63 para obtener una expresión para $C_{\text{H}_3\text{PO}_4}$ que contuviera sólo $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ y $[\text{H}^+]$, a partir de la cual se calcula α_1 . Los resultados para las otras α son

$$\alpha_1 = \frac{K_{a1}[\text{H}^+]^2}{[\text{H}^+]^3 + K_{a1}[\text{H}^+]^2 + K_{a1}K_{a2}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}K_{a3}} \quad (7.73) \quad \text{Derivar estas ecuaciones en el problema 58.}$$

$$\alpha_2 = \frac{K_{a1}K_{a2}[\text{H}^+]}{[\text{H}^+]^3 + K_{a1}[\text{H}^+]^2 + K_{a1}K_{a2}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}K_{a3}} \quad (7.74)$$

$$\alpha_3 = \frac{K_{a1}K_{a2}K_{a3}}{[\text{H}^+]^3 + K_{a1}[\text{H}^+]^2 + K_{a1}K_{a2}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}K_{a3}} \quad (7.75)$$

Obsérvese que todas tienen *el mismo denominador* y que *la suma de los numeradores es igual al denominador*. Véase el problema 58 para una derivación más detallada de las otras α .



Ejemplo 7.18

Calcular la concentración de equilibrio de las diferentes especies en una solución 0.10 M de ácido fosfórico a pH 3.00 ($[\text{H}^+] = 1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$).

Solución

Sustituyendo en la ecuación 7.72,

$$\begin{aligned} \alpha_0 &= \frac{(1.0 \times 10^{-3})^3}{(1.0 \times 10^{-3})^3 + (1.1 \times 10^{-2})(1.0 \times 10^{-3})^2 + (1.1 \times 10^{-2})(7.5 \times 10^{-8})(1.0 \times 10^{-3}) \\ &\quad + (1.1 \times 10^{-2})(7.5 \times 10^{-8})(4.8 \times 10^{-13})} \\ &= \frac{1.0 \times 10^{-9}}{1.2 \times 10^{-8}} = 8.3 \times 10^{-2} \end{aligned}$$

$$[\text{H}_3\text{PO}_4] = C_{\text{H}_3\text{PO}_4} \alpha_0 = 0.10 \times 8.3 \times 10^{-2} = 8.3 \times 10^{-3} \text{ M}$$

De igual manera,

$$\begin{aligned} \alpha_1 &= 0.92 \\ [\text{H}_2\text{PO}_4^-] &= C_{\text{H}_3\text{PO}_4} \alpha_1 = 0.10 \times 0.92 = 9.2 \times 10^{-2} \text{ M} \\ \alpha_2 &= 6.9 \times 10^{-5} \\ [\text{HPO}_4^{2-}] &= C_{\text{H}_3\text{PO}_4} \alpha_2 = 0.10 \times 6.9 \times 10^{-5} = 6.9 \times 10^{-6} \text{ M} \\ \alpha_3 &= 3.3 \times 10^{-14} \\ [\text{PO}_4^{3-}] &= C_{\text{H}_3\text{PO}_4} \alpha_3 = 0.10 \times 3.3 \times 10^{-14} = 3.3 \times 10^{-15} \text{ M} \end{aligned}$$

Se ve que a pH 3 la mayor parte (91%) del ácido fosfórico está presente como H_2PO_4^- y 8.3% existe como H_3PO_4 . ¡Sólo $3.3 \times 10^{-12}\%$ existe como PO_4^{3-} !

Se puede preparar una hoja de cálculo para determinar la fracción de cada especie como función del pH. En la hoja de cálculo se muestran las fórmulas y los cálculos y en la figura 7.1 se muestra la gráfica correspondiente de α contra pH. Los valores de K_a se introducen

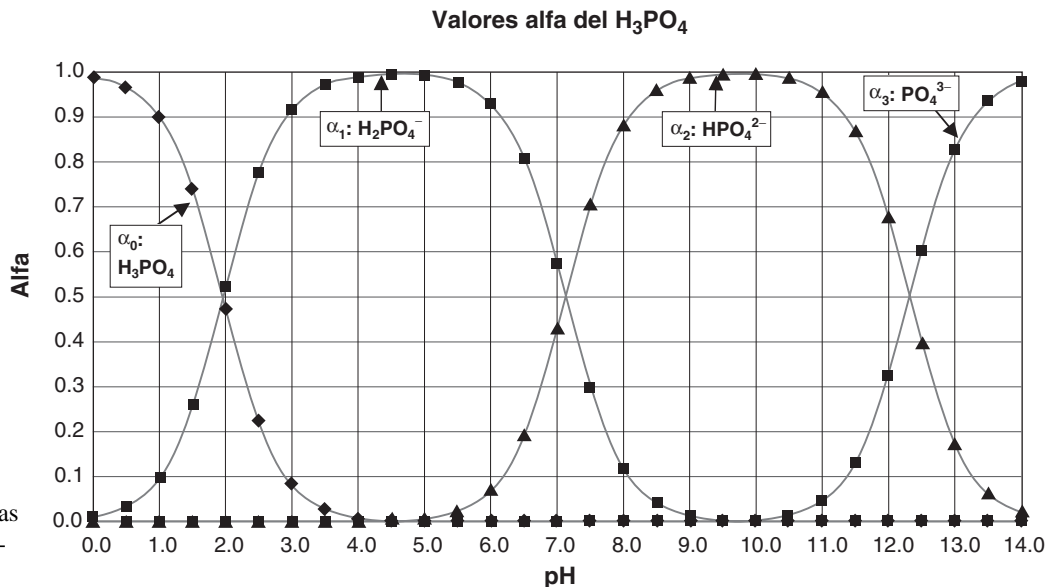


Figura 7.1. Fracciones de las especies de H_3PO_4 como función del pH.

Las curvas que se traslapan representan regiones amortiguadas. Los valores del pH donde α_1 y α_2 son 1, representan los puntos finales al titular H_3PO_4 .

Véase la sección 7.12 para una manera de representar estas gráficas como líneas rectas (gráficas log-log).

en las celdas B4, D4 y F4. Los valores de pH se anotan en la columna A. Todas las fórmulas necesarias para cada celda aparecen en la parte inferior de la hoja de cálculo y se ingresan inicialmente en las celdas con negritas. La fórmula para calcular la concentración correspondiente de iones hidrógeno (que se usa en el cálculo de α) se introduce en la celda B6. La fórmula para el denominador que se usa para el cálculo de cada α se introduce en la celda C6. Obsérvese que las constantes se introducen como valores absolutos, en tanto que la concentración de iones hidrógeno es un valor relativo. Las fórmulas para los tres cálculos de α se introducen en las celdas D6, E6 y F6. Todas las fórmulas se copian hacia abajo hasta la fila 34.

Para preparar las curvas se usa el “Asistente para gráficos” y se trazan secuencialmente cuatro series de A6:A34 vs. D6:D34, E6:E34, F6:F34 y G6:G34. Se puede usar la hoja de cálculo para construir la gráfica de la figura 7.1. Se guarda la Hoja 1 en el Escritorio. Abrir “Asistente para gráficos” y seleccionar “XY (Dispersión)” con puntos de datos conectados por una línea suave (la segunda subunidad de gráficas abajo a la izquierda). Se hace clic en “Siguiente”, y para “Rango de datos” anotar A6:A34,D6:D34 (el “Asistente para gráficos” lo forma automáticamente en: “Hoja 1”!\$A\$6:\$A\$34,\$D\$6:\$D\$34). (A partir de la “Hoja 1” se construye la gráfica. El signo ! es un delineador que separa “Hoja 1” de las celdas introducidas, y cuando se introducen los valores de X y Y en series separadas se deberá anotar “Hoja 1!” antes de introducir los intervalos de celdas.) Se hace clic en la pestaña “Serie”. Nombrar la Serie 1 alfa 0 (H_3PO_4). Copiar los valores de X al “Portapapeles” para poder “pegarlos” en las siguientes series. Hacer clic en “Agregar” para crear una nueva Serie 2 y observar que se tienen que introducir los valores de X y Y. Pegar los valores de X y Y del “Portapapeles”. Para los valores de Y, escribir: =Hoja 1!E6:E34 (esto se forma automáticamente a valores absolutos). Nombrar la serie alfa 1 (H_2PO_4^-). Repetir para las columnas F y G para crear las Series 3 y 4 para α_2 y α_3 . Bajo “Opciones de gráfico”, se introducen el “Título” y los nombres de los ejes X y Y. Se agregan “Líneas de división”, “principales” y “secundarias”. Hacer clic en “Finalizar” y se verán los valores graficados de α . El formato de los rótulos se puede cambiar haciendo clic en “Formato” en la barra de herramientas (los números, que podrían estar en notación científica, se pueden cambiar a “Número”). La Escala se puede ajustar. Los Nombres de las Series se pueden mover hacia dentro de la gráfica seleccionándolos y arrastrándolos hacia ésta.

La figura 7.1 es una gráfica de las fracciones de cada especie de ácido fosfórico como función del pH. Esta figura ilustra cómo cambian las relaciones de las cuatro especies del ácido fosfórico al ajustarse el pH, por ejemplo, al titular H_3PO_4 con NaOH. Aunque algu-

	A	B	C	D	E	F	G
1	Cálculo de valores de alfa para H₃PO₄ vs. pH.						
2	Denominador de alfa (α_i) = $[H^+]^3 + K_{a1}[H^+]^2 + K_{a1}K_{a2}[H^+] + K_{a1}K_{a2}K_{a3}$						
3	Numeradores: $\alpha_0 = [H^+]^3$; $\alpha_1 = K_{a1}[H^+]^2$; $\alpha_2 = K_{a1}K_{a2}[H^+]$; $\alpha_3 = K_{a1}K_{a2}K_{a3}$						
4	$K_{a1} =$	1.10E-02	$K_{a2} =$	7.50E-08	$K_{a3} =$	4.80E-13	
5	pH	[H⁺]	Denominador	α_0	α_1	α_2	α_3
6	0.0	1	1.01E+00	9.89E-01	1.09E-02	8.16E-10	3.92E-22
7	0.5	0.316228	3.27E-02	9.66E-01	3.36E-02	7.97E-09	1.21E-20
8	1.0	0.1	1.11E-03	9.01E-01	9.91E-02	7.43E-08	3.57E-19
9	1.5	0.031623	4.26E-05	7.42E-01	2.58E-01	6.12E-07	9.29E-18
10	2.0	0.01	2.10E-06	4.76E-01	5.24E-01	3.93E-06	1.89E-16
11	2.5	0.003162	1.42E-07	2.23E-01	7.77E-01	1.84E-05	2.80E-15
12	3.0	0.001	1.20E-08	8.33E-02	9.17E-01	6.87E-05	3.30E-14
13	3.5	0.000316	1.13E-09	2.79E-02	9.72E-01	2.30E-04	3.50E-13
14	4.0	0.0001	1.11E-10	9.00E-03	9.90E-01	7.43E-04	3.56E-12
15	4.5	3.16E-05	1.11E-11	2.86E-03	9.95E-01	2.36E-03	3.58E-11
16	5.0	0.00001	1.11E-12	9.02E-04	9.92E-01	7.44E-03	3.57E-10
17	5.5	3.16E-06	1.13E-13	2.81E-04	9.77E-01	2.32E-02	3.52E-09
18	6.0	0.000001	1.18E-14	8.46E-05	9.30E-01	6.98E-02	3.35E-08
19	6.5	3.16E-07	1.36E-15	2.32E-05	8.08E-01	1.92E-01	2.91E-07
20	7.0	1E-07	1.93E-16	5.19E-06	5.71E-01	4.29E-01	2.06E-06
21	7.5	3.16E-08	3.71E-17	8.53E-07	2.97E-01	7.03E-01	1.07E-05
22	8.0	1E-08	9.35E-18	1.07E-07	1.18E-01	8.82E-01	4.24E-05
23	8.5	3.16E-09	2.72E-18	1.16E-08	4.05E-02	9.59E-01	1.46E-04
24	9.0	1E-09	8.36E-19	1.20E-09	1.32E-02	9.86E-01	4.73E-04
25	9.5	3.16E-10	2.62E-19	1.21E-10	4.19E-03	9.94E-01	1.51E-03
26	10.0	1E-10	8.30E-20	1.20E-11	1.33E-03	9.94E-01	4.77E-03
27	10.5	3.16E-11	2.65E-20	1.19E-12	4.15E-04	9.85E-01	1.49E-02
28	11.0	1E-11	8.65E-21	1.16E-13	1.27E-04	9.54E-01	4.58E-02
29	11.5	3.16E-12	3.00E-21	1.05E-14	3.66E-05	8.68E-01	1.32E-01
30	12.0	1E-12	1.22E-21	8.19E-16	9.01E-06	6.76E-01	3.24E-01
31	12.5	3.16E-13	6.57E-22	4.81E-17	1.67E-06	3.97E-01	6.03E-01
32	13.0	1E-13	4.79E-22	2.09E-18	2.30E-07	1.72E-01	8.28E-01
33	13.5	3.16E-14	4.22E-22	7.49E-20	2.61E-08	6.18E-02	9.38E-01
34	14.0	1E-14	4.04E-22	2.47E-21	2.72E-09	2.04E-02	9.80E-01
35	Fórmulas para las celdas en negritas :						
36	Celda B6 = [H ⁺] =	10^A6					
37	Celda C6 = den. =	B6^3+\$B\$4*B6^2+\$B\$4*\$D\$4*B6+\$B\$4*\$D\$4*\$F\$4					
38	Celda D6 = α_0 =	B6^3/C6					
39	Celda E6 = α_1 =	(\$B\$4*B6^2)/C6					
40	Celda F6 = α_2 =	(\$B\$4*\$D\$4*B6)/C6					
41	Celda G6 = α_3 =	(\$B\$4*\$D\$4*\$F\$4)/C6					
42	Copiar cada fórmula hacia abajo hasta la celda 34						
43	Graficar A6:A34 vs. D6:D34, E6:E34, F6:F34 y G6:G34 (series 1, 2, 3 y 4)						

nas al parecer tienden a concentración cero arriba o debajo de ciertos valores de pH, no son realmente cero, sino que decrecen a un valor pequeño. Por ejemplo, se vio en el ejemplo 7.18 que, a pH 3.00, la concentración del ion PO_4^{3-} para H_3PO_4 0.1 M es sólo 3.3×10^{-15} M; no obstante, sigue en equilibrio. Las regiones de pH donde se traslapan dos curvas (con concentraciones apreciables) representan regiones en las que se pueden preparar amortiguadores usando esas dos especies. Por ejemplo, se pueden usar mezclas de H_3PO_4 y $H_2PO_4^-$ para preparar amortiguadores alrededor de $pH\ 2.0 \pm 1$; mezclas de $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} alrededor de $pH\ 7.1 \pm 1$, y mezclas de HPO_4^{2-} y PO_4^{3-} alrededor de $pH\ 12.3 \pm 1$. Los valores de pH en los que la fracción de una especie es esencialmente 1.0 corresponden a los puntos finales en la titulación de ácido fosfórico con una base fuerte; es decir, $H_2PO_4^-$ en el primer punto final (pH 4.5) y HPO_4^{2-} en el segundo punto final (pH 9.7).

Se podría usar la ecuación 7.69 para un cálculo riguroso de la concentración de ion hidrógeno a partir de la disociación de una solución de ácido fosfórico a una concen-

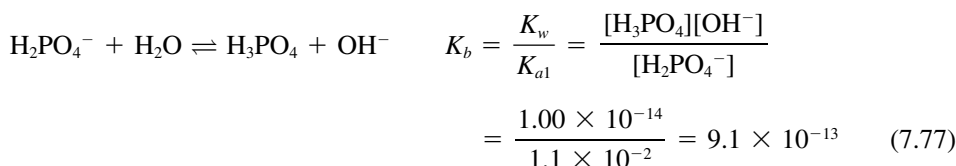
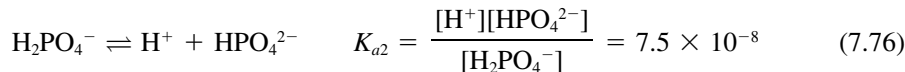
tración dada de H_3PO_4 (ninguna otra adición de H^+); pero esto implica iteraciones tediosas. Como primera aproximación, $[\text{H}^+]$ se podría calcular a partir de K_{a1} , como en el ejemplo 7.17, suponiendo que sólo era significativo el primer paso de disociación del ácido fosfórico (esto es, de hecho, lo que se hizo en dicho ejemplo). El primer $[\text{H}^+]$ calculado se podría usar entonces para sustitución en la ecuación 7.69 para calcular una segunda aproximación de $[\text{H}_3\text{PO}_4]$, que se podría usar para un segundo cálculo iterativo de $[\text{H}^+]$, usando K_{a1} , y así sucesivamente, hasta que la concentración fuese constante.

SALES DE LOS ÁCIDOS POLIPRÓTICOS: ¿ÁCIDOS O BASES?

Las sales de ácidos como H_2PO_4^- pueden ser ácidas o básicas. Las sales protonadas tienen propiedades tanto ácidas como básicas (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}), en tanto que la sal no protonada simplemente es una base de Brønsted susceptible de hidrólisis (PO_4^{3-}).

1. Sales anfotéricas. El H_2PO_4^- posee propiedades tanto ácidas como básicas, es decir, es anfotérico. Se ioniza como ácido débil y también como una base de Brønsted que se hidroliza:

El H_2PO_4^- actúa como ácido y como base. Al final de la sección 7.12 se verá cómo se estima el grado de cada reacción usando diagramas log-log.



Por tanto, la solución podría ser alcalina o ácida, dependiendo de cuál ionización sea más extensa. Como K_{a2} para la primera ionización es casi 10^5 veces mayor que K_b para la segunda ionización, la solución en este caso será obviamente ácida.

Se puede obtener una expresión para la concentración de iones hidrógeno en una solución de un ion como H_2PO_4^- , como sigue. La concentración total de iones hidrógeno es igual a las cantidades producidas por el equilibrio de ionización en la ecuación 7.76 y la ionización del agua menos la cantidad de OH^- producida por la hidrólisis en la ecuación 7.77. Se puede escribir, entonces,

$$C_{\text{H}^+} = [\text{H}^+]_{\text{total}} = [\text{H}^+]_{\text{H}_2\text{O}} + [\text{H}^+]_{\text{H}_2\text{PO}_4^-} - [\text{OH}^-]_{\text{H}_2\text{PO}_4^-} \quad (7.78)$$

o

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] - [\text{H}_3\text{PO}_4] \quad (7.79)$$

Se ha incluido la contribución del agua porque se deberá considerar si el pH de la solución salina está cerca de 7, aunque en este caso particular la solución será ácida, de manera que podrá desprejarse la ionización del agua.

Se puede resolver para $[\text{H}^+]$ sustituyendo las expresiones del lado derecho de la ecuación 7.79 de las expresiones para constantes de equilibrio 7.59, 7.60 y K_w para eliminar todo menos $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$, la variable experimental, y $[\text{H}^+]$:

$$[\text{H}^+] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{a2}[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{H}^+]} - \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-][\text{H}^+]}{K_{a1}} \quad (7.80)$$

a partir de lo cual (multiplicando cada lado de la ecuación por $[H^+]$, reuniendo en el lado izquierdo los términos que contienen $[H^+]^2$ y despejando $[H^+]^2$)

$$[H^+]^2 = \frac{K_w + K_{a2}[H_2PO_4^-]}{1 + \frac{[H_2PO_4^-]}{K_{a1}}} \quad (7.81)$$

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_{a1}K_w + K_{a1}K_{a2}[H_2PO_4^-]}{K_{a1} + [H_2PO_4^-]}} \quad (7.82)$$

Es decir, para el caso general HA^- ,

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_{a1}K_w + K_{a1}K_{a2}[HA^-]}{K_{a1} + [HA^-]}} \quad (7.83)$$

Para HA^{2-} , se sustituye $[HA^{2-}]$ por $[HA^-]$; K_{a2} por K_{a1} , y K_{a3} por K_{a2} .

Esta ecuación es válida para cualquier sal HA^- derivada de un ácido H_2A (o para HA^{2-} derivada de H_2A^- , etc.) donde $[H_2PO_4^-]$ se reemplaza por $[HA^-]$.

Si se asume que la concentración de equilibrio $[HA^-]$ es igual a la concentración de sal agregada, es decir, que el grado de ionización y de hidrólisis es razonablemente pequeño, entonces este valor se puede usar, junto con las constantes, para el cálculo de $[H^+]$. Esta suposición tiene sentido si las dos constantes de equilibrio (K_{a1} y K_b) que involucran a la sal HA^- son pequeñas y la solución no se encuentra demasiado diluida. En muchos casos, $K_{a1}K_w \ll K_{a1}K_{a2}[HA^-]$ en el numerador, y se puede despreciar. Ésta es la ecuación que se habría obtenido si se hubiera omitido la disociación del agua. Además, si $K_{a1} \ll [HA^-]$ en el denominador, la ecuación se simplifica a

$$[H^+] = \sqrt{K_{a1}K_{a2}} \quad (7.84) \quad \text{Para } HA^{2-}, [H^+] = \sqrt{K_{a2}K_{a3}}.$$

Por tanto, si las suposiciones son válidas, ¡el pH de una solución de $H_2PO_4^-$ es independiente de su concentración! Esta aproximación es adecuada para los propósitos que se persiguen. La ecuación por lo general funciona si hay una diferencia considerable entre K_{a1} y K_{a2} . Para el caso del $H_2PO_4^-$, entonces,

$$[H^+] \approx \sqrt{K_{a1}K_{a2}} = \sqrt{1.1 \times 10^{-2} \times 7.5 \times 10^{-8}} = 2.9 \times 10^{-5} M \quad (7.85)$$

y el pH es aproximadamente independiente de la concentración de la sal (pH = 4.54). Éste sería el pH aproximado de una solución de NaH_2PO_4 .

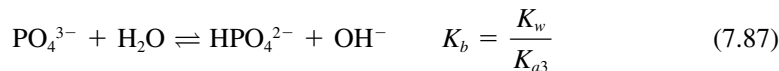
De igual manera, el HPO_4^{2-} es tanto un ácido como una base. Las K que intervienen aquí son K_{a2} y K_{a3} del H_3PO_4 ($H_2PO_4^- \equiv H_2A$ y $HPO_4^{2-} \equiv HA^-$). Como $K_{a2} \gg K_{a3}$, el pH de una solución de Na_2HPO_4 se puede calcular mediante

$$[H^+] \approx \sqrt{K_{a2}K_{a3}} = \sqrt{7.5 \times 10^{-8} \times 4.8 \times 10^{-13}} = 1.9 \times 10^{-10} \quad (7.86)$$

y el pH calculado es 9.72. Como el pH de las sales anfotéricas de este tipo es esencialmente independiente de la concentración, estas sales son útiles para preparar soluciones de pH conocido para estandarizar medidores de pH. Por ejemplo, el ftalato ácido de potasio, $KHC_8H_4O_2$, da una solución de pH 4.0 a 25°C. Sin embargo, estas sales no son buenas como amortiguadores contra ácidos o bases; su pH no cae en la región de amortiguador, sino en el punto final de una curva de titulación, donde el pH cambia en forma marcada; es decir, donde un protón se neutralizó recientemente.

El KHP es un “amortiguador estándar” del NIST (véase el capítulo 13). El pH de su solución es fijo, pero no está amortiguado.

2. Sal no protonada. El fosfato no protonado es una base de Brønsted bastante fuerte en solución, y se ioniza como sigue:



La constante K_{a3} es muy pequeña y por tanto el equilibrio se ubica significativamente a la derecha. Como $K_{a3} \ll K_{a2}$, la hidrólisis del HPO_4^{2-} se suprime por el OH^- del primer paso, y el pH del PO_4^{3-} se puede calcular igual que para una sal de un ácido débil monoprótico. Sin embargo, como K_{a3} es muy pequeña, K_b es relativamente grande, y la cantidad de OH^- no es insignificante en comparación con la concentración inicial de PO_4^{3-} (C_B^-), y se debe resolver la ecuación cuadrática; es decir, PO_4^{3-} es una base bastante fuerte.



Ejemplo 7.19

Calcular el pH de una solución 0.100 M de Na_3PO_4 .

Solución

$$\begin{array}{ccccccc} \text{PO}_4^{3-} & + & \text{H}_2\text{O} & \rightleftharpoons & \text{HPO}_4^{2-} & + & \text{OH}^- \\ 0.100 - x & & & & x & & x \\ \frac{[\text{HPO}_4^{2-}][\text{OH}^-]}{[\text{PO}_4^{3-}]} = K_b = \frac{K_w}{K_{a3}} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{4.8 \times 10^{-13}} = 0.020 \\ \frac{(x)(x)}{0.100 - x} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{4.8 \times 10^{-13}} = 0.020 \end{array}$$

La concentración es sólo cinco veces K_b , de modo que se usa la ecuación cuadrática:

$$\begin{aligned} x^2 + 0.020x - 2.0 \times 10^{-3} &= 0 \\ x &= \frac{-0.020 \pm \sqrt{(0.020)^2 - 4(-2.0 \times 10^{-3})}}{2} \\ x &= [\text{OH}^-] = 0.036 \text{ M} \\ \text{pH} &= 12.56 \end{aligned}$$

La disociación (hidrólisis) se completa en un 36%, y el fosfato es una base apreciablemente fuerte.

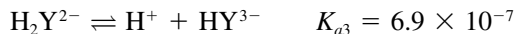


Ejemplo 7.20

El EDTA es un ácido poliprótico con cuatro protones (H_4Y). Calcular la concentración de iones hidrógeno de una solución 0.0100 M de Na_2EDTA ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$).

Solución

Los equilibrios son



y

$$\text{H}_2\text{Y}^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{Y}^- + \text{OH}^- \quad K_b = \frac{K_w}{K_{a2}} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{2.2 \times 10^{-3}}$$

H_2Y^{2-} es el equivalente de HA^- , y H_3Y^- es el equivalente de H_2A . Las constantes de equilibrio que participan son K_{a2} y K_{a3} (la primera para el ácido conjugado H_3Y^- de la sal hidrolizada). Así,

$$\begin{aligned} [\text{H}^+] &= \sqrt{K_{a2}K_{a3}} = \sqrt{(2.2 \times 10^{-3})(6.9 \times 10^{-7})} \\ &= 3.9 \times 10^{-5} \text{ M} \end{aligned}$$

7.9 Amortiguadores fisiológicos: nos mantienen vivos

El pH de la sangre en un individuo sano permanece notablemente constante entre 7.35 y 7.45. Esto se debe a que la sangre contiene varios amortiguadores que la protegen contra cambios de pH debidos a la presencia de metabolitos ácidos o básicos. Desde el punto de vista fisiológico, un cambio de ± 0.3 unidades de pH es extremo. Los metabolitos ácidos se producen de ordinario en mayores cantidades que los metabolitos básicos, y el dióxido de carbono es el principal. La capacidad amortiguadora de la sangre para manejar el CO_2 se estima que está distribuida entre varios sistemas amortiguadores como sigue: hemoglobina y oxihemoglobina, 62%; $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, 22%; proteína del plasma, 11%; bicarbonato, 5%. Las proteínas contienen grupos carboxílicos y amino, que son ácidos y bases débiles, respectivamente. Por tanto, son eficaces agentes amortiguadores. La capacidad combinada amortiguadora de la sangre para neutralizar ácidos se designa por los clínicos como “reserva alcalina”, y se determina a menudo en el laboratorio clínico. Ciertas enfermedades provocan perturbaciones en el balance de ácidos del cuerpo. Por ejemplo, la diabetes puede causar la “acidosis”, que puede ser fatal.

Un importante análisis de diagnóstico es el balance de $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ en la sangre. Esta proporción se relaciona con el pH de la sangre mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch (7.45):

$$\text{pH} = 6.10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \quad (7.88)$$

donde H_2CO_3 se puede considerar igual a la concentración de CO_2 disuelto en la sangre; 6.10 es el $\text{p}K_{a1}$ del ácido carbónico en la sangre a temperatura del cuerpo (37°C). Normalmente, la concentración de bicarbonato en la sangre es alrededor de 26.0 mmol/L, en tanto que la concentración de bióxido de carbono es 1.3 mmol/L. De acuerdo con esto, para la sangre,

$$\text{pH} = 6.10 + \log \frac{26 \text{ mmol/L}}{1.3 \text{ mmol/L}} = 7.40$$

Mediante titulometría (experimento 8) se puede determinar la concentración de HCO_3^- , o se puede determinar el contenido total de dióxido de carbono ($\text{HCO}_3^- + \text{CO}_2$ disuelto) por acidificación y medición del gas liberado.⁴ Si se realizan ambos análisis, se puede

El balance $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ se puede evaluar midiendo dos de los parámetros en la ecuación 7.88.

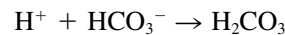
⁴ Se mide el volumen de CO_2 , pero a partir de la temperatura y la presión atmosférica, se puede calcular el número de milimoles de CO_2 y por ende su concentración en mmol/L en la solución de la cual se originó. A temperatura y presión estándar, 22.4 L contienen 1 mol de gas.

calcular la relación de $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$, y por tanto se pueden sacar conclusiones respecto a la acidosis o la alcalosis en el paciente. También, si se mide el pH (a 37°C), sólo se necesita medir el HCO_3^- o el CO_2 total para obtener un conocimiento completo del balance de ácido carbónico, porque la relación de $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ se puede calcular a partir de la ecuación 7.88.

También se puede medir la presión parcial, p_{CO_2} , del CO_2 (por ejemplo, usando un electrodo de CO_2), en cuyo caso $[\text{H}_2\text{CO}_3] \approx 0.30p_{\text{CO}_2}$. Entonces sólo se necesita determinar el pH o $[\text{HCO}_3^-]$.

Obsérvese que estos equilibrios y la ecuación 7.88 operan aunque haya otros sistemas amortiguadores en la sangre. El pH es resultado de todos los amortiguadores, y la relación $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ está determinada por este pH.

El sistema amortiguador $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ es el más importante amortiguador de la sangre en los pulmones (sangre alveolar). El oxígeno del aire inhalado se combina con la hemoglobina, la hemoglobina oxigenada se ioniza y libera un protón. Este ácido en exceso se elimina por reacción con el HCO_3^- .



Pero hay que tener en cuenta que la relación $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ a pH 7.4 es $26/1.3 = 20:1$. Ésta no es una relación amortiguadora muy efectiva, y al convertirse cantidades significativas de HCO_3^- a H_2CO_3 , el pH tendría que disminuir para mantener la nueva relación. Pero, afortunadamente, el H_2CO_3 producido es descompuesto rápidamente en CO_2 y H_2O por la enzima descarboxilasa, y los pulmones exhalan el CO_2 . Así permanece constante la relación $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ en 20:1.

Ejemplo 7.21

El contenido total de bióxido de carbono ($\text{HCO}_3^- + \text{CO}_2$) en una muestra de sangre se determinó por acidificación de la muestra y medición del volumen de CO_2 liberado mediante un aparato manométrico Van Slyke. Se determinó que la concentración total fue de 28.5 mmol/L. Se determinó que el pH de la sangre a 37°C era 7.48. ¿Cuáles son las concentraciones de HCO_3^- y CO_2 en la sangre?

Solución

$$\text{pH} = 6.10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]}$$

$$7.48 = 6.10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]}$$

$$\log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} = 1.38$$

$$\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} = 10^{1.38} = 10^1 \times 10^{0.38} = 24$$

$$[\text{HCO}_3^-] = 24[\text{CO}_2]$$

Pero

$$[\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_2] = 28.5 \text{ mmol/L}$$

$$24[\text{CO}_2] + [\text{CO}_2] = 28.5$$

$$[\text{CO}_2] = 1.14 \text{ mmol/L}$$

$$[\text{HCO}_3^-] = 28.5 - 1.1 = 27.4 \text{ mmol/L}$$

7.10 Amortiguadores para mediciones biológicas y clínicas

Muchas reacciones biológicas de interés proceden en el intervalo de pH de 6 a 8. Algunas, especialmente las reacciones enzimáticas específicas que podrían usarse para análisis (véase el capítulo 22), pueden ocurrir en el intervalo de pH de 4 a 10 o incluso más alto. La selección correcta de los amortiguadores para el estudio de las reacciones biológicas o para utilizarlos en análisis clínicos puede ser crítica para determinar si influyen o no en una reacción. Un amortiguador debe tener el pK_a correcto, cercano al pH fisiológico, de modo que la relación $[A^-]/[HA]$ en la ecuación de Henderson-Hasselbalch no sea muy distante de la unidad, y debe ser fisiológicamente compatible.

AMORTIGUADORES DE FOSFATO

Una serie de amortiguadores muy útil es la de amortiguadores de fosfato. Los sistemas biológicos por lo regular contienen ya algo de fosfatos, y en muchos casos los amortiguadores de fosfato no interfieren. Si se eligen las mezclas adecuadas de $H_3PO_4/H_2PO_4^-$, $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ o HPO_4^{2-}/PO_4^{3-} , se pueden preparar soluciones para un amplio intervalo de pH. Véase G. D. Christian y W. C. Purdy, *J. Electroanal. Chem.*, **3** (1962) 363 para las composiciones de una serie de amortiguadores de fosfato con una fuerza iónica constante de 0.2. La fuerza iónica es una medida del contenido total salino en una solución (véase el capítulo 6), y con frecuencia influye en las reacciones, especialmente en estudios cinéticos. Por tanto, estos amortiguadores se podrían usar cuando la fuerza iónica deba ser constante. Sin embargo, la capacidad de amortiguación disminuye de manera marcada conforme el pH se aproxima a los valores para las sales individuales mencionadas, y las sales individuales no son amortiguadores del todo; la mejor capacidad amortiguadora está dentro de ± 1 unidad de pH del valor respectivo de pK_a , es decir, 1.96 ± 1 , 7.12 ± 1 y 12.32 ± 1 . Otras soluciones son de mayor utilidad para establecer un pH dado cuando la adición de ácido o base o su generación en la solución va a ser escasa o nula. Una mezcla de pH 7.40 es muy buena como amortiguador a valores fisiológicos de pH, aunque por encima de pH 7.5 su capacidad amortiguadora comienza a disminuir.



Ejemplo 7.22

¿Qué cantidades de NaH_2PO_4 y Na_2HPO_4 serán necesarias para preparar 1 L de una solución amortiguadora de pH 7.45 con una fuerza iónica de 0.100?

Solución

Sea $x = [Na_2HPO_4]$ y $y = [NaH_2PO_4]$. Hay dos incógnitas, y se requieren dos ecuaciones. (Recuérdese que debe haber el mismo número de ecuaciones que de incógnitas por resolver.) La primera ecuación es la de la fuerza iónica:

$$\begin{aligned}\mu &= \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \\ 0.100 &= \frac{1}{2} [Na^+](1)^2 + [HPO_4^{2-}](2)^2 + [H_2PO_4^-](1)^2 \\ 0.100 &= \frac{1}{2} [(2x + y)(1)^2 + x(2)^2 + y(1)^2] \\ 0.100 &= 3x + y\end{aligned}\tag{1}$$

La segunda ecuación es la Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_{a2} + \log \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}$$

$$7.45 = 7.12 + \log \frac{x}{y} \quad (2)$$

$$\frac{x}{y} = 10^{0.33} = 2.14$$

$$x = 2.14y \quad (3)$$

Sustituyendo en (1):

$$0.100 = 3(2.14)y + y$$

$$y = 0.0135 \text{ M} = [\text{NaH}_2\text{PO}_4]$$

Sustituyendo en (3):

$$x = (2.14)(0.0135) = 0.0289 \text{ M} = [\text{Na}_2\text{HPO}_4]$$

$$\text{g NaH}_2\text{PO}_4 = 0.0135 \text{ mol/L} \times 120 \text{ g/mol} = 1.62 \text{ g/L}$$

$$\text{g Na}_2\text{HPO}_4 = 0.0289 \text{ mol/L} \times 142 \text{ g/mol} = 4.10 \text{ g/L}$$

.....

El uso de amortiguadores de fosfato se limita a ciertas aplicaciones. Además de la limitada capacidad amortiguadora a ciertos valores de pH, el fosfato precipita o forma complejos con muchos cationes polivalentes, y a menudo participa en la reacción o la inhibe. Por ejemplo, no se debe usar cuando esté presente calcio si la precipitación pudiera afectar la reacción que interesa.

AMORTIGUADORES TRIS

Los amortiguadores tris se usan comúnmente en mediciones de química clínica.

Un amortiguador que se usa extensamente en el laboratorio clínico y en estudios bioquímicos en el intervalo fisiológico de pH es el que se prepara con *tris*(hidroximetil)amino-metano [(HOCH₂)₃CNH₂—**Tris**, o **THAM**] y su ácido conjugado (en donde el grupo amino se encuentra protonado). Es un estándar primario y tiene buena estabilidad y alta solubilidad en fluidos fisiológicos, no es higroscópico ni absorbe CO₂ en grado apreciable, no precipita sales de calcio, no parece inhibir muchos sistemas enzimáticos y es compatible con los fluidos biológicos. Tiene un p*K* cercano al pH fisiológico (p*K*_a = 8.08 para el ácido conjugado), aunque su capacidad amortiguadora comienza a disminuir por debajo de pH 7.5, lo cual es una desventaja. Otras desventajas son que la amina alifática primaria tiene reactividad potencial considerable y reacciona con las uniones de fibra de lino como las que se encuentran en los electrodos de referencia de calomel que se usan en mediciones de pH (véase el capítulo 13); en estos casos se debe usar un electrodo de referencia con una junta de cerámica, cuarzo o de manga. Estos amortiguadores por lo regular se preparan agregando un ácido como el clorhídrico a una solución de Tris para ajustar el pH al valor deseado.

7.11 Efecto de ion diverso en ácidos y bases. *K*_a^o y *K*_b^o: las sales cambian el pH

En el capítulo 6 se explicó la constante de equilibrio termodinámico con base en las actividades más que en las concentraciones. Las sales diversas afectan las actividades y por tanto el grado de disociación de electrólitos débiles, como los ácidos y las bases débiles.

El coeficiente de actividad del ácido o la base sin disociar esencialmente es igual a la unidad si no hay carga. Entonces, para el ácido HA,

$$K_a^\circ = \frac{a_{H^+} \cdot a_{A^-}}{a_{HA}} \approx \frac{a_{H^+} \cdot a_{A^-}}{[HA]} \quad (7.89)$$

$$K_a^\circ = \frac{[H^+] f_{H^+} \cdot [A^-] f_{A^-}}{[HA]} = K_a f_{H^+} f_{A^-} \quad (7.90)$$

$$K_a = \frac{K_a^\circ}{f_{H^+} f_{A^-}} \quad (7.91)$$

Por tanto, se podría predecir un aumento en K_a y en la disociación al aumentar la fuerza iónica, por disminución de los coeficientes de actividad. Véase el ejemplo 6.18, y el problema 21 en el capítulo 6.

Como la fuerza iónica afecta la disociación de los ácidos y las bases débiles, tendrá el efecto de un amortiguador en el pH. Se puede escribir la ecuación de Henderson-Hasselbalch en términos de K_a o de K_a° :

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (7.92)$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a^\circ + \log \frac{a_{A^-}}{[HA]} \quad (7.93)$$

Si la fortaleza iónica aumenta, K_a aumenta y $\text{p}K_a$ disminuye. De modo que la ecuación 7.92 predice una disminución del pH. De igual manera, la actividad de A^- disminuye, y la ecuación 7.93 predice una disminución similar del pH. Si una solución buffer se diluye, disminuye su fortaleza iónica y por tanto habrá un ligero *aumento* del pH, aun cuando la relación $[A^-]/[HA]$ permanece constante. Véase la nota de pie de página 3 que antecede en este capítulo.

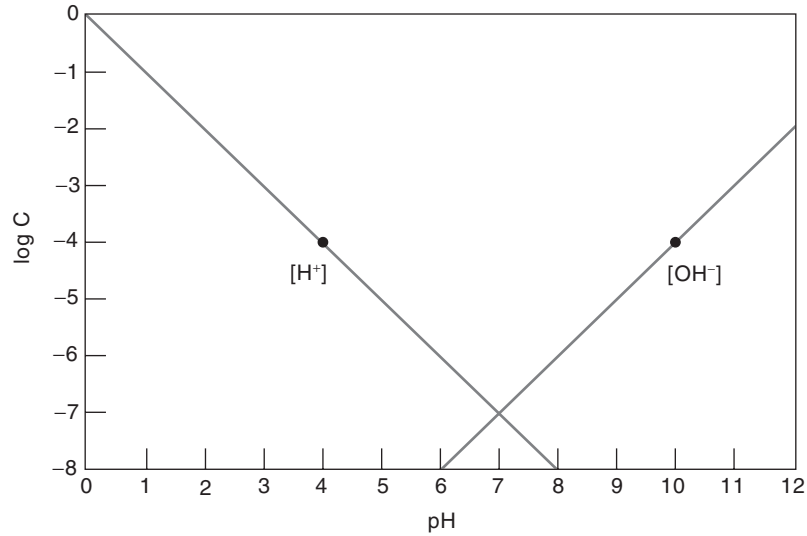
Para un amortiguador de $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$, la relación $a_{\text{HPO}_4^{2-}}/a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}$ disminuirá también al aumentar la fuerza iónica porque el efecto es mayor sobre el ion con cargas múltiples.

7.12 Diagramas logarítmicos de concentración: cómo visualizar grandes cambios de concentración

Un diagrama logarítmico de concentración es una gráfica log-log en la que el eje x es el mismo que el del diagrama de distribución de α , pero el eje y es el logaritmo de la concentración de la especie que interesa. Como el eje y indica concentraciones específicas, se pueden indicar especies como H^+ y OH^- , además de las correspondientes a varias formas del ácido.

Supóngase que se desea trazar un diagrama logarítmico de concentración para todas las especies presentes en una solución $1.0 \times 10^{-2} M$ de ácido acético ($\text{p}K_a = 4.76$). Las especies cuyas concentraciones son las de más simple representación son H^+ y OH^- . Por definición, $\log [H^+] = -\text{pH}$, de modo que, por ejemplo, a pH 4, $[H^+] = 10^{-4}$, o $\log [H^+] = -4$. La curva para $[H^+]$ es una línea recta con una pendiente -1 , y pasa por el punto $\log C = -4$ a pH 4. De igual manera, $\log [\text{OH}^-] = -\text{pOH} = \text{pH} - \text{p}K_w$. La curva para $[\text{OH}^-]$ es entonces una línea recta con pendiente $+1$ y pasa por el punto $\log C = -4$ a un pH = 10. Para trazar las dos líneas rectas, se pueden usar las pendientes y el punto de referencia para cada uno. La figura 7.2 muestra un diagrama logarítmico de concentración que contiene sólo las curvas de $[H^+]$ y $[\text{OH}^-]$.

Figura 7.2. Diagrama logarítmico de concentración para un sistema ácido-base. Los puntos de referencia para H^+ (pH 4, $\log C = -4$) y OH^- (pH 10, $\log C = -4$) se marcan con puntos negros.



En seguida se consideran las curvas para $[HOAc]$ y $[OAc^-]$; refiérase a la figura 7.3 durante la siguiente explicación. En soluciones fuertemente ácidas, la disociación del $HOAc$ se suprime y el $HOAc$ es la forma principal. Como $C_{HOAc} = 1.0 \times 10^{-2} M$, entonces en soluciones ácidas, $[HOAc]$ es esencialmente una constante, $1.0 \times 10^{-2} M$. A la inversa, se sabe que en soluciones alcalinas $[HOAc]$ se vuelve muy pequeña debido a la disociación, y que $[OAc^-] \approx C_{HOAc}$. Para soluciones alcalinas, entonces se puede reordenar la expresión de equilibrio ácido-base (sustituyendo $[OAc^-]$ por C_{HOAc}):

$$[HOAc] = \frac{[H^+] C_{HOAc}}{K_a} \quad (7.94)$$

Tomando el logaritmo de ambos lados se obtiene

$$\begin{aligned} \log[HOAc] &= \log \frac{C_{HOAc}}{K_a} - pH \\ &= \text{constante} - pH \end{aligned} \quad (7.95)$$

Para $HOAc$ $1.0 \times 10^{-2} M$, la constante es 2.76. La curva para $HOAc$ en soluciones alcalinas es entonces una línea recta con una pendiente de -1 . A pH 6.76, $\log[HOAc]$ es -4.00 , lo cual podría servir como punto de referencia en la línea, junto con la pendiente, para trazar la curva de $HOAc$ en solución alcalina.

De igual modo, para OAc^- en soluciones ácidas, $[HOAc]$ es más o menos constante a C_{HOAc} , y en soluciones fuertemente ácidas,

$$[OAc^-] = \frac{K_a}{[H^+] C_{HOAc}} \quad (7.96)$$

$$\begin{aligned} \log[OAc^-] &= \log K_a - \log C_{HOAc} - pH \\ &= \text{constante} - pH \end{aligned} \quad (7.97)$$

y la curva para $[OAc^-]$ es una línea recta con una pendiente de $+1$. Para $HOAc$ $1.0 \times 10^{-2} M$, la constante es -6.76 , y así a pH 2.76, $\log[OAc^-] = -4.00$. Este punto y la pendiente de $+1$ se puede usar para trazar la curva de $[OAc^-]$ en solución ácida.

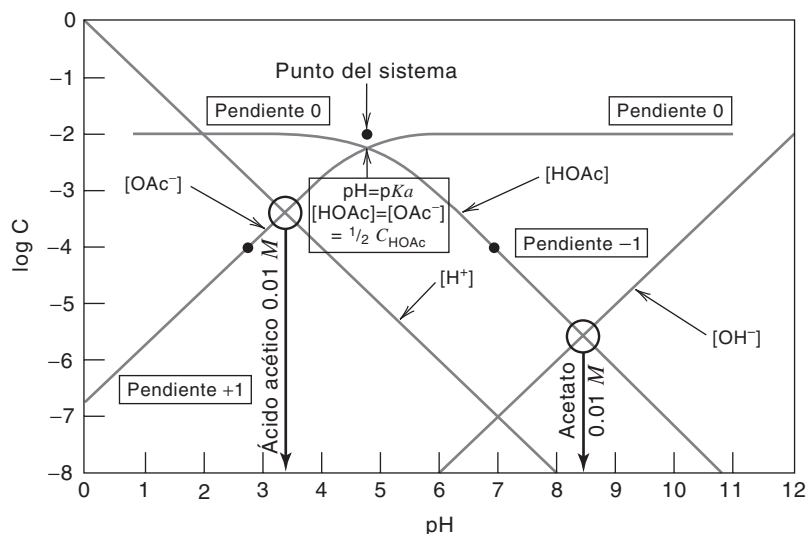


Figura 7.3. Diagrama logarítmico de concentración para un sistema de ácido acético, con HOAc 0.01 M. Los puntos de referencia para HOAc (pH 2.76, $\log C = -4$) y OAc^- (pH 6.76, $\log C = -4$) se marcan con círculos. Sólo se necesitan el punto del sistema y el punto de intersección, junto con las pendientes, para construir las curvas de HOAc y OAc^- .

En soluciones en las que $\text{pH} \approx \text{p}K_a$, hay transición más suave entre las condiciones límite que las que se encuentran en las soluciones en condiciones más ácidas o más alcalinas. Exactamente a $\text{pH} = \text{p}K_a$, se tiene la situación de que $[\text{HOAc}] = [\text{OAc}^-]$; de modo que a ese pH, las curvas para $[\text{HOAc}]$ y $[\text{OAc}^-]$ se deben cruzar. En este ejemplo, esto ocurre cuando $C = 5.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ (la mitad de la concentración total), o $\log C = -2.30$, y $\text{pH} = 4.76$.

Si las secciones lineales de las dos gráficas se prolongaran, se cruzarían en el punto donde $\log C = \log C_{\text{HOAc}}$ y $\text{pH} = \text{p}K_a$. Este punto se llama a menudo el **punto del sistema**, y se indica en la figura 7.3. El punto del sistema se puede conjuntar con los puntos de referencia del ejemplo anterior para trazar las porciones lineales de las curvas. Realmente sólo se necesita un punto de referencia junto con la pendiente para trazar las curvas, y el punto del sistema podría servir siempre como punto de referencia (las curvas en realidad no se prolongan hasta el punto del sistema; más bien se desvían en curva y se cruzan en $\text{pH} = \text{p}K_a$). La posición del punto del sistema (y las curvas) se mueve hacia arriba o hacia abajo de la escala $\log C$, dependiendo de la concentración.

Cuando se construye un diagrama logarítmico de concentración, el primer punto que se ubica por lo regular es el del sistema; éste sirve como referencia para la construcción del resto del diagrama. Si el diagrama logarítmico de construcción se trazase para una solución 10^{-4} M en lugar de que se hiciera para esta solución 10^{-2} M , las curvas para $[\text{OAc}^-]$ y $[\text{HOAc}]$ tendrían la misma forma pero se desplazarían verticalmente hacia abajo en dos unidades logarítmicas de concentración. Las líneas para $[\text{H}^+]$ y $[\text{OH}^-]$ no cambiarían.

Igual que con el diagrama de distribución de α , el diagrama logarítmico de concentración se puede usar para determinar cuáles especies dominan a un pH dado. Como la escala de concentración que se utiliza es logarítmica y no lineal, este diagrama se puede usar también para hacer predicciones bastante exactas respecto de la concentración de las especies presentes, incluso a bajas concentraciones. Se puede ver a pH 2 que $[\text{H}^+] = 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HOAc}] = 10^{-2} \text{ M}$ y $[\text{OAc}^-]$ es un poco mayor a 10^{-5} M [$10^{-4.76}$, como lo confirma la ecuación (7.97)]. Esto sería demasiado cercano a cero en el diagrama semilogarítmico de distribución de α para estimar su valor. Usando la expresión de equilibrio ácido-base, se podría calcular que $[\text{OAc}^-] = 1.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, que es suficientemente cercano al estimado. Dada C_{HOAc} a 0.01 M, dicha concentración corresponde a $\alpha_1 = 0.0018$, y esto sería demasiado pequeño para estimarlo mediante el diagrama de distribución de α .

Debido a la resolución en el eje logarítmico de concentración, con frecuencia es posible usar un diagrama logarítmico de concentración para obtener una respuesta (por lo

Para construir un diagrama log-log se usan el punto del sistema y la pendiente.

Un diagrama log-log permite estimar en una mirada las concentraciones de todas las especies en equilibrio a un pH dado.

El diagrama log-log se puede usar también para resolver problemas complejos de equilibrio.

menos aproximada) para un problema de equilibrio. Si se desea saber el pH de la solución $1.0 \times 10^{-2} M$ de ácido acético, la expresión de balance de cargas es

$$[\text{H}^+] = [\text{OAc}^-] + [\text{OH}^-]$$

Se puede suponer que en una solución ácida la concentración de OH^- será tan pequeña que se puede ignorar. El balance de cargas se simplifica entonces a

$$[\text{H}^+] + [\text{OAc}^-]$$

En otras palabras, el pH de la solución será el pH indicado en la intersección de las curvas para $[\text{H}^+]$ y $[\text{OAc}^-]$. Ese punto de intersección se indica en la figura 7.3, donde se ve que el pH es 3.35. También se puede ver en esta gráfica que a este pH la concentración de OH^- es muy baja (el punto está cerca del borde inferior de la gráfica, alrededor de $10^{-11} M$) y que la suposición de que se podía despreciar era correcta. De modo similar, para una solución $1.0 \times 10^{-2} M$ de acetato, se podría escribir:

$$[\text{OH}^-] = [\text{HOAc}] + [\text{H}^+] \approx [\text{HOAc}]$$

A partir de la intersección de las líneas de $[\text{OH}^-]$ y $[\text{HOAc}]$, se encuentra que el pH de la solución es 8.35, y que $[\text{H}^+]$ se ignoró justificadamente, porque es alrededor de mil veces menor que $[\text{OH}^-]$ o $[\text{HOAc}]$.

Se pueden trazar diagramas logarítmicos de concentración para sistemas de mayor complejidad. La figura 7.4 muestra un diagrama logarítmico de concentración para el sistema del ácido fosfórico a $0.001 M$. Véase el problema 67 para la derivación de las expresiones de $\log C$ para las diferentes especies, y el problema 68 para el cálculo de las curvas mediante hoja de cálculo usando los valores α (como se explica adelante). Igual que en un diagrama de distribución de ácido fosfórico (figura 7.1), se pueden deducir las especies principales a un pH dado. El diagrama logarítmico de las concentraciones permite también la aproximación de las concentraciones de las especies menores. De aquí que, a pH 1, la concentración de H_3PO_4 es apenas inferior a $10^{-3} M$, y la concentración de H_2PO_4^- es $10^{-4} M$, en tanto que las concentraciones de HPO_4^{2-} y PO_4^{3-} son tan pequeñas que se pueden despreciar (esto significa que la concentración de H_3PO_4 , restando la concentración de H_2PO_4^- de $10^{-3} M$ es $9 \times 10^{-4} M$).

Se puede estimar el pH de las soluciones de diferentes especies de ácido fosfórico de la figura 7.4. Para una solución $10^{-3} M$ de H_3PO_4 , la expresión del balance de cargas es

$$[\text{H}^+] = [\text{H}_2\text{PO}_4^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{PO}_4^{3-}] + [\text{OH}^-] \approx [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$$

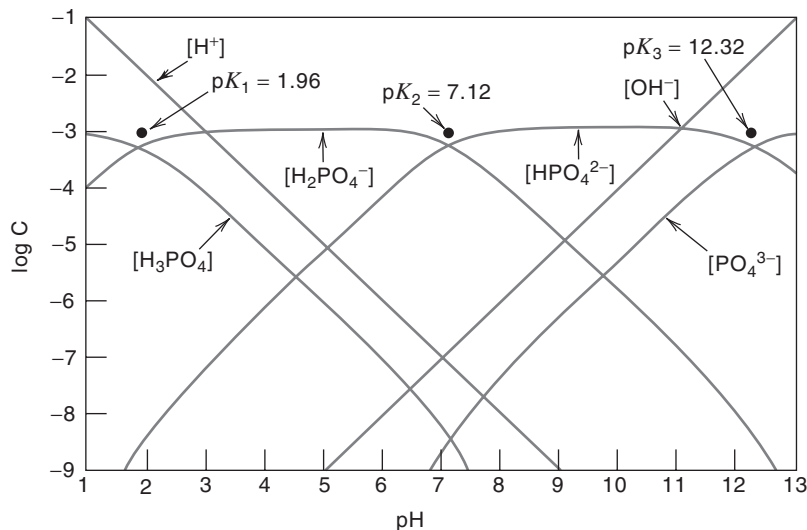


Figura 7.4. Diagrama logarítmico de concentración para un sistema de ácido fosfórico a $0.001 M$ de H_3PO_4 .

se cruzan las curvas de las dos especies. Más allá de pH 4.76, $\log[\text{HOAc}]$ está dado por la ecuación 7.95 (celdas C7 y C8).

Para OAc^- , en solución ácida, $\log[\text{OAc}]$ está dado por la ecuación 7.97 (celdas E4 y E5). Más allá de $\text{pH} = K_a$, $[\text{OAc}^-]$ se vuelve esencialmente igual a C_{HOAc} (celdas D7 y D8). Obsérvese que $\log[\text{H}^+]$ y $\log[\text{OH}^-]$ se obtienen siempre directamente del pH (celdas F4 y G4).

Obsérvese que introduciendo $\log K_a \times C_{\text{HOAc}}$ y $\log K_a / C_{\text{HOAc}}$ en las celdas E4 y C7 en vez de la constante real para HOAc 0.01 M, la hoja de cálculo funciona para todas las concentraciones de HOAc que se introduzcan en la celda C2.

Las gráficas se diseñan usando el “Asistente para gráficos” seleccionando “XY Dispersión” y el gráfico de datos dispersos conectados por líneas continuas. Se hace clic en Gráfico 1 y luego en el ícono del Asistente para gráficos, y se siguen los pasos para ver cómo se construyó la gráfica. Para la Serie 1 ($\log[\text{HOAc}]$), Valores de X: =Hoja1!A4:A8, y Valores de Y: =Hoja1!C4:C8. Los valores de X son los mismos para las series 2, 3 y 4; pero para los Valores de Y se introducen E4:E8, F4:F8 y G4:G8 en vez de C4:C8 para dar las gráficas para $\log[\text{OAc}^-]$, $\log[\text{H}^+]$ y $\log[\text{OH}^-]$. Tratar de reproducir la gráfica con un nuevo número de gráfica haciendo clic en la Hoja 1 y luego sobre el ícono del Asistente para gráficos para diseñar una nueva gráfica. Se hace clic en Hoja 1 y se cambia la concentración de ácido acético para ver cómo suben o bajan en la gráfica las curvas de HOAc y OAc^- .

USO DE VALORES α PARA CONSTRUIR DIAGRAMAS LOGARÍTMICOS: ESTO ES MÁS FÁCIL

Como se tienen fórmulas generales para los valores de α , resulta una tarea sencilla construir hojas de cálculo para determinarlos, como se hizo para H_3PO_4 para la figura 7.1. De esta manera, es sencillo introducir fórmulas en las columnas para $\log(C \times \alpha_i)$ para cada valor de α y copiar hacia abajo la fórmula para realizar el cálculo para cada valor pH introducido. Así, supóngase que se tiene un ácido diprótico, H_2A . Para $\log[\text{HA}^-]$, si la fórmula para α_1 está en la celda D4, y si introduce el valor de la concentración, C, en la celda B2, podría introducir en la celda E4: =LOG10(\$B\$2*D4). Esto calcula $\log[\text{HA}^-]$ al pH dado. Se podría copiar esta fórmula hacia abajo hasta el último renglón o fila de pH para calcular $\log[\text{HA}^-]$ para cada valor de pH. Luego se graficaría la columna de pH vs. la columna de $\log[\text{HA}^-]$. Se repetiría el proceso para H_2A (α_0) y A^{2-} (α_2) y se prepararían también las columnas de $\log[\text{H}^+]$ y $\log[\text{OH}^-]$. La concentración C se puede cambiar en la celda B2 para ver cómo cambian las gráficas con la concentración. A menudo, las concentraciones calculadas son muy pequeñas a valores extremos de pH, por ejemplo, -20 o menos. Se puede limitar el intervalo del eje de $\log C$ en la gráfica, por ejemplo a -10 , para dar mejor resolución a otras concentraciones graficadas.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Teorías ácido-base, p. 219
- Equilibrios ácido-base en agua (ecuaciones clave: 7.11, 7.13, 7.19), p. 221
- Ácidos y bases débiles, p. 228
- Sales de ácidos y bases débiles (ecuaciones clave: 7.27, 7.29, 7.32, 7.36, 7.39), p. 230
- Amortiguadores (ecuaciones clave: 7.45, 7.56), p. 234

- Ácidos polipróticos, valores α (ecuaciones clave: 7.72-7.75), pp. 241, 243
- Uso de hojas de cálculo para preparar gráficas de α vs. pH, p. 245
- Sales de ácidos polipróticos (ecuaciones clave: 7.83, 7.84, 7.86, 7.87), p. 248
- Diagramas logarítmicos de concentración, p. 255
 - Uso de hojas de cálculo para graficar, p. 259
 - Uso de valores α para graficación por hoja de cálculo, p. 260

Preguntas

1. Explicar la diferencia entre un electrólito fuerte y uno débil. Una sal “insoluble”, ¿es un electrólito débil o fuerte?
2. ¿Cuál es la teoría ácido-base de Brønsted?
3. ¿Qué es un ácido conjugado? ¿Y una base conjugada?
4. Escribir la reacción de ionización de la anilina, $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$, en ácido acético glacial, e identificar el ácido conjugado de la anilina. Escribir la reacción de ionización del fenol, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ en etilendiamina, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, e identificar la base conjugada del fenol.
5. ¿Qué es la teoría ácido-base de Lewis?

Problemas

ÁCIDOS Y BASES FUERTES

6. Calcular el pH y el pOH de las siguientes soluciones de ácidos fuertes: a) 0.020 M HClO_4 , b) $1.3 \times 10^{-4}\text{ M HNO}_3$, c) 1.2 M HCl , d) $1.2 \times 10^{-9}\text{ M HCl}$, e) $2.4 \times 10^{-7}\text{ M HNO}_3$.
7. Calcular el pH y el pOH de las siguientes soluciones de bases fuertes: a) 0.050 M NaOH , b) 0.14 M Ba(OH)_2 , c) 2.4 M NaOH , d) $3.0 \times 10^{-7}\text{ M KOH}$, e) $3.7 \times 10^{-3}\text{ M KOH}$.
8. Calcular la concentración de ion hidroxilo de las siguientes soluciones: a) $2.6 \times 10^{-5}\text{ M HCl}$, b) 0.20 M HNO_3 , c) $2.7 \times 10^{-9}\text{ M HClO}_4$, d) 1.9 M HClO_4 .
9. Calcular la concentración de ion hidrógeno de las soluciones con los siguientes valores de pH: a) 3.47, b) 0.20, c) 8.60, d) -0.60 , e) 14.35, f) -1.25 .
10. Calcular el pH y el pOH de una solución obtenida mezclando volúmenes iguales de $\text{H}_2\text{SO}_4\text{ }0.10\text{ M}$ y $\text{NaOH }0.30\text{ M}$.
11. Calcular el pH de una solución obtenida mezclando volúmenes iguales de una solución de un ácido fuerte con un pH de 3.00 y una solución de una base fuerte de pH = 12.00.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA

12. Calcular la concentración de ion hidrógeno y el pH de una solución neutra a 50°C ($K_w = 5.5 \times 10^{-14}$ a 50°C).
13. Calcular el pOH de una muestra de sangre cuyo pH es 7.40 a 37°C .

ÁCIDOS Y BASES DÉBILES

14. El pH de una solución de ácido acético es 3.26. ¿Cuál es la concentración de ácido acético y cuál es el porcentaje de ácido ionizado?

15. El pH de una solución 0.20 *M* de amina primaria, RNH₂, es 8.42. ¿Cuál es el pK_b de la amina?
16. Un ácido orgánico monoprótico con K_a de 6.7×10^{-4} se ioniza 3.5% cuando se disuelven 100 g del ácido en 1 L. ¿Cuál es el peso fórmula del ácido?
17. Calcular el pH de una solución 0.25 *M* de ácido propanoico.
18. Calcular el pH de una solución 0.10 *M* de anilina, una base débil.
19. Calcular el pH de una solución 0.1 *M* de ácido yódico, HIO₃.
20. El primer protón del ácido sulfúrico se ioniza por completo, pero el segundo sólo se disocia parcialmente, con una constante de acidez K_{a2} de 1.2×10^{-2} . Calcular la concentración de ion hidrógeno en una solución 0.0100 *M* de H₂SO₄.
21. Calcular la concentración de ion hidrógeno en una solución 0.100 *M* de ácido tricloroacético.
22. Una amina, RNH₂, tiene un pK_b de 4.20. ¿Cuál es el pH de una solución 0.20 *M* de esta base?
23. ¿Cuál es la concentración de una solución de ácido acético si se ioniza 3.0%?
24. ¿Qué tanto se tiene que diluir una solución 0.100 *M* de un ácido débil HA para duplicar su porcentaje de ionización? Suponer $C > 100 K_a$.

SALES DE ÁCIDOS Y BASES DÉBILES

25. Si se agregan 25 mL de NaOH 0.20 *M* a 20 mL de ácido bórico 0.25 *M*, ¿cuál es el pH de la solución resultante?
26. Calcular el pH de una solución 0.010 *M* de NaCN.
27. Calcular el pH de una solución 0.050 *M* de benzoato de sodio.
28. Calcular el pH de una solución 0.25 *M* de hidrocloruro de piridinio (piridina · HCl, C₆H₅NH⁺Cl⁻).
29. Calcular el pH de la solución que se obtiene al agregar 12.0 mL de H₂SO₄ 0.25 *M* a 6.0 mL de NH₃ 1.0 *M*.
30. Calcular el pH de la solución que se obtiene al agregar 20 mL de HOAc 0.10 *M* a 20 mL de NaOH 0.10 *M*.
31. Calcular el pH de la solución que se obtiene al agregar 0.10 moles de hidroxilamina y 0.10 moles de ácido clorhídrico a 500 mL de agua.
32. Calcular el pH de una solución 0.0010 *M* de salicilato de sodio, C₆H₄(OH)COONa.
33. Calcular el pH de una solución 1.0×10^{-4} *M* de NaCN.

ÁCIDOS POLIPRÓTICOS Y SUS SALES

34. ¿Cuál es el pH de una solución 0.0100 *M* de ácido ftálico?
35. ¿Cuál es el pH de una solución 0.0100 *M* de ftalato de potasio?
36. ¿Cuál es el pH de una solución 0.0100 *M* de ftalato ácido de potasio (KHP)?
37. Calcular el pH de una solución 0.600 *M* de Na₂S.
38. Calcular el pH de una solución 0.500 *M* de Na₃PO₄.
39. Calcular el pH de una solución 0.250 *M* de NaHCO₃.
40. Calcular el pH de una solución 0.600 *M* de NaHS.
41. Calcular el pH de una solución 0.050 *M* de la sal trisódica del EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), Na₃HY.

AMORTIGUADORES

42. Calcular el pH de una solución que es 0.050 *M* en ácido fórmico y 0.10 *M* en formato de sodio.
43. Calcular el pH de una solución preparada al mezclar 5.0 mL de NH_3 0.10 *M* con 10.0 mL de HCl 0.020 *M*.
44. Una solución amortiguadora de ácido acético-acetato de sodio de pH 5.00 es 0.100 *M* en NaOAc. Calcular el pH después de la adición de 10 mL de NaOH 0.1 *M* a 100 mL del amortiguador.
45. Se prepara una solución amortiguadora agregando 20 mL de una solución 0.10 *M* de hidróxido de sodio a 50 mL de solución 0.10 *M* de ácido acético. ¿Cuál es el pH del amortiguador?
46. Se prepara una solución amortiguadora agregando 25 mL de solución 0.050 *M* de ácido sulfúrico a 50 mL de solución 0.10 *M* de amoníaco. ¿Cuál es el pH del amortiguador?
47. La aspirina (ácido acetilsalicílico) se absorbe en el estómago en forma de ácido libre (no ionizado). Si un paciente toma un antiácido que ajusta el pH del contenido del estómago a 2.95 y luego toma dos tabletas de aspirina de “5 granos” (equivalentes a un total de 0.65 g), ¿cuántos gramos de aspirina están disponibles para absorción inmediata del estómago suponiendo una disolución inmediata? También supóngase que la aspirina no cambia el pH del contenido del estómago. El pK_a de la aspirina es 3.50, y su peso fórmula es 180.2.
48. El *tris*(hidroximetil)aminometano [$(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$ -tris, o THAM] es una base débil que se usa a menudo para preparar amortiguadores en bioquímica. Su K_b es 1.2×10^{-6} , y su pK_b es 5.92. El correspondiente pK_a es 8.08, que es cercano al pH de los amortiguadores fisiológicos y por tanto exhibe buena capacidad amortiguadora a pH fisiológico. ¿Qué cantidad de THAM se debe tomar con 100 mL de HCl 0.50 *M* para preparar 1 L de una solución amortiguadora de pH 7.40?
49. Calcular la concentración de ion hidrógeno para el problema 21 si la solución contiene también tricloroacetato de sodio 0.100 *M*.

AMORTIGUADORES DE ÁCIDOS POLIPRÓTICOS

50. ¿Cuál es el pH de una solución que es 0.20 *M* en ácido ftálico (H_2P) y 0.10 *M* en ftalato ácido de potasio (KHP)?
51. ¿Cuál es el pH de una solución que es 0.25 *M* en ftalato ácido de potasio (KHP) y 0.25 *M* en ftalato de potasio (K_2P)?
52. La concentración total de fosfatos en una muestra de sangre se determina por espectrofotometría como 3.0×10^{-3} *M*. Si el pH de la muestra de sangre es 7.45, ¿cuáles son las concentraciones de H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} en la sangre?

CAPACIDAD AMORTIGUADORA

53. Una solución amortiguadora contiene NaH_2PO_4 0.10 *M* y Na_2HPO_4 0.070 *M*. ¿Cuál es su capacidad amortiguadora en moles/litro por unidad de pH? ¿Y qué tanto cambiaría el pH si se agregaran 10 μL (0.010 mL) de HCl 1.0 *M* o NaOH 1.0 *M* a 10 mL del amortiguador?
54. Se desea preparar una solución amortiguadora de ácido acético-acetato de sodio de pH 4.76 con capacidad amortiguadora de 1.0 *M* por unidad de pH. ¿Qué concentraciones de ácido acético y acetato de sodio se necesitan?

AMORTIGUADORES DE FUERZA IÓNICA CONSTANTE

55. ¿Qué cantidad de Na_2HPO_4 y KH_2PO_4 se necesitaría para preparar 200 mL de una solución amortiguadora de pH 7.40 que tenga una fuerza iónica de 0.20? (Véase el capítulo 6 para la definición de fuerza iónica.)

56. ¿Qué volumen de H_3PO_4 al 85% (peso/peso) (gr. esp. 1.69), y qué cantidad de KH_2PO_4 se requieren para preparar 200 mL de una solución amortiguadora de pH 3.00 que tenga una fuerza iónica de 0.20?

CÁLCULOS DE α

57. Calcular las concentraciones de equilibrio de las diferentes especies en una solución 0.0100 M de ácido sulfuroso, H_2SO_3 , a pH 4.00 ($[\text{H}^+] = 1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
58. Derivar las ecuaciones 7.73, 7.74 y 7.75 para α_1 , α_2 y α_3 del ácido fosfórico.

EFFECTO DE SAL DIVERSA

59. Calcular la concentración de ion hidrógeno para una solución 0.0200 M de HCN en NaCl 0.100 M (efecto de ion diverso).
60. Derivar el equivalente de la ecuación 7.91 para el efecto de sal diversa en una base débil sin carga B.

DIAGRAMAS LOGARÍTMICOS DE CONCENTRACIÓN

Se trata de construir manualmente las curvas. Preparar una hoja de cálculo para el problema 64 usando valores de α .

61. Construir el diagrama log-log para una solución 10^{-3} M de ácido acético.
62. A partir del diagrama del problema 61, estimar el pH de una solución 10^{-3} M de ácido acético. ¿Cuál es la concentración de ion acetato en esta solución?
63. Para el problema 61, derivar la expresión para $\log[\text{OAc}^-]$ en solución ácida y calcular la concentración de acetato a pH 2.00 para una solución 10^{-3} M de ácido acético. Comparar con el valor estimado por el diagrama log-log.
64. Construir el diagrama log-log para una solución 10^{-3} M de ácido málico mediante una hoja de cálculo usando valores α .
65. Del diagrama del problema 64, estimar el pH y las concentraciones de cada especie presente en: a) ácido málico 10^{-3} M y b) solución 10^{-3} M de malato de sodio.
66. Para el problema 64, derivar las expresiones para las curvas de HA^- en las regiones ácida y alcalina.
67. Derivar expresiones para: a) $\log[\text{H}_3\text{PO}_4]$ entre $\text{pH} = \text{p}K_{a1}$ y $\text{p}K_{a2}$; b) $\log[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ entre $\text{pH} = \text{p}K_{a2}$ y $\text{p}K_{a3}$; c) $\log[\text{HPO}_4^{2-}]$ entre $\text{pH} = \text{p}K_{a2}$ y $\text{p}K_{a1}$, y d) $\log[\text{PO}_4^{3-}]$ entre $\text{pH} = \text{p}K_{a3}$ y $\text{p}K_{a2}$. Verificar con puntos representativos en las curvas.
68. Construir un diagrama log-log para H_3PO_4 0.001 M (véase la figura 7.4) usando valores α . Comenzar con una hoja de cálculo para la figura 7.1. Comparar la gráfica con la figura 7.4. Variar la concentración de H_3PO_4 y ver cómo cambian las curvas.

Referencias recomendadas

TEORÍAS ÁCIDO-BASE, AMORTIGUADORES

1. R. G. Bates, "Concept and Determination of pH", en I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds., *Treatise on Analytical Chemistry*, parte I, vol. 1, Nueva York: Wiley-Interscience, 1959, pp. 361-401.
2. N. W. Good, G. D. Winget, W. Winter, T. N. Connally, S. Izawa y R. M. M. Singh, "Hydrogen Ion Buffers for Biological Research", *Biochemistry*, 5 (1966) 467.

3. D. E. Gueffroy (ed.), *A Guide for the Preparation and Use of Buffers in Biological Systems*, La Jolla, California: Calbiochem, 1975.
4. I. M. Kolthoff, "Concepts of Acids and Bases", en I. M. Kolthoff y P. J. Elving (eds.), *Treatise on Analytical Chemistry*, parte I, vol. 1, Nueva York: Wiley-Interscience, 1959, pp. 405-420.
5. D. D. Perrin y B. Dempsey, *Buffers for pH and Metal Ion Control*, Nueva York: Chapman and Hall, 1974.

CÁLCULOS DE EQUILIBRIO

6. S. Brewer, *Solving Problems in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1980. Describe el procedimiento iterativo para resolver cálculos de equilibrio.
7. J. N. Butler, *Ionic Equilibria. A Mathematical Approach*, Reading, MA: Addison-Wesley, 1964.
8. W. B. Guenther, *Unified Equilibrium Calculations*, Nueva York: Wiley, 1991.
9. D. D. DeFord, "The Reliability of Calculations Based on the Law of Chemical Equilibrium", *J. Chem. Ed.*, **31** (1954) 460.
10. E. R. Nightingale, "The Use of Exact Expressions in Calculating H^+ Concentrations", *J. Chem. Ed.*, **34** (1957) 277.
11. R. J. Vong y R. J. Charlson, "The Equilibrium pH of a Cloud or Raindrop: A Computer-Based Solución for a Six-Component System", *J. Chem. Ed.*, **62** (1985) 141.
12. R. deLevie, *A Spreadsheet Workbook for Quantitative Chemical Analysis*, Nueva York: McGraw-Hill, 1992.
13. H. Freiser, *Concepts and Calculations in Analytical Chemistry: A Spreadsheet Approach*, Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1992.

CALCULADORA VIRTUAL EN LA RED

14. <http://hamers.chem.wisc.edu/chapman/Tratorator/>. Virtual Calculator 1.5, del sitio de red del profesor Robert Hamers, Universidad de Wisconsin. Se puede usar para calcular curvas alfa. En la ventana Virtual Titrator se pueden seleccionar ácidos, gráficas y, debajo de la ventana, una calculadora estequiométrica para preparar soluciones.



Capítulo ocho

TITULACIONES ÁCIDO-BASE



Cortesía de Metrohm AG.

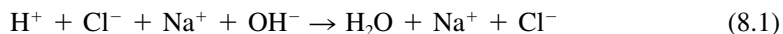
Sólo se usa como titulante un ácido o una base fuerte.

En el capítulo 7 se introdujeron los principios de los equilibrios ácido-base. Éstos son importantes para la construcción y la interpretación de curvas de titulación en titulaciones ácido-base. En este capítulo se comentarán los diversos tipos de titulaciones ácido-base, incluyendo la titulación de ácidos o bases fuertes y de ácidos o bases débiles. Se ilustrarán las formas de las curvas de titulación obtenidas. Mediante una descripción de la teoría de los indicadores, se explicará la selección de un indicador adecuado para detectar la terminación de una reacción de titulación dada. Se presentarán titulaciones de ácidos o bases débiles con dos o más grupos titulables y de mezclas de ácidos o bases. Se describirá el importante método de análisis de Kjeldahl para analizar nitrógeno en muestras orgánicas y biológicas.

8.1 Ácido fuerte y base fuerte: las titulaciones fáciles

Una titulación ácido-base procede mediante una reacción de **neutralización**, en la que se hace reaccionar un ácido con una cantidad equivalente de base. Mediante la construcción de una **curva de titulación** se puede explicar fácilmente cómo se pueden detectar los **puntos finales** de estas titulaciones; el punto final indica que la reacción ha concluido. Una curva de titulación se construye graficando el pH de la solución en función del volumen de titulante agregado. *El titulante es siempre un ácido fuerte o una base fuerte.* El analito puede ser ya sea una base o ácido fuerte o una base o ácido débil.

En el caso de un ácido fuerte contra una base fuerte, tanto el titulante como el analito están por completo ionizados. Un ejemplo es la titulación de ácido clorhídrico con hidróxido de sodio:



El H^+ y el OH^- se combinan para formar H_2O y los otros iones (Na^+ y Cl^-) permanecen sin cambio, de modo que el resultado neto de la neutralización es la conversión del HCl en una solución neutra de NaCl. En la figura 8.1 se muestra la curva de titulación para 100 ml de una solución 0.1 M de HCl titulada con una solución 0.1 M de NaOH, graficada en el ejercicio de hoja de cálculo que se plantea en seguida.

Los cálculos de las curvas de titulación consisten simplemente en el cálculo del pH a partir de la concentración de las especies particulares presentes en las diversas etapas de la

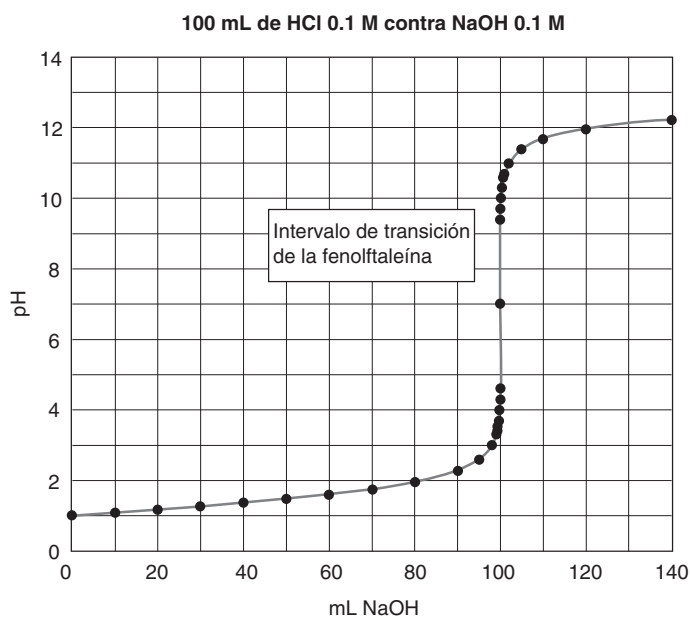


Figura 8.1. Curva de titulación para 100 mL de HCl 0.1 M contra NaOH 0.1 M.

	A	B	C	D	E	F	G
1	100 mL de HCl 0.1000 M contra NaOH 0.1000 M						
2	mL _{HCl} =	100.00	M _{HCl} =	0.1000			
3	M _{NaOH} =	0.1000	K _w =	1.00E-14			
4	mL _{NaOH}	[H ⁺]	[OH ⁻]	pOH	pH		
5	0.00	0.1			1.00		
6	10.00	0.0818182			1.09		
7	20.00	0.0666667			1.18		
8	30.00	0.0538462			1.27		
9	40.00	0.0428571			1.37		
10	50.00	0.0333333			1.48		
11	60.00	0.025			1.60		
12	70.00	0.0176471			1.75		
13	80.00	0.0111111			1.95		
14	90.00	0.0052632			2.28		
15	95.00	0.0025641			2.59		
16	98.00	0.0010101			3.00		
17	99.00	0.0005025			3.30		
18	99.20	0.0004016			3.40		
19	99.40	0.0003009			3.52		
20	99.60	0.0002004			3.70		
21	99.80	0.0001001			4.00		
22	99.90	5.003E-05			4.30		
23	99.95	2.501E-05			4.60		
24	100.00	0.0000001			7.00		
25	100.05		2.5E-05	4.60	9.40		
26	100.10		5E-05	4.30	9.70		
27	100.20		1E-04	4.00	10.00		
28	100.40		0.0002	3.70	10.30		
29	100.80		0.0004	3.40	10.60		
30	101.00		0.0005	3.30	10.70		
31	102.00		0.00099	3.00	11.00		
32	105.00		0.00244	2.61	11.39		
33	110.00		0.00476	2.32	11.68		
34	120.00		0.00909	2.04	11.96		
35	140.00		0.01667	1.78	12.22		
36	Fórmulas para celdas en negritas :						
37	Celda B5: [H ⁺] = (mL _{HCl} x M _{HCl} - mL _{NaOH} x M _{NaOH})/(mL _{HCl} + mL _{NaOH})						
38	= (\$B\$2*\$D\$2-A5*\$B\$3)/(\$B\$2+A5)				Copiar hasta celda B23		
39	Celda E5 = pH =			(-LOG10(B5))		Copiar hasta celda E24	
40	Celda B24 = [H ⁺] = K _w ^{1/2} =			SQRT(D3)			
41	Celda C25 = [OH ⁻] = (mL _{NaOH} x M _{NaOH} - mL _{HCl} x M _{HCl})/(mL _{HCl} + mL _{NaOH})						
42	= (A25*\$B\$3-\$B\$2*\$D\$2)/(\$B\$2+A25)					Copiar hasta el final	
43	Celda D25 = pOH = -log[OH ⁻] = (-LOG10(C25))					Copiar hasta el final	
44	Celda E25 = pH = 14 - pOH =			14-D25		Copiar hasta el final	

Tabla 8.1
Ecuaciones que rigen la titulación de un ácido fuerte (HX) o una base fuerte (BOH)

Fracción <i>F</i> titulada	Ácido fuerte		Base fuerte	
	Presente	Ecuación	Presente	Ecuación
<i>F</i> = 0	HX	[H ⁺] = [HX]	BOH	[OH ⁻] = [BOH]
0 < <i>F</i> < 1	HX/X ⁻	[H ⁺] = [HX remanente]	BOH/B ⁺	[OH ⁻] = [BOH remanente]
<i>F</i> = 1	X ⁻	[H ⁺] = √ <i>K_w</i> (ec. 7.13)	B ⁺	[H ⁺] = √ <i>K_w</i> [ec. 7.13]
<i>F</i> > 1	OH ⁻ /X ⁻	[OH ⁻] = [exceso de titulante]	H ⁺ /B ⁺	[H ⁺] = [exceso de titulante]

titulación, usando los procedimientos que se dan en el capítulo 7. Se deben emplear los cambios de volumen durante la titulación para determinar la concentración de las especies.

La tabla 8.1 resume las ecuaciones que rigen las diferentes porciones de la curva de titulación. Al principio de la titulación, se tiene HCl 0.1 *M*, de modo que el pH inicial es 1.0. Al avanzar la titulación, parte del H⁺ se remueve de la solución como H₂O, de modo que la concentración de H⁺ disminuye gradualmente. Al 90% de la neutralización (90 mL de NaOH), sólo queda el 10% del H⁺. Ignorando el cambio de volumen, la concentración de H⁺ en este punto sería 10⁻² *M* y el pH habría aumentado en sólo una unidad de pH (si se corrige por cambio de volumen, será ligeramente mayor; véase la hoja de cálculo más adelante). Sin embargo, al acercarse al **punto de equivalencia** (el punto en el que se agrega una cantidad estequiométrica de la base), la concentración de H⁺ se reduce rápidamente hasta que, en el punto de equivalencia, cuando la neutralización es completa, queda una solución neutra de NaCl y el pH es 7.0. Al continuar agregando NaOH, la concentración de OH⁻ aumenta rápidamente desde 10⁻⁷ *M* en el punto de equivalencia y se nivela entre 10⁻² y 10⁻¹ *M*; entonces se tiene una solución de NaOH más NaCl. Así, el pH permanece apreciablemente constante a un lado y otro del punto de equivalencia, pero cambia en forma notable muy cerca del punto de equivalencia. Este gran cambio permite definir la terminación de la reacción midiendo ya sea el pH o alguna propiedad que cambie con el pH.

El punto de equivalencia es donde la reacción teóricamente se ha completado.

Ejemplo 8.1

¡Es importante llevar la cuenta de los milimoles que reaccionan y los remanentes!

Calcular el pH a 0, 10, 90, 100 y 110% de la titulación de 50.0 mL de HCl 0.100 *M* con NaOH 0.100 *M*.

Solución

A 0%, pH = -log 0.100 = 1.00
Al 10% se han agregado 5.0 mL de NaOH. Se comienza con 0.100 *M* × 50.0 mL = 5.00 mmol de H⁺. Calcular la concentración de H⁺ después de agregar el NaOH:

mmol H⁺ al inicio

= 5.00 mmol H⁺

mmol OH⁻ agregados = 0.100 *M* × 5.0 mL

= 0.500 mmol OH⁻

mmol H⁺ remanentes

= 4.50 mmol H⁺ en 55.0 mL

[H⁺] = 4.50 mmol/55.0 mL = 0.0818 *M*

pH = -log 0.0818 = 1.09

Al 90%

mmol H⁺ al inicio

= 5.00 mmol H⁺

mmol OH⁻ agregados = 0.100 *M* × 45.0 mL

= 4.50 mmol OH⁻

mmol H⁺ remanentes

= 0.50 mmol H⁺ en 95.0 mL

$$[\text{H}^+] = 0.00526 \text{ M}$$

$$\text{pH} = -\log 0.00526 = 2.28$$

Al 100%: todo el H^+ ha reaccionado con OH^- y se tiene una solución 0.0500 M de NaCl . Por tanto, el pH es 7.00.

Al 110%: ahora se tiene una solución que consiste en NaCl y el exceso de NaOH agregado.

$$\text{mmol OH}^- = 0.100 \text{ M} \times 5.00 \text{ mL} = 0.50 \text{ mmol OH}^- \text{ en } 105 \text{ mL}$$

$$[\text{OH}^-] = 0.00476 \text{ M}$$

$$\text{pOH} = -\log 0.00476 = 2.32; \text{pH} = 11.68$$

Obsérvese que antes del punto de equivalencia, cuando hay ácido en exceso, la relación es $[\text{H}^+] = (M_{\text{ácido}} \times V_{\text{ácido}} - M_{\text{base}} \times V_{\text{base}})/V_{\text{total}}$, donde V es el volumen. Esto se puede aplicar simplemente para calcular $[\text{H}^+]$ una vez que se haya entendido la resolución del ejemplo 8.1. De igual manera, más allá del punto de equivalencia, cuando hay exceso de base, $[\text{OH}^-] = (M_{\text{base}} \times V_{\text{base}} - M_{\text{ácido}} \times V_{\text{ácido}})/V_{\text{total}}$.

La magnitud de la inflexión dependerá tanto de la concentración del ácido como de la concentración de la base. La figura 8.2 muestra curvas de titulación a diferentes concentraciones. La titulación inversa da la imagen especular de estas curvas. La titulación de $\text{NaOH } 0.1 \text{ M}$ con $\text{HCl } 0.1 \text{ M}$ se muestra en la figura 8.3. La selección de los indicadores como se presentan en la figura se discutirá más adelante.

La selección del indicador se vuelve crucial cuanto más diluidas sean las soluciones.

EJERCICIO DE HOJA DE CÁLCULO: HCl CONTRA NaOH

Se va a preparar una hoja de cálculo para la construcción de la figura 8.1. Se ingresan los valores de la concentración y volumen de HCl , la concentración de NaOH y K_w , en las celdas específicas (véanse las celdas B2, D2, B3 y D3). Ésos son valores absolutos que se usarán en las fórmulas. En la hoja de cálculo, la concentración de ion hidrógeno se calcula como los milimoles remanentes de HCl divididos entre el volumen total (fórmula en la celda

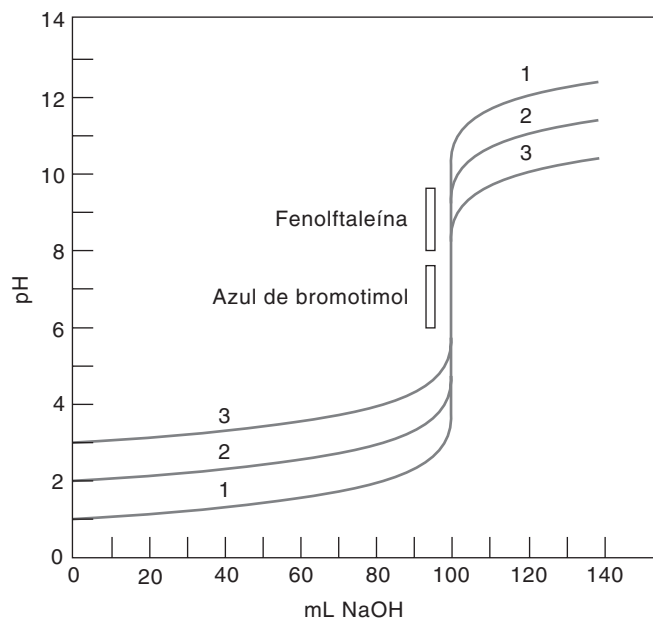


Figura 8.2. Dependencia de la magnitud de inflexión del punto final respecto de la concentración. Curva 1: 100 mL de $\text{HCl } 0.1 \text{ M}$ contra $\text{NaOH } 0.1 \text{ M}$. Curva 2: 100 mL de $\text{HCl } 0.01 \text{ M}$ contra $\text{NaOH } 0.01 \text{ M}$. Curva 3: 100 mL de $\text{HCl } 0.001 \text{ M}$ contra $\text{NaOH } 0.0001 \text{ M}$.

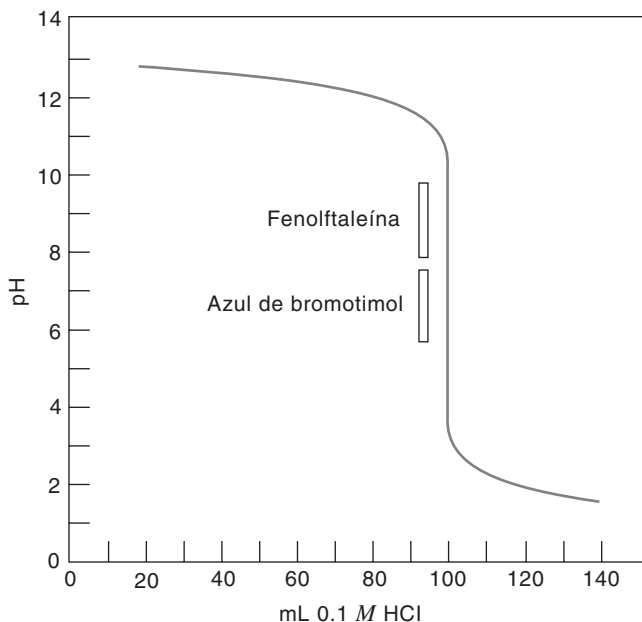


Figura 8.3. Curva de titulación para 100 mL de NaOH 0.1 M contra HCl 0.1 M.

B5). En el punto de equivalencia, es la raíz cuadrada de K_w (fórmula en la **celda B24**). Y más allá del punto de equivalencia, la concentración de hidróxido es igual a los milimoles de NaOH en exceso divididos entre el volumen total (fórmula en la **celda C25**). Obsérvese que las concentraciones tomadas de HCl y NaOH, el volumen de HCl y K_w son números absolutos en las fórmulas. Se introducen las fórmulas para calcular pH a partir de $[H^+]$ (**celda E5**), pOH a partir de $[OH^-]$ (**celda D25**) y pH a partir de pOH (**celda E25**).

La curva de titulación se grafica usando el “Asistente para gráficos”, graficando A5: A35 (eje X) contra E5:E35 (eje Y). Véase el ejercicio de hoja de cálculo en el capítulo 7 para la gráfica de α contra pH, figura 7.1, para los detalles sobre la preparación de la gráfica.

8.2 Detección del punto final: indicadores

El objetivo es que el punto final coincida con el punto de equivalencia.

Se desea determinar cuándo se llega al punto de equivalencia. El punto en el que *se observa que la reacción es completa* se llama **punto final**. Se elige una medición tal que el punto final coincida con el punto de equivalencia, o esté muy cercano a éste. La manera más obvia de determinar el punto final es medir el pH en puntos diferentes de la titulación y hacer una gráfica de éste contra mililitros de titulante. Esto se hace con un medidor de pH, lo cual se comenta en el capítulo 13.

Por lo regular resulta más conveniente agregar un **indicador** a la solución y detectar visualmente un cambio de color. Un indicador para una titulación ácido-base es un ácido débil o una base débil con una coloración muy pronunciada. El color de la forma ionizada es notablemente diferente al de la forma no ionizada. Una forma puede ser incolora, pero la otra debe tener color. Estas sustancias por lo regular están conformadas por sustancias altamente conjugadas que producen el color (véase el capítulo 16).

Supóngase que el indicador es un ácido débil, designado HIn, y que la forma no ionizada es roja, en tanto que la ionizada es azul:



Para esto se puede escribir una ecuación de Henderson-Hasselbach, igual que para otros ácidos débiles:

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{In}} + \log \frac{[\text{In}^-]}{[\text{HIn}]} \quad (8.3)$$

El indicador cambia de color dentro de cierto **intervalo** de pH. El intervalo de transición depende de la capacidad del observador para detectar pequeños cambios de color. Con indicadores en que ambas formas poseen color, por lo general se observa un color sólo si la relación de concentración de las dos formas es 10:1; sólo se ve el color de la forma más concentrada. A partir de esta información, se puede calcular el intervalo de transición de pH necesario para pasar de un color al otro. Cuando sólo se ve el color de la forma no ionizada, $[\text{In}^-]/[\text{HIn}] = \frac{10}{1}$. Por tanto,

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{10}{1} = \text{p}K_a + 1 \quad (8.4)$$

Cuando sólo se observa el color de la forma ionizada, $[\text{In}^-]/[\text{HIn}] = \frac{10}{1}$, y

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{1}{1} = \text{p}K_a - 1 \quad (8.5)$$

De modo que el pH, al pasar de un color al otro, ha cambiado de $\text{p}K_a - 1$ a $\text{p}K_a + 1$. Éste es un cambio de 2 unidades de pH, y *la mayoría de los indicadores requieren un intervalo de transición de alrededor de 2 unidades de pH*. Durante esta transición, el color que se observa es una mezcla de los dos colores.

A mitad de camino en la transición, las concentraciones de las dos formas son iguales, y $\text{pH} = \text{p}K_a$. Obviamente, entonces, *el $\text{p}K_a$ de un indicador debe ser cercano al pH del punto de equivalencia*.

Se pueden hacer cálculos similares a éstos para indicadores de base débil, y revelan el mismo intervalo de transición: el pOH a mitad de camino de la transición es igual a $\text{p}K_b$, y el pH es igual a $14 - \text{p}K_b$. Por tanto, se debe seleccionar un indicador de base débil tal que $\text{pH} = 14 - \text{p}K_b$.

La figura 8.4 ilustra los colores y los intervalos de transición de algunos indicadores utilizados de forma habitual. El intervalo puede ser algo menor en algunos casos, dependiendo de los colores; algunos colores son más fáciles de ver que otros. La transición es más fácil de ver si una forma del indicador es incolora. Por esta razón, por lo regular se utiliza fenolftaleína como indicador para titulaciones ácido-base fuertes, cuando es aplicable (véase la figura 8.1, titulación de HCl 0.1 M). Sin embargo, en soluciones diluidas, la fenolftaleína cae fuera de la porción de alta pendiente de la curva de titulación (figura 8.2), y se debe usar un indicador como el azul de bromotimol. Una situación similar se aplica a la titulación del NaOH con HCl (figura 8.3). En la contratapa interior del libro se da una lista más completa de indicadores.

Como un indicador es un ácido o una base débil, la cantidad agregada debe ser mínima, de modo que no contribuya en forma apreciable al pH y que sólo se necesite una pequeña cantidad de titulante para provocar el cambio de color. Es decir, el cambio de color será más nítido cuando la concentración sea menor porque se necesita menos ácido o base para pasar de una forma a la otra. Por supuesto, se debe agregar suficiente indicador para impartir a la solución un color fácilmente discernible. En general, se prepara una solución de unas pocas décimas por ciento (peso/vol), y se agregan dos o tres gotas a la solución que se va a titular.

En general, los ojos pueden distinguir un color sólo si es 10 veces más intenso que el otro.

Se elige un indicador con un $\text{p}K_a$ cercano al pH del punto de equivalencia.

Véase al final del libro una lista amplia de indicadores.

Dos gotas (0.1 mL) de indicador 0.01 M (solución 0.1% con peso fórmula = 100) son iguales a 0.01 mL de titulante 0.01 M.

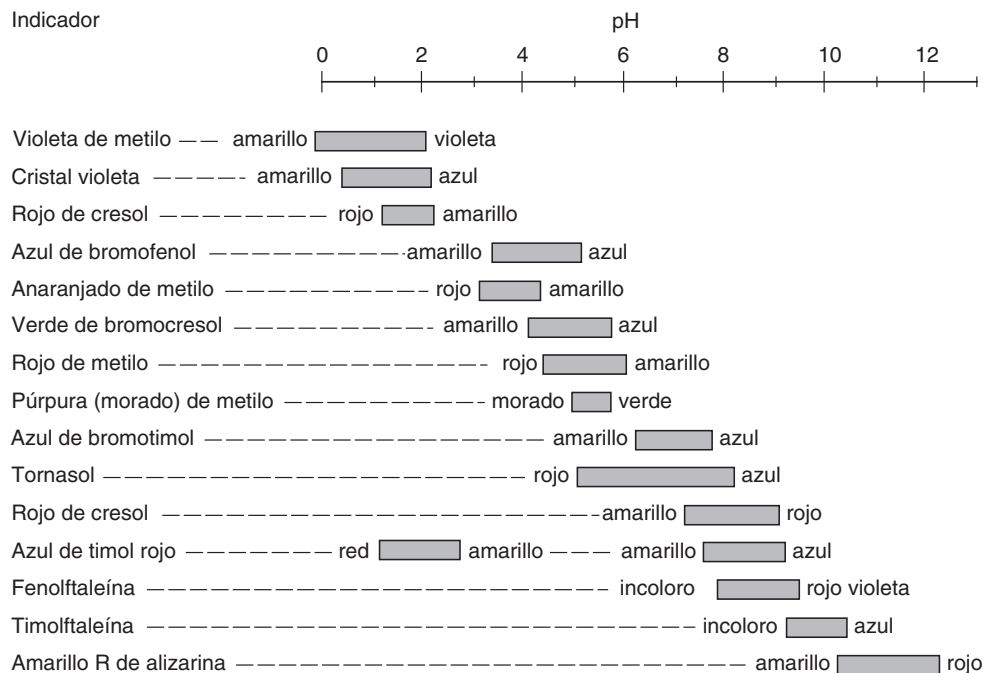


Figura 8.4. Intervalos de transición de pH y colores de algunos indicadores comunes.

8.3 Soluciones estándar ácidas y básicas

Véase el capítulo 2 para los procedimientos especiales que requieren la preparación y estandarización de soluciones ácidas y básicas.

La parte más plana de la curva y la máxima capacidad de amortiguación están en el punto medio.

El ácido clorhídrico por lo regular se utiliza como el ácido fuerte titulante para la titulación de bases, en tanto que el hidróxido de sodio es el titulante que se utiliza para los ácidos. La mayoría de los cloruros son solubles, y son pocas las reacciones secundarias posibles con el HCl. Este reactivo es de fácil manejo.

Ninguno de éstos es un estándar primario, y por tanto se preparan soluciones de concentración aproximada y luego se estandarizan titlando una base primaria o un ácido primario. Se deben tener precauciones especiales para preparar las soluciones, sobre todo las de hidróxido de sodio. En el capítulo 2 se presentan la preparación y la estandarización de soluciones titulantes de ácido clorhídrico y de hidróxido de sodio.

8.4 Ácido débil contra base fuerte: un poco menos sencillo

En la figura 8.5 se muestra la curva de titulación para 100 mL del ácido acético 0.1 M titulado con hidróxido de sodio 0.1 M. La reacción de neutralización es



El ácido acético, que sólo se ioniza unos pocos puntos porcentuales, dependiendo de la concentración, se neutraliza a agua y una cantidad equivalente de la sal, el acetato de sodio. Antes de iniciar la titulación se tiene HOAc 0.1 M, y el pH se calcula como se describe en el capítulo 7 para ácidos débiles.

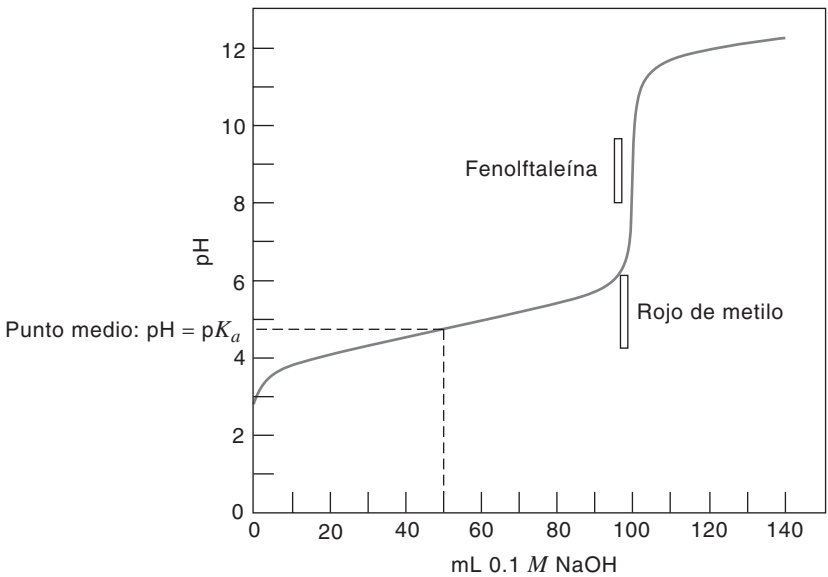


Figura 8.5. Curva de titulación para 100 mL de HOAc 0.1 M contra NaOH 0.1 M.

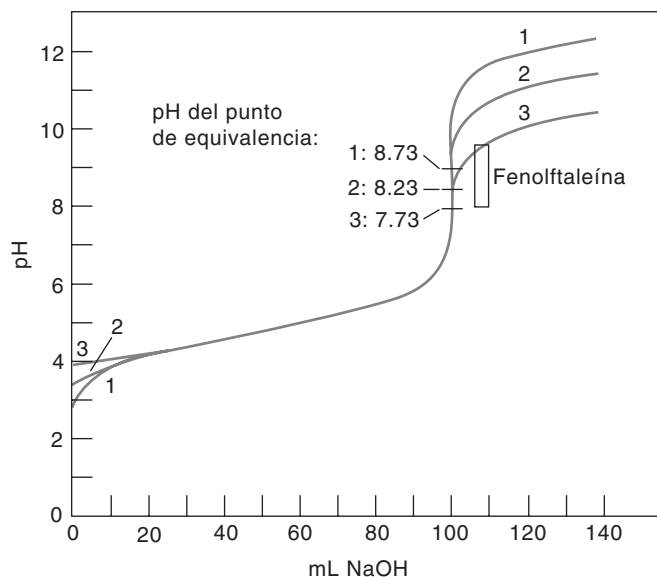
En la tabla 8.2 se resumen las ecuaciones que rigen las diferentes porciones de la curva de titulación, como se desarrollaron en el capítulo 7. Tan pronto como se inicia la titulación, algo de HOAc se convierte en NaOAc y se establece un sistema amortiguador. Conforme avanza la titulación, el pH aumenta lentamente al cambiar la relación $[\text{OAc}^-]/[\text{HOAc}]$. En el *punto medio de la titulación*, $[\text{OAc}^-] = [\text{HOAc}]$, y el *pH es igual a $\text{p}K_a$* . En el punto de equivalencia se tiene una solución de NaOAc. Ya que ésta es una base de Brønsted (se hidroliza) *el pH en el punto de equivalencia debe ser alcalino*. El pH dependerá de la concentración de NaOAc (véanse la ecuación 7.32 y la figura 8.6). Cuanto mayor sea la concentración, mayor será el pH. Como se agrega NaOH en exceso más allá del punto de equivalencia, se suprime la ionización de la base OAc^- hasta una cantidad insignificante (véase la ecuación 7.23) y el pH se determina sólo a partir de la concentración de OH^- en exceso. Por tanto, *la curva de titulación más allá del punto de equivalencia sigue la de titulación de un ácido fuerte*.

Tabla 8.2

Ecuaciones que rigen una titulación de ácido débil (HA) o de base débil (B)

Fracción <i>F</i> titulada	Ácido débil		Base débil	
	Presente	Ecuación	Presente	Ecuación
$F = 0$	HA	$[\text{H}^+] = \sqrt{K_a \cdot C_{\text{HA}}}$ (ec. 7.20)	B	$[\text{OH}^-] = \sqrt{K_b \cdot C_{\text{B}}}$ (Ejemplo 7.8)
$0 < F < 1$	HA/ A^-	$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{C_{\text{A}^-}}{C_{\text{HA}}}$ (ec. 7.45)	B/ BH^+	$\text{pH} = (\text{p}K_w - \text{p}K_b) + \log \frac{C_{\text{B}}}{C_{\text{BH}^+}}$ (ec. 7.56)
$F = 1$	A^-	$[\text{OH}^-] = \sqrt{\frac{K_w}{K_a} \cdot C_{\text{A}^-}}$ (ec. 7.32)	BH^+	$[\text{H}^+] = \sqrt{\frac{K_w}{K_b} \cdot C_{\text{BH}^+}}$ (ec. 7.39)
$F > 1$	OH^-/A^-	$[\text{OH}^-] = [\text{titulante en exceso}]$	H^+/BH^+	$[\text{H}^+] = [\text{titulante en exceso}]$

Figura 8.6. Dependencia de la curva de titulación de un ácido débil con respecto a la concentración. Curva 1: 100 mL de HOAc 0.1 M contra NaOH 0.1 M. Curva 2: 100 mL de HOAc 0.01 M contra NaOH 0.01 M. Curva 3: 100 mL de HOAc 0.001 M contra NaOH 0.001 M.



Ejemplo 8.2

Calcular el pH a 0, 10.0, 25.0, 50.0 y 60.0 mL de titulante en la titulación de 50.0 mL de ácido acético 0.100 M con NaOH 0.100 M.

Solución

A 0 mL, se tiene sólo una solución de HOAc 0.100 M:

$$\frac{(x)(x)}{0.100 - x} = 1.75 \times 10^{-5}$$

$$[\text{H}^+] = x = 1.32 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$\text{pH} = 2.88$$

Se debe llevar la cuenta de los milimoles que reaccionan y de los remanentes.

A 10.0 mL, se comenzó con HOAc 0.100 M $\times$ 50.0 mL = 5.00 mmol HOAc; parte reaccionó con el OH⁻ y se convirtió a OAc⁻:

mmol HOAc al inicio	= 5.00 mmol HOAc
mmol OH ⁻ agregados = 0.100 M $\times$ 10.0 mL	= 1.00 mmol OH ⁻
	= mmol OAc ⁻ formados en 60.0 mL
mmol HOAc remanentes	= 4.00 mmol HOAc en 60.0 mL

Se tiene un amortiguador. Como los volúmenes se cancelan, se usan milimoles:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{OAc}^-]}{[\text{HOAc}]}$$

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{1.00}{4.00} = 4.16$$

A 25.0 mL, la mitad del HOAc se ha convertido a OAc^- , de modo que $\text{pH} = \text{p}K_a$:

$$\begin{aligned}\text{mmol HOAc en el inicio} &= 5.00 \text{ mmol HOAc} \\ \text{mmol OH}^- = 0.100 \text{ M} \times 25.0 \text{ mL} &= 2.50 \text{ mmol OAc}^- \text{ formados} \\ \text{mmol HOAc remanentes} &= 2.50 \text{ mmol HOAc}\end{aligned}$$

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{2.50}{2.50} = 4.76$$

A 50.0 mL, todo el HOAc se ha convertido a OAc^- (5.00 mmol en 100 mL, o 0.0500 M):

$$\begin{aligned}[\text{OH}^-] &= \sqrt{\frac{K_w}{K_a} [\text{OAc}^-]} \\ &= \sqrt{\frac{1.0 \times 10^{-14}}{1.75 \times 10^{-5}} \times 0.0500} = 5.35 \times 10^{-6} \text{ M} \\ \text{pOH} &= 5.27 \quad \text{pH} = 8.73\end{aligned}$$

A 60.0 mL, se tiene una solución de NaOAc y NaOH agregado en exceso. La hidrólisis del acetato es imperceptible en presencia del OH^- agregado, de modo que el pH se determina por la concentración del OH^- en exceso:

$$\begin{aligned}\text{mmol OH}^- &= 0.100 \text{ M} \times 10.0 \text{ mL} = 1.00 \text{ mmol en 110 mL} \\ [\text{OH}^-] &= 0.00909 \text{ M} \\ \text{pOH} &= -2.04; \text{pH} = 11.96\end{aligned}$$

La región ligeramente ascendente antes del punto de equivalencia es la **región amortiguadora**. La parte más plana se ubica en el punto medio, es decir, donde la relación $[\text{OAc}^-]/[\text{HOAc}]$ es 1 (véanse amortiguadores y capacidad amortiguadora en la sección 7.7), y por tanto la **capacidad amortiguadora es máxima a un pH correspondiente a $\text{p}K_a$** . La capacidad amortiguadora depende también de las concentraciones de HOAc y OAc^- , y la **capacidad total amortiguadora** aumenta al incrementarse la concentración. En otras palabras, la distancia de la porción plana a ambos lados de $\text{p}K_a$ aumentará al elevarse $[\text{HOAc}]$ y $[\text{OAc}^-]$. Al desviarse el pH al lado ácido para $\text{p}K_a$, el amortiguador tolerará más base pero menos ácido; sin embargo, el cambio en pH con una pequeña cantidad dada de base agregada será mayor que a un pH igual a $\text{p}K_a$ porque la curva no es tan plana. A la inversa, del lado alcalino de $\text{p}K_a$ se puede tolerar más ácido pero menos base. Véase el capítulo 7 para una explicación de la capacidad de los amortiguadores.

Se habrá notado que la región correspondiente para una titulación ácido fuerte-base fuerte (figuras 8.1 y 8.2) es mucho más plana que para el caso de un ácido débil. A este respecto, una solución de un ácido fuerte o de una base fuerte es mucho más resistente a cambios de pH por adición de H^+ o de OH^- que los sistemas amortiguadores que se han analizado. El problema es que están restringidas a una región de pH muy estrecha, ya sea muy ácida o muy alcalina, en especial si la concentración del ácido o la base ha de ser lo suficientemente fuerte como para tener una capacidad significativa contra un cambio de pH. De modo que estas regiones rara vez tienen valor práctico para amortiguación. Asimismo, las soluciones de ácidos y bases fuertes no son resistentes a cambios de pH por dilución, en tanto que los amortiguadores sí. Así, por lo regular se utilizan mezclas de ácidos o bases débiles con sus sales, de modo que se pueda seleccionar la región de pH

Véase la sección 7.7 para la descripción cuantitativa de la capacidad amortiguadora.

Los ácidos fuertes son realmente buenos amortiguadores, aunque su pH cambia con la dilución.

que se desee. A menudo se usa un amortiguador para dar sólo un pH específico, y no se agregan otros ácidos ni otras bases. Se puede obtener más fácilmente un pH deseado con amortiguadores convencionales que con un ácido fuerte o una base fuerte.

El intervalo de transición del indicador para esta titulación de un ácido débil debe caer dentro de un intervalo de pH de alrededor de 7 a 10 (véase la figura 8.5). La fenolftaleína se adapta perfectamente a esto. Si se usa un indicador como el rojo de metilo, comenzaría a cambiar de color poco después de comenzar la titulación y cambiaría gradualmente al color alcalino hasta pH 6, antes incluso de que se llegara al punto de equivalencia.

En la figura 8.6 se muestra la dependencia de la forma de la curva de titulación y del pH del punto de equivalencia con respecto a la concentración para diferentes concentraciones de HOAc y NaOH. Obviamente, no se podría usar fenolftaleína como indicador para soluciones tan diluidas como $10^{-3} M$ (curva 3). Obsérvese que el pH del punto de equivalencia disminuye al hacerse más diluido el sistema de ácido débil (lo cual no sucede en el sistema de ácido fuerte).

La titulación de ácidos débiles requiere una selección cuidadosa del indicador.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	50.00 mL 0.05000M HOAc vs. 0.05000M NaOH.						K _w :	1.00E-14
2	mL _{HOAc} :	50.00	M _{HOAc} :	0.05000	M _{NaOH} :	0.05000	K _a :	1.75E-05
3	mL _{NaOH}	Solución	[HOAc]	[OAc ⁻]	[H ⁺]	[OH ⁻]	pOH	pH
4	0.00	HOAc			0.0009354			3.03
5	2.00	HOAc/OAc ⁻	0.046154	0.001923				3.38
6	5.00	HOAc/OAc ⁻	0.040909	0.004545				3.80
7	10.00	HOAc/OAc ⁻	0.033333	0.008333				4.15
8	15.00	HOAc/OAc ⁻	0.026923	0.011538				4.39
9	20.00	HOAc/OAc ⁻	0.021429	0.014286				4.58
10	25.00	HOAc/OAc ⁻	0.016667	0.016667				4.76
11	30.00	HOAc/OAc ⁻	0.0125	0.01875				4.93
12	35.00	HOAc/OAc ⁻	0.008824	0.020588				5.12
13	40.00	HOAc/OAc ⁻	0.005556	0.022222				5.36
14	45.00	HOAc/OAc ⁻	0.002632	0.023684				5.71
15	48.00	HOAc/OAc ⁻	0.00102	0.02449				6.14
16	49.00	HOAc/OAc ⁻	0.000505	0.024747				6.45
17	49.50	HOAc/OAc ⁻	0.000251	0.024874				6.75
18	49.95	HOAc/OAc ⁻	2.5E-05	0.024987				7.76
19	50.00	OAc ⁻				3.77964E-06	5.42	8.58
20	50.05	OH ⁻				2.49875E-05	4.60	9.40
21	50.50	OH ⁻				0.000248756	3.60	10.40
22	51.00	OH ⁻				0.00049505	3.31	10.69
23	52.00	OH ⁻				0.000980392	3.01	10.99
24	55.00	OH ⁻				0.002380952	2.62	11.38
25	60.00	OH ⁻				0.004545455	2.34	11.66
26	65.00	OH ⁻				0.006521739	2.19	11.81
27	70.00	OH ⁻				0.008333333	2.08	11.92
28	Fórmulas para celdas en negritas :							
29	Celda E4:	[H ⁺] = (K _a [HOAc]) ^{1/2} =		SQRT(\$H\$2*\$D\$2)				
30	Celda H4:	pH = -log[H ⁺] =		(-LOG10(E4))				
31	Celda C5:	[HOAc] = (mL _{HOAc} x M _{HOAc} - mL _{NaOH} x M _{NaOH})/(mL _{HOAc} + mL _{NaOH})						
32		= (\$B\$2*\$D\$2-A5*\$F\$2)/(\$B\$2+A5)		(Copiar hasta la celda C18)				
33	Celda D5:	[OAc ⁻] = (mL _{NaOH} x M _{NaOH})/(mL _{HOAc} + mL _{NaOH})						
34		= (A5*\$F\$2)/(\$B\$2+A5)		(Copiar hasta la celda D18)				
35	Celda H5:	pH = pK _a + log([OAc ⁻]/[HOAc])						
36		= (-LOG10(\$H\$2)+LOG10(D5/C5))		(Copiar hasta la celda H18)				
37	Celda F19:	[OH ⁻] = (K _w [OAc ⁻]/K _a) ^{1/2}						
38		= SQRT(\$H\$1*(\$D\$2/2)/\$H\$2)						
39	Celda G19:	pOH = -log[OH ⁻] =		(-LOG10(F19))		(Copiar hasta el final)		
40	Celda H19:	pH = 14 - pOH =		14-G19		(Copiar hasta el final)		
41	Celda F20:	[OH ⁻] = (mL _{NaOH} x M _{NaOH} - mL _{HOAc} x M _{HOAc})/(mL _{HOAc} + mL _{NaOH})						
42		= (A20*\$F\$2-\$B\$2*\$D\$2)/(\$B\$2+A20)		(Copiar hasta el final)				

Hoja de cálculo para acompañar a los comentarios de la página siguiente.

EJERCICIO DE HOJA DE CÁLCULO: HOAc CONTRA NaOH

Preparar una hoja de cálculo para construir la curva de titulación para titular 50 mL de HOAc 0.05 M con NaOH 0.05 M. Se introducen primero los valores absolutos para el volumen (celda B2) y la concentración (celda D2) del HOAc, la concentración del NaOH (celda F2), K_w (celda G1) y K_a (celda H2). Éstas se usarán en las siguientes fórmulas para calcular el pH en función del volumen de NaOH agregado.

Al inicio de la titulación, $[H^+]$ es igual a $\sqrt{K_a[HOAc]}$ (fórmula en **celda E4**). El pH se calcula a partir de ésta (fórmula en **celda H4**). Una vez que se inicia la titulación y hasta el punto de equivalencia, se tiene un amortiguador de HOAc y OAc^- , y por tanto se deben calcular las concentraciones de cada uno. La primera es el número de milimoles de HOAc remanente divididos entre el volumen total (fórmula en **celda C5**). El $[OAc^-]$ es el número de milimoles de NaOH agregados dividido entre el volumen total (fórmula en **celda D5**). El pH se calcula a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch (fórmula en **celda H5**). En el punto de equivalencia, $[OH^-]$ se determina a partir de la concentración de OAc^- (fórmula en **celda F19**), y a partir de esto se calculan el pOH (**celda G19**) y el pH (**celda H19**). El pH para el resto de la titulación se calcula a partir del exceso de milimoles de NaOH y el volumen total (fórmula en **celda F20**), como se hizo para la titulación de HCl.

La curva de titulación se grafica usando el “Asistente para gráficos”, graficando A4:A27 (eje X) contra H4:H27 (eje Y).

El punto de equivalencia para la titulación de cualquier ácido débil con una base fuerte será alcalino. *Cuanto más débil sea el ácido* (cuanto menor sea K_a), mayor será el K_b de la sal y *más alcalino será el punto de equivalencia*.

Se debe observar que los valores de pH calculados mediante las ecuaciones relativamente sencillas que se presentan aquí se apartan de la realidad cerca del punto de equivalencia para ácidos y bases débiles, porque las suposiciones que se usaron en su derivación ya no son aplicables. Incluso para las titulaciones ácido-base fuertes, se llega a un punto muy cercano al punto de equivalencia en el que la ionización del agua se vuelve apreciable en comparación con la concentración de ácido o de base en exceso, y los cálculos contienen error. Se pueden constatar estas limitaciones insertando en los ejemplos de hoja de cálculo valores de titulante que sean, por ejemplo, 99.99% o 99.999% y observando dónde se cae el valor de pH calculado con respecto a la curva que, de otro modo, sería continua.

La figura 8.7 muestra las curvas de titulación para 100 mL de soluciones 0.1 M de ácidos débiles de diferentes valores K_a titulados con NaOH 0.1 M. La nitidez del punto

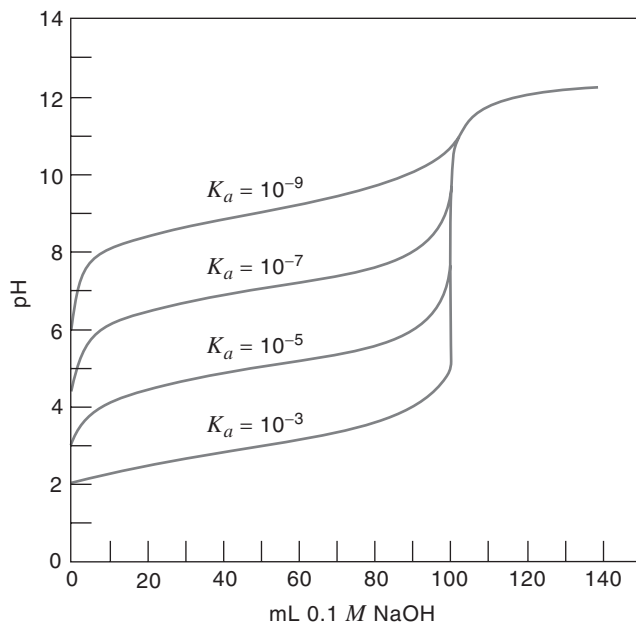


Figura 8.7. Curvas de titulación para 100 mL de ácidos débiles 0.1 M de diferentes valores K_a contra NaOH 0.1 M.

final se reduce al disminuir K_a . Como en la figura 8.6, la nitidez también disminuye al reducir la concentración. En general, para macrotitulaciones (alrededor de 0.1 M), se pueden titular con exactitud ácidos con valores de K_a de 10^{-6} con un indicador visual, y con comparaciones adecuadas de color, los ácidos con valores de K_a que tienden a 10^{-8} se pueden titular con una exactitud razonable. Se puede usar un medidor de pH para obtener mejor precisión para los ácidos muy débiles graficando la curva de titulación.

8.5 Base débil contra ácido fuerte

La titulación de una base débil con un ácido fuerte es totalmente análoga al caso anterior, pero las curvas de titulación son inversas a las correspondientes a ácido débil contra base fuerte. En la figura 8.8 se muestra la curva de titulación para 100 mL de amoníaco 0.1 M titulado con ácido clorhídrico 0.1 M. La reacción de neutralización es



Al principio de la titulación se tiene NH_3 0.1 M, y el pH se calcula como se describió para las bases débiles en el capítulo 7. Véase la tabla 8.2. Tan pronto como se agrega algo de ácido, algo del amoníaco se convierte en NH_4^+ y se ingresa a la región amortiguadora. En el *punto medio de la titulación*, $[\text{NH}_4^+]$ es igual a $[\text{NH}_3]$, y *el pH es igual a* $(14 - pK_b)$. En el *punto de equivalencia*, se tiene una solución NH_4Cl , un ácido débil de Brønsted que se hidroliza para dar una **solución ácida**. De nuevo, el pH dependerá de la concentración: cuanto mayor sea la concentración, menor será el pH (véase la ecuación 7.39). Más allá del punto de equivalencia, el H^+ libre suprime la ionización (véase la ecuación 7.33), y el pH está determinado por la concentración de H^+ agregado en exceso. Por tanto, la curva de titulación más allá del punto de equivalencia seguirá la de titulación de una base fuerte (figura 8.3). Como K_b para el amoníaco casualmente es igual a K_a para el ácido acético, la curva de titulación para amoníaco contra un ácido fuerte es sólo la imagen especular de la curva de titulación de ácido acético contra una base fuerte.

En la figura 8.8, el indicador para la titulación debe tener un intervalo de transición dentro de un pH 4 a 7. El rojo de metilo cumple con este requisito, como se muestra en la figura. Si se hubiera usado fenolftaleína como indicador, habría perdido gradualmente su color entre pH 10 y 8, antes de alcanzar el punto de equivalencia.

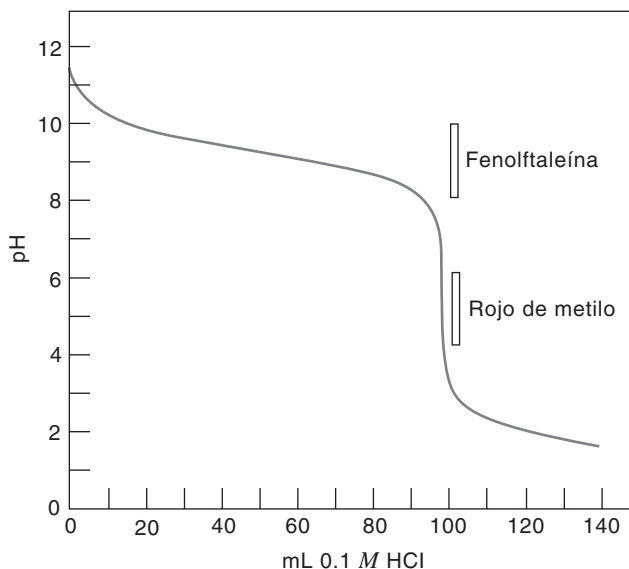


Figura 8.8. Curva de titulación para 100 mL de NH_3 0.1 M contra HCl 0.1 M.

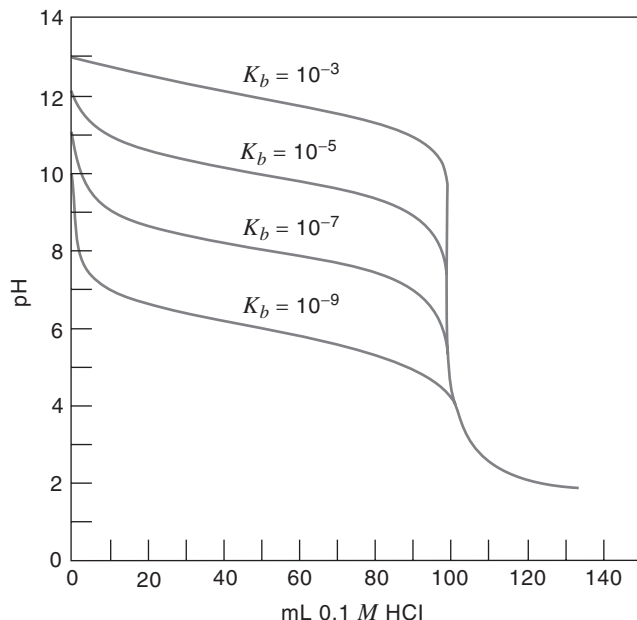
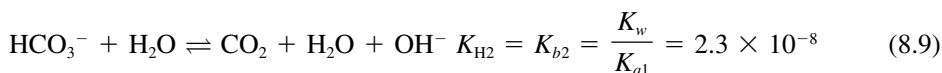
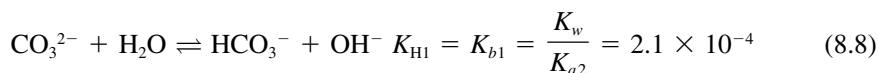


Figura 8.9. Curvas de titulación para 100 mL de bases débiles 0.1 M de diferentes valores de K_b contra HCl 0.1 M.

Las curvas de titulación de diferentes concentraciones de NH_3 titulado con concentraciones variables de HCl serían imágenes especulares de las curvas de la figura 8.6. No se podría usar como indicador el rojo de metilo en soluciones diluidas. En la figura 8.9 se muestran las curvas de titulación para bases débiles con diferentes valores de K_b (100 mL, 0.1 M) contra HCl 0.1 M. En las macrotitulaciones se puede titular con exactitud una base con K_b de 10^{-6} usando un indicador visual.

8.6 Titulación de carbonato de sodio: una base diprótica

El carbonato de sodio es una base Brønsted que se usa como estándar primario para la estandarización de ácidos fuertes. Se hidroliza en dos etapas:



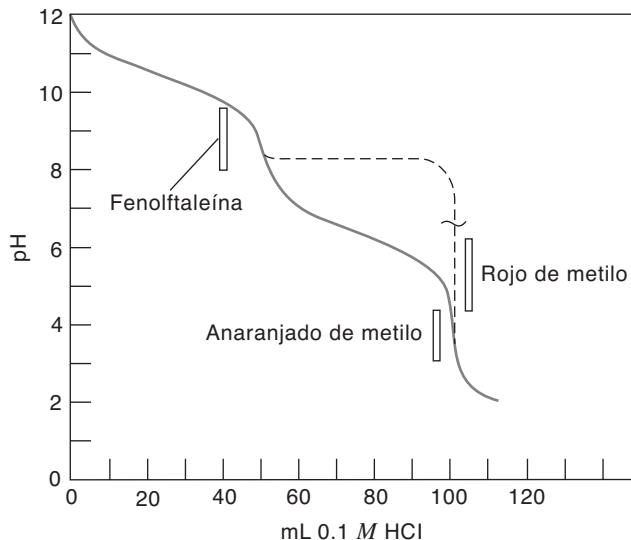
donde K_{a1} y K_{a2} se refieren a valores de K_a de H_2CO_3 ; HCO_3^- es el ácido conjugado de CO_3^{2-} y H_2CO_3 es el ácido conjugado de HCO_3^- , y los valores de K_b se calculan como se describe en el capítulo 7 para sales de ácidos y bases débiles (es decir, de $K_a K_b = K_w$).

El carbonato de sodio se puede titular para dar puntos finales correspondientes a las adiciones consecutivas de protones para formar HCO_3^- y CO_2 . (El ácido carbónico, H_2CO_3 , se disocia en solución ácida a CO_2 —su anhídrido ácido— y H_2O .) Los valores de K_b deben diferir por lo menos en 10^4 para obtener buena separación de las inflexiones de sus puntos de equivalencia en un caso como éste.

En la figura 8.10 se muestra (con línea continua) una curva de titulación para Na_2CO_3 contra HCl. Aun cuando K_{b1} es considerablemente mayor que el 10^{-6} necesario para un punto final nítido, la inflexión del pH disminuye debido a la formación de CO_2 más allá del primer punto de equivalencia. El segundo punto final no es muy nítido debido a que

La línea punteada es sólo para HCO_3^- , para el cual $[\text{H}^+] = \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$ para la porción horizontal.

Figura 8.10. Curva de titulación para 50 mL de Na_2CO_3 0.1 M contra HCl 0.1 M. La línea punteada representa una solución hervida, de la que se ha removido el CO_2 .



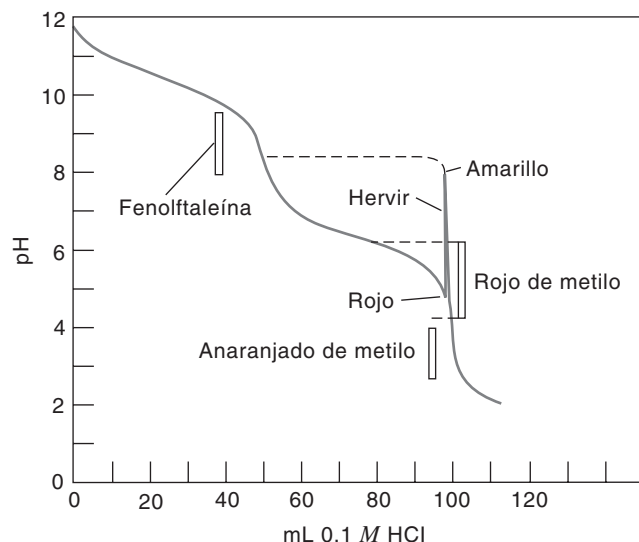
K_{b2} es menor que 10^{-6} , como se hubiera deseado. Por fortuna, este punto final puede hacerse nítido gracias a que el CO_2 que se produce por la neutralización del HCO_3^- es volátil y se puede eliminar por ebullición de la solución. Esto se describirá más adelante.

Al inicio de la titulación, el pH estará determinado por la hidrólisis de la base CO_3^{2-} de Brønsted. Después de que la titulación ha comenzado, parte del CO_3^{2-} se convierte en HCO_3^- y se establece una región amortiguadora $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$. En el primer punto de equivalencia hay una solución de HCO_3^- , y $[\text{H}^+] \approx \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$. Más allá del primer punto de equivalencia, el HCO_3^- se convierte parcialmente en $\text{H}_2\text{CO}_3(\text{CO}_2)$ y se establece una segunda región amortiguadora donde el pH se establece mediante $[\text{HCO}_3^-]/[\text{CO}_2]$. El pH en el segundo punto de equivalencia está determinado por la concentración del ácido débil CO_2 .

La fenolftaleína se usa para detectar el primer punto final y el anaranjado de metilo para detectar el segundo. Sin embargo, ninguno de los dos puntos finales es muy nítido. En la práctica, el punto final de fenolftaleína se usa sólo para obtener una aproximación de dónde se encontrará el segundo punto final; la fenolftaleína es incolora más allá del primer punto final, y no interfiere. El segundo punto de equivalencia, que se usa para titulaciones exactas, normalmente no es muy exacto con el indicador de anaranjado de metilo debido al cambio gradual del color del anaranjado de metilo. Esto se debe a la disminución gradual del pH por el sistema amortiguador $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ más allá del primer punto final.

Si más allá del primer punto de equivalencia se pusiera a hervir la solución después de cada adición de HCl para remover el CO_2 de la solución, se eliminaría el sistema amortiguador $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$, dejando en solución sólo el HCO_3^- . Éste es tanto un ácido débil como una base débil cuyo pH (≈ 8.3) es independiente de las concentraciones ($[\text{H}^+] = \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$ o $[\text{OH}^-] = \sqrt{K_{b1}K_{b2}}$; véase el capítulo 7). En efecto, el pH permanecería entonces esencialmente constante hasta el punto de equivalencia, donde lo que queda es una solución neutra de agua y NaCl ($\text{pH} = 7$). La curva de titulación seguiría entonces la línea punteada de la figura 8.10.

Por tanto, se puede usar el siguiente procedimiento para hacer nítido el punto final, como se ilustra en la figura 8.11. Se usa rojo de metilo como indicador, y la titulación continúa hasta que la solución vire, pasando del amarillo al naranja, hasta un color rojo definido. Esto sucederá apenas antes del punto de equivalencia. El cambio será muy gradual porque el color comenzará a cambiar alrededor de un pH de 6.3, exactamente antes del punto de equivalencia. En este punto se detiene la titulación y se hierva suavemente la solución para remover el CO_2 . El color se debe revertir ahora al amarillo, porque se tiene una solución diluida sólo con HCO_3^- . La solución se enfría y se continúa la titulación hasta un cambio definido de color a rojo o rosado. El punto de equivalencia aquí no ocu-



La ebullición de la solución elimina el CO_2 , elevando el pH al del HCO_3^- .

Figura 8.11. Titulación de 50 mL de Na_2CO_3 0.1 M con HCl 0.1 M, usando indicador de rojo de metilo.

re a $\text{pH} = 7$, como se indica en la línea punteada de la figura 8.10, porque hay una pequeña cantidad de HCO_3^- que todavía queda por titular después de la ebullición. Es decir, habrá todavía un ligero efecto amortiguador durante todo el resto de la titulación, y todavía permanecerá el CO_2 diluido en el punto de equivalencia.

Se puede usar verde de bromocresol de modo similar al rojo de metilo. Su intervalo de transición es de pH 3.8 a 5.4, con cambio de color de azul a amarillo pasando por el verde pálido (véase el experimento 7). De modo similar se puede usar púrpura de metilo (véase el experimento 19).

Se puede usar el punto final del anaranjado de metilo (sin hervir) agregando un colorante azul, xileno cianol FF, al indicador. Esta mezcla se llama **anaranjado de metilo modificado**. El color azul es complementario del color naranja del anaranjado de metilo alrededor de pH 2.8. Esto imparte un color gris al punto de equivalencia, cuyo intervalo de transición es menor que el del anaranjado de metilo. Esto da por resultado un punto final más nítido. Con todo, no es tan nítido como el punto final del rojo de metilo. También se puede usar el anaranjado de metilo titulando hasta el color del indicador en una solución de ftalato ácido de potasio, que tiene un pH cercano a 4.0

8.7 Titulación de ácidos polipróticos

Los ácidos dipróticos se pueden titular por etapas, como se tituló el carbonato de sodio. Para obtener buenas inflexiones en el punto final para la titulación del primer protón, K_{a1} debe ser por lo menos $10^4 \times K_{a2}$. Si K_{a2} está dentro del intervalo requerido de 10^{-7} a 10^{-8} , necesario para una titulación exitosa, se obtiene una inflexión de punto final para la titulación del segundo protón. Los ácidos tripróticos (por ejemplo H_3PO_4) se pueden titular de manera similar, pero K_{a3} por lo general es demasiado pequeña para obtener una inflexión en el punto final para la titulación del tercer protón. La figura 8.12 ilustra la curva de titulación para un ácido diprótico H_2A , y la tabla 8.3 resume las ecuaciones que rigen las diferentes porciones de la curva de titulación. El pH al principio de la titulación está determinado por la ionización del primer protón si la solución no se encuentra demasiado diluida (véase la explicación de ácidos polipróticos en el capítulo 7). Si K_{a1} no es demasiado grande y la cantidad disociada se minimiza en comparación con la concentración analítica del ácido, se puede usar la ecuación aproximada dada para calcular $[\text{H}^+]$. De otra manera se debe usar la fórmula cuadrática para resolver la ecuación 7.20 (véase el ejemplo 7.17).

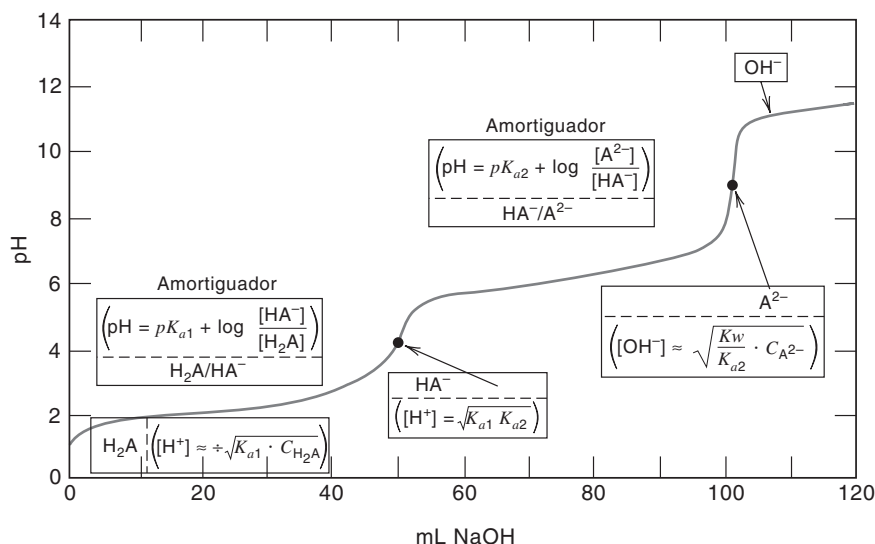


Figura 8.12. Titulación de un ácido diprótico, H_2A , con hidróxido de sodio.

Durante la titulación hasta el primer punto de equivalencia se establece una región amortiguadora HA^-/H_2A . En el primer punto de equivalencia existe una solución de HA^- , y $[H^+] \approx \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$. Más allá de este punto existe un amortiguador de A^{2-}/HA^- , y finalmente en el segundo punto de equivalencia, el pH está determinado por la hidrólisis de A^{2-} . Si la sal, A^{2-} , no es una base demasiado fuerte, entonces se puede usar la ecuación aproximada dada con anterioridad para calcular $[OH^-]$. De otra manera, se debe usar la ecuación cuadrática para resolver la ecuación 7.29 (véase el ejemplo 7.19).

La figura 8.12 y la tabla 8.3 ilustran cuáles especies están presentes en cada parte de la curva de titulación. Como se indica, si K_{a1} o K_{b1} ($=K_w/K_{a1}$) es lo suficientemente grande, no se pueden hacer suposiciones para simplificar y se debe usar la ecuación cuadrática para el inicio de la titulación o en el segundo punto de equivalencia. En la práctica, hay pocos ácidos dipróticos en los que no se da este caso, ya sea para una o para el otro.

Tabla 8.3

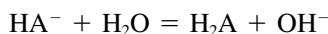
Ecuaciones que rigen la titulación de ácidos dipróticos (H_2A)

Fracción F titulada	Presentes	Ecuación
$F = 0$ (0%)	H_2A	$[H^+] \approx \sqrt{K_{a1}C_{H_2A}}$ (Ejemplo 7.7) (o ec. 7.20; ej. 7.17, cuadrática, si $\sim$ ácido fuerte)
$0 < F < 1$ (>0 a <100%)	H_2A/HA^-	$pH = pK_{a1} + \log \frac{C_{HA^-}}{C_{H_2A}}$ (ec. 7.45) (o $C_{HA^-} + [H^+]$ y $C_{H_2A} - [H^+]$ si un ácido fuerte)
$F = 1$ (100%) (1a. ec. pte.)	HA^-	$[H^+] \approx \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$ (ec. 7.84) (o ec. 7.83 si $H_2A \sim$ ácido fuerte)
$1 < F < 2$ (>100 a <200%)	HA^-/A^{2-}	$pH = pK_{a2} + \log \frac{C_{HA^{2-}}}{C_{HA^-}}$ (ec. 7.45, ej. 7.16, 7.22)
$F = 2$ (200%) (2a. ec. pte.)	A^{2-}	$[OH^-] \approx \sqrt{\frac{K_w}{K_{A2}} \cdot C_{A^{2-}}}$ (ec. 7.32) (o ec. 7.29, ej. 7.19, cuadrática si $A^{2-} \sim$ base fuerte)
$F > 2$ (>200%)	OH^-/A^{2-}	$[OH^-] = [\text{titulante en exceso}]$

Además, si K_{a1} es lo suficientemente grande (por ejemplo, ácido crómico, $K_{a1} = 0.18$, $K_{a2} = 3.2 \times 10^{-7}$) entonces no se puede usar la ecuación de Henderson-Hasselbalch para la *primera región amortiguadora*, porque la suposición al derivarla de la expresión de K_{a1} fue que la cantidad de H^+ o de OH^- de la disociación o hidrólisis de H_2A o HA^- no era apreciable en comparación con sus concentraciones. Para un ácido apreciablemente fuerte, entonces, se puede escribir



y



La concentración de equilibrio de H_2A disminuye con respecto a la concentración analítica calculada en una cantidad igual a $[H^+]$, y aumenta en una cantidad igual a $[OH^-]$:

$$[H_2A] = C_{H_2A} - [H^+] - [OH^-]$$

La de HA^- aumenta por $[OH^-]$ y disminuye por $[H^+]$:

$$[HA^-] = C_{HA^-} + [H^+] - [OH^-]$$

Como la solución es ácida, se puede despreciar $[OH^-]$:

$$[H_2A] = C_{H_2A} - [H^+]$$

$$[HA^-] = C_{HA^-} + [H^+]$$

(Para simplificar, se podrían haber escrito las mismas ecuaciones sólo a partir de la disociación de H_2A arriba.) De modo que, para un ácido apreciablemente fuerte, se debe sustituir en $K_{a1} = [H^+][HA^-]/[H_2A]$ la expresión $[H_2A] = C_{H_2A} - [H^+]$, y $[HA^-] = C_{HA^-} + [H^+]$, y resolver una ecuación cuadrática para la región amortiguadora, donde C_{H_2A} y C_{HA^-} son las concentraciones calculadas que resultan de la reacción ácido-base en un punto dado de la titulación:

$$[H^+]^2 + (K_{a1} + C_{HA^-})[H^+] - K_{a1}C_{H_2A} = 0$$

También, si K_{b1} para A^{2-} es demasiado grande, entonces en cuanto haya pasado el segundo punto de equivalencia, el OH^- de la hidrólisis de A^{2-} no se podrá ignorar en comparación con la concentración de OH^- del exceso de titulante. De este modo, se seguirá usando la expresión de K_{b1} , $K_{b1} = K_w/K_{a2} = [HA^-][OH^-]/[A^{2-}]$: $[A^{2-}] = C_{A^{2-}} - [OH^-]$, $[HA^-] = [OH^-]$, y se resolverá la ecuación cuadrática. Después de agregar, por ejemplo, 0.5 mL de NaOH, hay suficiente exceso de OH^- para suprimir la hidrólisis de A^{2-} , y se puede calcular el pH sólo a partir del exceso de concentración de OH^- . Finalmente, para HA^- en el *primer punto de equivalencia*, es probable que se tenga que usar la ecuación 7.83, más exacta, en lugar de la 7.84 para el cálculo de $[H^+]$ para obtener el pH correcto, ya que K_{a1} puede ser apreciable en comparación con $[HA^-]$ ($K_{a1}K_w$ en el numerador probablemente aún serán despreciables). Entonces,

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_{a1}K_{a2}[HA^-]}{K_{a1} + [HA^-]}}$$

Y muy cerca de los puntos de equivalencia, es probable que se requieran expresiones aún más complicadas.

Si para los cálculos se usa el procedimiento sistemático con ecuaciones de balance de masa, entonces se utilizan las expresiones exactas del balance de masa en las que, de igual manera, no se aplican suposiciones de simplificación (salvo que en solución ácida se excluye el OH^- pero no el H^+ , y en la solución alcalina se pueden excluir A^{2-} , H^+ , pero no OH^-).

No se construirá aquí una curva de titulación diprótica; pero si se desea llevar a cabo un buen ejercicio mental, ¡se puede intentar! Sólo en este caso no es posible hacer las suposiciones de simplificación que por lo regular se utilizan con los ácidos monopróticos que son lo suficientemente débiles o no demasiado diluidos.

8.8 Mezclas de ácidos o bases

Un ácido debe ser por lo menos 10^4 más débil que el otro para titularse por separado.

Las mezclas de ácidos (o bases) se pueden titular por etapas si hay una diferencia apreciable en sus fortalezas. *Generalmente debe haber una diferencia en los valores de K_a de por lo menos 10^4 , a menos, quizá, que se use un medidor de pH para construir la curva de titulación.* Si uno de los ácidos es fuerte, se observará un punto final separado sólo para el ácido débil si se cumple que K_a sea 10^{-5} o menor. Véase, por ejemplo, la figura 8.13, donde sólo se ve una pequeña inflexión para el HCl. El ácido más fuerte se titulará primero y dará una inflexión de pH en su punto de equivalencia. Esto estará seguido por la titulación del ácido más débil y una inflexión de pH en su punto de equivalencia. En la figura 8.13 se muestra la curva de titulación para una mezcla de ácidos clorhídrico y acético contra hidróxido de sodio. En el punto de equivalencia para HCl, queda una solución de HOAc y NaCl, de modo que el punto de equivalencia es ácido. Más allá del punto de equivalencia, se establece la región amortiguadora de OAc^-/HOAc , y esto suprime notablemente la inflexión del pH para el HCl. El resto de la curva de titulación es idéntico a la figura 8.5 para la titulación de HOAc.

Si dos ácidos fuertes se titulan juntos no habrá diferenciación entre ellos y sólo se presentará una inflexión de punto de equivalencia correspondiente a la titulación de ambos

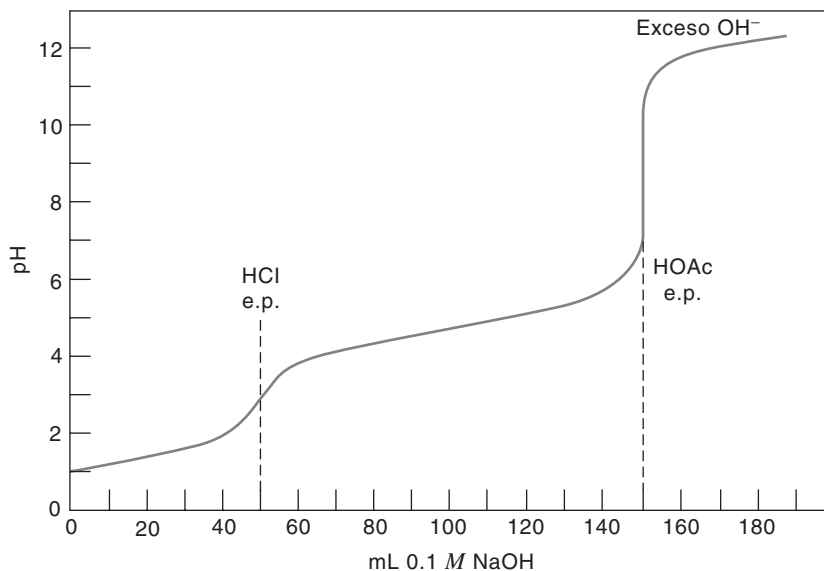


Figura 8.13. Curva de titulación para 50 mL de una mezcla de HCl 0.1 M y HOAc 0.2 M con NaOH 0.1 M.

ácidos. Lo mismo es válido para dos ácidos débiles si sus valores K_a no presentan una diferencia notable. Por ejemplo, una mezcla de ácido acético, $K_a = 1.75 \times 10^{-5}$, y ácido propiónico, $K_a = 1.3 \times 10^{-5}$, se titularía en forma conjunta para dar un solo punto de equivalencia.

Con H_2SO_4 , el primer protón se disocia por completo y el segundo tiene una K_a de alrededor de 10^{-2} . Por tanto, el segundo protón se ioniza lo suficiente como para ser titulado como ácido fuerte, y sólo se encuentra una inflexión en el punto de equivalencia. Lo mismo ocurre para una mezcla de un ácido fuerte y un ácido débil con una K_a cercana a 10^{-2} .

La primera constante de ionización del ácido sulfuroso, H_2SO_3 , es 1.3×10^{-2} , y la segunda constante de ionización es 5×10^{-6} . Por tanto, en una mezcla con HCl , el primer protón del H_2SO_3 se titularía junto con el HCl , y el pH en el punto de equivalencia quedaría determinado por el HSO_3^- remanente; es decir, $[\text{H}^+] = \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$, ya que HSO_3^- es tanto ácido como básico. A esto seguiría la titulación del segundo protón para dar un segundo punto de equivalencia. El volumen de titulante consumido para alcanzar el primer punto final sería siempre mayor que el consumido para ir del primero al segundo, ya que el primero incluye la titulación de ambos ácidos. La cantidad de H_2SO_3 se podría determinar por la cantidad de base necesaria para la titulación del segundo protón. La cantidad de HCl se podría encontrar restando del primer punto final el volumen de base necesario para titular el segundo protón del H_2SO_3 , que es igual al volumen necesario para titular el primer protón. Esta titulación realmente tendría poco uso práctico porque el H_2SO_3 se volatiliza a SO_2 gaseoso en soluciones ácidas fuertes.

El ácido fosfórico en mezcla con un ácido fuerte actúa de manera similar al ejemplo anterior. El primer protón se titula con el ácido fuerte, seguido por la titulación del segundo protón para dar un segundo punto de equivalencia; la ionización del tercer protón es demasiado débil para titularse.



Ejemplo 8.3

Una mezcla de HCl y H_3PO_4 se titula con NaOH 0.1000 *M*. El primer punto final (usando rojo de metilo) se presenta a los 35.00 mL, y el segundo punto final (usando azul de bromotimol) a un total de 50.00 mL (15.00 mL después del primer punto final). Calcular los milimoles de HCl y H_3PO_4 presentes en la solución.

Solución

El segundo punto final corresponde al de la titulación del segundo de los protones del H_3PO_4 ($\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightarrow \text{HPO}_4^{2-}$). Por tanto, los milimoles de H_3PO_4 son iguales a los milimoles de NaOH que se usan en los 15.00 mL para titular a ese protón:

$$\begin{aligned}\text{mmol}_{\text{H}_3\text{PO}_4} &= M_{\text{NaOH}} \times \text{mL}_{\text{NaOH}} = 0.1000 \text{ mmol/mL} \times 15.00 \text{ mL} \\ &= 1.500 \text{ mmol}\end{aligned}$$

El HCl y el primer protón de H_3PO_4 se titulan juntos. Una porción de 15.00 mL de base se usó para titular el primer protón de H_3PO_4 (igual que para el segundo protón), dejando 20.00 mL para titular el HCl . Por tanto,

$$\text{mmol}_{\text{HCl}} = 0.1000 \text{ mmol/mL} \times (35.00 - 15.00) \text{ mL} = 2.000 \text{ mmol}$$

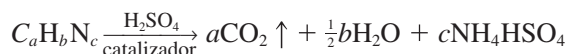
H_2CO_3) y, en el punto de equivalencia, el pH estará determinado por el ácido conjugado (y K_{a1} , como con el H_2CO_3). Cuando el zwitterión se titula con una base fuerte se establece una región amortiguadora de la base conjugada (la “sal”) y el zwitterión (ahora el “ácido”). A mitad de camino al punto de equivalencia $\text{pH} = \text{p}K_{a2}$ (como con $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$), y en el punto de equivalencia, el pH está determinado por la base conjugada (cuyo $K_b = K_{a2}/K_w$, como con CO_3^{2-}).

Los aminoácidos pueden contener más de un grupo carboxilo o amino; en estos casos, pueden dar puntos finales por etapas, como ocurre con otros ácidos polipróticos (o bases) siempre y cuando los diferentes grupos tengan K que difieran en 10^4 y sean aún suficientemente fuertes como para titularse.

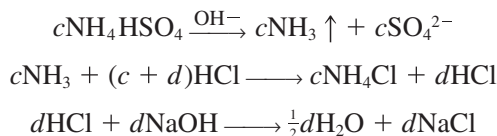
8.10 Análisis de Kjeldahl: determinación de proteínas

Un método importante para determinar con exactitud el nitrógeno en las proteínas y otros compuestos nitrogenados es el **análisis de Kjeldahl**. Se puede calcular la cantidad de proteína conociendo el porcentaje de nitrógeno que contiene. Aunque existen métodos más rápidos para determinar las proteínas, el método de Kjeldahl es en el que se basan todos los demás.

El material es sometido a digestión con ácido sulfúrico para descomponerlo y convertir el nitrógeno en hidrógeno sulfato (bisulfato) de amonio:



La solución se enfría, se agrega álcali concentrado para hacer una solución básica y se destila el amoníaco volátil en una solución de ácido estándar en exceso. En seguida se retrotitula el exceso de ácido con una base estándar.



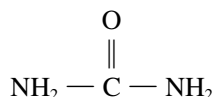
$$\begin{aligned} \text{mmol N}(c) &= \text{mmol que reaccionaron HCl} = \text{mmol HCl tomados} \\ &\quad \times (c + d) - \text{mmol NaOH}(d) \\ \text{mmol C}_a\text{H}_b\text{N}_c &= \text{mmol N} \times 1/c \end{aligned}$$

La digestión se acelera agregando sulfato de potasio para aumentar el punto de ebullición y mediante un catalizador como una sal de selenio o de cobre. La cantidad de compuesto nitrogenado se calcula a partir del peso de nitrógeno que se analizó, multiplicado por el factor gravimétrico.



Ejemplo 8.4

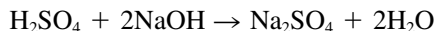
Una muestra de 0.2000 g que contiene urea,



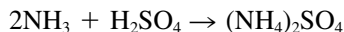
se analiza por el método de Kjeldahl. El amoníaco se recolecta en 50.0 mL de H_2SO_4 0.05000 M , y el exceso de ácido se retrotitula con NaOH 0.05000 M , un procedimiento que consume 3.40 mL. Calcular el porcentaje de urea en la muestra.

Solución

La reacción de titulación es



De modo que en el exceso de H_2SO_4 había la mitad de milimoles de los utilizados para neutralizarlo con NaOH . La reacción con el NH_3 es



Los milimoles de NH_3 a su vez eran el doble de los milimoles de H_2SO_4 que se utilizaron para cuantificarlo. Finalmente, los milimoles de urea eran la mitad de los que se determinaron como NH_3 . Por tanto,

$$\begin{aligned} \% \text{ urea} &= \{[\text{mmol}_{\text{H}_2\text{SO}_4} - \text{mmol}_{\text{NaOH}} \times \frac{1}{2} (\text{mmol } \text{H}_2\text{SO}_4 / \text{mmol } \text{NaOH})] \\ &\quad \times 2(\text{mmol } \text{NH}_3 / \text{mmol } \text{H}_2\text{SO}_4) \times \frac{1}{2} [\text{mmol } (\text{NH}_2)_2\text{CO} / \text{mmol } \text{NH}_3] \\ &\quad \times (\text{NH}_2)_2\text{CO mg/mmole urea}\} / \text{mg}_{\text{muestra}} \times 100\% \\ &= \frac{(0.0500 \text{ M} \times 50.00 \text{ mL} - 0.0500 \text{ M} \times 3.40 \text{ mL} \times \frac{1}{2}) \times 2 \times \frac{1}{2} \times 60.05}{200} \\ &\quad \times 100\% = 72.51\% \end{aligned}$$

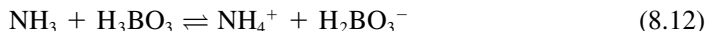
.....

En vez de calcular primero los milimoles de NH_3 , se podría haber calculado el peso de $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ directamente multiplicando los milimoles de H_2SO_4 que reaccionó por el peso molecular de la urea, 60.05; el número de milimoles de $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ es igual al número de milimoles de H_2SO_4 .

Muchas proteínas contienen casi las mismas cantidades de nitrógeno.

Un gran número de las diferentes **proteínas** contiene un porcentaje muy aproximado al del nitrógeno. El factor gravimétrico para conversión de peso de N a peso de proteína para mezclas normales de proteínas de suero (globulinas y albúmina) y las proteínas en alimentos es 6.25 (es decir, las proteínas contienen 16% de nitrógeno). Cuando la muestra está constituida casi por completo por gammaglobulina, el factor 6.24 es más exacto, en cambio si contiene principalmente albúmina, se prefiere el factor 6.27.

En el método de Kjeldahl convencional, se requieren dos soluciones estándar, el ácido para recolectar el amoníaco y la base para retrotitulación. Se puede usar una modificación que sólo necesita el ácido estándar para titulación directa. El amoníaco se recolecta en una solución de ácido bórico. En la destilación se forma una cantidad equivalente de borato de amonio:



El ácido bórico es demasiado débil para titularse, pero el borato, que es equivalente a la cantidad de amoníaco, es una base Brønsted lo suficientemente fuerte como para poderlo

titular con un ácido estándar hasta el punto final de rojo de metilo. El ácido bórico es tan débil que no interfiere, y no es necesario conocer su concentración con exactitud.

Ejemplo 8.5

Se analiza una muestra de alimento para animales de 0.300 g para determinar su contenido de proteína por el método de Kjeldahl modificado. Si se consumen en la titulación 25.0 mL de HCl 0.100 M, ¿cuál es el porcentaje de proteína en la muestra?

Solución

Como ésta es una titulación directa con HCl que reacciona 1:1 con NH_3 , los milimoles de NH_3 (y por tanto de N) son iguales a los milimoles de HCl. Multiplicando por 6.25, se obtienen los miligramos de proteína.

$$\begin{aligned}\% \text{ proteína} &= \frac{0.10 \text{ mmol/mL HCl} \times 25.0 \text{ mL HCl} \times 14.01 \text{ mg N/mmol HCl} \times 6.25 \text{ mg proteína/mg N}}{300 \text{ mg}} \\ &\times 100\% = 73.0\%\end{aligned}$$

El método del ácido bórico (un método directo) es más sencillo y por lo regular más exacto porque necesita la estandarización y la medición exacta sólo de una solución. Sin embargo, la inflexión del punto final no es tan nítida, y por lo regular se prefiere el método indirecto que requiere retrotitulación para **análisis micro de Kjeldahl**. Un análisis macro de Kjeldahl de sangre requiere alrededor de 5 mL de sangre, en tanto que un análisis micro de Kjeldahl requiere alrededor de 0.1 mL.

Esta explicación se ha limitado a las sustancias en las que el nitrógeno posee un número de oxidación de -3 , como en el amoníaco. Tales compuestos incluyen las aminas y las amidas. Los compuestos que contienen formas oxidadas del nitrógeno, como compuestos orgánicos nitro y azo, se deben tratar con un agente reductor antes de la digestión con objeto de obtener la conversión completa a ion amonio. Se usan agentes reductores como hierro(II) o tiosulfato.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Cálculo de las curvas de titulación ácido-base
 - Ácidos fuertes, bases fuertes (tabla 8.1), p. 266
 - Cálculos con hoja de cálculo, p. 269
 - Ácidos débiles, bases débiles (tabla 8.2), p. 272
 - Cálculos con hoja de cálculo, p. 277
- Indicadores (ecuaciones clave: 8.4, 8.5), p. 270
- Titulación de Na_2CO_3 , p. 280
- Titulación de ácidos polipróticos (tabla 8.3), p. 281
- Titulación de aminoácidos, p. 286
- Análisis de Kjeldahl de compuestos nitrogenados, proteínas, p. 287

Preguntas

1. ¿Cuál es el mínimo cambio de pH que se requiere para un cambio nítido de color de indicador en el punto final? ¿Por qué?
2. ¿Qué criterio se usa para seleccionar un indicador para una titulación ácido-base dada?
3. ¿A qué pH es máxima la capacidad amortiguadora de una solución amortiguadora?
4. El pH al final de la titulación de un ácido débil, ¿es neutro, alcalino o ácido?, ¿por qué?
5. ¿Cuál sería un indicador adecuado para la titulación de amoníaco con ácido clorhídrico? ¿Y de ácido acético con hidróxido de sodio?
6. Explicar por qué al hervir la solución cerca del punto final de la titulación de carbonato de sodio aumenta la nitidez del punto final.
7. ¿Cuál es el pK aproximado del ácido o la base más débil que se puede titular en solución acuosa?
8. ¿Cuál debe ser la diferencia en las fortalezas de dos ácidos para distinguirlos durante una titulación?
9. Distinguir entre estándar primario y estándar secundario.
10. ¿Qué es un zwitterión?
11. ¿Qué porcentaje de nitrógeno contiene una proteína convencional?
12. ¿Cuál es el ácido preferido para titular bases? ¿Por qué?

Problemas

CÁLCULOS DE ESTANDARIZACIÓN

13. Una solución de ácido clorhídrico se estandariza titulando 0.4541 g de tris(hidroximetil)aminometano estándar primario. Si se consumen 35.37 mL para la titulación, ¿cuál es la molaridad del ácido?
14. Una solución de ácido clorhídrico se estandariza titulando 0.2329 g de carbonato de sodio estándar primario hasta un punto final de rojo de metilo hirviendo la solución de carbonato cerca del punto final para remover el dióxido de carbono. Si se consumen 42.87 mL de ácido para la titulación, ¿cuál es la molaridad?
15. Una solución de hidróxido se estandariza titulando 0.8592 g de ftalato ácido de potasio estándar primario hasta un punto final de fenolftaleína, con un consumo de 32.67 mL. ¿Cuál es la molaridad de la solución básica?
16. Una alícuota de 10.00 mL de solución de ácido clorhídrico se trata con nitrato de plata en exceso, y el precipitado de cloruro de plata que se forma se determina por gravimetría. Si se obtienen 0.1682 g de precipitado, ¿cuál es la molaridad del ácido?

INDICADORES

17. Escribir una ecuación de Henderson-Hasselbalch para un indicador de base débil, B, y calcular el cambio necesario de pH para ir de un color del indicador al otro. ¿Alrededor de qué pH está la transición?

CURVAS DE TITULACIÓN

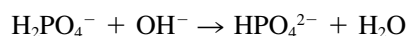
Se pueden usar hojas de cálculo para algunos de estos cálculos.

18. Calcular el pH a 0, 10.0, 25.0 y 30.0 mL de titulante en la titulación de 50.0 mL de NaOH 0.100 M con HCl 0.200 M.

19. Calcular el pH a 0, 10.0, 25.0, 50.0 y 60.0 mL de titulante en la titulación de 25.0 mL de HA 0.200 M con NaOH 0.100 M. $K_a = 2.0 \times 10^{-5}$.
20. Calcular el pH a 0, 10.0, 25.0, 50.0 y 60.0 mL de titulante en la titulación de 50.0 mL de NH_3 0.100 M con HCl 0.100 M.
21. Calcular el pH a 0, 25.0, 50.0, 75.0, 100 y 125% de titulación en la titulación de ambos protones del ácido diprótico H_2A con NaOH 0.100 M, comenzando con 100 mL de H_2A 0.100 M. $K_{a1} = 1.0 \times 10^{-3}$, $K_{a2} = 1.0 \times 10^{-7}$.
22. Calcular el pH a 0, 25.0, 50.0, 75.0, 100 y 150% de titulación en la titulación de 100 mL de Na_2HPO_4 0.100 M con HCl 0.100 M hasta H_2PO_4^- .

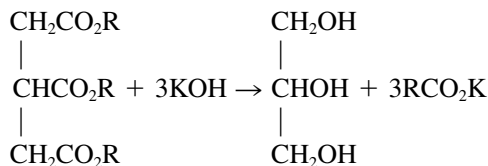
DETERMINACIONES CUANTITATIVAS

23. Una muestra de 0.492 g de KH_2PO_4 se titula con NaOH 0.112 M, con un consumo de 25.6 mL:



¿Cuál es la pureza porcentual del KH_2PO_4 ?

24. ¿Qué volumen de H_2SO_4 0.155 M se requiere para titular 0.293 g de LiOH 90.0% puro?
25. Una indicación del peso fórmula promedio de una grasa es el número de saponificación, expresado como los miligramos de KOH necesarios para hidrolizar (saponificar) 1 g de la grasa:



donde R puede ser variable. Se trataron 1.10 g de mantequilla con 25.0 mL de una solución 0.250 M de KOH. Después de terminar la saponificación, el KOH que no reaccionó se retrotituló con HCl 0.250 M, consumiendo 9.26 mL. ¿Cuál es el número de saponificación de la grasa y cuál es su peso fórmula promedio (suponiendo que la mantequilla es totalmente grasa)?

26. Una muestra que contiene el aminoácido alanina, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, más materia inerte, se analiza por el método de Kjeldahl. Se digiere una muestra de 2.00 g, se destila el NH_3 y se recolecta en 50.0 mL de H_2SO_4 0.150 M; la solución resultante se retrotitula hasta neutralidad con un volumen de 9.0 mL de NaOH 0.100 M. Calcular el porcentaje de alanina en la muestra.
27. Se analiza una muestra de 2.00 mL de suero para determinar proteína mediante el método de Kjeldahl modificado. La muestra se digiere y se destila el amoníaco resultante a una solución de ácido bórico, consumiendo 15.0 mL de HCl estándar para titular el borato de amonio. El HCl se estandariza tratando 0.330 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ puro de la misma manera. Si se consumen 33.3 mL de ácido en la titulación de estandarización, ¿cuál es la concentración de proteína en el suero en g% (peso/vol)?

DETERMINACIONES CUANTITATIVAS DE MEZCLAS

28. Una alícuota de 100 mL de una solución que contiene HCl y H_3PO_4 se titula con NaOH 0.200 M. El punto final de rojo de metilo se alcanza a los 25.0 mL, y el punto final de azul de bromotimola 10.0 mL después (total, 35.0 mL). ¿Cuáles son las concentraciones de HCl y H_3PO_4 en la solución?

29. Una muestra de 0.527 g de una mezcla que contiene Na_2CO_3 , NaHCO_3 e impurezas inertes se titula con HCl 0.109 M con un consumo de 15.7 mL para alcanzar el punto final con fenolftaleína, y un total de 43.8 mL para el punto final de anaranjado de metilo modificado. ¿Cuáles son los porcentajes individuales de Na_2CO_3 y NaHCO_3 en la mezcla?
30. El hidróxido de sodio y el Na_2CO_3 se titulan juntos hasta un punto final de fenolftaleína ($\text{OH}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$; $\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^-$). Una mezcla de NaOH y Na_2CO_3 se titula con HCl 0.250 M, consumiendo 26.2 mL para el punto final de fenolftaleína y 15.2 mL adicionales para llegar al punto final de anaranjado de metilo modificado. ¿Cuántos miligramos de NaOH y de Na_2CO_3 hay en la mezcla?
31. El carbonato de sodio puede coexistir ya sea con NaOH o NaHCO_3 , pero no con ambos simultáneamente, ya que reaccionarían para formar Na_2CO_3 . El hidróxido de sodio y el Na_2CO_3 se titulan juntos hasta un punto final de fenolftaleína ($\text{OH}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$; $\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^-$). Una mezcla, ya sea de NaOH y Na_2CO_3 o de Na_2CO_3 y NaHCO_3 se titula con HCl . El punto final de fenolftaleína se presenta a 15.0 mL, y el punto final de anaranjado de metilo modificado tiene lugar a 50.0 mL (35.0 mL más allá del primer punto final). El HCl se estandarizó titulando 0.477 g de Na_2CO_3 consumiendo 30.0 mL para llegar al punto final de anaranjado de metilo modificado. ¿Qué mezcla está presente y cuántos milimoles de cada componente están presentes?
32. ¿Cuáles serían las respuestas al problema 31 si el segundo punto final hubiese ocurrido a 25.0 mL (10.0 mL más allá del primer punto final)?
33. Una mezcla que contiene sólo BaCO_3 y Li_2CO_3 pesa 0.150 g. Si se consumen 25.0 mL de HCl 0.120 M para completar la neutralización ($\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$), ¿cuál es el porcentaje de BaCO_3 en la muestra?
34. Una muestra de P_2O_5 contiene algo de impurezas de H_3PO_4 . Una muestra de 0.405 g se hace reaccionar con agua ($\text{P}_2\text{O}_5 + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_3\text{PO}_4$), y la solución resultante se titula con NaOH 0.250 M ($\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Na}_2\text{HPO}_4$). Si se consumen 42.5 mL en la titulación, ¿cuál es el porcentaje de impureza de H_3PO_4 ?

PROBLEMA DE HOJA DE CÁLCULO

35. Preparar una hoja de cálculo para construir una curva de titulación para la titulación de 100 mL de NH_3 0.1 M con HCl 0.1 M (véase la figura 8.8).

Referencias recomendadas

INDICADORES

1. G. Gorin, "Indicators and the Basis for Their Use", *J. Chem. Ed.*, **33** (1956) 318.
2. E. Bishop, *Indicators*, Oxford: Pergamon, 1972.

CURVAS DE TITULACIÓN

3. R. K. McAlpine, "Changes in pH at the Equivalence Point", *J. Chem. Ed.*, **25** (1948) 694.
4. A. K. Covington, R. N. Goldberg y M. Sarbar, "Computer Simulation of Titration Curves with Application to Aqueous Carbonate Solutions", *Anal. Chim. Acta*, **130** (1981) 103.

TITULACIONES

5. Y. S. Chen, S. V. Brayton y C. C. Hach, "Accuracy in Kjeldahl Protein analysis", *Am. Lab.*, junio (1988) 62.
6. R. M. Archibald, "Nitrogen by the Kjeldahl Method", en D. Seligson (ed.), *Standard Methods of Clinical Chemistry*, vol. 2, Nueva York: Academic, 1958, pp. 91-99.
7. M. E. Hodes, "Carbon Dioxide Content (Titrimetric)", en M. Reiner (ed.), *Standard Methods of Clinical Chemistry*, vol. 1, Nueva York: Academic, 1953, pp. 19-22.

CALCULADORA VIRTUAL EN RED

8. <http://hammers.chem.wisc.edu/chapman/Titrator>. Calculadora virtual 1.5, de la red del profesor Robert Hamers, Universidad de Wisconsin. Se puede usar para construir curvas de titulación. Se pueden seleccionar diferentes tipos de ácidos e introducir concentraciones y volúmenes. También se pueden construir gráficas de alfa.



Capítulo nueve

REACCIONES Y TITULACIONES COMPLEJOMÉTRICAS

“Las cosas simples debieran ser simples; las cosas complejas deberían ser posibles.”

—Alan Kay

Muchos iones metálicos forman complejos ligeramente disociados con diversos ligandos (agentes complejantes). El químico analítico usa juiciosamente los complejos para enmascarar reacciones no deseadas. La formación de complejos también puede servir como base para titulaciones exactas y convenientes de iones metálicos en los que el titulante es un agente complejante. Las titulaciones complejométricas son útiles para determinar un gran número de metales. Se puede lograr selectividad mediante el uso adecuado de *agentes enmascarantes* (la adición de otros agentes complejantes que reaccionan con los iones metálicos que interfieren) y por control de pH, ya que la mayoría de los agentes complejantes son ácidos o bases débiles cuyos equilibrios están influidos por el pH. En este capítulo se comenta sobre los iones metálicos, sus equilibrios y la influencia del pH en estos equilibrios. Se describirán las titulaciones de iones metálicos con el muy útil agente complejante EDTA, los factores que las afectan y los indicadores para las titulaciones. La titulación con EDTA de calcio más magnesio se usa por lo común para determinar dureza en el agua. Casi todos los otros metales se pueden determinar con exactitud por titulación complejométrica. Las reacciones de complejamiento son útiles para la gravimetría, la espectrofotometría y la fluorometría, y para enmascarar iones que interfieren.

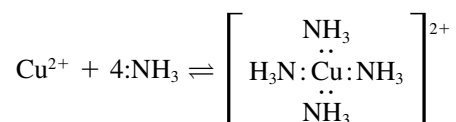
9.1 Complejos y constantes de formación: ¿qué tan estables son los complejos?

Los complejos desempeñan un papel importante en muchos procesos químicos y bioquímicos. Por ejemplo, la molécula hem en la sangre mantiene firmemente unido al átomo de hierro porque los átomos de nitrógeno del hem constituyen un fuerte ligando y establecen enlaces complejantes fuertes; es decir, el nitrógeno es un buen agente complejante. El hierro [como hierro(II)] a su vez se enlaza fácilmente con el oxígeno para transportar gas oxígeno de los pulmones a los puntos de oxidación en el cuerpo, y luego lo libera con facilidad porque el oxígeno es un ligando o agente complejante débil. El cianuro mata

porque es un agente complejante fuerte y desplaza al oxígeno, como lo hace también el monóxido de carbono. El monóxido de carbono se enlaza con el hem 200 veces más fuertemente que el oxígeno, formando carboxihemoglobina.*

Muchos cationes forman complejos en solución con diversas sustancias que tienen un par de electrones no compartidos (por ejemplo, en un átomo de N, O o S en la molécula) capaces de satisfacer el número de coordinación del metal [el ion metálico es un ácido de Lewis (aceptor de pares electrónicos), y el agente complejante es una base de Lewis (donador de pares electrónicos)]. El número de moléculas del agente complejante, llamado **ligando**, dependerá del número de coordinación del metal y del número de grupos complejantes en la molécula del ligando.

El amoníaco es un agente complejante simple con un par de electrones no compartidos complejantes del ion cobre:



Aquí, el ion cobre actúa como un ácido de Lewis y el amoníaco como una base de Lewis. El ion Cu^{2+} (hidratado) es azul pálido en solución, en tanto que el complejo de amoníaco (amoniacal) es azul índigo. Una reacción similar tiene lugar con el ion de níquel hidratado de color verde para formar un complejo amoniacal color índigo.

El amoníaco también hará complejo con el ion plata para formar un complejo incoloro (la formación de este complejo se puede usar para disolver el precipitado de cloruro de plata que queda en un crisol de filtrado y de esta manera limpiarlo). Dos de estas moléculas de amoníaco forman complejo con cada ion plata en un proceso por etapas, pudiéndose escribir una constante de equilibrio para cada una de ellas llamada **constante de formación K_f** :

$$\text{Ag}^+ + \text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{NH}_3)^+ \quad K_{f1} = \frac{[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+]}{[\text{Ag}^+][\text{NH}_3]} \quad (9.1)$$

$$= 2.5 \times 10^3$$

$$\text{Ag}(\text{NH}_3)^+ + \text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+ \quad K_{f2} = \frac{[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]}{[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+][\text{NH}_3]} \quad (9.2)$$

$$= 1.0 \times 10^4$$

La reacción total es la suma de las dos etapas, y la constante total de formación es el producto de las constantes de formación por etapas:

$$\text{Ag}^+ + 2\text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+ \quad K_f = K_{f1} \cdot K_{f2} = \frac{[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]}{[\text{Ag}^+][\text{NH}_3]^2} \quad (9.3)$$

$$= 2.5 \times 10^7$$

Para la formación de un complejo simple 1:1, por ejemplo $\text{M} + \text{L} = \text{ML}$, la constante de formación es simplemente $K_f = [\text{M}][\text{L}]/[\text{ML}]$. Obsérvese que los productos de las reacciones se escriben de la manera habitual en los numeradores de las expresiones de constantes de equilibrio, aun cuando las reacciones se escriban como asociaciones en lugar de disociaciones. La constante de formación también se llama **constante de estabilidad K_s** , o **K_{estab}** .

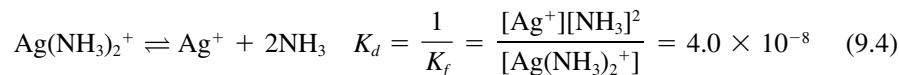
$$K_f = K_s = 1/K_i \text{ o } 1/K_d.$$

Se podrían escribir los equilibrios en el sentido opuesto, como disociaciones. Si se hace esto, los términos de concentración se invierten en las expresiones de constantes de

*N. del R.T.: En realidad se está uniendo al Fe del complejo que se forma entre éste y el grupo hem.

La mayoría de los ligandos contienen O, S o N como átomos complejantes.

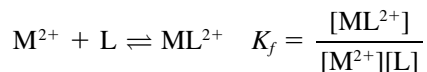
equilibrio. Entonces, las constantes de equilibrio simplemente son los valores recíprocos de las constantes de formación, y se llaman **constantes de inestabilidad K_i** o **constantes de disociación K_d** :



Se puede usar cualquiera de las constantes en los cálculos, siempre y cuando se utilice con la reacción adecuada y las expresiones correctas.

Ejemplo 9.1

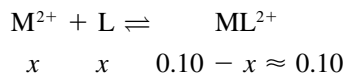
Un metal divalente M^{2+} reacciona con un ligando L para formar un complejo 1:1:



Calcular la concentración de M^{2+} en una solución preparada mezclando volúmenes iguales de M^{2+} 0.20 M y L 0.20 M. $K_f = 1.0 \times 10^8$.

Solución

Se han agregado cantidades estequiométricamente iguales de M^{2+} y L. El complejo es suficientemente fuerte para que la reacción sea casi completa. Como se agregaron volúmenes iguales, las concentraciones iniciales se redujeron a la mitad. Supóngase que x representa $[\text{M}^{2+}]$. Al equilibrio se tiene



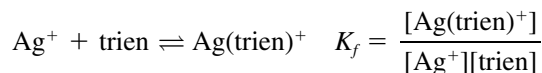
Esencialmente, todo el M^{2+} (concentración original 0.20 M) se convirtió a una cantidad igual de ML^{2+} , con sólo una pequeña cantidad de metal sin complejamiento remanente. Sustituyendo en la expresión de K_f ,

$$\begin{aligned} \frac{0.10}{(x)(x)} &= 1.0 \times 10^8 \\ x = [\text{M}^{2+}] &= 3.2 \times 10^{-5} \text{ M} \end{aligned}$$

Ejemplo 9.2

El ion plata forma un complejo estable 1:1 con la trietilentetraamina, llamado “trien” $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2]$. Calcular la concentración de ion plata en el equilibrio cuando se agregan 25 mL de nitrato de plata 0.010 M a 50 mL de trien 0.015 M. $K_f = 5.0 \times 10^7$.

Solución



Calcular los milimoles de Ag^+ y de trien agregado

$$\text{mmol Ag}^+ = 25 \text{ mL} \times 0.010 \text{ mmol/mL} = 0.25 \text{ mmol}$$

$$\text{mmol trien} = 50 \text{ mL} \times 0.015 \text{ mmol/mL} = 0.75 \text{ mmol}$$

El equilibrio se ubica bastante a la derecha, por lo cual se puede suponer que casi toda la Ag^+ reacciona con 0.25 mmol del trien (dejando 0.50 mmol de trien en exceso) para formar 0.25 mmol de complejo. Calcular las concentraciones molares:

$$[\text{Ag}^+] = x = \text{mol/L sin reaccionar}$$

$$[\text{trien}] = (0.50 \text{ mmol}/75 \text{ mL}) + x = 6.7 \times 10^{-3} + x$$

$$\approx 6.7 \times 10^{-3}$$

$$[\text{Ag}(\text{trien})^+] = 0.25 \text{ mmol}/75 \text{ mL} - x$$

$$= 3.3 \times 10^{-3} - x \approx 3.3 \times 10^{-3}$$

Probar ignorando x en comparación con las otras concentraciones:

$$\frac{3.3 \times 10^{-3}}{(x)(6.7 \times 10^{-3})} = 5.0 \times 10^7$$

$$x = [\text{Ag}^+] = 9.8 \times 10^{-9} M$$

Por tanto, estaba justificado despreciar x .

9.2 Quelatos: EDTA, lo máximo en agentes quelantes para metales

Los agentes complejantes simples, como el amoníaco, rara vez se usan como agentes titulantes porque en general es difícil lograr un punto final nítido correspondiente al complejo estequiométrico. Esto se debe a que las constantes de formación por etapas a menudo son cercanas entre sí y no son muy grandes, por lo que no se puede observar un solo complejo estequiométrico. Sin embargo, ciertos agentes complejantes que tienen dos o más grupos complejantes en su molécula sí forman complejos bien definidos y se pueden usar como agentes titulantes. Schwarzenbach demostró que se alcanza un notable aumento en la estabilidad si se usa un ligando bidentado (uno con dos grupos complejantes). Por ejemplo, si se reemplaza el amoníaco por etilendiamina, que es bidentada, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2(\text{en})$, se alcanza un complejo altamente estable, $\text{Cu}(\text{en})_2^{2+}$. Si los hidrógenos de N se reemplazan con grupos de ácido acético sólo se requiere una sola etapa para complejamiento del cobre, haciendo que las titulaciones sean directas.

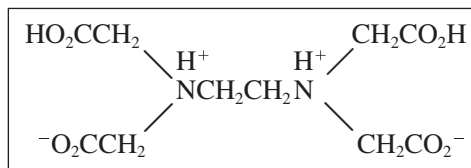
Los agentes titulantes de utilidad más general son los ácidos aminocarboxílicos, en los que el nitrógeno y los grupos carboxilato sirven como ligandos. Los nitrógenos amino son más básicos y son protonados ($-\text{NH}_3^+$) más fuertemente que los grupos carboxilato. Cuando estos grupos se unen a átomos metálicos, pierden sus protones. Los complejos metálicos que se forman con estos agentes complejantes multidentados con frecuencia son 1:1, sin importar la carga en el ion metálico, porque hay suficientes grupos complejantes sobre una molécula para satisfacer los sitios de coordinación del ion metálico.

Un agente orgánico que tenga dos o más grupos capaces de complejamiento con un ion metálico se llama **agente quelante**. El complejo formado se llama **quelato**. El agente quelante se denomina **ligando**. La titulación con el agente quelante se llama **titulación quelométrica**, un tipo de titulación complejométrica.

El término *quelato* se deriva de la palabra griega que significa “similar a una garra”. Los agentes quelantes literalmente envuelven a un ion metálico.

Los protones del EDTA son desplazados al complejarse con un ion metálico. El resultado es un quelato cargado negativamente.

El agente quelante más ampliamente usado en titulación es el **ácido etilendiamino-tetraacético (EDTA)**. La fórmula del EDTA es



Cada uno de los dos nitrógenos y cada uno de los cuatro grupos carboxilo contiene un par de electrones no compartidos capaces de complejamiento con un ion metálico. Así, el EDTA contiene seis grupos complejantes, y estará representado por el símbolo H_4Y . Es un ácido tetraprótico, y los hidrógenos en el H_4Y se refieren a los cuatro hidrógenos ionizables. Es el ligando no protonado Y^{4-} el que forma complejos con iones metálicos; esto es, los protones son desplazados por el ion metálico dentro del proceso de complejamiento.

EL EFECTO QUELATO: CUANTOS MÁS GRUPOS COMPLEJANTES, MEJOR

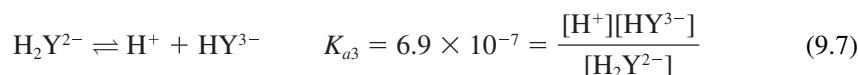
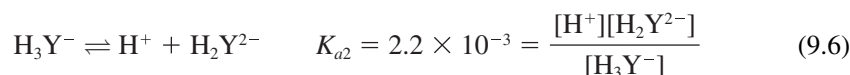
Para más comentarios acerca del diseño de agentes quelantes, véase C. R. Reiley, R. W. Schmid y F. S. Sadek, "Chelon Approach to Analysis, (I) Survey of Theory and Application", *J. Chem. Ed.*, **36** (1959) 555. Se proporcionan experimentos ilustrados en un segundo artículo en *J. Chem. Ed.* **36** (1959) 619.

El efecto quelato es un efecto de la entropía.

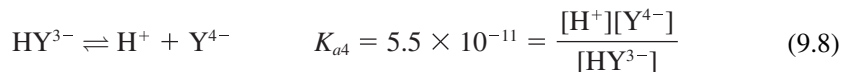
Los agentes quelantes multidentados forman complejos más fuertes con iones metálicos que los que forman ligandos similares bidentados o monodentados. Éste es el resultado de efectos termodinámicos en la formación de complejos. Las reacciones químicas avanzan por disminución de la entalpía (liberación de calor, ΔH negativa), y por aumento en la entropía (aumento del desorden, ΔS). En el capítulo 6, ecuación 6.7, se ve que un proceso químico es espontáneo cuando el cambio de energía libre, ΔG , es negativo, y $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$. El cambio de entalpía para ligandos con grupos similares a menudo es similar. Por ejemplo, cuatro moléculas de amoníaco complejadas a Cu^{2+} y cuatro grupos amino de dos moléculas de etilendiamina complejadas a Cu^{2+} producirán casi la misma liberación de calor. Sin embargo, se crea más desorden o entropía debido a la disociación del complejo $Cu(NH_3)_4^{2+}$ en el que se forman cinco especies distintas a la disociación del complejo $Cu(H_2NCH_2CH_2NH_2)_2^{2+}$, en el que se forman tres. Por tanto, ΔS es mayor para la primera disociación, creando una ΔG más negativa y una mayor tendencia a la disociación. Así, los complejos multidentados son más estables (tienen mayores valores K_f), debido en gran medida al efecto de la entropía. Esto se conoce como **efecto quelato** o **efecto quelón**. Es pronunciado para agentes quelantes como el EDTA, que tiene suficientes átomos ligandos para ocupar hasta seis sitios de coordinación en los iones metálicos.

EQUILIBRIOS DEL EDTA

Se puede representar al EDTA con cuatro valores de K_a correspondientes a la disociación por etapas de los cuatro protones:¹



¹ Realmente se pueden protonar los cuatro grupos carboxilo más los nitrógenos en la molécula de EDTA, y así hay en realidad seis etapas de disociación y seis valores de K_a , siendo los dos primeros 1.0 y 0.032. Los dos nitrógenos son más básicos que los oxígenos de los carboxilos, y así se protonan más fácilmente. La protonación del nitrógeno sí afecta la solubilidad del EDTA en ácido.



Los equilibrios de ácidos polipróticos se trataron en la sección 7.8, por lo que se debe repasar esta sección antes de continuar con la siguiente explicación.

La figura 9.1 ilustra la fracción de cada forma de EDTA en función del pH. Como el anión Y^{4-} es la especie de ligando en la formación de complejos, los equilibrios de complejamiento son afectados en forma notable por el pH. H_4Y tiene muy baja solubilidad en agua, y por tanto en general se usa la sal disódica $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, en la cual dos de los grupos ácidos se neutralizan. Esta sal se disocia en solución para dar H_2Y^{2-} de manera predominante; el pH de la solución es alrededor de 4 a 5 (teóricamente 4.4 a partir de $[\text{H}^+] = \sqrt{K_{a2}K_{a3}}$).

CONSTANTE DE FORMACIÓN

La formación del quelato EDTA de Ca^{2+} se puede representar por:



La constante de formación para esto es

$$K_f = \frac{[\text{CaY}^{2-}]}{[\text{Ca}^{2+}][\text{Y}^{4-}]} \quad (9.10)$$

En el apéndice C se dan los valores de algunas constantes representativas de formación del EDTA.

EFFECTO DEL pH EN LOS EQUILIBRIOS DE EDTA: ¿CUÁNTO ES Y^{4-} ?

El equilibrio en la ecuación 9.9 se desplaza a la izquierda al aumentar la concentración de ion hidrógeno debido a la competencia por el anión quelante por parte del ion hidrógeno.

La disociación se puede representar por

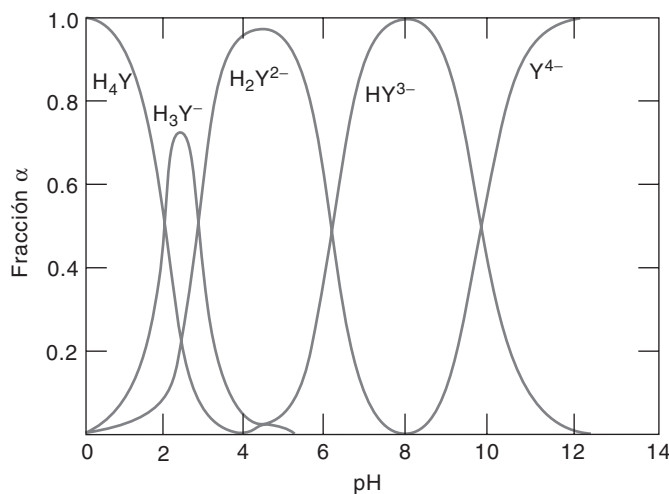
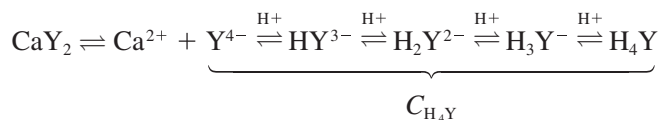
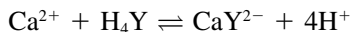


Figura 9.1. Fracción de la especie de EDTA como función del pH.

Los protones compiten con el ion metálico por el ion del EDTA. Para aplicar la ecuación 9.10, se debe reemplazar $[Y^{4-}]$ por $\alpha_4 C_{H_4Y}$ como la concentración de equilibrio de Y^{4-} .

Obsérvese que $C_{H_4Y} = [Ca^{2+}]$. O, a partir de la expresión de equilibrio total:



De acuerdo con el principio de Le Châtelier, si se aumenta la acidez se favorecerá el equilibrio de competencia, es decir, la protonación de Y^{4-} (todas las formas de EDTA están presentes en equilibrio, pero algunas son notablemente pequeñas; véase la figura 9.1). Si se disminuye la acidez se favorecerá la formación del quelato CaY^{2-} .

Si se tiene conocimiento del pH y de los equilibrios implicados, se puede usar la ecuación 9.10 para calcular la concentración de Ca^{2+} libre bajo diversas condiciones de la solución (por ejemplo, en una titulación para interpretar la curva de titulación). La concentración de Y^{4-} se calcula a diferentes valores de pH como sigue (véase el capítulo 7, ácidos polipróticos). Si C_{H_4Y} representa la concentración total de todas las formas de EDTA no complejoado, entonces

$$C_{H_4Y} = [Y^{4-}] + [HY^{3-}] + [H_2Y^{2-}] + [H_3Y^{-}] + [H_4Y] \quad (9.11)$$

Resolviendo para las concentraciones de equilibrio de H_4Y , H_3Y^{-} , H_2Y^{2-} y HY^{3-} en las ecuaciones 9.5 a 9.8, se sustituyen éstas en la ecuación 9.11 para eliminar todas las formas, excepto Y^{4-} , y al dividir entre $[Y^{4-}]$ se obtiene

$$\frac{C_{H_4Y}}{[Y^{4-}]} = \frac{1}{\alpha_4} = 1 + \frac{[H^+]}{K_{a4}} + \frac{[H^+]^2}{K_{a3}K_{a4}} + \frac{[H^+]^3}{K_{a2}K_{a3}K_{a4}} + \frac{[H^+]^4}{K_{a1}K_{a2}K_{a3}K_{a4}} \quad (9.12)$$

donde α_4 es la **fracción** de la especie total EDTA que existe como Y^{4-} ($\alpha_4 = [Y^{4-}]/C_{H_4Y}$). Se pueden derivar ecuaciones similares para la fracción de cada una de las otras especies de EDTA α_0 , α_1 , α_2 y α_3 , como en el capítulo 7 (es la forma en que se construyó la figura 9.1).

Entonces, se puede usar la ecuación 9.12 para calcular la fracción del EDTA que existe como Y^{4-} a un pH dado; y a partir del conocimiento de la concentración de EDTA no complejoado (C_{H_4Y}), se puede calcular el Ca^{2+} libre usando la ecuación 9.10.



Ejemplo 9.3

Calcular la fracción de EDTA que existe como Y^{4-} a pH 10, y a partir de esto calcular el pCa en 100 mL de solución 0.100 M de Ca^{2+} a pH 10, agregando 100 mL de EDTA 0.100 M.

Solución

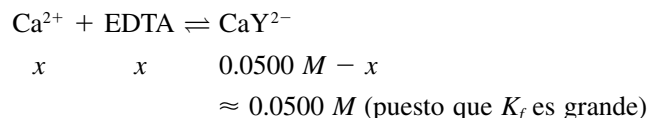
A partir de la ecuación 9.12,

$$\begin{aligned} \frac{1}{\alpha_4} &= 1 + \frac{1.0 \times 10^{-10}}{5.5 \times 10^{-11}} + \frac{(1.0 \times 10^{-10})^2}{(6.9 \times 10^{-7})(5.5 \times 10^{-11})} \\ &\quad + \frac{(1.0 \times 10^{-10})^3}{(2.2 \times 10^{-3})(6.9 \times 10^{-7})(5.5 \times 10^{-11})} \\ &\quad + \frac{(1.0 \times 10^{-10})^4}{(1.0 \times 10^{-2})(2.2 \times 10^{-3})(6.9 \times 10^{-7})(5.5 \times 10^{-11})} \\ &= 1 + 1.82 + 2.6 \times 10^{-4} + 1.2 \times 10^{-11} + 1.2 \times 10^{-19} = 2.82 \\ \alpha_4 &= 0.35 \end{aligned}$$

Se agregan cantidades estequiométricas de Ca^{2+} y EDTA para producir una cantidad equivalente de CaY^{2-} , menos la cantidad disociada:

$$\begin{aligned}\text{mmol Ca}^{2+} &= 0.100 \text{ M} \times 100 \text{ mL} = 10.0 \text{ mmol} \\ \text{mmol EDTA} &= 0.100 \text{ M} \times 100 \text{ mL} = 10.0 \text{ mmol}\end{aligned}$$

Se han formado 10.0 mmol de CaY^{2-} en 200 mL, o 0.0500 M:



donde x representa la concentración total al equilibrio de EDTA en todas sus formas, $C_{\text{H}_4\text{Y}}$. La concentración $[\text{Y}^{4-}]$, necesaria para aplicar la ecuación 9.10, es igual a $\alpha_4 C_{\text{H}_4\text{Y}}$. Por tanto, la ecuación 9.10 se puede escribir como sigue:

$$K_f = \frac{[\text{CaY}^{2-}]}{[\text{Ca}^{2+}]\alpha_4[\text{C}_{\text{H}_4\text{Y}}]}$$

A partir del apéndice C, $K_f = 5.0 \times 10^{10}$. Por tanto,

$$\begin{aligned}5.0 \times 10^{10} &= \frac{0.0500}{(x)(0.35)(x)} \\ x &= 1.7 \times 10^{-6} \text{ M} \\ \text{pCa} &= 5.77\end{aligned}$$

CONSTANTE DE FORMACIÓN CONDICIONAL: SE USA PARA UN pH FIJO

Se puede sustituir $\alpha_4 C_{\text{H}_4\text{Y}}$ por $[\text{Y}^{4-}]$ en la ecuación 9.10:

$$K_f = \frac{[\text{CaY}^{2-}]}{[\text{Ca}^{2+}][\text{Y}^{4-}]} \quad (9.13)$$

Así, reordenando esta ecuación se obtiene

$$K_f \alpha_4 = K'_f = \frac{[\text{CaY}^{2-}]}{[\text{Ca}^{2+}]C_{\text{H}_4\text{Y}}} \quad (9.14)$$

donde K'_f es la **constante de formación condicional**, la cual depende de α_4 y, por tanto, del pH. Se puede usar esta ecuación para calcular las concentraciones al equilibrio de las diferentes especies a un pH dado en lugar de la ecuación 9.10.

El valor de la constante de formación condicional es válido sólo para un pH especificado.

Ejemplo 9.4

La constante de formación para CaY^{2-} es 5.0×10^{10} . A pH 10, los cálculos indican (ejemplo 9.3) que α_4 es 0.35 para dar una constante condicional (a partir de la ecuación 9.14) de 1.8×10^{10} . Calcular el pCa en 100 mL de una solución 0.100 M de Ca^{2+} a pH 10 después de la adición de: a) 0 mL, b) 50 mL, c) 100 mL y d) 150 mL de EDTA 0.100 M.

Solución

a)
$$\text{pCa} = -\log[\text{Ca}^{2+}] = -\log \times 1.00 \times 10^{-1} = 1.00$$

- b) Se comienza con $0.100 \text{ M} \times 10 \text{ mL} = 10.0 \text{ mmol Ca}^{2+}$. Los milimoles de EDTA añadidos son $0.100 \text{ M} \times 50 \text{ mL} = 5.0 \text{ mmol}$. La constante condicional es grande, de modo que la reacción 9.9 caerá bastante hacia la derecha. Por tanto, se puede ignorar la cantidad de Ca^{2+} de la disociación de CaY^{2-} y el número de milimoles de Ca^{2+} libre es esencialmente igual al número de milimoles que no reaccionaron:

$$\text{mmol Ca}^{2+} = 10.0 - 5.0 = 5.0 \text{ mmol}$$

$$[\text{Ca}^{2+}] = 5.0 \text{ mmol}/150 \text{ mL} = 0.030 \text{ M}$$

$$\text{pCa} = -\log 3.0 \times 10^{-2} = 1.48$$

- c) En el punto de equivalencia, se ha convertido todo el Ca^{2+} a CaY^{2-} . Por tanto, se debe usar la ecuación 9.4 para calcular la concentración al equilibrio de Ca^{2+} . El número de milimoles de CaY^{2-} formados es igual al número de milimoles de Ca^{2+} con los que se comenzó, y $[\text{CaY}^{2-}] = 10.0 \text{ mmol}/200 \text{ mL} = 0.0500 \text{ M}$. De la disociación de CaY^{2-} , $[\text{Ca}^{2+}] = C_{\text{H}_4\text{Y}} = x$ y la concentración al equilibrio $[\text{CaY}^{2-}] = 0.050 \text{ M} - x$. Pero como la disociación es pequeña, se puede despreciar x en comparación con 0.050 M . Por tanto, de la ecuación 9.14,

$$\frac{0.050}{(x)(x)} = 1.8 \times 10^{10}$$

$$x = 1.7 \times 10^{-6} \text{ M} = [\text{Ca}^{2+}]$$

$$\text{pCa} = -\log 1.7 \times 10^{-6} = 5.77$$

Comparar este valor con el que se calculó usando K_f en el ejemplo 9.3, en lugar de K_f' .

- d) La concentración $C_{\text{H}_4\text{Y}}$ es igual a la concentración del EDTA agregado en exceso (despreciando la disociación de CaY^{2-} , que será aún más pequeña en presencia del EDTA en exceso). Los milimoles de CaY^{2-} serán como en (c). Por tanto,

$$[\text{CaY}^{2-}] = 10.0 \text{ mmol}/250 \text{ mL} = 0.0400 \text{ M}$$

$$\text{mmol en exceso } C_{\text{H}_4\text{Y}} = 0.100 \text{ M} \times 150 \text{ mL} - 0.100 \text{ M} \times 100 \text{ mL} = 5.0 \text{ mmol}$$

$$C_{\text{H}_4\text{Y}} = 5.0 \text{ mmol}/250 \text{ mL} = 0.020 \text{ M}$$

$$\frac{0.040}{[\text{Ca}^{2+}](0.020)} = 1.8 \times 10^{10}$$

$$[\text{Ca}^{2+}] = 1.1 \times 10^{-10} \text{ M}$$

$$\text{pCa} = -\log 1.1 \times 10^{-10} = 9.95$$

.....

El pH puede afectar la estabilidad del complejo (esto es, K_f') al afectar no sólo la forma del EDTA, sino también la del ion metálico. Por ejemplo, la especie hidroxilo puede formar ($\text{M}^{2+} + \text{OH}^- \rightarrow \text{MOH}^+$). Es decir, el OH^- compite por el ion metálico igual que el H^+ compite por el Y^{4-} . La figura 9.2 (preparada a partir de una hoja de cálculo; ver el problema 20) muestra cómo K_f' cambia con el pH para tres quelatos metal-EDTA con constantes de formación de moderadas (Ca) a fuertes (Hg). El quelato de calcio es obviamente demasiado débil para titularse en solución ácida ($K_f' < 1$), en tanto que el quelato de mercurio es

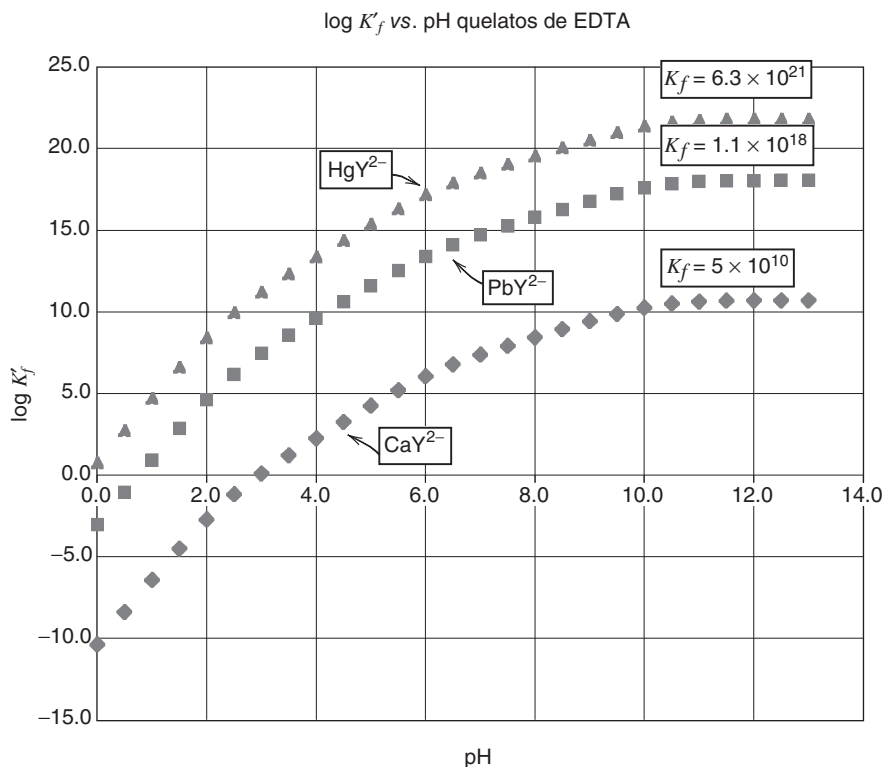


Figura 9.2. Efecto del pH sobre los valores de K'_f para quelatos de EDTA.

suficientemente fuerte para titularse en ácido. A pH 13, todos los valores de K'_f son virtualmente iguales a los valores de K_f porque α_4 es esencialmente 1; es decir, el EDTA se encuentra por completo disociado a Y^{4-} . Las curvas son paralelas entre sí porque a cada pH, cada K_f se multiplica por el mismo valor de α_4 para obtener K'_f .

9.3 Curvas de titulación metal-EDTA

Una titulación se realiza agregando el agente quelante a la muestra; la reacción procede como en la ecuación 9.9. La figura 9.3 muestra la curva de titulación para Ca^{2+} titulado con EDTA a pH 10. Antes del punto de equivalencia, la concentración de Ca^{2+} es casi igual a la cantidad de calcio sin quelar (sin reaccionar), ya que la disociación del quelato es ligera (algo análogo a la cantidad de un ion sin precipitar). En el punto de equivalencia y más allá de éste, pCa se determina a partir de la disociación del quelato al pH dado como se describe en el ejemplo 9.3 o en el 9.4, usando K_f o K'_f . El efecto del pH en la titulación es evidente a partir de la curva de la figura 9.3 para titulación a pH 7.

Véase el problema 21 para el cálculo de la curva de titulación Ca-EDTA en la figura 9.3 a pH 10 haciendo uso de una hoja de cálculo. Con las curvas de titulación ácido-base calculadas, los cálculos aquí fallan muy cerca de los puntos de equivalencia debido a las suposiciones de simplificación que se han hecho.

Cuanto más estable sea el quelato (mayor el K_f), más hacia la derecha estará el equilibrio de la reacción (ecuación 9.9) y mayor será la inflexión de punto final. Asimismo, cuanto más estable sea el quelato, menor será el pH al cual se puede realizar la titulación (véase la figura 9.2). Esto es importante porque permite la titulación de algunos metales en presencia de otros cuyos quelatos de EDTA son demasiado débiles para titularse a menor pH.

Sólo algunos quelatos metálicos son lo suficientemente fuertes como para permitir titulaciones en solución ácida; otros necesitan solución alcalina.

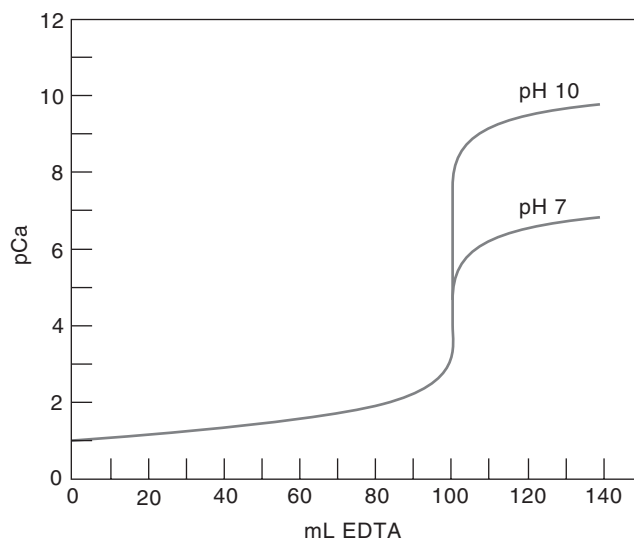


Figura 9.3. Curvas de titulación para 100 mL Ca^{2+} 0.1 M contra Na_2EDTA 0.1 M a pH 7 y pH 10.

La figura 9.4 muestra el pH mínimo al que se pueden titular con EDTA diferentes metales. Los puntos de la curva representan el pH al cual la *constante condicional de formación* K_f' para cada metal es 10^6 ($\log K_f' = 6$), valor que se eligió de manera arbitraria como el mínimo necesario para un punto final nítido. Obsérvese que cuanto menor sea K_f , más alcalina debe ser la solución para obtener una K_f' de 10^6 (es decir, mayor debe ser α_4). Así, Ca^{2+} con K_f de sólo 10^{10} necesita un pH de alrededor de 8 o mayor. Las líneas

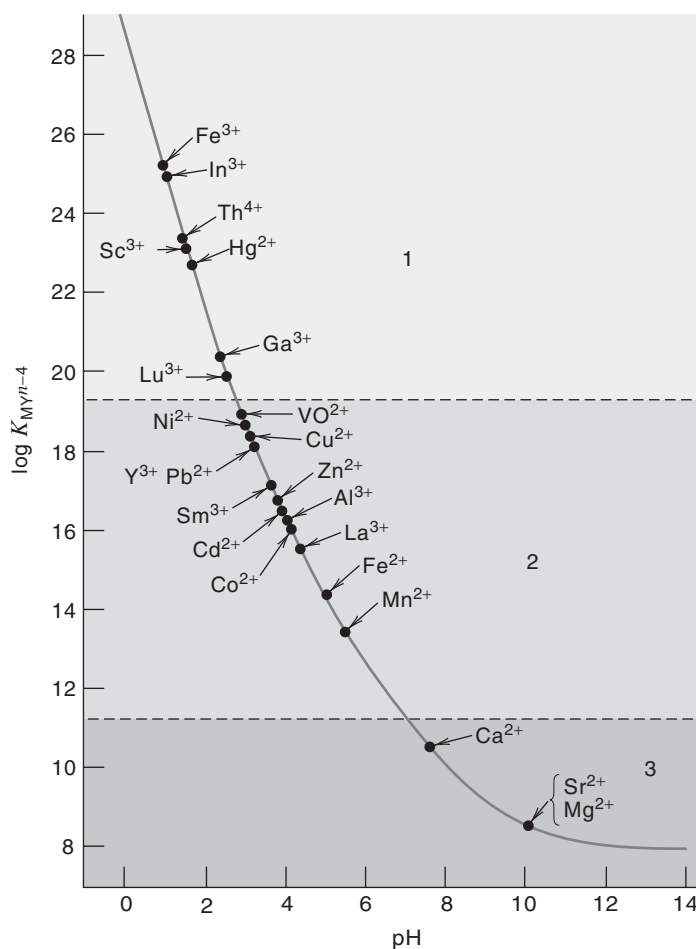


Figura 9.4. pH mínimo para la titulación eficaz de diversos iones metálicos con EDTA. (Reproducción autorizada por C. N. Reilley y R. W. Schmid, *Anal. Chem.*, **30** (1958) 947. Copyright por American Chemical Society.)

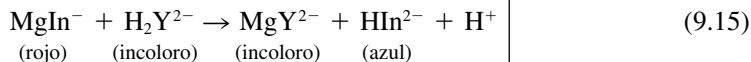
punteadas en la figura dividen los metales en diferentes grupos de acuerdo con sus constantes de formación. Un grupo se titula en una solución altamente ácida ($\text{pH} < 4$); un segundo grupo, a pH de 4 a 7, y un tercer grupo a $\text{pH} > 7$. En el intervalo de pH más alto todos los metales reaccionarán, pero no todos se pueden titular directamente debido a la precipitación de hidróxidos. Por ejemplo, la titulación de Fe^{3+} o Th^{4+} no es posible sin el uso de retrotitulación o de agentes complejantes auxiliares para evitar la hidrólisis. En el intervalo intermedio de pH , el tercer grupo no se titulará, y así el segundo grupo de metales se puede titular en presencia del tercero. Por último, en el intervalo de pH más ácido, sólo el primer grupo se titulará y se puede determinar en presencia de los otros grupos.

Se puede lograr enmascaramiento por precipitación, formación de complejos, oxidación-reducción y cinéticamente. Es posible una combinación de estas técnicas. Por ejemplo, el Cu^{2+} se puede enmascarar por reducción del Cu(I) con ácido ascórbico y por complejamiento con I^- . El plomo se puede precipitar con sulfato cuando se va a titular el bismuto. La mayor parte del enmascaramiento se logra formando selectivamente un complejo estable soluble. El ion hidróxido compleja al ion aluminio [Al(OH)_4^- o AlO_2^-] para permitir la titulación del calcio. El fluoruro enmascara el Sn(IV) en la titulación de Sn(II) . El amoniaco compleja al cobre de modo que no se pueda titular con EDTA usando indicador murexida. Se pueden titular metales en presencia de Cr(III) porque su quelato de EDTA, aunque es muy estable, sólo se forma lentamente.

9.4 Detección del punto final: los indicadores son agentes quelantes

Se puede medir el pM en forma potenciométrica si se dispone de un electrodo adecuado, por ejemplo un electrodo selectivo de iones (véase el capítulo 13), pero es más sencillo si se puede utilizar un indicador. Los indicadores que se usan para titulaciones quelométricas son en sí mismos agentes quelantes. Por lo regular son colorantes del tipo *o,o'*-dihidroxiazó.

El **Eriocromo Negro T** es un indicador típico. Contiene tres protones ionizables, de modo que se puede representar mediante H_3In . Este indicador puede utilizarse para la titulación de Mg^{2+} con EDTA. Se añade una cantidad pequeña de indicador a la solución de la muestra y se forma un complejo rojo con parte del Mg^{2+} ; el color del indicador sin complejar es azul. Tan pronto como se ha titulado todo el Mg^{2+} libre, el EDTA desplaza al indicador del magnesio, y produce un cambio en el color de rojo a azul:



Esto ocurrirá sobre un intervalo de pMg , y el cambio será más nítido si el indicador se mantiene tan diluido como sea posible con la condición de que siga dando un buen color.

Por supuesto, el complejo metal-indicador debe ser menos estable que el complejo metal-EDTA, o de otra manera el EDTA no desplazará al indicador del metal. Por otro lado, no debe ser demasiado débil o el EDTA comenzará reemplazando al indicador al principio de la titulación, dando por resultado un punto final difuso. En general, *el complejo metal-indicador debe ser 10 a 100 veces menos estable que el complejo metal-tituyente*.

Las constantes de formación de los complejos de EDTA de calcio y magnesio son demasiado cercanas para distinguirlas en una titulación con EDTA, incluso ajustando el pH (véase la figura 9.4), de modo que se titulan juntos, y el punto final con Eriocromo Negro T se puede usar como se indicó antes. Esta titulación sirve para determinar la **dureza total del agua** (Ca^{2+} más Mg^{2+} ; ver el experimento 9). Sin embargo, el Eriocromo Negro

La dureza del agua se expresa como ppm de CaCO_3 , y representa la suma de calcio y magnesio.

T no se puede usar para indicar la titulación directa de calcio en ausencia de magnesio con EDTA, porque el indicador forma un complejo demasiado débil con el calcio para dar un punto final nítido. Por tanto, se agrega una pequeña cantidad medida de Mg^{2+} a la solución de Ca^{2+} , y tan pronto como se titulan el Ca^{2+} y la pequeña cantidad de Mg^{2+} libre, el cambio de color del punto final procede como se indicó antes (el Ca^{2+} se titula primero, ya que su quelato de EDTA es más estable). Se hace una corrección para la cantidad de EDTA que se usó para la titulación del Mg^{2+} realizando una titulación “en blanco” de la misma cantidad de Mg^{2+} añadida al amortiguador.

Es más conveniente agregar alrededor de 2 mL de Mg-EDTA 0.005 M en vez de MgCl_2 . Esta solución se prepara agregando volúmenes iguales de soluciones de MgCl_2 0.01 M y EDTA 0.01 M, y ajustando la relación con adiciones por goteo hasta que una porción del reactivo se vuelve de un color violeta pálido cuando se trata con un amortiguador de pH 10 e indicador Eriocromo Negro T. Cuando esto sucede, una gota de EDTA 0.01 M hará virar a azul la solución, y una gota de MgCl_2 0.01 M la hará virar a rojo.

Si se agrega Mg-EDTA a la muestra, el Ca^{2+} en la muestra desplaza el EDTA del Mg^{2+} (porque el Ca-EDTA es más estable), de modo que el Mg^{2+} queda libre para reaccionar con el indicador. En el punto final, una cantidad equivalente de EDTA desplaza al indicador del Mg^{2+} , provocando el cambio de color, y no se necesita corrección por el Mg-EDTA añadido. Este procedimiento se usa en el experimento 9.

Un método alternativo es agregar una pequeña cantidad de Mg^{2+} a la solución de EDTA. La reacción es inmediata para formar MgY^{2-} con muy poco Mg^{2+} libre en equilibrio. Esto, efectivamente, reduce la molaridad del EDTA. Así, el EDTA se estandariza después de agregar el Mg^{2+} , titulando con un estándar primario de carbonato de calcio (disuelto en HCl y con el pH ajustado). Cuando se agrega el indicador a la solución de calcio, es rojo pálido. Pero tan pronto como se inicia la titulación, el indicador es complejoado por el magnesio y se vuelve rojo vino. En el punto final, cambia a azul conforme el indicador es desplazado del magnesio. No se necesita corrección para el Mg^{2+} agregado porque ya se tomó en cuenta en la estandarización. *Esta solución no se debe usar para titular metales sino sólo al calcio.*

El **EDTA de alta pureza** se puede preparar a partir de $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ secando a 80°C durante dos horas. Las aguas de hidratación permanecen intactas, y este material se puede usar como estándar primario para elaborar una solución estándar de EDTA.

La titulación de calcio y magnesio con EDTA se lleva a cabo a pH 10, usando una solución amortiguadora de amoníaco-cloruro de amonio. El pH no debe ser demasiado alto, o de lo contrario el hidróxido metálico se puede precipitar haciendo que la reacción con el EDTA sea demasiado lenta. En realidad, el calcio se puede titular en presencia de magnesio aumentando el pH a 12 con un álcali fuerte; el $\text{Mg}(\text{OH})_2$ se precipita y no se titula.

Como el Eriocromo Negro T y otros indicadores son ácidos débiles, su color dependerá del pH debido a que las diferentes especies ionizadas del indicador tienen distintos colores. Por ejemplo, con Eriocromo Negro T, H_2In^- es rojo ($\text{pH} < 6$), HIn^{2-} es azul (pH 6 a 12), y el In^{3-} es anaranjado amarillento ($\text{pH} > 12$). Así, se pueden usar indicadores en intervalos definidos de pH. El pH también afecta la estabilidad del complejo formado entre el indicador y el ion metálico, así como el formado entre el EDTA y el ion metálico.

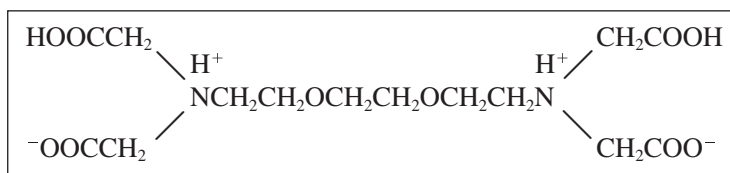
Un indicador es útil sólo para titulaciones de aquellos metales que forman un complejo más estable con el titulante que con el indicador al pH dado. Todo esto suena un poco complicado, pero por fortuna se han descrito indicadores adecuados para muchas titulaciones con varios agentes quelantes diferentes.

El indicador Calmagita da un punto final algo mejor que el Eriocromo Negro T para la titulación de calcio y magnesio con EDTA. También tiene una vida en almacén más larga. El anaranjado de xilenol también es útil para la titulación de iones metálicos que forman complejos muy fuertes con el EDTA y se titulan a pH de 1.5 a 3.0. Ejemplos de esto son la titulación directa del torio(IV) y del bismuto(III), y la determinación indirecta de zirconio(IV) y de hierro(III) por retrotitulación con uno de los primeros dos metales.

Hay muchos otros indicadores para titulaciones con EDTA. El tratado de Wilson y Wilson (referencia 6) da muchos ejemplos de titulaciones con EDTA, y se sugiere consultar esta excelente fuente de información para descripciones detalladas de procedimientos de diferentes metales.

Existen otros reactivos útiles para titulaciones complejométricas. Un ejemplo notable es el ácido etilenglicol bis(β -aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetraacético (**EGTA**). Éste es un éter análogo del EDTA con el cual se titula selectivamente calcio en presencia de magnesio:

El EGTA permite la titulación de calcio en presencia de magnesio.



Los agentes complejantes que tienen enlaces de éter tienden fuertemente a complejar los metales alcalinotérreos más pesados que el magnesio. Log K_f para el calcio-EGTA es 11.0, en tanto que para el magnesio-EGTA es sólo 5.2. Para otros agentes quelantes y sus aplicaciones, ver las referencias 4 y 6.

A excepción de los metales alcalinos, *casi todos los metales se pueden determinar con alta precisión y exactitud por titulación quelométrica*. Estos métodos son mucho más rápidos y cómodos que los procedimientos gravimétricos, que han sido reemplazados en gran medida, salvo en aquellos pocos casos en que se puede ofrecer y requerir mayor precisión.

Las titulaciones complejométricas en el laboratorio clínico se limitan a las sustancias que se presentan en concentraciones bastante altas, ya que los métodos volumétricos por lo general son poco sensibles. La titulación complejométrica más importante es la determinación de calcio en la sangre (ver la referencia 8). Se usan agentes quelantes como el EDTA en el tratamiento de envenenamiento con metales pesados, por ejemplo en el caso de niños que ingieren raspaduras de pintura que contiene plomo. Se administra quelato de calcio (como Na_2CaY) para evitar el complejamiento y la remoción de calcio de los huesos. Los metales pesados como el plomo forman quelatos de EDTA más estables que el de calcio, y desplazan el calcio del EDTA. El plomo quelado se excreta entonces por vía renal.

En el apéndice C aparece una tabla de constantes de formación de algunos quelatos de EDTA.

9.5 Otros usos de los complejos

Los químicos analíticos pueden aprovechar la formación de complejos en otras formas además de las titulaciones. Por ejemplo, se pueden formar quelatos de iones metálicos y extraerlos en un disolvente inmiscible con el agua para separarlos por **extracción con disolvente**. Por ejemplo, los complejos de iones metálicos con el agente quelante ditizona son útiles en las extracciones. Los quelatos con frecuencia son altamente coloridos. Su formación puede entonces servir como base para la **determinación espectrofotométrica** de iones metálicos. También se pueden formar complejos que fluorescen. Incluso se pueden formar precipitados de quelatos metálicos. El precipitado de níquel-dimetilglioxima es un ejemplo en el análisis gravimétrico. La tabla 10.2 es una lista de otros precipitados de quelatos metálicos. Los equilibrios de los complejos pueden influir en las separaciones cromatográficas, y se ha mencionado el uso de agentes complejantes como agentes enmascarantes para evitar reacciones que pudieran interferir. Por ejemplo, en la extracción con disolvente de vanadio con el agente quelante oxina se evita la extracción de cobre complejando el ion cobre con EDTA, y de esta manera se evita la formación de su quelato de oxina.

Los quelatos se usan en gravimetría, espectrofotometría, fluorometría, extracción con disolventes y cromatografía.

Todas estas reacciones complejantes son dependientes del pH, y siempre es necesario el ajuste y control de pH (con soluciones amortiguadoras) para optimizar la reacción que se desea o para minimizar reacciones no deseadas.

9.6 Fracción de especies disociadas en complejos poliligandos: valores β , ¿cuánto de cada especie?

Los complejos como $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ se disocian por etapas igual que los ácidos polipróticos. Como con los ácidos, el cálculo de las concentraciones de equilibrio de especies complejas individuales es difícil, a menos que esté presente un exceso de ligando; en caso contrario, se debe usar un procedimiento iterativo. En presencia de un exceso de ligando, el tratamiento de los equilibrios es similar al cálculo de la concentración de equilibrio de las diversas especies de un ácido poliprótico a una concentración dada de ion hidrógeno (ver el capítulo 7, ecuaciones 7.63 a 7.75). Por ejemplo, si se desea calcular la concentración de equilibrio de las diversas especies de plata en las ecuaciones 9.1 y 9.2 a una concentración dada de amoníaco, se pueden definir las fracciones de cada especie como sigue:

$$\beta_0 = \frac{[\text{Ag}^+]}{C_{\text{Ag}}} \quad \beta_1 = \frac{[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+]}{C_{\text{Ag}}}$$

$$\beta_2 = \frac{[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]}{C_{\text{Ag}}} \quad \beta_0 + \beta_1 + \beta_2 = 1$$

donde C_{Ag} es la concentración total de ion plata en todas las formas. Se usa β para representar las diversas fracciones para los complejos, para evitar confusión con α , que se usa para las fracciones de especies ácidas. (El símbolo β se usa también algunas veces para denotar constantes de equilibrio por etapas, y no se debe confundir aquí con los términos β .) El subíndice denota el número de ligandos asociados con el ion metálico. La concentración total de especies de plata está dada por:

$$C_{\text{Ag}} = [\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+] + [\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] + [\text{Ag}^+] \quad (9.16)$$

Si se desea calcular β_0 , la fracción de Ag^+ , se pueden usar las expresiones de constantes de equilibrio en las ecuaciones 9.1 y 9.2 para sustituir en la ecuación 9.16 y así obtener una expresión que contiene sólo $[\text{Ag}^+]$ como especie de plata. De la ecuación 9.1,

$$[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] = K_{f1}[\text{Ag}^+][\text{NH}_3] \quad (9.17)$$

De las ecuaciones 9.2 y 9.17,

$$[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+] = K_{f2}[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+][\text{NH}_3] = K_{f1}K_{f2}[\text{Ag}^+][\text{NH}_3]^2 \quad (9.18)$$

Sustituyendo las ecuaciones 9.17 y 9.18 en 9.16,

$$C_{\text{Ag}} = K_{f1}K_{f2}[\text{Ag}^+][\text{NH}_3]^2 + K_{f1}[\text{Ag}^+][\text{NH}_3] + [\text{Ag}^+] \quad (9.19)$$

Sustituyendo en el denominador la expresión de β_0 , se tiene

$$\beta_0 = \frac{1}{K_{f1}K_{f2}[\text{NH}_3]^2 + K_{f1}[\text{NH}_3] + 1} \quad (9.20)$$

Usar esta ecuación para calcular la fracción de Ag^+ en solución.

Se pueden derivar ecuaciones similares para las otras β sustituyendo a partir de las ecuaciones 9.1 y 9.2, para obtener expresiones en términos ya sea de $[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+]$ para β_1 o $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]$ para β_2 . O, como ya se tiene una expresión para los denominadores de β_1 y β_2 , se puede sustituir 9.17 y 9.18 en los numeradores de β_1 y β_2 , respectivamente. El resultado es

$$\beta_1 = \frac{K_{f1}[\text{NH}_3]}{K_{f1}K_{f2}[\text{NH}_3]^2 + K_{f1}[\text{NH}_3] + 1} \quad (9.21)$$

$$\beta_2 = \frac{K_{f1}K_{f2}[\text{NH}_3]^2}{K_{f1}K_{f2}[\text{NH}_3]^2 + K_{f1}[\text{NH}_3] + 1} \quad (9.22)$$

Estas ecuaciones se pueden comparar con las ecuaciones 7.72 a 7.75 del capítulo 7 para las α . Son algo diferentes en forma porque los equilibrios se escribieron como asociaciones y no como disociaciones. Si se hubieran usado constantes de disociación en vez de constantes de formación, las ecuaciones habrían sido idénticas a las de α para un ácido diprótico, salvo que $[\text{H}^+]$ habría sido reemplazado por $[\text{NH}_3]$, las K_a se hubieran reemplazado por las K_d , y el orden de las β se hubiera invertido con respecto al orden de las α ($\beta_0 \approx \alpha_2$), ya que se definieron en orden inverso.



Ejemplo 9.5

Calcular las concentraciones de equilibrio de las diferentes especies iónicas de plata para plata(I) 0.010 M en NH_3 0.10 M.

Solución

A partir de las ecuaciones 9.20 a 9.22,

$$\beta_0 = \frac{1}{(2.5 \times 10^3)(1.0 \times 10^4)(0.10)^2 + (2.5 \times 10^3)(0.10) + 1} = 4.0 \times 10^{-6}$$

De igual manera,

$$\begin{aligned} \beta_1 &= 1.0 \times 10^{-3} & \beta_2 &= 1.0 \\ [\text{Ag}^+] &= C_{\text{Ag}}\beta_0 = (0.010)(4.0 \times 10^{-6}) = 4.0 \times 10^{-8} \text{ M} \\ [\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] &= C_{\text{Ag}}\beta_1 = (0.010)(1.0 \times 10^{-3}) = 1.0 \times 10^{-5} \text{ M} \\ [\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+] &= C_{\text{Ag}}\beta_2 = (0.010)(1.0) = 0.010 \text{ M} \end{aligned}$$

Esencialmente, toda la plata existe como el complejo diamoniaco en amoníaco 0.10 M.

En el cálculo anterior se despreció el consumo de amoníaco al formar los complejos. Puede apreciarse que 20% del amoníaco se consumió, como primera aproximación. Si se tuvieran que recalcular las β a NH_3 0.08 M, β_2 sería todavía igual a 1.0 y la mayor parte de la plata existiría todavía como $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$. Sin embargo, habrían cambiado los valores relativos de β_0 y β_1 . Éste es un **procedimiento iterativo** o **método de aproximaciones sucesivas**. Se puede usar en cualquier cálculo de equilibrio en el que se hacen suposiciones con fines de simplificación, incluyendo equilibrios simples ácido-base en los que la cantidad de ácido disociado se supone insignificante comparada con la concentración ini-

Realizar un cálculo iterativo para corregir el NH_3 consumido en el complejamiento.

cial (ver el capítulo 6). Por lo regular, lo adecuado es hacer dos o máximo tres cálculos iterativos.

Ver el problema 22 para calcular con hoja de cálculo los valores β para la especie $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ como función de $[\text{NH}_3]$.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Constantes de formación, p. 294
- Equilibrios de EDTA (ecuaciones clave: 9.12, 9.13), p. 298
- Indicadores para titulaciones con EDTA, p. 305
- Valores de β (ecuaciones clave: 9.20-9.22), p. 308

Preguntas

1. Distinguir entre un agente complejante y un agente quelante.
2. Explicar los principios de los indicadores de titulación por quelación.
3. ¿Por qué se agrega una pequeña cantidad de sal de magnesio a la solución de EDTA que se usa para titular calcio con el indicador Eriocromo Negro T?

Problemas

CÁLCULOS DE EQUILIBRIO DE COMPLEJOS (K_f)

4. El ion calcio forma un complejo débil 1:1 con el ion nitrato, con una constante de formación de 2.0. ¿Cuáles serían las concentraciones de equilibrio de Ca^{2+} y $\text{Ca}(\text{NO}_3)^+$ en una solución preparada agregando 10 mL de CaCl_2 0.010 M y 10 mL de NaNO_3 2.0 M? Ignorar el efecto de ion diverso.
5. La constante de formación del complejo plata-etilendiamina $\text{Ag}(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)^+$ es 5.0×10^4 . Calcular la concentración de Ag^+ en equilibrio con una solución 0.10 M del complejo (suponer que no hay complejos de orden superior).
6. ¿Cuál sería la concentración de Ag^+ en el problema 5 si la solución contuviera también etilendiamina 0.10 M, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$?
7. El ion plata forma por etapas complejas con el ion tiosulfato, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, con $K_{f1} = 6.6 \times 10^8$ y $K_{f2} = 4.4 \times 10^4$. Calcular las concentraciones al equilibrio de todas las especies de plata para AgNO_3 0.0100 M en $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1.00 M. Despreciar los efectos de ion diverso.

CONSTANTES CONDICIONALES DE FORMACIÓN

8. La constante de formación para el quelato plomo-EDTA (PbY^{2-}) es 1.10×10^{18} . Calcular la constante condicional de formación: a) a pH 3 y b) a pH 10.
9. Usando las constantes condicionales calculadas en el problema 8, calcular el pPb ($-\log[\text{Pb}^{2+}]$) para 50.0 mL de una solución 0.0250 M Pb^{2+} : a) a pH 3 y b) a pH 10 después de la adición de: 1) 0 mL, 2) 50 mL, 3) 125 mL y 4) 200 mL de EDTA 0.0100 M.

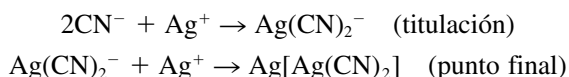
10. En el ejemplo 9.4 se calculó que la constante condicional de formación para el quelato calcio-EDTA a pH de 10 es 1.8×10^{10} . Calcular la constante condicional de formación a pH 3. Comparar ésta con la calculada para plomo a pH 3 en el problema 8. ¿Podría el plomo titularse con EDTA a pH 3 en presencia de calcio?

SOLUCIONES ESTÁNDAR

11. Calcular el peso de $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ necesario para preparar 500.0 mL de EDTA 0.05000 *M*.
12. Una solución de EDTA se estandariza contra CaCO_3 de alta pureza disolviendo 0.3982 g de CaCO_3 en ácido clorhídrico, ajustando el pH a 10 con una solución amortiguadora amoniacal y titulando. Si se consumieron 38.26 mL en la titulación, ¿cuál es la molaridad del EDTA?
13. Calcular el título de EDTA 0.1000 *M* en mg de CaCO_3 /mL.
14. Si se titulan 100.0 mL de una muestra de agua con EDTA 0.01000 *M*, ¿cuál es el título del EDTA en términos de dureza de agua/mL?

DETERMINACIONES COMPLEJOMÉTRICAS CUANTITATIVAS

15. Se determina calcio en leche en polvo incinerando una muestra de 1.50 g y luego titulando el calcio con una solución de EDTA, requiriéndose 12.1 mL. El EDTA se estandarizó titulado 10.0 mL de una solución de zinc preparada disolviendo 0.632 g de zinc metálico en ácido y diluyendo a 1 L (se consumieron 10.8 mL de EDTA para la titulación). ¿Cuál es la concentración de calcio en la leche en polvo en partes por millón?
16. Se determina calcio en suero por microtitulación con EDTA. Una muestra de 100 μL se trata con dos gotas de KOH 2 *M*, se agrega indicador Cal-Red y se realiza la titulación con EDTA 0.00122 *M*, usando una microbureta. Si se consumen 0.203 mL de EDTA en la titulación, ¿cuál es el nivel de calcio en el suero en mg/dL y en meq/L?
17. En la titulación de Liebig de ion cianuro se forma un complejo soluble, y en el punto de equivalencia se forma cianuro de plata sólido, marcando el punto final:



Una muestra de 0.4723 g de KCN se tituló con AgNO_3 0.1025 *M*, consumiendo 34.95 mL. ¿Cuál es el porcentaje de pureza del KCN?

18. Se determina cobre en agua salada cerca de la descarga de una planta de tratamiento de aguas de desecho separando y concentrando primero el cobre por extracción con disolvente de su quelato de ditizona a pH 3 en cloruro de metileno y luego evaporando el disolvente, incinerando el quelato para destruir la porción orgánica y titulando el cobre con EDTA. Se extraen tres porciones de la muestra de 1 L, cada una con una porción de 25 mL de cloruro de metileno, y los tres extractos se combinan en un matraz volumétrico de 100 mL y se diluyen a volumen. Una alícuota de 50 mL se evapora, se incinera y se titula. Si la solución de EDTA tiene un título de CaCO_3 de 2.69 mg/mL y se consumen 2.67 mL para la titulación del cobre, ¿cuál es la concentración del cobre en el agua de mar en partes por millón?
19. Se determina cloro en suero por titulación con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$; $2\text{Cl}^- + \text{Hg}^{2+} \rightleftharpoons \text{HgCl}_2$. El $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ se estandariza titulado 2.00 mL de una solución 0.0108 *M* de NaCl consumiendo 1.12 mL para llegar al punto final con difenilcarbazona. Una muestra de 0.500 mL de suero se trata con 3.50 mL de agua, 0.50 mL de solución de tungstato

de sodio al 10% y 0.50 mL de solución 0.33 M de H_2SO_4 para precipitar las proteínas. Después de precipitar las proteínas, la muestra se filtra a través de un filtro seco a un matraz seco. Se titula una alícuota de 2.00 mL del filtrado con la solución de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, consumiendo 1.23 mL. Calcular los meq/L de cloruro en el suero (nota: el mercurio rara vez se usa en la actualidad debido a su toxicidad; el problema es ilustrativo).

PROBLEMAS DE HOJA DE CÁLCULO

20. Preparar una hoja de cálculo para la figura 9.2, $\log K_f'$ contra pH para los quelatos de EDTA de calcio, plomo y mercurio. Para esto será necesario calcular α_4 para el EDTA y los valores de K_f para los quelatos de calcio, plomo y mercurio. Calcular a intervalos de pH de 0.5. Comparar la gráfica resultante con la figura 9.2.
21. Preparar una hoja de cálculo para la titulación de 100.00 mL de Ca^{2+} 0.1000 M con Na_2EDTA 0.1000 M a pH 10 (pCa contra mL de EDTA, figura 9.3). Comenzar en 10 mL y luego a intervalos de 20 mL de titulante, y disminuir gradualmente hasta 0.05 mL, poco antes y poco después del punto de equivalencia. Ver el ejemplo 9.4.
22. Preparar una hoja de cálculo para graficar los tres valores β para $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ como función de $[\text{NH}_3]$. Graficar de 0 a 0.01 M de NH_3 , comenzando con incrementos de 0.0005 M, y después de cuatro intervalos usar 0.001 M.

Referencias recomendadas

1. *Stability Constants of Metal-Ion Complexes. Part A: Inorganic Ligands*, E. Hogfeldt, ed., *Part B: Organic Ligands*, D.D. Perrin, ed., Oxford: Pergamon, 1979, 1981.
2. A. Martell y R. J. Mostekaitis, *The Determination and Use of Stability Constants*, Nueva York: VCH, 1989.
3. J. Kragten, *Atlas of Metal-Ligand Equilibria in Aqueous Solution*, Londres: Ellis Horwood, 1978.
4. G. Schwarzenbach, *Complexometric Titrations*, Nueva York: Interscience, 1957.
5. H. Flaschka, *EDTA Titrations*, Nueva York: Pergamon, 1959.
6. H. Flaschka y A. J. Barnard, Jr., "Titrations with EDTA and Related Compounds", en C. L. Wilson y D. W. Wilson, eds., *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 1B, Nueva York: Elsevier, 1960.
7. F. J. Welcher, *The Analytical Uses of Ethylenediaminetetraacetic Acid*, Princeton: Van Nostrand, 1958.
8. F. W. Fales, "Calcium (Complexometric)", en *Standard Methods of Clinical Chemistry*, vol. 2, D. Seligson, ed. Nueva York: Academic, 1958, pp. 1-11.
9. J. Strydom, ed., *Critical Evaluation of Equilibrium Constants Involving 8-Hydroxyquinoline and Its Metal Chelates*, Oxford: Pergamon, 1979.
10. H. A. Flaschka, *Chelates in Analytical Chemistry*, vols. 1-5, Nueva York: Dekker, 1967-1976.

Capítulo diez

ANÁLISIS GRAVIMÉTRICO Y EQUILIBRIOS DE PRECIPITACIÓN



*“Algunas cargas son livianas; otras, pesadas.
Hay quienes prefieren las cargas livianas a las pesadas...”*
—Mao Tse-tung

El análisis gravimétrico es uno de los métodos más exactos y precisos de análisis macrocuantitativo. En este proceso, el analito se convierte selectivamente en una forma insoluble. El precipitado separado se seca o se incinera, tal vez convirtiéndolo en otra forma, y entonces se pesa con exactitud. A partir del peso del precipitado y un conocimiento de su composición química, se puede calcular el peso del analito en la forma deseada.

En este capítulo se describen los pasos específicos del análisis gravimétrico, incluyendo la preparación de la solución en la forma adecuada para la precipitación; el proceso de precipitación y cómo se obtiene el precipitado en forma pura y filtrable; el filtrado y lavado del precipitado para evitar pérdidas e impurezas, y el calentamiento del precipitado para convertirlo a una forma que se pueda pesar. Se dan procedimientos para calcular la cantidad de analito a partir del peso de precipitado, siguiendo los principios que se introdujeron en el capítulo 5. También se proporcionan algunos ejemplos comunes de análisis gravimétrico. Por último, se explican el producto de solubilidad y los equilibrios de precipitación asociada.

La gravimetría es una de las técnicas analíticas más exactas (¡pero es tediosa!). ¡T.W. Richards la usó para determinar los pesos atómicos! Recibió el Premio Nobel en 1914 por este trabajo. Véase *Z. Anorg. Chem.*, **8** (1895), 413, 419 y 421 para algunos de sus cuidadosos estudios sobre contaminación. Véase también <http://nobelprizes.com>

10.1 Cómo realizar un análisis gravimétrico satisfactorio

Un análisis gravimétrico satisfactorio consiste en un número de operaciones importantes diseñadas para obtener un precipitado puro y filtrable adecuado para pesarse. Si se desea precipitar cloruro de plata de una solución de cloruro agregando nitrato de plata, el procedimiento es algo más que simplemente verter una solución de nitrato de plata y luego filtrar.

El análisis gravimétrico exacto requiere de una manipulación cuidadosa al formar y tratar el precipitado.

¿QUÉ ETAPAS SE REQUIEREN?

Los pasos necesarios en el análisis gravimétrico, después de haber disuelto la muestra, se pueden resumir como sigue:

1. Preparación de la solución
2. Precipitación
3. Digestión
4. Filtración
5. Lavado
6. Secado o incineración
7. Pesado
8. Cálculo

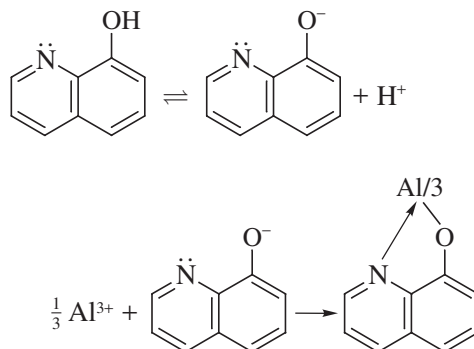
En seguida se describen estas operaciones y se justifica la necesidad de llevarlas a cabo.

PRIMERO SE PREPARA LA SOLUCIÓN

El primer paso en la realización de un análisis gravimétrico consiste en preparar la solución. Puede requerirse alguna forma de separación previa para eliminar los materiales de interferencia. También se deben ajustar las condiciones de la solución para mantener baja solubilidad del precipitado y obtenerlo en una forma adecuada para la filtración. El ajuste correcto de las condiciones de la solución antes de la precipitación también puede enmascarar interferencias potenciales. Los factores que se deben considerar incluyen el volumen de la solución durante la precipitación; el intervalo de concentración de la sustancia de prueba; la presencia y las concentraciones de otros constituyentes; la temperatura, y el pH.

Por lo regular, la reacción de precipitación es selectiva para el analito.

Aunque pueden necesitarse separaciones preliminares, en otros casos el paso de precipitación en el análisis gravimétrico es lo suficientemente selectivo como para no requerir otras separaciones. El pH es importante porque a menudo influye tanto en la solubilidad del precipitado analítico como en la posibilidad de interferencias de otras sustancias. Por ejemplo, el oxalato de calcio es insoluble en medio básico, pero a bajo pH el ion oxalato se combina con los iones hidrógeno para formar un ácido débil. La 8-hidroxiquinolina (oxina) se puede usar para precipitar un gran número de elementos, pero controlando el pH se pueden precipitar elementos de manera selectiva. El ion aluminio se puede precipitar a pH 4, pero la concentración de la forma aniónica de la oxina es demasiado baja a este pH para precipitar el ion magnesio.



Se requiere un pH más alto para desplazar la etapa de ionización a la derecha con objeto de precipitar el magnesio. Sin embargo, si el pH es demasiado alto, se precipitará el hidróxido de magnesio, causando interferencia.

Los efectos de los otros factores antes mencionados se harán evidentes cuando se explique la etapa de precipitación.

LUEGO SE HACE LA PRECIPITACIÓN, PERO BAJO LAS CONDICIONES CORRECTAS

Después de preparar la solución, el siguiente paso consiste en efectuar la precipitación. Otra vez, son importantes ciertas condiciones. En primer lugar, el precipitado debe ser lo *suficientemente insoluble* como para que la cantidad perdida por solubilidad sea imperceptible. Debe estar constituido por *cristales grandes* que se puedan filtrar con facilidad. Todos los precipitados tienden a arrastrar algo de los otros constituyentes de la solución. La contaminación debe ser imperceptible. Mantener grandes los cristales puede minimizar esta contaminación.

Se pueden apreciar las condiciones correctas para la precipitación si se observa primero el **proceso de precipitación**: cuando a la solución de prueba se agrega una solución del agente precipitante para formar un precipitado, como la adición de AgNO_3 a una solución de cloruro para precipitar AgCl , la precipitación real sucede en una serie de etapas. El proceso de precipitación implica equilibrios heterogéneos, y por tanto no es instantáneo (véase el capítulo 6). La condición de equilibrio está descrita por el producto de solubilidad, que se explica al final del capítulo. Primero ocurre la **sobresaturación**, es decir, que la fase de solución contiene más cantidad de la sal disuelta que en el equilibrio. Ésta es una condición metaestable, y la fuerza directriz hará que el sistema se aproxime al equilibrio (saturación). Esto se inicia con la **nucleación**. Para que ésta ocurra, se deben unir un número mínimo de partículas para producir núcleos microscópicos de la fase sólida. Cuanto mayor sea el grado de sobresaturación, mayor será la rapidez de nucleación. La formación de un mayor número de núcleos por unidad de tiempo producirá finalmente más cristales totales de un tamaño más pequeño. La superficie total de los cristales será mayor, y habrá más peligro de que se adsorban impurezas (ver más adelante).

Aunque teóricamente la nucleación debe ocurrir de manera espontánea, por lo regular se induce, por ejemplo, sobre partículas de polvo, asperezas en la superficie del recipiente o mediante el sembrado (adición) de cristales del precipitado (no en el análisis cuantitativo).

Después de la nucleación, el núcleo inicial crecerá por la deposición de otras partículas de precipitado para formar un cristal de cierta forma geométrica. De nuevo, cuanto mayor sea la sobresaturación, más rápida será la rapidez de crecimiento de cristales. Un aumento en la rapidez de crecimiento aumenta los riesgos de imperfección en el cristal y de atrapar impurezas.

Von Weimarn descubrió que el tamaño de partícula de los precipitados es inversamente proporcional a la sobresaturación relativa de la solución durante el proceso de precipitación:

$$\text{Sobresaturación relativa} = \frac{Q - S}{S}$$

donde Q es la concentración de los reactivos mezclados *antes* de que ocurra la precipitación y representa el **grado de sobresaturación**, y S es la **solubilidad** del precipitado en el equilibrio. A esto también se le llama la **relación de von Weimarn**.

Durante el proceso de precipitación ocurre sobresaturación (¡se debe minimizar!), seguida por nucleación y precipitación.

Como se mencionó previamente, cuando una solución está sobresaturada, está en un estado de equilibrio metaestable, lo que favorece la nucleación rápida para formar un gran número de partículas pequeñas. Es decir,

Alta sobresaturación relativa → muchos pequeños cristales
(elevada área superficial)

Baja sobresaturación relativa → pocos cristales más grandes
(baja área superficial)

Obviamente, entonces se quiere mantener Q baja y S alta durante la precipitación. Por lo común se efectúan varios pasos para mantener *condiciones favorables de precipitación*:

Aquí se ve cómo minimizar la sobresaturación y obtener cristales grandes.

1. Precipitar a partir de una *solución diluida*. Esto mantiene Q baja.
2. Agregar *lentamente* reactivos de precipitación diluidos, con *agitación* constante. Esto también mantiene Q baja. La agitación evita excesos locales del reactivo.
3. Precipitar a partir de una *solución caliente*. Esto aumenta S . La solubilidad no debe ser demasiado grande, o la precipitación no será cuantitativa (con menos de una parte por mil remanentes). El grueso de la precipitación se puede realizar en solución caliente, y luego enfriar la solución para hacer cuantitativa la precipitación.
4. Precipitar a un pH lo más bajo que sea posible en el que se mantenga la precipitación cuantitativa. Como se ha visto, muchos precipitados son más solubles en medio ácido, y esto reduce la rapidez de precipitación. Son más solubles porque el anión del precipitado se combina con los protones de la solución.

¡Los precipitados muy insolubles no son los mejores candidatos para el análisis gravimétrico! Se sobresaturan con demasiada facilidad.

No agregar demasiado exceso de agente precipitante. Esto aumentará la adsorción.

¡Verificar que la precipitación sea completa!

La mayor parte de estas operaciones también pueden disminuir el grado de contaminación. La concentración de impurezas se mantiene más baja y su solubilidad aumenta, y la menor rapidez de precipitación disminuye el riesgo de que queden atrapadas. Los cristales más grandes tienen un área superficial específica más pequeña (es decir, una menor área superficial relativa a la masa), y por tanto tienen menos riesgo de adsorber impurezas. Obsérvese que los precipitados más insolubles no constituyen los mejores candidatos para precipitados puros y fácilmente filtrables. Un ejemplo es el óxido hidratado de hierro (o hidróxido de hierro), que forma un precipitado gelatinoso de gran área superficial.

Cuando se realiza la precipitación, se agrega un ligero exceso del reactivo precipitante para disminuir la solubilidad por acción de masas (efecto del ion común) y para asegurar la precipitación completa. Se debe evitar un gran exceso del agente precipitante porque aumenta los riesgos de adsorción en la superficie del precipitado, además de constituir un desperdicio. Si se conoce la cantidad aproximada de analito, por lo general se agrega 10% de exceso de reactivo. La finalización del precipitado se verifica esperando hasta que éste se haya sedimentado; a continuación se añaden unas cuantas gotas de agente precipitante a la solución transparente por encima de éste. Si no se forma precipitado nuevo, la precipitación está completa.

DIGERIR EL PRECIPITADO PARA HACER CRISTALES MÁS GRANDES Y MÁS PUROS

Se sabe que los cristales muy pequeños con gran área superficial específica tienen una energía superficial más alta y una solubilidad aparente más elevada que los cristales grandes. Éste es un fenómeno de rapidez inicial, no representa la condición de equilibrio, y es

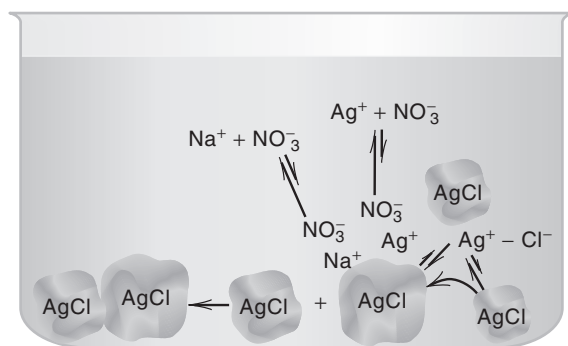


Figura 10.1. Maduración de Ostwald.

una consecuencia de los equilibrios heterogéneos. Cuando se permite que un precipitado esté en presencia del **licor madre** (la solución de la cual se precipitó), los cristales grandes crecen a expensas de los pequeños. Este proceso se llama **digestión**, o también **maduración de Ostwald**, y se ilustra en la figura 10.1. Las pequeñas partículas tienden a disolverse y volver a precipitar en las superficies de los cristales grandes. Además, las partículas individuales se **aglomeran** para compartir efectivamente una capa común de contraiones (véase más adelante), y las partículas aglomeradas finalmente se **cementan** entre sí formando puentes de conexión. Esto disminuye notablemente el área superficial.

Asimismo, las imperfecciones de los cristales tienden a desaparecer, y las impurezas adsorbidas o atrapadas, a entrar en solución. La digestión por lo regular se lleva a cabo a temperaturas elevadas para acelerar el proceso, aunque en algunos casos se hace a la temperatura del laboratorio. Esto aumenta tanto la filtrabilidad del precipitado como su pureza.

Muchos precipitados no dan una relación de von Weimarn favorable, en especial los muy insolubles. Por tanto, es imposible dar un precipitado cristalino (pequeño número de partículas grandes), y éste es esencialmente **coloidal** (con un gran número de partículas pequeñas).

Las partículas coloidales son muy pequeñas (1 a 100 μm) y tienen una relación de superficie a masa muy grande, lo cual promueve la adsorción superficial. Se forman en virtud del mecanismo de precipitación. Al formarse un precipitado, los iones se ordenan siguiendo una pauta fija. En el AgCl, por ejemplo, habrá iones alternos de Ag^+ y Cl^- en la superficie (ver la figura 10.2). Aunque hay cargas $+$ y $-$ localizadas en la superficie, la carga neta de la superficie es cero. Sin embargo, la superficie tiende a adsorber el ion de la partícula precipitada que está en exceso en la solución, como Cl^- si se precipita Cl^-

La maduración de Ostwald mejora la pureza y la cristalinidad del precipitado.

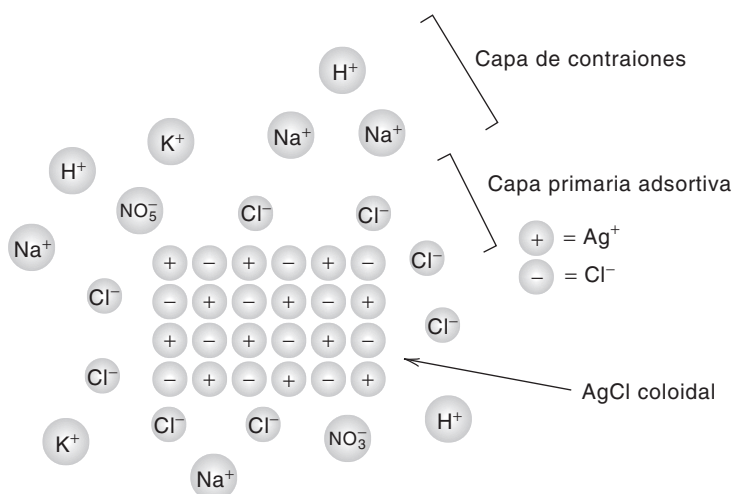


Figura 10.2. Representación de una partícula coloidal de cloruro de plata y capas adsorptivas cuando el Cl^- está en exceso.

con Ag^+ ; esto imparte una carga. (Con precipitados cristalinos, el grado de tal adsorción por lo general será pequeño en comparación con las partículas que tienden a formar coloides.) La adsorción crea una **capa primaria** que se adsorbe fuertemente y es una parte integral del cristal. Atrae iones de carga opuesta en una **capa de contraiones** o capa secundaria, de modo que la partícula tendrá una carga total neutra. Habrá moléculas de disolvente entremezcladas entre las capas. Normalmente la capa de contraiones neutraliza por completo la capa primaria y está cercana a ésta, de modo que las partículas se reúnen para formar partículas de mayor tamaño; es decir, se **coagulan**. Sin embargo, si la capa secundaria está adherida flojamente, la carga de la superficie primaria tenderá a repeler partículas iguales, manteniendo un estado coloidal.

La peptización es lo contrario de la coagulación (el precipitado se revierte al estado coloidal y se pierde). Se evita lavando con un electrólito que se pueda volatilizar por calentamiento.

Cuando se filtran las partículas coaguladas se retienen las capas iónicas adsorbidas primaria y secundaria junto con el disolvente. El lavado con agua de las partículas aumenta la cantidad de moléculas de disolvente (agua) entre las capas, haciendo que la capa secundaria esté pobremente adherida, y las partículas se revierten al estado coloidal. Este proceso se llama **peptización**, y se explica con mayor detalle más adelante, cuando se describa el lavado de precipitados. La adición de un electrólito dará por resultado una capa secundaria más cercana y promoverá la coagulación. El calentamiento tiende a disminuir la adsorción y la carga efectiva en las capas adsorbidas, ayudando así a la coagulación. También ayuda la agitación.

Aunque todos los precipitados coloidales provocan problemas en los precipitados analíticos, algunos son peores que otros. Hay dos tipos de coloides, los **hidrofílicos** y los **hidrofóbicos**. Hidrofílico significa “amante del agua”, y estos coloides tienen una fuerte afinidad por el agua. Por tanto, una solución de un coloide hidrofílico es viscosa. Los coloides hidrofóbicos tienen poca atracción por el agua. Una solución de este tipo de coloides se llama **sol**.

El AgCl forma un coloide hidrofóbico (un sol), que coagula fácilmente. El $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ forma un coloide hidrofílico (un gel) con gran área superficial.

La coagulación de un coloide hidrofóbico es bastante sencilla y produce un precipitado pastoso. Un ejemplo es el cloruro de plata. La coagulación de un coloide hidrofílico, como el óxido férrico hidratado, es más difícil y produce un precipitado gelatinoso difícil de filtrar porque tiende a tapar los poros del filtro. Además, los precipitados gelatinosos adsorben fácilmente las impurezas debido a su área superficial muy grande. Algunas veces se necesita una **reprecipitación** del precipitado filtrado. Durante la reprecipitación, la concentración de las impurezas en solución (de la matriz de la muestra original) se ha reducido a un nivel bajo, y la adsorción será muy pequeña.

A pesar de la naturaleza coloidal del cloruro de plata, la determinación gravimétrica de cloruros es una de las determinaciones más exactas.

IMPUREZAS EN LOS PRECIPITADOS

Los precipitados tienden a arrastrar de la solución otros constituyentes que son normalmente solubles, haciendo que el precipitado se contamine. Este proceso se llama **coprecipitación**. El proceso puede estar basado en el equilibrio o puede estar cinéticamente controlado. Hay diversas maneras de precipitar un material extraño.

La oclusión es la captura de impurezas dentro del precipitado.

1. Oclusión e inclusión. En el proceso de **oclusión**, el material que no es parte de la estructura del cristal se atrapa dentro de un cristal. Por ejemplo, el agua puede quedar atrapada en depósitos cuando se forman los cristales de AgNO_3 , y estos depósitos se pueden expulsar por fusión. Si tal captura mecánica ocurre durante un proceso de precipitación, el agua contendrá las impurezas disueltas. La **inclusión** ocurre cuando iones, generalmente de tamaños y cargas similares, se atrapan dentro de la red cristalina (inclusión isomórfica, como con el K^+ en la precipitación de NH_4MgPO_4). Éstos no son procesos de equilibrio.

Las impurezas ocluidas o incluidas son difíciles de remover. La digestión puede ayudar algo, pero no es por completo eficaz; las impurezas no se pueden eliminar por lavado; la purificación por disolución y reprecipitación puede ser de ayuda.

2. Adsorción superficial. Como ya se ha mencionado, la superficie del precipitado tiene una capa adsorbida primaria de los iones reticulares en exceso. Esto provoca **adsorción superficial**, la forma más común de contaminación. Después de que el sulfato de bario esté completamente precipitado, el ion reticular que estará en exceso será el bario, y éste formará la capa primaria. El contraión será un anión del exterior, como el nitrato, dos por cada ion bario. El efecto neto es, entonces, una capa adsorbida de nitrato de bario, proceso basado en el equilibrio. Estas capas adsorbidas a menudo se pueden remover por lavado o se pueden reemplazar por iones que se volatilicen fácilmente. Sin embargo, los precipitados gelatinosos son en especial problemáticos. La digestión reduce el área superficial y la cantidad de adsorción.

3. Reemplazo isomorfo. Se dice que dos compuestos son **isomorfos** si tienen el mismo tipo de fórmula y cristalizan en formas geométricas similares. Cuando sus dimensiones reticulares son aproximadamente iguales, un ion puede reemplazar a otro en el cristal, dando como resultado un **cristal mixto**. Este proceso se llama **reemplazo isomorfo**. Por ejemplo, en la precipitación de Mg^{2+} como fosfato de magnesio y amonio, el K^+ tiene aproximadamente el mismo tamaño iónico que el NH_4^+ , y puede reemplazarlo para formar fosfato de magnesio y potasio. Cuando ocurre reemplazo isomorfo, es muy grave, y poco se puede hacer para remediarlo. Los precipitados en los que ocurre rara vez se usan en forma analítica. La formación de cristales mixtos es un modo de formación de precipitados en equilibrio, aunque puede estar influida por la rapidez de la precipitación.

4. Posprecipitación. A veces, cuando se deja que el precipitado esté en contacto con el licor madre, una segunda sustancia formará lentamente un precipitado con el agente precipitante. Esto se conoce como **posprecipitación**. Por ejemplo, cuando se precipita oxalato de calcio en presencia de iones de magnesio, no se precipita de inmediato el oxalato de magnesio, porque tiende a formar soluciones sobresaturadas; pero se precipitará si se deja que la solución permanezca un tiempo demasiado largo antes de filtrarla. De manera similar, el sulfuro de cobre se precipitará en solución ácida en presencia de iones zinc, pero finalmente precipitará el sulfuro de zinc. La posprecipitación es un proceso de equilibrio lento.

LAVADO Y FILTRADO DE LOS PRECIPITADOS. HAY QUE TENER CUIDADO O ALGO SE PUEDE PERDER

Las impurezas coprecipitadas, en especial las que están en la superficie, se pueden eliminar lavando el precipitado después de filtrar, el cual estará humedecido con el licor madre, que también se remueve mediante el lavado. Muchos precipitados no se pueden lavar con agua pura porque ocurre la **peptización**; ésta es lo contrario de la coagulación, como ya se mencionó.

El proceso de coagulación que se comentó antes es al menos parcialmente reversible. Según se ha visto, las partículas coaguladas tienen una capa neutra de iones adsorbidos primarios y contraiones. También se vio que la presencia de otro electrólito forzará a los contraiones a un contacto más estrecho con la capa primaria, promoviendo así la coagulación. Estos iones extraños se arrastran en la coagulación. El lavado con agua diluye y elimina los iones extraños, y el contraión ocupará un volumen mayor, con más moléculas de disolvente entre éste y la capa primaria. El resultado es que las fuerzas repelentes entre las partículas vuelven a ser fuertes, y éstas regresan de manera parcial al estado coloidal, pasando a través del filtro. Esto se puede evitar agregando un electrólito al líquido de lavado, como HNO_3 , o NH_4NO_3 para el precipitado de $AgCl$ (pero no KNO_3 , que no es volátil; véase lo que sigue).

El electrólito debe ser volátil a la temperatura que se va a usar para el secado o la incineración, y no debe disolver el precipitado. Por ejemplo, se usa ácido nítrico precipitado

La adsorción superficial de impurezas es la causa más común de error en gravimetría. Se reduce mediante una correcta técnica de precipitación, una correcta digestión y un correcto lavado.

como solución de lavado para el cloruro de plata. El ácido nítrico reemplaza la capa adsorbida de Ag^+ lanión $^-$, y se volatiliza al secar a 110°C . El nitrato de amonio se usa como electrólito de lavado para óxido férrico hidratado. Se descompone en NH_3 , HNO_3 , N_2 y óxidos de nitrógeno cuando el precipitado se seca por incineración a alta temperatura.

Probar la culminación del lavado.

Cuando se lava un precipitado, se debe realizar una prueba para determinar cuándo se ha completado el lavado; esto se hace probando el filtrado para detectar la presencia de un ion del reactivo de precipitación. Después de varios lavados con pequeños volúmenes del líquido de lavado, se recolectan en un tubo de ensayo unas pocas gotas del filtrado para hacer la prueba. Por ejemplo, si se determina ion cloruro por precipitación con reactivo de nitrato de plata, el filtrado se prueba para detectar ion plata agregando cloruro de sodio o HCl diluido. Esta técnica de filtrado se describe en el capítulo 2.

SECADO O INCINERACIÓN DEL PRECIPITADO

El secado remueve el disolvente y los electrólitos de lavado.

Si el precipitado que se recolecta está en forma adecuada para pesarse, se debe calentar para remover el agua y el electrólito adsorbido del líquido de lavado. Este secado por lo regular se puede hacer calentando de 110 a 120°C durante 1 a 2 h. En general, se requiere la **incineración** a una temperatura mucho más alta si un precipitado se debe convertir a una forma más adecuada para el pesado. Por ejemplo, el fosfato de magnesio y amonio, MgNH_4PO_4 , se descompone en pirofosfato, $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, calentando a 900°C . El óxido férrico hidratado, $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, se incinera para convertirlo en óxido férrico anhidro. Muchos metales se precipitan mediante reactivos orgánicos (por ejemplo, 8-hidroxiquinolona) o por sulfuro; se pueden incinerar para convertirlos en sus óxidos. La técnica de incinerar un precipitado se describe también en el capítulo 2.

10.2 Cálculos gravimétricos. ¿Cuánto analito hay?

El precipitado que se pesa por lo regular está en una forma diferente a la del analito cuyo peso se quiere informar. Los principios para convertir el peso de una sustancia al peso de otra se dan en el capítulo 5 (sección 5.8), usando relaciones molares estequiométricas. Se introdujo el **factor gravimétrico** (GF), que representa el peso del analito por unidad de peso del precipitado. Se obtiene a partir de la relación del peso fórmula del analito entre el del precipitado, multiplicada por los moles de analito entre los moles de precipitado obtenidos de cada mol de analito; es decir,

$$\text{GF} = \frac{\text{peso fórm. analito (g/mol)}}{\text{peso fórm. precipitado (g/mol)}} \times \frac{a}{b} \text{ (moles de analito/moles de precipitado)} \quad (10.1)$$

$$= \text{g analito/g precipitado}$$

Gramos de precipitado $\times$ GF da los gramos del analito.

De modo que si el Cl_2 en una muestra se convierte en cloruro y se precipita como AgCl , el peso de Cl_2 que da 1 g de AgCl es

$$\begin{aligned} \text{g Cl}_2 &= \text{g AgCl} \times \frac{\text{peso fórm. Cl}_2 \text{ (g Cl}_2\text{/mol Cl}_2\text{)}}{\text{peso fórm. AgCl (g AgCl/mol AgCl)}} \times \frac{1}{2} \text{ (mol Cl}_2\text{/mol AgCl)} \\ &= \text{g AgCl} \times \text{GF (g Cl}_2\text{/g AgCl)} \\ &= \text{g AgCl} \times 0.2473_7 \text{ (g Cl}_2\text{/g AgCl)} \end{aligned}$$

Ejemplo 10.1

Calcular los gramos de analito por gramo de precipitado para las siguientes conversiones:

<i>Analito</i>	<i>Precipitado</i>
P	Ag_3PO_4
K_2HPO_4	Ag_3PO_4
Bi_2S_3	BaSO_4

Solución

$$\begin{aligned} \text{g P/g Ag}_3\text{PO}_4 &= \frac{\text{al peso P (g/mol)}}{\text{peso g Ag}_3\text{PO}_4 \text{ (g/mol)}} = \frac{1}{1} (\text{mol P/mol Ag}_3\text{PO}_4) \\ &= \frac{30.97 \text{ (g P/mol)}}{418.58 \text{ (g Ag}_3\text{PO}_4\text{/mol)}} \times \frac{1}{1} = 0.07399 \text{ g P/g Ag}_3\text{PO}_4 = \text{GF} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{g K}_2\text{HPO}_4\text{/g Ag}_3\text{PO}_4 &= \frac{\text{peso fórm. K}_2\text{HPO}_4 \text{ (g/mol)}}{\text{peso fórm. Ag}_3\text{PO}_4 \text{ (g/mol)}} \times \frac{1}{1} (\text{mol K}_2\text{HPO}_4\text{/mol Ag}_3\text{PO}_4) \\ &= \frac{174.18 \text{ (g K}_2\text{HPO}_4\text{/mol)}}{418.58 \text{ (g Ag}_3\text{PO}_4\text{/mol)}} \times \frac{1}{1} = 0.41612 \text{ g K}_2\text{HPO}_4\text{/g Ag}_3\text{PO}_4 \\ &= \text{GF} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{g Bi}_2\text{S}_3\text{/g BaSO}_4 &= \frac{\text{peso fórm. Bi}_2\text{S}_3 \text{ (g/mol)}}{\text{peso fórm. BaSO}_4 \text{ (g/mol)}} \times \frac{1}{3} (\text{mol Bi}_2\text{S}_3\text{/mol BaSO}_4) \\ &= \frac{514.15 \text{ (g Bi}_2\text{S}_3\text{/mol)}}{233.40 \text{ (g BaSO}_4\text{/mol)}} \times \frac{1}{3} = 0.73429 \text{ g Bi}_2\text{S}_3\text{/g BaSO}_4 \\ &= \text{GF} \end{aligned}$$

En el análisis gravimétrico, lo que interesa en general es la composición porcentual en peso del analito en la muestra; es decir,

$$\% \text{ sustancia buscada} = \frac{\text{peso de la sustancia buscada (g)}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100\% \quad (10.2)$$

Se obtiene el peso de la sustancia buscada a partir del peso del precipitado y la correspondiente relación peso/moles (ecuación 10.1):

$$\begin{aligned} \text{Peso de la sustancia buscada (g)} &= \text{peso del precipitado (g)} \\ &\times \frac{\text{peso fórm. de la sustancia buscada (g/mol)}}{\text{peso fórm. del precipitado (g/mol)}} \\ &\times \frac{a}{b} (\text{moles sustancia buscada/moles precipitado}) \\ &= \text{peso del precipitado (g)} \\ &\times \text{GF (g sust. buscada/precipitado)} \end{aligned}$$

(10.3)

Por lo regular se hacen los cálculos sobre una base porcentual

$$\% A = \frac{g_A}{g_{\text{muestra}}} \times 100\% \quad (10.4)$$

donde g_A representa los gramos de analito (la sustancia deseada de prueba), y g_{muestra} representa los gramos de muestra que se tomaron para el análisis.

¡Verificar las unidades!

Se puede escribir una fórmula general para calcular la composición porcentual de la sustancia que se busca:

$$\% \text{ buscado} = \frac{\text{peso del precipitado (g)} \times \text{GF (g buscados/g precipitado)}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100\% \quad (10.5)$$

Ejemplo 10.2

El ortofosfato (PO_4^{3-}) se determina pesándolo como fosfomolibdato de amonio $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$. Calcular el porcentaje de P en la muestra y el porcentaje de P_2O_5 si se obtuvieron 1.1682 g de precipitado (ppt) de una muestra de 0.2711 g. Realizar el cálculo de % P utilizando el factor gravimétrico y usando sólo análisis dimensional.

Solución

$$\begin{aligned} \% \text{ P} &= \frac{1.1682 \text{ g ppt} \times \frac{\text{P}}{(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3} (\text{g P/g ppt})}{0.2711 \text{ g muestra}} \times 100\% \\ &= \frac{1.1682 \text{ g} \times (30.97/1876.5)}{0.2711 \text{ g}} \times 100\% = 7.111\% \\ \% \text{ P}_2\text{O}_5 &= \frac{1.1682 \text{ g ppt} \times \frac{\text{P}_2\text{O}_5}{2(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3} (\text{g P}_2\text{O}_5/\text{g ppt})}{0.2711 \text{ g muestra}} \times 100\% \\ &= \frac{1.1682 \text{ g} \times [141.95/(2 \times 1876.5)]}{0.2711 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 16.30\% \end{aligned}$$

Realizar los mismos cálculos usando análisis dimensional para el planteamiento de % P.

$$\begin{aligned} \% \text{ P} &= \frac{1.982 \text{ g } (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot \text{MoO}_3 \times (30.97/1867.5) \text{ g P/g } (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3}{0.2771 \text{ g muestra}} \\ &\quad \times 100\% \\ &= (7.111 \text{ g P/g muestra}) \times 100\% = 7.111\% \text{ P} \end{aligned}$$

Adviértase que las especies $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot \text{MoO}_3$ se cancelan mutuamente (por análisis dimensional), dejando en el numerador sólo $\text{g} \cdot \text{P}$ en el numerador.

Cuando se compara este procedimiento con el cálculo del factor gravimétrico se ve que los planteamientos son realmente idénticos. Sin embargo, este procedimiento muestra mejor qué unidades se cancelan y cuáles se quedan.

Ejemplo 10.3

Para determinar el contenido de manganeso en un mineral se convierte éste a Mn_3O_4 y se pesa. Si una muestra de 1.52 g genera Mn_3O_4 con un peso de 0.126 g, ¿cuál será el porcentaje de Mn_2O_3 en la muestra? ¿El porcentaje de Mn?

Solución

$$\begin{aligned}\% \text{ Mn}_2\text{O}_3 &= \frac{0.126 \text{ g Mn}_3\text{O}_4 \times \frac{3\text{Mn}_2\text{O}_3}{2\text{Mn}_3\text{O}_4} (\text{g Mn}_2\text{O}_3/\text{g Mn}_3\text{O}_4)}{1.52 \text{ g muestra}} \times 100\% \\ &= \frac{0.126 \text{ g} \times [3(157.9)/2(228.8)]}{1.52 \text{ g}} \times 100\% = 8.58\% \\ \% \text{ Mn} &= \frac{0.126 \text{ g Mn}_3\text{O}_4 \times \frac{3\text{Mn}}{\text{Mn}_3\text{O}_4} (\text{g Mn/g Mn}_3\text{O}_4)}{1.52 \text{ g muestra}} \times 100\% \\ &= \frac{0.126 \text{ g} \times [3(54.94)/228.8]}{1.52 \text{ g}} \times 100\% = 5.97\%\end{aligned}$$

Los dos ejemplos siguientes ilustran algunas capacidades especiales adicionales de los cálculos gravimétricos.

Ejemplo 10.4

¿Qué peso de mineral de pirita (FeS_2 impuro) se debe tomar para un análisis de modo que el peso obtenido del precipitado de BaSO_4 sea igual a la mitad del porcentaje de S en la muestra?

Solución

Si se tiene A% de S, entonces se obtendrá $\frac{1}{2}A$ g de BaSO_4 . Por tanto,

$$A\% \text{ S} = \frac{\frac{1}{2}A(\text{g BaSO}_4) \times \frac{\text{S}}{\text{BaSO}_4} (\text{g S/g BaSO}_4)}{\text{g muestra}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}\text{o} \quad 1\% \text{ S} &= \frac{\frac{1}{2} \times \frac{32.064}{233.40}}{\text{g muestra}} \times 100\% \\ \text{g muestra} &= 6.869 \text{ g}\end{aligned}$$

MEZCLAS DE PRECIPITADOS: SE REQUIEREN DOS PESOS



Ejemplo 10.5

Una muestra que contiene sólo FeCl_3 y AlCl_3 pesa 5.95 g. Los cloruros se convierten en los óxidos hidratados y se incineran hasta Fe_2O_3 y Al_2O_3 . La mezcla de óxidos pesa 2.62 g. Calcular el porcentaje de Fe y Al en la mezcla original.

Solución

Hay dos incógnitas, de modo que se deben plantear y resolver dos ecuaciones simultáneas. Sea $x = \text{g Fe}$ y $y = \text{g Al}$. Entonces, para la primera ecuación,

$$\text{g FeCl}_3 + \text{g AlCl}_3 = 5.95 \text{ g} \quad (1)$$

$$x \left(\frac{\text{FeCl}_3}{\text{Fe}} \right) + y \left(\frac{\text{AlCl}_3}{\text{Al}} \right) = 5.95 \text{ g} \quad (2)$$

$$x \left(\frac{162.21}{55.85} \right) + y \left(\frac{133.34}{26.98} \right) = 5.95 \text{ g} \quad (3)$$

$$2.90x + 4.94y = 5.95 \text{ g} \quad (4)$$

$$\text{g Fe}_2\text{O}_3 + \text{g Al}_2\text{O}_3 = 2.62 \text{ g} \quad (5)$$

$$x \left(\frac{\text{Fe}_2\text{O}_3}{2\text{Fe}} \right) + y \left(\frac{\text{Al}_2\text{O}_3}{2\text{Al}} \right) = 2.62 \text{ g} \quad (6)$$

$$x \left(\frac{159.69}{2 \times 55.85} \right) + y \left(\frac{101.96}{2 \times 26.98} \right) = 2.62 \text{ g} \quad (7)$$

$$1.43x + 1.89y = 2.62 \text{ g} \quad (8)$$

Resolviendo simultáneamente (4) y (8) para despejar x y y :

$$x = 1.07 \text{ g}$$

$$y = 0.58 \text{ g}$$

$$\% \text{ Fe} = \frac{1.07 \text{ g}}{5.95 \text{ g}} \times 100\% = 18.0\%$$

$$\% \text{ Al} = \frac{0.58 \text{ g}}{5.95 \text{ g}} \times 100\% = 9.8\%$$

10.3 Ejemplos de análisis gravimétrico

Algunos de los análisis más precisos y exactos son gravimétricos. Hay muchos ejemplos, y es necesario familiarizarse con algunos de los más comunes. Éstos se resumen en la tabla 10.1, que indica la sustancia que se busca, el precipitado que se forma, la forma en que se pesa, y los elementos comunes que interferirán y deben estar ausentes. Se deben consultar textos más avanzados y libros analíticos extensos de referencia para detalles sobre estas y otras determinaciones.

Tabla 10.1
Algunos análisis gravimétricos comúnmente empleados

<i>Sustancia analizada</i>	<i>Precipitado que se forma</i>	<i>Precipitado pesado</i>	<i>Interferencias</i>
Fe	Fe(OH) ₃	Fe ₂ O ₃	Muchas, Al, Ti, Cr, etc.
	Fe cupferrato	Fe ₂ O ₃	Metales tetravalentes
Al	Al(OH) ₃	Al ₂ O ₃	Muchas, Fe, Ti, Cr, etc.
	Al(ox) ₃ ^a	Al(ox) ₃	Muchas. El Mg no interfiere en solución ácida
Ca	CaC ₂ O ₄	CaCO ₃ o CaO	Todos los metales, excepto alcalinos y Mg
Mg	MgNH ₄ PO ₄	Mg ₂ P ₂ O ₇	Todos los metales, excepto los alcalinos
Zn	ZnNH ₄ PO ₄	Zn ₂ P ₂ O ₇	Todos los metales, excepto Mg
Ba	BaCrO ₄	BaCrO ₄	Pb
SO ₄ ²⁻	BaSO ₄	BaSO ₄	NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , ClO ₃ ⁻
Cl ⁻	AgCl	AgCl	Br ⁻ , I ⁻ , SCN ⁻ , CN ⁻ , S ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻
Ag	AgCl	AgCl	Hg(I)
PO ₄ ³⁻	MgNH ₄ PO ₄	Mg ₂ P ₂ O ₇	MoO ₄ ²⁻ , C ₂ O ₄ ²⁻ , K ⁺
Ni	Ni(dmgl) ₂ ^b	Ni(dmgl) ₂	Pd

^a ox = Oxina (8-hidroxiquinolina) con 1 H⁺ removido.

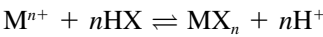
^b dmgl = Dimetilglioxima con 1 H⁺ removido.

10.4 Precipitados orgánicos

Todos los agentes precipitantes de que se ha hablado hasta ahora, salvo la oxina, el cupferrato y la dimetilglioxima (tabla 10.1), han sido de naturaleza inorgánica. También hay numerosos compuestos orgánicos que son agentes precipitantes muy útiles para metales. Algunos de éstos son muy selectivos y otros muy amplios en el número de elementos que precipitan.

Los agentes precipitantes orgánicos tienen las ventajas de dar precipitados con muy baja solubilidad en agua y un factor gravimétrico favorable. La mayoría de ellos son **agentes quelantes** que forman **quelatos** ligeramente solubles, sin carga eléctrica, con los iones metálicos. Un agente quelante es un tipo de agente complejante que tiene dos o más grupos capaces de complejamiento con un ion metálico. El complejo que se forma se llama quelato. Ver el capítulo 9 para una explicación más completa de los quelatos.

Como los agentes quelantes son ácidos débiles, el número de elementos precipitados, y por tanto la selectividad, casi siempre se pueden regular ajustando el pH. Las reacciones se pueden generalizar como



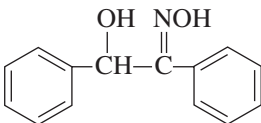
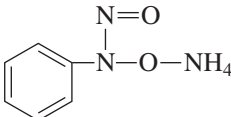
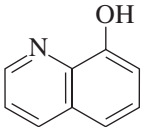
Puede haber más de un protón ionizable en el reactivo orgánico. Cuanto más débil es el quelato metálico, más alto será el pH necesario para obtener la precipitación. En la tabla 10.2 se mencionan algunos de los precipitantes orgánicos más comúnmente usados. Algunos de estos precipitados no son estequiométricos, y se obtienen resultados más exactos incinerándolos para formar los óxidos metálicos. Algunos, como el dietilditiocarbamato de sodio, se pueden usar para realizar separaciones de grupos, como si se hiciera con sulfuro de hidrógeno. Se deben consultar tratados de química analítica para aplicaciones de estos

Los quelatos se describen en el capítulo 9.

Los precipitados de quelato metálico (que dan selectividad) a veces se incineran hasta óxidos metálicos para una mejor estequiometría.

Tabla 10.2

Algunos agentes precipitantes orgánicos

Reactivo	Estructura	Metales precipitados
Dimetilglioxima	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{C} = \text{NOH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} = \text{NOH} \end{array}$	Ni(II) en NH_3 o HOAc amortiguado; Pd(II) en HCl $(\text{M}^{2+} + 2\text{HR} \rightarrow \underline{\text{MR}_2} + 2\text{H}^+)$
α -benzoinozima (cuprón)		Cu(II) en NH_3 y tartrato; Mo(VI) y W(VI) en H^+ $(\text{M}^{2+} + \text{H}_2\text{R} \rightarrow \underline{\text{MR}} + 2\text{H}^+; \text{M}^{2+} = \text{Cu}^{2+}, \text{MoO}_2^{2+}, \text{WO}_2^{2+})$ se pesa el óxido metálico
Nitrosifenilhidroxilamina de amonio (cupferrón)		Fe(III), V(V), Ti(IV), Zr(IV), Sn(IV), U(IV) $(\text{M}^{n+} + n\text{NH}_4\text{R} \rightarrow \underline{\text{MR}_n} + n\text{NH}_4^+)$ se pesa el óxido metálico
8-hidroxiquinolina (oxina)		Muchos metales. Útil para Al(III) y Mg(II) $(\text{M}^{n+} + n\text{HR} \rightarrow \underline{\text{MR}_n} + n\text{H}^+)$
Dietilditiocarbamato de sodio	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ (\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N} - \text{C} - \text{S}^- \text{Na}^+ \end{array}$	Muchos metales a partir de una solución ácida $(\text{M}^{n+} + n\text{NaR} \rightarrow \underline{\text{MR}_n} + n\text{Na}^+)$
Tetrafenilborato de sodio	$\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$	$\text{K}^+, \text{Rb}^+, \text{Cs}^+, \text{Tl}^+, \text{Ag}^+, \text{Hg(I)}, \text{Cu(I)}, \text{NH}_4^+, \text{RNH}_3^+, \text{R}_2\text{NH}_2^+, \text{R}_3\text{NH}^+, \text{R}_4\text{N}^+$. Solución ácida $(\text{M}^+ + \text{NaR} \rightarrow \underline{\text{MR}} + \text{Na}^+)$
Cloruro de tetrafenilarsonio	$(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{AsCl}$	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}, \text{MnO}_4^-, \text{ReO}_4^-, \text{MoO}_4^{2-}, \text{WO}_4^{2-}, \text{ClO}_4^-, \text{I}_3^-$. Solución ácida $(\text{A}^{n-} + n\text{RCl} \rightarrow \underline{\text{R}_n\text{A}} + n\text{Cl}^-)$

y otros reactivos precipitantes. El tratado de Hollingshead, de varios volúmenes, sobre el uso de la oxina y sus derivados es de mucha ayuda para aplicaciones de este versátil agente (véase la referencia 4 al final del capítulo).

10.5 Equilibrios de precipitación: el producto de solubilidad

Cuando las sustancias tienen solubilidad limitada y se excede su solubilidad, los iones de la porción disuelta existen en equilibrio con el material sólido. Los llamados compuestos insolubles por lo general muestran esta propiedad.

Cuando se dice que un compuesto es insoluble, lo que sucede en realidad es que no es por completo soluble, sino **ligeramente soluble**. Por ejemplo, si se pone AgCl en agua, una pequeña porción se disolverá:



El precipitado tendrá una solubilidad definida (es decir, una cantidad definida que se disolverá) en g/L, o mol/L, a una temperatura dada (una solución saturada). Por lo regular existe una pequeña cantidad de compuesto no disociado en equilibrio en la fase acuosa

Las sustancias “insolubles” poseen aún ligera solubilidad.

(por ejemplo, en el orden de 0.1%), y su concentración es constante. Es difícil medir la molécula sin disociar, y es importante la forma ionizada como medida de la solubilidad del compuesto y su disponibilidad química. Por tanto, en general es posible descartar la presencia de cualquier especie no disociada.

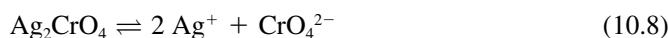
Se puede escribir una constante de equilibrio total para el equilibrio por etapas, llamado **producto de solubilidad** K_{ps} . $(\text{AgCl})_{ac}$ se cancela cuando se multiplican las dos constantes de equilibrio por etapas.

El sólido no aparece en K_{ps} .

$$K_{ps} = [\text{Ag}^+][\text{Cl}^-] \quad (10.7)$$

La “concentración” de cualquier sólido como el AgCl es constante, y se combina en la constante de equilibrio para dar K_{ps} . La relación anterior se mantiene válida sin importar la presencia de cualquier intermediario no disociado; es decir, las concentraciones de iones libres están rigurosamente definidas por la ecuación 10.7, y se tomarán como medida de la solubilidad del compuesto. A partir de un conocimiento del valor del producto de solubilidad a una temperatura especificada, se puede calcular la solubilidad de equilibrio de los compuestos (el producto de solubilidad se determina en el orden inverso, midiendo la solubilidad).

La cantidad de una sal ligeramente soluble que se disuelve *no* depende de la cantidad de sólido en equilibrio con la solución, mientras haya suficiente para saturar la solución; de lo que depende la cantidad que se disuelve es del *volumen* del disolvente. Una sal no simétrica, como el Ag_2CrO_4 tendría una K_{ps} como sigue:



$$K_{ps} = [\text{Ag}^+]^2[\text{CrO}_4^{2-}] \quad (10.9)$$

La concentración de soluto en una solución saturada es la misma, ya sea que la solución llene un vaso de precipitados o una piscina, mientras haya sólido en equilibrio con el soluto. ¡Eso sí, se disolverá mucho más sólido en la piscina!

Tales electrolitos no se disuelven ni se disocian por etapas porque son electrolitos realmente fuertes. La porción que se disuelve se ioniza por completo. *Por tanto, no se tienen valores de K_{ps} por etapas.* Como con cualquier constante de equilibrio, el producto K_{ps} es aplicable bajo todas las condiciones de equilibrio a la temperatura especificada. Como se trata de equilibrios heterogéneos, el estado de equilibrio se alcanza más lentamente que con los equilibrios de soluciones homogéneas.

LA SOLUCIÓN SATURADA

Ejemplo 10.6

El K_{ps} del AgCl a 25°C es 1.0×10^{-10} . Calcular las concentraciones de Ag^+ y de Cl^- en una solución saturada de AgCl , y la solubilidad molar del AgCl .

Solución

Cuando se ioniza el AgCl , se forman cantidades iguales de Ag^+ y de Cl^- ; $\text{AgCl} \rightleftharpoons \text{Ag}^+ + \text{Cl}^-$ y $K_{ps} = [\text{Ag}^+][\text{Cl}^-]$. Sea x la solubilidad molar del AgCl . Como cada mol de AgCl que se disuelve da un mol, ya sea de Ag^+ o de Cl^- , entonces

$$\begin{aligned} [\text{Ag}^+] &= [\text{Cl}^-] = s \\ s^2 &= 1.0 \times 10^{-10} \\ s &= 1.0 \times 10^{-5} \text{ M} \end{aligned}$$

La solubilidad del AgCl es $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$.

DISMINUCIÓN DE LA SOLUBILIDAD: EL EFECTO DEL ION COMÚN

Si hay exceso de un ion sobre el otro, la concentración de este último se abate (**efecto del ion común**) y la solubilidad del precipitado disminuye. Aún se puede calcular la concentración a partir del producto de solubilidad.

Ejemplo 10.7

La adición de un ion común disminuye la solubilidad.

Se agregan 10 mL de AgNO_3 0.20 M a 10 mL de NaCl 0.10 M. Calcular la concentración de Cl^- que queda en solución en el equilibrio y la solubilidad del AgCl .

Solución

El volumen final es de 20 mL. Los milimoles de Ag^+ que se agregan son iguales a $0.20 \times 10 = 2.0$ mmol. Los milimoles de Cl^- que se toman son iguales a $0.10 \times 10 = 1.0$ mmol. Por tanto, los milimoles de Ag^+ en exceso son iguales a $(2.0 - 1.0) = 1.0$ mmol. Del ejemplo 10.6 se ve que la concentración de Ag^+ aportada por el precipitado es pequeña; es decir, es del orden de 10^{-5} mmol/mL en ausencia del ion común. Esto será todavía menor en presencia de un exceso de Ag^+ , ya que se abate la solubilidad. Por tanto, se puede despreciar la cantidad de Ag^+ aportada por el precipitado en comparación con el exceso de Ag^+ . Por tanto, la concentración final de Ag^+ es $1.0 \text{ mmol}/20 \text{ mL} = 0.050 \text{ M}$, y

$$\begin{aligned}(0.050)[\text{Cl}^-] &= 1.0 \times 10^{-10} \\ [\text{Cl}^-] &= 2.0 \times 10^{-9} \text{ M}\end{aligned}$$

La concentración de Cl^- nuevamente iguala la solubilidad del AgCl , y así la solubilidad es $2.0 \times 10^{-9} \text{ M}$.

El producto de solubilidad debe rebasarse para que ocurra la precipitación.

Como el producto K_{ps} siempre opera, *la precipitación no tendrá lugar a menos que el producto de $[\text{Ag}^+]$ y $[\text{Cl}^-]$ exceda el K_{ps}* . Si el producto es sólo igual a K_{ps} , toda la Ag^+ y el Cl^- permanecen en solución.

LA SOLUBILIDAD DEPENDE DE LA ESTEQUIOMETRÍA

La tabla 10.3 ofrece una lista de algunos productos de solubilidad junto con las solubilidades molares calculadas correspondientes para algunas sales ligeramente solubles. La solubilidad molar no tiene por qué ser directamente proporcional al valor de K_{ps} , ya que depende

Tabla 10.3
Constantes de producto de solubilidad de una selección de sales ligeramente solubles

Sal	K_{ps}	Solubilidad, s (mol/L)
PbSO_4	1.6×10^{-8}	1.3×10^{-4}
AgCl	1.0×10^{-6}	1.0×10^{-5}
AgBr	4×10^{-13}	6×10^{-7}
AgI	1×10^{-16}	1×10^{-8}
$\text{Al}(\text{OH})_3$	2×10^{-32}	5×10^{-9}
$\text{Fe}(\text{OH})_3$	4×10^{-38}	2×10^{-10}
Ag_2S	2×10^{-49}	4×10^{-17}
HgS	4×10^{-53}	6×10^{-27}

de la estequiometría de la sal. El K_{ps} del AgI es 5×10^{-15} veces mayor que el del $\text{Al}(\text{OH})_3$, pero su solubilidad molar es sólo el doble de la del $\text{Al}(\text{OH})_3$. Es decir, una sal 1:1 tiene una solubilidad menor que una sal asimétrica para un K_{ps} dado. Obsérvese que el HgS tiene un producto de solubilidad ¡de sólo 4×10^{-53} , con una solubilidad molar de $6 \times 10^{-27} M$! Esto corresponde a menos de un ion de Hg^{2+} y de S^{2-} en un litro al equilibrio con el precipitado, y serían necesarios unos 280 L para que existieran dos iones juntos (¿se puede calcular esto usando el número de Avogadro?). De modo que esto equivale ¡a dos iones que se encuentran uno al otro en una tina de baño de buen tamaño! (en realidad, precipitan). En el apéndice C aparece una lista más completa de productos de solubilidad.

Ejemplo 10.8

¿Cuál debe ser la concentración de la Ag^+ agregada para comenzar la precipitación de AgCl en una solución $1.0 \times 10^{-3} M$ de NaCl?

Solución

$$\begin{aligned} [\text{Ag}^+](1.0 \times 10^{-3}) &= 1.0 \times 10^{-10} \\ [\text{Ag}^+] &= 1.0 \times 10^{-7} M \end{aligned}$$

Por tanto, la concentración de Ag^+ debe exceder apenas $10^{-7} M$ para comenzar la precipitación.

Ejemplo 10.9

¿Cuál es la solubilidad del PbI_2 , en g/L, si el producto de solubilidad es 7.1×10^{-9} ?

Solución

El equilibrio es $\text{PbI}_2 \rightleftharpoons \text{Pb}^{2+} + 2\text{I}^-$ y $K_{ps} = [\text{Pb}^{2+}][\text{I}^-]^2 = 7.1 \times 10^{-9}$. Sea s la solubilidad molar del PbI_2 . Entonces

$$\begin{aligned} [\text{Pb}^{2+}] &= s \quad \text{e} \quad [\text{I}^-] = 2s \\ (s)(2s)^2 &= 7.1 \times 10^{-9} \\ s &= \sqrt[3]{\frac{7.1 \times 10^{-9}}{4}} = 1.2 \times 10^{-3} M \end{aligned}$$

Por tanto, la solubilidad, en g/L, es

$$1.2 \times 10^{-3} \text{ mol/L} \times 461.0 \text{ g/mol} = 0.55 \text{ g/L}$$

Obsérvese que la concentración de I^- *no* se duplicó antes de elevar al cuadrado; $2s$ representaba su concentración real de equilibrio, no dos veces su concentración. Se pudo haber hecho que s representase la concentración de I^- en vez de la solubilidad molar del PbI_2 , en cuyo caso $[\text{Pb}^{2+}]$ y la solubilidad del PbI_2 serían $\frac{1}{2}s$. La s calculada hubiera sido el doble, pero la concentración de cada especie hubiera sido la misma. ¡Compruébelo!

Un K_{ps} más pequeño con un precipitado no simétrico no necesariamente significa una solubilidad más pequeña en comparación con uno simétrico.

Ejemplo 10.10

Calcular la solubilidad molar del PbSO_4 y compararla con la del PbI_2 .

Solución

$$\begin{aligned}\text{PbSO}_4 &\rightleftharpoons \text{Pb}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} \\ [\text{Pb}^{2+}][\text{SO}_4^{2-}] &= 1.6 \times 10^{-8} \\ (s)(s) &= 1.6 \times 10^{-8} \\ s &= 1.3 \times 10^{-4} M\end{aligned}$$

Aunque el K_{ps} del PbI_2 es menor que el del PbSO_4 , la solubilidad del PbI_2 es mayor (ver el ejemplo 10.9), debido a la naturaleza asimétrica del precipitado.

Para electrólitos del mismo tipo de valencia, el orden de la solubilidad será el mismo que el de los correspondientes productos de solubilidad; pero cuando se comparan sales de diferente tipo de valencia, el orden puede ser diferente. El compuesto AB tendrá una solubilidad molar más pequeña que el compuesto AC_2 cuando ambos tengan valores de K_{ps} idénticos.

Se aprovecha el efecto del ion común para disminuir la solubilidad de un precipitado en el análisis gravimétrico. Por ejemplo, el ion sulfato se determina por precipitación del BaSO_4 con adición de una solución de cloruro de bario. La figura 10.3 ilustra el efecto del exceso de ion bario en la solubilidad del BaSO_4 .

Ejemplo 10.11

¿El $\text{Fe}(\text{OH})_3$ realmente precipita en solución ácida debido al pequeño K_{ps} !

¿Qué pH es necesario para iniciar la precipitación de hierro(III) en forma de hidróxido a partir de una solución 0.10 M de FeCl_3 ?

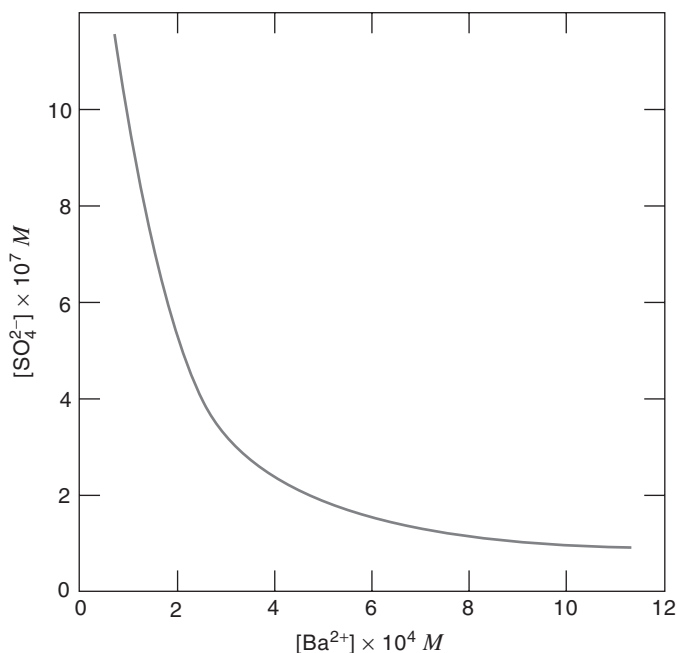


Figura 10.3. Predicción del efecto del exceso de ion bario en la solubilidad del BaSO_4 . La concentración de sulfato es la cantidad en equilibrio, e igual a la solubilidad del BaSO_4 . En ausencia de un exceso de ion bario, la solubilidad es $10^{-5} M$.

Solución

$$\begin{aligned}
 \text{Fe(OH)}_3 &\rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + 3\text{OH}^- \\
 [\text{Fe}^{3+}][\text{OH}^-]^3 &= 4 \times 10^{-38} \\
 (0.1)[\text{OH}^-]^3 &= 4 \times 10^{-38} \\
 [\text{OH}^-] &= \sqrt[3]{\frac{4 \times 10^{-38}}{0.1}} = 7 \times 10^{-13} \text{ M} \\
 \text{pOH} &= -\log 7 \times 10^{-13} = 12.2 \\
 \text{pH} &= 14.0 - 12.2 = 1.8
 \end{aligned}$$

Por tanto, se ve que el hidróxido de hierro precipita en solución ácida, cuando el pH apenas excede 1.8! Cuando se prepare una solución de FeCl_3 en agua, éste se hidrolizará lentamente para formar el ion hidróxido (óxido férrico hidratado), un precipitado gelatinoso color herrumbre. Para estabilizar la solución de hierro(III), se debe acidificar la solución; por ejemplo, con ácido clorhídrico.

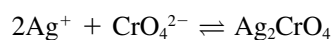
.....

**Ejemplo 10.12**

Se mezclan 25 mL de AgNO_3 0.100 M con 35.0 mL de K_2CrO_4 0.0500 M. a) Calcular las concentraciones de cada especie iónica en el equilibrio. b) ¿La precipitación de plata es cuantitativa (>99.9%)?

Solución

a) La reacción es



Se mezclan

$$25.0 \text{ mL} = 0.100 \text{ mmol/mL} = 2.50 \text{ mmol AgNO}_3$$

y

$$35.0 \text{ mL} \times 0.0500 \text{ mmol/mL} = 1.75 \text{ mmol K}_2\text{CrO}_4$$

Por tanto, 1.25 mmol de CrO_4^{2-} reaccionarán con 2.50 mmol de Ag^+ , dejando un exceso de 0.50 mmol de CrO_4^{2-} . El volumen final es de 60.0 mL. Si s es la solubilidad molar de Ag_2CrO_4 , entonces en el equilibrio:

$$[\text{CrO}_4^{2-}] = 0.50/60.0 + s = 0.0083 + s \approx 0.0083 \text{ M}$$

s será muy pequeña debido al exceso de CrO_4^{2-} , y se puede despreciar en comparación con 0.0083.

$$[\text{Ag}^+] = 2s$$

$$[\text{K}^+] = 3.50/60.0 = 0.0583 \text{ M}$$

$$[\text{NO}_3^-] = 2.50/60.0 = 0.0417 \text{ M}$$

$$[\text{Ag}^+]^2 [\text{CrO}_4^{2-}] = 1.1 \times 10^{-12}$$

$$(2s)^2 (8.3 \times 10^{-3}) = 1.1 \times 10^{-12}$$

$$s = \sqrt{\frac{1.1 \times 10^{-12}}{4 \times 8.3 \times 10^{-3}}} = 5.8 \times 10^{-6} M$$

$$[Ag^+] = 2(5.8 \times 10^{-6}) = 1.16 \times 10^{-5} M$$

b) El porcentaje de plata precipitada es

$$\frac{2.50 \text{ mmol} - 60.0 \text{ mL} \times 1.16 \times 10^{-5} \text{ mmol/mL}}{2.50 \text{ mmol}} \times 100\% = 99.97\%$$

O el porcentaje que queda en solución es

$$\frac{60.0 \text{ mL} \times 1.16 \times 10^{-5} \text{ mmol/L}}{2.50 \text{ mmol}} \times 100\% = 0.028\%$$

Por tanto, la precipitación es cuantitativa.

10.6 Efecto del ion diverso en la solubilidad: K_{ps}° y los coeficientes de actividad

En el capítulo 6 se definió la constante de equilibrio termodinámico escrita en términos de las actividades por considerar para los efectos de los electrólitos inertes en los equilibrios. La presencia de sales diversas por lo general aumentará la solubilidad de los precipitados debido a su asociación con las diversas especies iónicas disociadas (disminuyendo su actividad). Considérese la solubilidad del $AgCl$; el producto termodinámico de solubilidad K_{ps}° es

$$K_{ps}^\circ = a_{Ag^+} \cdot a_{Cl^-} = [Ag^+]f_{Ag^+}[Cl^-]f_{Cl^-} \quad (10.10)$$

K_{ps}° se mantiene válido en todas las fuerzas iónicas. K_{ps} se debe corregir tomando en cuenta la fuerza iónica.

Como el producto de solubilidad de *concentración* K_{ps} es $[Ag^+][Cl^-]$, entonces

$$K_{ps}^\circ = K_{ps} f_{Ag^+} f_{Cl^-} \quad (10.11)$$

o

$$K_{ps} = \frac{K_{ps}^\circ}{f_{Ag^+} f_{Cl^-}} \quad (10.12)$$

El valor numérico de K_{ps}° se mantiene en todas las actividades. K_{ps} es igual a K_{ps}° a fuerza iónica cero; pero a fuerzas iónicas apreciables se debe calcular un valor para cada fuerza iónica usando la ecuación 10.12. Obsérvese que esta ecuación predice, como se predijo cualitativamente, que la actividad disminuida de los iones dará por resultado un K_{ps} aumentado, y por tanto una solubilidad molar incrementada.

Ejemplo 10.13

Calcular la solubilidad del cloruro de plata en $NaNO_3$ 0.10 M.

Solución

Las constantes de equilibrio del apéndice C son para fuerza iónica cero; es decir, son realmente constantes de equilibrio termodinámico.¹ Por tanto, de la tabla C3, $K_{ps}^o = 1.0 \times 10^{-10}$.

Se requiere de los coeficientes de actividad de Ag^+ y Cl^- . La fuerza iónica es 0.10. A partir de la referencia 9 del capítulo 6, se encuentra que $f_{Ag^+} = 0.75$ y $f_{Cl^-} = 0.76$. (También se podrían usar los valores de α_{Ag^+} y α_{Cl^-} en la referencia para calcular los coeficientes de actividad usando la ecuación 6.19.) A partir de la ecuación 10.12,

$$K_{ps} = \frac{1.0 \times 10^{-10}}{(0.75)(0.76)} = 1.8 \times 10^{-10} = [Ag^+][Cl^-] = s^2$$

$$s = \sqrt{1.8 \times 10^{-10}} = 1.3 \times 10^{-5} M$$

Esto es 30% mayor que la fuerza iónica de cero ($s = 1.0 \times 10^{-5} M$).

.....

La figura 10.4 ilustra el incremento en solubilidad del $BaSO_4$ en presencia de $NaNO_3$ debida al efecto de ion diverso.

El aumento de solubilidad es mayor con precipitados que contienen iones con carga múltiple. A muy elevadas fuerzas iónicas, donde los coeficientes de actividad pueden hacerse mayores a la unidad, la solubilidad disminuye. En el análisis gravimétrico se agrega un exceso lo suficientemente grande del agente precipitante como para que la solubilidad se reduzca a un valor tan pequeño que su efecto no sea de consideración.

Los ácidos a menudo afectan la solubilidad de un precipitado. Al aumentar la concentración de H^+ , éste compite más eficazmente con el ion metálico importante por el

¹ Hay disponibles valores experimentales de K_{ps} a diferentes fuerzas iónicas, y se pueden usar para calcular solubilidades molares con las fuerzas iónicas en lista sin tener que calcular coeficientes de actividad.

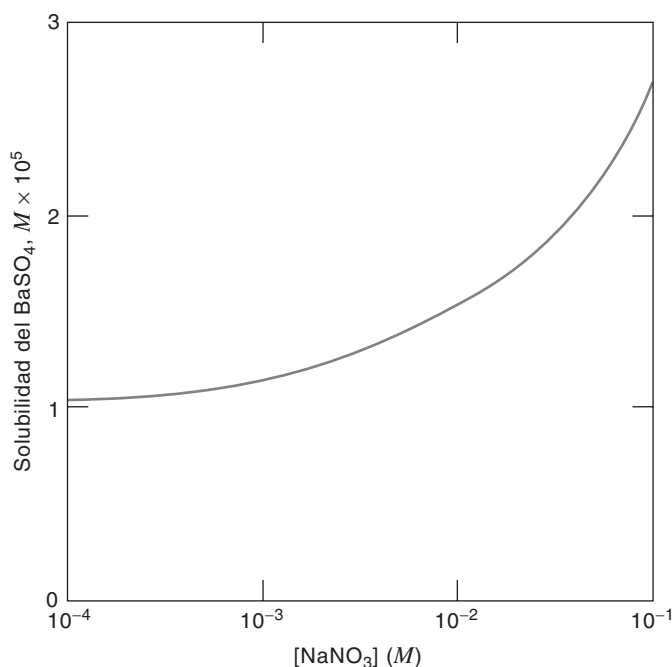
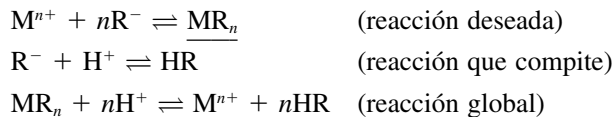
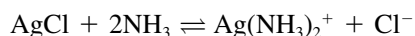


Figura 10.4. Predicción del efecto de la fuerza iónica en la solubilidad del $BaSO_4$. La solubilidad a fuerza iónica cero es $1.0 \times 10^{-5} M$.

agente precipitante (puede ser el anión de un ácido débil). Con menos reactivo libre disponible y una K_{ps} constante, la solubilidad de la sal debe aumentar:



En forma similar, un agente complejante que reacciona con el ion metálico del precipitado aumentará la solubilidad; por ejemplo, cuando el amoníaco reacciona con cloruro de plata:



El tratamiento cuantitativo de estos efectos en los cálculos de solubilidad se tratará en el capítulo 11.

EJEMPLOS DE HOJAS DE CÁLCULO

Se determina el contenido de hierro en una muestra de 2.287 g de mineral de hierro, precipitando como $Fe(OH)_3$, incinerando a Fe_2O_3 y pesando. El resultado es un peso neto de 0.8792 g. Preparar una hoja de cálculo para obtener el % Fe en el mineral.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Cálculo de % Fe							
2	g muestra:	2.287	g. Fe_2O_3 :	0.8792				
3	% Fe:	26.88797						
4								
5	%Fe = {[g Fe_2O_3 x 2Fe/ Fe_2O_3 (g Fe/g Fe_2O_3)]/g muestra} x 100%							
6	=	{[0.8792 g Fe_2O_3 x 2(55.845/159.69)g Fe/g Fe_2O_3]/2.287 g muestra} x 100%						
7	B3 =	(D2*2*(55.845/159.69)/B2)*100						
8								
9	La respuesta es 26.89% Fe.							

El producto de solubilidad para el $AgCl$ es 1.0×10^{-10} . Usar Excel Solver para calcular la solubilidad.

	A	B	C	D	E	F
1	Cálculo de la solubilidad del AgCl usando Solver					
2	K _{ps} :	1.00E-10		fórmula = s ² /K _{ps} = 1		
3						
4		s =	1E-05	fórmula:	1.000001	
5						
6				fórmula celda E4: = C4^2/B2		
7				Solver:		
8				E4 = Celda objetivo		
9				Ajustar valor a 1		
10				Cambiando las celdas = C4		
11	La solubilidad es 1.0 x 10 ⁻⁵ M.					

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Pasos de un análisis gravimétrico: precipitación, digestión, filtración, lavado, secado, pesado, cálculo, p. 313
- Cálculos gravimétricos (ecuaciones clave: 10.1, 10.3, 10.5), p. 320
- El producto de solubilidad, el efecto del ion común, p. 326
- El efecto del ion diverso (ecuación clave: 10.10), p. 332

Preguntas

1. Describir las operaciones unitarias que se emplean comúnmente en el análisis gravimétrico e indicar brevemente el propósito de cada una.
2. ¿Cuál es la relación de von Weimarn? Definir los términos.
3. ¿Qué información respecto de las condiciones óptimas de precipitación da la relación de von Weimarn?
4. ¿Qué es la digestión de un precipitado y por qué es necesaria?
5. Describir las condiciones óptimas para la precipitación que conducirían a un precipitado puro y filtrable.
6. ¿Qué es la coprecipitación? Enumerar los diferentes tipos de coprecipitación e indicar cómo se pueden minimizar o tratar.
7. ¿Por qué se debe lavar un precipitado filtrado?
8. ¿Por qué un líquido de lavado por lo general debe contener un electrólito? ¿Cuáles son los requisitos para este electrólito?
9. ¿Qué ventajas tienen los agentes precipitantes orgánicos?

Problemas

FACTOR GRAVIMÉTRICO

10. Calcular el peso del sodio presente en 50.0 g de Na_2SO_4
11. Si la sal del problema 10 se analizase precipitando y pesando BaSO_4 , ¿qué peso de precipitado se obtendría?
12. Calcular los factores gravimétricos para:

Sustancia buscada	Sustancia pesada
As_2O_3	Ag_3AsO_4
FeSO_4	Fe_2O_3
K_2O	$\text{KB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$
SiO_2	KAlSi_3O_8

13. ¿Cuántos gramos de CuO daría 1.00 g de verde de París, $\text{Cu}_3(\text{AsO}_3)_2 \cdot 2\text{As}_2\text{O}_3 \cdot \text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$? ¿Y de As_2O_3 ?

CÁLCULOS CUANTITATIVOS

14. Una muestra de 523.1 mg de KBr impuro se trata con un exceso de AgNO_3 y se obtienen 814.5 mg de AgBr. ¿Cuál es la pureza del KBr?
15. ¿Qué peso de precipitado de Fe_2O_3 se obtendría de una muestra de 0.4823 g de alambre de hierro que es 99.89% puro?
16. El contenido de aluminio de una aleación se determina en forma gravimétrica precipitándolo con 8-hidroxiquinolina (oxina) para dar $\text{Al}(\text{C}_9\text{H}_6\text{ON})_3$. Si una muestra de 1.021 g produjo 0.1862 g de precipitado, ¿cuál es el porcentaje de aluminio en la aleación?
17. Se va a analizar el hierro de una mena en forma gravimétrica pesando como Fe_2O_3 . Se desea que los resultados se obtengan con cuatro cifras significativas. Si el contenido de hierro está entre 11 y 15%, ¿cuál es el tamaño mínimo de muestra que se debe tomar para obtener 100.0 mg de precipitado?
18. El cloruro en una muestra de 0.12 g de MgCl_2 al 95% de pureza se va a precipitar como AgCl. Calcular el volumen de una solución 0.100 M de AgNO_3 que se necesitaría para precipitar al cloruro y dar un exceso de 10%.
19. Los iones de amonio se pueden analizar precipitando con H_2PtCl_6 como $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_6$, y luego incinerando el precipitado hasta platino metálico, que se pesa $[(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_6 \xrightarrow{\text{calor}} \text{Pt} + 2\text{NH}_4\text{Cl} \uparrow + 2\text{Cl}_2 \uparrow]$. Calcular el porcentaje de amoníaco en una muestra de 1.00 g que produce 0.100 g de Pt por este método.
20. Se va a analizar una muestra para determinar su contenido de cloruro precipitando y pesando cloruro de plata. ¿Qué peso de muestra se hubiera tenido que tomar para que el peso del precipitado fuera igual al porcentaje de cloruro en la muestra?
21. El mineral pirita (FeS_2 impuro) se analizó convirtiendo el azufre en sulfato y precipitando BaSO_4 . ¿Qué peso de mineral se debe tomar para el análisis para que los gramos de precipitado sean iguales a 0.1000 veces el porcentaje de FeS_2 ?
22. Una mezcla que contiene sólo BaO y CaO pesa 2.00 g. Los óxidos se convierten en los sulfatos correspondientes mezclados, que pesan 4.00 g. Calcular el porcentaje de Ba y de Ca en la mezcla original.
23. Una mezcla que contiene sólo BaSO_4 y CaSO_4 posee la mitad en peso de Ba^{2+} respecto de lo que contiene de Ca^{2+} . ¿Cuál es el porcentaje de CaSO_4 en la mezcla?
24. Una mezcla que contiene sólo AgCl y AgBr pesa 2.000 g. Se reduce de manera cuantitativa a plata metálica, la cual pesa 1.300 g. Calcular el peso de AgCl y de AgBr en la muestra original.

CÁLCULOS DE PRODUCTOS DE SOLUBILIDAD

25. Escribir expresiones de productos de solubilidad para los siguientes compuestos: a) AgSCN, b) $\text{La}(\text{IO}_3)_3$, c) Hg_2Br_2 , d) $\text{Ag}[\text{Ag}(\text{CN})_2]$, e) $\text{Zn}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$, f) Bi_2S_3 .
26. El yoduro de bismuto, BiI_3 , tiene una solubilidad de 7.76 mg/L. ¿Cuál es su K_{ps} ?
27. ¿Cuál es la concentración de Ag^+ y CrO_4^{2-} en una solución saturada de Ag_2CrO_4 ?
28. Calcular la concentración de bario en una solución al equilibrio cuando se agregan 15.0 mL de K_2CrO_4 0.200 M a 25.0 mL de BaCl_2 0.100 M.
29. ¿Cuál debe ser la concentración de PO_4^{3-} para iniciar la precipitación de Ag_3PO_4 en una solución de AgNO_3 0.10 M?
30. ¿Cuál debe ser la concentración de Ag^+ para iniciar la precipitación de PO_4^{3-} 0.10 M? ¿Y de Cl^- 0.10 M?
31. ¿A qué pH comenzará a precipitar $\text{Al}(\text{OH})_3$ de AlCl_3 0.10 M?
32. ¿Qué peso de Ag_3AsO_4 se disolverá en 250 mL de agua?

33. ¿Cuál es la solubilidad de Ag_2CrO_4 en K_2CrO_4 0.10 M?
34. Los compuestos AB y AC_2 tienen, cada uno, productos de solubilidad igual a 4×10^{-18} . ¿Cuál es más soluble, expresado en moles por litro?
35. El producto de solubilidad de Bi_2S_3 es 1×10^{-97} , y la de HgS es 4×10^{-53} . ¿Cuál es el menos soluble?
36. Un estudiante se propone analizar bario en forma gravimétrica precipitando BaF_2 con NaF. Suponiendo que se va a precipitar una muestra de 200 mg de Ba^{2+} en 100 mL y que la precipitación debe completarse en un 99.9% para obtener resultados cuantitativos, comentar acerca de la factibilidad del análisis.

EFFECTO DEL ION DIVERSO EN LA SOLUBILIDAD

37. Escribir expresiones del producto termodinámico de solubilidad para lo siguiente:
- a) $\text{BaSO}_4 \rightleftharpoons \text{Ba}^{2+} + \text{SO}_4^{2-}$
- b) $\text{Ag}_2\text{CrO}_4 \rightleftharpoons 2\text{Ag}^+ + \text{CrO}_4^{2-}$
38. Calcular la solubilidad del BaSO_4 en BaCl_2 0.0125 M. Tomar en cuenta el efecto del ion diverso.
39. Se va a determinar ion fluoruro en forma gravimétrica precipitando CaF_2 . Se agrega $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ para dar un exceso de ion calcio de 0.015 M después de la precipitación. La solución también contiene NaNO_3 0.25 M. ¿Cuántos gramos de fluoruro estarán en solución en el equilibrio si el volumen es 250 mL?

EJERCICIOS EN EXCEL

40. Preparar una hoja para calcular el porcentaje de P_2O_5 en el ejemplo 10.2. Se usa para calcular el % de P_2O_5 para la muestra dada en el ejemplo. Hacer un segundo cálculo para una muestra de 0.5267 g que da un precipitado de 2.0267 g.
41. Preparar una hoja para calcular la solubilidad de BaSO_4 en función de la concentración en exceso de Ba^{2+} , como en la figura 10.3. Preparar una gráfica de solubilidad contra concentración de Ba^{2+} usando la función Gráfico de Excel, y compararla con la figura 10.3.
42. Preparar una hoja para calcular la solubilidad de BaSO_4 en función de su fuerza iónica, como en la figura 10.4. Preparar una gráfica de solubilidad contra fuerza iónica usando la función Gráfico de Excel, y compararla con la figura 10.4.
43. Resolver el ejemplo 10.9 usando Solver para calcular la solubilidad, s , del PbI_2 .

Referencias recomendadas

GENERAL E INORGÁNICA

1. F. E. Beamish y W. A. E. McBryde, "Inorganic Gravimetric Analysis", en C. L. Wilson y D. W. Wilson, eds., *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 1A, Nueva York: Elsevier, 1959, capítulo VI.
2. C. L. Wilson y D. W. Wilson, eds., *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 1C, *Classical Analysis: Gravimetric and Titrimetric Determination of the Elements*, Nueva York: Elsevier, 1962.

REACTIVOS ORGÁNICOS

3. K. L. Cheng, K. Ueno y T. Imamura, eds., *Handbook of Organic Analytical Reagents*, Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1982.

4. R. G. W. Hollingshead, *Oxine and Its Derivatives*, Londres: Butterworth Scientific, 1954-1956.
5. F. Holmes, "Organic Reagents in Inorganic Analysis", en C. L. Wilson y D. W. Silson, eds., *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol 1A, Nueva York: Elsevier, 1959, capítulo II.8.

PRECIPITACIÓN DE SOLUCIONES HOMOGÉNEAS

6. L. Gordon, M. L. Salulsky y H. H. Willard, *Precipitation from Homogeneous Solución*, Nueva York: Wiley, 1959.

Capítulo once

REACCIONES DE PRECIPITACIÓN Y TITULACIONES



“Si no eres parte de la solución, entonces eres parte del precipitado.”

—Anónimo

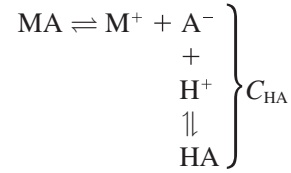
Numerosos aniones forman precipitados ligeramente solubles con ciertos iones metálicos, y se les puede titular con las soluciones de los metales; por ejemplo, el cloruro se puede titular con ion plata, y el sulfato con ion bario. El equilibrio de la precipitación puede verse afectado por el pH o por la presencia de agentes complejantes. El anión del precipitado se puede derivar de un ácido débil y, por tanto, puede combinarse con protones en solución ácida para hacer que el precipitado se disuelva. Por otro lado, el ion metálico se puede complejar con un ligando (el agente complejante) para desplazar el equilibrio hacia la disolución. El ion plata se compleja con amoníaco y hace que el cloruro de plata se disuelva.

En este capítulo se describen los efectos cuantitativos de la acidez y el complejamiento en los equilibrios de precipitación, y se dan a conocer las titulaciones de precipitación usando titulantes de nitrato de plata y nitrato de bario con diferentes clases de indicadores y su teoría. Se deben repasar los equilibrios fundamentales de precipitación que se describen en el capítulo 10. La mayor parte de los analitos aniónicos, en especial los aniones inorgánicos, se determinan de manera conveniente usando cromatografía iónica (capítulo 21); pero para altas concentraciones se pueden hacer determinaciones más precisas por titulación de precipitación, cuando es aplicable.

11.1 Efecto de la acidez en la solubilidad de los precipitados: producto de solubilidad condicional

Antes de describir las titulaciones de precipitación se considerarán los efectos de los equilibrios que compiten en la solubilidad del precipitado, por lo que antes de avanzar más, se podría repasar la explicación de los equilibrios de ácidos polipróticos y el cálculo de las α , las fracciones de cada especie de ácido en equilibrio a un pH dado. en el capítulo 7.

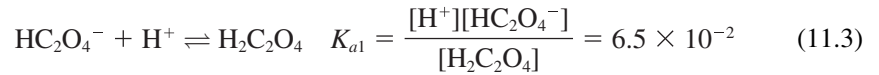
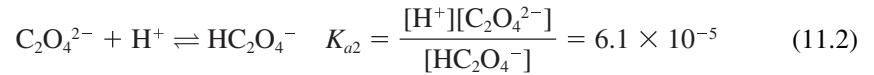
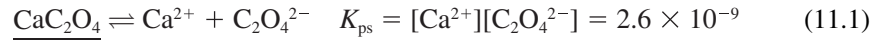
La solubilidad de un precipitado cuyo anión se deriva de un ácido débil aumenta en presencia de un ácido adicionado, puesto que el ácido tiende a combinarse con el anión y removerlo así de la solución. Por ejemplo, el precipitado MA que se disuelve parcialmente para dar los iones M^+ y A^- , mostrará los siguientes equilibrios:



El anión A^- puede combinarse con los protones para aumentar la solubilidad de los precipitados. Las concentraciones combinadas de equilibrio de A^- y de HA constituyen el total de la concentración analítica, C_{HA} , que será igual a $[M^+]$ del precipitado disuelto (si no hay exceso de M^+ ni de A^-). Aplicando las constantes de equilibrio para los equilibrios participantes, se puede calcular la solubilidad del precipitado a una acidez dada.

Considérese, por ejemplo, la solubilidad de CaC_2O_4 en presencia de un ácido fuerte. Los equilibrios son

Los protones compiten con el ion calcio por el ion oxalato.



La solubilidad s de CaC_2O_4 es igual a $[Ca^{2+}] = C_{H_2C_2O_4}$, donde $C_{H_2C_2O_4}$ representa la concentración de todas las especies de oxalato en equilibrio ($= [H_2C_2O_4] + [HC_2O_4^-] + [C_2O_4^{2-}]$). En la expresión de K_{ps} , $[C_2O_4^{2-}]$ se puede sustituir por $C_{H_2C_2O_4} \alpha_2$:

$$K_{ps} = [Ca^{2+}] C_{H_2C_2O_4} \alpha_2 \quad (11.4)$$

donde α_2 es la fracción de la especie de oxalato presente como $C_2O_4^{2-}$ ($\alpha_2 = [C_2O_4^{2-}] / C_{H_2C_2O_4}$). Usando el procedimiento descrito en el capítulo 7 para H_3PO_4 para calcular las α , se encuentra que

$$\alpha_2 = \frac{K_{a1} K_{a2}}{[H^+]^2 + K_{a1} [H^+] + K_{a1} K_{a2}} \quad (11.5)$$

Entonces se puede escribir que

$$\frac{K_{ps}}{\alpha_2} = K'_{ps} = [Ca^{2+}] C_{H_2C_2O_4} = s^2 \quad (11.6)$$

El producto de solubilidad condicional es válido sólo para un pH especificado.

donde K'_{ps} es el **producto de solubilidad condicional**, similar a la constante de formación condicional descrita en el capítulo 9.



Ejemplo 11.1

Calcular la solubilidad de CaC_2O_4 en una solución que contenga ácido clorhídrico 0.0010 M .

Solución

$$\alpha_2 = \frac{(6.5 \times 10^{-2})(6.1 \times 10^{-5})}{(1.0 \times 10^{-3})^2 + (6.5 \times 10^{-2})(1.0 \times 10^{-3}) + (6.5 \times 10^{-2})(6.1 \times 10^{-5})}$$

$$= 5.7 \times 10^{-2}$$

$$s = \sqrt{K_{\text{ps}}/\alpha_2} = \sqrt{2.6 \times 10^{-9}/5.7 \times 10^{-2}} = 2.1 \times 10^{-4}\text{ M}$$

Esto se compara con una solubilidad en agua calculada usando la ecuación 11.1 de $5.1 \times 10^{-5}\text{ M}$ (un aumento de 400% en solubilidad). Obsérvese que tanto $[\text{Ca}^{2+}]$ como $\text{C}_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} = 2.1 \times 10^{-4}\text{ M}$. Las concentraciones de las otras especies de oxalato en equilibrio se pueden obtener multiplicando este número por α_0 , α_1 y α_2 para ácido oxálico a H^+ 0.0010 M para obtener $[\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4]$, $[\text{HC}_2\text{O}_4^-]$ y $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]$, respectivamente. No se derivarán aquí α_0 ni α_1 , pero los resultados serían $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 1.2 \times 10^{-5}\text{ M}$, $[\text{HC}_2\text{O}_4^-] = 2.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ y $[\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4] = 3.1 \times 10^{-6}\text{ M}$. (Intente realizar los cálculos.)

Como la solución no está amortiguada, hacer un cálculo iterativo para corregir para los protones consumidos.

En los cálculos anteriores se despreció el hecho de que algo del ácido se consumió por reacción con el oxalato. Se puede apreciar que una quinta parte de éste reaccionó para formar $\text{HC}_2\text{O}_4^{2-}$. La cantidad que reaccionó para formar $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ es despreciable. Si se desease una solución más exacta, entonces se puede restar la cantidad de ácido que reaccionó —como se calculó antes— de la concentración inicial de ácido y luego se repite el cálculo usando la nueva concentración de ácido. Luego se repite este proceso hasta que el cambio en la respuesta final esté dentro de la exactitud deseada, un procedimiento iterativo. El nuevo cálculo usando ácido $0.8 \times 10^{-3}\text{ M}$ da una concentración de calcio de $1.9 \times 10^{-4}\text{ M}$, 10% menos.

Se debe enfatizar que, al manejar equilibrios múltiples, la validez de una expresión de equilibrio dada no se afecta de ninguna manera por la existencia de equilibrios competidores adicionales. Así, en el ejemplo anterior, la expresión de producto de solubilidad para CaC_2O_4 describe la relación entre los iones Ca^{2+} y $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, se añada o no ácido. En otras palabras, el producto $[\text{Ca}^{2+}][\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]$ siempre es una constante mientras haya CaC_2O_4 sólido presente. Sin embargo, la cantidad de CaC_2O_4 que se disuelve se aumenta porque parte del $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ en solución se convierte en HC_2O_4^- y $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$.

11.2 Procedimiento de balance de masas para equilibrios múltiples

Se puede resolver también el problema de equilibrios múltiples usando los procedimientos sistemáticos que se describen en el capítulo 6, lo que implica emplear las expresiones de constante de equilibrio, las de balance de masas y la de balance de cargas.

El procedimiento sistemático es adecuado para cálculos de equilibrios competitivos.

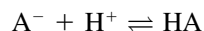


Ejemplo 11.2

¿Cuántos moles de MA se disolverán en 1 L de HCl 0.10 M si K_{ps} para MA es 1.0×10^{-8} y K_a para HA es 1.0×10^{-6} ?

Solución

Los equilibrios son



Las expresiones de equilibrio son

$$K_{ps} = [M^+][A^-] = 1.0 \times 10^{-8} \quad (1)$$

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = 1.0 \times 10^{-6} \quad (2)$$

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1.0 \times 10^{-14} \quad (3)$$

Las expresiones de balance de masas son

$$[M^+] = [A^-] + [HA] - C_{HA} \quad (4)$$

$$[H^+] = [Cl^-] + [OH^-] = [HA] \quad (5)$$

$$[Cl^-] = 0.10 M \quad (6)$$

La expresión de balance de cargas es

$$[H^+] + [M^+] = [A^-] + [Cl^-] + [OH^-] \quad (7)$$

Número de expresiones contra número de incógnitas:

El número de ecuaciones debe ser igual al número de incógnitas. Hacer suposiciones para simplificar los cálculos.

Hay seis incógnitas ($[H^+]$, $[OH^-]$, $[Cl^-]$, $[HA]$, $[M^+]$ y $[A^-]$), y seis ecuaciones independientes (la ecuación de balance de carga se puede generar como combinación lineal de las otras, y no se usa aquí).

Suposiciones de simplificación:

(1) En una solución ácida, la disociación de HA se suprime, lo cual hace $[A^-] \ll [HA]$, de modo que de (4):

$$[M^+] = [A^-] + [HA] \approx [HA]$$

(2) En una solución ácida $[OH^-]$ es muy pequeña, de modo que de (5) y (6):

$$[H^+] = 0.10 + [OH^-] - [HA] \approx 0.10 - [HA]$$

Calcular:

Se requiere calcular $[M^+]$ para obtener los moles de MA disueltos en un litro.

A partir de (1)

$$[M^+] = \frac{K_{ps}}{[A^-]} \quad (8)$$

Según (2)

$$[A^-] = \frac{K_a[HA]}{[H^+]} \quad (9)$$

De modo que, dividiendo (8) entre (9):

$$[M^+] = \frac{K_{ps}[H^+]}{K_a[HA]} = 1.0 \times 10^{-2} \frac{[H^+]}{[HA]} \quad (10)$$

Según la suposición (1),

$$[M^+] \approx [HA]$$

A partir de la suposición (2),

$$[H^+] \approx 0.10 - [HA] \approx 0.10 - [M^+]$$

$$[M^+] = \frac{(1.0 \times 10^{-2})(0.10 - [M^+])}{[M^+]}$$

$$\frac{[M^+]^2}{0.10 - [M^+]} = 1.0 \times 10^{-2}$$

Usando la ecuación cuadrática se obtiene $[M] = 0.027 M$.

De modo que en 1 L se disolverán 0.027 mol de MA. Esto se compara con 0.00010 mol en agua. Verificar.

Se puede verificar la validez de las suposiciones.

$$(1) \quad [HA] \approx [M^+] = 0.027 M$$

$$[A^-] = \frac{K_{ps}}{[M^+]} = \frac{1.0 \times 10^{-8}}{0.027} = 3.7 \times 10^{-7} M$$

La suposición (1) es aceptable porque $[A^-] \ll [HA]$.

$$(2) \quad [H^+] \approx 0.10 - [M^+] = 0.073 M$$

$$[OH^-] = \frac{K_w}{[H^+]} = \frac{1.0 \times 10^{-14}}{0.073} = 1.4 \times 10^{-13}$$

La suposición (2) es aceptable porque $[OH^-] \ll [Cl^-]$ o $[HA]$.

.....

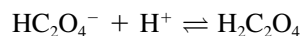
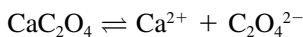


Ejemplo 11.3

Calcular la solubilidad de CaC_2O_4 en una solución $0.0010 M$ de ácido clorhídrico, usando el procedimiento sistemático.

Solución

Los equilibrios son



Las expresiones de constantes de equilibrio son

$$K_{\text{ps}} = [\text{Ca}^{2+}][\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 2.6 \times 10^{-9} \quad (1)$$

$$K_{a1} = \frac{[\text{H}^+][\text{HC}_2\text{O}_4^-]}{[\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4]} = 6.5 \times 10^{-2} \quad (2)$$

$$K_{a2} = \frac{[\text{H}^+][\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]}{[\text{HC}_2\text{O}_4^-]} = 6.1 \times 10^{-5} \quad (3)$$

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1.00 \times 10^{-14} \quad (4)$$

Las expresiones de balance de masa son:

$$[\text{Ca}^{2+}] = [\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] + [\text{HC}_2\text{O}_4^-] + [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4] = C_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} \quad (5)$$

$$[\text{H}^+] = [\text{Cl}^-] + [\text{OH}^-] - [\text{HC}_2\text{O}_4^-] - [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4] \quad (6)$$

$$[\text{Cl}^-] = 0.0010 \text{ M} \quad (7)$$

La expresión de balance de carga es

$$[\text{H}^+] + 2[\text{Ca}^{2+}] = 2[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] + [\text{HC}_2\text{O}_4^-] + [\text{Cl}^-] + [\text{OH}^-] \quad (8)$$

Hay siete incógnitas ($[\text{H}^+]$, $[\text{OH}^-]$, $[\text{Cl}^-]$, $[\text{Ca}^{2+}]$, $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]$, $[\text{HC}_2\text{O}_4^-]$ y $[\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4]$), y siete ecuaciones independientes.

Suposiciones de simplificación:

(1) K_{a1} es más bien grande y K_{a2} , pequeña, de modo que se supone $[\text{HC}_2\text{O}_4^-] \gg [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4]$, $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]$.

(2) En una solución ácida, $[\text{OH}^-]$ es muy pequeña, de modo que, a partir de (6) y (7),

$$[\text{H}^+] = 0.0010 + [\text{OH}^-] - [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4] - [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4] \approx 0.0010 - [\text{HC}_2\text{O}_4^-] \quad (9)$$

Calcular:

Es necesario calcular $[\text{Ca}^{2+}]$ para obtener los moles de CaC_2O_4 disueltos en un litro.

Según (1)

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{K_{\text{ps}}}{[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]} \quad (10)$$

Según (3)

$$[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = \frac{K_{a2}[\text{HC}_2\text{O}_4^-]}{[\text{H}^+]} \quad (11)$$

De modo que,

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{K_{\text{ps}}[\text{H}^+]}{K_{a2}[\text{HC}_2\text{O}_4^{2-}]} \quad (12)$$

Según la suposición (1),

$$[\text{Ca}^{2+}] = [\text{HC}_2\text{O}_4^-] \quad (13)$$

A partir de la suposición (2),

$$[\text{H}^+] \approx 0.0010 - [\text{HC}_2\text{O}_4^-] \approx 0.0010 - [\text{Ca}^{2+}] \quad (14)$$

Sustituyendo (13) y (14) en (12):

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{K_{\text{ps}}(0.0010 - [\text{Ca}^{2+}])}{K_{a2}[\text{Ca}^{2+}]} = \frac{(2.6 \times 10^{-9})(0.0010 - [\text{Ca}^{2+}])}{(6.1 \times 10^{-5})[\text{Ca}^{2+}]}$$

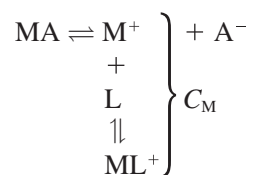
$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{(4.6 \times 10^{-5})(0.0010 - [\text{Ca}^{2+}])}{[\text{Ca}^{2+}]}$$

Resolviendo la ecuación cuadrática se obtiene $[\text{Ca}^{2+}] = 1.9 \times 10^{-4} \text{ M}$. Ésta es la misma que la calculada en el ejemplo 11.1, usando la aproximación de productos de solubilidad condicional *después de corregir para el H^+ consumido*. En el presente ejemplo, se corrigió para el H^+ consumido en el cálculo. Obsérvese que en el ejemplo 11.1 se calculó que HC_2O_4^- es el 95% del valor de $[\text{Ca}^{2+}]$, de modo que la suposición (1) fue razonable.

La respuesta es la misma que cuando se usa K'_{ps} (ejemplo 11.1).

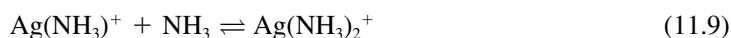
11.3 Efecto del complejamiento en la solubilidad: producto de solubilidad condicional

Los agentes complejantes pueden competir por el ion metálico en un precipitado, igual que los ácidos compiten por el anión. Un precipitado MA que se disocia para dar M^+ y A^- , y cuyo metal se compleja con el ligando L para formar ML^+ tendría los siguientes equilibrios:



La suma de $[\text{M}^+]$ y $[\text{ML}^+]$ es la concentración analítica C_{M} al equilibrio, que es igual a $[\text{A}^-]$. Los cálculos para esta situación se manejan de manera completamente análoga a los cálculos para los efectos de los ácidos en la solubilidad.

Considérese la solubilidad de AgBr en presencia de NH_3 . Los equilibrios son



La solubilidad s del AgBr es igual a $[\text{Br}^-] = C_{\text{Ag}}$, donde C_{Ag} representa la concentración de todas las especies de plata en equilibrio $[= [\text{Ag}^+] + [\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] + [\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]$. Como antes, se puede sustituir $[\text{Ag}^+]$ por $C_{\text{Ag}}\beta_0$ en la expresión de K_{ps} , donde β_0 es la fracción de la especie de plata presente como Ag^+ (ecuación 9.20):

$$K_{\text{ps}} = [\text{Ag}^+][\text{Br}^-] = C_{\text{Ag}}\beta_0[\text{Br}^-] = 4 \times 10^{-13} \quad (11.10)$$

Entonces

$$\frac{K_{\text{ps}}}{\beta_0} = K'_{\text{ps}} + C_{\text{Ag}}[\text{Br}^-] = s^2 \quad (11.11)$$

El valor de K'_{ps} es válido sólo para una concentración dada de NH_3 .

donde K'_{ps} es de nuevo el **producto de solubilidad condicional**, cuyo valor depende de la concentración de amoníaco.



Ejemplo 11.4

Calcular la solubilidad molar de bromuro de plata en una solución 0.10 M de amoníaco.

Solución

Del ejemplo 9.5, β_0 para NH_3 0.10 M = 4.0×10^{-6} .

$$s = \sqrt{\frac{K_{\text{ps}}}{\beta_0}} = \sqrt{4 \times 10^{-13} / 4.0 \times 10^{-6}} = 3.2 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Esto se compara con la solubilidad en agua de $6 \times 10^{-7} \text{ M}$ (530 veces más soluble). Obsérvese de nuevo que tanto $[\text{Br}^-]$ como $C_{\text{Ag}} = 3.2 \times 10^{-4} \text{ M}$. Las concentraciones de las otras especies de plata en equilibrio se pueden obtener multiplicando este número por β_0 , β_1 y β_2 en NH_3 0.10 M para obtener $[\text{Ag}^+]$, $[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+]$ y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]$, respectivamente. Tomando los valores de β del ejemplo 9.5, los resultados son $[\text{Ag}^+] = 1.3 \times 10^{-9} \text{ M}$, $[\text{Ag}(\text{NH}_3)^+] = 3.2 \times 10^{-7} \text{ M}$ y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+] = 3.2 \times 10^{-4} \text{ M}$. Obsérvese que la mayor parte de la plata disuelta existe en la forma $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$.

Verificar que la concentración de amoníaco de equilibrio supuesta fue correcta.

Se despreció la cantidad de amoníaco consumida en la reacción con la plata. Se ve que ésta fue ciertamente despreciable en comparación con 0.10 M [$6 \times 10^{-4} \text{ M}$ se usó para formar $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$, incluso menos en formar $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$]. Si la cantidad de amoníaco consumida hubiera sido apreciable, se podría haber usado un procedimiento iterativo para obtener una solución más exacta; es decir, se podría haber restado la cantidad de amoníaco consumida de la concentración original y luego usado la nueva concentración para calcular nuevas β y una nueva solubilidad.

11.4 Titulaciones de precipitación

Las titulaciones con agentes de precipitación son útiles para determinar ciertos analitos, siempre y cuando los equilibrios sean rápidos y haya disponible un medio rápido y ade-

cuado para detectar el punto final. Una consideración de las curvas de titulación aumentará la comprensión de la selección de indicadores, la precisión y la titulación de mezclas.

CURVAS DE TITULACIÓN: CÁLCULO DEL pX

Considerar la titulación de Cl^- con una solución estándar de AgNO_3 . Se puede preparar una curva de titulación graficando $p\text{Cl}$ ($-\log[\text{Cl}^-]$) contra el volumen de AgNO_3 , de manera similar a la que se usó para las titulaciones ácido-base. En la figura 11.1 se ilustra una curva típica de titulación; en la figura, pX se refiere al logaritmo negativo de la concentración de halogenuro. Al principio de la titulación se tiene Cl^- 0.1 M , y el $p\text{Cl}$ es 1. Al continuar la titulación, parte del Cl^- se remueve de la solución por precipitación como AgCl , y el $p\text{Cl}$ se determina por la concentración del Cl^- remanente; la contribución de Cl^- de la disociación del precipitado es despreciable, salvo cerca del punto de equivalencia. En el punto de equivalencia, se tiene una solución saturada de AgCl , $p\text{Cl} = 5$, y $[\text{Cl}^-] = \sqrt{K_{\text{ps}}} = 10^{-5} M$ (ver el capítulo 10). Más allá del punto de equivalencia hay un exceso de Ag^+ , y la concentración de Cl^- está determinada a partir de la concentración de Ag^+ y K_{ps} , como en el ejemplo 10.7 en el capítulo 10 ($[\text{Cl}^-] = K_{\text{ps}}/[\text{Ag}^+]$).



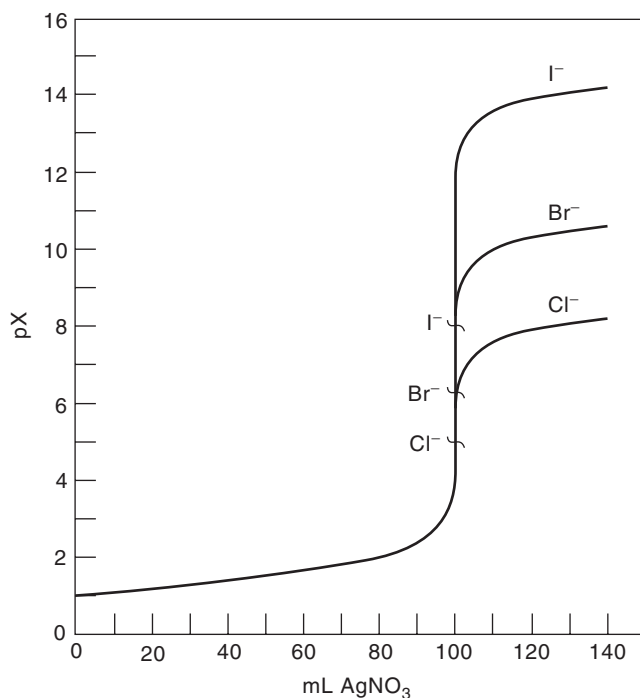
Ejemplo 11.5

Calcular $p\text{Cl}$ para la titulación de 100.0 mL de Cl^- 0.1000 M con AgNO_3 0.1000 M , para la adición de 0.00, 20.00, 99.00, 99.50, 100.00, 100.50 y 110.00 mL de AgNO_3 .

Solución

A 0.00 mL:

$$p\text{Cl} = -\log 0.1000 = 1.000$$



El AgI tiene la solubilidad más baja, de modo que $[\text{I}^-]$ más allá del punto de equivalencia es más pequeño y $p\text{I}$ es más grande.

Figura 11.1. Curvas de titulación para 100 mL de soluciones 0.1 M de cloruro, bromuro y yoduro contra AgNO_3 0.1 M .

A 20.00 mL:

$$\begin{aligned}\text{mmol Cl}^- &= 100.0 \text{ mL} \times 0.1000 \text{ mmol/mL} = 10.00 \text{ mmol} \\ \text{mmol Ag}^+ &= 20.00 \text{ mL} \times 0.1000 \text{ mmol/mL} = 2.000 \text{ mmol} \\ \text{Cl}^- \text{ remanente} &= 10.00 - 2.00 = 8.00 \text{ mmol}/120.0 \text{ mL} = 0.0667 \text{ M} \\ \text{pCl} &= -\log 0.0667 = 1.18\end{aligned}$$

A 99.00 mL:

$$\begin{aligned}\text{mmol Ag}^+ &= 99.00 \text{ mL} \times 0.1000 \text{ mmol/mL} = 9.900 \text{ mmol} \\ \text{Cl}^- \text{ remanente} &= 10.00 - 9.90 = 0.10 \text{ mmol}/199.0 \text{ mL} = 5.0 \times 10^{-4} \text{ M} \\ \text{pCl} &= -\log 5.0 \times 10^{-4} = 3.26\end{aligned}$$

A 99.50 mL:

$$\begin{aligned}\text{mmol Ag}^+ &= 99.50 \text{ mL} \times 0.1000 \text{ mmol/mL} = 9.950 \text{ mmol} \\ \text{Cl}^- \text{ remanente} &= 10.00 - 9.95 = 0.05 \text{ mmol}/199.5 \text{ mL} = 2.5 \times 10^{-4} \text{ M} \\ \text{pCl} &= -\log 2.5 \times 10^{-4} = 3.60\end{aligned}$$

A 100.00 mL, todo el Cl^- ha reaccionado con Ag^+ :

$$\begin{aligned}[\text{Cl}^-] &= \sqrt{K_{\text{ps}}} = \sqrt{1.0 \times 10^{-10}} = 1.0 \times 10^{-5} \text{ M} \\ \text{pCl} &= -\log 1.0 \times 10^{-5} = 5.00\end{aligned}$$

A 100.50 mL:

$$\begin{aligned}\text{mmol Ag}^+ &= 100.50 \text{ mL} \times 0.1000 \text{ mmol/mL} = 10.05 \text{ mmol} \\ \text{Ag}^+ \text{ remanente} &= 10.05 - 10.00 = 0.05 \text{ mmol}/200.5 \text{ mL} = 0.024 \text{ M} \\ [\text{Cl}^-] &= K_{\text{ps}}/[\text{Ag}^+] = 1.0 \times 10^{-10}/2.4 \times 10^{-2} = 4.2 \times 10^{-9} \text{ M} \\ \text{pCl} &= -\log 4.2 \times 10^{-9} = 8.38\end{aligned}$$

A 110.00 mL:

$$\begin{aligned}\text{mmol Ag}^+ &= 110.00 \text{ mL} \times 0.1000 \text{ mmol/mL} = 11.00 \text{ mmol} \\ \text{Ag}^+ \text{ remanente} &= 11.00 - 10.00 = 1.00 \text{ mmol}/210 \text{ mL} = 4.76 \times 10^{-3} \text{ M} \\ [\text{Cl}^-] &= 1.0 \times 10^{-10}/4.76 \times 10^{-3} = 2.1 \times 10^{-8} \text{ M} \\ \text{pCl} &= -\log 2.1 \times 10^{-8} = 7.67\end{aligned}$$

.....

Cuanto menor sea K_{ps} , más nítido será el punto final.

Cuanto menor sea K_{ps} , mayor será la inflexión en el punto de equivalencia. Se puede ilustrar este punto comparando las curvas de titulación para Cl^- , Br^- e I^- contra Ag^+ en la figura 11.1. Los valores K_{ps} de AgCl , AgBr y AgI son 1×10^{-10} , 4×10^{-13} y 1×10^{-16} , respectivamente. La concentración de cada anión se ha elegido para que sea la misma al principio de la titulación, y así, hasta cerca del punto de equivalencia, la concentración de cada uno sigue siendo la misma, ya que se remueve la misma fracción de la solución. En el punto de equivalencia, $[\text{X}^-]$ es más pequeña para valores más pequeños de K_{ps} ; por tanto, pX es más grande para una solución saturada de la sal. Más allá del punto de equivalencia, $[\text{X}^-]$ es más pequeña cuando K_{ps} es más pequeña; de esta manera, se genera un salto más grande en pX , de modo que el efecto total es una inflexión mayor de pX en el punto de equivalencia cuando el compuesto es más insoluble.

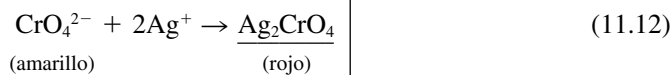
Si la titulación de cloruro se realizara a la inversa, es decir, Ag^+ titulada con Cl^- , la curva de titulación sería opuesta a la curva de la figura 11.1 si se graficara pCl contra el volumen de Cl^- . Antes del punto de equivalencia, la concentración de Cl^- estaría regida por la concentración de exceso de Ag^+ y K_{ps} , y más allá del punto de equivalencia estaría regida simplemente por el exceso de Cl^- . El valor de pAg se podría graficar, alternativamente, contra el volumen de solución de cloruro, y la curva se vería igual que la de la figura 11.1.

DETECCIÓN DEL PUNTO FINAL: INDICADORES

Se puede detectar el punto final midiendo ya sea el pCl o el pAg con un electrodo adecuado y un potenciómetro. Esto se explica en el capítulo 13. Es más cómodo si se puede usar un indicador. La teoría de indicadores para estas titulaciones es diferente de la de indicadores ácido-base. Las propiedades de los indicadores no necesariamente dependen de la concentración de algún ion en solución, es decir, del pCl o del pAg .

Los químicos emplean por lo común dos tipos de indicadores. El primer tipo forma un compuesto colorido con el titulante cuando éste se encuentra en exceso. El segundo tipo, llamado **indicador de adsorción**, se adsorbe en el precipitado súbitamente en el punto de equivalencia debido a una propiedad del precipitado en ese punto de equivalencia, y el color del indicador cambia cuando éste se adsorbe. Ambos mecanismos se explican en seguida.

1. Indicadores que reaccionan con el titulante. Hay varios ejemplos de un indicador que forma un compuesto coloreado con un titulante. El **método Mohr** para determinar cloruros sirve como ejemplo. El cloruro se titula con una solución estándar de nitrato de plata. Se agrega una sal de cromato soluble como indicador, lo que produce una solución amarilla. Cuando la precipitación del cloruro está completa, el primer exceso de Ag^+ reacciona con el indicador para precipitar cromato de plata rojo:



La concentración del indicador es importante. El Ag_2CrO_4 debe comenzar a precipitar justo en el punto de equivalencia, donde se tiene una solución saturada de AgCl . A partir del K_{ps} , la concentración de Ag^+ en el punto de equivalencia es $10^{-5} M$ (es menor antes del punto de equivalencia), de modo que el Ag_2CrO_4 debe precipitar justo cuando $[\text{Ag}^+] = 10^{-5} M$. El producto de solubilidad del Ag_2CrO_4 es 1.1×10^{-12} . Al insertar la concentración de Ag^+ en la ecuación del K_{ps} para Ag_2CrO_4 , se calcula que, para que esto ocurra, $[\text{CrO}_4^{2-}]$ debe ser $0.011 M$:

$$\begin{aligned} (10^{-5})^2 [\text{CrO}_4^{2-}] &= 1.1 \times 10^{-12} \\ [\text{CrO}_4^{2-}] &= 1.1 \times 10^{-2} M \end{aligned}$$

Si la concentración es mayor a ésta, el Ag_2CrO_4 comenzará a precipitar cuando $[\text{Ag}^+]$ sea menor que $10^{-5} M$ (antes del punto de equivalencia). Si es menor que $0.011 M$, entonces $[\text{Ag}^+]$ tendrá que exceder $10^{-5} M$ (más allá del punto de equivalencia) antes de que comience la precipitación de Ag_2CrO_4 .

En la práctica, la concentración del indicador se mantiene en 0.002 a $0.005 M$. Si es mucho mayor que esto, el color amarillo intenso del ion cromato enmascara el color rojo del precipitado de Ag_2CrO_4 , y es necesario un exceso de Ag^+ para producir suficiente precipitado para que se vea. Siempre se debe hacer un análisis en blanco del indicador y restar el resultado de la titulación para corregir los errores.

La titulación Mohr se realiza en una solución ligeramente alcalina.

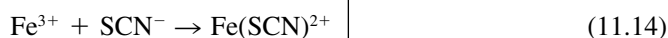
La titulación de Volhard se realiza en solución ácida.

La titulación Mohr se debe realizar a un pH de alrededor de 8. Si la solución es demasiado ácida ($\text{pH} < 6$), entonces parte del indicador está presente como HCrO_4^- , y será necesario más Ag^+ para formar el precipitado de Ag_2CrO_4 . Arriba de pH 8 se puede precipitar hidróxido de plata (a $\text{pH} > 10$). El pH se mantiene correctamente añadiendo a la solución carbonato de calcio sólido (aunque el ion carbonato es una base de Brønsted moderadamente fuerte, la concentración en una solución saturada de carbonato de calcio es apenas suficiente para dar un pH de alrededor de 8). La titulación de Mohr es útil para determinar cloro en las soluciones neutras o sin amortiguador, como el agua potable.

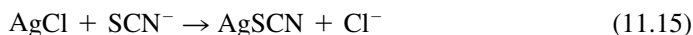
Un segundo ejemplo de este tipo de indicadores lo ilustra la **titulación de Volhard**. Se trata de un procedimiento de titulación indirecta para determinar aniones que precipitan con plata (Cl^- , Br^- , SCN^-), y se realiza en solución ácida (HNO_3). En este procedimiento se agrega un exceso medido de AgNO_3 para precipitar el anión, y luego se determina el exceso de Ag^+ retrotitulando con una solución estándar de tiocianato de potasio:



Se detecta el punto final agregando hierro(III) como alumbre férrico (sulfato doble de hierro(III) y amonio), que forma un complejo rojo soluble con el primer exceso de titulante:



Si el precipitado, AgX , es menos soluble que el AgSCN , no se tiene que remover antes de titular. Tal es el caso con I^- , Br^- y SCN^- . En el caso del I^- , no se agrega el indicador sino hasta que se haya precipitado todo, ya que sería oxidado por el hierro(III). Si el precipitado es más soluble que el AgSCN , reaccionará con el titulante para dar un punto final alto y difuso; tal es el caso con el AgCl :



Por tanto, se remueve el precipitado por filtración antes de titular.

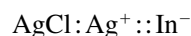
Obviamente, estos indicadores no deben formar un compuesto con el titulante que sea más estable que el precipitado, de lo contrario el color de la reacción podría presentarse cuando se adicione la primera gota de titulante.

2. Indicadores de adsorción. Con los indicadores de adsorción la reacción del indicador tiene lugar en la superficie del precipitado. El indicador, que es un pigmento, existe en solución en la forma ionizada, por lo regular un anión, In^- . Para explicar el mecanismo de la acción del indicador, se debe recordar el mecanismo que tiene lugar durante la precipitación (ver el capítulo 10 para mayores detalles).

Considérese la titulación de Cl^- con Ag^+ . Antes del punto de equivalencia, Cl^- está en exceso, y la *capa primaria adsorbida* es de Cl^- . Esto repele el anión del indicador, y la *capa secundaria (contracapa)*, más pobremente sostenida, de iones adsorbidos es de cationes, como Na^+ :



Más allá del punto de equivalencia, hay Ag^+ en exceso; la superficie del precipitado se vuelve positivamente cargada, con la capa primaria de Ag^+ . Esto atraerá ahora al anión del indicador y lo adsorberá en la contracapa:



El color del indicador adsorbido es diferente al del indicador no adsorbido, y esta diferencia marca la terminación de la titulación. Una explicación posible para este cambio de

color es que el indicador forma un complejo colorido con Ag^+ , que es demasiado débil para existir en solución pero cuya formación se facilita por adsorción en la superficie del precipitado (se vuelve “insoluble”).

El pH es importante; si es demasiado bajo, el indicador, que por lo regular es un ácido débil, se disociará demasiado poco para permitirle adsorberse como anión. Asimismo, el indicador no se debe adsorber demasiado fuertemente al pH dado, o desplazará al anión del precipitado (por ejemplo, Cl^-) en la capa primaria antes de llegar al punto de equivalencia. Esto, por supuesto, dependerá del grado de adsorción del anión del precipitado. Por ejemplo, el Br^- forma un precipitado menos soluble con Ag^+ y se adsorbe con mayor fuerza. Por tanto, se puede usar un indicador más fuertemente adsorbido.

El grado de adsorción del indicador se puede disminuir aumentando la acidez. Cuanto más fuerte sea el ácido indicador, más amplio será el intervalo de pH dentro del cual se puede adsorber. En el caso del Br^- , como se puede usar un indicador más ácido (más fuertemente adsorbido), el pH de la titulación puede ser más ácido que con Cl^- .

La tabla 11.1 presenta una lista de algunos indicadores de adsorción. La fluoresceína se puede usar como indicador para cualquiera de los halógenos a pH 7 porque no desplaza a ninguno de éstos. La diclorofluoresceína desplazará al Cl^- a pH 7, pero no a pH 4. Por tanto, los resultados tienden a ser bajos cuando las titulaciones se realizan a pH 7. La titulación de cloruro usando estos indicadores se llama **método de Fajans**. La fluoresceína era el indicador original descrito por Fajans, pero ahora se prefiere la diclorofluoresceína. No se puede usar la eosina para titulación de cloruro a cualquier pH, porque se adsorbe demasiado fuerte.

Como la mayoría de estos puntos finales no coinciden con el punto de equivalencia, *el titulante se debe estandarizar por la misma titulación que se usa para la muestra*. De esta manera, los errores casi se cancelan si se usa aproximadamente la misma cantidad de titulante, tanto para la estandarización como para el análisis.

Una fuente muy importante de error en las titulaciones con participación de la plata es la fotodescomposición del AgX , que se cataliza por el indicador de adsorción. Sin embargo, mediante una adecuada estandarización, se pueden obtener exactitudes de una parte por mil.

El precipitado no tiene carga eléctrica en el punto de equivalencia (no hay ningún ion en exceso). Por tanto, los precipitados coloidales, como el cloruro de plata, tienden a coagular en este punto, sobre todo si la solución se agita. Esto es precisamente lo deseable en gravimetría, pero aquí se desea lo opuesto. La coagulación disminuye el área superficial para la adsorción del indicador, lo cual a su vez disminuye la nitidez del punto final. Se puede evitar la coagulación del cloruro de plata agregando algo de dextrina a la solución.

Los indicadores visuales son convenientes para la titulometría de la precipitación con ion de plata. También se usa ampliamente la detección potenciométrica del punto final, en especial para soluciones diluidas, como milimolares (vea el capítulo 14).

Los precipitados más insolubles se pueden titular en soluciones más ácidas usando indicadores que se adsorben más fuertemente.

Para los indicadores de adsorción es deseable la máxima área superficial para la adsorción, en contraste con la gravimetría.

Tabla 11.1
Indicadores de adsorción

Indicador	Titulación	Solución
Fluoresceína	Cl^- con Ag^+	pH 7-8
Diclorofluoresceína	Cl^- con Ag^+	pH 4
Verde de bromocresol	SCN^- con Ag^+	pH 4-5
Eosina	Br^- , I^- , SCN^- con Ag^+	pH 2
Violeta de metilo	Ag^+ con Cl^-	Solución ácida
Rodamina 6 G	Ag^+ con Br^-	HNO_3 ($\leq 0.3 M$)
Torina	SO_4^{2-} con Ba^{2+}	pH 1.5-3.5
Azul de bromofenol	Hg^{2+} con Cl^-	Solución 0.1 M
Ortocrómico T	Pb^{2+} con CrO_4^{2-}	Neutra, solución 0.02 M

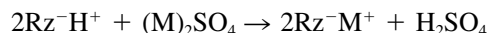
TITULACIÓN DE SULFATO CON BARIO

El sulfato se puede determinar titulando con ion bario para precipitar BaSO_4 . Como en la determinación gravimétrica de sulfato por precipitación de sulfato de bario, esta titulación está sujeta a errores por coprecipitación. Cationes como K^+ , Na^+ y NH_4^+ (especialmente el primero) coprecipitan como sulfatos:



Como resultado, es necesario menos ion bario para completar la precipitación del ion sulfato, y los resultados calculados son bajos. Algunos iones metálicos complejan el indicador e interfieren. Los aniones extraños pueden coprecipitar como sales de bario y provocar resultados altos. Los errores de cloruro, bromuro y perclorato son pequeños, pero el nitrato causa grandes errores y debe estar ausente.

Las interferencias de cationes se eliminan con facilidad con una resina fuerte de intercambio catiónico en la forma de hidrógeno:



Los cationes son reemplazados por protones. En el capítulo 21 se explican los principios de cromatografía de intercambio iónico.

La titulación se lleva a cabo en una mezcla de disolventes acuosos y no acuosos. El disolvente orgánico disminuye la disociación del indicador y, por tanto, estorba para la formación del complejo bario-indicador. También da como resultado un precipitado más floculante con mejores propiedades de adsorción para el indicador.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Efectos de los ácidos en la solubilidad (ecuaciones clave: 11.4, 11.6), p. 339
- Cálculos de balance de masas, p. 341
- Efecto del complejamiento en la solubilidad (ecuaciones clave: 11.10, 11.11), p. 345
- Cálculo de curvas de titulación de precipitación, p. 346
- Indicadores para titulaciones de precipitación, p. 349

Preguntas

1. Explicar la titulación de Volhard de cloruro. La titulación de Fajans. ¿Cuál se usa para soluciones ácidas? ¿Por qué?
2. Explicar el principio de los indicadores por adsorción.

Problemas

EFFECTO DE LA ACIDEZ EN LA SOLUBILIDAD

3. Calcular la solubilidad del AgIO_3 en HNO_3 0.100 M, así como las concentraciones al equilibrio de IO_3^- y HIO_3 .
4. Calcular la solubilidad de CaF_2 en HCl 0.100 M y las concentraciones de equilibrio de F^- y HF .

5. Calcular la solubilidad de PbS en HCl 0.0100 *M* y las concentraciones de equilibrio de S^{2-} , HS^- y H_2S .

EFFECTO DEL COMPLEJAMIENTO EN LA SOLUBILIDAD

6. El ion plata forma un complejo 1:2 por etapas con la etilendiamina (en) con constantes de formación de $K_{f1} = 5.0 \times 10^4$ y $K_{f2} = 1.4 \times 10^3$. Calcular la solubilidad del cloruro de plata en etilendiamina 0.100 *M*, así como las concentraciones de equilibrio de $Ag(en)^+$ y $Ag(en)_2^+$.

CÁLCULOS DE BALANCE DE MASAS

7. Calcular la solubilidad del $AgIO_3$ en HNO_3 0.100 *M*, usando el procedimiento de balance de masas. Comparar con el problema 3.
8. Calcule la solubilidad del PbS en HCl 0.0100 *M* usando el procedimiento de balance de masas. Comparar con el problema 5.
9. Calcular la solubilidad del AgCl en etilendiamina 0.100 *M*. Comparar con el problema 6. La constante de formación se da en éste.

DETERMINACIONES CUANTITATIVAS DE PRECIPITACIÓN

10. Se determina cloruro en una solución de salmuera por el método de Volhard. Se trata una alícuota de 10.00 mL con 15.00 mL de solución 0.1182 *M* de $AgNO_3$. El exceso de plata se titula con una solución estándar de KSCN 0.101 *M*, con un consumo de 2.38 mL para alcanzar el punto final de $Fe(SCN)^{2+}$ rojo. Calcular la concentración de cloruro en la solución de salmuera en g/L.
11. En una titulación de Mohr de cloruro con nitrato de plata se comete un error en la preparación del indicador. En vez de indicador de cromato 0.011 *M* en el matraz de titulación en el punto final, hay sólo 0.0011 *M*. Si el matraz contiene 100 mL en el punto final, ¿cuál es el error en la titulación en mililitros de titulante 0.100 *M*? Descartar los errores debidos al color de la solución.

PROBLEMA DE HOJA DE CÁLCULO

12. Preparar una hoja de cálculo para graficar la curva de titulación de 100 mL de cloruro 0.1 *M* titulado con nitrato de plata 0.1 *M* (figura 11.1). Use la hoja de cálculo para cambiar las concentraciones de cloruro y de plata (por ejemplo, 0.2 *M* cada uno, 0.05 *M* cada uno) y observar cómo cambia la curva de titulación. Observar que hay un límite de qué tan bajas pueden ser las concentraciones en estas gráficas calculadas, porque eventualmente la solubilidad del AgCl a 99.9 y 100.1 mL de titulante se vuelve apreciable.

Referencias recomendadas

1. O. Schales, "Chloride", en M. Reiner, ed., *Standard Methods of Clinical Chemistry*, vol. 1, Nueva York: Academic, 1953, pp. 37-42.



Capítulo doce

CELDA ELECTROQUÍMICA Y POTENCIALES DE ELECTRODO

“No sé de nada sublime que no sea alguna modificación del poder.”

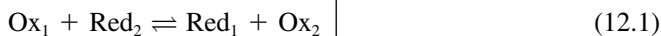
—Edmund Burke

La oxidación es una pérdida de electrones. La reducción es una ganancia de electrones.

Una importante clase de titulaciones es la titulación de reducción-oxidación, o “redox”, en la que reaccionan un agente oxidante y un agente reductor (ver la ecuación 12.1). Una **oxidación** se define como una pérdida de electrones cedidos a un agente oxidante (que se reduce) para dar un estado de oxidación más alto o más positivo, y la **reducción** se define como una ganancia de electrones donados por un agente reductor (que se oxida), para dar un estado de oxidación más bajo, o más negativo. Se podrán comprender estas reacciones a partir de un conocimiento de las celdas electroquímicas y de los potenciales de electrodo. En este capítulo se explican las celdas electroquímicas, los potenciales de electrodo estándar, la ecuación de Nernst (que describe los potenciales de electrodo) y las limitaciones de estos potenciales. En el capítulo 13 se expone la potenciometría, que es el uso de las mediciones de potencial para determinar la concentración, incluyendo el electrodo de pH de vidrio y los electrodos selectivos de iones. En el capítulo 14 se describen las titulaciones redox y las titulaciones potenciométricas, en las que se usan mediciones potenciométricas para detectar el punto final. También se repasa el balanceo de reacciones redox, ya que esto es necesario para los cálculos volumétricos. Es posible que el lector desee revisar este material ahora.

12.1 ¿Qué son las reacciones redox?

Una oxidación de reducción, comúnmente llamada reacción **redox**, es la que tiene lugar entre un agente reductor y uno oxidante:



El agente oxidante se reduce. El agente reductor se oxida.

Ox_1 se reduce a Red_1 , y Red_2 se oxida a Ox_2 . Ox_1 es el agente oxidante y Red_2 es el reductor. La tendencia reductora u oxidante de una sustancia dependerá de su potencial de

reducción, que se describe más adelante. Una sustancia oxidante tenderá a tomar un electrón o más, y se reducirá a un estado inferior de oxidación:



por ejemplo, $Fe^{3+} + e^{-} \rightarrow Fe^{2+}$. A la inversa, una sustancia reductora tiende a ceder uno o más electrones y a oxidarse:



por ejemplo, $2I^{-} \rightarrow I_2 + 2e^{-}$. Si la forma oxidada de un ion metálico se compleja, es más estable y difícil de reducir; así, su tendencia a tomar electrones disminuye si la forma reducida no se encuentra también complejada para hacerla más estable y fácil de formar.

Se pueden entender mejor las tendencias oxidantes o reductoras de las sustancias si se estudian las celdas electroquímicas y los potenciales de electrodo.

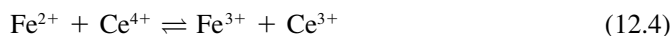
12.2 Celdas electroquímicas: lo que usan los químicos electroanalíticos

Hay dos clases de celdas electroquímicas, la *voltaica* (galvánica) y la **electrolítica**. En las celdas voltaicas ocurre espontáneamente una reacción química para *producir energía eléctrica*. La batería acumuladora de plomo y la batería ordinaria de linterna de mano son ejemplos comunes de celdas voltaicas. Por otro lado, en las celdas electrolíticas *se usa energía eléctrica* para forzar a que ocurra una reacción química no espontánea, es decir, ir en el sentido opuesto al que iría en una celda voltaica; ejemplo de ello es la electrólisis del agua. En ambos tipos de celdas, el electrodo en que ocurre la oxidación se llama **ánodo** y en el que ocurre la reducción se llama **cátodo**. Las celdas voltaicas serán de importancia en las explicaciones de los siguientes dos capítulos, que tratan de la potenciometría. Las celdas electrolíticas son importantes en métodos electroquímicos como la voltamperometría, en la que sustancias electroactivas como los iones metálicos se reducen en un electrodo para producir una cantidad medible de corriente aplicando un potencial adecuado para hacer que ocurra la reacción no espontánea (capítulo 15). La corriente que resulta de la electrólisis forzada es proporcional a la concentración de la sustancia electroactiva.

En una celda voltaica, una reacción química espontánea produce electricidad; esto ocurre sólo cuando se cierra el circuito, como al encender una linterna de mano. El voltaje de la celda (por ejemplo, en una batería) se determina por la diferencia de potencial de las dos semirreacciones. Cuando la reacción ha terminado, la celda se agota y el voltaje es cero (la batería está “muerta”). En una celda electrolítica, la reacción se fuerza en el otro sentido aplicando un voltaje externo mayor que el del voltaje espontáneo y opuesto a éste.

CELDA VOLTAICA Y REACCIONES ESPONTÁNEAS. ¿QUÉ ES EL POTENCIAL DE CELDA?

Considerar la siguiente reacción de redox en una celda voltaica



Si se mezcla una solución que contenga Fe^{2+} con una que contenga Ce^{4+} , hay cierta tendencia de los iones a transferir electrones. Supóngase que el Fe^{2+} y el Ce^{4+} están en vasos separados, conectados por un **punto salino**, como se muestra en la figura 12.1. (Un punto salino permite la transferencia de cargas a través de las soluciones, pero evita que éstas se mezclen.) No puede ocurrir reacción porque las soluciones no hacen contacto. No siempre es necesario un punto salino; sólo cuando los reactivos o los productos en el ánodo o en el cátodo reaccionan entre sí, de modo que es necesario evitar que se mezclen libremente. Este arreglo constituye una celda voltaica. Si se conecta un microamperímetro en serie,

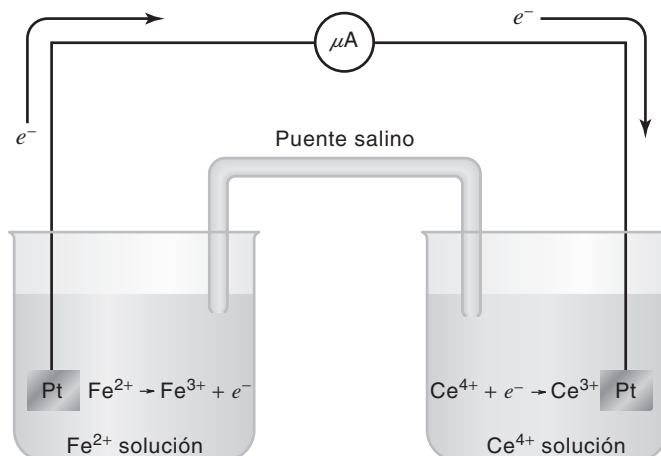


Figura 12.1. Celda voltaica.

éste indica que fluye una corriente. El Fe^{2+} se está oxidando en el alambre de platino (el ánodo):



Los electrones liberados fluyen por el alambre al otro vaso donde el Ce^{4+} se reduce (en el cátodo):



Este proceso ocurre por la tendencia de estos iones a transferir electrones. El resultado neto es la reacción escrita en la ecuación 12.4, que ocurriría si el Fe^{2+} y el Ce^{4+} se colocasen juntos en un solo vaso. Los alambres de platino se pueden considerar **electrodos**. Cada uno adoptará el **potencial** eléctrico que está determinado por la tendencia de los iones a ceder o tomar electrones, el cual se llama **potencial de electrodo**. Un voltímetro colocado entre los electrodos indicará la *diferencia* en los potenciales entre los dos electrodos. Cuanto mayor sea la diferencia de potencial, mayor será la tendencia de la reacción entre Fe^{2+} y Ce^{4+} . La fuerza impulsora de la reacción química (la diferencia de potencial) se puede usar para realizar un trabajo, como encender un foco de iluminación o hacer funcionar un motor, como se hace con una batería.

SEMIRREACCIONES: DAR Y ACEPTAR ELECTRONES

Las ecuaciones 12.5 y 12.6 son **semirreacciones**. Ninguna semirreacción puede ocurrir por sí misma. Debe haber un **donador de electrones** (un agente reductor) y un **aceptor de electrones** (un agente oxidante). En este caso, Fe^{2+} es el agente reductor y Ce^{4+} es el agente oxidante. Cada semirreacción genera un potencial definido que sería adoptado por un electrodo inerte sumergido en la solución.

POTENCIALES DE SEMIRREACCIÓN: SE MIDE UNO EN RELACIÓN CON EL OTRO

Si los potenciales de todas las semirreacciones se pudieran medir, entonces se podría determinar qué agentes oxidantes y reductores reaccionarán. Pero es una pena que no haya manera de medir potenciales de electrodos individuales. Pero, como se explicó, se puede

medir la *diferencia* entre dos potenciales de electrodos. El potencial de electrodo de la semirreacción.¹



se le ha asignado arbitrariamente un valor de 0.000 V. Éste se conoce como potencial del **electrodo normal de hidrógeno** (NHE, *normal hydrogen electrode*) o **electrodo estándar de hidrógeno** (SHE, *standard hydrogen electrode*). Consiste en un electrodo de platino platinizado (recubierto de una fina capa de “negro de platino” mediante un electrodeposición de platino sobre el electrodo), confinado en un tubo de vidrio sobre el cual se burbujea gas hidrógeno. El negro de platino cataliza la reacción 12.7. Se han medido las diferencias de potencial entre esta semirreacción y otras, usando celdas voltaicas y ordenando los potenciales en orden decreciente. Algunos de éstos se muestran en la lista de la tabla 12.1. Los potenciales dependen de las concentraciones, y todos los potenciales estándar se refieren a condiciones de actividad unitaria para todas las especies (o de 1 atmósfera en el caso de los gases, como el hidrógeno en el NHE). Más adelante se describen los efectos de las concentraciones sobre los potenciales. En el apéndice C aparece una lista más completa de potenciales.

Los potenciales de una semirreacción se escriben como una *reducción*, y por tanto representan **potenciales de reducción**. Se usará aquí la convención de Gibas de Estocolmo para potenciales de electrodo, adoptada en la 17a. Conferencia de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, en Estocolmo, en 1953. Según esta convención, la semirreacción se escribe como reducción, y el potencial aumenta al incrementar la tendencia a la reducción (de la forma oxidada de la semirreacción).

Arbitrariamente se define el potencial de esta semirreacción como cero (en condiciones estándar). Todos los otros potenciales se miden en relación con éste.

Según la convención de Gibas de Estocolmo, la semirreacción siempre se escribe como una reducción.

¹ La reacción se podía haber escrito $\text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{2}\text{H}_2$. La manera en que se escriba no afecta su potencial.

Tabla 12.1

Algunos potenciales estándar

Semirreacción	$E^0(\text{V})$
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = 2\text{H}_2\text{O}$	1.77
$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- = \text{MnO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	1.695
$\text{Ce}^{4+} + \text{e}^- = \text{Ce}^{3+}$	1.61
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- = \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	1.51
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- = 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	1.33
$\text{MnO}_2 + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	1.23
$2\text{IO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- = \text{I}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	1.20
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{e}^- = 2\text{OH}^-$	0.88
$\text{Cu}^{2+} + \text{I}^- + \text{e}^- = \text{CuI}$	0.86
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- = \text{Fe}^{2+}$	0.771
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2\text{O}_2$	0.682
$\text{I}_2(\text{ac}) + 2\text{e}^- = 2\text{I}^-$	0.6197
$\text{H}_3\text{AsO}_4 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_3\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	0.559
$\text{I}_3^- + 2\text{e}^- = 3\text{I}^-$	0.5355
$\text{Sn}^{4+} + 2\text{e}^- = \text{Sn}^{2+}$	0.154
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2\text{e}^- = 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	0.08
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2$	0.000
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Zn}$	-0.763
$2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- = \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$	-0.828

El potencial de electrodo para $\text{Sn}^{4+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Sn}^{2+}$ es +0.15 V; en otras palabras, el potencial de esta semirreacción relativa al NHE en una celda como la de la figura 12.1 sería de 0.15 V. Como el par descrito antes tiene un potencial de reducción mayor (más positivo) que el NHE, el Sn^{4+} tiende más fuerte a reducirse que el H^+ . Se pueden sacar algunas conclusiones generales de los potenciales de electrodo:

1. Cuanto más *positivo* sea el potencial de electrodo, mayor será la tendencia de la forma oxidada a reducirse. En otras palabras, **cuanto más positivo sea el potencial de electrodo, más fuerte como agente oxidante será la forma oxidada y más débil como agente reductor será la forma reducida.**
2. Cuanto más *negativo* sea el potencial del electrodo, mayor será la tendencia de la forma reducida a oxidarse. En otras palabras, **cuanto más negativo sea el potencial de reducción, la forma oxidada será un agente oxidante más débil y la forma reducida será un agente reductor más fuerte.**

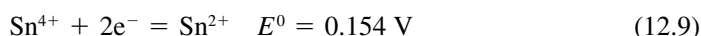
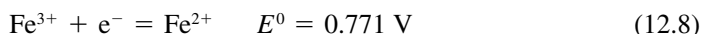
Ce^{4+} es un buen agente oxidante debido al alto potencial de reducción (pero el Ce^{3+} es un mal agente reductor). El Zn es un buen agente reductor debido a su bajo potencial de reducción (pero Zn^{2+} es un mal agente oxidante).

El potencial de reducción para $\text{Ce}^{4+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ce}^{3+}$ es muy positivo, de modo que Ce^{4+} es un agente oxidante fuerte, en tanto que Ce^{3+} es un agente reductor muy débil. Por otro lado, el potencial para $\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Zn}$ es muy negativo, y por tanto Zn^{2+} es un agente oxidante muy débil, en tanto que el zinc metálico es un agente reductor muy fuerte.

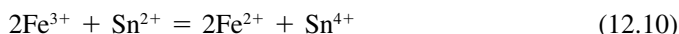
¿QUÉ SUSTANCIAS REACCIONAN?

La forma oxidada de una especie en una semirreacción puede oxidar a la forma reducida de una especie en una semirreacción cuyo potencial de reducción es más *negativo* que la suya, y viceversa: la forma reducida en una semirreacción es capaz de reducir la forma oxidada en una semirreacción con un potencial más *positivo*.

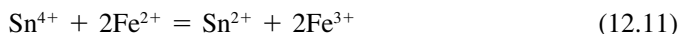
Por ejemplo, considérense las dos semirreacciones



Hay dos combinaciones para la posible reacción entre un agente oxidante y uno reductor en estas dos semirreacciones, a la que se llega *restando* una de la otra (multiplicando la primera semirreacción por 2, de modo que se cancelen los electrones):



y



[No hay posibilidad de reacción entre Fe^{3+} y Sn^{4+} (ambos agentes oxidantes), o entre Fe^{2+} y Sn^{2+} (ambos agentes reductores).] La observación de los potenciales indica que tendrá lugar la reacción 12.10; es decir, la forma reducida Sn^{2+} de la reacción 12.9 (con el potencial más negativo) reaccionará con la forma oxidada de la reacción 12.8 (con el potencial más positivo). Obsérvese que el número de electrones donados y aceptados debe ser igual (ver el capítulo 14 sobre balanceo de reacciones redox).

Ejemplo 12.1

Para las siguientes sustancias, hacer una lista de los agentes oxidantes en orden decreciente de capacidad de oxidación, y los agentes reductores en orden decreciente de capacidad reductora: MnO_4^- , Ce^{3+} , Cr^{3+} , IO_3^- , Fe^{3+} , I^- , H^+ , Zn^{2+} .

Solución

Si se ve la tabla 12.1, los siguientes deben ser agentes oxidantes (están en las formas oxidadas) y se elabora una lista del E^0 más positivo al menos positivo: MnO_4^- , IO_3^- , Fe^{3+} , H^+ , Zn^{2+} . MnO_4^- es un agente oxidante muy bueno, Zn^{2+} es muy pobre. El resto está en la forma reducida, y su forma reductora está en el orden I^- , Cr^{3+} y Ce^{3+} . I^- es un agente reductor razonablemente bueno; Ce^{3+} es pobre.

Si se restan los potenciales de igual modo que las semirreacciones para dar una reacción neta, el resultado es el **voltaje de la celda** que se observará en una celda voltaica (ecuación 12.8 menos ecuación 12.9, o $0.771 \text{ V} - 0.154 \text{ V} = +0.617 \text{ V}$ anterior).² Si este voltaje de celda calculado es positivo, la reacción procede como está escrita; si es negativo, la reacción tendrá lugar en el sentido opuesto. Éste es el resultado de la convención de que, para una reacción espontánea, la energía libre es negativa. La energía libre en condiciones estándar está dada por

$$\Delta G^\circ = -nF \Delta E^0 \quad (12.12)$$

y así, una diferencia de potencial positiva proporciona la energía libre necesaria. Por tanto, por los potenciales estándar relativos y por sus signos, para dos reacciones se puede predecir cuál combinación de reacciones producirá un cambio negativo de energía libre, y por tanto será espontánea. Por ejemplo, para la semirreacción $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$, E^0 es $+1.61 \text{ V}$ (tabla 12.1), y para la semirreacción $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, E^0 es $+0.771 \text{ V}$. ΔG° para la primera es más negativo que para la segunda, y restando la semirreacción de hierro de la de cerio dará la reacción espontánea que ocurrirá para dar una energía libre negativa; es decir, Ce^{4+} oxidará en forma espontánea al Fe^{2+} .

La reacción espontánea de la celda es la que da un voltaje positivo de celda cuando se resta una semirreacción de la otra.

¿CUÁL ES EL ÁNODO? ¿Y EL CÁTODO?

Por convención, una celda se escribe con el ánodo a la izquierda

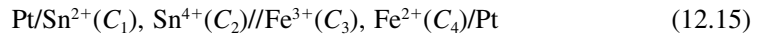
$$\boxed{\text{ánodo/solución/cátodo}} \quad (12.13)$$

Las líneas sencillas representan una división, ya sea entre una fase de electrodo y una fase de solución, o entre dos fases de solución. En la figura 12.1, la celda se escribiría como

$$\text{Pt}/\text{Fe}^{2+}(\text{C}_1), \text{Fe}^{3+}(\text{C}_2)//\text{Ce}^{4+}(\text{C}_3), \text{Ce}^{3+}(\text{C}_4)/\text{Pt} \quad (12.14)$$

² Se dice **potenciales** de electrodo y **voltajes** de celda para distinguir entre semirreacciones y reacciones completas.

donde C_1 , C_2 , C_3 y C_4 representan las concentraciones de las diferentes especies. La línea doble representa el puente salino. Si se construyera una celda voltaica para las semirreacciones de hierro y estaño arriba mencionadas, se escribiría como



Como la oxidación ocurre en el ánodo y la reducción en el cátodo, *el agente reductor más fuerte se coloca a la izquierda, y el agente oxidante más fuerte, a la derecha*. El potencial de la celda voltaica está dado por

El ánodo es el electrodo donde ocurre la oxidación, es decir, la semirreacción más negativa.

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} = E_+ - E_- \quad (12.16)$$

donde E_+ es el potencial de electrodo más positivo, y E_- , el más negativo de los dos electrodos.

Cuando la celda se configura correctamente, *el voltaje calculado siempre será positivo* y la reacción de la celda se escribe correctamente; es decir, la semirreacción del cátodo correcta se escribe como reducción y la semirreacción de ánodo correcta se escribe como oxidación. En condiciones estándar, en la celda (12.15) se tendría,

$$E_{\text{celda}}^0 = E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - E_{\text{Sn}^{4+}, \text{Sn}^{2+}}^0 = 0.771 - 0.154 = 0.617 \text{ V}$$

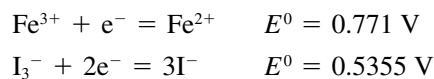
La diferencia de potencial entre la semirreacción del titulante y la del analito debe ser 0.2-0.3 V para un punto final nítido.

Para tomar algunos ejemplos más de reacciones redox posibles, el Fe^{3+} no oxidará al Mn^{2+} . Al contrario, el MnO_4^- oxidará al Fe^{2+} . I_2 es un agente oxidante moderado, y oxidará al Sn^{2+} . Por otro lado, I^- es un agente reductor razonablemente bueno, y reducirá al Fe^{3+} , al $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y así sucesivamente. *Para que una reacción sea suficientemente completa a fin de obtener un punto final nítido en una titulación, debe haber por lo menos 0.2 a 0.3 V de diferencia entre los dos potenciales de electrodo.*



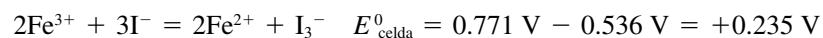
Ejemplo 12.2

Con base en los potenciales que aparecen en la tabla 12.1, determinar la reacción entre las siguientes semirreacciones, y calcular el voltaje de celda correspondiente:



Solución

Como el potencial $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ es el más positivo, Fe^{3+} es un mejor agente oxidante que I_3^- . Por tanto, Fe^{3+} oxidará a I^- y $E_{\text{celda}}^0 = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} = E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - E_{\text{I}_3^-, \text{I}^-}^0$. Del mismo modo, la segunda semirreacción se debe restar de la primera (multiplicada por 2) para dar la reacción total de la celda:



Obsérvese que multiplicando una semirreacción por cualquier número no cambia su potencial.

12.3 Ecuación de Nernst: efectos de las concentraciones sobre los potenciales

Los potenciales de la lista que aparece en la tabla 12.1 se determinaron para el caso en que las concentraciones tanto de la forma oxidada como de la reducida (y todas las otras especies) estaban **en actividad 1**, y se llaman **potenciales estándar**, designados por E^0 . Volta estableció originalmente tablas empíricas de E^0 en condiciones muy controladas y definidas. Nernst las volvió prácticas estableciendo relaciones cuantitativas entre el potencial y las concentraciones. Este potencial depende de la concentración de la especie y varía con respecto a un potencial estándar. Esta dependencia del potencial se describe en la **ecuación de Nernst**.³

Se deben usar las actividades en la ecuación de Nernst. Aquí se usarán concentraciones, porque las titulaciones manejan grandes cambios de potencial, y el error es pequeño al hacer esto.



$$E = E^0 - \frac{2.3026RT}{nF} \log \frac{[\text{Red}]^b}{[\text{Ox}]^a} \quad (12.18)$$

donde E es el potencial de reducción a las concentraciones específicas; n , el número de electrones que participan en la semirreacción (equivalentes por mol); R , la constante de los gases ($8.3143 \text{ V coul grado}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T es la temperatura absoluta, y F la constante de Faraday ($96\,487 \text{ coul eq}^{-1}$). A 25°C (298.16 K), el valor de $2.3026RT/F$ es 0.05916 , o $1.9842 \times 10^{-4} (^\circ\text{C} + 273.16)$. *La concentración de sustancias puras, como precipitados y líquidos (H_2O), se toma como igual a la unidad. Obsérvese que el término logarítmico de la semirreacción de reducción es la relación de la(s) concentración(es) del lado derecho sobre la(s) del lado izquierdo.*

Ejemplo 12.3

Si una solución es 10^{-3} M en $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y 10^{-2} M en Cr^{3+} , y el pH es 2.0, ¿cuál es el potencial de la semirreacción?

Solución

$$\begin{aligned} \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- &\rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O} \\ E &= E^0_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}, \text{Cr}^{3+}} - \frac{0.059}{6} \log \frac{[\text{Cr}^{3+}]^2}{[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}][\text{H}^+]^{14}} \\ &= 1.33 - \frac{0.059}{6} \log \frac{(10^{-2})^2}{(10^{-3})(10^{-2})^{14}} \\ &= 1.33 - \frac{0.059}{6} \log 10^{27} = 1.33 - 27\left(\frac{0.059}{6}\right) \\ &= 1.06 \text{ V} \end{aligned}$$

³ Más correctamente, se deben usar actividades en vez de concentraciones; pero para esta explicación se usarán concentraciones. En el siguiente capítulo, que maneja mediciones de potencial para el cálculo directo de concentraciones, se usarán actividades.

Este potencial calculado es el que adoptaría un electrodo, en relación con el del NHE, si se colocase en la solución, y es una medida del poder oxidante o reductor de esa solución. Teóricamente, el potencial sería infinito si no hubiera nada de Cr^{3+} en la solución. En la práctica, el potencial siempre es finito (pero imposible de calcular a partir de la sola ecuación de Nernst), ya sea porque estará presente una pequeña cantidad de impureza de la forma oxidada o reducida, o más probablemente porque el potencial estará limitado por otra semirreacción, como la oxidación o reducción del agua, que le impide llegar al infinito.

POTENCIAL DE EQUILIBRIO: DESPUÉS DE OCURRIDA LA REACCIÓN

Para construir una curva de titulación, se está interesado en el potencial de *electrodo* al equilibrio (es decir, cuando el potencial de *celda* es cero después de que han reaccionado el titulante y el analito). Los dos electrodos tienen entonces potenciales idénticos, como los determinados por la ecuación de Nernst para cada semirreacción.

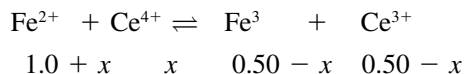
El potencial de un electrodo inerte en una solución que contiene los iones de dos semirreacciones en equilibrio (por ejemplo, en diferentes puntos de una titulación) se puede calcular en relación con el NHE usando la ecuación de Nernst para *cualquiera* de las dos semirreacciones. Esto se debe a que, cuando la reacción llega al equilibrio, los potenciales para las dos semirreacciones se vuelven idénticos; si no fuera así, la reacción aún continuaría. Un electrodo sumergido en una solución adoptará el **potencial de equilibrio**. El potencial de equilibrio está dictado por las concentraciones de equilibrio de cualquiera de las dos semirreacciones y por la ecuación de Nernst.

Ejemplo 12.4

Se agregan 5.0 mL de solución 0.10 M de Ce^{4+} a 5.0 mL de solución 0.30 M de Fe^{2+} . Calcular el potencial de un electrodo de platino introducido en la solución (en relación con el NHE).

Solución

Se comienza con $0.30 \times 5.0 = 1.5$ mmol Fe^{2+} y se agrega $0.10 \times 5.0 = 0.50$ mmol Ce^{4+} . Así se forman 0.50 mmol de Fe^{3+} y 0.50 mmol de Ce^{3+} , y se tiene un remanente de 1.0 mmol de Fe^{2+} . La reacción se ubica bastante a la derecha en equilibrio si hay por lo menos una diferencia de 0.2 V entre los potenciales del electrodo estándar y las dos semirreacciones. Pero existirá una pequeña cantidad de Ce^{4+} ($= x$) en el equilibrio, y se formará una cantidad igual de Fe^{2+} :



Éstas son las concentraciones de equilibrio, después de la reacción.

donde los números y x representan milimoles. Esto es análogo a la “ionización” del producto en las reacciones de precipitación o ácido-base; aquí, un ligero desplazamiento del equilibrio a la izquierda sería la “ionización”. La cantidad x es muy pequeña en comparación con 0.50 o 1.0, y se puede despreciar. Cualquiera de las dos semirreacciones se puede usar para calcular el potencial. Como se conocen las concentraciones de ambas especies en el par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, se usará esto:

$$\begin{array}{ccc} \text{Fe}^{3+} & + & \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} \\ 0.50 & & 1.0 \end{array}$$

$$E = 0.771 - 0.059 \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]}$$

El volumen final es de 10 mL, de modo que

$$\begin{aligned} E &= 0.771 - 0.059 \log \frac{1.0 \text{ mmol}/10 \text{ mL}}{0.50 \text{ mmol}/10 \text{ mL}} = 0.771 - 0.059 \log 2.0 \\ &= 0.771 - 0.059(0.30) \\ &= 0.753 \text{ V} \end{aligned}$$

VOLTAJE DE CELDA; ANTES DE LA REACCIÓN

El voltaje de una celda se puede calcular tomando la diferencia de potenciales de las dos semirreacciones para dar un potencial positivo, calculado mediante la ecuación de Nernst,

$$E_{\text{celda}} = E_+ - E_- \quad (12.19)$$

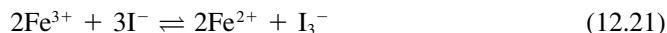
como se da en la ecuación (12.16).

En el ejemplo 12.2 para $2\text{Fe}^{3+} + 3\text{I}^- = 2\text{Fe}^{2+} + \text{I}_3^-$,

$$\begin{aligned} E_{\text{celda}} &= E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}} - E_{\text{I}_3^-, \text{I}^-} \\ &= \left(E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]^2}{[\text{Fe}^{3+}]^2} \right) - \left(E_{\text{I}_3^-, \text{I}^-}^0 - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{I}^-]^3}{[\text{I}_3^-]} \right) \quad (12.20) \\ &= E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - E_{\text{I}_3^-, \text{I}^-}^0 - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]^2 [\text{I}_3^-]}{[\text{Fe}^{3+}]^2 [\text{I}^-]^3} \end{aligned}$$

Obsérvese que el término logarítmico para el potencial de celda de una reacción espontánea siempre es la *relación de la(s) concentraciones de los productos sobre las concentraciones de los reactivos; es decir, lado derecho sobre lado izquierdo* (como para una semirreacción de reducción); nótese que fue necesario multiplicar la semirreacción $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ por 2 (como al restar las dos semirreacciones), con objeto de combinar los dos términos logarítmicos (con $n = 2$), y la ecuación final es la misma que se habría escrito a partir de la reacción de celda. Obsérvese también que $E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - E_{\text{I}_3^-, \text{I}^-}^0$ es el potencial estándar de la celda, E_{celda}^0 .

El término a la derecha del signo log es la **expresión de equilibrio constante** para la reacción:



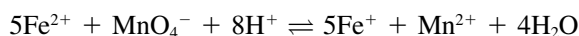
El voltaje de la celda representa la tendencia de una reacción a proceder cuando se juntan las especies reaccionantes (igual a lo que sucede en una batería; es decir, representa el potencial para el trabajo). Después de que la reacción ha llegado al equilibrio, el voltaje de celda necesariamente se vuelve cero, y la reacción termina (ya no se puede derivar más trabajo de la celda). Es decir, los potenciales de las dos semirreacciones son iguales en el equilibrio, que es lo que sucede cuando una batería se agota.

Ejemplo 12.5

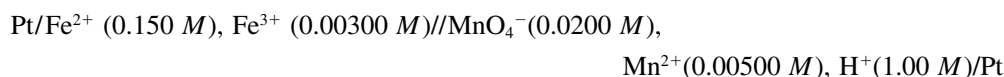
Un vaso de precipitados contiene una solución 0.0200 M de KMnO_4 , 0.00500 M de MnSO_4 y 0.500 M de H_2SO_4 ; y un segundo vaso contiene una solución 0.150 M de FeSO_4 y 0.00150 M de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Los dos vasos están conectados por un puente salino, y se colocan electrodos de platino en cada uno; los electrodos están conectados por un cable con un voltímetro entre ellos. ¿Cuál sería el potencial de cada media celda: *a)* antes de la reacción y *b)* después de la reacción? ¿Cuál sería el voltaje medido de celda: *c)* al principio de la reacción y *d)* después de que la reacción llega al equilibrio? Supóngase que el H_2SO_4 está completamente ionizado y en volúmenes iguales en cada vaso.

Solución

La reacción de la celda es



y la celda es



$$\begin{aligned} \text{a)} \quad E_{\text{Fe}} &= E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - 0.059 \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]} \\ &= 0.771 - 0.059 \log \frac{0.150}{0.00300} = 0.671\text{ V} \\ E_{\text{Mn}} &= E_{\text{MnO}_4^-, \text{Mn}^{2+}}^0 - \frac{0.059}{5} \log \frac{[\text{Mn}^{2+}]}{[\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8} \\ &= 1.51 - \frac{0.059}{5} \log \frac{0.00500}{(0.0200)(1.00)^8} = 1.52\text{ V} \end{aligned}$$

b) En el equilibrio, $E_{\text{Fe}} = E_{\text{Mn}}$. Se puede calcular E a partir de cualquiera de las dos semirreacciones; primero, calcular las concentraciones de equilibrio. Cinco moles de Fe^{2+} reaccionarán con cada mol de MnO_4^- . Hay Fe^{2+} en exceso. Disminuirá en $5 \times 0.0200 = 0.100\text{ M}$, de modo que queda 0.050 M de Fe^{2+} , y se forma 0.100 M de Fe^{3+} (el total ahora es $0.100 + 0.003 = 0.103\text{ M}$). Prácticamente todo el MnO_4^- se convierte en Mn^{2+} (0.0200 M), para dar un total de 0.0250 M . Una pequeña cantidad desconocida de MnO_4^- queda en equilibrio, y sería necesaria la constante de equilibrio para calcularla; ésta se puede obtener de $E_{\text{celda}} = 0$ en el equilibrio, como en la ecuación 12.20, y se tratará en el capítulo 14; pero no es necesario tomarse esta molestia, ya que $[\text{Fe}^{2+}]$ y $[\text{Fe}^{3+}]$ se conocen:

$$E_{\text{Mn}} = E_{\text{Fe}} = 0.771 - 0.059 \log \frac{0.050}{0.103} = 0.790\text{ V}$$

Obsérvese que los potenciales de media celda en el equilibrio están entre los valores para las dos medias celdas antes de la reacción.

$$\text{c)} \quad E_{\text{celda}} = E_{\text{Mn}} - E_{\text{Fe}} = 1.52 - 0.671 = 0.85\text{ V}$$

d) En el equilibrio, $E_{\text{Mn}} = E_{\text{Fe}}$, y por tanto E_{celda} es cero voltios.

Obsérvese que si una de las especies no hubiera estado presente inicialmente en una semirreacción, no se podría calcular un potencial inicial para esa semirreacción.

12.4 Potencial formal: se usa para condiciones definidas no estándar

Los valores de E^0 que aparecen en la tabla 12.1 son para los casos en que *todas* las especies se encuentren a una actividad de 1 M ; sin embargo, el potencial de una semirreacción puede depender de las condiciones de la solución, como el valor de E^0 para $\text{Ce}^{4+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ce}^{3+}$ es 1.61 V. No obstante, se puede modificar este potencial cambiando el ácido que se usa para acidificar la solución (ver la tabla C.5 en el apéndice C). Este cambio de potencial sucede porque el anión del ácido se compleja con el cerio, y la concentración de ion libre de cerio se reduce por este motivo.

Si se conoce la forma del complejo, se podría escribir una nueva semirreacción que incluyera el anión del ácido, y determinar un valor de E^0 para esta reacción, manteniendo el ácido y todas las otras especies a actividad 1. Sin embargo, los complejos son a menudo de composición desconocida, de modo que se define el **potencial formal** y se le designa como E^0 . Éste es el potencial estándar de un par redox con las formas oxidada y reducida a concentraciones 1 M , y con las *condiciones de solución especificadas*. Por ejemplo, el potencial formal del par $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ en HCl 1 M es 1.28 V. La ecuación de Nernst se escribe de la manera acostumbrada, usando el potencial formal en vez del estándar. La tabla C.5 da una lista de algunos potenciales formales.

El potencial formal se usa cuando no se conocen todas las especies.

DEPENDENCIA DEL POTENCIAL CON RESPECTO AL pH

Los iones hidrógeno o hidróxido participan en muchas semirreacciones redox. Se puede cambiar el potencial de estos pares redox modificando el pH de la solución. Considérese el par $\text{As(V)}/\text{As(III)}$:

Muchas reacciones redox incluyen protones, y el pH influye en gran medida en sus potenciales.



$$E = E^0 - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{H}_3\text{AsO}_3]}{[\text{H}_3\text{AsO}_4][\text{H}^+]^2} \quad (12.23)$$

Ésta se puede reordenar a⁴

$$E = E^0 + 0.059 \log[\text{H}^+] - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{H}_3\text{AsO}_3]}{[\text{H}_3\text{AsO}_4]} \quad (12.24)$$

o

$$E = E^0 - 0.059 \text{ pH} - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{H}_3\text{AsO}_3]}{[\text{H}_3\text{AsO}_4]} \quad (12.25)$$

El término $E^0 - 0.059 \text{ pH}$, donde E^0 es el potencial estándar para la semirreacción, se puede considerar como igual a un potencial formal $E^{0'}$, que se puede calcular a partir del pH de la solución.⁵ En HCl 0.1 M (pH 1), $E^{0'} = E^0 - 0.059$. En condiciones neutras, es $E^0 - 0.059(7) = E^0 - 0.41$.

En solución fuertemente ácida, el H_3AsO_4 oxidará el I^- a I_2 ; pero en solución neutra, el potencial del par $\text{As(V)}/\text{As(III)}$ ($E^{0'} = 0.146 \text{ V}$) es menor que para I_2/I^- , y la reacción procede en sentido opuesto; es decir, el I_2 oxidará el H_3AsO_3 .

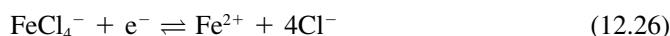
⁴ El término H en el término logarítmico se puede separar como $(-0.059/2) \log (1/[\text{H}^+]^2) = (+0.059/2) \log [\text{H}^+]^2$. El término al cuadrado se puede llevar al frente del término logarítmico para dar $0.059 \log [\text{H}^+]$.

⁵ Realmente, ésta es una sobresimplificación del efecto del pH en este caso particular, porque H_3AsO_4 y H_3AsO_3 son también ácidos débiles, y el efecto de su ionización, es decir, sus valores de K_a se deben también tomar en cuenta.

El complejamiento de un ion reduce su concentración efectiva, lo cual modifica el potencial.

DEPENDENCIA DEL POTENCIAL CON RESPECTO AL COMPLEJAMIENTO

Si se compleja un ion en un par redox, la concentración del ion libre se reduce, lo que hace que el potencial del par cambie. Por ejemplo, E^0 para el par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ es 0.771 V. En solución de HCl, el Fe^{3+} se compleja con el ion cloruro, tal vez a varias especies, lo que reduce la concentración de Fe^{3+} , y por tanto disminuye el potencial. En HCl 1 M, el potencial formal es 0.70 V. Si se supone que el complejo es FeCl_4^- , entonces la semirreacción sería



y si se supone que $[\text{HCl}]$ es constante en 1 M,

$$E = 0.70 - 0.059 \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{FeCl}_4^-]} \quad (12.27)$$

En efecto, se ha estabilizado el Fe^{3+} por complejamiento, haciéndolo más difícil de reducir; así, el potencial de reducción se disminuye. Si se compleja el Fe^{2+} , se observaría el efecto opuesto.

12.5 Limitaciones de los potenciales de electrodo

Los potenciales de electrodo predicen si *puede* ocurrir una reacción. No indican nada acerca de la cinética ni de la rapidez de la reacción.

Los potenciales de electrodo (E^0 o $E^{0'}$) predicen si ocurrirá una reacción, pero no indican nada acerca de la **rapidez** de la reacción. Si una reacción es reversible, ocurrirá con suficiente rapidez para una titulación; pero si la rapidez del paso de transferencia de electrones es baja, la reacción puede ser tan lenta que el equilibrio se alcance sólo después de un tiempo muy largo. Se dice que tal reacción es **irreversible**.

Algunas reacciones en las que una semirreacción es irreversible si ocurren rápidamente. Varios agentes oxidantes y reductores que contienen oxígeno se reducen o se oxidan de manera irreversible, pero se pueden acelerar por adición de un catalizador adecuado. La oxidación de arsénico(III) por cerio(IV) es lenta, pero se cataliza por una pequeña cantidad de tetróxido de osmio, OsO_4 .

Así pues, aunque los potenciales de electrodo son útiles para predecir muchas reacciones, no aseguran el éxito de una reacción dada. Son útiles para predecir que una reacción *no* ocurrirá si las diferencias de potencial no son suficientes.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Celdas voltaicas, p. 355
- Uso de los potenciales estándar para predecir reacciones, p. 358
- Ánodos, cátodos y voltajes de celda (ecuaciones clave: 12.16), p. 359
- La ecuación de Nernst (ecuación clave: 12.18), p. 361
- Cálculo de potenciales de electrodo antes y después de la reacción, p. 362
- Los potenciales formales, p. 365

Preguntas

1. ¿Qué es un agente oxidante? ¿Un agente reductor?
2. ¿Cuál es la ecuación de Nernst?
3. ¿Cuál es el potencial estándar? ¿El potencial formal?
4. ¿Cuál es la función de un puente salino en una celda electroquímica?
5. ¿Qué es NHE? ¿SHE?
6. El potencial estándar para la semirreacción $M^{4+} + 2e^- = M^{2+}$ es $+0.98$ V. ¿ M^{2+} es un buen agente reductor o uno malo?
7. ¿Cuál debe ser la diferencia de potencial mínima entre dos semirreacciones para obtener un punto final nítido en una titulación en que participen las dos semirreacciones?
8. ¿Por qué no siempre se pueden usar los potenciales estándar o formales para predecir si funcionará y será práctica una titulación dada?

Problemas

PODERES REDOX

9. Organizar las siguientes sustancias en orden decreciente de poder oxidante: H_2SeO_3 , H_3AsO_4 , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , O_3 , $HClO$, K^+ , Co^{2+} .
10. Organizar las siguientes sustancias en orden decreciente de poder reductor: I^- , V^{3+} , Sn^{2+} , Co^{2+} , Cl^- , Ag , H_2S , Ni , HF .
11. ¿Cuál de los siguientes pares se esperaría que dé la mayor inflexión de punto final en una titulación de un componente con el otro en cada par?
 - a) $Fe^{2+} - MnO_4^-$ o $Fe^{2+} - Cr_2O_7^{2-}$
 - b) $Fe^{2+} - Ce^{4+}$ (H_2SO_4) o $Fe^{2+} - Ce^{4+}$ ($HClO_4$)
 - c) $H_3AsO_3 - MnO_4^-$ o $Fe^{2+} - MnO_4^-$
 - d) $Fe^{3+} - Ti^{2+}$ o $Sn^{2+} - I_3^-$

CELDA VOLTAICAS

12. Escribir las celdas de voltaje equivalentes para las siguientes reacciones (en el supuesto de que todas las concentraciones son 1 M):
 - a) $6Fe^{2+} + Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ \rightleftharpoons 6Fe^{3+} + 2Cr^{3+} + 7H_2O$
 - b) $IO_3^- + 5I^- + 6H^+ \rightleftharpoons 3I_2 + 3H_2O$
 - c) $Zn + Cu^{2+} \rightleftharpoons Zn^{2+} + Cu$
 - d) $Cl_2 + H_2SeO_3 + H_2O \rightleftharpoons 2Cl^- + SeO_4^{2-} + 4H^+$
13. Para cada una de las siguientes celdas, escribir las reacciones de celda:
 - a) $Pt/V^{2+}, V^{3+} // PtCl_4^{2-}, PtCl_6^{2+}, Cl^- / Pt$
 - b) $Ag/AgCl(s)/Cl^- // Fe^{3+}, Fe^{2+} / Pt$
 - c) $Cd/Cd^{2+} // ClO_3^-, Cl^-, H^+ / Pt$
 - d) $Pt/I^-, I_2 // H_2O_2, H^+ / Pt$

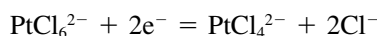
CÁLCULOS DE POTENCIAL

14. ¿Cuál es el potencial de electrodo (contra NHE) en una solución que contiene $KBrO_3$ 0.50 M y Br_2 0.20 M, a pH 2.5 ?

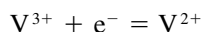
15. ¿Cuál es el potencial de electrodo (contra NHE) en la solución preparada agregando 90 mL de KI 5.0 M a 10 mL de H₂O₂ 0.10 M, con un amortiguador a pH 2.0?
16. Una solución de una mezcla de Pt⁴⁺ y Pt²⁺ es 3.0 M en HCl, lo cual produce los clorocomplejos de los iones de Pt (ver el problema 18). Si la solución es 0.015 M en Pt⁴⁺ y 0.025 M en Pt²⁺, ¿cuál es el potencial de la semirreacción?
17. Se mezclan volúmenes iguales de UO₂²⁺ 0.100 M y V²⁺ 0.100 M en H₂SO₄ 0.10 M. ¿Cuál sería, en el equilibrio, el potencial de un electrodo de platino (contra NHE) sumergido en la solución? Suponga que el H₂SO₄ está completamente ionizado.

VOLTAJES DE CELDA

18. Mediante los potenciales estándar de las siguientes semirreacciones, determinar la reacción que ocurrirá y calcular el voltaje de celda de la reacción:

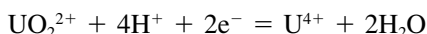
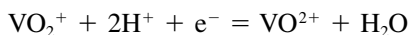


$$E^0 = 0.68 \text{ V}$$



$$E^0 = -0.255 \text{ V}$$

19. Calcular el voltaje de las siguientes celdas:
- a) Pt/I⁻ (0.100 M), I₃⁻ (0.0100 M)//IO₃⁻ (0.100 M), I₂ (0.0100 M), H⁺ (0.100 M)/Pt
- b) Ag/AgCl(s)/Cl⁻ (0.100 M)//UO₂²⁺ (0.200 M), U⁴⁺ (0.050 M), H⁺ (1.00 M)/Pt
- c) Pt/Tl⁺ (0.100 M), Tl³⁺ (0.0100 M)//MnO₄⁻ (0.0100 M), Mn²⁺ (0.100 M), H⁺ (pH 2.00)/Pt
20. A partir de los potenciales estándar, determinar la reacción entre las siguientes semirreacciones, y calcular el voltaje estándar de celda correspondiente:



Referencias recomendadas

ECUACIÓN DE NERNST

1. L. Meites, "A 'Derivation' of the Nernst Equation for Elementary Quantitative Analysis", *J. Chem. Ed.* **29** (1952) 142.

CONVENCIONES SOBRE EL SIGNO DE LOS ELECTRODOS

2. F. C. Anson, "Electrode Sign Convention", *J. Chem. Ed.*, **36** (1959) 394.
3. T. S. Light y A. J. de Bethune, "Recent Developments Concerning the Signs of Electrode Conventions", *J. Chem. Ed.*, **34** (1957) 433.

POTENCIALES ESTÁNDAR

4. A. J. Bard, R. Parsons y J. Jordan, eds., *Standard Potentials in Aqueous Solution*, Nueva York: Marcel Dekker, 1985.
5. W. M. Latimer, *The Oxidation States of the Elements and Their Potentials in Aqueous Solutions*, 2a. ed., Nueva York: Prentice Hall, 1952.

Capítulo trece

ELECTRODOS POTENCIOMÉTRICOS Y POTENCIOMETRÍA



En el capítulo 12 se mencionó la medición del potencial de una solución y se describió un electrodo de platino cuyo potencial fue determinado a partir de la semirreacción de interés. Éste se trató de un caso especial, y hay diversos electrodos disponibles para medir el potencial de las soluciones. En este capítulo se aborda una lista de los diversos tipos de electrodos que se pueden usar para medir potenciales de soluciones y se indica cómo seleccionar el adecuado para medir un analito dado. Se describen el aparato para hacer mediciones potenciométricas; las limitaciones y exactitudes de las mediciones potenciométricas; el importante electrodo de vidrio para pH, así como el amortiguador estándar que se requiere para su calibración. Se discuten las diferentes clases de electrodos selectivos a iones. En el capítulo 14 se describirá el uso de electrodos en titulaciones potenciométricas.

Los electrodos potenciométricos miden la actividad más que la concentración, una característica exclusiva, y en este capítulo se usarán actividades al describir los potenciales de los electrodos. Es importante entender la actividad y los factores que los afectan para las mediciones potenciométricas directas, como en las mediciones de pH o con electrodo selectivo a iones. Por tanto, se debe repasar el material sobre actividad y coeficientes de actividad en el capítulo 6.

Repasar el tema de actividades del capítulo 6 para la comprensión de las mediciones potenciométricas.

13.1 Electrodos metálicos para medir el catión del metal

Un electrodo de este tipo es un metal en contacto con una solución que contiene su catión. Un ejemplo es un electrodo de plata metálica inmerso en una solución de nitrato de plata.

Para todos los sistemas de electrodo, se puede escribir una semirreacción de electrodo a partir de la cual se describe el potencial del electrodo. El sistema de electrodo se puede representar por M/M^{n+} , en la que la línea represente una interfase electrodo-solución. Para el electrodo de plata, se tiene



(13.1)

y la semirreacción es



El potencial del electrodo se describe a partir de la ecuación de Nernst:

$$E = E_{\text{Ag}^+, \text{Ag}}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \quad (13.3)$$

donde a_{Ag^+} representa la **actividad** del ion plata (véase el capítulo 6). Se usará la más correcta unidad de actividad en las explicaciones de este capítulo, porque en la interpretación de mediciones potenciométricas directas, si se usasen concentraciones se presentarían errores significativos en los cálculos.

La actividad catiónica creciente siempre hace que el potencial del electrodo se vuelva más positivo (si se escribe correctamente la ecuación de Nernst).

El potencial calculado por la ecuación 13.3 es el potencial *relativo al electrodo normal de hidrógeno (NHE)*: véase la sección 13.3). El potencial se vuelve crecientemente positivo al aumentar Ag^+ (el caso para cualquier electrodo que mide un catión). Es decir, en una medición de celda, usando el electrodo normal de hidrógeno como la segunda semicelda, el voltaje es

$$E_{\text{medido}} = E_{\text{celda}} = E_{\text{ind vs. NHE}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{NHE}} \quad (13.4)$$

El electrodo indicador es el que mide el analito.

donde E_{ind} es el potencial del **electrodo indicador** (el que responde a la solución de prueba, iones Ag^+ en este caso). Como E_{NHE} es cero,

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{ind}} \quad (13.5)$$

corresponde a escribir las celdas en la forma

$$E_{\text{ref}} | \text{solución} | E_{\text{ind}} \quad (13.6)$$

y

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} = E_{\text{ind}} - \text{constante} \quad (13.7)$$

El electrodo de referencia completa la celda, pero no responde al analito. Por lo regular está separado de la solución de prueba por un puente salino.

donde E_{ref} es el potencial del **electrodo de referencia**, cuyo potencial es constante. Obsérvese que E_{celda} (o E_{ind}) puede ser positivo o negativo, dependiendo de la actividad del ion plata o de los potenciales relativos de los dos electrodos. Esto contrasta con la convención que se usó en el capítulo 12 para una celda voltaica, según la cual una celda siempre se configuraba para dar un voltaje positivo, y por tanto para indicar cuál sería la reacción espontánea de la celda. En las mediciones potenciométricas, en principio, se mide el potencial con corriente cero, para no perturbar el equilibrio, ni las concentraciones relativas de las especies que se están midiendo en la superficie del electrodo indicador, que establece el potencial (ver más adelante la medición de potencial). Es importante saber cómo cambia el potencial del electrodo de prueba (electrodo indicador) con la concentración del analito medida contra un electrodo de referencia constante. La ecuación 13.7 se ordena de manera que los cambios en E_{celda} reflejen los mismos cambios en E_{ind} , *incluyendo el signo*. Este punto se explicará más cuando se hable de las celdas y la medición de los potenciales del electrodo.

Ninguna sustancia pura aparece en la ecuación de Nernst (por ejemplo, Cu, H_2O).

La actividad del metal plata en lo que antecede, así como con otras sustancias puras, se toma como unitaria, por lo que un electrodo de esta clase se puede usar para monitorear la actividad de un ion metálico en solución. Hay pocos electrodos confiables de este tipo, porque muchos metales tienden a formar un recubrimiento de óxido que cambia el potencial.

13.2 Electrodos metal-sal metálica para medir el anión de la sal

La forma general de este tipo de electrodo es $M|MX|X^{n-}$, donde MX es una sal ligeramente soluble. Un ejemplo es el electrodo de plata-cloruro de plata:



La (s) indica un sólido; (g) se usa para indicar un gas, y (l) se usa para indicar un líquido puro. Una línea vertical indica una zona limítrofe entre dos sólidos diferentes o un sólido y una solución. La semirreacción es



y el potencial está definido por

$$E = E_{\text{AgCl,Ag}}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log a_{\text{Cl}^-} \quad (13.10)$$

Entonces, este electrodo se puede usar para medir la actividad del ion cloruro en solución. Obsérvese que al aumentar la actividad del cloruro el potencial *disminuye*. Esto vale para cualquier electrodo que mide un anión; lo opuesto se aplica a un electrodo catiónico. Un alambre de plata está recubierto con un precipitado de cloruro de plata (por ejemplo, oxidándolo eléctricamente en una solución que contenga ion cloruro, la reacción inversa de la ecuación 13.9). En realidad, tan pronto como se sumerge un alambre de plata en una solución de cloruro, adquiere una capa delgada de cloruro de plata, y por lo regular no es necesario el pretratamiento.

El aumento de la actividad aniónica siempre hace que disminuya el potencial del electrodo.

Obsérvese que este electrodo se puede usar para monitorear, ya sea a_{Cl^-} o a_{Ag^+} . Realmente mide (“ve”) sólo el ion plata, y la actividad de éste está determinada por la solubilidad de una sal ligeramente soluble. Dado que $a_{\text{Cl}^-} = K_{\text{ps}}/a_{\text{Ag}^+}$, la ecuación 13.10 se puede escribir:

El metal Ag realmente responde a Ag^+ , cuya actividad se determina por K_{ps} y a_{Cl^-} .

$$E = E_{\text{AgCl,Ag}}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{K_{\text{ps}}}{a_{\text{Ag}^+}} \quad (13.11)$$

$$E = E_{\text{AgCl,Ag}}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log K_{\text{ps}} - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \quad (13.12)$$

Comparando esto con la ecuación 13.3, se ve que

$$E_{\text{Ag}^+,\text{Ag}}^0 = E_{\text{AgCl,Ag}}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log K_{\text{ps}} \quad (13.13)$$

K_{ps} representa aquí realmente el producto termodinámico de solubilidad, K_{ps}^0 (ver el capítulo 6), ya que se usaron actividades para llegar a estas ecuaciones. Se podría haber llegado a una forma alternativa de la ecuación 13.10 sustituyendo $K_{\text{ps}}/a_{\text{Cl}^-}$ por a_{Ag^+} en la ecuación 13.3 (ver el ejemplo 13.1).

En una solución que contiene una mezcla de Ag^+ y Cl^- (por ejemplo, una titulación de Cl^- con Ag^+), la concentración de cada uno *en el equilibrio* será tal que el potencial

de un alambre de plata sumergido en la solución se pueda calcular, ya sea por la ecuación 13.3 o la 13.10. Esto es completamente análogo a lo que se estableció en el capítulo 12, que el potencial de una semirreacción debe ser igual al potencial de la otra en una reacción química al equilibrio. Las ecuaciones 13.2 y 13.9 son las dos medias reacciones en este caso, y cuando una se resta de la otra, el resultado es la *reacción química global*.



Obsérvese que cuando se titula Cl^- con Ag^+ , el primero disminuye y el segundo aumenta. La ecuación 13.10 predice un aumento en el potencial al disminuir Cl^- , y del mismo modo la ecuación 13.12 predice el mismo aumento al aumentar Ag^+ .

El electrodo de plata se puede usar también para monitorear otros aniones que forman sales ligeramente solubles con la plata, como I^- , Br^- y S^{2-} . El E^0 en cada caso sería el de la semirreacción particular $\text{AgX} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag} + \text{X}^-$.

Otro electrodo de este tipo ampliamente usado es el **electrodo de calomel**, Hg , $\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{s})|\text{Cl}^-$. Éste se describirá con mayor detalle al hablar de los electrodos de referencia.



Ejemplo 13.1

Dado que el potencial estándar del electrodo de calomel es 0.268 V, y el del electrodo de $\text{Hg}/\text{Hg}_2^{2+}$ es 0.789 V, calcular K_{ps} para el calomel (Hg_2Cl_2).

Solución

Para $\text{Hg}_2^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}$,

$$E = 0.789 - \frac{0.05916}{2} \log \frac{1}{a_{\text{Hg}_2^{2+}}} \quad (1)$$

Para $\text{Hg}_2\text{Cl}_2 + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg} + 2\text{Cl}^-$,

$$E = 0.268 - \frac{0.05916}{2} \log (a_{\text{Cl}^-})^2 \quad (2)$$

Como $K_{\text{ps}} = a_{\text{Hg}_2^{2+}} \cdot (a_{\text{Cl}^-})^2$,

$$E = 0.268 - \frac{0.05916}{2} \log \frac{K_{\text{ps}}}{a_{\text{Hg}_2^{2+}}} \quad (3)$$

$$E = 0.268 - \frac{0.05916}{2} \log K_{\text{ps}} - \frac{0.05916}{2} \log \frac{1}{a_{\text{Hg}_2^{2+}}} \quad (4)$$

Según (1) y (4),

$$0.789 = 0.268 - \frac{0.05916}{2} \log K_{\text{ps}}$$

$$K_{\text{ps}} = 2.4 \times 10^{-18}$$



13.3 Electrodos redox y metales inertes

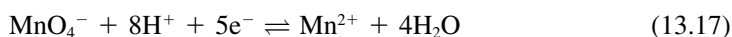
En el electrodo redox, un metal inerte está en contacto con una solución que contiene las formas solubles oxidadas y reducidas de la semirreacción de redox. Este tipo de electrodo se mencionó en el capítulo 12.

Por lo regular, el metal inerte que se usa es platino. El potencial de un electrodo inerte así se determina por la relación en la superficie del electrodo de las especies reducidas y oxidadas en la semirreacción:



$$E = E_{M^{a+}, M^{(a-n)+}}^0 - \frac{2.303RT}{nF} \log \frac{a_{M^{(a-n)+}}}{a_{M^{a+}}} \quad (13.16)$$

Un ejemplo es la medición de la relación de MnO_4^-/Mn^{2+} :



$$E = E_{MnO_4^-, Mn^{2+}}^0 - \frac{2.303RT}{5F} \log \frac{a_{Mn^{2+}}}{a_{MnO_4^-} \cdot (a_{H^+})^8} \quad (13.18)$$

El pH por lo regular se mantiene constante, y por tanto se mide la relación $a_{Mn^{2+}}/a_{MnO_4^-}$ como en una titulación redox.

Un ejemplo muy importante de este tipo de electrodo es el **electrodo de hidrógeno**, $Pt|H_2, H^+$:



$$E = E_{H^+, H_2}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{(p_{H_2})^{1/2}}{a_{H^+}} \quad (13.20)$$

La figura 13.1 muestra la constitución del electrodo de hidrógeno. Se debe depositar una capa de negro de platino sobre la superficie del electrodo de platino mediante catodizado

Para gases se usan presiones, p (en atmósferas), en lugar de actividades.

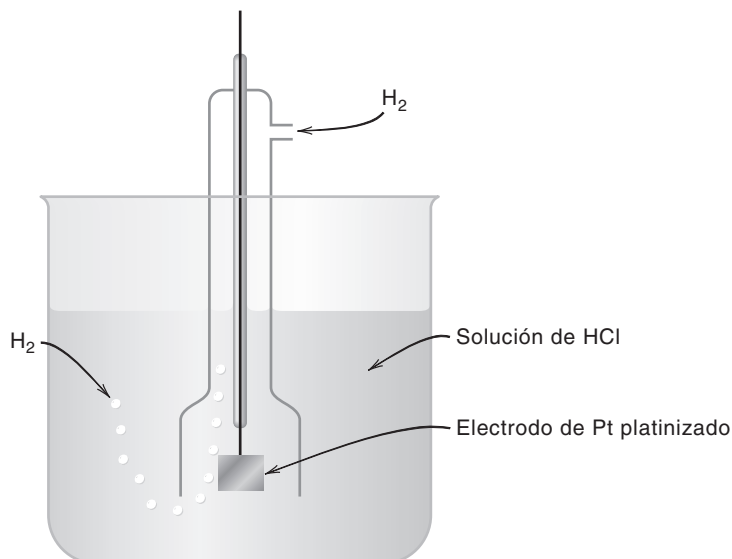


Figura 13.1. Electrodo de hidrógeno.

electrolítico en una solución de H_2PtCl_6 . El negro de platino proporciona una mayor área superficial para la adsorción de las moléculas de hidrógeno y cataliza su oxidación. Sin embargo, demasiado negro de platino puede adsorber trazas de otras sustancias, como moléculas orgánicas o H_2S , provocando un comportamiento errático del electrodo.

La presión de los gases, en atmósferas, se usa en vez de las actividades. Si la presión del hidrógeno se mantiene a 1 atm, entonces, como E^0 para la ecuación 13.19 se define como cero,

$$E^- = \frac{2.303RT}{F} \log \frac{1}{a_{\text{H}^+}} = -\frac{2.303RT}{F} \text{pH} \quad (13.21)$$

Ejemplo 13.2

La presión de vapor del agua sobre la solución se debe restar de la presión de gas medida.

Calcular el pH de una solución cuyo potencial a 25°C , medido con un electrodo de hidrógeno a una presión atmosférica de 1.012 atm (corregida por la presión de vapor del agua a 25°C) es -0.324 V (en relación con el electrodo normal de hidrógeno).

Solución

De la ecuación 13.20,

$$\begin{aligned} -0.324 &= -0.05916 \log \frac{(1.012)^{1/2}}{a_{\text{H}^+}} \\ &= -0.05916 \log(1.012)^{1/2} - 0.05916 \text{pH} \\ \text{pH} &= 5.48 \end{aligned}$$

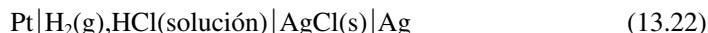
Aunque el electrodo de hidrógeno es muy importante para aplicaciones específicas (por ejemplo, para establecer potenciales estándar o el pH de amortiguadores estándar, véase más adelante), su uso para mediciones rutinarias de pH es limitado. En primer lugar, su preparación y uso son engorrosos. Se debe establecer la presión parcial del hidrógeno a la temperatura de medición y la solución no debe contener otros agentes oxidantes o reductores, ya que éstos alterarían el potencial del electrodo.*

13.4 Celdas voltaicas sin unión líquida: para exactitud máxima

Para llevar a cabo mediciones de potencial, se debe establecer una celda completa que se componga de dos semiceldas, como se describió en el capítulo 12. Una semicelda por lo regular consta de la solución de prueba y un electrodo cuyo potencial está determinado por el analito que se desea medir. Este electrodo es el **electrodo indicador**. La otra semicelda es una semicelda arbitraria cuyo potencial no depende del analito. Este electrodo de semicelda se denomina **electrodo de referencia**; su potencial es constante, y el voltaje de celda medido refleja el potencial del electrodo indicador en relación con el del electrodo de referencia. Como el potencial del electrodo de referencia es constante, cualquier *cambio* en el potencial del electrodo indicador se reflejará como un cambio igual en el voltaje de la celda.

*N. del R.T.: Podemos mencionar aquí también como inconveniente el uso de hidrógeno gaseoso mismo, lo cual representa un riesgo potencial debido a su alta inflamabilidad.

Hay dos maneras básicas de configurar una celda, ya sea con puente salino o sin éste. La primera se llama *celda sin unión líquida*. Un ejemplo de celda de este tipo sería

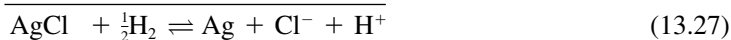


La línea sólida representa una interfase electrodo-solución. Una celda eléctrica así es una celda voltaica, y por convención la celda se escribe para la *reacción espontánea de celda* (E_{celda} positivo, aunque en realidad se pueda medir un voltaje negativo de celda si el potencial del electrodo indicador es el más negativo; no se ha especificado cuál de las medias reacciones representa el electrodo indicador). El electrodo de hidrógeno es el ánodo, ya que su potencial es el más negativo (véase el capítulo 12 para un repaso de las convenciones sobre el voltaje de celda para celdas voltaicas). El potencial del electrodo izquierdo estaría dado por la ecuación 13.20, y el del electrodo derecho, por la 13.10; el voltaje de celda sería igual a la diferencia entre estos dos potenciales:

$$E_{\text{celda}} = \left(E_{\text{AgCl,Ag}}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log a_{\text{Cl}^-} \right) - \left(E_{\text{H}^+,\text{H}_2}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{(p_{\text{H}_2})^{1/2}}{a_{\text{H}^+}} \right) \quad (13.23)$$

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{AgCl,Ag}}^0 - E_{\text{H}^+,\text{H}_2}^0 - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{a_{\text{H}^+}a_{\text{Cl}^-}}{(p_{\text{H}_2})^{1/2}} \quad (13.24)$$

La **reacción de la celda** sería (semirreacción)_{derecha} – (semirreacción)_{izquierda} (para dar un E_{celda} positivo y la reacción espontánea), o



La ecuación 13.23 representaría también el voltaje de celda si la semicelda derecha se usara como un electrodo indicador en una medición potenciométrica de ion cloruro y la celda izquierda fuera el electrodo de referencia (véase las ecuaciones 13.6 y 13.7). Es decir, el voltaje (y por tanto, el potencial del electrodo indicador) disminuiría al aumentar el ion cloruro. Si se fuera a usar el electrodo de hidrógeno como electrodo indicador para medir la actividad del ion hidrógeno o el pH, se invertiría la configuración de la celda para representar la *medición*, la celda 13.22 y la ecuación 13.23, y el voltaje (y el potencial del electrodo indicador) aumentaría al incrementar la acidez o al disminuir el pH ($E_{\text{celda}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}}$, ecuación 13.7).

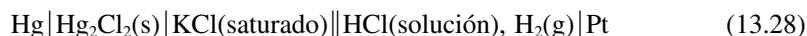
Las celdas sin unión líquida se usan siempre para las mediciones más exactas porque no hay potenciales inciertos que considerar, y se usaron para medir el pH de los amortiguadores estándar NIST (véase más adelante). Sin embargo, hay pocos ejemplos de celdas sin unión líquida (llamadas algunas veces **celdas sin transferencia**), y son de uso incómodo. Por tanto, las celdas con unión líquida, más cómodas pero menos exactas, son las de uso más común.

Es posible construir una celda sin un puente salino. Para propósitos prácticos, esto es raro, por la tendencia del potencial del electrodo de referencia a sufrir la influencia de la solución de prueba.

Esta celda se usa para medir con exactitud el pH de “amortiguadores estándar”. Véase la sección 13.12.

13.5 Celdas voltaicas con unión líquida: el tipo práctico

Un ejemplo de este tipo de celdas es



La línea doble representa la **unión líquida** entre dos soluciones disímiles, y por lo regular se presenta en forma de un **punto salino**. El propósito de éste es evitar que se mezclen las dos soluciones. De esta manera, el potencial de uno de los electrodos será constante, independiente de la composición de la solución de prueba, y determinado por la solución en la que se sumerge. El electrodo en el lado izquierdo de la celda 13.28 es el **electrodo saturado de calomel**, que es un electrodo de referencia de uso común (véase más adelante). La celda se configura usando el electrodo de hidrógeno como electrodo indicador para medir pH.

POTENCIAL DE UNIÓN LÍQUIDA: NO SE PUEDE IGNORAR

La presencia de un potencial de unión líquida limita la exactitud de las mediciones potenciométricas.

La desventaja de una celda de este tipo es que hay un potencial asociado con la unión líquida, el cual recibe el nombre de **potencial de unión líquida**. El potencial de la celda descrita antes es

$$E_{\text{celda}} = (E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}}) + E_j \quad (13.29)$$

donde E_j es el potencial de la unión líquida; E_j puede ser positivo o negativo. El potencial de unión líquida es resultado de la difusión desigual de los iones a cada lado de la zona limítrofe. Una selección cuidadosa del puente salino (o del electrodo de referencia con un electrólito adecuado) puede minimizar el potencial de unión líquida y hacerlo razonablemente constante, de manera que una calibración lo compense. La base para esta selección se explica como sigue.

Una zona limítrofe típica podría ser un vidrio sinterizado de porosidad fina con dos diferentes soluciones a cada lado; el vidrio poroso evita un mezclado apreciable entre las dos soluciones. El tipo más simple de unión líquida ocurre entre dos soluciones que contienen el mismo electrólito a concentraciones diferentes. Un ejemplo es HCl (0.1 M)|| HCl (0.01 M), que se ilustra en la figura 13.2. Tanto los iones hidrógeno como los de cloruro migran en ambas direcciones a través de la zona limítrofe, si bien la migración neta será del lado más concentrado al menos concentrado. La fuerza impulsora de esta migración es proporcional a la diferencia de concentración. Los iones hidrógeno migran aproximadamente cinco veces más rápido que los de cloruro. Por tanto, se acumula una carga neta positiva en el lado derecho de la zona limítrofe, dejando una carga neta negativa en el lado izquierdo; es decir, hay una separación de carga, y esto representa un potencial. Rápidamente se llega a un estado de régimen permanente por la acción de esta carga positiva acumulada, que repele la migración continuada de iones hidrógeno; lo contrario se aplica a la carga negativa en el lado izquierdo. Por tanto, se alcanza velozmente una diferencia constante de potencial entre las dos soluciones.

El E_j para esta unión es $+40\text{ mV}$, y $E_{\text{celda}} = (E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}}) + 40\text{ mV}$. Este E_j es muy grande debido a la rápida movilidad del ion hidrógeno. Al disminuir la concentración

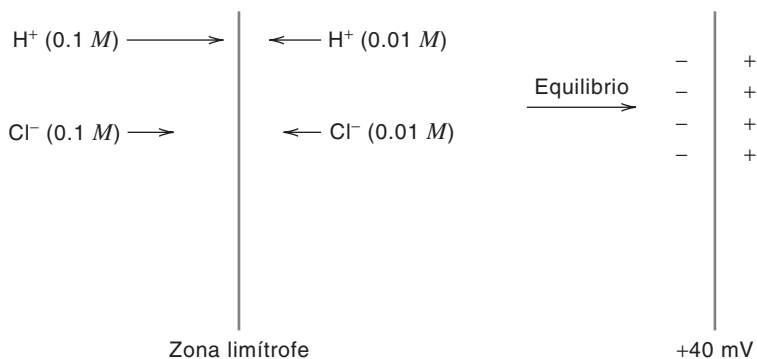


Figura 13.2. Representación del potencial de unión líquida.

de HCl en el lado derecho de la zona limítrofe, la carga neta acumulada será menor, y el potencial de unión líquida disminuirá hasta que, a igual concentración, será cero porque se difunden cantidades iguales de HCl en cada sentido.

Un segundo ejemplo de este tipo de unión líquida es KCl 0.1 M/KCl 0.01 M. Esta situación es completamente análoga a la anterior, salvo que en este caso los iones K^+ y Cl^- migran casi con la misma rapidez: el ion cloruro se mueve sólo 4% más rápido, de modo que se acumula una carga *negativa* en el lado derecho de la unión, aunque es relativamente pequeña. Así, E_j será negativa e igual a -1.0 mV.

Se minimiza el potencial de unión líquida usando una alta concentración de una sal cuyos iones tengan casi la misma movilidad, como el KCl.

¿CÓMO SE MINIMIZA EL POTENCIAL DE UNIÓN LÍQUIDA?

La migración casi igual de los iones potasio y cloruro hace posible disminuir significativamente el potencial de unión líquida. La disminución es posible porque, si de un lado de la zona limítrofe hay un electrólito en exceso sobre el del otro lado, el caudal de migración de iones de este electrólito será mucho mayor que el del electrólito más diluido, y el potencial de unión líquida estará determinado en gran medida por la migración de este electrólito con mayor concentración. Así, el E_j de la unión KCl (3.5 M)||H₂SO₄ (0.05 M) es de sólo -4 mV, aun cuando los iones hidrógeno se difunden con una rapidez mucho mayor que los iones sulfato.

En la tabla 13.1 se dan algunos ejemplos de potenciales de unión líquida (los signos son para las uniones como están configuradas, y serían los signos en una medición potenciométrica si la solución del lado izquierdo se usase para el puente salino, y la del derecho fuera la solución de prueba. Si se invirtieran las soluciones a cada lado de la unión, los signos de los potenciales de unión se invertirían). Es evidente que el potencial de unión líquida se puede minimizar manteniendo de un lado una alta concentración de una sal cuyos iones tengan casi la misma movilidad, como el KCl. Idealmente, debería haber la misma concentración elevada de una sal a ambos lados de la unión. Esto en general no es posible para el lado de la solución de prueba de un puente salino; sin embargo, la solución en la otra semicelda, en la que el otro extremo del puente salino forma una unión, a menudo se puede hacer alta en KCl para minimizar el potencial de esa unión. Como se indicó anteriormente, esta semicelda, que está conectada a través del puente salino para formar una celda completa, es el electrodo de referencia. Véase más adelante la explicación del electrodo saturado de calomel.

Al aumentar la concentración del electrólito (disímil) en el otro lado de la zona limítrofe (en la solución de prueba), o al hacerse diferentes los iones, el potencial de unión líquida se hará mayor. El potencial de unión líquida muy rara vez se puede considerar despreciable. El potencial de unión líquida con sales neutras es menor que cuando participa

Tabla 13.1

Algunos potenciales de unión líquida a 25°C^a

Zona limítrofe	E_j (mV)
0.1 M KCl 0.1 M NaCl	+6.4
3.5 M KCl 0.1 M NaCl	+0.2
3.5 M KCl 1 M NaCl	+1.9
0.01 M KCl 0.01 M HCl	-26
0.1 M KCl 0.1 M HCl	-27
3.5 M KCl 0.1 M HCl	+3.1
0.1 M KCl 0.1 M NaOH	+18.9
3.5 M KCl 0.1 M NaOH	+2.1
3.5 M KCl 1 M NaOH	+10.5

^a Adaptado de G. Milazzo, *Electrochemie*. Viena: Springer, 1952; y D. A. MacInnes y Y. L. Yeh, *J. Am. Chem. Soc.*, **43** (1921) 2563.

Los potenciales de unión líquida son altamente dependientes del pH, debido a las altas movilidades del protón y de los iones hidróxido.

un ácido fuerte o una base fuerte. La variación se debe a las movilidades, por lo regular altas, del ion hidrógeno y el ion hidróxido. Por tanto, *el potencial de unión líquida varía con el pH de la solución*, un dato importante que se debe recordar en las mediciones potenciométricas de pH. Normalmente se emplea un puente salino de cloruro de potasio, en saturación o cerca de la saturación, salvo cuando estos iones pueden interferir en una determinación. Se puede usar cloruro de amonio o nitrato de potasio si el ion potasio o el ion cloro interfieren.

Un puente salino que se usa ordinariamente es de cloruro de potasio a 3% saturado de agar, que se prepara agregando 100 mL de agua fría a 3 g de agar granulada. La mezcla se calienta en un baño de vapor y se agita hasta obtener una solución homogénea. Luego se agregan 25 g de cloruro de potasio y se agita hasta que se disuelve la sal; la mezcla se gelifica al enfriarse. Se han diseñado otros tipos diversos de uniones de electrolito o puentes salinos, como una junta de vidrio esmerilado; una mecha de asbesto sellada en vidrio; un tapón de vidrio poroso o cerámica, o goteo capilar fino. La solución del electrodo de referencia contiene, entonces, solución saturada de KCl, que escapa lentamente por el puente para crear una unión líquida con la solución de prueba.

13.6 Electrodos de referencia: el electrodo saturado de calomel

Un requisito de un electrodo de referencia es que su potencial sea fijo y estable, que no se vea afectado por el paso de las pequeñas cantidades de corriente que se requieren para hacer las mediciones potenciométricas (idealmente, la corriente en la medición es cero; pero en la práctica debe pasar algo de corriente; véase más adelante). Los electrodos metal-sal metálica generalmente poseen las propiedades que son necesarias.

Los electrodos de referencia por lo regular son del tipo sal-sal metálica. Los dos más comunes son el electrodo de $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ (calomel) y el de Ag/AgCl .

Un electrodo de referencia que se usa comúnmente es el **electrodo saturado de calomel** (SCE, *saturated calomel electrode*). El término “saturado” se refiere a la concentración de cloruro de potasio; y a 25°C, el potencial del electrodo saturado de calomel es 0.242 V, contra electrodo normal de hidrógeno. Un electrodo saturado de calomel consiste en una pequeña cantidad de mercurio mezclada con algo de Hg_2Cl_2 (calomel) sólido, KCl sólido, y suficiente solución saturada de KCl para humedecer la mezcla. Esto se pone en contacto con una solución saturada de KCl para mantener la saturación. Se introduce en la pasta un electrodo de platino para hacer contacto con el pequeño pozo de mercurio que se forma, y el alambre se conecta a una terminal del dispositivo de medición de potencial. Un puente salino sirve como contacto entre la solución de KCl y la solución de prueba, y por lo regular es una fibra o un vidrio poroso humedecido con la solución saturada de KCl. Si es necesario un puente salino diferente para evitar la contaminación de la solución de prueba (¡no se puede usar electrodo saturado de calomel para mediciones de cloruro!), entonces se usa un electrodo de referencia de doble unión, en el que la unión de KCl está en contacto con una solución de una sal diferente que a su vez entra en contacto con la solución de prueba. Esto, por supuesto, crea un segundo potencial de unión líquida, pero es constante.

En la figura 13.3 se muestra un electrodo saturado de calomel comercial tipo sonda. Éste tiene, en la punta, una fibra porosa o un vidrio poroso como puente salino, que permite un escape muy lento de la solución saturada de cloruro de potasio, así como una pequeña área del pozo de mercurio; por tanto, la corriente que puede pasar sin afectar su potencial es limitada (como se verá más adelante, normalmente se forma una pequeña corriente durante las mediciones de potencial). El puente salino de fibra *tiene una alta resistencia* (alrededor de 2 500 Ω). Esto limita la sensibilidad en mediciones con un potenciómetro en las que la lectura se hace tan cerca como sea posible del cero de flujo de corriente; cuando aumenta la resistencia externa, una deflexión dada de la corriente con respecto a cero dará por resultado un mayor error en la lectura de potencial. Éste no es un problema grave en muchas mediciones de potencial (por ejemplo, en titulaciones); pero con todo, es preferible un electrodo con menor resistencia. Sin embargo, el electrodo saturado de calo-

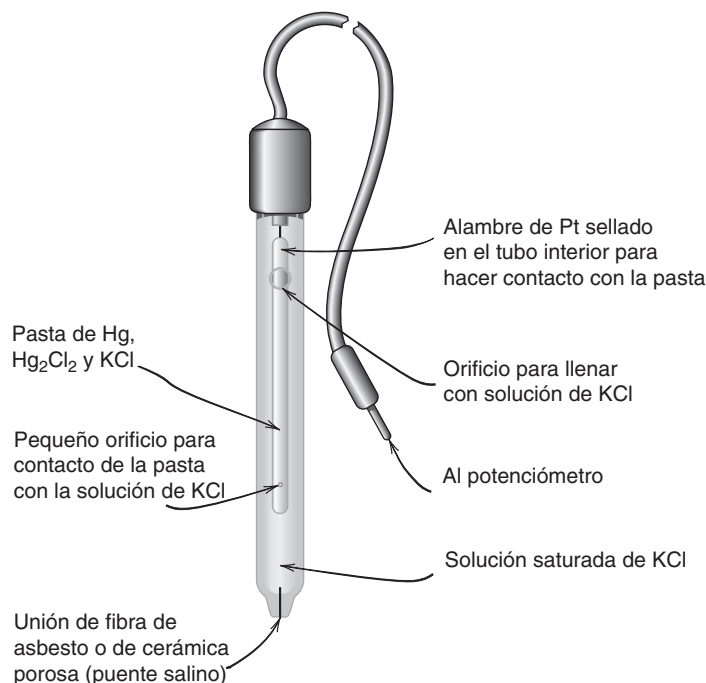


Figura 13.3. Electrodo saturado de calomel comercial. (Cortesía de Arthur H. Thomas Company.)

mel de fibra es perfectamente satisfactorio para usarse con un medidor de pH, que está diseñado para hacer mediciones con electrodos de alta resistencia.

Ejemplo 13.3

Calcular el potencial de la celda que consiste en un electrodo de plata sumergido en una solución de nitrato de plata con $a_{\text{Ag}^+} = 0.0100 M$ y un electrodo de referencia de electrodo saturado de calomel.

Solución

Despreciando el potencial de unión líquida,

$$\begin{aligned}
 E_{\text{celda}} &= E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} \\
 E_{\text{celda}} &= \left(E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 - 0.0592 \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \right) - E_{\text{SCE}} \\
 &= 0.799 - 0.0592 \log \frac{1}{0.0100} - 0.242 \\
 &= 0.439 \text{ V}
 \end{aligned}$$

Ejemplo 13.4

Un voltaje de celda medido mediante un electrodo saturado de calomel como electrodo de referencia es -0.774 V . (El indicador electrónico es la semicelda más negativa.) ¿Cuál sería el voltaje de celda con un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata ($\text{KCl } 1 M$; $E = 0.228 \text{ V}$) o con un electrodo normal de hidrógeno?

Solución

El potencial del electrodo de Ag/AgCl es más negativo que el del electrodo saturado de calomel por $0.242 - 0.228 = 0.014$ V. Por tanto, el voltaje de celda usando el primer electrodo es menos negativo por esta cantidad:

$$\begin{aligned} E_{\text{vs. Ag/AgCl}} &= E_{\text{vs. SCE}} + 0.014 \\ &= -0.774 + 0.014 = -0.760 \text{ V} \end{aligned}$$

De igual manera, el voltaje de celda usando el electrodo normal de hidrógeno es 0.242 V menos negativo:

$$\begin{aligned} E_{\text{vs. NHE}} &= E_{\text{vs. SCE}} + 0.242 \text{ V} \\ &= -0.774 + 0.242 = -0.532 \text{ V} \end{aligned}$$

.....

Los potenciales de electrodos de referencia son todos relativos. El potencial medido de celda depende de cuál se usa.

Los potenciales relativos a diferentes electrodos de referencia se pueden representar esquemáticamente en una escala en la que se colocan los diferentes potenciales de electrodos (véase la referencia 2). La figura 13.4 ilustra esto para el ejemplo 13.4.

13.7 Medición del potencial

Se puede crear una celda voltaica con los electrodos indicador y de referencia. El voltaje de la celda se puede medir, lo que da una lectura del potencial del electrodo indicador relativo al de referencia. Éste se puede relacionar con la actividad o la concentración del analito usando la ecuación de Nernst.

EL POTENCIÓMETRO Y EL MEDIDOR DE pH

Hay dos instrumentos que se usan comúnmente para hacer mediciones de potencial. Uno es el **potenciómetro** y el otro es el **medidor de pH** (un voltímetro); en la actualidad, este último es el que casi siempre se usa. Las mediciones de pH con un electrodo de vidrio o de otro tipo implican la medición de potenciales (véase adelante).

El potenciómetro se puede usar para mediciones de circuitos de baja resistencia. El medidor de pH es un dispositivo de medición de voltaje diseñado para usarse con electrodos de vidrio de alta resistencia, y se puede utilizar con circuitos tanto de baja como de alta resistencia. También se pueden usar **electrómetros** con circuitos de alta resistencia.

Un medidor de pH es un voltímetro que convierte el voltaje desconocido en una corriente que se amplifica y se lee. Éstos son dispositivos de “alta impedancia de entrada” (la impedancia en un circuito de corriente alterna es comparable con la resistencia en un circuito de corriente directa. Éstos dispositivos convierten la señal a una señal de corriente alterna para su amplificación). Debido a su alta resistencia de entrada, la corriente implicada es minúscula, por lo regular de 10^{-13} a 10^{-15} A, por lo que el equilibrio químico no se perturba mucho. Se debe usar un voltímetro para reacciones irreversibles que no regresan

Un medidor de pH o un electrómetro implica la presencia de corrientes muy pequeñas, y es adecuado para reacciones irreversibles que son lentas para restablecer el equilibrio. También se requiere para electrodos de alta resistencia, como los de vidrio para pH o los electrodos selectivos de iones.

Figura 13.4. Representación esquemática del potencial de electrodo relativo a diferentes electrodos de referencia.



al estado anterior cuando se perturban por una toma apreciable de corriente. Se deben usar circuitos de impedancia de entrada alta con electrodos de alta resistencia (por ejemplo, de varios megaohms: $10^6 \Omega$). Asimismo, la magnitud de la corriente debe ser muy pequeña para que la caída de voltaje a través de la celda ($=iR$ o corriente $\times$ resistencia de celda) sea lo suficientemente baja como para no causar un error en la medición; la resistencia de la celda es alta porque incluye al electrodo de vidrio.

Se dispone de medidores de pH de escala expandida que miden el potencial a unas pocas décimas de milivoltio, alrededor de 10 veces más preciso que los medidores convencionales de pH. Éstos son adecuados para mediciones potenciométricas directas con electrodos selectivos de iones.

LA CELDA PARA MEDICIONES DE POTENCIAL

En mediciones potenciométricas, se instala una celda del tipo que se muestra en la figura 13.5. Para mediciones potenciométricas directas en las que la actividad de un ion se va a calcular a partir del potencial del electrodo indicador, se tendrá que conocer o determinar el potencial del electrodo de referencia. El voltaje de la celda se describe en la ecuación 13.7, y cuando se emplea un puente salino, se debe incluir el potencial de unión líquida. Así,

$$E_{\text{celda}} = (E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}}) + E_j \quad (13.30)$$

E_j se puede combinar con las otras constantes de la ecuación 13.30 en una sola constante, asumiendo que el potencial de unión líquida no diferirá de manera significativa de una solución a la siguiente. Es forzoso aceptar esta suposición, ya que E_j no se puede evaluar bajo la mayoría de las circunstancias. E_{ref} , E_j y E_{ind}^0 se ponen juntas en una constante k :

$$k = E_{\text{ind}}^0 - E_{\text{ref}} + E_j \quad (13.31)$$

Entonces (para una reacción 1:1),

$$E_{\text{celda}} = k - \frac{2.303RT}{nF} \log \frac{a_{\text{red}}}{a_{\text{ox}}} \quad (13.32)$$

La constante k se determina midiendo el potencial de una solución estándar en la que se conocen las actividades.

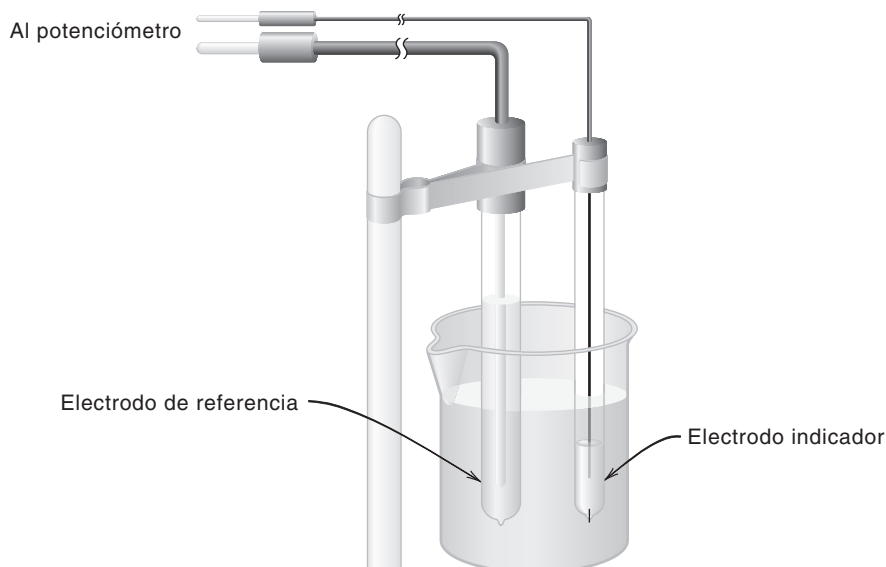


Figura 13.5. Celda para mediciones potenciométricas.

13.8 Determinación de concentraciones a partir de mediciones de potencial

Por lo regular se está interesado en determinar la concentración de una sustancia de prueba más que en su actividad. Los coeficientes de actividad por lo general no están disponibles, y no es conveniente calcular las actividades de las soluciones que se usan para estandarizar al electrodo.

Si la fuerza iónica de todas las soluciones se mantiene constante al mismo valor, el coeficiente de actividad de la sustancia de prueba permanece casi constante para todas las concentraciones de la sustancia. Se puede entonces escribir, para el término logarítmico de la ecuación de Nernst:

$$-\frac{2.303RT}{nF} \log f_i C_i = -\frac{2.303RT}{nF} \log f_i - \frac{2.303RT}{nF} \log C_i \quad (13.33)$$

Si se mantiene constante la fuerza iónica, los coeficientes de actividad son constantes y se pueden incluir en k , de modo que las *concentraciones* se pueden determinar a partir de los potenciales de celda medidos.

Bajo las condiciones prescritas, el primer término del lado derecho de esta ecuación es constante y se puede incluir en k , de modo que, a fuerza iónica constante,

$$E_{\text{celda}} = k - \frac{2.303RT}{nF} \log \frac{C_{\text{red}}}{C_{\text{ox}}} \quad (13.34)$$

En otras palabras, el potencial de electrodo cambia en $\pm 2.303RT/nF$ voltios para cada cambio de 10 veces en la *concentración* de la forma oxidada o reducida.

Lo mejor es determinar una **curva de calibración** de potencial contra logaritmo de la concentración; ésta debe tener una pendiente de $\pm 2.303 RT/nF$. De esta manera, en la curva de calibración se tomará en cuenta cualquier desviación de esta respuesta teórica.

Como la fuerza iónica de una solución desconocida por lo regular no se conoce, se adiciona una alta concentración de un electrólito, tanto a los estándares como a las muestras para mantener aproximadamente la misma fuerza iónica. Las soluciones estándar deben contener cualquier especie de la solución de prueba que cambie la actividad de un analito, como los agentes complejantes.

13.9 Potencial residual de unión líquida: debe ser mínimo

Si los potenciales de unión líquida de las soluciones de calibración y de prueba son idénticos, no habrá error (el E_j residual = 0). El objetivo es mantener E_j residual tan pequeño como sea posible.

En las ecuaciones 13.32 y 13.34, anteriores, se supuso que k es la misma en las mediciones tanto de estándares como de muestras. Esto es así sólo si el potencial de unión líquida en el electrodo de referencia es el mismo en ambas soluciones; pero la solución de prueba en general tendrá una composición algo diferente de la solución estándar, y la magnitud del potencial de unión líquida variará de solución a solución. La diferencia en los dos potenciales de unión líquida se llama **potencial residual de unión líquida**, y se mantendrá desconocido. La diferencia se puede sostener en un mínimo manteniendo tanto los valores de pH de la solución de prueba y de la estándar, así como las fuerzas iónicas, tan próximas como sea posible. *El primero de estos aspectos es especialmente importante.*

13.10 Exactitud de mediciones potenciométricas directas.

Error de voltaje contra error de actividad

Se puede tener una idea de la exactitud necesaria en las mediciones potenciométricas si se considera el porcentaje de error provocado por un error de 1 mV en la lectura a 25°C. Para un electrodo que responde a un ion monovalente como la plata,

$$E_{\text{celda}} = k - 0.05916 \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \quad (13.35)$$

y

$$a_{\text{Ag}^+} = \text{antilog} \frac{E_{\text{celda}} - k}{0.05916} \quad (13.36)$$

Un error de ± 1 mV da por resultado un error en a_{Ag^+} de $\pm 4\%$. Esto es considerablemente significativo en mediciones potenciométricas directas. El mismo porcentaje de error en actividad se tendrá para todas las actividades del ion plata con un error de 1 mV en la medición. *El error se duplica cuando n se duplica a 2.* Así, un error de 1 mV para un electrodo de cobre/cobre(II) daría como resultado un error de 8% en la actividad del cobre(II). Es obvio, entonces, que el potencial residual de unión líquida puede tener un efecto apreciable en la exactitud.

La exactitud y la precisión de las mediciones potenciométricas también están limitadas por la **capacidad para alcanzar el equilibrio** del par redox que se está midiendo. Esto es análogo a la capacidad de amortiguamiento en las mediciones de pH. Si la solución está muy diluida, está pobremente equilibrada, y las lecturas de potencial serán de respuesta lenta. Es decir, la solución tiene una concentración iónica tan baja que la solución alrededor del electrodo tarda más en reordenar sus iones y llegar a un estado estacionario, cuando se perturba el equilibrio durante el proceso de medición. Por esta razón se prefiere un electrómetro o medidor de pH que incluya muy poca corriente para mediciones potenciométricas en tales soluciones. Para ayudar a corregir este problema y para mantener una fuerza iónica constante, se puede agregar una concentración relativamente alta de una sal inerte (un “amortiguador” de fuerza iónica). La agitación ayuda a acelerar la respuesta de equilibrio.

Para una solución diluida o pobremente equilibrada, la agitación ayuda a obtener una lectura de equilibrio.

En soluciones muy diluidas, el potencial del electrodo puede estar regido por otras reacciones del electrodo. En una solución de plata muy diluida, por ejemplo, $-\log(1/a_{\text{Ag}^+})$, se vuelve muy negativa, y el potencial de electrodo es muy reductor. Bajo estas condiciones, un agente oxidante en solución (por ejemplo, oxígeno) se puede reducir *en la superficie del electrodo*, estableciendo un segundo par redox (O_2/OH^-); el potencial será un **potencial mixto**.

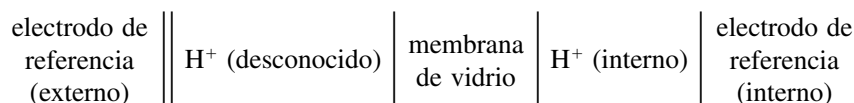
Por lo regular, el límite inferior de concentración que se puede medir con un grado de certeza es 10^{-5} a 10^{-6} M, aunque el intervalo real se debe determinar de manera experimental. Al hacerse más diluida la solución, tardará más tiempo en establecerse la lectura de potencial de equilibrio debido a la lentitud de respuesta. Una excepción a este límite se encuentra en las mediciones de pH, en las que la concentración de ion hidrógeno de la solución está bien compensada, ya sea por un amortiguador o por un ácido o una base en exceso. A pH 10, la concentración de ion hidrógeno es 10^{-10} M, y esto se puede medir con un electrodo de vidrio para pH (véase la sección 13.11). Sin embargo, una solución neutra sin amortiguador se equilibra pobremente, y las lecturas de pH son de respuesta lenta.

13.11 Electrodo de vidrio para pH: el caballo de batalla de los químicos

Hoy en día se usa casi universalmente el electrodo de vidrio para mediciones de pH debido a su facilidad de uso. Su potencial no se afecta esencialmente por la presencia de agentes oxidantes o reductores, y trabaja en un amplio intervalo de pH. Es de respuesta rápida y funciona bien en sistemas fisiológicos. Ningún otro electrodo de medición de pH tiene todas estas propiedades.

PRINCIPIO DEL ELECTRODO DE VIDRIO

La figura 13.6 muestra la construcción normal de un electrodo de vidrio para pH. Para la medición sólo es necesario sumergir el bulbo. Hay un electrodo interno de referencia y un electrólito ($\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{Cl}^-$) para hacer contacto eléctrico con la membrana de vidrio; su potencial es necesariamente constante y se fija por la concentración de HCl. Por tanto, una celda completa se puede representar como



La línea doble representa el puente salino del electrodo de referencia. El electrodo de vidrio está conectado a la terminal del electrodo indicador del medidor de pH, en tanto que el electrodo externo de referencia (por ejemplo, un electrodo saturado de calomel) se conecta a la terminal de referencia.

El potencial de la membrana de vidrio está dado por

$$E_{\text{vidrio}} = \text{constante} - \frac{2.303RT}{F} \log \frac{a_{\text{H}^+ \text{ int}}}{a_{\text{H}^+ \text{ incóg}}} \quad (13.37)$$

y el voltaje de la celda está dado por

$$E_{\text{celda}} = k + \frac{2.303RT}{F} \log a_{\text{H}^+ \text{ incóg}} \quad (13.38)$$

donde k es una constante que incluye los potenciales de los dos electrodos de referencia, el potencial de unión líquida, un potencial de la membrana de vidrio debido al H^+ (interno), y un término que se conoce como **potencial de asimetría**.

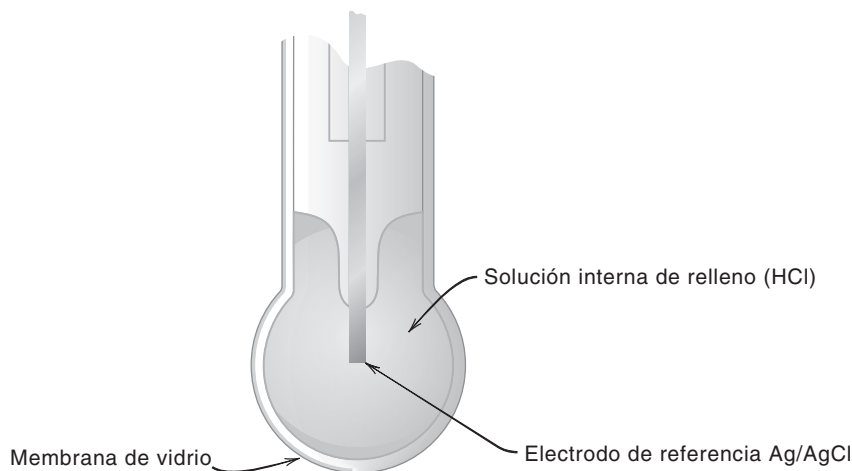


Figura 13.6. Electrodo de vidrio para pH.

El potencial de asimetría es un pequeño potencial a través de la membrana que está presente incluso cuando las soluciones a ambos lados de ésta son idénticas. Se asocia a factores como la composición no uniforme de la membrana, los esfuerzos internos de la membrana, el ataque mecánico y químico de la superficie exterior, y el grado de hidratación de la membrana. Cambia lentamente con el tiempo, en especial si se permite que se reseque la membrana, y se desconoce. Por esta razón, *un electrodo de vidrio para pH se debe calibrar día a día*. El potencial de asimetría varía de un electrodo a otro debido a diferencias en la construcción de la membrana.

Como $\text{pH} = -\log a_{\text{H}^+}$, la ecuación 13.38 se puede describir¹

$$E_{\text{celda}} = k - \frac{2.303RT}{F} \text{pH}_{\text{incóg}} \quad (13.39)$$

o

$$\text{pH}_{\text{incóg}} = \frac{k - E_{\text{celda}}}{2.303RT/F} \quad (13.40)$$

Es evidente que el electrodo de vidrio tendrá una respuesta de $2.303RT/F$ para cada cambio de 1 unidad de pH (cambio de 10 veces en a_{H^+}); k se debe determinar por calibración con un **amortiguador estándar** (véase más adelante) de pH conocido.

$$k = E_{\text{celda}} + \frac{2.303RT}{F} \text{pH}_{\text{estánd}} \quad (13.41)$$

Sustituyendo la ecuación 13.41 en la 13.39 da

$$\text{pH}_{\text{incóg}} = \text{pH}_{\text{estánd}} + \frac{E_{\text{celda estándar}} - E_{\text{celda incóg}}}{2.303RT/F} \quad (13.42)$$

Obsérvese que, como la determinación implica mediciones de potencial con un electrodo de membrana de muy alta resistencia (1 a 100 MΩ), es muy importante minimizar la caída iR usando un medidor de pH que haga circular muy poca corriente (véase antes, medición de potencial).

El electrodo de vidrio para pH se debe calibrar usando “amortiguadores estándar”. Véase la sección 13.12.

Por lo regular no se recurre a este cálculo en las mediciones de pH. En vez de esto se calibra la escala de potencial del medidor de pH en unidades de pH (véase la sección 13.14).



Ejemplo 13.5

Un par de electrodos de vidrio-electrodos saturados de calomel se calibra a 25°C con un amortiguador estándar de pH 4.01, y el voltaje medido es 0.814 V. ¿Qué voltaje se mediría en una solución de ácido acético $1.00 \times 10^{-3} M$? Supóngase $a_{\text{H}^+} = [\text{H}^+]$.

¹ En este capítulo se tomará la definición correcta de pH como $-\log a_{\text{H}^+}$, ya que esto es lo que mide el electrodo de vidrio.

Solución

Del ejemplo 6.7 del capítulo 6, el pH de una solución de ácido acético $1.00 \times 10^{-3} M$ es 3.88;

$$\therefore 3.88 = 4.01 + \frac{0.814 - E_{\text{celda incóg}}}{0.0592}$$

$$E_{\text{celda incóg}} = 0.822 \text{ V}$$

Obsérvese que el potencial aumenta al incrementarse el H^+ (un catión), como se esperaba.

.....

COMBINACIÓN DE ELECTRODOS DE pH: UNA CELDA COMPLETA

Un electrodo de combinación es una celda completa cuando se sumerge en una solución de prueba.

Se requiere tanto un electrodo indicador como uno de referencia (con puente salino) para hacer una celda completa que permita llevar a cabo mediciones potenciométricas. Conviene combinar los dos electrodos en una sola sonda, de modo que sólo se requieren pequeños volúmenes para las mediciones. En la figura 13.7 se muestra la construcción normal de un electrodo de referencia de combinación. Consiste en un tubo dentro de otro; el tubo interno aloja el electrodo indicador de pH, y el externo contiene el electrodo de referencia (por ejemplo, un electrodo de $Ag/AgCl$) y su puente salino. Hay un cable conductor desde el electrodo de combinación, pero al final se divide en dos conectores: uno de éstos (el mayor) va a la terminal de pH, y el otro, a la del electrodo de referencia. Es importante que el puente salino esté sumergido en la solución de prueba con objeto de completar la celda. El puente salino puede ser un pequeño tapón en el anillo exterior en vez de un anillo completo, como se ilustra aquí. Los electrodos de combinación son los que se usan más comúnmente debido a su conveniencia.

¿QUÉ DETERMINA EL POTENCIAL DE LA MEMBRANA DE VIDRIO?

El electrodo de vidrio para pH funciona como resultado del intercambio de iones en la superficie de una capa hidratada. La membrana de electrodo de vidrio para pH consiste en

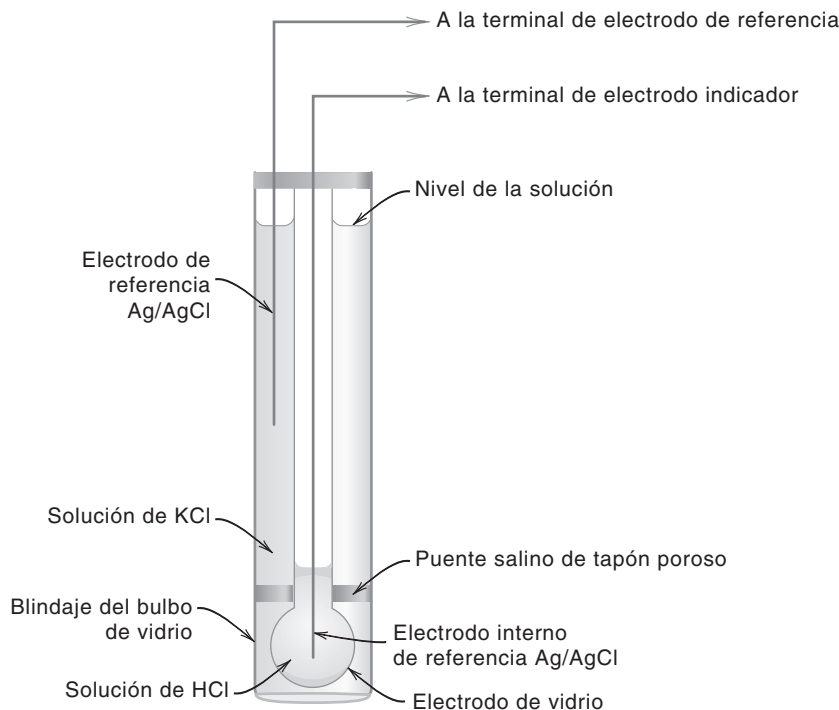


Figura 13.7. Combinación de electrodos de referencia de pH.

Na_2O y SiO_2 químicamente unidos. La superficie de un electrodo de vidrio nuevo contiene grupos fijos de silicato asociados a iones de sodio, $-\text{SiO}^-\text{Na}^+$. Se sabe que para que el electrodo se vuelva operativo se debe empapar en agua. Durante este proceso, la superficie externa de la membrana se *hidrata*; la superficie interna ya está hidratada. La membrana de vidrio por lo regular tiene 0.03 a 0.1 mm de espesor, y las capas hidratadas son de 10^{-5} a 10^{-4} mm de espesor.

Cuando la capa exterior se hidrata, los iones de sodio se intercambian por protones en la solución:



Otros iones de la solución se pueden intercambiar por los iones de Na^+ (o H^+), pero la constante de equilibrio para dicho equilibrio es muy grande, debido a la gran afinidad del vidrio por los protones. Así, la superficie del vidrio está hecha casi por completo de ácido silícico, salvo en una solución muy alcalina, donde la concentración de protones es pequeña. Los sitios $-\text{SiO}^-$ son fijos, pero los protones son libres para moverse e intercambiar con otros iones. (Variando la composición del vidrio, el intercambio para otros iones se vuelve favorable, y esto constituye la base de los electrodos selectivos para otros iones; véase más adelante.)

El potencial de la membrana consiste en dos componentes: el potencial de borde y el potencial de difusión. El primero es casi siempre el único potencial que determina la actividad del ion hidrógeno. El **potencial del borde** reside en la superficie de la membrana de vidrio, es decir, en la interfase entre la capa de gel hidratado y la solución externa. Cuando el electrodo se sumerge en una solución acuosa, se acumula un potencial de borde determinado por la actividad de los iones de hidrógeno en la solución externa y la actividad de los iones de hidrógeno en la superficie del gel. Una explicación del potencial es que los iones tienden a migrar en el sentido de la menor actividad, muy parecido a lo que sucede en una unión líquida. El resultado es una capa microscópica de carga que se acumula sobre la superficie de la membrana, la cual representa un potencial. Por tanto, conforme la solución se vuelve más ácida (el pH desciende), los protones migran a la superficie del gel, acumulando una carga positiva, y el potencial del electrodo se incrementa, como se indica en las ecuaciones 13.37 y 13.38. Lo contrario sucede cuando la solución se vuelve más alcalina.

El **potencial de difusión** es resultado de una tendencia de los protones en la parte inerte de la capa de gel a difundirse hacia la membrana seca, que contiene $-\text{SiO}^-\text{Na}^+$, y una tendencia de los iones sodio en la membrana seca a difundirse a la capa hidratada. Los iones migran con diferente rapidez, creando un tipo de potencial de unión líquida; no obstante, ocurre un fenómeno similar en el otro lado de la membrana, sólo que en sentido opuesto. Estos dos fenómenos se cancelan mutuamente, de modo que el potencial de la membrana en gran medida está determinado por el potencial de borde. (Pueden ocurrir pequeñas diferencias en los potenciales de borde debido a diferencias en el vidrio a través de la membrana; estas diferencias representan una parte del potencial de asimetría.)

Pungor ha presentado evidencias de que el establecimiento de un potencial de electrodo es causado por una separación de cargas debido a la quimisorción del ion primario (H^+) de la fase de la solución sobre la superficie del electrodo, esto es, una reacción química superficial. Los contraiones de carga opuesta se acumulan en la fase de la solución, y esta separación de cargas representa un potencial. Un mecanismo similar opera para otros electrodos selectivos de iones (véase más adelante). [Ver E. Pungor, "The New Theory of Ion Selective Electrodes", *Sensors*, **1** (2001) 1-12 (ésta es una revista electrónica: www.mdpi.net/sensors).]

K. L. Cheng ha propuesto una teoría sobre los electrodos de vidrio basada en la teoría de capacitores en que el electrodo detecta al ion hidróxido en solución alcalina (donde a_{H^+} es muy pequeña), más que detectar protones. [K. L. Cheng, "Capacitor Theory

El pH de la solución de prueba determina el potencial externo del borde.

¿El electrodo de vidrio detecta al H^+ o al OH^- en soluciones alcalinas?

for Nonfaradaic Potentiometry”, *Microchem. J.*, **42** (1990) 5.] *Nonfaradaic* (no faradaica) se refiere a una reacción no redox. Cheng ha realizado experimentos con isótopos que sugieren que la reacción generalmente aceptada de intercambio de iones entre H^+ y Na^+ no ocurre; sostiene que el electrodo realmente responde a los iones OH^- en solución alcalina. (¡Recuérdese que $[H^+]$ a pH 14 es sólo $10^{-14} M$!) [C.-M. Huang *et al.*, “Isotope Evidence Disproving Ion Exchange Reaction Between H^+ and Na^+ in pH Glass Electrode”, *J. Electrochem. Soc.*, **142** (1995) L175]. Su teoría de capacitores no se reconoce generalmente, pero él y sus colaboradores presentan algunos argumentos convincentes y resultados experimentales que hacen interesante considerar esta teoría. Tiene algo en común con la teoría de la doble capa de Pungor.

ERROR ALCALINO

Ocurren dos tipos de error que dan por resultado un comportamiento no nernstiano (desviación de la respuesta teórica). El primero se llama **error alcalino**; se debe a la capacidad de la membrana para responder a otros cationes además del ion hidrógeno. Al volverse muy pequeña la actividad del ion hidrógeno, estos otros iones pueden competir con éxito en el mecanismo de determinación del potencial. Aunque la capa de gel hidratado prefiere los protones, los iones sodio se intercambian con los protones en la capa cuando la actividad del ion hidrógeno en la solución externa es muy baja (el inverso de la ecuación 13.43). El potencial entonces depende parcialmente de la relación de $a_{Na^+ \text{ externa}}/a_{Na^+ \text{ gel}}$; es decir, el electrodo se vuelve un electrodo de ion sodio.

El error es despreciable a pH menor de alrededor de 9; pero a valores de pH superiores, la concentración de H^+ es muy pequeña en relación con la de otros iones, y la respuesta del electrodo a los otros, como Na^+ , K^+ , etc., se vuelve apreciable. En efecto, el electrodo parece “ver” más iones de hidrógeno de los que hay presentes, y la lectura de pH es demasiado baja. La magnitud de este error negativo se ilustra en la figura 13.8. El ion sodio ocasiona los mayores errores, lo cual es desafortunado porque muchas soluciones

El electrodo de vidrio detecta otros cationes además del H^+ . Esto se vuelve apreciable sólo cuando a_{H^+} es muy pequeño, como en una solución alcalina. No es posible distinguirlos del H^+ , de modo que la solución parece más ácida de lo que realmente es.

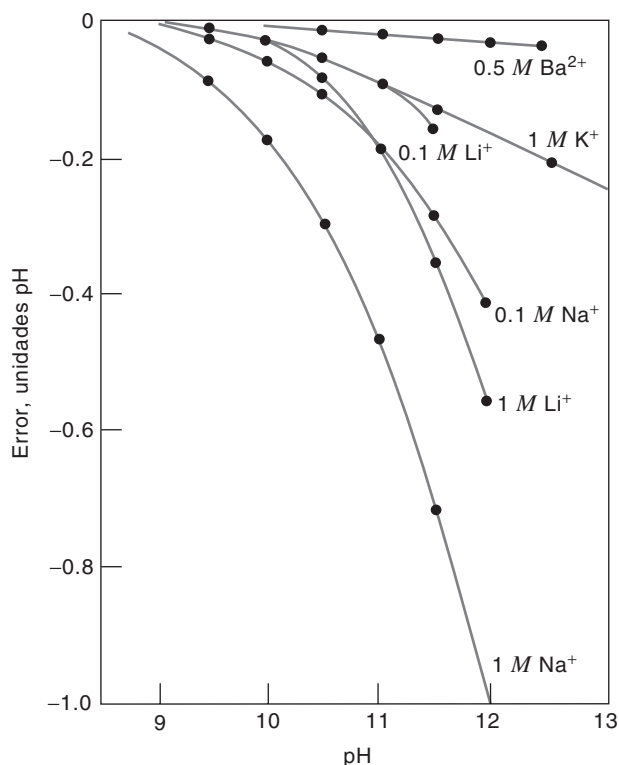


Figura 13.8. El error Corning 015 del electrodo de vidrio en soluciones alcalinas muy fuertes contiene varios cationes. (Según L. Meites y L. C. Thomas, *Advanced Analytical Chemistry*. Copyright © 1958, McGraw-Hill, Nueva York. Con permiso de McGraw-Hill Book Company.)

analíticas, en especial las alcalinas, contienen cantidades significativas de sodio. Los electrodos comerciales de vidrio para uso general normalmente se suministran con un nomograma para corregir el error alcalino si se conoce la concentración de ion sodio, y estos electrodos son útiles hasta pH 11.

Mediante un cambio en la composición del vidrio, se puede reducir la afinidad del vidrio por el sodio. Si el Na_2O en la membrana de vidrio se reemplaza en gran medida por Li_2O , entonces se reduce notablemente el error debido a iones sodio. Éste es el llamado electrodo de vidrio de litio para pH elevado, o electrodo de intervalo completo (pH de 0 a 14). Para un pH inferior a 11, se prefiere el electrodo de uso general porque da una respuesta más rápida y mayor estabilidad debido a su vidrio de menor resistencia. Como antes se mencionó, fue el descubrimiento de que la variación en la composición del vidrio podía cambiar su afinidad por diferentes iones, lo que condujo al desarrollo de vidrios selectivos para iones distintos a los protones, es decir, el electrodo selectivo de iones.

ERROR ÁCIDO

El **error ácido**, que se describe más correctamente como **error de actividad acuosa**, es el segundo tipo de error que provoca una respuesta no nernstiana. Este error ocurre porque el potencial de la membrana depende de la actividad del agua con la que está en contacto. Si la actividad es 1, la respuesta es nernstiana. En soluciones muy ácidas, la actividad del agua es menor a la unidad (se usa una cantidad apreciable de ésta para solvatar los protones), y esto da como resultado un error positivo en el pH (véase la figura 13.9). Se producirá un tipo similar de error si la actividad del agua disminuye debido a una alta concentración de sal disuelta o por adición de un disolvente no acuoso, como el etanol. En estos casos, se puede introducir también un gran potencial de unión líquida que dará como resultado otro error, aunque éste no es muy grande con pequeñas cantidades de etanol.

13.12 Amortiguadores estándar. Referencia para mediciones de pH

El National Institute of Standards and Technology (NIST) ha desarrollado una serie de amortiguadores estándar certificados para uso en la calibración de mediciones de pH. Los valores de pH de estos amortiguadores se determinaron midiendo su pH mediante un electrodo indicador de hidrógeno en una celda sin unión líquida (similar a la celda expresada por la ecuación 13.22). Se usó un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata. En la ecuación 13.24 se ve que se debe calcular la actividad del ion cloruro (para determinar el potencial del electrodo de referencia) usando la teoría de Debye-Hückel; *esto finalmente limita la exactitud del pH de los amortiguadores a cerca de ± 0.01 U de pH.*

El pH de los amortiguadores NIST se determina con una celda sin unión líquida (celda 13.22), y se calcula usando la ecuación 13.24. La actividad del Cl^- se debe calcular a partir de la ecuación de Debye-Hückel, que limita la exactitud de la a_{H^+} calculada a partir del potencial medido.

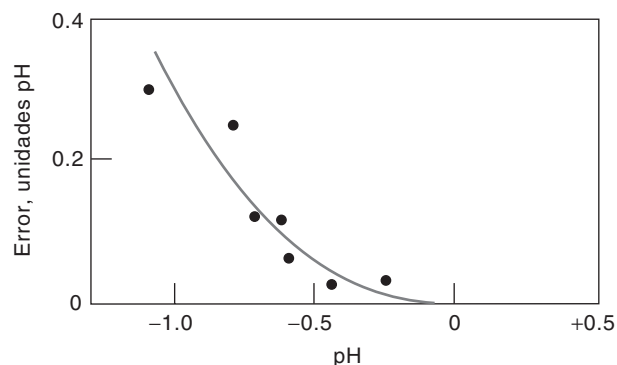


Figura 13.9. Error del electrodo de vidrio en solución de ácido hidrocórico. (Tomada de L. Mites y L. C. Thomas, *Advanced Analytical Chemistry*. Copyright © 1958, McGraw-Hill, Nueva York. Reproducido con permiso de The McGraw-Hill Company.)

Tabla 13.2

Valores de pH de soluciones amortiguadoras NIST^a

<i>t</i> (°C)	Amortiguador						Hidróxido de calcio ^h
	<i>Tetraoxalato</i> ^b	<i>Tartrato</i> ^c	<i>Ftalato</i> ^d	<i>Fosfato</i> ^e	<i>Fosfato</i> ^f	<i>Bórax</i> ^g	
0	1.666	—	4.003	6.984	7.534	9.464	13.423
5	1.668	—	3.999	6.951	7.500	9.395	13.207
10	1.670	—	3.998	6.923	7.472	9.332	13.003
15	1.672	—	3.999	6.900	7.448	9.276	12.810
20	1.675	—	4.002	6.881	7.429	9.225	12.627
25	1.679	3.557	4.008	6.865	7.413	9.180	12.454
30	1.683	3.552	4.015	6.853	7.400	9.139	12.289
35	1.688	3.549	4.024	6.844	7.389	9.102	12.133
38	1.691	3.549	4.030	6.840	7.384	9.081	12.043
40	1.694	3.547	4.035	6.838	7.380	9.068	11.984
45	1.700	3.547	4.047	6.834	7.373	9.038	11.841
50	1.707	3.549	4.060	6.833	7.367	9.011	11.705
55	1.715	3.554	4.075	6.834	—	8.985	11.574
60	1.723	3.560	4.091	6.836	—	8.962	11.449
70	1.743	3.580	4.126	6.845	—	8.921	—
80	1.766	3.609	4.164	6.859	—	8.885	—
90	1.792	3.650	4.205	6.877	—	8.850	—
95	1.806	3.674	4.227	6.886	—	8.833	—

^a Según R. G. Bates, *J. Res. Natl. Bur. Std.*, **A66** (1962) 179 (reimpresión autorizada por U.S. Government Printing Office).

^b Tetraoxalato de potasio 0.05 *m* (*m* se refiere a la molalidad; pero sólo hay pequeños errores si en vez de esto se usa la molaridad).

^c Solución saturada de hidrogenotarttrato de potasio (25°C).

^d Hidrogenoftalato de potasio 0.05 *m*.

^e Dihidrogenofosfato de potasio 0.025 *m*, hidrogenofosfato disódico 0.025 *m*.

^f Dihidrogenofosfato de potasio 0.008695 *m*, hidrogenofosfato disódico 0.03043 *m*.

^g Bórax 0.01 *m*.

^h Hidróxido de calcio saturado (25°C).

Sólo las mezclas de fosfatos son realmente amortiguadores. Los valores de pH cambian con la temperatura debido a la dependencia de los valores de K_a con respecto a la temperatura.

La presión parcial del hidrógeno está determinada por la presión atmosférica en el momento de la medición (menos la presión de vapor del agua a la temperatura de la solución).

Las composiciones y el pH de los amortiguadores estándar NIST se dan en la tabla 13.2. Aunque el valor absoluto de la exactitud de pH no es mejor que 0.01 unidades, los amortiguadores se han medido *unos en relación con otros* hasta pH de 0.001. Los potenciales usados para calcular el pH se pueden medir con reproducibilidad con este grado de aproximación, y a veces es importante poder discernir diferencias en milésimas de unidades de pH (esto es, puede tenerse que calibrar un electrodo a una milésima de unidad de pH). El pH de los amortiguadores depende de la temperatura, debido a que las constantes de ionización de los ácidos o bases originales dependen de esta misma.

Obsérvese que varios de estos iones de las soluciones no son realmente amortiguadores, sino soluciones de pH estándar el cual es estable porque no se agrega un ácido o una base. Son resistentes al cambio de pH con diluciones menores (por ejemplo $[H^+] \approx \sqrt{K_{a1}K_{a2}}$). Sólo las dos soluciones de fosfato son amortiguadores reales.

Se debe señalar que si la celda de un electrodo de vidrio-electrodo saturado de calomel se calibra con un amortiguador estándar y se usa para medir el pH de otra, la nueva lectura no corresponderá exactamente al valor estándar de la segunda debido al potencial de unión líquida.

El amortiguador de KH_2PO_4 – Na_2HPO_4 (pH 7.384 a 38°C) es especialmente adecuado para calibración de mediciones de pH sanguíneo. Muchas mediciones de pH sanguíneo se

hacen a 38°C, la cual es cercana a la temperatura del cuerpo; de esta manera se indica el pH de la sangre en el cuerpo.

Para una explicación sobre los estándares de pH del NIST antes mencionados, y sobre otras definiciones propuestas de pH, ver los escritos de W. F. Koch (*Analytical Chem.*, 1 de diciembre, 1997, 700A; *Chem. & Eng. News*, 20 de octubre de 1997, 6).

13.13 Exactitud de las mediciones de pH

La precisión de las mediciones de pH está regida por la exactitud con la que se conoce la actividad del ion hidrógeno del amortiguador estándar. Como antes se mencionó, esta precisión no es mayor de ± 0.01 unidad de pH debido a las limitaciones en el cálculo del coeficiente de actividad de un solo ion.

Una segunda limitante en la exactitud es el potencial residual de la unión líquida. La celda se estandariza en una solución y luego se mide el pH desconocido en una solución de composición diferente. Se ha mencionado que este potencial residual se minimiza manteniendo los valores de pH y las composiciones de las soluciones tan cercanos como sea posible. Debido a esto, *la celda se debe estandarizar a un pH cercano al de la solución desconocida*. El error al estandarizar a un pH muy lejano del de la solución de prueba generalmente está dentro de 0.01 a 0.02 unidades de pH, pero puede ser tan grande como 0.05 unidades de pH para soluciones muy alcalinas.

El potencial residual de unión líquida, combinado con la incertidumbre en los amortiguadores estándar, limita la *exactitud absoluta de la medición de pH de una solución desconocida a alrededor de ± 0.02 unidades de pH*. Sin embargo, quizá sea posible *discriminar* entre el pH de dos soluciones similares con diferencias tan pequeñas como ± 0.004 o incluso ± 0.002 unidades de pH, aunque su exactitud no es mejor a ± 0.02 unidades de pH. Tal discriminación es posible debido a que los potenciales de unión líquida de las dos soluciones serán virtualmente idénticos en términos de la verdadera a_{H^+} . Por ejemplo, si los valores de pH de dos soluciones sanguíneas están próximos, se puede medir la diferencia entre ambos con exactitud de ± 0.004 pH. Sin embargo, si la diferencia de pH es bastante grande, entonces el potencial residual de unión líquida aumentará, y la diferencia no se podrá medir con tanta exactitud. Para una discriminación de 0.02 unidades de pH, cambios grandes en la fuerza iónica pueden no ser graves, pero son importantes para cambios más pequeños que esto.

Un error de ± 0.02 unidades de pH corresponde a un error en a_{H^+} de $\pm 4.8\%$ (± 1.2 mV),² y una discriminación de ± 0.004 unidades de pH correspondería a una discriminación de $\pm 1.0\%$ en a_{H^+} (± 0.2 mV).

Si las mediciones de pH se hacen a una temperatura distinta de la temperatura a la que se hace la estandarización, siendo iguales los demás factores, el potencial de unión líquida cambiará con la temperatura. Por ejemplo, para una elevación de 25 a 38°C, se ha informado un cambio de +0.76 mV para sangre y de -0.55 mV para soluciones amortiguadoras. Por tanto, para un trabajo muy preciso, la celda se debe estandarizar a la misma temperatura que la solución de prueba.

El potencial residual de unión líquida limita la precisión de la medición de pH. Siempre calibra a un pH cercano al de la solución de prueba.

Las mediciones potenciométricas de a_{H^+} son sólo alrededor de 5% exactas.

13.14 Uso del medidor de pH. ¿Cómo opera?

Ya se ha mencionado que debido a la alta resistencia del electrodo de vidrio, se debe usar un electrómetro o medidor de pH para hacer las mediciones de potencial. Si el voltaje se mide directamente, se aplica la ecuación 13.40 o la 13.42 para calcular el pH. El valor de

Consultar www.ph-measurement.co.uk para un útil tutorial sobre los principios básicos de las mediciones de pH e información sobre las mediciones de pH en diferentes medios.

² La respuesta del electrodo es 59 mV/pH a 25°C.

$2.303RT/F$ a 298.16 K (25°C) es 0.05916; si se usa diferente temperatura, este valor se debe corregir en proporción directa a ésta.

En la figura 13.10 se muestra un medidor digital de pH. La escala de potencial está calibrada en unidades de pH, con cada unidad de pH igual a 59.16 mV a 25°C (ecuación 13.39). El medidor de pH se ajusta con la perilla de calibración para indicar el pH del amortiguador estándar; luego se reemplaza el amortiguador estándar por la solución desconocida y se lee el pH en la escala. Este procedimiento, en efecto, establece la constante k en la ecuación 13.40 y hace el ajuste por el potencial de asimetría, así como las otras constantes incluidas en k .

La perilla de temperatura en el medidor de pH ajusta T en el valor RT/nF , que determina la pendiente del potencial contra los amortiguadores de pH.

El medidor de pH tiene una perilla de ajuste de temperatura que cambia la respuesta de sensibilidad (mV/pH), de modo que sea igual a $2.303 RT/F$. Por ejemplo, es 54.1 mV a 0°C, y 66.0 mV a 60°C. Obsérvese que esto *no* compensa el cambio en el pH de los amortiguadores estándar con la temperatura, y se usa el valor de pH del amortiguador a la temperatura dada.

Los electrodos y los medidores están diseñados para tener un punto en las líneas de calibración, en el intervalo medio de las mediciones de actividad, donde el potencial esencialmente no tiene variaciones con la temperatura. Para electrodos de vidrio para pH, este punto se ajusta a pH 7 (figura 13.11). A éste se le llama **punto de isotopotencial**, y el potencial es cero (los medidores de pH en realidad miden potencial que se convierte a lecturas de pH, y los potenciales pueden irse registrando directamente). Cualquier lectura de potencial diferente a 0 mV para un amortiguador estándar de 7.0 pH se llama **desviación** de ese electrodo. Cuando se cambia la temperatura, cambia la pendiente de calibración, y la intersección de las curvas establece el punto de isotopotencial real. Si el punto de isotopotencial es diferente de pH 7, entonces la temperatura del amortiguador de calibración y de la solución de prueba debe ser la misma para máxima exactitud, porque a temperaturas diferentes habrá un ligero error en el ajuste de pendiente a temperaturas diferentes. Para mayores detalles sobre el punto isotopotencial y su interpretación cuantitativa, véase A. A. S. C. Machado, *Analyst*, **19** (1994) 2263.

Para calibrar el medidor de pH se insertan los electrodos en un amortiguador estándar de pH 7.0; se verifica la temperatura del amortiguador y se ajusta a ésta la perilla de ajuste de temperatura. Usando la perilla de estandarización o calibración, se ajusta el medidor para que la lectura sea 7.00. Muchos medidores de pH tienen microprocesadores que



Figura 13.10. Medidor típico de pH. (Cortesía de Denver Instrument Company.)

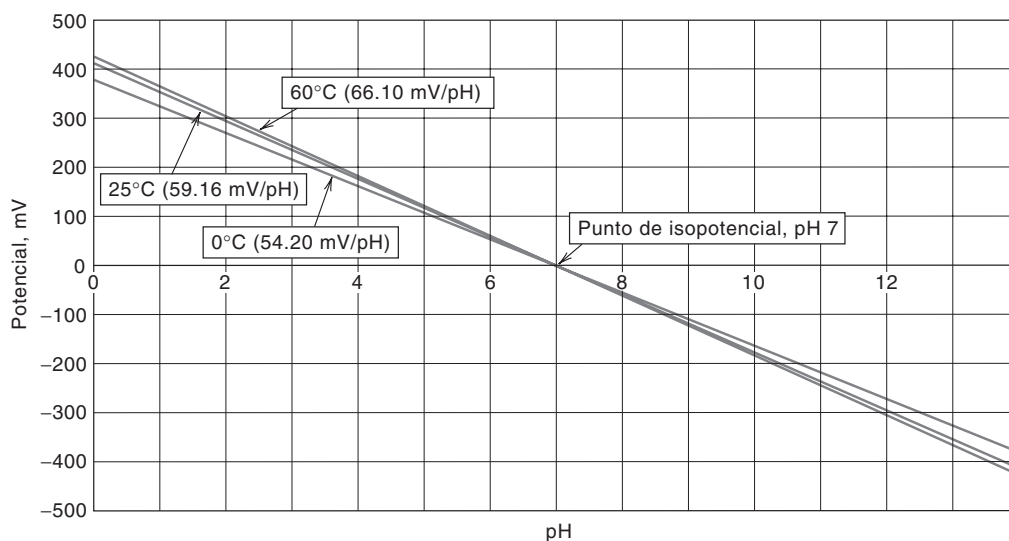


Figura 13.11. Punto de isotencial.

reconocen valores específicos de pH (por ejemplo, 4.0, 7.0 y 10.0), y el operador sólo tiene que oprimir la tecla “stand” (estandarizar), “cal” (calibrar) o “set” (ajustar), y el medidor automáticamente leerá el valor del amortiguador. En seguida se ajusta la pendiente repitiendo con un amortiguador estándar, ya sea 4.0 o 10.0, dependiendo del intervalo de pH para las mediciones de muestras. Sin embargo, aquí se usa el Control de Pendiente (Slope Control) para ajustar el medidor a la lectura correcta de pH. La mayoría de los medidores de pH incluyen actualmente una sonda separada de temperatura, de modo que la compensación de temperatura puede ser automática. La sonda de temperatura puede estar incorporada a la sonda del electrodo.

Los medidores ordinarios de pH tienen una precisión de ± 0.1 a ± 0.01 unidad de pH (± 6 a ± 0.6 mV), con una escala completa del medidor de 14 unidades de pH (alrededor de 840 mV). Los medidores se pueden ajustar para leer 1 000 mV directamente (en general con una sensibilidad de 1 400 mV en la escala completa). Los medidores de pH con escala expandida, que amplifican la señal del potencial, pueden dar lecturas hasta de ± 0.001 unidad de pH, con una lectura de escala completa común de 1.4 unidades de pH (140 mV en la configuración de la escala de milivoltios); para lograr esto, el potencial se debe leer con una aproximación mayor a 0.1 mV.

Cuando se mide el pH de una solución sin amortiguador cerca de la neutralidad, las lecturas serán de respuesta lenta porque la solución está mal equilibrada y será necesario un tiempo más largo para llegar a una lectura estable. La solución debe estar en agitación, porque una pequeña cantidad del vidrio tiende a disolverse, haciendo alcalina la solución en la superficie del electrodo (ecuación 13.43, donde el H_2O —la fuente del H^+ — se reemplaza por la solución de NaOH).

13.15 Medición del pH de la sangre.

La temperatura es importante

Recuérdese del capítulo 7 que, como las constantes de equilibrio de los sistemas amortiguadores de la sangre cambian con la temperatura, el pH de la sangre a la temperatura del cuerpo, 37°C , es diferente a la temperatura de laboratorio. Por tanto, para obtener mediciones de pH sanguíneo que tengan sentido y se puedan relacionar con condiciones fisiológicas reales, las mediciones se deben hacer a 37°C , y las muestras no se deben exponer a la atmósfera (también recuérdese que el pH de una solución acuosa neutra a 37°C es 6.80, y así la escala de acidez cambia en 0.20 unidades de pH):

La medición del pH de muestras de sangre se debe hacer a la temperatura del cuerpo para que tenga sentido.

Las siguientes son algunas reglas útiles para hacer mediciones de pH sanguíneo:

1. Calibrar los electrodos usando un amortiguador estándar a 37°C, asegurándose de seleccionar el amortiguador con el pH adecuado a 37°C y de ajustar la perilla de temperatura del medidor de pH a 37°C (pendiente = 61.5 mV/pH). Es una buena idea usar dos estándares para la calibración, los cuales deben abarcar estrechamente el pH de la muestra; esto asegura que el electrodo está funcionando en forma correcta. Asimismo, los electrodos se deben equilibrar a 37°C antes de la calibración y la medición. El potencial del electrodo interno de referencia dentro del electrodo de vidrio depende de la temperatura, de la cual también puede depender el mecanismo de determinación del potencial en la interfase de la membrana de vidrio; los potenciales del electrodo estándar de calomel de referencia y de la unión líquida también dependen de la temperatura (se debe hacer notar que si las mediciones de pH u otros potenciales se hacen a una temperatura menor a la del laboratorio, ni el puente salino ni el electrodo de referencia deben contener KCl saturado, sino algo menos concentrado, ya que de otra manera precipitarían cristales sólidos de KCl en el puente y aumentarían su resistencia).
2. Las muestras de sangre se deben conservar en forma anaerobia para evitar pérdida o absorción de CO₂. Las mediciones de pH se efectúan dentro de los 15 min siguientes a la recolección de la muestra, si es posible, o de lo contrario se conserva la muestra en hielo y se hacen las mediciones dentro de las primeras 2 h. La muestra se equilibra a 37°C antes de la medición (si también debe realizarse una medición de pCO₂, se efectúa dentro de los primeros 30 min).
3. Para evitar recubrir el electrodo, se remueve la muestra del electrodo enjuagando con un chorro de solución salina después de cada medición. Una película residual de sangre se puede eliminar sumergiendo el extremo del electrodo *sólo* durante unos pocos minutos en una solución 0.1 M de NaOH, y en seguida en HCl 0.1 M y agua o solución salina.

Generalmente se toma sangre venosa para la medición del pH, aunque se puede necesitar sangre arterial para aplicaciones especiales. El límite del intervalo de confianza de 95% (véase el capítulo 3) para pH de sangre arterial es de 7.31 a 7.45 (promedio, 7.40) para todas las edades y para ambos sexos. Se ha sugerido un intervalo de 7.37 a 7.42 para sujetos en reposo. La sangre venosa puede diferir de la arterial hasta en 0.03 unidades de pH, y puede variar según la vena de donde se tome la muestra. El pH intracelular de los eritrocitos es de alrededor de 0.15 a 0.23 unidades más bajo que el del plasma.

13.16 Mediciones de pH en disolventes no acuosos

Las mediciones de pH en un disolvente no acuoso, cuando el electrodo se estandariza con una solución acuosa, tiene poco significado en términos de la posible actividad de iones hidrógeno debido al potencial desconocido de unión líquida, que puede ser bastante grande dependiendo del disolvente. Las mediciones que se hacen de esta manera, por lo regular se conocen como “pH aparente”. Se han sugerido escalas de pH y estándares para disolventes no acuosos usando un procedimiento similar al que se lleva a cabo para las soluciones acuosas. Sin embargo, estas escalas no tienen relación rigurosa con la escala de pH acuoso. Para una explicación de este tema, consultar el libro de Bates (referencia 3). Ver también M. S. Frant, “How to Measure pH in Mixed & Nonaqueous Solutions”, *Today's Chemist at Work*, American Chemical Society, junio de 1995, p. 39.

13.17 Electrodos selectivos de iones

Se han desarrollado diversos tipos de electrodos de membrana en los que el potencial de membrana es selectivo hacia uno o varios iones dados, del mismo modo en que el potencial de una membrana de vidrio de un electrodo convencional es selectivo hacia los iones hidrógeno. Estos electrodos son importantes en la medición de los iones, sobre todo en pequeñas concentraciones. Por lo general no están “envenenados” por la presencia de proteínas, como sucede con otros electrodos, y por esta razón son ideales para mediciones en medios biológicos. Esto es válido en particular para los electrodos de membrana de vidrio selectivos de iones.

Ninguno de estos electrodos es *específico* para un ion dado, pero cada uno tiene cierta *selectividad* hacia uno o varios iones dados, de modo que se les llama correctamente **electrodos selectivos de iones** (ISE, *ion-selective electrodes*).

ELECTRODOS DE MEMBRANA DE VIDRIO

Éstos son de construcción similar a los electrodos de vidrio para pH. Al variar la composición de la membrana de vidrio se puede hacer que el vidrio hidratado adquiera un incremento en la afinidad hacia diversos cationes monovalentes con mucho menor afinidad hacia protones que la que tiene el electrodo de vidrio para pH. El potencial de membrana se vuelve dependiente de estos cationes, quizá mediante un mecanismo de intercambio de iones similar al presentado para el electrodo de vidrio para pH; es decir, se produce un potencial de borde determinado por las actividades relativas de los cationes sobre la superficie del gel y en la solución externa. La actividad catiónica incrementada da por resultado aumento de la carga positiva sobre la membrana y aumento positivo en el potencial del electrodo.

La construcción es similar a la figura 13.6. La solución interna de relleno por lo regular será la sal de cloruro del catión hacia el que el electrodo tiene la máxima respuesta. La composición de la membrana variará de fabricante a fabricante, pero se pueden clasificar tres tipos generales de electrodos de vidrio:

1. Tipo pH. Éste es el electrodo convencional de vidrio para pH, y tiene un orden de selectividad de $H^+ \gg Na^+ > K^+, Rb^+, Cs^+ \dots \gg Ca^{2+}$. La respuesta a iones distintos de H^+ es el “error alcalino” del que antes se habló.
2. Tipo sensible a cationes. Éste responde en general a cationes monovalentes, y el orden de selectividad es $H^+ > K^+ > Na^+ > NH_4^+, Li^+ \dots \gg Ca^{2+}$.
3. Tipo “sensible al sodio”. El orden de selectividad es $Ag^+ > H^+ > Na^+ \gg K^+, Li^+, \dots \gg Ca^{2+}$.

Obsérvese que todos los electrodos responden al ion hidrógeno, pero los dos últimos lo hacen mucho menos que el primer tipo. Debido a esta respuesta, los electrodos se deben usar a un pH suficientemente alto para que la actividad del ion hidrógeno sea tan baja que la respuesta esté principalmente determinada por el ion que es importante. Este límite mínimo de pH variará de electrodo a electrodo y de ion a ion. (Consultar en párrafos anteriores, ¿Qué determina el potencial de la membrana de vidrio?, respecto de la teoría de K. L. Cheng sobre la respuesta al OH^- a pH elevado.)

El tipo de electrodo sensible al sodio se puede usar para determinar la actividad del ion sodio en presencia de cantidades apreciables de ion potasio. Su selectividad por el sodio sobre el potasio está en el orden de 3 000 o más. Se pueden obtener electrodos de vidrio que muestran una relación de selectividad por la plata sobre el sodio mayor a 1 000. Se pueden usar electrodos de vidrio en medios de amoníaco líquido y sal fundida.

Ver www.nico2000.net para un excelente tutorial (guía de 12 000 palabras para principiantes) sobre principios de electrodos de pH y selectivos de iones, calibración y procedimientos de medición.

El electrodo de membrana de vidrio para pH es el electrodo selectivo de iones por excelencia.

Por lo común, H^+ interfiere con otros ISE, y por tanto el pH debe permanecer arriba de un valor limitante, dependiendo de la concentración del ion primario (el que se está midiendo).

El electrodo selectivo de iones para fluoruro es uno de los más exitosos y útiles, ya que la determinación de fluoruro es bastante difícil por la mayoría de los otros métodos.

El TISAB sirve para ajustar la fuerza iónica y el pH, y para evitar que los cationes Al^{3+} , Fe^{3+} y Si^{4+} formen complejos con el ion fluoruro.

ELECTRODOS DE ESTADO SÓLIDO

La construcción de estos electrodos se muestra en la figura 13.12. El ejemplo que ha tenido mayor éxito es el electrodo para fluoruro. La membrana consiste en un solo cristal de fluoruro de lantano dopado con algo de europio(II) para aumentar la conductividad del cristal. El fluoruro de lantano es muy insoluble, y este electrodo exhibe respuesta nernstiana al fluoruro a concentraciones tan bajas como $10^{-5} M$, y respuesta no nernstiana hasta $10^{-6} M$ (¡19 partes por mil millones!). Este electrodo tiene por lo menos una selectividad de 1 000 veces por el ion fluoruro sobre los aniones cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, monohidrogenofosfato y bicarbonato, y de 10 veces sobre el ion hidróxido. El ion hidróxido parece ser la única interferencia notable. El intervalo de pH está limitado por la formación de ácido fluorhídrico en el extremo ácido y por la respuesta al ion hidróxido en el extremo alcalino; no obstante, se asegura un intervalo de pH de 4 a 9.

Una solución útil para minimizar las interferencias con el electrodo de fluoruro consiste en una mezcla de un amortiguador de acetato de pH 5.0 a 5.5, NaCl 1 M y ácido ciclohexilendinitrilo tetraacético (CDTA). Esta solución está disponible comercialmente como TISAB (total ionic strength adjustment buffer = amortiguador para ajuste total de fuerza iónica). Una dilución 1:1 de las muestras y de los estándares con la solución proporciona un ambiente de fuerza iónica elevada que nivela las variaciones moderadas en fuerza iónica entre soluciones, lo que mantiene constantes tanto el potencial de unión como el coeficiente de actividad del ion fluoruro de solución a solución. El amortiguador da un pH en el que se evita la formación de HF y en el que no está presente la respuesta al hidróxido. El CDTA es un agente quelante similar al EDTA que forma complejos con cationes polivalentes como Al^{3+} , Fe^{3+} y Si^{4+} , que de otro modo formarían complejos con el F^- y cambiarían la actividad del fluoruro.

Un útil electrodo sólido-sólido está basado en una membrana de Ag_2S . Por sí mismo, este electrodo responde a los iones Ag^+ o S^{2-} en concentraciones tan bajas como $10^{-8} M$. Este límite inferior de detección es demasiado alto para ser causado por la solubilidad del Ag_2S ($K_{ps} = 10^{-51}$). Éste tal vez refleje las dificultades para preparar soluciones extremadamente diluidas, así como adsorción iónica sobre, y desorción iónica proveniente de las superficies de los electrodos y de los recipientes que contienen la solución. Esta membrana es un buen conductor iónico de baja resistencia, y mezclando el Ag_2S con otras sales de plata o de sulfuro (cuyas resistencias podrían ser altas), se volverá sensible a otros iones. Por ejemplo, una membrana mixta de $\text{AgI}/\text{Ag}_2\text{S}$ responderá al ion I^- , además de Ag^+ y S^{2-} . Una membrana mixta $\text{CuS}/\text{Ag}_2\text{S}$ responderá al Cu^{2+} , además de los otros iones de la membrana.

La principal restricción de estos electrodos de sales mixtas es que la solubilidad de la segunda sal debe ser mucho mayor que la del Ag_2S ; pero, por otro lado, debe ser suficientemente insoluble para que su disolución no limite a valores relativamente altos la concentración del ion de prueba que se puede detectar. Mientras la membrana contenga suficiente sulfuro de plata para dar vías conductoras de ion plata a través de la membrana,

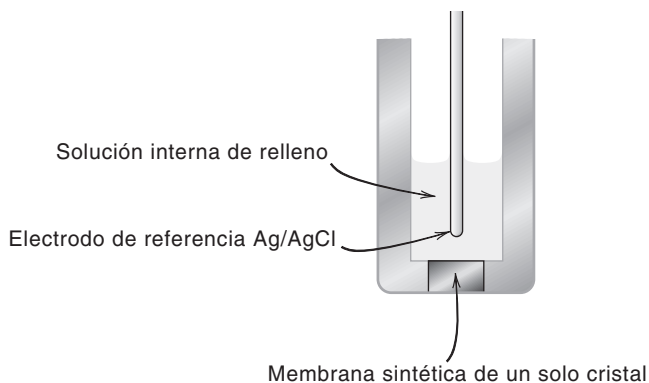


Figura 13.12. Electrodo de membrana de cristal. (Reproducción autorizada por Orion Research, Inc.)

funcionará como electrodo de plata. El potencial entonces está relacionado con el ion de prueba a través de una serie de equilibrios similares a los descritos para un electrodo metal-sal del metal; es decir, el ion Ag^+ disponible está regido por los equilibrios de solubilidad. Hay disponibles otros electrodos de cristales mixtos de Ag_2S para Cl^- , Br^- , SCN^- , CN^- , Pb^{2+} y Cd^{2+} . Estos electrodos, por supuesto, están sujetos a la interferencia de otros iones que reaccionan con Ag^+ (en el caso de los electrodos de aniones) o con el S^{2-} (en el caso de electrodos de cationes).

ELECTRODOS LÍQUIDO-LÍQUIDO

La construcción básica de estos electrodos se muestra en la figura 13.13. Aquí la “membrana” determinante del potencial es una capa de un líquido intercambiador de iones inmisible con el agua que se mantiene en su lugar mediante una membrana inerte porosa. La membrana porosa permite el contacto entre la solución de prueba y el intercambiador de iones, pero minimiza el mezclado. Puede ser una membrana sintética flexible o un vidrio poroso sinterizado, dependiendo del fabricante. La solución interna de relleno contiene el ion para el cual es específico el intercambiador de iones, además de un ion de haluro para el electrodo interno de referencia.

Un ejemplo de este electrodo es el electrodo selectivo al calcio. El intercambiador iónico es un compuesto organofosfórico de calcio. La sensibilidad del electrodo está regida por la solubilidad del intercambiador de iones en la solución de prueba. Se obtiene una respuesta nernstiana hasta para $5 \times 10^{-5} \text{ M}$. La selectividad de este electrodo es alrededor de 3 000 para calcio sobre sodio o potasio, 200 sobre magnesio y 70 sobre estroncio. Se puede usar en el intervalo de pH de 5.5 a 11. Arriba de pH 11 se precipita el hidróxido de calcio. No se debe usar amortiguador de fosfato para mediciones de calcio porque la actividad del calcio disminuiría por complejamiento o precipitación. La experiencia ha demostrado que estos y otros electrodos de membrana líquida con frecuencia están sujetos a envenenamiento, como en líquidos biológicos.

Hay disponible un electrodo de intercambio iónico de “catión divalente” que responde a varios cationes. Su respuesta es casi igual para el calcio y el magnesio, y es útil para medir la dureza del agua. También hay disponibles un electrodo de cobre y uno de plomo, así como electrodos de este tipo selectivos a aniones para nitrato, perclorato y cloruro. Son iguales en principio, salvo que se usa un intercambiador líquido de aniones en vez de un intercambiador de cationes.

La tabla 13.3 resume las características de algunos electrodos comerciales selectivos de iones.

ELECTRODOS DE MEMBRANA PLÁSTICA-IONÓFORO

Un tipo de electrodo muy versátil y relativamente fácil de preparar es uno en el que un **ionóforo** neutro lipofílico (que ama lo orgánico) que se compleja selectivamente con el ion de interés está disuelto en una membrana de plástico suave. El ionóforo debe ser lipo-

La solución de relleno para los ISE en general contiene una sal de cloruro del ion primario, como CaCl_2 , para un electrodo de Ca^{2+} , o KCl para un electrodo de K^+ . El cloruro establece el potencial del electrodo interno Ag/AgCl .

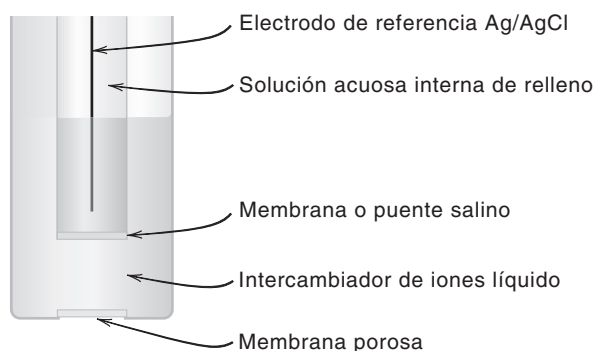


Figura 13.13. Electrodo de membrana líquida.

Tabla 13.3

Propiedades típicas de algunos electrodos comerciales selectivos de iones

Electrodo	Intervalo de concentración (<i>M</i>)	Interferencias principales ^a
Electrodos de intercambio iónico líquido-líquido		
Ca ²⁺	10 ⁰ -10 ⁻⁵	Zn ²⁺ (3); Fe ²⁺ (0.8); Pb ²⁺ (0.6); Mg ²⁺ (0.1); Na ⁺ (0.003)
Cl ⁻	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵	I ⁻ (17); NO ₃ ⁻ (4); Br ⁻ (2); HCO ₃ ⁻ (0.2); SO ₄ ²⁻ , F ⁻ (0.1)
Catión divalente	10 ⁰ -10 ⁻⁸	Fe ²⁺ , Zn ²⁺ (3.5); Cu ²⁺ (3.1); Ni ²⁺ (1.3); Ca ²⁺ , Mg ²⁺ (1); Ba ²⁺ (0.94); Sr ²⁺ (0.54); Na ⁺ (0.015)
BF ₄ ⁻	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵	NO ₃ ⁻ (0.1); Br ⁻ (0.04); OAc ⁻ , HCO ₃ ⁻ (0.004); Cl ⁻ (0.001)
NO ₃ ⁻	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵	ClO ₄ ⁻ (1000); I ⁻ (20); Br ⁻ (0.1); NO ₂ ⁻ (0.04); Cl ⁻ (0.004); CO ₃ ²⁻ (0.0002); F ⁻ (0.00006); SO ₄ ²⁻ (0.00003)
ClO ₄ ⁻	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵	I ⁻ (0.01); NO ₃ ⁻ , OH ⁻ (0.0015); Br ⁻ (0.0006); F ⁻ , Cl ⁻ (0.0002)
K ⁺	10 ⁰ -10 ⁻⁵	Cs ⁺ (1); NH ₄ ⁺ (0.03); H ⁺ (0.01); Na ⁺ (0.002); Ag ⁺ , Li ⁺ (0.001)
Electrodos de estado sólido ^b		
F ⁻	10 ⁰ -10 ⁻⁶	Nivel máximo: OH ⁻ < 0.1 F ⁻
Ag ⁺ o S ²⁻	10 ⁰ -10 ⁻⁷	Hg ²⁺ < 10 ⁻⁷ M

^a El número en paréntesis es la selectividad relativa del ion de interferencia sobre el ion de prueba (véase el Coeficiente de selectividad, más adelante).

^b Las concentraciones de interferencia dadas representan las concentraciones máximas tolerables.

fílico (opuesto a hidrofílico), de modo que no se lixivie de la membrana al exponerse a soluciones acuosas. La membrana plástica por lo regular está basada en cloruro de polivinilo (PVC), y consiste en aproximadamente 33% de PVC; alrededor de 65% de plastificante, como *o*-nitrofenil éter (*o*-NPOE); alrededor de 1.5% de ionóforo, y alrededor de 0.5% de tetrakis(*p*-clorofenil)borato de potasio (KT_pCIB) para aumentar la conductividad y minimizar la interferencia de aniones lipofílicos como el SCN⁻. El ion (ϕCl)₄B⁻ es en sí mismo lipofílico, y repele los aniones lipofílicos que de otra manera penetrarían la membrana y contrarrestarían la respuesta al ion metálico. Se prepara una solución de estos componentes en un disolvente como tetrahidrofurano (THF) y luego se vierte en una placa de vidrio para permitir que se evapore el THF. La membrana flexible que se genera se puede luego montar en el extremo del cuerpo de un electrodo.

Quizás el ejemplo más exitoso de este tipo de electrodo es el electrodo selectivo de ion potasio que incorpora el ionóforo valinomicina, la cual es un antibiótico natural con un anillo cíclico de poliéter que tiene una jaula de oxígenos en el anillo con el tamaño justo para complejar selectivamente al ion potasio. Su selectividad por el potasio es alrededor de 10⁴ veces la que tiene por el sodio.

Los ionóforos útiles para diversos iones metálicos, especialmente los iones alcalinos y los alcalino-térreos, son los **éteres corona**. Éstos son compuestos sintéticos de éter cíclico neutro que se pueden hacer a la medida para proporcionar jaulas del tamaño correcto para complejar en forma selectiva un ion dado. Por lo regular se agrega una cadena larga de hidrocarburo o un grupo fenilo para hacer que el compuesto sea lipofílico. Un ejemplo es el éter 14-corona-4 que se ilustra en la figura 13.14, que es selectivo para el ion litio en presencia de sodio. El número 4 se refiere al número de oxígenos en el anillo, y el 14 es el tamaño del anillo. Los compuestos 14-corona-4 tienen el tamaño de jaula adecuado para complejar al litio. La colocación de los grupos fenilo voluminosos en el compuesto provoca un impedimento estérico para la formación del complejo 2:1 éter corona:sodio y fomenta la selectividad hacia el litio (el complejo litio:corona es 1:1). El resultado es una selectividad de alrededor de 800 veces hacia el litio. Se han preparado electrodos basados en éter corona para sodio, potasio, calcio y otros iones, y se han sintetizado ionóforos basados en amida que complejan selectivamente ciertos iones. La figura 13.15 muestra algunos ionóforos que se han usado en electrodos basados en PVC.

Pederson recibió el Premio Nobel de 1987 por su trabajo pionero sobre los éteres corona. Véase <http://almaz.com/nobel/chemistry/1987c.html>.

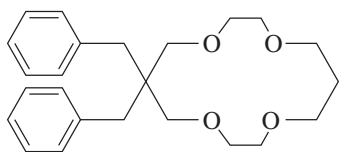


Figura 13.14. Éter 14-corona-4 que se enlaza selectivamente con el ion litio.

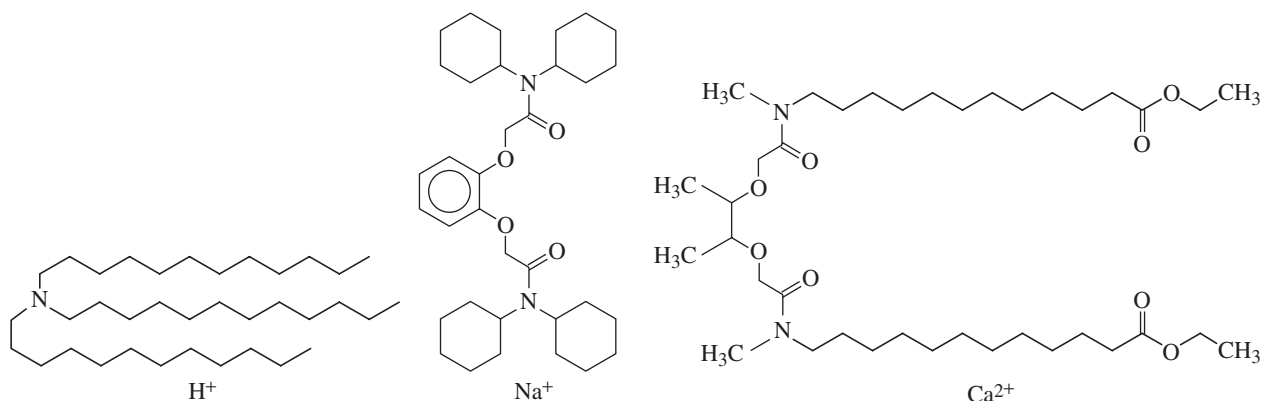


Figura 13.15. Ionóforos para H^+ , Na^+ y Ca^{2+} .

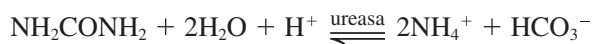
ELECTRODOS DE ALAMBRE RECUBIERTO

Cattrall y Freiser dieron a conocer que se podrían preparar electrodos selectivos de iones simplemente recubriendo un alambre con las membranas de PVC anteriormente descritas para hacer contacto eléctrico [véase *Anal. Chem.*, **43** (1971) 1905]. Aunque termodinámicamente el alambre de contacto debe estar potenciométricamente bien equilibrado (por ejemplo, un electrodo de metal-sal metálica), los electrodos hechos a base de metal puro funcionan de manera satisfactoria (por ejemplo, los de Pt, Cu, Ag). Estos electrodos son muy convenientes de preparar y de usar. Se deposita un recubrimiento de una solución en THF de los ingredientes de la membrana, y se deja que se evapore el disolvente.

ELECTRODOS POTENCIOMÉTRICOS BASADOS EN ENZIMAS PARA MEDICIÓN DE SUSTRATOS

Los electrodos selectivos de iones que se usan en combinación con enzimas inmovilizadas pueden servir como base de electrodos que son selectivos hacia sustratos específicos de enzimas. Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones específicas hasta un alto grado de especificidad. Los reactivos son los sustratos. Las enzimas y sus propiedades se discuten con mayor detalle en el capítulo 24.

Considérese la hidrólisis del sustrato urea en presencia de la enzima ureasa:



Un electrodo de urea se puede preparar inmovilizando ureasa en un gel y recubriendo con éste la superficie de un electrodo de vidrio del tipo sensible a cationes (que responda a cationes monovalentes). Cuando el electrodo se sumerge en una solución que contiene urea, ésta se difunde en la capa de gel, y la enzima cataliza su hidrólisis para formar iones amonio. Estos iones se difunden a la superficie del electrodo donde el vidrio sensible a cationes los detecta para dar una lectura de potencial. Después de unos 30 a 60 s, se alcanza una lectura de estado estacionario que, dentro de cierto intervalo de trabajo, es una función lineal del logaritmo de la concentración de la urea. Mediante la selección adecuada de la enzima inmovilizada y del electrodo se han descrito otros diversos electrodos de la enzima selectivos de sustrato.

Los electrodos de “enzimas” llevan incorporadas enzimas para medir a sus sustratos.

MECANISMO DE RESPUESTA DE MEMBRANA

Los mecanismos de la respuesta de membrana de electrodos selectivos no se han estudiado tan extensamente como el del electrodo de vidrio para pH, y menos se sabe aún acerca de cómo se determinan sus potenciales. Sin duda, hay una similitud entre los mecanismos.

La membrana activa por lo general contiene el ion que es importante unido selectivamente a un reactivo en la membrana, ya sea como precipitado o como complejo. De otra manera, el electrodo se debe equilibrar en la solución del ion de prueba, en cuyo caso el ion también se une de manera selectiva al reactivo de la membrana. Esto puede compararse con los sitios $\text{—SiO}^-\text{H}^+$ sobre el electrodo de vidrio para pH. Cuando el electrodo selectivo de iones se sumerge en una solución del ion de prueba, se establece un potencial de borde en la interfase entre la membrana y la solución externa. El mecanismo posible nuevamente se debe a la tendencia de los iones a migrar en el sentido de la menor actividad para producir un potencial del tipo unión líquida. Los iones positivos darán por resultado una carga positiva y un cambio en el potencial en la dirección positiva, en tanto que los iones negativos darán por resultado una carga negativa y un cambio en el potencial en la dirección negativa.

Entonces, el secreto para construir electrodos selectivos de iones se limita a encontrar un material con sitios que muestren fuerte afinidad por el ion de interés. Así, el electrodo de intercambio iónico líquido de calcio muestra alta selectividad por el calcio sobre los iones magnesio y sodio, porque el intercambiador orgánico de iones fosfato (en su forma de calcio) tiene alta afinidad química hacia los iones calcio. El equilibrio de intercambio iónico en la interfase membrana-solución participan los iones calcio, y el potencial depende de la relación de la actividad de los iones calcio en la solución externa con la del ion calcio en la fase de membrana.

COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD

El potencial de un electrodo selectivo de iones en presencia de un solo ion obedece a una ecuación similar a la 13.38 para el electrodo de membrana de vidrio para pH:

No olvidar el signo de z .

$$E_{\text{ISE}} = k + \frac{S}{z} \log a_{\text{ion}} \quad (13.44)$$

donde S representa la pendiente (teóricamente, $2.303RT/F$) y z es la carga del ion, *incluyendo el signo*. A menudo la pendiente es menor que lo nernstiano, pero para electrodos de ion monovalente por lo regular es cercana. La constante k depende de la naturaleza del electrodo interno de referencia, la solución de relleno y la construcción de la membrana. Se determina midiendo el potencial de una solución del ion de actividad conocida.



Ejemplo 13.6

Se usa un electrodo de fluoruro para determinar fluoruro en una muestra de agua. Los estándares y las muestras se diluyen 1:10 con una solución TISAB. Para un estándar $1.00 \times 10^{-3} M$ (antes de la dilución), la lectura de potencial relativa al electrodo de referencia es de -211.3 mV , y para un estándar $4.00 \times 10^{-3} M$ es de -238.6 mV . La lectura con la incógnita es -226.5 mV . ¿Cuál es la concentración de fluoruro en la muestra?

Solución

Como la fuerza iónica permanece constante debido a la dilución con la solución de ajuste de fuerza iónica, la respuesta es proporcional a $\log[\text{F}^-]$:

$$E = k + \frac{S}{z} \log[\text{F}^-] = k - S \log[\text{F}^-]$$

donde z es -1 . Primero se calcula S :

$$-211.3 = k - S \log(1.00 \times 10^{-3}) \quad (1)$$

$$-238.6 = k - S \log(4.00 \times 10^{-3}) \quad (2)$$

Réstese (2) de (1):

$$27.3 = S \log(4.00 \times 10^{-3}) - S \log(1.00 \times 10^{-3}) = S \log \frac{4.00 \times 10^{-3}}{1.00 \times 10^{-3}}$$

$$27.3 = S \log 4.00$$

$$S = 45.3 \text{ mV (algo subnormal)}$$

Calcular k :

$$-211.3 = k - 45.3 \log(1.00 \times 10^{-3})$$

$$k = -347.2 \text{ mV}$$

Para la incógnita:

$$-226.5 = -347.2 - 45.3 \log[F^-]$$

$$[F^-] = 2.16 \times 10^{-3} M$$

Si el electrodo está en una solución que contiene una mezcla de cationes (o aniones, si es un electrodo sensible a aniones), puede responder a los otros cationes. Supóngase, por ejemplo, que se tiene una mezcla de iones sodio y potasio y un electrodo que responde a ambos. La ecuación de Nernst debe incluir un término aditivo para la actividad del potasio:

$$E_{\text{NaK}} = k_{\text{Na}} + S \log(a_{\text{Na}^+} + K_{\text{NaK}} a_{\text{K}^+}) \quad (13.45)$$

Ningún electrodo es por completo específico. Idealmente, el producto $K_{\text{NaK}} a_{\text{K}^+}$ se puede mantener despreciable en comparación con a_{Na^+} .

La constante k_{Na} corresponde a la de la ecuación de Nernst para el ion primario, sodio, únicamente. E_{NaK} es el potencial del electrodo en una mezcla de sodio y potasio. K_{NaK} es el **coeficiente de selectividad** del electrodo para *potasio sobre sodio*. Es igual al valor recíproco de K_{KNa} , que es el coeficiente de selectividad de *sodio sobre potasio*. Obviamente, se desea que K_{NaK} sea pequeño o, de otra manera, que el producto $a_{\text{K}^+} K_{\text{NaK}}$ sea pequeño.

$$K_{\text{NaK}} = 1/K_{\text{KNa}}$$

K_{NaK} y k_{Na} se determinan midiendo el potencial de dos diferentes soluciones estándar que contienen sodio y potasio, y luego resolviendo las dos ecuaciones simultáneamente para obtener las dos constantes. En forma alternativa, una de las soluciones puede contener sólo sodio, y k_{Na} se determina a partir de la ecuación 13.44.

Se puede escribir una ecuación general, llamada la ecuación de *Nicolsky*, para mezclas de dos iones de diferentes cargas.

$$E_{\text{AB}} = k_{\text{A}} + \frac{S}{z_{\text{A}}} \log(a_{\text{A}} + K_{\text{AB}} a_{\text{B}}^{z_{\text{A}}/z_{\text{B}}}) \quad (13.46)$$

donde z_{A} es la carga en el ion A (el ion primario), y z_{B} es la carga en el ion B. Así, las mediciones de sodio en presencia de calcio usando un electrodo de ion sodio seguirían la expresión:

$$E_{\text{NaCa}} = k_{\text{Na}} + S \log(a_{\text{Na}^+} + K_{\text{NaCa}} a_{\text{Ca}^{2+}}^{1/2}) \quad (13.47)$$

Como todos los electrodos responden en mayor o en menor medida a los iones hidrógeno, la estrategia consiste en mantener suficientemente baja la actividad de los iones hidrógeno para que el producto $K_{\text{AH}} a_{\text{H}^+}^{z_{\text{A}}}$ en la ecuación de Nicolsky sea despreciable.

$K_{\text{NaH}} a_{\text{H}^+}$ en comparación con a_{Na^+} , determina el límite inferior de pH del electrodo.

Los coeficientes de selectividad por lo general no son suficientemente constantes para usarse en cálculos cuantitativos.

Se debe mencionar un problema con los coeficientes de selectividad. A menudo varían con las concentraciones relativas de iones y no son constantes. Por estas razones, es difícil usarlos en cálculos en los que participan mezclas de iones. Son útiles para predecir las condiciones en las que se pueden despreciar los iones que interfieren; es decir, en la práctica, las condiciones se ajustan en general de tal manera que el producto $K_{AB} a_B^{z_A/z_B}$ sea despreciable y una simple ecuación de Nernst opera para el ion de prueba. Por lo regular se prepara una curva de calibración, y si está presente un ion que interfiere, éste se puede agregar a los estándares a las mismas concentraciones como en las incógnitas; el resultado será una curva de calibración no lineal pero corregida. Esta técnica obviamente sólo se puede usar si la concentración del ion que interfiere permanece casi constante en las muestras.

Un ejemplo de cómo se podría usar el coeficiente de selectividad en un cálculo se da en el siguiente ejemplo.



Ejemplo 13.7

Un electrodo sensible a cationes se usa para determinar la actividad de calcio en presencia de sodio. El potencial del electrodo en CaCl_2 0.0100 *M*, medido contra un electrodo saturado de calomel, es +195.5 mV. En una solución que contiene CaCl_2 0.0100 *M* y NaCl 0.0100 *M*, el potencial es 201.8 mV. ¿Cuál es la actividad del ion calcio en una solución desconocida si el potencial del electrodo en ésta es 215.6 mV contra electrodo saturado de calomel y la actividad del ion sodio se ha determinado con un electrodo selectivo de ion sodio en 0.0120 *M*? Supóngase una respuesta nernstiana.

Solución

La fuerza iónica del CaCl_2 0.0100 *M* es 0.0300, y la de la mezcla es 0.0400. Por tanto, de la ecuación 6.20, el coeficiente de actividad del ion calcio en la solución de CaCl_2 puro es 0.55, y para los iones calcio y sodio en la mezcla son 0.51 y 0.83, respectivamente. Por tanto,

$$\begin{aligned} k_{\text{Ca}} &= E_{\text{Ca}} - 29.58 \log a_{\text{Ca}^{2+}} \\ &= 195.5 - 29.58 \log(0.55 \times 0.0100) \\ &= 262.3 \text{ mV} \\ E_{\text{CaNa}} &= k_{\text{Ca}} + 29.58 \log(a_{\text{Ca}^{2+}} + K_{\text{CaNa}} a_{\text{Na}^+}^2) \\ 201.8 &= 262.3 + 29.58 \log[0.51 \times 0.0100 + K_{\text{CaNa}}(0.83 \times 0.0100)^2] \\ K_{\text{CaNa}} &= 47 \\ 215.6 &= 262.3 + 29.58 \log(a_{\text{Ca}^{2+}} + 47 \times 0.0120^2) \\ a_{\text{Ca}^{2+}} &= 0.0196 \text{ M} \end{aligned}$$

Obsérvese que si el coeficiente de selectividad para Ca^{2+} no es muy bueno (¡el electrodo es un mejor detector de sodio!), la contribución del sodio (0.0068) en la mezcla es sólo alrededor de 0.3 la del calcio (0.0196), debido al término cuadrado para el sodio.

MÉTODOS EXPERIMENTALES PARA DETERMINAR COEFICIENTES DE SELECTIVIDAD

Las explicaciones que anteceden ilustran la aplicación ideal de la ecuación de Nicolsky. Como se mencionó, los coeficientes de selectividad pueden no ser realmente constantes, y los valores determinados dependerán del método de evaluación. Por lo general se usa

una de dos aproximaciones, el **método de soluciones separadas** y el **método de soluciones mixtas**. Una variación empírica del último es el método de potenciales igualados. Estos métodos se comentarán brevemente.

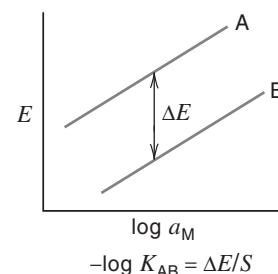
1. Método de soluciones separadas. En este método se preparan curvas de calibración para cada ion que se está probando. Los resultados debieran mostrar curvas paralelas, con los potenciales para el ion primario (si es un catión) más positivos. La proporción de selectividad se puede relacionar con la diferencia en el potencial entre las dos curvas (véase el problema 21). Para dos iones monovalentes:

$$-\log K_{AB} = \frac{E_A - E_B}{S} \quad (13.48)$$

donde E_A y E_B corresponden a los potenciales a una concentración fija de los dos iones, y será idealmente la diferencia de potencial entre dos curvas paralelas. Obviamente, cuanto más selectivo sea el electrodo para el ion A, mayor será la diferencia de potencial (menor será el potencial para el ion B).

2. Método de soluciones mixtas. Hay varios métodos de medición que usan soluciones mixtas de los dos iones. Comúnmente se usa el *método de interferencia fija*. Considérese, por ejemplo, la prueba de un electrodo selectivo de ion litio en presencia de ion sodio. Se prepara una curva de calibración de litio en presencia de una concentración fija de sodio, por ejemplo 140 mM, como se encuentra en la sangre. Se obtiene una gráfica como la que se representa en la figura 13.16. En la parte superior de la curva, el electrodo responde de manera nernstiana al ion litio; conforme disminuye la concentración de litio, el potencial del electrodo se afecta de manera creciente por la presencia de fondo constante de los iones sodio, y en la parte inferior de la curva el electrodo exhibe una respuesta mixta, tanto al litio como al sodio. Cuando la concentración de litio es muy pequeña, la respuesta se debe sólo al sodio (el potencial fundamental).

Se pueden emplear dos métodos para estimar la relación de selectividad con base en esta curva. El primero se basa en encontrar gráficamente el punto en el que el electrodo responde por igual a ambos iones. Éste corresponde a la actividad de A de la porción lineal extrapolada de la curva a la cual el potencial es igual al potencial básico debido a B (ésta es la concentración de A que daría ese potencial si no estuviera B presente, es decir, si la



Véase el problema 21 para una deducción de la ecuación correspondiente.

Los métodos de soluciones mixtas representan mejor las condiciones de las muestras reales.

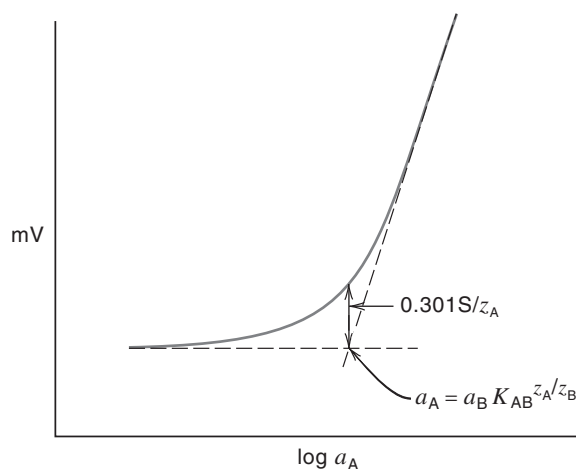


Figura 13.16. Curva de calibración con interferencia fija.

curva sigue la ecuación de Nernst para A). Como en ese punto cada ion contribuye por igual al potencial, se puede escribir (a partir de la ecuación 13.46)

$$a_A = K_{AB} a_B^{z_A/z_B} \quad (13.49)$$

o

$$K_{AB} = \frac{a_A}{a_B^{z_A/z_B}} \quad (13.50)$$

donde a_B es la concentración fija del ion secundario y a_A es la actividad de A en la intersección. Por ejemplo, si la concentración de litio fuese 1.0 mM en este punto, en presencia de sodio 150 mM, K_{LiNa} sería $1.00/150 = 6.7 \times 10^{-3}$, y el electrodo es 150 veces más selectivo hacia el ion litio.

Un segundo método se basa en el punto teórico de contribuciones iguales de cada ion al potencial. La porción lineal de la curva superior, que se extrapola, está representada en este punto por la ecuación 13.44, es decir

$$E_A = k_A + \frac{S}{z_A} \log 2a_A \quad (13.51)$$

La parte no lineal de la curva está expresada a partir de la ecuación 13.46. Cuando ambos iones contribuyen por igual al potencial, $a_A = K_{AB} a_B^{z_A/z_B}$, y la ecuación 13.46 se vuelve

$$\begin{aligned} E_{AB} &= k_A + \frac{S}{z_A} \log 2a_A \\ &= k_A + \frac{S}{z_A} \log a_A + \frac{0.301S}{z_A} \end{aligned} \quad (13.52)$$

Para una pendiente nernstiana a 25°C,

$$E_{AB} = k_A + \frac{S}{z_A} \log a_A + \frac{17.8}{z_A} \text{ mV} \quad (13.53)$$

La a_A a la cual la línea teórica se desvía de la línea experimental por 17.8 mV (para $z_A = 1$), o por 8.9 mV (para $z_A = 2$), da la misma respuesta que el fondo a_B . Entonces, $K_{AB} = a_A/a_B^{z_A/z_B}$.

La ecuación 13.52 implica que la actividad de A que da la misma respuesta que la de base B se puede encontrar gráficamente a partir del punto al cual la línea extrapolada y la línea experimental difieren en $0.301 S/z_A$ mV, esto es, $17.8/z_A$ mV. Para un electrodo de ion monovalente, esto es 17.8 mV para una respuesta nernstiana. Entonces, la ecuación 13.50 opera de nuevo.

Aunque estos dos métodos de cálculo rara vez dan valores idénticos de la relación de selectividad, el principio del cálculo es el mismo, y los valores calculados son comparables.

3. Método de potenciales igualados. Ésta es una variación estrictamente empírica del método de interferencia fija. Los valores numéricos de los coeficientes de selectividad pueden variar con las condiciones de la solución; por ejemplo, las concentraciones relativas de los iones. El método de potenciales igualados permite al analista obtener un valor empírico bajo las condiciones experimentales del análisis. Supóngase que se desea conocer

la interferencia relativa del ion sodio en la sangre en la medición de ion litio (aproximadamente 1 mM) en el suero de un paciente bipolar (maníaco depresivo) que toma Li_2CO_3 . Se establece un potencial de referencia para sodio 140 mM (la concentración en el suero). Entonces, se mide el potencial de una solución 140 mM de cloruro de sodio que contiene ion litio 1 mM. El incremento en el potencial se debe al litio. Por último, se miden concentraciones crecientes de soluciones de cloruro de sodio para establecer qué concentración adicional de sodio corresponde a la respuesta de litio 1 mM. La relación de Li^+ (1 mM) al Na^+ incrementado da el coeficiente empírico de selectividad. Si, por ejemplo, Na^+ 240 mM (un aumento de 100 mM) da la misma respuesta, entonces el coeficiente de selectividad es 1.0×10^{-2} (100 veces más selectivo al litio).³ Consúltense las referencias 16 a 18 para mayores detalles.

El método de los potenciales igualados fue recomendado como el método preferido por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (referencia 17). Horvai examinó el procedimiento en mayor detalle para su aplicación a todos los sensores (referencia 18).

Este método empírico da respuestas relativas para iones bajo las condiciones de la solución analítica. La carga de los iones no se considera.

¿QUÉ TAN VÁLIDA ES LA ECUACIÓN DE NICOLSKY?

Se mencionó que los coeficientes de selectividad determinados usando la ecuación de Nicolsky varían a menudo, dependiendo de las concentraciones relativas y de las condiciones de medición, y que la ecuación no se aplica si la respuesta es no nernstiana (como es a menudo el caso con los iones secundarios). El método de potenciales igualados es un intento para manejar esta situación. Bakker y colaboradores introdujeron una nueva formulación que proporciona una clara interpretación del método de potenciales igualados, deduciendo elegantemente una ecuación basada en el intercambio iónico en la que el último término de la ecuación 13.49 se convierte en $k_{AB}^{\text{Psel}} a_B$, donde k_{AB}^{Psel} se define como el *factor de selectividad* (ver la referencia 19). Obsérvese que la carga en el ion secundario relativa al ion primario no se toma en cuenta. Estos autores señalan que, como para iones de carga diferente las pendientes de las curvas de calibración son diferentes, los valores del factor de selectividad (y en consecuencia los valores igualados de potencial) no son constantes, y las comparaciones son difíciles, a menos que se conozcan las condiciones experimentales exactas. Por esta razón, todavía se pueden preferir los coeficientes de Nicolsky. Los autores también deducen una fórmula para calcular los valores requeridos de K_{AB} para muestras objetivo dadas que contienen a_A y a_B para un error máximo tolerable, p_{AB} , en porcentaje, que es válido mientras P_{AB} sea menor a casi 10%:

$$K_{AB} = a_A/a_B^{z_A/z_B} (p_{AB}/100)^{z_A/z_B} \quad (13.54)$$

Esta ecuación se puede usar para evaluar la viabilidad de una medición específica con un electrodo ion-selectivo dado.

Un problema para evaluar los coeficientes reales de selectividad para los ISE basados en un acarreador neutro es que, aunque un electrodo puede mostrar respuesta nernstiana a un ion secundario, una vez que ha sido expuesto a una solución del ion primario pierde dicha respuesta nernstiana hacia ion secundario. Así, Bakker desarrolló un procedimiento para determinar coeficientes no sesgados de selectividad para electrodos recién preparados haciendo primero mediciones con el ion secundario antes de exponer el electrodo al ion primario (véase las referencias 20 y 21). De esta manera, se pueden obtener datos sobre cuáles ionóforos son realmente los más selectivos para el ion primario. Véase la referencia 22 para una revisión de la selectividad de los electrodos selectivos de iones. Para una excelente revisión de electrodos basados en ionóforos, véase la referencia 14 de Bakker *et al.* (una amplia revisión de 50 páginas).

³ Ver V. P. Y. Gadzekpo y G. D. Christian, *Anal. Chim. Acta*, **164** (1984) 279 para más detalles.

¿QUÉ TAN SENSIBLES SON LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES?

Los límites de detección para electrodos selectivos de iones se toman a menudo como la actividad o la concentración donde la curva de respuesta lineal extrapolada intersecta la parte horizontal, como en la figura 13.16. Los límites de detección por lo regular son del orden de 10^{-5} a $10^{-6} M$. Los electrodos selectivos de iones en general tienen una concentración francamente alta de una sal del ion primario (el que se está midiendo) adicional a la solución interna para mantener un potencial estable en la membrana. Un ejemplo es CaCl_2 10 mM en una solución interna de un ISE de calcio. Bakker y colaboradores formularon la hipótesis de que este ion primario interno fluye a través de la membrana de detección hacia el lado de la solución de analito y contamina la delgada capa de la solución de la muestra en contacto con la superficie de la membrana. Este escape da por resultado concentraciones micromolares en la superficie de la membrana. Como los electrodos responden a las actividades del borde de las fases, esto limita a ese intervalo la concentración de analito que se puede detectar. Asimismo, demostraron que disminuyendo los electrólitos internos a niveles micromolares, los límites de detección se podían disminuir 100 veces o más, hasta el intervalo de 10 nM. Ver las referencias 23 y 24.

Pretsch y colaboradores, en Suiza, pudieron abatir la detección todavía más, estableciendo también un proceso de intercambio iónico en la membrana que evita por completo que el ion primario fluya hacia afuera. Hacen esto agregando una concentración relativamente alta de otra sal en la solución interna, por ejemplo NaCl para el electrodo de calcio. Esto crea un gradiente de concentración que origina que los iones calcio se difundan hacia adentro de la membrana, de modo que ninguno se difunde hacia afuera. De esta manera pudieron obtener límites de detección en el intervalo picomolar ($\sim 10^{-12} M$!). Véase la referencia 25. Un límite práctico es que, si el flujo inducido de iones primarios hacia la solución interna es demasiado rápido, puede haber agotamiento del ion primario en la superficie de la membrana del lado del analito, provocando un error negativo. Bakker y Pretsch han colaborado para entender los mecanismos y desarrollar sistemas estables y robustos que no exhiben sesgo. Véase, por ejemplo, las referencias 26 y 27.

MEDICIÓN CON ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

Los electrodos selectivos de iones están sujetos a las mismas limitaciones de exactitud que los electrodos de pH. Para $z_A = 2$, los errores por milivoltio se duplican.

Los electrodos selectivos de iones miden sólo el ion *libre*.

Como con los electrodos de pH, la mayoría de los electrodos selectivos de iones tienen alta resistencia, y se debe usar un electrómetro o medidor de pH para hacer las mediciones. Por lo general se usa un medidor de pH con escala expandida. Con frecuencia es necesario pretratar los electrodos selectivos de iones sumergiéndolos en una solución del ion que se va a determinar.

Los problemas y las limitaciones de exactitud que se explicaron bajo pH y otras mediciones potenciométricas directas se aplican a los electrodos selectivos de iones.

En general se prepara una curva de calibración de potencial contra logaritmo de la actividad. Si se van a medir concentraciones, entonces se usa la técnica de mantener una fuerza iónica constante, como se describió antes (ecuación 13.34). Por ejemplo, la concentración de calcio no combinado en suero se determina diluyendo muestras y estándares con NaCl 0.15 M. Sólo se mide el calcio *no combinado*, y no la fracción que se encuentra complejada.

El coeficiente de actividad del ion sodio en suero humano normal se ha estimado usando electrodos selectivos de iones, en 0.780 ± 0.001 , y en el agua de suero 0.747 (el suero contiene alrededor de 96% de agua por volumen). Por lo regular se utilizan soluciones estándar de cloruro de sodio y cloruro de potasio para calibrar los electrodos para la determinación de sodio y potasio en el suero. Se pueden preparar concentraciones de 1.0, 10.0 y 100.0 mmol/L con actividades respectivas de 0.965, 9.03 y 77.8 mmol/L para ion sodio en solución de cloruro de sodio puro, y 0.965, 9.02 y 77.0 mmol/L para ion potasio en solución de cloruro de potasio puro.

La respuesta de los electrodos selectivos de iones con frecuencia es lenta, y se debe tomar un tiempo considerable para establecer una lectura de equilibrio. La respuesta se vuelve más lenta al disminuir la concentración. Por otro lado, algunos electrodos responden con suficiente rapidez como para usarlos para monitorear la rapidez de reacción.

Se pueden resumir algunas de las ventajas y desventajas de los electrodos selectivos de iones, y algunas precauciones y limitaciones en su uso, como sigue:

1. Miden actividades más que concentraciones, ventaja única aunque un factor que se debe considerar al obtener las concentraciones a partir de las mediciones. Puede haber interferencia por efectos de la fuerza iónica.
2. Miden iones “libres” (es decir, la porción que no está asociada con otras especies). La interferencia química puede ocurrir por complejamiento, protonación y otras.
3. No son específicos sino simplemente más selectivos hacia un ion particular. Por tanto, están sujetos a interferencia de otros iones. Responden a los iones hidrógeno, y por tanto se encuentran limitados por el pH.
4. Funcionan en soluciones turbias o coloridas donde fallan los métodos fotométricos.
5. Tienen una respuesta logarítmica, lo cual da un amplio intervalo dinámico de trabajo, por lo general de cuatro a seis órdenes de magnitud. Esta respuesta logarítmica también da como resultado un error constante en esencia, si bien relativamente grande, dentro del intervalo de trabajo en el que es válida la relación de Nernst.
6. Salvo en solución diluida, su respuesta es bastante rápida, y a menudo necesita menos de 1 min para la medición. La respuesta del electrodo con frecuencia es lo suficientemente rápida como para permitir el proceso de monitoreo de una corriente.
7. La respuesta depende de la temperatura por RT/nF .
8. El equipo de medición necesario se puede hacer portátil para operaciones de campo, y se pueden medir pequeñas muestras (por ejemplo, de 1 mL).
9. La muestra no se destruye en la medición.
10. Aunque ciertos electrodos pueden operar con concentraciones tan bajas como $10^{-6} M$, muchos no pueden, y los electrodos no son herramientas ultrasensibles como algunas otras técnicas que pueden alcanzar sensibilidades de $10^{-9} M$ o menores.
11. Por lo general se necesita una calibración frecuente.
12. Hay disponibles pocos estándares primarios de actividad, como hay para mediciones de pH,⁴ y las soluciones estándar que se usan no están “amortiguadas” en el ion que se está midiendo. Las impurezas, especialmente en estándares diluidos, pueden ocasionar resultados erróneos.

La respuesta logarítmica de los electrodos potenciométricos da un amplio intervalo dinámico, pero a cierto costo de la precisión.

A pesar de algunas limitaciones, los electrodos selectivos de iones se han vuelto importantes porque representan una aproximación al sueño del químico analítico de una sonda que sea específica para la sustancia de prueba, y por tanto que esencialmente no necesite preparación de la muestra para fluidos.

⁴ Hay disponibles estándares de actividad similares a los estándares para pH en el National Institute of Standards and Technology para algunas sales, como el cloruro de sodio.

13.18 Electrodos ISFET de estado sólido

Se pueden preparar pequeños sensores químicos de estado sólido usando semiconductores como base para el contacto eléctrico. Tales sensores se denominan transistores selectivos de iones de efecto de campo (ISFET, *ion-selective field-effect transistors*). El transistor está recubierto con una capa aislante de SiO_2 más una capa de Si_3N_4 , que mejora la estabilidad eléctrica y da una capa que es impermeable a los iones en la solución de muestra. La capa está recubierta con una membrana detectora de iones, por ejemplo, de PVC. Un potencial aplicado al transistor hace que fluya una pequeña corriente, y ésta varía conforme cambia el potencial de la membrana detectora de iones. El voltaje aplicado se varía para devolver la corriente a su valor original, y este cambio representa la respuesta potenciométrica del ion del analito.

En la figura 13.17 se muestra un electrodo ISFET para pH. El electrodo de referencia y el sensor de temperatura están incorporados en la pequeña sonda. Para información sobre ISFET de pH, ver www.phmeters.com (IQ Scientific Instruments, Inc.), www.sentronph.com (Sentron, Inc.) y www.servonics.com/Jenco.htm (Jenco Instruments, Inc.).

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Tipos de electrodos y potenciales de electrodo a partir de la ecuación de Nernst (ecuaciones clave: 13.3, 13.10, 13.16), p. 369
- Uniones líquidas y potenciales de unión, p. 375
- Electrodos de referencia, p. 378
- Exactitud de las mediciones potenciométricas (ecuación clave: 13.36), p. 383
- El electrodo de vidrio para pH (ecuación clave: 13.42), p. 384
- Amortiguadores estándar y precisión de las mediciones de pH, pp. 389, 391
- El medidor de pH, p. 391
- Electrodos selectivos de iones, p. 395
- El coeficiente de selectividad (ecuación clave: 13.46), p. 400

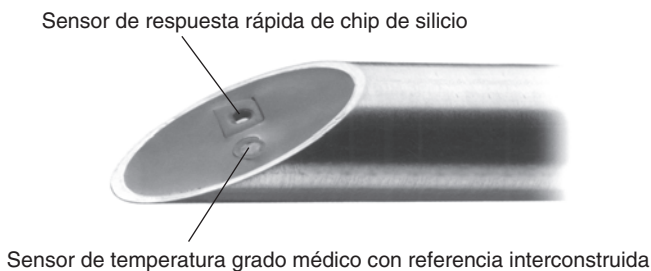


Figura 13.17. Electrodo ISFET de estado sólido. (Cortesía de IQ Scientific Instruments, Inc.)



Preguntas

1. ¿Qué es el potencial de unión líquida? ¿El potencial residual de unión líquida? ¿Cómo se pueden minimizar?
2. Comentar el mecanismo de la respuesta del electrodo de membrana de vidrio para mediciones de pH.
3. ¿Qué es el error alcalino y el error ácido en un electrodo de membrana de vidrio para pH?
4. Describir los diferentes tipos de electrodos selectivos de iones. Incluir en su exposición la construcción de los electrodos, las diferencias en las membranas y su utilidad.
5. ¿Qué es el coeficiente de selectividad? Explicar su importancia y cómo determinaría su valor.
6. ¿Qué es un éter corona? ¿Qué representaría un éter 16-corona-6?
7. ¿Cuál es la ecuación de Nicolsky?

Problemas

POTENCIALES ESTÁNDAR

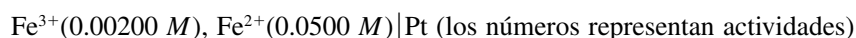
8. El potencial estándar del electrodo plata/bromuro de plata es 0.073 V. Calcular el producto de solubilidad del bromuro de plata.
9. Una muestra de tiocianato se titula con solución de plata. El potencial en el punto final es de 0.202 V contra electrodo saturado de calomel. Calcular el potencial estándar para $\text{Ag}^+ + \text{e}^- = \text{Ag}$. El K_{ps} para el tiocianato de plata es 1.00×10^{-12} .

CELDA VOLTAICAS

10. Para cada una de las siguientes reacciones: 1) separar la reacción en sus semirreacciones componentes; 2) escribir una representación esquemática de una celda en la que ocurriría la reacción en el sentido en que está escrita; 3) calcular el potencial estándar de la celda; 4) asignar la polaridad de cada electrodo bajo las condiciones en que ocurriría la reacción, tal y como está escrita.
 - a) $\text{Ag} + \text{Fe}^{3+} = \text{Ag}^+ + \text{Fe}^{2+}$
 - b) $\text{VO}_2^+ + \text{V}^{3+} = 2\text{VO}^{2+}$
 - c) $\text{Ce}^{4+} + \text{Fe}^{2+} = \text{Ce}^{3+} + \text{Fe}^{3+}$
11. Para las siguientes celdas, escribir las semirreacciones que ocurren en cada electrodo y la reacción de la celda completa. Calcular, además, el potencial de la celda:
 - a) $\text{Pt}, \text{H}_2(0.2 \text{ atm}) | \text{HCl}(0.5 \text{ M}) | \text{Cl}_2(0.2 \text{ atm}), \text{Pt}$
 - b) $\text{Pt} | \text{Fe}^{2+}(0.005 \text{ M}), \text{Fe}^{3+}(0.05 \text{ M}), \text{HClO}_4(0.1 \text{ M}) || \text{HClO}_4(0.1 \text{ M}), \text{VO}_2^+(0.001 \text{ M}), \text{VO}^{2+}(0.002 \text{ M}) | \text{Pt}$

MEDICIONES POTENCIOMÉTRICAS REDOX

12. ¿Cuáles serían los potenciales de las siguientes semiceldas en condiciones estándar contra un electrodo saturado de calomel? a) $\text{Pt}/\text{Br}_2(\text{ac}), \text{Br}^-$; b) $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$; c) $\text{Pt}/\text{V}^{3+}, \text{V}^{2+}$.
13. ¿Cuál sería el potencial observado si se conectasen las siguientes medias celdas con un electrodo saturado de calomel?



14. Una solución de 50 mL que es 0.10 *M* en iones cloruro y yoduro se titula con nitrato de plata 0.10 *M*. *a*) Calcular el porcentaje de yodo que queda sin precipitar cuando comienza a precipitar el cloruro de plata. *b*) Calcular el potencial de un electrodo de plata contra el electrodo saturado de calomel cuando comienza a precipitar el cloruro de plata, y comparar esto con el potencial teórico correspondiente al punto final para la titulación de yoduro. *c*) Calcular el potencial en el punto final para el cloruro. Usar concentraciones en los cálculos.
15. El potencial del electrodo Hg|Hg-EDTA, N-EDTA, N^{n+} es una función del metal en N^{n+} , y se puede mostrar como

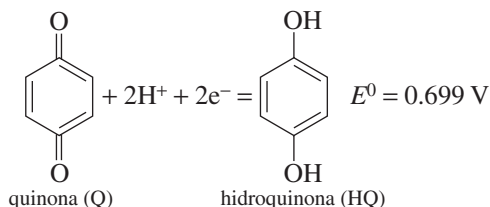
$$E = E_{\text{Hg}^{2+}, \text{Hg}}^0 - \frac{2.303RT}{2F} \log \frac{K_{f(\text{HgEDTA})}}{K_{f(\text{NEDTA})}} - \frac{2.303RT}{2F} \log \frac{a_{\text{NEDTA}}}{a_{\text{HgEDTA}}} - \frac{2.303RT}{2F} \log \frac{1}{a_{N^{n+}}}$$

La estabilidad de N-EDTA debe ser menor que la de Hg-EDTA (un quelato muy estable; $K_{f(\text{Hg-EDTA})} = 10^{22}$). Un electrodo Hg|Hg-EDTA se puede usar para monitorear N^{n+} durante el curso de una titulación con EDTA. Comenzando con el electrodo Hg|Hg²⁺, derivar la ecuación anterior. Ésta representa un electrodo metal-quelato metálico-electrodo de ion metálico.

16. El potencial de un electrodo de hidrógeno en una solución ácida es -0.465 V cuando se mide contra un electrodo estándar de calomel de referencia. ¿Cuál sería el potencial medido contra un electrodo normal de calomel (KCl 1 *M*)?

MEDICIONES POTENCIOMÉTRICAS DE pH

17. *a*) En general, ¿con qué exactitud se puede medir el pH de una solución desconocida? ¿Qué limita esto? ¿Qué es esto (calcular) en términos de milivoltios medidos? ¿En términos de error porcentual en la actividad de ion hidrógeno? *b*) ¿Con qué precisión se puede medir el pH de una solución? ¿Cuánto es esto en términos de milivoltios medidos? ¿En términos de variación porcentual en la actividad del ion hidrógeno?
18. Se determinó que un electrodo de vidrio tenía un potencial de 0.395 V medido contra el electrodo saturado de calomel en una solución amortiguadora estándar de pH 7.00. Calcular el pH de la solución desconocida para la que se obtuvieron las siguientes lecturas de potencial (el potencial disminuye al aumentar el pH):
- 0.467 V
 - 0.209 V
 - 0.080 V
 - -0.013 V
19. Calcular el potencial de la celda que consiste en un electrodo de hidrógeno ($P_{\text{H}_2} = 1$ atm) y un electrodo saturado de calomel de referencia: *a*) en una solución de HCl 0.00100 *M*; *b*) en una solución de ácido acético 0.00100 *M*, y *c*) en una solución que contiene volúmenes iguales de ácido acético 0.100 *M* y acetato de sodio 0.100 *M*. Supóngase que las actividades son iguales que las concentraciones.
20. El electrodo de quinhidrona se puede usar para la determinación potenciométrica de pH. La solución que se va a medir se satura con quinhidrona, una mezcla equimolar de quinona (Q) e hidroquinona (HQ), y el potencial de la solución se mide con un electrodo de platino. La semirreacción y su potencial estándar son:



¿Cuál es el pH de una solución saturada con quinhidrona si el potencial del electrodo de platino en la solución medido contra un electrodo saturado de calomel es -0.205 V ? Supóngase que el potencial de unión líquida es cero.

MEDICIONES CON ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

21. A partir de las ecuaciones 13.44 y 13.45 se puede demostrar que para iones monovalentes, $K_{AB} = (k_B - k_A)/S$. Derivar esta ecuación.
22. Un electrodo selectivo de ion potasio se usa para medir la concentración de ion potasio en una solución que contiene $6.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ de cesio (actividad). En la tabla 13.3, el electrodo responde igual a cualquiera de estos iones ($K_{\text{KCs}} = 1$). Si el potencial contra un electrodo de referencia es -18.3 mV para una solución $5.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ de KCl y $+20.9 \text{ mV}$ en la solución de muestra, ¿cuál es la actividad de K^+ en la muestra? Supóngase una respuesta nernstiana.
23. La concentración de nitrato en un efluente industrial se determina usando un electrodo selectivo al ion nitrato. Los estándares y las muestras se diluyen 20 veces con K_2SO_4 0.1 M para mantener la fuerza iónica constante. Los estándares de nitrato de 0.0050 y 0.0100 M dan lecturas de potencial de -108.6 y -125.2 mV , respectivamente. La muestra da una lectura de -119.6 mV . ¿Cuál es la concentración de nitrato en la muestra?
24. La concentración de perclorato en una muestra que contiene yoduro 0.015 M se determina con un electrodo selectivo al ion perclorato. Todas las muestras y los estándares se diluyen 1:10 con KCl 0.2 M para mantener constante la fuerza iónica. Un estándar de KClO_4 0.00100 M da una lectura de -27.2 mV , y un estándar de KI 0.0100 M da una lectura de $+32.8 \text{ mV}$. La solución de la muestra da una lectura de -15.5 mV . Asumiendo una respuesta nernstiana, ¿cuál es la concentración de perclorato en la muestra?
25. El potencial de un electrodo de vidrio sensible a cationes se mide contra un electrodo saturado de calomel. En una solución de cloruro de sodio de actividad 0.100 M , este potencial es 113.0 mV , y en una solución de cloruro de potasio de la misma actividad, es 67.0 mV . a) Calcular el coeficiente de selectividad de este electrodo para potasio sobre sodio usando la relación derivada en el problema 21. b) ¿Cuál sería el potencial esperado en una mezcla de cloruros de sodio ($a = 1.00 \times 10^{-3} \text{ M}$) y potasio ($a = 1.00 \times 10^{-2} \text{ M}$)? Asumir una respuesta nernstiana, 59.2 mV/cambio en una magnitud de 10.
26. El coeficiente de selectividad para un electrodo selectivo de cationes para B^+ con respecto a A^+ se determina a partir de mediciones de dos soluciones que contienen diferentes actividades de los dos iones. Se obtuvieron las siguientes lecturas de potencial: 1) $2.00 \times 10^{-4} \text{ M A}^+ + 1.00 \times 10^{-3} \text{ M B}^+$, $+237.8 \text{ mV}$; y 2) $4.00 \times 10^{-4} \text{ M A}^+ + 1.00 \times 10^{-3} \text{ M B}^+$, $+248.2 \text{ mV}$. Calcular K_{AB} . La respuesta del electrodo es 56.7 mV/cambio en una magnitud de 10.
27. Un electrodo selectivo de iones de vidrio para sodio se calibra usando el método de soluciones separadas para respuesta de sodio y de potasio. Las dos curvas de calibra-

ción tienen pendientes de 58.1 mV/cambio en una magnitud de 10, y la curva de sodio es 175.5 mV más positiva que la de potasio. ¿Cuál es K_{NaK} para el electrodo?

28. Un electrodo selectivo a ion potasio basado en valinomicina se evalúa para interferencia de sodio usando el método de interferencia fija. Se prepara una curva de calibración de potasio en presencia de sodio 140 mM. La línea recta obtenida por extrapolación de la porción lineal se desvía de la curva experimental en 17.4 mV a una concentración de potasio correspondiente a $1.5 \times 10^{-5} M$. Si la pendiente lineal es 57.8 mV/cambio en una magnitud de 10, ¿cuál es K_{NaK} para el electrodo?

Referencias recomendadas

COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

1. J. Kielland, "Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions", *J. Am. Chem. Soc.*, **59** (1937) 1675.

POTENCIALES RELATIVOS

2. W.-Y. Ng, "Conversion of Potentials in Voltammetry and Potentiometry", *J. Chem. Ed.*, **65** (1988) 726.

ELECTRODOS Y MEDICIONES DE PH

3. R. G. Bates, *Determination of pH*, Nueva York: Wiley, 1964.
4. H. B. Kristensen, A. Salomon y G. Kokholm, "International pH Scales and Certification of pH", *Anal. Chem.*, **63** (1991) 885A.
5. J. V. Straumford, Jr., "Determination of Blood pH", en D. Seligson, ed., *Standard Methods of Clinical Chemistry*, vol. 2, Nueva York: Academic, 1958, pp. 107-121.
6. C. C. Westcott, *pH Measurement*, New York: Academic, 1978.
7. H. Galster, *pH Measurement. Fundamentals, Methods, Applications, Instrumentation*, New York: VCH, 1991.

ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES Y MEDICIONES

8. R. G. Bates, "Approach to Conventional Scales of Ionic Activity for the Standardization of Ion-Selective Electrodes", *Pure Appl. Chem.* **37** (1974) 573.
9. R. A. Durst, ed., *Ion Selective Electrodes*, Washington, DC: National Bureau of Standards Special Publication 314, U. S. Government Printing Office, 1969.
10. E. Pungor, "Theory and Applications of Anion Selective Membrane Electrodes", *Anal. Chem.*, **39** (13) (1967) 28A.
11. G. A. Rechnitz, "New Directions for Ion Selective Electrodes", *Anal. Chem.*, **41**(12) (1969) 109A. Anticuado, pero da una buena descripción de principios.
12. G. A. Rechnitz, "Ion Selective Electrodes", *Chem. Eng. News*, **45** (1967) (junio 12) 146. También da una buena descripción de principios.
13. B. Fu, E. Bakker, M. E. Mehryerhoff, V. C. Yhang y J. H. Yoon, "Polyion Sensitive Membrane Electrodes; Principles and Biomedical Applications", *Anal. Chem.*, **68** (1996) 168A.
14. E. Bakker, P. Buhlmann y E. Pretsch, "Carrier-Based Ion Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics", *Chem Rev.*, **97** (1997) 3083.

COEFICIENTES DE SELECTIVIDAD

15. Y. Umezawa, *CRC Handbook of Ion Selective Electrodes: Selectivity Coefficients*. Boca Ratón: CRC Press, 1990.
16. V. P. Y. Gadzekpo y G. D. Christian, "Determination of Selectivity Coefficients of Ion-Selective Electrodes by a Matched-Potential Method", *Anal. Chim. Acta*, **166** (1984) 279.
17. Y. Umezawa, K. Umezawa y H. Ito, "Selectivity Coefficients for Ion-Selective Electrodes: Recommended Methods for Reporting k_{ij}^{pot} Values", *Pure Appl. Chem.*, **67** (1995) 507.
18. G. Horvai, "The Matched Potential Method, a Generic Approach to Characterize the Differential Selectivity of Chemical Sensors", *Sensors and Actuators B*, **43** (1997) 94. Véase también G. Horvai, *Trends in Anal. Chem.*, **16** (1997) 260.
19. E. Bakker, R. K. Meruwa, E. Pretsch y M. E. Meyerhoff, "Selectivity of Polymer Membrane-Based Ion-Selective Electrodes: Self-Consistent Model Describing the Potentiometric Response in Mixed Ion Solutions of Different Charge" *Anal. Chem.*, **66** (1994) 3021.
20. E. Bakker, "Determination of Improved Selectivity Coefficients of Polymer Membrane Ion-Electrodes by Conditioning with a Discriminating Ion", *J. Electrochem. Soc.*, **143** (1996) L83.
21. E. Bakker, "Determination of Unbiased Selectivity Coefficients of Neutral Carrier-Based Cation-Selective Electrodes", *Anal. Chem.*, **69** (1997) 1060.
22. E. Bakker, "Review: Selectivity of Liquid Membrane Ion-Selective Electrodes", *Electroanalysis*, **9** (1997) 7.

ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES ULTRASENSIBLES

23. S. Mathison y E. Bakker, "Effect of Transmembrane Electrolyte Diffusion on the Detection Limit of Carrier-Based Potentiometric Sensors", *Anal. Chem.*, **70** (1998) 303.
24. Y. Mi, S. Mathison, R. Goines, A. Logue y E. Bakker, "Detection Limit of Polymeric Membrane Potentiometric Ion Sensors: How Low Can We Go Down to Trace Levels?", *Anal. Chem. Acta*, **397** (1999) 103.
25. T. Sokalski, A. Ceresa, T. Zwickl y E. Pretsch, "Large Improvement of the Lower Detection Limit of Ion-Selective Polymer Membrane Electrodes", *J. Am. Chem. Soc.*, **119** (1997) 11, 347.
26. T. Sokalski, T. Zwickl, E. Bakker y E. Pretsch, "Lowering the Detection Limit of Solvent Polymeric Ion-Selective Electrodes. 2. Modeling the Influence of Steady-State Ion Fluxes", *Anal. Chem.*, **71** (1999) 1204.
27. T. Sokalski, A. Cera, M. Fibbioli, T. Zwickl, E. Bakker y E. Pretsch, "Lowering the Detection Limit of Solvent Polymeric Ion-Selective Electrodes. 2. Influence of Composition of Sample and Internal Electrolyte Solution", *Anal. Chem.*, **71** (1999) 1210.



Capítulo catorce

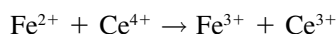
TITULACIONES REDOX Y POTENCIOMÉTRICAS

Los análisis volumétricos basados en titulaciones con agentes reductores u oxidantes son muy útiles para muchas determinaciones. Se pueden realizar usando indicadores visuales o midiendo el potencial con un electrodo indicador adecuado para construir una curva de titulación potenciométrica. En este capítulo se discutirán las curvas de titulación redox basadas en potenciales de semirreacción y se describirán titulaciones redox representativas, así como los procedimientos necesarios para obtener el analito de la muestra en el estado de oxidación correcto para la titulación. Se describe la construcción de curvas de titulación potenciométrica, incluyendo curvas derivadas de titulación y gráficas de Gran. El lector debe repasar primero el balanceo de reacciones redox, ya que se requieren reacciones balanceadas para los cálculos volumétricos.

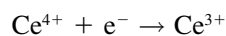
14.1 Primero: balancear la reacción de reducción-oxidación

Los cálculos en el análisis volumétrico requieren que se conozca la reacción balanceada.

Se usan diversos métodos para balancear las reacciones redox, y aquí se usará el **método de las semirreacciones**. En esta técnica, la reacción se divide en dos partes: la oxidante y la reductora. En toda reacción redox, un agente oxidante reacciona con un agente reductor. El agente oxidante se reduce en la reacción, mientras que el agente reductor se oxida. Cada una de éstas constituye una *semirreacción*, y la reacción total se puede dividir en estas dos semirreacciones. Así, en la reacción



Fe^{2+} es el agente reductor y Ce^{4+} es el agente oxidante. Las semirreacciones correspondientes son:



Hay varias maneras de balancear las reacciones redox. Se usa el método con el que se sienta más cómodo.

Para balancear una reacción de reducción-oxidación, primero debe balancearse cada semi-reacción. Debe haber una ganancia neta o una pérdida neta de cero electrones en la reacción total, y así, el segundo paso es la multiplicación de una de las semirreacciones, o de ambas, por uno o más factores adecuados, de modo que cuando se sumen, los electrones se cancelen. El paso final es la suma de las semirreacciones. Repasar los procedimientos en el sitio de red de Wiley para este texto.

14.2 Cálculo de la constante de equilibrio de una reacción. Es necesario para calcular los potenciales del punto de equivalencia

Antes de explicar las curvas de titulación redox, basadas en los potenciales de reducción-oxidación, es necesario aprender a calcular las constantes de equilibrio para las reacciones redox a partir de los potenciales de semirreacción. Se usa la constante de equilibrio de la reacción para calcular las concentraciones de equilibrio en el punto de equivalencia con objeto de calcular el potencial del punto de equivalencia. Recuérdese del capítulo 12 que, como el voltaje de la celda es cero en una reacción al equilibrio, la diferencia entre los dos potenciales de semirreacción es cero (o los dos potenciales son iguales), por lo que se pueden igualar las reacciones de Nernst para las semirreacciones. Cuando se combinan las ecuaciones, el término logarítmico es el de la expresión de la constante de equilibrio para la reacción (véase la ecuación 12.20), y se puede calcular un valor numérico para la constante de equilibrio. Ésta es una consecuencia de la relación entre la energía libre y la constante de equilibrio de una reacción. Recuérdese, por la ecuación 6.10, que $\Delta G^\circ = -RT \ln K$. Puesto que $\Delta G^\circ = -nFE^\circ$ para la reacción, entonces

$$-RT \ln K = -nFE^\circ \quad (14.1)$$

$$\text{o} \quad E^\circ = \frac{RT}{nF} \ln K$$

Para una reacción espontánea, ΔG° es negativa y E° positiva.

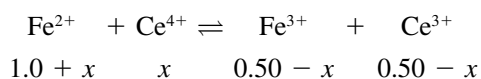
En el punto de equivalencia se tienen concentraciones desconocidas que se deben calcular a partir de K_{eq} . Esto se calcula igualando las dos ecuaciones de Nernst, combinando los términos de concentración para dar K_{eq} y luego despejando K_{eq} de ΔE° .

Ejemplo 14.1

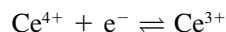
Calcular el potencial en una solución (contra electrodo estándar de hidrógeno) cuando 5.0 mL de una solución 0.10 M de Ce^{4+} se agregan a 5.0 mL de una solución 0.30 M de Fe^{2+} , usando la semirreacción del cerio. Comparar con el ejemplo 12.4.

Solución

Esto es lo mismo que en el ejemplo 12.4, donde se usó la semirreacción de hierro para calcular el potencial, dado que se conocían tanto $[\text{Fe}^{2+}]$ como $[\text{Fe}^{3+}]$. Se comienza con $0.30 \times 5.0 = 1.5$ mmol Fe^{2+} y se agregan $0.10 \times 5.0 = 0.50$ mmol Ce^{4+} . Así pues, se forman 0.50 mmol de Fe^{3+} y de Ce^{3+} , quedando 1.0 mmol de Fe^{2+} :



donde los números y x representan milimoles. Para hacer uso de la semirreacción de cerio, se despeja x . Esto sólo se puede hacer usando la constante de equilibrio, que se obtiene igualando los dos potenciales de semirreacción. La semirreacción de $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ es



$$E = 1.61 - 0.059 \log \frac{[\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}]}$$

Por tanto,

En el equilibrio, los potenciales de las dos semirreacciones son iguales.

$$1.61 - 0.059 \log \frac{[\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}]} = 0.771 - 0.059 \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]}$$

$$0.84 = 0.059 \log \frac{[\text{Ce}^{3+}][\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}][\text{Fe}^{2+}]} = 0.059 \log K_{\text{eq}}$$

$$\frac{[\text{Ce}^{3+}][\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}][\text{Fe}^{2+}]} = 10^{0.84/0.059} = 10^{14.2} = 1.6 \times 10^{14} = K_{\text{eq}}$$

Obsérvese que la gran magnitud de K_{eq} indica que la reacción se ubica muy a la derecha en equilibrio. Ahora, como los volúmenes se cancelan, se pueden usar milimoles en vez de milimoles/mililitro (molaridad), y

$$[\text{Ce}^{3+}] = 0.50 - x \approx 0.50 \text{ mmol}$$

$$[\text{Ce}^{4+}] = x \text{ mmol}$$

$$[\text{Fe}^{3+}] = 0.50 - x \approx 0.50 \text{ mmol}$$

$$[\text{Fe}^{2+}] = 1.0 + x \approx 1.0 \text{ mmol}$$

Por tanto,

$$\frac{(0.50 \text{ mmol})(0.50 \text{ mmol})}{(x \text{ mmol})(1.0 \text{ mmol})} = 1.6 \times 10^{14}$$

$$x = 1.6 \times 10^{-15} \text{ mmol} (= 1.6 \times 10^{-16} M)$$

Se ve que $[\text{Ce}^{4+}]$ es muy pequeño. Sin embargo, es finito, y conociendo su concentración, es posible calcular el potencial por medio de la ecuación de Nernst, usando milimoles:

$$E = 1.61 - 0.059 \log \frac{[\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}]} = 1.61 - 0.059 \log \frac{0.50 \text{ mmol}}{1.6 \times 10^{-15} \text{ mmol}}$$

$$= 0.75 \text{ V}$$

Esto se compara con los 0.753 V calculados en el ejemplo 12.4.

.....

El potencial se aproximará al E^0 de la semirreacción para la cual hay reactivo en exceso.

Obviamente, es más fácil hacer el cálculo usando la semirreacción sobre la cual se tiene más información; en esencia, el potencial de una semirreacción puede calcularse de cualquier manera durante el procedimiento usando la otra semirreacción. Los cálculos ilustran que, en una mezcla, las concentraciones de todas las especies *en equilibrio* son tales que el potencial de cada semirreacción es el mismo. Obsérvese que el potencial será cercano al potencial estándar (E^0) de la semirreacción en la que hay un exceso del reactivo; en este caso, hay un exceso de Fe^{2+} .

Se debe señalar aquí que los valores de n en las dos semirreacciones no tienen que ser idénticos para igualar las ecuaciones de Nernst. Por comodidad, las dos semirreacciones por lo general se ajustan al mismo valor de n antes de igualar las ecuaciones de Nernst.

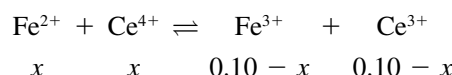
Cuando hay cantidades estequiométricas de los reactivos, por ejemplo en el punto de equivalencia de una titulación, no se conocen las concentraciones de equilibrio de las especies en ninguna de las dos semirreacciones, y es necesario un procedimiento similar al cálculo del ejemplo 14.1.

Ejemplo 14.2

Calcular el potencial de una solución obtenida al hacer reaccionar 10 mL de solución 0.20 M de Fe^{2+} con 10 mL de solución 0.20 M de Ce^{4+} .

Solución

Esencialmente, los reactivos se convierten de modo cuantitativo en cantidades equivalentes de Fe^{3+} y Ce^{3+} , y la concentración de cada uno de los productos es 0.10 M (despreciando la cantidad de la reacción inversa):



donde x representa la concentración molar de Fe^{2+} y Ce^{4+} . Se puede despejar x como en el ejemplo 14.1 y luego insertarla en la ecuación de Nernst para cualquiera de las semirreacciones para calcular el potencial (hacer esto como práctica). En seguida se muestra otro procedimiento.

El potencial está dado para cualquiera de las ecuaciones de Nernst:

$$\begin{aligned} E &= E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - \frac{0.059}{n_{\text{Fe}}} \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]}; & n_{\text{Fe}}E &= n_{\text{Fe}}E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 - 0.059 \log \frac{x \text{ mmol/mL}}{0.10 \text{ mmol/mL}} \\ E &= E_{\text{Ce}^{4+}, \text{Ce}^{3+}}^0 - \frac{0.059}{n_{\text{Ce}}} \log \frac{[\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}]}; & n_{\text{Ce}}E &= n_{\text{Ce}}E_{\text{Ce}^{4+}, \text{Ce}^{3+}}^0 - 0.059 \log \frac{0.10 \text{ mmol/mL}}{x \text{ mmol/mL}} \end{aligned}$$

Obsérvese que las ecuaciones de Nernst para ambas especies están escritas para reducciones, aun cuando una de las especies, aquí el Fe^{2+} , realmente se está oxidando en la reacción. Se pueden sumar estas ecuaciones y despejar a E , el potencial de cada semirreacción, y por tanto el potencial de la solución al equilibrio:

$$\begin{aligned} n_{\text{Fe}}E + n_{\text{Ce}}E &= n_{\text{Fe}}E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 + n_{\text{Ce}}E_{\text{Ce}^{4+}, \text{Ce}^{3+}}^0 - 0.059 \log \frac{x \text{ mmol/mL}}{0.10 \text{ mmol/mL}} \cdot \frac{0.10 \text{ mmol/mL}}{x \text{ mmol/mL}} \\ E &= \frac{n_{\text{Fe}}E_{\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}}^0 + n_{\text{Ce}}E_{\text{Ce}^{4+}, \text{Ce}^{3+}}^0}{n_{\text{Fe}} + n_{\text{Ce}}} = \frac{(1)0.77 + (1)1.61}{1 + 1} = 1.19 \text{ V} \end{aligned}$$

El procedimiento anterior es general, es decir, E para cantidades estequiométricas de reactivos (E en el punto de equivalencia de la titulación) está dado por

$$E = \frac{n_1 E_1^0 + n_2 E_2^0}{n_1 + n_2} \quad (14.2)$$

Usar esta ecuación para calcular el potencial del punto de equivalencia *si* no hay especies poliatómicas o dependencia de protones. Véase el problema 13 para estos casos.

donde n_1 y E_1^0 son el valor n y el potencial estándar para una semirreacción, y n_2 y E_2^0 son los valores para la otra semirreacción. En otras palabras, E es el promedio ponderado de los valores de E^0 . En el ejemplo anterior, era el promedio simple, ya que los valores n eran cada uno igual a 1. *Esta ecuación es válida sólo para reacciones en las que no hay especies poliatómicas (por ejemplo, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) ni haya dependencia del ion hidrógeno (o cuando el pH es cero).* La ecuación contiene términos adicionales si se deben considerar el pH y los factores de concentración (véase el problema 13). Se puede aplicar si se usan **potenciales formales**, es decir, para condiciones especificadas de acidez (véase el capítulo 12).

14.3 Cálculo de curvas de titulación redox

El cambio de potencial en el punto final será aproximadamente ΔE^0 para las semirreacciones del reactivo y del titulante.

Se puede usar el conocimiento acerca de los equilibrios redox para describir las curvas de titulación para titulaciones redox. La forma de una curva de titulación se puede predecir a partir de los valores de E^0 de la semirreacción del analito y de la semirreacción del titulante. El cambio de potencial al ir de un lado al otro del punto de equivalencia será, aproximadamente, igual a la diferencia entre los dos valores de E^0 . El potencial será muy cercano al E^0 para la semirreacción del analito antes del punto de equivalencia y se acercará al de la semirreacción del titulante más allá del punto de equivalencia.

Considérese la titulación de 100 mL de Fe^{2+} 0.1 M con Ce^{4+} 0.1 M en HNO_3 1 M. Cada milimol de Ce^{4+} oxidará a un milimol de Fe^{2+} , y así el punto final ocurrirá a 100 mL. La curva de titulación se muestra en la figura 14.1. Ésta es realmente una gráfica del potencial de la solución de titulación en relación con el electrodo estándar de hidrógeno, cuyo potencial, por definición, es cero.

El electrodo indicador rastrea los cambios de potencial durante toda la titulación.

En el capítulo 13 se vio que la diferencia de potencial entre semiceldas redox se podía medir con electrodos inertes, como el de platino, en una celda similar a la de la figura 12.1. El electrodo sumergido en la solución de titulación o de prueba se llama **electrodo indicador**, y el otro, **electrodo de referencia**, cuyo potencial permanece constante. Por tanto, el potencial del electrodo indicador cambiará en relación con el del electrodo de referencia, como se indica en la figura 14.1. El potencial en relación con el electrodo estándar de hidrógeno se grafica contra el volumen de titulante. Esto es análogo a graficar el pH de una solución contra el volumen del titulante en una titulación ácido-base, o pM contra el volumen del titulante en una titulación de precipitación o complejométrica. En una titulación redox, es el potencial más que el pH el que cambia con la concentración.

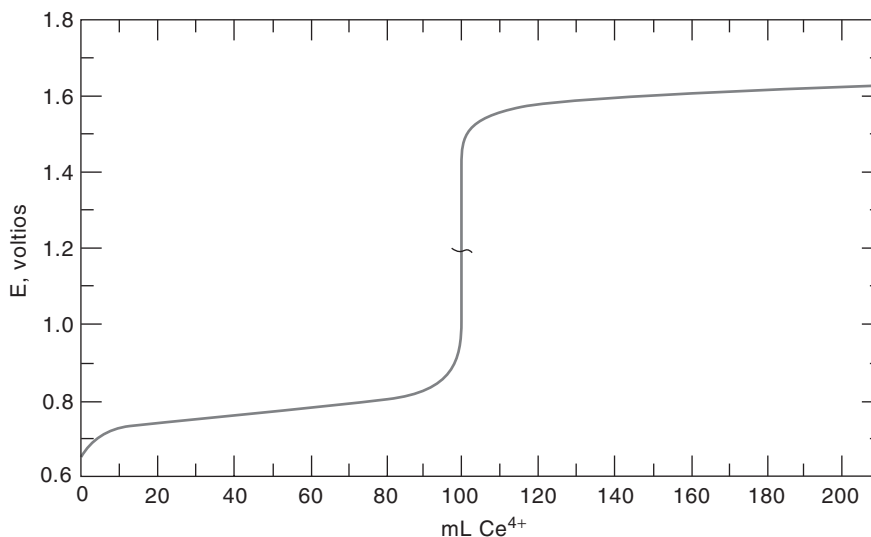
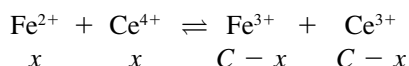


Figura 14.1. Curva de titulación para 100 mL de Fe^{2+} 0.1 M contra Ce^{4+} 0.1 M.

Al principio de la titulación se tiene sólo una solución de Fe^{2+} , por lo cual no se puede calcular el potencial. Tan pronto como se agrega la primera gota de titulante, una cantidad conocida de Fe^{2+} se convierte en Fe^{3+} , y se conoce la relación de $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$, de modo que el potencial se puede determinar a partir de la ecuación de Nernst para este par. Estará cerca del valor de E^0 para este par (la muestra) *antes* del punto final.

Obsérvese que, como $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$ es igual a la unidad en el punto medio de la titulación, y $\log 1 = 0$, el potencial es igual a E^0 en este punto de la titulación. Esto será verdad sólo si la semirreacción es simétrica. Por ejemplo, en la semirreacción $\text{I}_2 + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$, el $[\text{I}^-]$ será el doble de $[\text{I}_2]$ a medio camino de la titulación, y la relación será $[\text{I}^-]^2/[\text{I}_2] = (2)^2/(1) = 4$. De modo que el potencial sería menor que E^0 por $(-0.059/2)\log 4$, o -0.018 V.

En el punto de equivalencia de la titulación se tienen las siguientes condiciones:



donde C es la concentración de Fe^{3+} , que se conoce en virtud de que todo el Fe^{2+} se convierte en Fe^{3+} (x es despreciable en comparación con C). Ahora bien, se tiene una cantidad desconocida en ambas semirreacciones, y por tanto se debe despejar x igualando las dos ecuaciones de Nernst, como se hizo en el ejemplo 14.1. Luego se puede calcular el potencial a partir de cualquiera de las dos semirreacciones. Alternativamente se podría usar la ecuación 14.2, ya que ésta es una reacción simétrica (no hay ninguna especie poliatómica).

Más allá del punto de equivalencia se tiene un exceso de Ce^{4+} y una cantidad desconocida de Fe^{2+} . Como ahora se tiene más información acerca de la semirreacción de $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$, es más fácil calcular el potencial a partir de la ecuación de Nernst. Obsérvese que aquí, con un exceso de titulante, el potencial es cercano al valor de E^0 del *titulante*. A 200% de la titulación, $[\text{Ce}^{4+}]/[\text{Ce}^{3+}] = 1$, y E es el E^0 del par de cerio.

El ejemplo 14.3 ilustra que la magnitud de la inflexión del punto final está directamente relacionada con la diferencia en los valores de E^0 de las semirreacciones de la muestra y el titulante. Se requiere una diferencia de por lo menos 0.2 V para un punto final nítido.

Se requiere un cambio de potencial de 0.2 V para un punto final nítido.

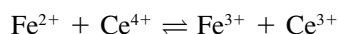
En la figura 14.1 se indica el punto de equivalencia para esta titulación. Como la reacción es simétrica, el punto de equivalencia (*punto de inflexión* de la curva: el punto en el que se tiene la mayor pendiente) ocurre en el punto medio de la parte ascendente de la curva. En titulaciones no simétricas, el punto de inflexión no ocurrirá en el punto medio. Por ejemplo, en la titulación de Fe^{2+} con MnO_4^- , la porción con la mayor pendiente ocurre cerca de la parte más alta de la inflexión debido al consumo de protones en la reacción, que la hace ser no simétrica. Véase el problema 21 para un cálculo de la curva de la figura 14.1, mediante Excel.

Ejemplo 14.3

Calcular el potencial como función del volumen de titulante en la titulación anterior de 100 mL de Fe^{2+} 0.100 M a 10.0, 50.0, 100 y 200 mL de Ce^{4+} 0.100 M.

Solución

La reacción es



10.0 mL: mmol Ce^{4+} agregados = $0.100 \text{ M} \times 10.0 \text{ mL} = 1.00 \text{ mmol}$

mmol Fe^{2+} que reaccionaron = $1.00 \text{ mmol} = \text{mmol } \text{Fe}^{3+}$ formados

mmol Fe^{2+} que se quitaron = $0.100 \text{ M} \times 100 \text{ mL} - 1.00 \text{ mmol} = 9.0 \text{ mmol } \text{Fe}^{2+}$

$$E = 0.771 - 0.059 \log \frac{9.0}{1.00} = 0.715 \text{ V}$$

50.0 mL: la mitad del Fe^{2+} se convierte en Fe^{3+} (5.00 mmol de cada uno)

$$E = 0.771 - 0.059 \log \frac{5.00}{5.00} = 0.771 \text{ V}$$

$$100 \text{ mL: mmol Fe}^{3+} = 10.0 - x \approx 10.0$$

$$\text{mmol Fe}^{2+} = x$$

$$\text{mmol Ce}^{3+} = 10.0 - x \approx 10.0$$

$$\text{mmol Ce}^{4+} = x$$

Se debe despejar x . Como los cálculos son para cuando se alcance el equilibrio entre las dos semirreacciones, las dos ecuaciones de Nernst son iguales:

$$0.771 - \frac{0.059}{1} \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]} = 1.61 - \frac{0.059}{1} \log \frac{[\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}]}$$

$$-0.84 = -0.059 \log \frac{[\text{Fe}^{3+}][\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Fe}^{2+}][\text{Ce}^{4+}]} = -0.059 \log K_{\text{eq}}$$

$$K_{\text{eq}} = 1.7 \times 10^{14}$$

Sustituyendo en K_{eq} y resolviendo para x (usar milimoles, ya que los volúmenes se cancelan):

$$\frac{(10.0)(10.00)}{(x)(x)} = 1.7 \times 10^{14}$$

$$x = 7.7 \times 10^{-7} \text{ mmol Fe}^{2+} = \text{mmol Ce}^{4+}$$

Usar cualquiera de las semirreacciones para calcular el potencial:

$$E = 0.771 - 0.059 \log \frac{7.7 \times 10^{-7}}{10.0} = 1.19 \text{ V}$$

Comparar esto con el potencial calculado en el ejemplo 14.2. Tratar de calcular este potencial usando la ecuación de Nernst de $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$. Obsérvese que este potencial está a medio camino entre los dos potenciales E^0 .

200 mL: se tiene un exceso de 100 mL de titulante (Ce^{4+}). Ahora es más fácil usar la semirreacción de $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$:

$$\text{mmol Ce}^{3+} = 10.0 - x \approx 10.0$$

$$\text{mmol Ce}^{4+} = 0.100 \text{ M} \times 100 \text{ mL} + x \approx 10.0 \text{ mmol}$$

$$E = 1.61 - 0.059 \log \frac{10.0}{10.0} = 1.61 \text{ V}$$

[Se podría haber usado la semirreacción de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ para calcular este potencial calculando x ($[\text{Fe}^{2+}]$) como antes a partir de K_{eq}]

.....

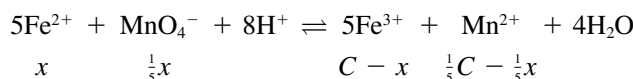
Para reacciones no simétricas se debe tener cuidado con la tendencia de la relación en la que reaccionan las sustancias de partida. Asimismo, si se consumen o producen protones en la reacción se debe calcular el cambio en $[\text{H}^+]$.

Ejemplo 14.4

Calcular el potencial en el punto de equivalencia en la titulación de 100 mL de Fe^{2+} 0.100 M en H_2SO_4 0.500 M con 100 mL de MnO_4^- 0.0200 M.¹

Solución

La reacción es



$$\text{mmol Fe}^{3+} = 0.100 M \times 100 \text{ mL} - x \approx 10.0$$

$$\text{mmol Fe}^{2+} = x$$

$$\text{mmol Mn}^{2+} = \frac{1}{5}(10.0) - \frac{1}{5}x \approx 2.00$$

$$\text{mmol MnO}_4^- = \frac{1}{5}x$$

Seguir la pista de los milimoles y de la relación en que reaccionan las sustancias. Un milimol de Fe^{2+} reacciona con $\frac{1}{5}$ de milimol de MnO_4^- .

Resolver para x igualando las dos ecuaciones de Nernst (en el equilibrio, son iguales).

Multiplicar la semirreacción de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ por 5 para igualar los electrones:

$$0.771 - \frac{0.059}{5} \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]^5}{[\text{Fe}^{3+}]^5} = 1.51 - \frac{0.059}{5} \log \frac{[\text{Mn}^{2+}]}{[\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8}$$

$$-0.74 = \frac{0.059}{5} \log \frac{[\text{Mn}^{2+}][\text{Fe}^{3+}]^5}{[\text{MnO}_4^-][\text{Fe}^{2+}]^5[\text{H}^+]^8} = -\frac{0.059}{5} \log K_{\text{eq}}$$

$$K_{\text{eq}} = 5.0 \times 10^{62}$$

Se comenzó con $1.00 \times 100 = 100$ mmol H^+ . Se consumieron 8 mmol por 5 mmol de Fe^{2+} que reaccionaron ($= \frac{8}{5} \times 10.0 = 16.0$ mmol). Por tanto, se tienen 84 mmol de H^+ remanentes en 200 mL, o 0.42 M. Para las demás especies se pueden usar milimoles, ya que todos los volúmenes se cancelan:

Se debe calcular la concentración de H^+ después de la reacción.

$$\frac{(2.00)(10.0)^5}{(1/5x)(x)^5(0.42)^8} = 5.0 \times 10^{62}$$

$$x = 1.1 \times 10^{-9} \text{ mmol Fe}^{2+}; \quad \text{mmol MnO}_4^- = \frac{1}{5}(1.1 \times 10^{-9})$$

$$= 2.2 \times 10^{-10}$$

Usar cualquiera de las semirreacciones para calcular el potencial:

$$E = 0.771 - 0.059 \log \frac{1.1 \times 10^{-9}}{10} = 1.359 \text{ V}$$

E^0 para el par $\text{Mn}^{2+}/\text{MnO}_4^-$ es 1.51 V. Obsérvese que el potencial a mitad del camino entre los dos potenciales E^0 es 1.14 V. El punto de equivalencia (punto de inflexión) para esta reacción de titulación asimétrica es, por tanto, más cercano al par del titulante, y la curva de titulación es asimétrica.

¹ En H_2SO_4 0.5 M, el segundo protón se disocia sólo 2% (calcular a partir de la constante de ionización y véase!); pero, por simplicidad, se asumirá que se ioniza por completo para dar una concentración de H^+ de 1 M.

14.4 Detección visual del punto final

Obviamente, el punto final se puede determinar midiendo el potencial con un electrodo indicador (capítulo 13) en relación con una referencia y graficando este potencial contra el volumen de un titulante. Pero como en otras titulaciones, por lo regular es más conveniente usar un indicador visual, y hay tres métodos para este fin.

AUTOINDICACIÓN

Si el titulante es altamente colorido, este color se puede usar para detectar el punto final. Por ejemplo, una solución 0.02 M de permanganato de potasio es de un color morado profundo. Una solución diluida de permanganato de potasio es rosada. El producto de su reducción, Mn^{2+} , es casi incoloro, con un color rosado muy tenue. Durante una titulación con permanganato de potasio, el color morado del MnO_4^- desaparece tan pronto como se adiciona porque se reduce a Mn^{2+} . Tan pronto como se termina la titulación, una fracción de gota de exceso de solución de MnO_4^- imparte un color definidamente rosado a la solución, indicando que la reacción se ha completado. Obviamente, el punto final no ocurre en el punto de equivalencia, sino en una fracción de gota más allá. El error es pequeño y se puede corregir haciendo una titulación de un blanco, o se toma en consideración en la estandarización.

INDICADOR DE ALMIDÓN

Este indicador se usa para titulaciones en las que interviene el yodo. El almidón forma un complejo no muy reversible con el I_2 , que es de un color azul muy oscuro. El color en la reacción es muy sensible a muy pequeñas cantidades de yodo. En las titulaciones de agentes reductores con yodo, la solución permanece incolora hasta el punto de equivalencia. Una fracción de gota de exceso de titulante convierte la solución en azul definido.

INDICADORES REDOX

Comparar los indicadores redox con los indicadores ácido-base. Aquí, el potencial, en vez del pH, determina la relación de los dos colores.

Ninguno de los dos métodos de indicación antes descritos depende de los potenciales de las semirreacciones, aunque sí dependen de éstos el que la reacción de titulación se complete y, por tanto, la nitidez del punto final. Hay pocos ejemplos de estos dos primeros métodos de indicación visual, y la mayor parte de los tipos de titulaciones redox se detectan usando **indicadores redox**. Éstos son pigmentos muy coloridos que son agentes reductores y oxidantes débiles que se pueden oxidar o reducir; los colores de las formas oxidada y reducida son diferentes. El estado de oxidación del indicador, y por tanto su color, dependerán del potencial en un punto dado en la titulación. Se pueden escribir una semirreacción y una ecuación de Nernst para el indicador:



$$E_{\text{ind}} = E_{\text{ind}}^0 - \frac{0.059}{n} \log \frac{[\text{Red}_{\text{ind}}]}{[\text{Ox}_{\text{ind}}]} \quad (14.4)$$

E_{in}^0 debe ser cercano al potencial del punto de equivalencia. Se necesita un cambio de potencial de 120 mV para un cambio de color cuando $n = 1$ (de la semirreacción del indicador) y 60 mV si $n = 2$.

Los potenciales de semirreacción durante la titulación determinan E_{in} y, por tanto, la relación de $[\text{Red}_{\text{ind}}]/[\text{Ox}_{\text{ind}}]$. Esto es análogo a la relación de las formas diferentes de un indicador de pH que se determinan por el pH de la solución. Entonces, la relación, y por tanto el color, cambiarán al modificarse el potencial durante la titulación. Si se supone, como con el indicador ácido-base, que la relación debe cambiar de 10/1 a 1/10 con objeto de que se pueda ver un cambio nítido de color, entonces *se requiere un potencial igual a $2 \times (0.059/n)$ V*. Si n para el indicador es igual a 1, entonces se requiere un cambio de

Tabla 14.1
Indicadores redox

Indicador	Color		Solución	E^0 (V)
	Forma reducida	Forma oxidada		
Nitroferroína	Rojo	Azul pálido	1 M H_2SO_4	1.25
Ferroína	Rojo	Azul pálido	1 M H_2SO_4	1.06
Ácido difenilamino-sulfónico	Incoloro	Púrpura	Ácido diluido	0.84
Difenilamina	Incoloro	Violeta	1 M H_2SO_4	0.76
Azul de metileno	Azul	Incoloro	Ácido 1 M	0.53
Tetrasulfonato de índigo	Incoloro	Azul	Ácido 1 M	0.36

0.12 V. Si E_{in}^0 está cerca del potencial de punto de equivalencia de la titulación, donde hay un cambio rápido en el potencial en exceso de 0.12 V, entonces el cambio de color se presenta en el punto de equivalencia. Nuevamente, esto es análogo al requisito de que el valor del pK_a de un indicador ácido-base esté cerca del pH del punto de equivalencia.

Si hay dependencia del ion hidrógeno en la reacción del indicador (ecuación 14.3), entonces éste aparecerá en la ecuación de Nernst correspondiente (ecuación 14.4), y el potencial en el que cambia de color el indicador será desplazado de E_{in}^0 por el término de ion hidrógeno.

Así, los indicadores redox tendrán un intervalo de transición sobre cierto potencial, y este intervalo debe caer dentro de la empinada inflexión del punto de equivalencia de la curva de titulación. La reacción del indicador redox debe ser *rápida* y, para usar términos electroquímicos, *reversible*. Si la reacción es lenta o *irreversible* (baja rapidez de transferencia de electrones), el cambio de color será gradual y no se detectará un punto final nítido.

No hay muchos indicadores redox que funcionen satisfactoriamente. La tabla 14.1 es una lista de algunos de los indicadores comunes en orden de potencial estándar decreciente. La ferroína [sulfato de tris(1,10-fenantrolina)hierro(II)] es uno de los mejores indicadores; es útil para muchas titulaciones con cerio(IV) y se oxida de color rojo a azul pálido en el punto de equivalencia. En la misma lista de la tabla 14.1 aparecen otros indicadores de tipo fenantrolina. El ácido difenilaminosulfónico se usa como indicador para titulaciones con dicromato en solución ácida. El potencial del par $Cr_2O_7^{2-}/Cr^{3+}$ es más bajo que el del par del cerio, y por esto es necesario este indicador con un E^0 más bajo; pero se debe tener cuidado para desechar el Cr(VI), ya que es un contaminante ambiental carcinogénico. El color en el punto final es púrpura. El indicador que se use puede depender de la muestra que se titule, ya que la magnitud de la inflexión de punto final también depende del potencial de la semirreacción de la muestra.

14.5 Titulaciones en las que participa el yodo: yodimetría y yodometría

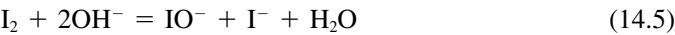
Las titulaciones redox se cuentan entre los tipos más importantes de análisis que se realizan en muchas áreas de aplicación; por ejemplo, en análisis de alimentos, industriales y farmacéuticos. La titulación de sulfito en vino usando yodo es un ejemplo común. El alcohol se puede determinar haciéndolo reaccionar con dicromato de potasio. Los ejemplos son raros en los laboratorios clínicos, ya que la gran parte de los análisis son de trazas; pero estas titulaciones son muy útiles para estandarizar reactivos. Hay que familiarizarse con algunos de los titulantes más comunes que se utilizan.

El yodo es un agente oxidante que se puede usar para titular agentes reductores moderadamente fuertes. Por otro lado, el ion yoduro es un agente reductor suave, y sirve como base para determinar agentes oxidantes fuertes.

YODIMETRÍA

En yodimetría, el titulante es I₂ y el analito es un agente reductor. El punto final se detecta por la aparición del color azul del almidón de yoduro.

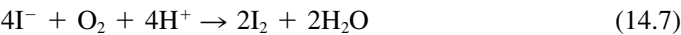
El yodo es un agente oxidante moderadamente fuerte y se puede usar para titular agentes reductores. Las titulaciones con I₂ se llaman **métodos yodimétricos**. Estas titulaciones en general se realizan en soluciones desde neutras o suavemente alcalinas (pH 8), hasta débilmente ácidas. Si el pH es demasiado alcalino, el I₂ se desproporcionará en hipoyodato y yoduro:



Hay tres razones para evitar que la solución se vuelva fuertemente ácida. La primera es que el almidón que se usa para la detección del punto final tiende a hidrolizarse o descomponerse en un medio fuertemente ácido, y por tanto el punto final se puede afectar. La segunda es que el poder reductor de varios agentes reductores aumenta en solución neutra. Por ejemplo, considérese la reacción de I₂ con As(III):



Este equilibrio es afectado por la concentración de iones hidrógeno. A baja concentración de iones hidrógeno, el equilibrio se desplaza a la derecha. Ya se ha visto en la ecuación 12.25 que en solución neutra, el potencial del par As(V)/As(III) disminuye lo suficiente para que el arsénico(III) reduzca al I₂. Pero en solución ácida, el equilibrio se desplaza en sentido opuesto, y ocurre la reacción inversa. La tercera razón para evitar las soluciones ácidas es que el I⁻ producido en la reacción tiende a oxidarse por el oxígeno disuelto en la solución ácida:



El pH para la titulación del arsénico(III) con I₂ se puede mantener neutro mediante la adición de NaHCO₃. La acción de burbujeo del CO₂ que se forma también remueve el oxígeno disuelto y mantiene una atmósfera de CO₂ sobre la solución para evitar la oxidación del I⁻ por el aire.

Como el I₂ no es un agente oxidante fuerte, el número de agentes reductores que se pueden titular es limitado. Sin embargo, existen muchos ejemplos, y el poder moderadamente oxidante del I₂ lo hace un titulante más selectivo que los agentes oxidantes fuertes. En la tabla 14.2 se halla una lista con algunas sustancias que se determinan comúnmente. El antimonio se comporta de modo similar al arsénico, y el pH es crítico por las mismas

El I₂ es un titulante oxidante más selectivo que los más fuertes.

Tabla 14.2
Algunas sustancias que se determinan por yodimetría

Sustancia determinada	Reacción con yodo	Condiciones de la solución
H ₂ S	H ₂ S + I ₂ → S + 2I ⁻ + 2H ⁺	Solución ácida
SO ₃ ²⁻	SO ₃ ²⁻ + I ₂ + H ₂ O → SO ₄ ²⁻ + 2I ⁻ + 2H ⁺	
Sn ²⁺	Sn ²⁺ + I ₂ → Sn ⁴⁺ + 2I ⁻	Solución ácida pH 8
As(III)	H ₂ AsO ₃ ⁻ + I ₂ + H ₂ O → HAsO ₄ ²⁻ + 2I ⁻ + 3H ⁺	
N ₂ H ₄	N ₂ H ₄ + 2I ₂ → N ₂ + 4H ⁺ + 4I ⁻	

razones. Se añade tartrato para complejar el antimonio y mantenerlo en solución para evitar la hidrólisis.

Aunque se puede obtener I_2 de alta pureza por sublimación, las soluciones de yodo por lo regular se estandarizan contra un agente reductor estándar primario como el As_2O_3 (As_4O_6). El óxido arsenioso no es soluble en ácido y, por tanto, se disuelve en hidróxido de sodio. La solución se neutraliza después de que la disolución está completa. Si las soluciones de arsénico(III) han de guardarse durante algún tiempo se deben neutralizar o acidificar, porque el arsénico(III) se oxida lentamente en solución alcalina.

El yodo tiene una baja solubilidad en agua, pero el complejo I_3^- es muy soluble, de modo que las soluciones de yodo se preparan disolviendo I_2 en una solución concentrada de yoduro de potasio:



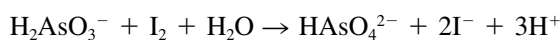
Por tanto, el I_3^- es realmente la especie que se usa en la titulación.

Ejemplo 14.5

La pureza de una muestra de hidrazina, N_2H_4 (¡atención: es un veneno violento!) se determina mediante titulación con yodo. Se disuelve en agua una muestra del líquido aceitoso que pesa 1.4286 g, y se diluye a 1 L en un matraz volumétrico. Se toma una alícuota de 50.00 mL con una pipeta y se titula con solución estándar de yodo, con un consumo de 42.41 mL. El yodo se estandarizó contra 0.4123 g de estándar primario de As_2O_3 disolviendo el As_2O_3 en una pequeña cantidad de solución de NaOH, ajustando el pH a 8 y titulando con un consumo de 40.28 mL de la solución de yodo. ¿Cuál es la pureza porcentual en peso de la hidrazina?

Solución

Estandarización:



Cada As_2O_3 da $2H_2AsO_3^-$, de modo que $mmol I_2 = 2 \times mmol As_2O_3$.

$$M_{I_2} \times 40.28 \text{ mL } I_2 = \frac{412.3 \text{ mg } As_2O_3}{197.85 \text{ mg } As_2O_3/mmol} \times 2 \text{ mmol } I_2/mmol As_2O_3$$

$$M_{I_2} = 0.10347 \text{ mmol/mL}$$

Análisis:



$$mmol N_2H_4 = \frac{1}{2} \times mmol I_2$$

$$\text{peso de } N_2H_4 \text{ titulado} = 1.4286 \text{ g} \times \frac{50.00}{1000.0} = 0.07143 \text{ g}$$

$$\% N_2H_4 = [0.10347 M I_2 \times 42.41 \text{ mL } I_2 \times \frac{1}{2} (mmol N_2H_4/mmol I_2) \times 32.045 \text{ mg } N_2H_4/mmol] / 71.43 \text{ mg} \times 100\% = 98.43\%$$

El problema, por supuesto, también se puede manejar usando equivalentes y normalidad. Para ilustrar esta vía, se ofrece el cálculo. El peso equivalente del As_2O_3 es un

Con la molaridad, téngase cuidado con los milimoles y las relaciones en que los reactivos reaccionan.

Con la normalidad, téngase cuidado con los miliequivalentes y sus pesos miliequivalentes.

cuarto de su peso de fórmula, ya que cada arsénico se oxida a partir de valencia +3 a +5, y hay dos arsénicos por molécula. Por tanto:

$$N_{I_2} \times 40.28 \text{ mL } I_2 = \frac{412.3 \text{ mg As}_2\text{O}_3}{197.85/4 \text{ (mg As}_2\text{O}_3/\text{meq)}}$$

$$N_{I_2} = 0.2069_4 \text{ meq/mL}$$

Cada nitrógeno en la hidrazina se oxida desde valencia -2 a 0, para un cambio total de valencia de cuatro electrones por molécula, así que su peso equivalente es un cuarto de su peso de fórmula. Por tanto,

$$\% \text{ N}_2\text{H}_4 = \frac{0.2069_4 N \times 42.41 \text{ mL} \times 32.045/4 \text{ (mg N}_2\text{H}_4/\text{meq)}}{71.43 \text{ mg}} \times 100\% = 98.43\%$$

Obsérvese que debido al bajo peso molecular de la hidrazina, habría sido difícil pesar la muestra necesaria con cuatro cifras significativas, y que titulando una alícuota medida con exactitud se puede pesar una muestra más grande.

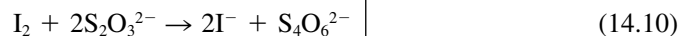
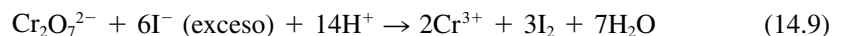
YODOMETRÍA

En la yodometría, el analito es un agente oxidante que reacciona con I^- para formar I_2 . El I_2 se titula con tiosulfato, usando como punto final la desaparición del color del yodo-almidón.

El ion yoduro es un agente reductor débil y reduce agentes oxidantes fuertes. Sin embargo, no se usa como titulante, principalmente debido a la falta de un sistema indicador visual adecuado, así como por otros factores, como la rapidez de la reacción.

Cuando se agrega un exceso de yodo a una solución de un agente oxidante, *se produce I_2 en una cantidad equivalente al agente oxidante presente*. Por tanto, este I_2 se puede titular con un agente reductor, y el resultado sería el mismo que si se titulara directo el agente oxidante. El agente titulante que se usa es tiosulfato de sodio.

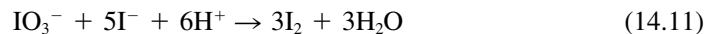
El análisis de un agente oxidante en esta forma se denomina **método yodométrico**. Considérese, por ejemplo, la determinación de dicromato:



Para los cálculos es necesario conocer los milimoles de tiosulfato por milimol de analito. Hay 2 milimoles por cada milimol de I_2 producido.

Cada $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ produce $3I_2$, que a su vez reacciona con $6S_2O_3^{2-}$. Los milimoles de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ son iguales a un sexto de los milimoles de $S_2O_3^{2-}$ usados en la titulación.

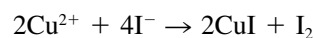
El yodato se puede determinar yodométricamente:



Cada IO_3^- produce $3I_2$, que otra vez reaccionan con $6S_2O_3^{2-}$, y los milimoles de IO_3^- se obtienen multiplicando los milimoles de $S_2O_3^{2-}$ usados en la titulación por $\frac{1}{6}$.

Ejemplo 14.6

Se analiza yodométricamente una muestra de 0.200 g que contiene cobre. El cobre(II) se reduce a cobre(I) por el yoduro:



¿Cuál es el porcentaje de cobre en la muestra si se consumieron 20.0 mL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.100 M en la titulación del I_2 liberado?

Solución

Se libera medio mol de I_2 por mol de Cu^{2+} , y como cada I_2 reacciona con $2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, cada Cu^{2+} es equivalente a un $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, y un mmol de $\text{Cu}^{2+} = 1$ mmol de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$.

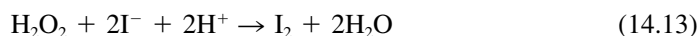
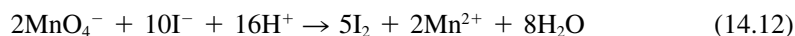
$$\begin{aligned}\% \text{ Cu} &= \frac{0.100 \text{ mmol S}_2\text{O}_3^{2-}/\text{mL} \times 20.0 \text{ mL S}_2\text{O}_3^{2-} \times \text{Cu}}{200 \text{ mg muestra}} \times 100\% \\ &= \frac{0.100 \text{ mmol/mL} \times 20.0 \text{ mL} \times 63.54 \text{ mg Cu/mmol}}{200 \text{ mg muestra}} \times 100\% = 63.5\%\end{aligned}$$

¿Por qué no titular los agentes oxidantes directo con tiosulfato? Porque los agentes oxidantes fuertes oxidan al tiosulfato a estados de oxidación más altos que el del tetratio-nato (por ejemplo, a SO_4^{2-}), pero la reacción en general no es estequiométrica. Asimismo, diversos agentes oxidantes forman complejos mixtos con el tiosulfato (por ejemplo, Fe^{3+}). Por reacción con el yoduro, el agente oxidante fuerte se destruye y se produce una canti-dad equivalente de I_2 , que reacciona estequiométricamente con el tiosulfato, y para lo cual existe un indicador satisfactorio. La titulación se puede considerar una titulación directa.

El punto final para las titulaciones yodométricas se detecta con almidón. La desapa-rición del color azul del almidón- I_2 indica el final de la titulación. El almidón no se agrega al principio de la titulación, cuando la concentración de yodo es alta. En vez de esto, se agrega poco antes del punto final, cuando el color del yodo diluido se vuelve amarillo pálido. Hay dos razones para esto: una es que el complejo yodo-almidón sólo se disocia lentamente, y se tendría un punto final difuso si se adsorbiera una gran cantidad de yodo en el almidón; la segunda razón es que gran parte de las titulaciones yodométricas se realizan en un medio fuertemente ácido, y el almidón tiende a hidrolizarse en solución ácida. La razón para usar soluciones ácidas es que la alta acidez promueve las reacciones entre muchos agentes oxidantes y el yodo.

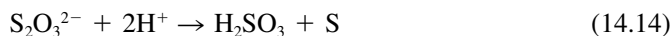
El almidón se agrega cerca del punto final.

Así,



como ejemplos.

La titulación se debe realizar rápidamente para minimizar la oxidación por aire del yoduro. La agitación debe ser eficiente para evitar el exceso localizado de tiosulfato, por-que se descompone en solución ácida:



Un indicio de tal exceso es la presencia de azufre coloidal, que hace nebulosa la solución. En los métodos yodométricos se agrega un gran exceso de yoduro para promover la reac-ción (efecto del ion común). El yoduro sin reaccionar no interfiere, pero puede oxidarse debido al aire si la titulación no se realiza de inmediato.

La solución de tiosulfato de sodio se estandariza yodométricamente contra un agente oxidante puro como $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KIO_3 , KBrO_3 , o cobre metálico (disuelto para dar Cu^{2+}). Con dicromato de potasio, el color verde profundo del ion crómico resultante hace un poco más difícil determinar el punto final de yodo-almidón. Cuando el cobre(II) se titula yodo-métricamente, el punto final es difuso, a menos que se agregue ion tiocianato. La reacción

Tabla 14.3

Determinaciones yodométricas

Sustancia determinada	Reacción con yoduro
MnO_4^-	$2\text{MnO}_4^- + 10\text{I}^- + 16\text{H}^+ \rightleftharpoons 2\text{Mn}^{2+} + 5\text{I}_2 + 8\text{H}_2\text{O}$
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 6\text{I}^- + 14\text{H}^+ \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 3\text{I}_2 + 7\text{H}_2\text{O}$
IO_3^-	$\text{IO}_3^- + 5\text{I}^- + 6\text{H}^+ \rightleftharpoons 3\text{I}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$
BrO_3^-	$\text{BrO}_3^- + 6\text{I}^- + 6\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Br}^- + 3\text{I}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$
Ce^{4+}	$2\text{Ce}^{4+} + 2\text{I}^- \rightleftharpoons 2\text{Ce}^{3+} + \text{I}_2$
Fe^{3+}	$2\text{Fe}^{3+} + 2\text{I}^- \rightleftharpoons 2\text{Fe}^{2+} + \text{I}_2$
H_2O_2	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{I}^- + 2\text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{[catalizador de Mo(VI)]}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{I}_2$
As(V)	$\text{H}_3\text{AsO}_4 + 2\text{I}^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_3\text{AsO}_3 + \text{I}_2 + \text{H}_2\text{O}$
Cu^{2+}	$2\text{Cu}^{2+} + 4\text{I}^- \rightleftharpoons 2\text{CuI} + \text{I}_2$
HNO_2	$2\text{HNO}_2 + 2\text{I}^- \rightleftharpoons \text{I}_2 + 2\text{NO} + \text{H}_2\text{O}$
SeO_3^{2-}	$\text{SeO}_3^{2-} + 4\text{I}^- + 6\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Se} + 2\text{I}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$
O_3	$\text{O}_3 + 2\text{I}^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{O}_2 + \text{I}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (se puede determinar en presencia de CO_2 arriba de pH 7)
Cl_2	$\text{Cl}_2 + 2\text{I}^- \rightleftharpoons 2\text{Cl}^- + \text{I}_2$
Br_2	$\text{Br}_2 + 2\text{I}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^- + \text{I}_2$
HClO	$\text{HClO} + 2\text{I}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Cl}^- + \text{I}_2 + \text{H}_2\text{O}$

primaria está dada en el ejemplo 14.6, pero el yodo se adsorbe sobre la superficie del precipitado de yoduro cuproso y sólo reacciona lentamente con el titulante de tiosulfato. El tiocianato recubre el precipitado con CuSCN y desplaza el yodo de la superficie. El tiocianato de potasio se debe agregar cerca del punto final, porque es oxidado lentamente por el yodo a sulfato. El pH se debe amortiguar alrededor de 3. Si es demasiado alto, el cobre(II) se hidroliza y precipita como hidróxido cúprico. Si es demasiado bajo, la oxidación por aire del yoduro se vuelve apreciable debido a que se cataliza en presencia de cobre. El cobre metálico se disuelve en ácido nítrico produciendo óxidos de nitrógeno, los cuales oxidan al yoduro; éstos pueden removerse por la adición de urea. En la tabla 14.3 se encuentran algunos ejemplos de determinaciones yodométricas.

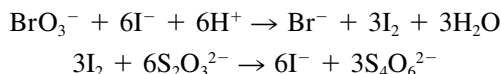


Ejemplo 14.7

Una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ se estandariza yodométricamente contra 0.1262 g de KBrO_3 de alta pureza, consumiendo 44.97 mL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. ¿Cuál es la molaridad del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$?

Solución

Las reacciones son



de modo que $\text{mmol S}_2\text{O}_3^{2-} = 6 \times \text{mmol BrO}_3^-$:

$$M_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}} \times 44.97 \text{ mL} = \frac{126.2 \text{ mg KBrO}_3}{167.01 \text{ (mg/mmol KBrO}_3)} \times 6 \text{ (mmol S}_2\text{O}_3^{2-}/\text{mmol BrO}_3^-)$$

$$M_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}} = 0.10082 \text{ mmol/mL}$$

14.6 Titulaciones con otros agentes oxidantes

Ya se han mencionado algunos agentes oxidantes que se pueden usar como titulantes. El titulante debe ser bastante estable y conveniente de preparar y manejar. Si es un agente oxidante demasiado fuerte, será tan reactivo que su estabilidad no será grande. Así, el flúor es uno de los agentes oxidantes más fuertes que se conocen, pero ciertamente no conviene usarlo en el laboratorio analítico ($E^0 = 3.06 \text{ V}$). El cloro sería un buen titulante, salvo que es volátil en solución acuosa y sería difícil preparar y mantener una solución estándar.

El **permanganato de potasio** es un titulante oxidante ampliamente usado. Actúa como autoindicador para la detección del punto final y es un agente oxidante muy fuerte ($E^0 = 1.51 \text{ V}$). La solución es estable si se toman precauciones en su preparación. Cuando se prepara la solución por primera vez, pequeñas cantidades de impurezas reductoras en la solución reducen una pequeña cantidad de MnO_4^- . En solución neutra, el producto de la reducción del permanganato es MnO_2 , en vez del Mn^{2+} que se produce en un medio ácido. El MnO_2 actúa como catalizador para continuar la descomposición del permanganato, lo cual produce más MnO_2 , y así sucesivamente; a esto se le denomina **descomposición autocatalítica**. La solución se puede estabilizar removiendo el MnO_2 . Así, antes de estandarizar, la solución se hierve para acelerar la oxidación de todas las impurezas, y se le permite reposar durante una noche; luego se remueve el MnO_2 por filtración con filtro de vidrio sinterizado. El permanganato de potasio se puede estandarizar titulado oxalato de sodio estándar primario, $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, que disuelto en ácido forma ácido oxálico:



La solución se debe calentar para tener una reacción rápida. La reacción está catalizada por el producto Mn^{2+} y procede muy lentamente al principio, hasta que se forma algo de Mn^{2+} . También se puede usar hierro metálico electrolítico puro como estándar primario. Éste se disuelve en ácido y se reduce a Fe^{2+} para titulación (véase la sección 14.8).

Hay una dificultad cuando se realizan titulaciones de permanganato sobre hierro(II) en presencia de ion cloruro. La oxidación del ion cloruro a cloro por permanganato a temperatura de laboratorio por lo regular es lenta. Sin embargo, la oxidación se cataliza por la presencia de hierro. Si se ha disuelto una muestra de hierro en ácido clorhídrico, o si se ha usado cloruro estanoso para reducirlo a hierro(II) (ver más adelante), la titulación se puede realizar agregando el **reactivo de Zimmermann-Reinhardt**. Éste contiene manganeso(II) y ácido fosfórico. El manganeso(II) reduce el potencial del par $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$ lo suficiente como para que el permanganato no oxide al ion cloruro; el potencial formal es menor que E^0 debido a la gran concentración de Mn^{2+} . Esta disminución en el potencial reduce la magnitud de la inflexión de punto final; por tanto, se agrega ácido fosfórico para complejar al hierro(III) y disminuir también el potencial del par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$; el hierro(II) no se compleja. En otras palabras, el hierro(III) se remueve de la solución conforme se forma para desplazar el equilibrio de la reacción de titulación hacia la derecha y dar un punto final nítido. El efecto total es una inflexión del potencial aún más pronunciada en la curva de titulación, si bien la curva entera se ha desplazado a un potencial menor.

Un efecto adicional de complejar el hierro(III) es que el complejo de fosfato es casi incoloro, en tanto que el cloro complejo (normalmente presente en el medio de cloruro) es de color amarillo profundo. El resultado es un cambio de color más nítido en el punto final.

El **dicromato de potasio**, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, es un agente oxidante ligeramente más débil que el permanganato de potasio. La gran ventaja de este reactivo es que está disponible como estándar primario y que la solución no necesita estandarizarse en la mayoría de los casos. Sin embargo, en la titulación de hierro(II) es preferible estandarizar el dicromato de potasio contra hierro electrolítico debido a que el color verde del ion crómico introduce un

El reactivo Z-R evita la oxidación del Cl^- por MnO_4^- , y hace nítido el punto final.

pequeño error en el punto final (indicador de sulfonato de difenilamina). La estandarización sólo es necesaria para los trabajos más exactos.

La oxidación del ion cloruro no es un problema con el dicromato; sin embargo, el potencial formal del par $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+}$ se reduce de 1.33 a 1.00 V en ácido clorhídrico 1 M, y se debe agregar ácido fosfórico para reducir el potencial del par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$. Tal adición también es necesaria porque disminuye el potencial del punto de equivalencia hasta casi el potencial estándar para el indicador de sulfonato de difenilamina (0.84 V). De otra manera, el punto final ocurriría demasiado pronto.

El **cerio(IV)** es un agente oxidante fuerte; su potencial formal depende del ácido que se use para mantenerlo en solución (se hidroliza para formar hidróxido cérico si la solución no es ácida). Las titulaciones por lo regular se realizan en ácido sulfúrico o perclórico. En el primer ácido, el potencial formal es 1.44 V, y en el segundo es 1.70 V, de modo que el cerio(IV) es un agente oxidante más fuerte en el ácido perclórico. El cerio(IV) se puede usar para gran parte de las titulaciones en las que se use permanganato y tiene varias ventajas. Es un agente oxidante muy fuerte y su potencial se puede hacer variar con la elección del ácido que se utilice. La rapidez de oxidación del ion cloruro es lenta, incluso en presencia de hierro, y las titulaciones se pueden llevar a cabo en presencia de cantidades moderadas de cloruro sin usar una solución preventiva de tipo Zimmermann-Reinhardt. La solución se puede calentar, pero no se debe hervir para no oxidar el ion cloruro. Las soluciones de cerio(IV) en ácido sulfúrico son estables indefinidamente. Las soluciones en ácido nítrico y perclórico, sin embargo, sí se descomponen, aunque sólo lentamente. Una ventaja adicional del cerio es que una sal de cerio(IV), el hexanitratocerato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$, se puede obtener como estándar primario y la solución no tiene que estandarizarse. La principal desventaja del cerio(IV) es su mayor costo en comparación con el permanganato de potasio, aunque éste no debe ser un factor importante si se obtiene un ahorro de tiempo. La ferroína es un indicador adecuado para muchas titulaciones con cerato.

Las soluciones de cerio(IV) se pueden estandarizar contra estándar primario de As_2O_3 , $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, o mediante hierro electrolítico. La reacción con arsénico(III) es lenta, y se debe catalizar añadiendo ya sea tetróxido de osmio (OsO_4) o monoclورو de yodo (ICl). La ferroína se usa como indicador. La reacción con oxalato también es lenta a temperatura de laboratorio, y se puede usar el mismo catalizador. Sin embargo, la reacción es rápida a temperatura de laboratorio en presencia de ácido perclórico 2 M; se usa nitroferroína como indicador.

Las soluciones de cerio(IV) que se van a estandarizar se preparan por lo regular a partir de sulfatocerato de amonio, $(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, nitratocerato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ (aunque *no* la variedad de estándar primario de alta pureza), u óxido cérico hidratado, $\text{CeO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. El estándar primario de nitratocerato de amonio se usa sólo si la solución no se va a estandarizar, debido a su mayor costo.

14.7 Titulaciones con otros agentes reductores

Las soluciones de agentes reductores no se usan tan ampliamente como los agentes oxidantes, porque la mayoría de ellos son oxidados por el oxígeno disuelto. Por tanto, son menos convenientes tanto en su preparación como en uso. El **tiosulfato** es el único agente reductor ordinario que es estable a la oxidación por aire y que se puede conservar durante largos periodos. Ésta es la razón por la que las titulaciones yodométricas son tan populares para determinar agentes oxidantes. Sin embargo, a veces se necesitan agentes reductores más enérgicos que el ion yoduro.

El **hierro(II)** sólo es oxidado lentamente por aire en una solución de ácido sulfúrico y es un agente titulante común. No es un agente reductor fuerte ($E^0 = 0.771$ V), y se puede usar para titular agentes oxidantes fuertes, como el cerio(IV), el cromo(VI) (dicromato) y

el vanadio(V) (vanadato). La ferroína es un buen indicador para las primeras dos titulaciones, y el sulfonato de difenilamina oxidado se usa para la última titulación. La estandarización del hierro(II) se debe verificar diariamente.

El **cromo(II)** y el **titanio(III)** son agentes reductores muy potentes, pero son oxidados fácilmente por el aire y son difíciles de manejar. El potencial estándar del primero es -0.41 V ($\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{2+}$), y el del segundo es 0.04 V ($\text{TiO}^{2+}/\text{TiO}^{3+}$). Las formas oxidadas de cobre, hierro, plata, oro, bismuto, uranio, tungsteno y otros metales se han titulado con cromo(II). El principal uso del Ti^{3+} es en la titulación de hierro(III), así como de cobre(II), estaño(IV), cromato, vanadato y clorato.

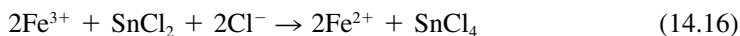
14.8 Preparación de la solución: ajuste del analito en el estado correcto de oxidación antes de la titulación

Cuando se disuelven las muestras, el elemento que se va a analizar por lo regular está en un estado mixto de oxidación o en un estado de oxidación distinto al que se requiere para la titulación. Hay diversos agentes oxidantes y reductores que se pueden usar para convertir diferentes metales a ciertos estados de oxidación antes de la titulación. En general debe removerse el exceso de preoxidante o prerreductor antes de titular el ion metálico.

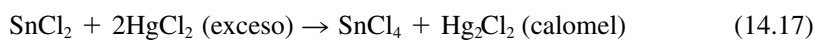
REDUCCIÓN DE LA MUESTRA ANTES DE LA TITULACIÓN

El agente reductor no debe interferir en la titulación, o si interfiere, el reactivo que no reaccionó debe ser fácil de eliminar. La mayor parte de los agentes reductores, por supuesto, reaccionan con los titulantes oxidantes, y debe ser posible eliminarlos. El **sulfito de sodio**, Na_2SO_3 , y el **dióxido de sulfuro** son buenos agentes reductores en solución ácida ($E^0 = 0.17\text{ V}$), y el exceso se puede remover mediante burbujeo con CO_2 o, en algunos casos, mediante ebullición. Si no hay SO_2 disponible se puede añadir sulfito o bisulfito de sodio a una solución acidificada. El talio(III) se reduce al estado +1; el arsénico(V) y el antimonio(V) al estado +3; el vanadio(V) al estado +4; el selenio y el telurio, al estado elemental. El hierro(III) y el cobre(II) se pueden reducir a los estados +2 y +1, respectivamente, si se agrega tiocianato para catalizar la reacción.

El **cloruro estanoso**, SnCl_2 , se utiliza en general para la reducción del hierro(III) a hierro(II) para titular con cerio(IV) o dicromato. La reacción es rápida en presencia de cloruro (HCl caliente). Cuando las muestras de hierro (por ejemplo, minerales) se disuelven (de ordinario en ácido clorhídrico), parte del hierro o todo él se encuentra en el estado de oxidación +3, y se debe reducir. La reacción con el cloruro estanoso es:



La reacción se completa cuando desaparece el color amarillo del complejo hierro(III)-cloro. El estaño(II) en exceso se elimina mediante adición de cloruro mercúrico:

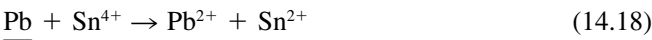


Se debe agregar un gran exceso de HgCl_2 frío, rápidamente y con agitación. Si es muy poco lo que se agrega, o si se agrega lentamente, algo del mercurio se reducirá, por excesos localizados de SnCl_2 , a mercurio elemental, un precipitado gris. El calomel, Hg_2Cl_2 , que es un precipitado blanco lechoso, no reacciona a una rapidez apreciable con el dicromato ni con el cerato, pero el mercurio sí. Con objeto de evitar un gran exceso de estaño(II) y el consiguiente peligro de formación de mercurio, el cloruro estanoso se adiciona gota

Se usan agentes reductores que se puedan remover fácilmente para reducir el analito antes de titularlo con un agente oxidante.

a gota hasta que desaparece justo el color amarillo del hierro(III). Si se observa un precipitado gris después de agregar el HgCl_2 se debe descartar la muestra. El cloruro estanoso también se puede utilizar para reducir As(V) a As(III) ; Mo(VI) a Mo(V) , y, con catalizador de FeCl_3 , para reducir U(VI) a U(IV) .

Los **reductores metálicos** se usan extensamente para preparar muestras. Normalmente se usan en forma granular en una columna por la que se pasa la solución de la muestra. La muestra se eluye de la columna pasando lentamente ácido diluido a través de ella; el ion metálico oxidado producido no interfiere en la titulación, y no hay presencia de exceso de reductor porque el metal es insoluble. Como ejemplo, se puede usar plomo para reducir estaño(IV):



La solución eluida de la columna contendrá Pb^{2+} y Sn^{2+} , pero no Pb. La tabla 14.4 ofrece una lista de varios reductores metálicos de uso común y algunos elementos que reducen. Las reducciones se llevan a cabo en solución ácida. En el caso del zinc, el zinc metálico se amalgama con mercurio para evitar el ataque del ácido para formar hidrógeno:



Algunas veces, la muestra reducida se oxida rápidamente por el aire, por lo que se debe titular bajo atmósfera de CO_2 por adición de bicarbonato de sodio a una solución ácida. Se debe excluir el aire de las soluciones de estaño(II) y titanio(III). Algunas veces, los elementos que son oxidados rápidamente por el aire se eluyen de la columna hacia una solución de hierro(III), con el extremo de la columna inmerso en la solución. La muestra reduce el hierro(III) para dar una cantidad equivalente de hierro(II), que se puede titular con dicromato. El molibdeno(III), que el hierro oxida a molibdeno(VI), y el cobre(I) se determinan de esta manera.

OXIDACIÓN DE LA MUESTRA ANTES DE LA TITULACIÓN

Se usan agentes oxidantes que puedan removerse fácilmente para oxidar el analito antes de la titulación con un agente reductor.

Se requieren agentes oxidantes muy fuertes para oxidar a la mayor parte de los elementos. El **ácido perclórico** anhidro caliente es un agente oxidante fuerte. Se puede usar para oxidar el cromo(III) a dicromato. La mezcla se debe diluir y enfriar muy rápidamente para evitar la reducción. El ácido perclórico diluido no es un agente oxidante fuerte, y sólo es necesario diluir la solución después de la oxidación. El cloro es un producto de la reducción del ácido perclórico, y se debe eliminar por ebullición de la solución diluida. Véase el capítulo 2 para las precauciones en el uso del ácido perclórico.

Tabla 14.4
Reductores metálicos

Reductor	Elemento reducido
Zn (Hg) (reductor de Jones)	$\text{Fe(III)} \rightarrow \text{Fe(II)}$, $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(II)}$, $\text{Cr(III)} \rightarrow \text{Cr(II)}$, $\text{Ti(IV)} \rightarrow \text{Ti(III)}$, $\text{V(V)} \rightarrow \text{V(II)}$, $\text{Mo(VI)} \rightarrow \text{Mo(III)}$, $\text{Ce(IV)} \rightarrow \text{Ce(III)}$, $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu}$
Ag (1 M HCl) (reductor de Walden)	$\text{Fe(III)} \rightarrow \text{Fe(II)}$, $\text{U(VI)} \rightarrow \text{U(IV)}$, $\text{Mo(VI)} \rightarrow$ Mo(V) (2 M HCl), $\text{Mo(VI)} \rightarrow \text{Mo(III)}$ (4 M HCl), $\text{V(V)} \rightarrow \text{V(IV)}$, $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$
Al	$\text{Ti(IV)} \rightarrow \text{Ti(III)}$
Pb	$\text{Sn(IV)} \rightarrow \text{Sn(II)}$, $\text{U(VI)} \rightarrow \text{U(IV)}$
Cd	$\text{ClO}_3^- \rightarrow \text{Cl}^-$

El **persulfato de potasio**, $K_2S_2O_8$, es un potente agente oxidante que se puede utilizar para oxidar cromo(III) a dicromato; vanadio(IV) a vanadio(V); cerio(III) a cerio(IV), y manganeso(II) a permanganato. Las oxidaciones se llevan a cabo en una solución de ácido caliente, y se debe agregar una pequeña cantidad de catalizador de plata(I). El exceso de persulfato se destruye por ebullición. Esta ebullición siempre reducirá algo del permanganato.

El **bromo** se usa para oxidar varios elementos, como $Tl(I)$ a $Tl(III)$, y yoduro a yodato. El exceso se elimina agregando fenol, que se broma. El **cloro** es un agente oxidante todavía más fuerte. El **permanganato** oxida el $V(IV)$ a $V(V)$, y el $Cr(III)$ a $Cr(VI)$. Esta última reacción es rápida sólo en solución alcalina; sin embargo, se puede usar para oxidar trazas de $Cr(III)$ en solución ácida, calentando. El exceso de permanganato se destruye agregando hidrazina, y el exceso de ésta se destruye hirviendo. El **peróxido de hidrógeno** oxida el $Fe(II)$ a $Fe(III)$; el $Co(II)$ a $Co(III)$ en solución suavemente alcalina, y el $Cr(II)$ a $Cr(VI)$ en solución fuertemente alcalina.

Para la mayor parte de las determinaciones redox se han descrito procedimientos específicos para la preparación de diferentes elementos en diversos tipos de muestras. Es importante reconocer el razonamiento detrás de las operaciones a partir de las explicaciones que se dan en este capítulo.

La única titulación redox común que se aplica en el laboratorio clínico es para el análisis de calcio en fluidos biológicos. El oxalato de calcio se precipita y se filtra; el precipitado se disuelve en ácido, y el oxalato, que es equivalente al calcio presente, se titula con solución de permanganato de potasio. Este método en la actualidad ha sido reemplazado en gran medida por técnicas más convenientes, como la titulación complejométrica con EDTA (véase el capítulo 9) o la medición con espectrofotometría de absorción atómica (capítulo 17).

14.9 Titulaciones potenciométricas [potenciometría indirecta]

Las titulaciones volumétricas en general se realizan de manera más conveniente con un indicador visual. En casos en los que no hay disponible un indicador visual, a menudo se puede usar la lectura potenciométrica del punto final. Las titulaciones potenciométricas están entre las más exactas que se conocen, porque el potencial sigue el cambio real en la actividad y, por tanto, el punto final con frecuencia coincide directamente con el punto de equivalencia. Como se ha mencionado en las explicaciones de las titulaciones volumétricas, éstas son más sensibles que los indicadores visuales. La potenciometría, por tanto, se emplea a menudo para soluciones diluidas.

Las titulaciones potenciométricas son directas; incluyen la medición de un potencial de electrodo indiciador contra un electrodo de referencia adecuado, y la graficación del cambio de esta diferencia de potencial contra el volumen del titulante. Véase en la figura 13.5 un arreglo para titulación potenciométrica. En el punto de equivalencia ocurrirá un gran quiebre de potencial. Como sólo es importante el *cambio* de potencial, no es necesario conocer el potencial *correcto* del electrodo indicador. Por ejemplo, en las titulaciones de pH, el electrodo de vidrio no se tiene que calibrar con un amortiguador estándar; de todos modos dará la misma *forma* para la curva de titulación, la cual se puede desplazar hacia arriba o hacia abajo en el eje de potencial. Sin embargo, es una buena idea tener alguna idea del valor correcto, de manera que sea posible prever el punto final y se puedan detectar dificultades anómalas.

Como no interesan los potenciales “absolutos”, el potencial de unión líquida pierde su importancia. Permanecerá algo constante durante toda la titulación, y los pequeños cambios serán insignificantes en comparación con el cambio del potencial en el punto

Las lecturas potenciométricas son más sensibles y exactas que la indicación visual.

final. Asimismo, no es necesario leer muy rigurosamente el potencial, de modo que para gran parte de las titulaciones se puede usar un medidor convencional de pH cuya escala esté dividida a los 10 mV más cercanos y que pueda estimarse al más próximo 1 mV.

TITULACIONES DE pH: USO DE LOS ELECTRODOS DE pH

Se usa un electrodo de vidrio para seguir las titulaciones ácido-base.

En el capítulo 8 se mostró que en las titulaciones ácido-base, el pH de la solución tiene una gran inflexión en el punto de equivalencia. Este cambio de pH se puede seguir fácilmente con un electrodo de vidrio para pH. Graficando el pH medido contra el volumen de titulante, se pueden obtener curvas de titulación similares a las que se muestran en el capítulo 8. El punto final se toma como el **punto de inflexión** del gran cambio de pH, que ocurre en el punto de equivalencia; ésta es la parte con mayor pendiente de la curva.

TITULACIONES DE PRECIPITACIÓN: USO DE ELECTRODOS DE PLATA

Se usa un electrodo de plata para seguir titulaciones con ion plata.

El electrodo indicador en las titulaciones de precipitación se usa para seguir el cambio en pM o pA, donde M es el catión del precipitado y A es el anión. En la titulación de ion cloro con ion plata, por ejemplo, será aplicable la ecuación 13.3 o la 13.10. En la primera ecuación, el término $(1/a_{\text{Ag}^+})$ es igual a pAg; y en la segunda ecuación, el término $\log a_{\text{Cl}^-} = -\text{pCl}$. Por tanto, el potencial del electrodo de plata variará en proporción directa a pAg o pCl, cambiando a $2.30 RT/F$ V (alrededor de 59 mV) para cada cambio de 10 veces en a_{Ag^+} o a_{Cl^-} . Una gráfica del potencial contra el volumen de titulante dará una curva idéntica en forma a la de la figura 11.1 (obsérvese que, como $a_{\text{Ag}^+}a_{\text{Cl}^-} = \text{constante}$, a_{Cl^-} es proporcional a $1/a_{\text{Ag}^+}$ y pCl es proporcional a $-\text{pAg}$, de modo que se obtiene la misma forma de curva si se grafica o se mide ya sea pCl o pAg).

TITULACIONES REDOX: USO DE ELECTRODOS DE PLATINO

Se usa un electrodo inerte (por ejemplo, de Pt) para seguir las titulaciones redox.

Como en general no hay dificultad para encontrar un electrodo indicador adecuado, las titulaciones redox se usan extensamente; por lo regular, un metal inerte como el platino es satisfactorio para el electrodo. Pero las formas oxidadas y reducidas son solubles en general, y su relación varía durante toda la titulación. El potencial del electrodo indicador varía en proporción directa a $\log (a_{\text{red}}/a_{\text{ox}})$, como en el potencial calculado para las curvas de titulación que se muestra en la figura 14.1 para la titulación de Fe^{2+} con Ce^{4+} . Como se señaló, el potencial está determinado por cualquiera de las dos semirreacciones. Por lo regular, el pH en estas titulaciones se mantiene casi constante, y cualquier término de H^+ en la ecuación de Nernst se irá del término logarítmico.

Se usa una curva de titulación potenciométrica para seleccionar el indicador redox apropiado (con E_{In}^0 cercano a $E_{\text{pto.equiv.}}$).

Una gráfica potenciométrica como la de la figura 14.1 es útil para evaluar o seleccionar un indicador visual adecuado para la titulación, en especial para una nueva. A partir del conocimiento del potencial de transición, a menudo es posible seleccionar un indicador cuya transición de color ocurra dentro de este intervalo de potenciales, o se puede medir realmente el potencial durante la titulación visual y observar el intervalo de transición de color en la curva potenciométrica para ver si corresponde al punto de equivalencia.

ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES EN LAS TITULACIONES: MEDICIÓN DEL pM

El término $\log a_{\text{ion}}$ en la ecuación 13.44 es igual a $-\text{pIon}$, y por tanto, se pueden usar electrodos selectivos de iones (ISE) para seguir cambios en pM durante una titulación. Por ejemplo, se puede usar un electrodo de vidrio selectivo para cationes sensible al ion de plata para seguir los cambios en pAg en titulaciones con nitrato de plata. Se puede usar un electrodo sensible al calcio para la titulación de calcio con EDTA. El electrodo no debe responder al ion sodio, ya que en general se utiliza la sal de sodio del EDTA. Si el electrodo responde a un segundo ion en la solución cuya actividad permanece más o menos cons-

tante durante toda la titulación, entonces será válida la ecuación 13.46, y la curva de titulación se distorsionará; esto es así porque el potencial del electrodo está determinado por $\log(a_{\text{ion}} + \text{constante})$, y no por $\log a_{\text{ion}}$. Si la contribución del segundo ion no es demasiado grande, entonces la distorsión tampoco lo será, y aún tendrá lugar una buena inflexión en el punto final. Las titulaciones en las que participan aniones también se pueden seguir con electrodos selectivos de aniones. Por ejemplo, el ion fluoruro se puede precipitar con lantano(III) y se puede usar un electrodo de fluoruro para marcar el punto final de la titulación.

Las titulaciones potenciométricas siempre son más exactas que la potenciometría directa, debido a las incertidumbres inherentes a las mediciones de potencial. Mientras que en la potenciometría directa rara vez es posible tener exactitudes mejores que unos pocos puntos porcentuales, en la titulación potenciométrica son comunes exactitudes de unas pocas décimas porcentuales. Se pueden hacer algunas aseveraciones generales respecto de las titulaciones potenciométricas:

Las titulaciones potenciométricas son más exactas que las mediciones directas con electrodos selectivos de iones, porque el potencial de unión líquida no es importante.

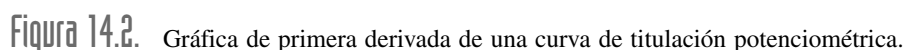
1. Las lecturas de potencial en general son lentas en soluciones diluidas y cerca del punto final, porque la solución está mal equilibrada.
2. Es necesario graficar el potencial sólo cerca del punto final. Se agregan pequeños incrementos del titulante cerca del punto final, como 0.1 o 0.05 mL. No es necesario agregar el volumen exacto de punto final, aunque éste se determina por interpolación de la gráfica de E contra volumen.
3. La polaridad del electrodo indicador relativa al electrodo de referencia puede cambiar durante la titulación. Es decir, la diferencia del potencial puede ir de una polaridad a cero, y luego a la polaridad inversa; por tanto, puede ser que la polaridad del dispositivo medidor de potencial deba cambiarse.

TITULACIONES DERIVADAS

La graficación o el registro de la primera o segunda derivada de una curva de titulación puede precisar con mayor exactitud el punto final.

1. Gráfica de primera derivada. Anteriormente se observó que en el punto final la pendiente de la curva de titulación era máxima. En otras palabras, la rapidez del cambio de potencial con la adición del titulante es máxima en el punto final; de esta manera, si se pudiera graficar la rapidez de cambio de potencial con respecto al cambio de volumen ($\Delta E/\Delta V$), entonces se generaría una curva con un máximo, y la cúspide de este máximo coincidiría con el punto final. Esto se logra de manera conveniente adicionando incrementos iguales de titulante cerca del punto final. Considérense los datos recolectados cerca del punto final durante una titulación, como se muestra en la hoja de cálculo de la siguiente página, los cuales se usan para calcular y graficar las curvas derivadas (por el momento no se haga caso de las últimas cuatro columnas). Se desea graficar $\Delta E/\Delta V$ contra el volumen para obtener la primera derivada (esta gráfica se muestra en la figura 14.2). El volumen que se usa es el *promedio* de los dos volúmenes que se usaron para calcular ΔE (columna III en la hoja de cálculo). Así, el volumen para $\Delta E/\Delta V = 0.4$ es 35.475 mL, y así sucesivamente. El punto final teóricamente es el máximo de esta gráfica, el cual se presenta en la figura a los 35.577 mL (esto se registraría como 35.58 mL). En una gráfica manual se extrapolarían los puntos a cada lado de la curva para obtener la intersección. La extrapolación de una gráfica de primera derivada puede llevar a una incertidumbre que es posible evitar parcialmente mediante una gráfica de segunda derivada (véase más adelante).

Obsérvese que aquí se han usado incrementos iguales de volumen, y así ΔE se podría haber graficado en lugar de $\Delta E/\Delta V$. Estos incrementos iguales no son necesarios, pero acortan los cálculos. Aunque el volumen promedio se puede calcular a 0.001 mL para efectos de graficación, experimentalmente no hay justificación para reportar el punto final con una exactitud mayor de 0.01 mL.



2. Gráfica de segunda derivada. Matemáticamente, la segunda derivada de una curva de titulación debe pasar por el cero en el punto de equivalencia. Las últimas cuatro columnas de la hoja de cálculo ilustran cómo se puede obtener tal gráfica. La segunda derivada es la rapidez de cambio de la primera (columna VIII) con respecto al cambio en el volumen promedio (columna IX). Al dividir la columna VIII entre la IX se obtiene la segunda derivada [$\Delta^2 E/\Delta V^2$ o $\Delta(\Delta E/\Delta V_1)/\Delta V_2$, columna X]. El promedio de los dos volúmenes sucesivos usados para la gráfica de la primera derivada (columna III) se usa para la gráfica de la segunda derivada (columna VII). Véase la figura 14.3. De nuevo hay algo de extrapolación, pero es menos significativa que en la gráfica de primera derivada. La curva pasa por el cero a 35.579 mL, de modo que el punto final se toma como 35.58 mL. Como antes,

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Derivada de titulación: Red contra Ox									
2	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
3			Primera derivada				Segunda derivada			
4	V, mL	E	V_{prom1}	ΔE	ΔV₁	ΔE/ΔV₁	V_{prom2}	Δ(ΔE/ΔV₁)	ΔV₂	Δ²E/ΔV²
5	35.45	0.630								(Δ(ΔE/ΔV ₁)/ΔV ₂)
6	35.50	0.650	35.475	0.020	0.05	0.400				
7	35.55	0.680	35.525	0.030	0.05	0.600	35.500	0.20	0.050	4.00
8	35.60	0.800	35.575	0.120	0.05	2.400	35.550	1.80	0.050	36.00
9	35.65	0.860	35.625	0.060	0.05	1.200	35.600	-1.20	0.050	-24.00
10	35.70	0.890	35.675	0.030	0.05	0.600	35.650	-0.60	0.050	-12.00
11	35.75	0.910	35.725	0.020	0.05	0.400	35.700	-0.20	0.050	-4.00
12	Celda C6 = V_{prom1} =	(A5+A6)/2		Copiar todas las fórmulas hacia abajo hasta el final						
13	Celda D6 = ΔE =	B6-B5								
14	Celda E6 = ΔV₁ =	A6-A5								
15	Celda F6 = ΔE/ΔV₁ =	D6/E6								
16	Celda G7= V_{prom2} =	(C6+C7)/2								
17	Celda H7= Δ(ΔE/ΔV₁) =	F7-F6								
18	Celda I7 = ΔV₂ =	C7-C6								
19	Celda J7 = Δ²E/ΔV² =	H7/I7								
20	1a. derivada: graficar C6:C11 contra F6:F11									
21	2a. derivada: graficar G7:G11 contra J7:J11									

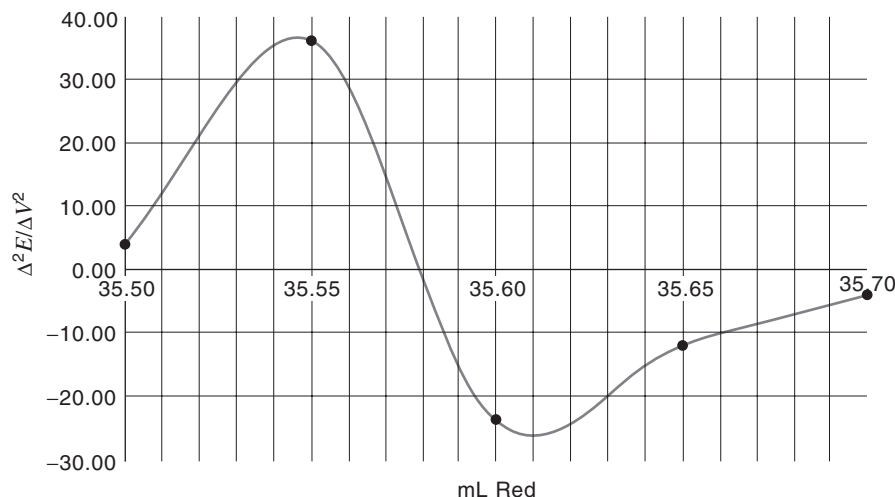


Figura 14.3. Gráfica de segunda derivada de una curva de titulación potenciométrica.

hay justificación experimental para reportarla sólo con una exactitud de 0.01 mL. Nuevamente, como se agregaron incrementos iguales de volumen, V_{2a} fue constante, y se podría haber graficado la columna VIII en vez de la X para ahorrar cálculos. Esto, sin embargo, no funcionaría si no se agregasen incrementos iguales de volumen. Véase la referencia 4 de Carter y Huff para una discusión de las gráficas de segunda derivada.

En ambos métodos, el incremento de volumen no debe ser demasiado grande o no habrá suficientes puntos cerca del punto final. Si los incrementos son lo suficientemente pequeños, entonces quizá no sea necesaria en absoluto la extrapolación de las gráficas de segunda derivada debido a que habrá dos o más puntos sobre la porción de línea recta de la gráfica que pasa por el cero. Por otro lado, los incrementos no deben ser tan pequeños como para ser tediosos y caer dentro del error experimental de la medición de volumen. Por lo regular se toman más puntos que los ilustrados aquí. Por supuesto, estos pequeños incrementos de volumen se toman sólo cerca del punto final. En algunas titulaciones, el vire de potencial es lo suficientemente grande como para que la magnitud del cambio de potencial se pueda notar con incrementos iguales de volumen adicionado, y el punto final se pueda tomar como el punto con el máximo cambio. También es conveniente, a veces, simplemente titular hasta el potencial de punto final que se ha determinado a partir de cálculos o empíricamente a partir de una curva de titulación medida.

Se debe hacer una advertencia precautoria con respecto a los métodos de derivación. Las derivadas tienden a amplificar el ruido o la dispersión en los puntos de los datos, y esta tendencia es peor en la segunda derivada. Por tanto, si una titulación en específico está sujeta a ruido o fluctuaciones de potencial puede ser preferible una gráfica directa.

Cada vez que se toma una derivada se amplifica el ruido.

GRÁFICAS DE GRAN PARA DETECCIÓN DE PUNTO FINAL

Supóngase que en vez de graficar el potencial de electrodo (que es una función logarítmica de la concentración) contra el volumen de titulante, se graficase la concentración del analito remanente en cada punto de la titulación. En principio, esto daría por resultado una gráfica de línea recta (descartando los cambios de volumen) en la que la concentración disminuiría hasta cero en el punto de equivalencia (suponiendo que el equilibrio para la reacción de titulación se ubica muy a la derecha). Esto se debe a que a 20% de la titulación, quedará 80% de la muestra; a 50%, quedará 50%; a 80%, quedará 20%, y así sucesivamente (en la práctica se hace una gráfica en la región del punto final). Del mismo modo, una gráfica de la concentración de titulante más allá del punto de equivalencia sería una gráfica lineal de concentración creciente que se extrapolaría a concentración cero en el punto final.

Considérese la titulación de ion cloruro con solución de nitrato de plata. Salvo cerca del punto de equivalencia, donde la solubilidad se vuelve apreciable en comparación con el cloruro sin reaccionar, la concentración de cloruro en solución en cualquier punto de la titulación se calcula a partir de los moles iniciales menos los moles que reaccionaron con el AgNO_3 :

$$[\text{Cl}^-] = \frac{M_{\text{Cl}}\text{mL}_{\text{Cl}} - M_{\text{Ag}}\text{mL}_{\text{Ag}}}{\text{mL}_{\text{Cl}} + \text{mL}_{\text{Ag}}} \quad (14.20)$$

El potencial de un electrodo selectivo al ion cloruro (descartando los coeficientes de actividad) es

$$E_{\text{celda}} = k - S \log[\text{Cl}^-] \quad (14.21)$$

o

$$\log[\text{Cl}^-] = \frac{k - E_{\text{celda}}}{S} \quad (14.22)$$

donde S es la pendiente potenciométrica empírica en la ecuación de Nernst (teóricamente 0.059) y k es la constante empírica de la celda potenciométrica (en teoría, la diferencia en los valores de E^0 para los electrodos indicador y de referencia). Sustituyendo (14.20) en (14.22):

$$\log \left(\frac{M_{\text{Cl}}\text{mL}_{\text{Cl}} - M_{\text{Ag}}\text{mL}_{\text{Ag}}}{\text{mL}_{\text{Cl}} + \text{mL}_{\text{Ag}}} \right) = \frac{k - E_{\text{celda}}}{S} \quad (14.23)$$

$$(\text{mL}_{\text{Cl}} + \text{mL}_{\text{Ag}}) \text{antilog} \left(\frac{k - E_{\text{celda}}}{S} \right) = M_{\text{Cl}}\text{mL}_{\text{Cl}} - M_{\text{Ag}}\text{mL}_{\text{Ag}} \quad (14.24)$$

Una gráfica de mL_{Ag} (la variable) contra el lado izquierdo de la ecuación dará una línea recta (en los cálculos anteriores, las lecturas están corregidas por cambios de volumen). Ésta se conoce como **gráfica de Gran** (ver las referencias 5-7). El punto de equivalencia ocurre cuando $\text{mmol Cl} = \text{mmol Ag}$; es decir, cuando el término del lado izquierdo (eje y) es cero. La gráfica sería como se ilustra en la figura 14.4. Hay una curvatura cerca del punto final debido a la solubilidad finita del cloruro de plata; es decir, el término del antilogaritmo no llega a cero (el potencial tendría que llegar a infinito), de modo que se hace la extrapolación en varios puntos ligeramente anteriores al punto final.

La aplicación de la ecuación (14.24) a la gráfica de Gran supone el conocimiento de la constante k en la ecuación de Nernst con objeto de construir la intersección cero con el eje y. Esta intersección y la pendiente se pueden determinar a partir de los estándares.

La gráfica de Gran también se puede trazar empíricamente de varias maneras. Se puede construir una curva de calibración de potencial contra concentración de analito y usarla para convertir las lecturas de potencial directamente en lecturas de concentración: la intersección de punto final correspondería entonces a la concentración cero sobre el eje y, o se puede usar la escala logarítmica sobre el dispositivo de medición de potencial (por ejemplo, medidor de pH) para leer directamente los valores de la concentración después de calibrar la escala con uno o más estándares (con cada $59/n$ mV siendo iguales a un cambio de 10 veces en la concentración). Alternativamente, se puede calcular el antilogaritmo de la lectura de potencial o de pH y graficarlo contra el volumen de titulante ($E \propto \log C$, $\text{antilog } E \propto C$). La intersección correspondería entonces al potencial determinado para concentración de analito cero.

También se puede obtener una gráfica de Gran para el titulante más allá del punto final (en la cual el término antilog aumenta linealmente desde cero en el punto final); en este caso, el potencial de la intersección se determina mejor a partir de la titulación de un blanco y una extrapolación de la porción lineal del eje y a cero mililitros.

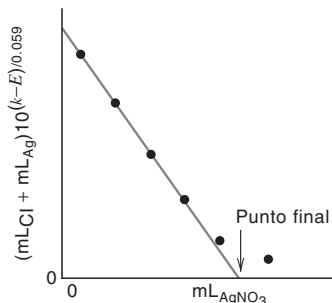


Figura 14.4. Gráfica de Gran para la ecuación 14.24.

Los valores antilog, que son directamente proporcionales a la concentración, se deben corregir para cambios de volumen. Los valores corregidos se obtienen multiplicando los valores observados por $(V + v)/V$, donde V es el volumen inicial y v es el volumen agregado.

Además de la ventaja de ser lineales, las gráficas de Gran no necesitan mediciones alrededor del punto final, donde el potencial tiende a fluctuar debido al bajo nivel del ion que se está detectando y donde se deben agregar incrementos muy pequeños del titulante. Sólo se requieren unos pocos puntos de la línea recta a una distancia lejana del punto final.

En la figura 14.5 se muestra una gráfica de Gran común para la titulación de pequeñas cantidades de cloruro con ion plata. El exceso de titulante se monitorea con un electrodo de $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{S}$. Se muestra una gráfica proporcional a la concentración de titulante (eje derecho de ordenadas) junto con la gráfica potenciométrica usual en forma de S (eje izquierdo de ordenadas); se presenta un pequeño punto de inflexión potenciométrico debido a las bajas concentraciones involucradas. La gráfica de línea recta se extrapola hacia atrás hasta el eje horizontal para determinar el punto final (se realiza la titulación de un blanco y la gráfica lineal del blanco se extrapola a cero mililitros para determinar con exactitud el eje horizontal). La curvatura de la línea recta cerca del punto final por lo general indica una solubilidad apreciable de un precipitado, disociación de un complejo, etcétera.

Las gráficas lineales ofrecen varias ventajas; sólo se requieren unos pocos puntos para definir una línea recta y el punto final se identifica fácilmente extrapolando la línea hasta el eje horizontal; los puntos sólo necesitan determinarse con exactitud a cierta distancia del punto de equivalencia, donde hay suficiente exceso del titulante para suprimir la disociación del producto de la titulación, y donde la respuesta del electrodo es rápida porque uno de los iones está en niveles relativamente altos en comparación con los niveles en el punto de equivalencia. En el caso de puntos de inflexión pequeños (figura 14.5), el punto final se define más fácilmente mediante una gráfica de Gran.

También se puede obtener una gráfica tipo Gran graficando el recíproco de una curva de primera derivada, es decir $\Delta E/\Delta V$ contra V . Como en una titulación derivada $\Delta V/\Delta E$ tiende a infinito en el punto de equivalencia, el valor recíproco tenderá a cero donde se presente la intersección de las dos líneas, y por tanto se obtendrá una gráfica en forma de V. En esta aplicación se grafica el volumen promedio entre los dos incrementos, como en la gráfica de la primera derivada. Los valores $\Delta E/\Delta V$ se deben corregir para cambios de volumen, para obtener líneas rectas ($\Delta E/\Delta V$ es linealmente dependiente de los cambios de volumen).

Con una gráfica de Gran no es necesario acertar al punto final de la titulación.

Se puede utilizar la primera derivada de una titulación para preparar una gráfica de Gran.

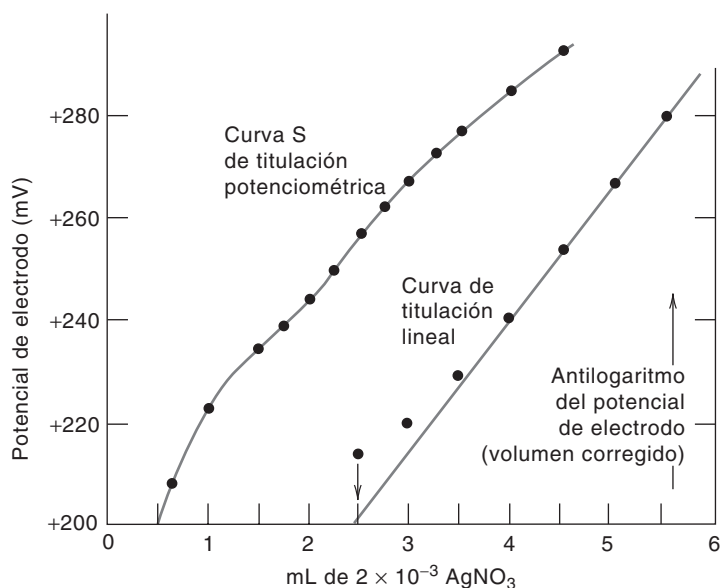


Figura 14.5. Gráfica de Gran para la titulación de 100 mL de $\text{Cl}^- 5 \times 10^{-5} \text{ M}$ con AgNO_3 usando un electrodo de Ag_2S (cortesía de Orion Research, Inc.).

La calibración por adiciones de estándar se corrige para efectos de la matriz de la muestra. El estándar se adiciona a la muestra.

Una gráfica tipo Gran es adecuada para los procedimientos de **adiciones de estándar** o **adiciones conocidas**. Los métodos de adiciones de estándar son procedimientos útiles de calibración cuando la matriz de la muestra afecta la señal del analito. En estos métodos se registra una señal para la muestra y luego se agrega una cantidad conocida de un estándar a la muestra y se mide el cambio en la señal. Esta última medición proporciona la calibración en la misma matriz que la del analito desconocido, y la matriz debe tener el mismo efecto tanto en el analito desconocido como en el estándar. En este caso, lo que se calcula es la respuesta del electrodo. La mayor parte de los métodos analíticos dan una respuesta lineal al analito; pero en potenciometría la respuesta es logarítmica. Empleando una gráfica tipo Gran se puede obtener una gráfica lineal simplificando el cálculo. Aquí se registra inicialmente el potencial de la muestra, y luego se agregan cantidades conocidas de estándar a la muestra. Se grafican los valores antilog como función de la cantidad de estándar agregada a la muestra, y se traza a través de ellos la mejor línea recta posible (por ejemplo, por análisis de mínimos cuadrados). La extrapolación hasta el eje horizontal (determinado a partir de mediciones similares sobre un “blanco” con extrapolación a concentración cero) da la cantidad equivalente de analito en la muestra (figura 14.6).

Al aplicar el método de adiciones de estándar, lo más conveniente es agregar pequeños volúmenes de estándar concentrado a la solución de la muestra, con objeto de minimizar el cambio de volumen y, por tanto, hacer innecesarias las correcciones por volumen. Por ejemplo, se podrían agregar $100\ \mu\text{L}$ de un estándar de $1\ 000\ \text{ppm}$ a $10\ \text{mL}$ de muestra, para aumentar la concentración en $10\ \text{ppm}$. El cambio de volumen es de sólo 1% , y probablemente se pueda ignorar. Los incrementos de concentración deben ser cercanos a la concentración desconocida.

El método de adiciones estándar se puede aplicar también matemáticamente, como se ilustra en el ejemplo 14.8.

Ejemplo 14.8

La concentración de calcio en suero se determina usando un electrodo selectivo de iones. El potencial medido con el electrodo en la muestra es $+217.6\ \text{mV}$. La adición de $100\ \mu\text{L}$ de un estándar de $2\ 000\ \text{ppm}$ a $2.00\ \text{mL}$ de muestra y la medición del potencial da $+226.8\ \text{mV}$. Suponiendo una respuesta nernstiana ($59.2/2\ \text{mV}$ por cambio de 10 veces en la actividad), ¿cuál es la concentración de calcio en la muestra?

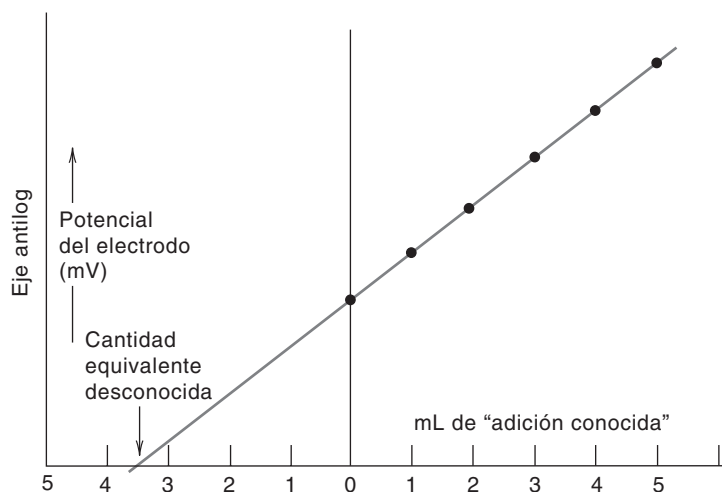


Figura 14.6. Adición conocida usando papel de gráfica Gran (cortesía de Orion Research, Inc.).

Solución

Como el analito y el estándar están sujetos a la misma matriz y a la misma fuerza iónica, el electrodo responde de manera nernstiana a la concentración (véase la sección 13.8). Se puede escribir

$$E = k + 29.6 \log[\text{Ca}^{2+}]$$

El estándar (0.100 mL) se diluye en la muestra (2.00 mL) aproximadamente 1:20 para dar una concentración agregada de 100 ppm o, más precisamente, corrigiendo por el cambio de volumen de 5%:

$$C = 2\,000 \text{ ppm} \times \frac{0.100 \text{ mL}}{2.10 \text{ mL}} = 95.2 \text{ ppm}$$

Sea x igual a la concentración desconocida en partes por millón:

$$217.6 \text{ mV} = k + 29.6 \log x \quad (1)$$

$$\underline{226.8 \text{ mV} = k + 29.6 \log(x + 95.2)} \quad (2)$$

Restando (2) de (1):

$$-9.2 \text{ mV} = 29.6 \log x - 29.6 \log(x + 95.2)$$

$$-9.2 \text{ mV} = 29.6 \log \frac{x}{x + 95.2}$$

$$\log \frac{x}{x + 95.2} = -0.311$$

$$\frac{x}{x + 95.2} = 0.467$$

$$x = 83.5 \text{ ppm}$$

Si no se conoce la pendiente real para el electrodo, entonces se deben hacer adiciones múltiples del estándar para determinar la forma real.

.....

TITULADORES AUTOMÁTICOS

Hay numerosos tituladores automáticos que emplean la detección potenciométrica del punto final. Por lo regular pueden registrar automáticamente la primera o la segunda derivada de la curva de titulación y desplegar la lectura del volumen de punto final. La muestra se coloca en el recipiente de titulación, y el titulante, que se toma de un reservorio, se coloca en una bureta accionada por una jeringa. El volumen se lee digitalmente a partir del desplazamiento del émbolo de la jeringa por un dispositivo electrónico. Los tituladores también pueden utilizar detección fotométrica de cambios de color del indicador. En la figura 14.7 se muestra un titulador automático. Con los tituladores automáticos, los análisis volumétricos se vuelven rápidos, reproducibles y convenientes. Aunque los métodos instrumentales tienen grandes ventajas, los análisis volumétricos clásicos todavía se usan extensamente y son muy útiles, en especial para constituyentes principales; por ejemplo, en la industria farmacéutica.



Figura 14.7. Titulador potenciométrico automático (cortesía de Brinkmann Instruments, Inc.).

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Balanceo de reacciones redox, p. 414
- Cálculo de la constante de equilibrio de la reacción a partir de los potenciales estándar (ecuación clave: 14.1; ejemplo 14.3), p. 415
- Cálculo de curvas de titulación redox, p. 418
- Indicadores redox, p. 422
- Yodimetría y yodometría, pp. 424, 426
- Preparación del analito para la titulación, p. 431
- Titulaciones potenciométricas, p. 433
- Titulaciones derivadas: uso de hojas de cálculo para graficar, p. 435
- Gráficas de Gran, p. 437

Preguntas

1. Describir las maneras en que se pueden detectar visualmente los puntos finales de titulaciones redox.
2. Distinguir entre yodimetría y yodometría.
3. ¿Por qué las titulaciones yodimétricas se hacen en general en solución neutra y las yodométricas en solución ácida?

4. ¿El punto final en una titulación con permanganato coincide con el punto de equivalencia? Explicar y sugerir cómo se pueden corregir las discrepancias.
5. Explicar la función del reactivo de Zimmermann-Reinhardt en la titulación de hierro(II) con permanganato.

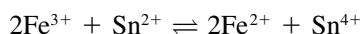
Problemas

BALANCEO DE REACCIONES REDOX

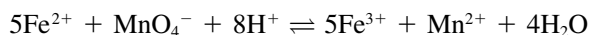
6. Balancear las siguientes reacciones acuosas:
 - a) $\text{IO}_3^- + \text{I}^- \rightarrow \text{I}_2$ (solución ácida)
 - b) $\text{Se}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{SeO}_3 + \text{Se} + \text{HCl}$
 - c) $\text{H}_3\text{PO}_3 + \text{HgCl}_2 \rightarrow \text{Hg}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{HCl}$
7. Balancear las siguientes reacciones acuosas:
 - a) $\text{MnO}_4^{2-} \rightarrow \text{MnO}_2 + \text{MnO}_4^-$ (solución alcalina)
 - b) $\text{MnO}_4^- + \text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{Mn}^{2+} + \text{S}$
 - c) $\text{SbH}_3 + \text{Cl}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_4\text{Sb}_2\text{O}_7 + \text{HCl}$
 - d) $\text{FeS} + \text{NO}_3^- \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{NO}_2 + \text{S}$ (solución ácida)
 - e) $\text{Al} + \text{NO}_3^- \rightarrow \text{AlO}_2^- + \text{NH}_3$
 - f) $\text{FeAsS} + \text{ClO}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{AsO}_4^{3-} + \text{SO}_4^{2-} + \text{Cl}^-$ (solución ácida)
 - g) $\text{K}_2\text{NaCo}(\text{NO}_2)_6 + \text{MnO}_4^- \rightarrow \text{K}^+ + \text{Na}^+ + \text{Co}^{3+} + \text{NO}_3^- + \text{Mn}^{2+}$ (solución ácida)
8. Se mezclan volúmenes iguales de TiNO_3 0.10 M y $\text{Co}(\text{NO}_3)_3$ 0.20 M. ¿Cuál es el potencial en la solución contra el electrodo estándar de hidrógeno (NHE)?
9. Calcular el potencial en la solución (contra electrodo estándar de hidrógeno) en la titulación de 50.0 mL de Fe^{2+} 0.100 M en HClO_4 1.00 M con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 0.0167 M a 10, 25, 50 y 60 mL de titulante agregado.
10. Calcular el potencial en la solución (contra electrodo estándar de hidrógeno) en la titulación de 100 mL de Fe^{2+} 0.100 M en H_2SO_4 0.500 M con KMnO_4 0.0200 M a 10.0, 50.0, 100 y 200 mL de titulante de KMnO_4 0.020 M. Suponga que el H_2SO_4 está completamente ionizado.

POTENCIALES DE PUNTO DE EQUIVALENCIA

11. ¿Cuál debe ser el potencial en el punto de equivalencia en la titulación de Fe^{3+} con Sn^{2+} ?
12. La ecuación 14.2 se dedujo usando dos semirreacciones con valores de n iguales. Deducir una ecuación similar para la siguiente reacción (que se usó en el problema 11) usando los valores numéricos n :

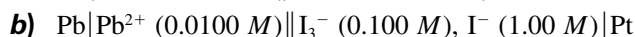
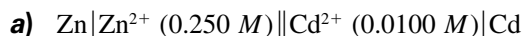


13. Derivar una ecuación similar a la ecuación 14.2 para la siguiente reacción, recordando incluir un término para el ion hidrógeno:



Usar la ecuación derivada para calcular el potencial del punto final en la titulación del ejemplo 14.4 y comparar con el valor obtenido en ese ejemplo, calculando las concentraciones al equilibrio.

14. Para las siguientes celdas, calcular el voltaje de celda antes de la reacción y cada potencial de semicelda después de la reacción. También calcular las constantes de equilibrio de las reacciones:



CÁLCULOS CUANTITATIVOS

15. El selenio en una muestra de suelos de -10.0 g se destila como el tetrabromuro, el cual se recolecta en solución acuosa donde se hidroliza a SeO_3^{2-} . El SeO_3^{2-} se determina yodométricamente, consumiendo 4.5 mL de solución estándar de tiosulfato para la titulación. Si el título del tiosulfato es 0.049 mg de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{mL}$, ¿cuál es la concentración de selenio en la muestra de suelos en ppm?
16. El calcio en una muestra de 5.00 mL de suero se precipita como CaC_2O_4 con oxalato de amonio. El filtrado precipitado se disuelve en ácido, la solución se calienta y se titula al oxalato con KMnO_4 $0.00100 M$, con un consumo de 4.94 mL. Calcular la concentración de calcio en el suero en meq/L (equivalentes basados en la carga).
17. Una muestra de 2.50 g que contiene As_2O_3 , Na_2HASO_3 y un material inerte se disuelve ajustando el pH a neutro con exceso de NaHCO_3 . El As(III) se titula con una solución $0.150 M$ de I_2 , con un consumo de 11.3 mL para llegar justo al punto final. Luego la solución (ahora todo el arsénico está en el estado $+5$) se acidifica con HCl , se agrega un exceso de KI , y el yodo liberado se titula con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0.120 M$, consumiendo 41.2 mL. Calcular el porcentaje de As_2O_3 y de Na_2HASO_3 en la muestra.
18. Si 1.00 mL de una solución de KMnO_4 reacciona con 0.125 g de Fe^{2+} y si 1.00 mL de solución de $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ reacciona con 0.175 mL de la solución de KMnO_4 , ¿cuántos mililitros de NaOH $0.200 M$ reaccionarán con 1.00 mL de la solución de tetraoxalato? (los tres protones del tetraoxalato son titulables).
19. El contenido de sulfuro en un efluente de una planta de pulpa de celulosa se determina con un electrodo selectivo al ion sulfuro, usando el método de adiciones estándar para la calibración. Una muestra de 10.0 mL se diluye a 25.0 mL con agua y da una lectura de potencial de -216.4 mV. Una muestra similar de 10.0 mL más 1.00 mL de estándar de sulfuro $0.030 M$ diluida a 25.0 mL da una lectura de -224.0 mV. Calcular la concentración de sulfuro en la muestra.

GRÁFICAS DE GRAN

20. Comenzando con la expresión K_a para un ácido débil HA y sustituyendo los volúmenes de titulante en $[\text{HA}]$ y $[\text{A}^-]$, demostrar que la siguiente expresión es válida hasta el punto de equivalencia para la titulación de HA con una base fuerte B:

$$V_B[\text{H}^+] = K_a(V_{\text{pto. equiv.}} - V_B) = V_B 10^{-\text{pH}}$$

donde V_B es el volumen de la base adicionada y $V_{\text{pto. equiv.}}$ el volumen adicionado en el punto de equivalencia. Una gráfica de V_B contra $V_B 10^{-\text{pH}}$ da una línea recta con una pendiente de $-K_a$ y una intersección correspondiente al punto de equivalencia.

PROBLEMA DE HOJA DE CÁLCULO

21. Preparar una hoja de cálculo para graficar la curva de titulación de la figura 14.1. Tomar K_{eq} como 1.7×10^{14} .

Referencias recomendadas**ECUACIONES REDOX**

1. C. A. Vanderhoff, "A Consistent Treatment of Oxidation-Reduction", *J. Chem*, ed., 25 (1948) 547.
2. R. G. Yolman, "Writing Oxidation-Reduction Equations", *J. Chem*, ed., 36 (1959) 215.

POTENCIAL DEL PUNTO DE EQUIVALENCIA

3. A. J. Bard y S. H. Simpsensen, "The General Equation for the Equivalence Point Potential in Oxidation-Reduction Titrations", *J. Chem. Educ.*, 37 (1960) 364.

DERIVACIÓN DE TITULACIONES

4. K. N. Carter y R. B. Huff, "Second Derivative Curves and End-Point Determination", *J. Chem*, ed., 56 (1979) 26.

GRÁFICAS DE GRAN

5. G. Gran, "Determination of Equivalent Point in Potentiometric Titrations", *Acta Chem. Scand.*, 4 (1952) 661.
6. G. Gran, "Determination of the Equivalence Point in Potentiometric Titrations, Part II", *Analyst*, 77 (1952) 661.
7. C. C. Westcott, "Ion-Selective Measurements by Gran Plots with a Gran Ruler", *Anal. Chim. Acta*, 86 (1976) 269.
8. H. Li, "Improvement of Gran's Plot Method in Standard Addition and Subtraction Methods by a New Plot Method", *Anal. Lett.*, 24 (1991) 473.



Capítulo quince

VOLTAMPEROMETRÍA Y SENSORES ELECTROQUÍMICOS

Los métodos electrolíticos incluyen algunas de las técnicas instrumentales más exactas y sensibles. En estos métodos un analito se oxida o se reduce en un electrodo apropiado dentro de una celda electrolítica gracias a la aplicación de un voltaje (véase el capítulo 12), y la cantidad de electricidad (o corriente) usada en la electrólisis se relaciona con la cantidad de analito. La fracción de analito electrolizado puede ser muy pequeña, de hecho imperceptible, en las técnicas de corriente-voltaje de la voltamperometría. Se pueden medir concentraciones micromolares o más pequeñas. Como el potencial al que se oxida o reduce un analito dado depende de la sustancia específica, se puede lograr selectividad en los métodos electrolíticos si se elige adecuadamente el potencial de electrólisis. Debido a la especificidad de los métodos, a menudo son innecesarias las separaciones previas. Por tanto, estos métodos pueden ser rápidos.

En este capítulo se discuten los métodos voltamperométricos y los sensores electroquímicos asociados, incluyendo los electrodos modificados químicamente. Las técnicas voltamperométricas usan un microelectrodo para microelectrólisis. Aquí el potencial es barrido y una solución diluida del analito produce, a un potencial dado, una corriente límite (en el intervalo de microamperios o menos), que es proporcional a la concentración de analito. La amperometría es la aplicación de la voltamperometría a un potencial fijo para seguir, mediante la corriente, cambios en la concentración de una especie dada, por ejemplo durante una titulación. Las mediciones amperométricas constituyen también la base de los sensores electroquímicos.

En este capítulo se describirá en detalle cada una de estas técnicas. Será útil repasar el capítulo 13 sobre potenciometría antes de leer este material.

15.1 Voltamperometría

En la voltamperometría se barre el potencial en un microelectrodo, y a cierto potencial, el analito se reduce o se oxida. La corriente aumenta en proporción a la concentración del analito.

La voltamperometría es esencialmente una electrólisis a microescala usando un microelectrodo de trabajo (por ejemplo, un alambre de platino). Como lo indica el nombre, se trata de una técnica de corriente-voltaje. El potencial del microelectrodo de trabajo se varía (se barre lentamente) y la corriente resultante se registra como una función del potencial aplicado. El registro se llama **voltamperograma**. Si hay una especie electroactiva (reducible u oxidable), se registrará una corriente cuando el potencial aplicado se vuelva sufi-

cientemente negativo o positivo para que esa especie se electrolice [por convención, una corriente catódica (reducción) es + y una corriente anódica (oxidación) es -]. Si la solución se encuentra diluida, la corriente alcanzará un valor límite porque el analito sólo se puede difundir hacia el electrodo y electrolyzarse con una rapidez finita, dependiendo de su concentración. Más adelante se verá que la corriente límite es proporcional a la concentración de la especie. El microelectrodo restringe la corriente a unos cuantos microamperios o menos, y por tanto en la mayoría de las aplicaciones la concentración de la sustancia de prueba en solución permanece esencialmente sin cambio después de haberse registrado el voltamperograma.

LA CELDA VOLTAMPEROMÉTRICA: UNA CELDA ELECTROLÍTICA

Una celda voltamperométrica consiste en un **microelectrodo de trabajo**, el **electrodo auxiliar** y un **electrodo de referencia**, por lo regular un electrodo saturado de calomel (SCE, por sus siglas en inglés). Se emplea un **potenciostato** para controlar el potencial. La corriente del electrodo de trabajo se registra en función de su potencial medido contra el electrodo de referencia, pero el voltaje se aplica entre los electrodos de trabajo y auxiliar, y la corriente pasa también entre estos dos últimos, como se ilustra en la figura 15.1. De esta manera, la curva de corriente-voltaje no se ve perturbada por una resistencia apreciable por parte de la solución, lo cual crea una caída de iR (caída de voltaje) entre los electrodos de trabajo y auxiliar, como en los disolventes no acuosos. La ley de Ohm establece que el voltaje es igual al producto de la corriente por la resistencia: $E = iR$, donde i es la corriente en amperios y R es la resistencia en ohmios. Cuando la corriente fluye, el potencial registrado se distorsiona (se desplaza) en una cantidad igual a $i \times R$, donde R es la resistencia de la solución. Si es apreciable, esto origina que la curva de corriente-potencial (véase la figura 15.2) se distorsione y se prolongue sobre un intervalo de potencial más grande. Con un sistema de tres electrodos, el potencial registrado es el que se establece entre el electrodo de trabajo y el de referencia, esencialmente sin flujo de corriente y sin caída de iR distorsionante.

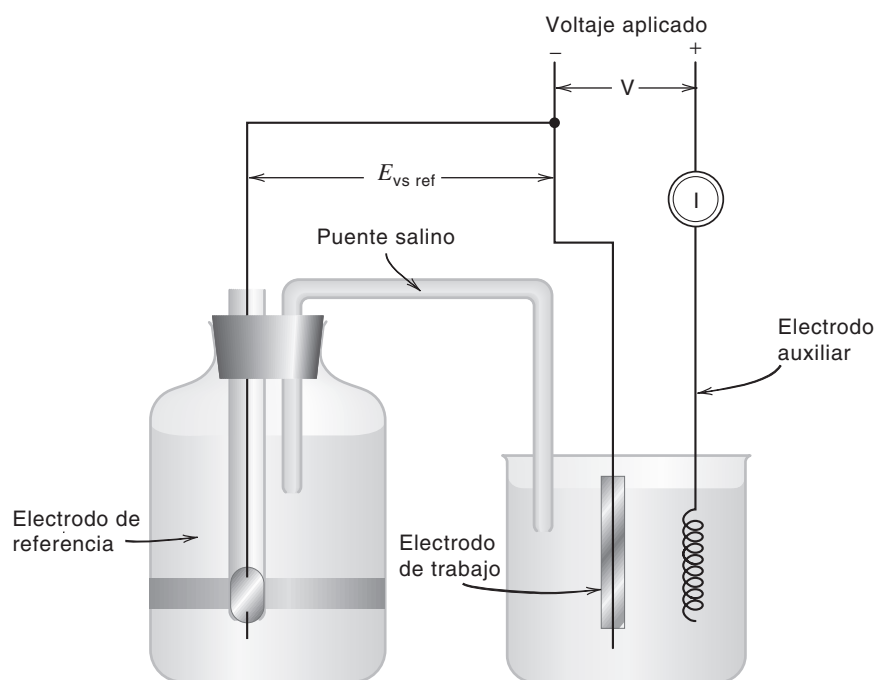


Figura 15.1. Dispositivo para mediciones voltamperométricas.

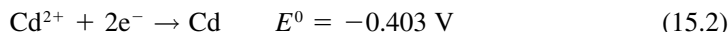
LA CURVA DE CORRIENTE-VOLTAJE: BASE DE LA VOLTAMPEROMETRÍA

Véase el ejemplo 13.4 y la figura 13.4 para la conversión de potenciales de un electrodo de referencia a otro.

Los potenciales en voltamperometría están referidos, por convención, al electrodo estándar de calomel. Se pueden usar las siguientes relaciones para convertir potenciales contra electrodo estándar de calomel (SCE) a los correspondientes potenciales contra electrodo estándar de hidrógeno (NHE), y viceversa.

$$E_{\text{vs. SCE}} = E_{\text{vs. NHE}} - 0.242 \quad (15.1)$$

Esta relación se puede usar para calcular el potencial aplicado necesario para la electrólisis del ion de prueba en el microelectrodo. Supóngase, por ejemplo, que se coloca una solución $10^{-3} M$ de nitrato de cadmio en la celda de prueba con un microelectrodo de carbono y se aplica una diferencia de voltaje entre los electrodos de trabajo y auxiliar, haciendo negativo al microelectrodo con respecto al SCE. La reacción del electrodo será



La celda voltamperométrica es realmente una celda electrolítica en la que la reacción electroquímica, como resultado del potencial aplicado, es la inversa de la reacción espontánea (como en una celda voltaica). Véase la sección 12.2.

El potencial mínimo del electrodo de trabajo para que comience a reducirse el cadmio (fuerza contraelectromotriz o *back-emf*, necesaria para forzar la reacción) se puede calcular a partir de la ecuación de Nernst (capítulo 13):

$$E_{\text{vs. SCE}} = -0.403 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{10^{-3}} - 0.242 = -0.556 \text{ V} \quad (15.3)$$

Esto se llama **potencial de descomposición**. Al aumentar el potencial más allá del potencial de descomposición, la corriente aumentará linealmente de acuerdo con la ley de Ohm,

$$\frac{E}{R_{\text{circuito}}} = kE \quad (15.4)$$

Se llega a una corriente límite debido a que el analito se electroliza tan pronto como puede difundirse hacia el electrodo.

Al avanzar la electrólisis, los iones cercanos al electrodo se agotan al reducirse, creando un gradiente de concentración entre la superficie del electrodo y el grueso de la solución. Mientras el potencial aplicado sea pequeño, los iones del grueso de la solución se pueden difundir con suficiente rapidez a la superficie del electrodo para mantener la corriente de electrólisis. Pero conforme aumenta el potencial, también se incrementa la corriente, creando un mayor gradiente de concentración. Por tanto, los iones se deben difundir a mayor rapidez para mantener la corriente. El gradiente de concentración, y por consiguiente la rapidez de difusión, es proporcional a la concentración del grueso de la solución. Si la solución es diluida, se alcanzará al final un potencial en el que la rapidez de difusión llega a un máximo y todos los iones se reducirán tan rápido conforme se difundan hacia la superficie del electrodo. Por tanto, se alcanza un valor de **corriente límite**, i_l , y así un aumento adicional del potencial no dará por resultado un incremento de corriente.

La solución se puede recuperar sin cambio después de la medición voltamperométrica debido a la pequeña corriente que se hizo circular.

En la figura 15.2 se ilustra una curva registrada típica de corriente-voltaje. Si la solución se agita o el electrodo se hace girar, se obtiene una gráfica en forma de S [curva (a)]; es decir, la corriente límite permanece constante una vez que se establece. Esto sucede debido a que la **capa de difusión**, o el espesor del gradiente de concentración a través del cual se debe difundir el analito, permanece pequeña y constante, ya que continuamente el analito se acerca a la superficie del electrodo por transferencia de masa (agitación). Pero si el electrodo no se está agitando y la solución permanece inmóvil, con el tiempo la capa de difusión se extenderá más en la solución, dando por resultado que la corriente límite disminuya de manera exponencial con el tiempo y se registre una curva con un máximo o pico [curva (b)]. Por esta razón y por otras, el barrido de voltaje usando microelectrodos esta-

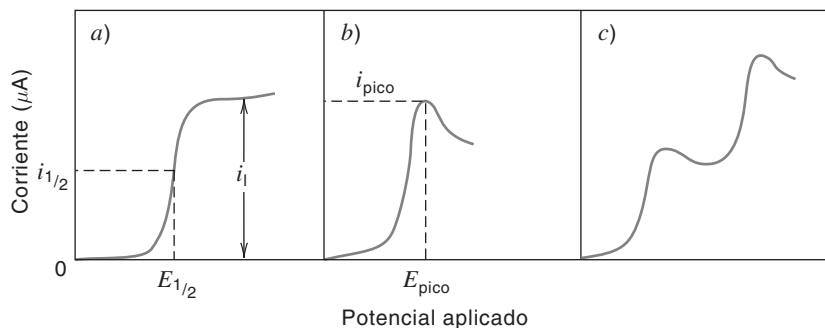


Figura 15.2. Diferentes tipos de curvas voltamperométricas. *a)* Solución agitada o con electrodo que cuenta con rotación; *b)* solución sin agitar, y *c)* reducción (u oxidación) por etapas del analito o de una mezcla de dos sustancias electroactivas (solución sin agitar).

cionarios por lo regular es bastante rápido; por ejemplo, 50 mV por segundo. (En realidad, incluso con soluciones agitadas, las ondas tienden a poseer máximos en cierta extensión.)

Aunque el potencial de descomposición necesario para iniciar la electrólisis varía ligeramente con la concentración, el potencial en el que la corriente es la mitad de la corriente límite es independiente de la concentración. A éste se le denomina **potencial de media onda** $E_{1/2}$. Se trata de una constante relacionada con el potencial estándar o formal del par redox, por lo que la voltamperometría sirve como herramienta cualitativa para identificar las especies reducibles u oxidables.

Un electrodo cuyo potencial depende de la corriente que fluye se llama **electrodo polarizable**. Si el área del electrodo es pequeña y se llega a una corriente límite, entonces se dice que el electrodo está **despolarizado**. Así, una sustancia que se reduce u oxida en un microelectrodo se le conoce como **despolarizador**.

Si un despolarizador se reduce en el electrodo de trabajo, se registra una **corriente catódica** a potenciales más negativos que el potencial de descomposición. Si el despolarizador se oxida, entonces se registra una **corriente anódica** a potenciales más positivos que el de descomposición.

REDUCCIÓN U OXIDACIÓN POR PASOS

Una sustancia electroactiva se puede reducir a un estado inferior de oxidación a cierto potencial y luego reducirse a un estado de oxidación todavía más bajo cuando su potencial alcanza otro valor más negativo. Por ejemplo, el cobre(II) en solución de amoníaco se reduce en un electrodo de grafito a un complejo de Cu(I)-amino estable a -0.2 V contra electrodo estándar de calomel, que luego se reduce al metal a -0.5 V; cada una de estas etapas es un paso de reducción de un electrón. En tales casos, se registrarán dos ondas voltamperométricas sucesivas, como en la curva *c)* de la figura 15.2. Las alturas relativas de las ondas serán proporcionales al número de electrones que participaron en la reducción o en la oxidación. En este caso, las dos ondas serían de igual magnitud.

Cuando una solución contiene dos o más sustancias electroactivas que se reducen a potenciales diferentes, ocurrirá una reducción similar por etapas. Por ejemplo, el plomo se reduce a potenciales más negativos que -0.4 V contra electrodo estándar de calomel ($\text{Pb}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Pb}$), y el cadmio se reduce a potenciales más negativos que -0.6 V contra SCE ($\text{Cd}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cd}$). Así pues, una solución que contenga una mezcla de éstos mostrará dos ondas voltamperométricas en un electrodo de grafito, una para el plomo a -0.4 V seguida por otra onda para el cadmio, a -0.6 V. Las alturas relativas serán proporcionales a las concentraciones de las dos sustancias, así como los valores relativos de n en su reducción o en su oxidación.

El potencial al que se electroliza el analito es una medida cualitativa del analito.

La altura de una onda voltamperométrica es proporcional al número de electrones involucrado en la reacción de electrólisis.

Se pueden determinar mezclas de sustancias electroactivas gracias a sus ondas voltamperométricas por etapas. Debe haber por lo menos 0.2 V entre los valores de $E_{1/2}$ para una buena resolución. Si los valores de $E_{1/2}$ son iguales, entonces se verá una sola onda compuesta, igual en altura a la suma de las ondas individuales. Si un componente principal en concentración mucho mayor se reduce (o se oxida para barridos anódicos) antes que la(s) sustancia(s) de interés, su onda enmascarará a las ondas siguientes y puede ser que ni siquiera se alcance la corriente límite. En tales casos, tendrá que removerse la mayor parte de la sustancia que interfiere antes de que se lleve a cabo el análisis. Un procedimiento común consiste en preelectrolizarla en un macroelectrodo usando un arreglo similar al de la figura 15.1, a un potencial correspondiente a su meseta de corriente límite pero no suficiente para electrolizar la sustancia de prueba.

También pueden ocurrir oxidaciones por pasos para dar ondas anódicas por pasos.

EL ELECTRÓLITO DE SOPORTE, NECESARIO PARA MEDICIONES VOLTAMPEROMÉTRICAS

En lo anterior se supuso que cuando existía un gradiente de concentración en una solución en reposo, la única manera en que el ion reducible podía llegar a la superficie del electrodo era por difusión. También puede llegar a la superficie del electrodo por medio de atracción o repulsión eléctrica (coulómbica).

El electrólito de soporte es un electrólito “inerte” en alta concentración que abate la atracción o repulsión del ion del analito en el electrodo cargado.

La superficie del electrodo se cargará ya sea positiva o negativamente, dependiendo del potencial que se aplique, y esta carga superficial repelerá o atraerá al ion que se difunda hacia la superficie del electrodo. Esto provocará aumento o disminución en la corriente límite, lo que se conoce como **corriente de migración**. La corriente de migración se puede evitar agregando una alta concentración, por lo menos 100 veces mayor que la sustancia de prueba, de un **electrólito de soporte** inerte como el nitrato de potasio. El ion potasio sólo se reduce a un potencial muy negativo y no interferirá. La alta concentración de iones inertes elimina esencialmente las fuerzas de atracción o repulsión entre el electrodo y el analito, y en su lugar los iones inertes son los atraídos o repelidos. Sin embargo, los iones inertes no se electrolizan.

Una segunda razón para agregar un electrólito de soporte es abatir la caída de iR de la celda. Por esta razón, es común agregar por lo menos 0.01 M del electrólito de soporte. Esto es válido para casi todas las técnicas electroquímicas, con excepción de la potencio-metría. El electrólito de soporte se elige a menudo para brindar condiciones óptimas para un análisis en particular, como amortiguar a un pH adecuado o eliminar las interferencias por complejamiento selectivo de alguna especie. Cuando se compleja un ion metálico, por lo general se estabiliza contra la electrólisis, y su media onda voltamperométrica se desplaza hacia potenciales de reducción más negativos, o puede incluso volverse no electro-activo. Agentes complejantes de uso común incluyen tartrato, citrato, cianuro, amoníaco y EDTA.

REDUCCIÓN U OXIDACIÓN IRREVERSIBLE

Si una sustancia se reduce u oxida de manera reversible, entonces su potencial de media onda estará cerca del potencial estándar para la reacción de redox. Si se reduce u oxida en forma irreversible, el mecanismo de transferencia electrónica en la superficie del electrodo implica un paso lento con una gran energía de activación. Por tanto, se debe aplicar energía extra al electrodo para que ocurra la electrólisis con una rapidez apreciable. Esto se logra aumentando el potencial aplicado y se denomina **sobrepotencial de activación**. Por tanto, $E_{1/2}$ será más negativo que el potencial estándar en el caso de una reducción, o más positivo en el caso de una oxidación. Una onda irreversible es más extendida que una reversible; sin embargo, todavía se obtiene una onda en forma de S, y su corriente de difusión será la misma que si fuera reversible debido a que i_l está limitada sólo por la rapidez de difusión de la sustancia a la superficie del electrodo.

EL INTERVALO DEL POTENCIAL DE TRABAJO DEPENDE DEL ELECTRODO

El intervalo de potencial dentro del cual se pueden usar técnicas voltamperométricas dependerá del material del electrodo, el disolvente, el electrólito de soporte y la acidez de la solución. Si se usa un electrodo de platino en solución acuosa, el límite de potencial positivo será la oxidación del agua ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$), a menos que el electrólito de soporte contenga un ion más fácilmente oxidable (por ejemplo, Cl^-). E^0 para la semirreacción del agua es +1.0 V contra el electrodo estándar de calomel, por lo que el potencial positivo límite es alrededor de +1 V contra el electrodo estándar de calomel, dependiendo del pH. El potencial negativo límite estará dado por la reducción de iones hidrógeno. El platino posee un bajo sobrevoltaje de hidrógeno a bajas densidades de corriente, de modo que éste ocurrirá a casi -0.1 V contra el electrodo estándar de calomel. Como el oxígeno no se reduce a estos potenciales, no es necesario removerlo de la solución, a menos que interfiera químicamente.

Los electrodos de carbono se usan a menudo para la voltamperometría. Su límite de potencial positivo será en esencia el mismo que con los electrodos de platino, pero se pueden alcanzar potenciales más negativos porque el hidrógeno tiene un sobrevoltaje más bien alto sobre el carbono. Se pueden usar potenciales de alrededor de -1 V contra SCE o más, dependiendo de nuevo del pH. Con potenciales más negativos que -0.1 V contra SCE, se tiene que quitar el oxígeno de las soluciones, porque se reduce en forma electroquímica. Esto se hace con facilidad burbujeando nitrógeno dentro de la solución durante 10 a 15 minutos mediante un tubo pequeño. El nitrógeno se hace pasar primero por agua para saturarlo de vapor de agua, de modo que la solución de prueba no se evapore. En seguida de la desaireación, se saca el tubo y se hace pasar nitrógeno arriba de la superficie de la solución para evitar que absorba aire.

Una ventaja de los electrodos de carbono es que no tienen el problema de formación de óxido sobre su superficie, como sucede con los electrodos de platino. Aunque los electrodos de carbono se pueden usar a potenciales bastante negativos, a menudo se prefiere un electrodo de gotas de mercurio (DME, por sus siglas en inglés), porque se puede obtener mejor reproducibilidad. Esto se debe a que la superficie del electrodo se renueva constantemente (pequeñas gotas de mercurio caen de un capilar conectado a un depósito de mercurio). La técnica voltamperométrica que usa un electrodo de gotas de mercurio se llama **polarografía**.

La voltamperometría de electrodo sólido se usa mucho para la oxidación de sustancias a potenciales moderadamente positivos, aunque también es útil para sustancias fácilmente reducibles. Sin embargo, la reproducibilidad con frecuencia resulta perjudicada, debido a que las características de la superficie de los electrodos no son reproducibles y la superficie se contamina. Por esta razón, se prefiere la técnica de la polarografía cuando sea posible aplicarla.

El agua y los protones se reducen fácilmente en un electrodo de platino, limitando el intervalo de potencial negativo disponible a cerca de 0.1 V contra el electrodo estándar de calomel.

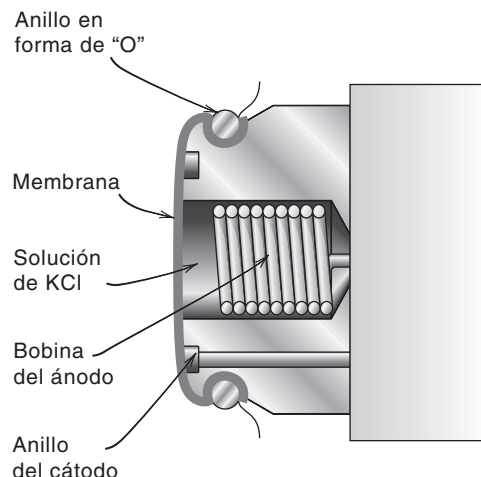
Se pueden alcanzar potenciales de -1 V contra electrodo estándar de calomel con un electrodo de carbono y -2 V con un electrodo de mercurio. El oxígeno se debe remover para mediciones más negativas que -0.1 V. Esto se logra burbujeando con nitrógeno.

15.2 Electrodos amperométricos. Medición de oxígeno

La amperometría es la aplicación de las mediciones voltamperométricas a un potencial fijo para detectar cambios en las corrientes en función de la concentración de las especies electroactivas. Se pueden diseñar sensores electroquímicos basados en la medición amperométrica. Un ejemplo importante es el electrodo de oxígeno.

El electrodo de oxígeno consiste de una película delgada de plástico como el teflón, estirada sobre un cátodo de platino o de oro, que permite la difusión de gases pero es impermeable a los iones en solución (véase la figura 15.3). El oxígeno se difunde a través de la membrana y se reduce en el cátodo, produciendo una corriente amperométrica. Se aplica un potencial adecuado para provocar la reducción del oxígeno entre el electrodo

Figura 15.3. Construcción de un electrodo de oxígeno. (Cortesía de Arthur H. Thomas Company.)



indicador de oxígeno y el electrodo de referencia, por lo regular un electrodo de platino-cloruro de plata construido dentro de la sonda. Por lo regular se coloca un electrólito en solución o un gel entre la membrana y el aislador de vidrio para proporcionar contacto eléctrico entre el electrodo de referencia y el electrodo indicador.

La rapidez de difusión de oxígeno al cátodo es proporcional a la presión parcial de oxígeno en la muestra a la que está expuesto el electrodo, y la corriente amperométrica es proporcional a ésta. Las mediciones se leen a presión atmosférica. Interfieren los halógenos y otros gases (por ejemplo, SO_2) que también se reducen al potencial fijo de polarización. El sulfuro de hidrógeno envenena al electrodo.

El medidor se precalibra por exposición de la sonda a muestras que contienen una cantidad conocida de oxígeno; por ejemplo, aire con contenido supuesto de 20.9% de O_2 , o agua saturada, ya sea con oxígeno o con aire. A 37°C , a nivel del mar (P_{O_2} de 159 torr), el agua saturada de aire contiene $5.6 \mu\text{L}$ de O_2 por mililitro, y el agua saturada de oxígeno contiene $28 \mu\text{L}$ de O_2 por mililitro. Véase la referencia 7 para una discusión acerca de la calibración de electrodos y del cálculo de P_{O_2} y de la concentración de oxígeno.

Los bioquímicos usan a menudo un analizador polarográfico de oxígeno para seguir el consumo o la liberación de oxígeno en reacciones bioquímicas y enzimáticas con objeto de determinar la cinética de las reacciones, y en el laboratorio clínico para mediciones analíticas de enzimas o sustratos cuyas reacciones incluyen el consumo de oxígeno.

15.3 Sensores electroquímicos: electrodos químicamente modificados

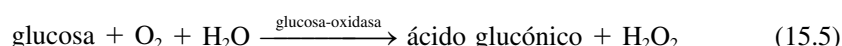
Los electrodos amperométricos son un tipo de detector electroquímico, como lo son también los electrodos potenciométricos que se discutieron en el capítulo 13. En años recientes ha habido mucho interés en el desarrollo de diversos tipos de sensores electroquímicos con mayor selectividad o sensibilidad. Estas capacidades de medición mejoradas de los sensores amperométricos se logran gracias a modificaciones químicas de la superficie del electrodo para producir **electrodos químicamente modificados** (CME, por sus siglas en inglés).

Todos los sensores químicos consisten en un **transductor**, que transforma la respuesta en una señal que se puede detectar (una corriente en el caso de los sensores amperométricos) y una **capa químicamente selectiva**. El transductor puede ser óptico (por ejemplo, un sensor de cable de fibra óptica), eléctrico (potenciométrico, amperométrico), térmico, etc. El interés aquí se basa en los transductores amperométricos.

Una capa de enzimas imparte selectividad química al electrodo.

ELECTRODOS BASADOS EN ENZIMAS PARA LA MEDICIÓN DE SUSTRATOS

Con frecuencia se emplean enzimas en la capa química para impartir la selectividad necesaria. En el capítulo 13 se vio un ejemplo de esto cuando se explicaron los electrodos potenciométricos de enzimas. Un ejemplo de un electrodo amperométrico de enzimas es el electrodo de glucosa que se ilustra en la figura 15.4. La enzima glucosa-oxidasa se inmoviliza en un gel (por ejemplo, acrilamida) y se coloca como recubrimiento de la superficie de un cátodo de alambre de platino. El gel también contiene una sal de cloruro y hace contacto con un anillo de plata-cloruro de plata para completar la celda electroquímica. La enzima glucosa-oxidasa cataliza la oxidación aeróbica de la glucosa como sigue:



(véase el capítulo 22). Se aplica un potencial (alrededor de +0.6 V contra Ag/AgCl) al electrodo de platino en el que se oxida H_2O_2 en forma electroquímica.



La glucosa y el oxígeno de la solución de prueba se difunden al interior del gel, donde su reacción es catalizada para producir H_2O_2 ; parte de éste se difunde al cátodo de platino, donde se oxida para dar una corriente en proporción con la concentración de glucosa. El resto finalmente se difunde hacia afuera de la membrana. Un diseño alternativo para un electrodo de glucosa consiste en recubrir la membrana de un electrodo de Clark de oxígeno con el gel de glucosa-oxidasa. Entonces se mide el consumo de oxígeno debido a la reacción.

Otros ejemplos de electrodos amperométricos de enzimas basados en la medición de oxígeno o peróxido de hidrógeno incluyen los electrodos para la medición de galactosa en sangre (enzima galactosa-oxidasa), oxalato en la orina (oxalato-oxidasa) y colesterol en suero sanguíneo (colesterol-oxidasa). El etanol se determina haciéndolo reaccionar con un cofactor, el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+), en presencia de la enzima alcohol-deshidrogenasa para producir la forma reducida de NAD^+ , NADH , que se oxida electroquímicamente. El lactato en sangre se determina en forma similar (enzima lactato-deshidrogenasa).

ELECTRODOS CATALÍTICOS: MEDIADORES REDOX

Con frecuencia los analitos se oxidan o se reducen en forma irreversible (lentamente) en un electrodo, es decir, requieren que se aplique un sobrepotencial sustancial más allá del potencial termodinámico redox (E^0) para que ocurra la electrólisis. Este problema de la cinética de transferencia lenta de electrones ha generado mucha investigación en el desarrollo de *electrocatalizadores*, los cuales pueden encontrarse de manera covalente unidos al electrodo por quimisorción o atrapados en una capa de polímero. La base de los CME electrocatalíticos se ilustra en la figura 15.5. Red es el analito en la forma reducida, que

Una capa mediadora de redox cataliza la reacción electroquímica, de modo que se necesitan potenciales más pequeños.

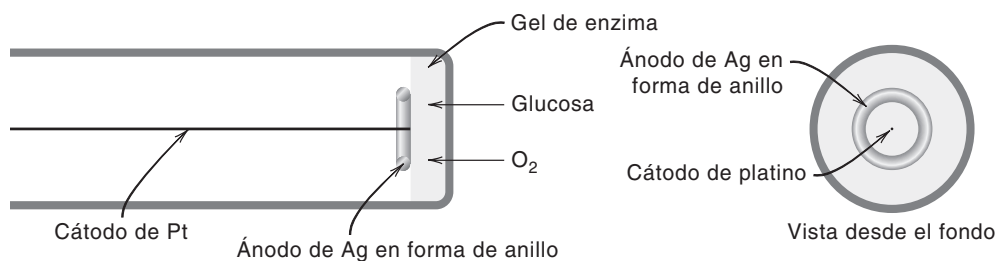


Figura 15.4. Electrodo amperométrico de glucosa.

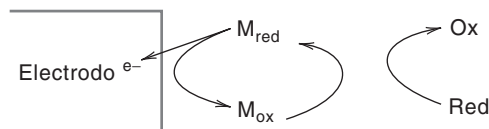


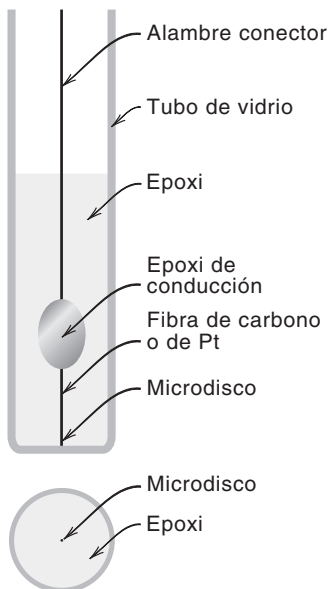
Figura 15.5. Electrodo redox mediador químicamente modificado. Red es el analito que se está midiendo en la forma reducida.

se oxida en forma irreversible, y Ox es su forma oxidada. El mediador redox es electroquímicamente reversible y se oxida a un menor potencial. El analito reacciona rápidamente con la forma oxidada del mediador M_{ox} para producir M_{red} , que se oxida de inmediato en la superficie del electrodo. La reacción electroquímica tiene lugar cerca del valor termodinámico de E^0 del mediador. Si se aplica un potencial menor, hay posibilidad reducida de interferencia por otras especies electroquímicamente activas (¡además de proporcionar una señal para el analito!). Los mediadores electroquímicos incluyen complejos de rutenio, derivados de ferroceno y de *o*-hidroxibenceno. Mediadores como el azul de metileno catalizan la oxidación del H_2O_2 , de modo que es necesario aplicar un potencial de sólo +0.2 V contra Ag/AgCl en lugar del potencial usual de +0.6 V.

Los electrodos algunas veces se recubren con capas protectoras para evitar la contaminación ocasionada por moléculas grandes (por ejemplo, las proteínas). Una capa de acetato de celulosa, por ejemplo, permitirá que pase la pequeña molécula de H_2O_2 , pero no la molécula más grande de ácido ascórbico presente en fluidos biológicos, la cual se oxida al mismo potencial. Las membranas aniónicas de Nafion repelen los aniones y permiten que pasen los cationes.

Una capa protectora acrecenta la selectividad y reduce la contaminación química del electrodo.

Las respuestas del microelectrodo son independientes del espesor de la capa de difusión y del flujo. Exhiben una relación de señal a ruido incrementada.



Vista por la parte inferior

Figura 15.6. Contrucción de un ultramicroelectrodo.

15.4 Ultramicroelectrodos

Los electrodos amperométricos hechos a microescala, en el orden de 5 a 30 μm de diámetro, poseen diversas ventajas. El electrodo es más pequeño que el espesor de la capa de difusión, lo que da por resultado un mejor transporte de masa que es independiente del flujo, y una mayor relación de señal a ruido. Las mediciones electroquímicas se pueden hacer en medios de alta resistencia, como los solventes no acuosos. Se registra una curva de corriente-voltaje en forma de S en una solución en reposo en vez de una curva en forma de pico debido a la independencia sobre la capa de difusión. La corriente límite, i_l , de estos microelectrodos está dada por

$$i_l = 2nFDCd \quad (15.7)$$

donde n es el cambio de electrones, F es la constante de Faraday, D es el coeficiente de difusión, C es la concentración y d es el diámetro del electrodo.

Hay diversas maneras de construir los ultramicroelectrodos. Véase la referencia 14. En la figura 15.6 se muestra una construcción típica. El microdisco es el electrodo. Los electrodos se construyen por lo regular de fibra de carbono, y se pueden usar para mediciones de electrooxidación a potenciales positivos en diversos microentornos. Como ejemplo puede citarse la detección de la liberación de neurotransmisores en el espacio extracelular del cerebro [véase T. Edmonds, *Anal. Chim. Acta*, **175** (1985) 1, para una revisión de diversas aplicaciones electroanalíticas de electrodos de fibra de carbono]. Estos electrodos generan corrientes que son sólo de unos cuantos nanoamperios, y se requieren potencios-tatos sensibles para las mediciones.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Celdas electrolíticas, p. 447
- Curvas de corriente-voltaje, p. 448
- Electrólitos de soporte, p. 450
- Electrodo amperométrico, p. 451
- Electrodo químicamente modificado, p. 452
- Ultramicroelectrodo, p. 454

Preguntas

1. Definir fuerza contraelectromotriz, sobrepotencial y caída de iR .
2. Definir potencial de media onda, despolarizador, DME, corriente residual y voltamperometría.
3. Dar dos razones para usar un electrólito de soporte en voltamperometría.
4. Una solución contiene alrededor de $10^{-2} M \text{Fe}^{3+}$ y $10^{-5} M \text{Pb}^{2+}$. Se desea analizar de manera polarográfica el contenido de plomo. El Fe^{3+} se reduce a Fe^{2+} a todos los potenciales accesibles con el DME hasta -1.5 V contra electrodo estándar de calomel, y se reduce junto con el Fe^{2+} al metal a potenciales más negativos que -1.5 V . El Pb^{2+} se reduce a -0.4 V . Sugerir un esquema para medir el plomo de manera polarográfica.
5. ¿Qué efecto tiene el complejamiento en la reducción voltamperométrica de un ion metálico?
6. ¿Qué es un electrodo químicamente modificado?
7. ¿Cuál es la función de un electrocatalizador en un electrodo químicamente modificado?
8. ¿Cuáles son las ventajas de un ultramicroelectrodo?

Problemas

VOLTAMPEROMETRÍA/AMPEROMETRÍA

9. La corriente límite del plomo en una solución desconocida es $5.60 \mu\text{A}$. Un mililitro de una solución de plomo $1.00 \times 10^{-3} M$ se agrega a 10.0 mL de la solución problema y la corriente límite del plomo se incrementa a $12.2 \mu\text{A}$. ¿Cuál es la concentración de plomo en la solución problema?
10. En forma polarográfica se reduce hierro(III) a hierro(II) a potenciales más negativos que alrededor de $+0.4 \text{ V}$ contra electrodo estándar de calomel, y se reduce aún más a hierro(0), a -1.5 V contra electrodo estándar de calomel. El hierro(II) también se reduce al metal a -1.5 V . Se corre un polarograma (usando un DME) en una solución que contiene Fe^{3+} , Fe^{2+} o ambos. Se registra una corriente a cero voltios aplicados, y su magnitud es de $12.5 \mu\text{A}$. También se registra una onda con $E_{1/2}$ igual a -1.5 V contra SCE, y su altura es de $30.0 \mu\text{A}$. Identificar la especie de hierro en solución ($3+$, $2+$ o ambas) y calcular la concentración relativa de cada uno.

Referencias recomendadas

1. J. J. Lingane, *Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., Nueva York: Interscience, 1958. Un clásico. Excelente texto general.
2. J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2a. ed., Nueva York: John Wiley, 2000. Buena introducción a las técnicas modernas electroanalíticas.
3. A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2a ed., Nueva York: Wiley, 2001.
4. A. J. Bard y M. Stratmann, directores de la edición, *Encyclopedia of Electrochemistry*, 10 volúmenes + volumen de índice. Nueva York: Wiley. Volumen 3, *Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, P. Unwin, ed., 2003: vol. 9, *Bioelectrochemistry*, G. S. Wilson, ed., 2002; vol. 10, *Modified Electrodes*, I. Rubinstein y M. Fujihira, eds., 2003.

VOLTAMPEROMETRÍA/AMPEROMETRÍA

5. M. R. Smyth y J. G. Vos, *Analytical Voltammetry*, Amsterdam: Elsevier Science, 1992.
6. R. N. Adams, *Electrochemistry at Solid Electrodes*, Nueva York: Marcel Dekker, 1969. Un clásico, en su 5a. impresión.
7. M. A. Lessler y G. P. Brierley, en D. Glick, ed., *Methods of Biochemical analysis*, vol. 117, Nueva York: Interscience, 1969, p. 1. Describe el electrodo de oxígeno.
8. Web: www.pineinst.com. link: Educator's Reference Guide for Electrochemistry. Un excelente tutorial de 70 páginas sobre los principios de la voltamperometría y la instrumentación. Se puede descargar un experimento de voltamperometría de muestra del sitio de red de Pine Instrument Company.

SENSORES ELECTROQUÍMICOS

9. R. W. Murray, A. E. Ewing y R. A. Durst, "Chemically Modified Electrodes. Molecular Design for Electroanalysis", *Anal. Chem.*, **59** (1987) 379A.
10. E. R. Reynolds y A. M. Yacynych, "Miniaturized Electrochemical Biosensors", *Am. Lab.*, marzo (1991) 19.
11. R. I. Stefan, J. F. van Staden y H. Y. Aboul-Enein, *Electrochemical Sensors in Bioanalysis*, Nueva York: Marcel Dekker, 2001.
12. D. Diamond, ed., *Principles of Chemical and Biological Sensors*, Nueva York: Wiley, 1998.
13. P. G. Edelman y J. Wang, eds., *Biosensors and Chemical Sensors: Optimizing Performance Through Polymeric Materials*, ACS Symposium Series No. 487, Washington, DC: American Chemical Society, 1992.

ULTRAMICROELECTRODOS

14. M. Koppenol, J. B. Cooper y A. M. Bond, "Tools and Procedures to Semiautomated Production of Robust Microdisk Electrodes", *Am. Lab.*, julio (1994) 25.

TÉCNICAS DE LABORATORIO

15. P. T. Kissinger y W. R. Heineman, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1996.

Capítulo dieciséis

MÉTODOS ESPECTROQUÍMICOS



*“No pretendo ser imparcial en cuanto a los colores.
Me regocijo con los brillantes y, genuinamente,
me desagradan los pobres pardos.”*

—Sir Winston Churchill

La espectrometría, en especial en la región visible del espectro electromagnético, tal vez sea uno de los métodos de análisis más usados. Se utiliza mucho en química clínica y en las determinaciones ambientales porque hay muchas sustancias que pueden convertirse en derivados coloridos en forma selectiva. Los instrumentos se consiguen con facilidad y en general su manejo es muy sencillo. En este capítulo: 1) se describirá la absorción de la radiación por parte de las moléculas y su relación con la estructura molecular; 2) se presentarán cálculos cuantitativos que relacionan la cantidad de radiación absorbida con la concentración del analito absorbente, y 3) se describirá la instrumentación necesaria para hacer las mediciones. Éstas pueden efectuarse en las regiones infrarroja, visible y ultravioleta del espectro. La región de longitud de onda que se seleccione dependerá de factores como disponibilidad de instrumentos, si el analito tiene color o se puede convertir en un derivado colorido, si contiene grupos funcionales que absorban en las regiones ultravioleta o infrarroja y si en la solución existen otras sustancias absorbentes. En general, la espectrometría del infrarrojo es menos adecuada para mediciones cuantitativas, pero se encuentra mejor ubicada para recabar información cualitativa, o de dactiloscopia, que la espectrometría del ultravioleta (UV) o del visible. En general, los espectrómetros del visible son menos costosos y más asequibles que los espectrómetros UV.

También se describirá una técnica afín, la espectrometría por fluorescencia, en la que la cantidad de luz emitida al excitar moléculas se relaciona con su concentración. Es una técnica analítica de extrema sensibilidad.

Tal vez la espectrometría visible sea la técnica analítica más usada.

¿Quién fue el primer espectroscopista?

Es probable que se pueda considerar a Johannes Marcus Marci (1595-1667), de Bohemia Oriental, como el primer científico espectroscopista. Se interesó en el fenómeno del arco iris, y experimentó para explicarlo. Publicó un libro, aproximadamente en 1648, cuyo título, en traducción aproximada, fue *El libro de milagros*

sobre el arco iris celestial y la naturaleza de los colores que hay, y también sobre su origen y sus causas. Describió las condiciones responsables de la producción del arco iris y escribió acerca de la producción de un espectro al hacer pasar un haz de luz por un prisma. El arco iris fue descrito, en forma correcta, como un fenómeno debido a la difracción de la luz. Más de 20 años después, Newton hizo experimentos parecidos a los de Marci y presentó una explicación más rigurosa de los colores del arco iris, y obtuvo mayor celebridad. ¡Pero Marci fue el primero!

16.1 Interacción de la radiación electromagnética con la materia

La espectrometría se basa en la absorción de fotones por el analito.

En los métodos espectrométricos, la muestra en solución absorbe radiación electromagnética procedente de una fuente adecuada, y la cantidad absorbida se relaciona con la concentración del analito en la solución. Una solución que contenga iones cobre(II) es azul porque absorbe el *color complementario*, el amarillo, de la luz blanca, y transmite la luz azul restante (véase la tabla 16.1). Cuanto más concentrada sea esa solución de cobre, más luz amarilla absorbe, y el color azul que resulta en la solución se hace más intenso. En un método espectrométrico, se mide la cantidad de esta luz amarilla que se absorbe y que se relaciona con la concentración. Se podrá comprender mejor la espectrometría de absorción en la medida que se comprenda el espectro electromagnético y la forma en que las moléculas absorban la radiación.

EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

La longitud de onda, la frecuencia y el número de onda se interrelacionan.

Para los fines de este libro, se puede considerar que la radiación electromagnética es una forma de energía radiante que se propaga en forma de ondas transversales. Su vibración es perpendicular a la dirección de su propagación, lo cual imparte un movimiento ondulatorio a la radiación, como se muestra en la figura 16.1. La onda se describe ya sea en términos de su **longitud de onda**, que es la distancia que ocupa un ciclo completo, o en función de su **frecuencia**, que es la cantidad de ciclos que pasan por un punto fijo por unidad de tiempo. Al recíproco de la longitud de onda se le llama **número de onda**, y es la cantidad de ondas que hay en una longitud unitaria, o sea la distancia por ciclo. Véase <http://science.csustan.edu/tutorial/color/index.htm>, un excelente tutorial sobre las bases de la luz y los colores. También se describen los colores primarios aditivos y sustractivos.

Tabla 16.1
Colores de las diferentes regiones de longitud de onda

Longitud de onda absorbida (nm)	Color absorbido	Color transmitido (complemento)
380-450	Violeta	Amarillo verdoso
450-495	Azul	Amarillo
495-570	Verde	Violeta
570-590	Amarillo	Azul
590-620	Anaranjado	Verde azulado
620-750	Rojo	Azul verdoso

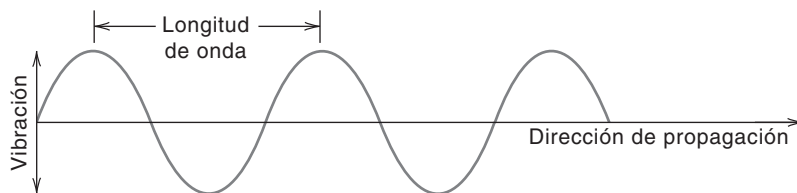


Figura 16.1. Movimiento ondulatorio de la radiación electromagnética.

La relación entre longitud de onda y frecuencia es

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (16.1)$$

donde λ es la longitud de onda en centímetros (cm),¹ ν es la frecuencia en segundos recíprocos (s^{-1}), o hertz (Hz), y c es la velocidad de la luz (3×10^{10} cm/s). El número de onda se representa mediante $\bar{\nu}$, en cm^{-1} :

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad (16.2)$$

La longitud de onda de la radiación electromagnética varía desde algunos angstroms hasta varios metros. Las unidades que se usan para describir la longitud de onda son las siguientes:

$$\begin{aligned} \text{\AA} &= \text{angstrom} = 10^{-10} \text{ metro} = 10^{-8} \text{ centímetro} = 10^{-4} \text{ micrómetro} \\ \text{nm} &= \text{nanómetro} = 10^{-9} \text{ metro} = 10 \text{ angstroms} = 10^{-3} \text{ micrómetro} \\ \mu\text{m} &= \text{micrómetro} = 10^{-6} \text{ metro} = 10^4 \text{ angstroms} \end{aligned}$$

La unidad de longitud de onda que se prefiere en las regiones *ultravioleta* y *visible* del espectro es el nanómetro, aunque se prefiere el micrómetro para la región del *infrarrojo*.² Más adelante se presenta la definición de las regiones ultravioleta, visible e infrarrojo del espectro.

La radiación electromagnética posee cierta cantidad de energía. La energía de una unidad de radiación, llamada **fotón**, se relaciona con la frecuencia mediante la ecuación

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (16.3)$$

donde E es la energía del fotón, en ergios, y h es la constante de Planck, 6.62×10^{-34} joules-segundo (J-s). Se ve, entonces, que *cuanto más corta sea la longitud de onda o mayor sea la frecuencia, la energía de la radiación es mayor*.

Las longitudes de onda en las regiones ultravioleta y visible son del orden de nanómetros. En la región del infrarrojo son micrómetros, pero con frecuencia se usa el recíproco de la longitud de onda, el número de onda, el cual se mide en cm^{-1} .

Las longitudes de onda más cortas tienen más energía. ¡Por eso quema la radiación ultravioleta del sol!

¹ Con mayor propiedad, las unidades de la longitud de onda son centímetros por ciclo, y las de la frecuencia, ciclos por segundo; pero muchas veces la unidad del ciclo se obvia. En lugar de ciclos/s, se usa más la unidad conocida como **hertzio** o **hertz**.

² Se prefiere el término nanómetro (nm) frente a milimicra ($m\mu$), la unidad que antes se usaba mucho. En la región del infrarrojo se prefiere la palabra micrómetro (μm) frente a la micra (μ), que se usaba antes.

Se debe hacer notar que el nacimiento de la teoría cuántica se produjo al tratar de explicar la estructura electrónica de los átomos y las propiedades de la luz. Al final del siglo XIX se vio que las leyes clásicas de la física (de la mecánica clásica propuesta por Isaac Newton en el siglo XVII) no se podían aplicar para describir la estructura electrónica. La nueva teoría de la mecánica cuántica, desarrollada a principios del siglo XX, fue un adelanto científico que hizo cambiar la forma en que se consideran los átomos.

Como se indicó antes, el espectro electromagnético se divide, en forma arbitraria, en distintas regiones de acuerdo con la longitud de onda. Las diversas regiones del espectro se muestran en la figura 16.2. En este capítulo no se analizarán las regiones de los rayos gamma y los rayos X, aunque esas radiaciones de alta energía se pueden usar, en principio, en la misma forma que las radiaciones de menor energía. La región *ultravioleta* se extiende desde los 10 hasta los 380 nm, aproximadamente, si bien la región más útil en el análisis es la de 200 a 380 nm, y se llama **región del ultravioleta cercano** o **del UV de cuarzo**. A menos de 200 nm, el aire absorbe la radiación en forma considerable, por lo que los instrumentos trabajan al vacío; por consiguiente, a esta región se le llama **región del ultravioleta al vacío**. La **región visible (Vis)** comprende, en realidad, una parte muy pequeña del espectro electromagnético, y es la región de longitudes de onda que puede ver el ojo humano; esto es, donde la luz aparece como color. La región visible se extiende de la región del ultravioleta cercano (380 nm) a unos 780 nm. La **región del infrarrojo (IR)**, o **región infrarroja**, va desde unos 0.78 μm (780 nm) hasta 300 μm , pero el intervalo que se usa con mayor frecuencia para análisis es de 2.5 a 15 μm , que corresponde a un intervalo de números de onda de 4 000 a 667 cm^{-1} . Al intervalo de 0.8 a 2.5 μm se le llama **región del infrarrojo cercano**, la región de 2.5 a 16 μm es la **región del infrarrojo medio**, o **del NaCl**, y las longitudes de onda mayores corresponden a la **región del infrarrojo lejano**. En este capítulo no se abordarán las radiaciones de menor energía (de radio o de microondas). La espectroscopia de resonancia magnética nuclear concierne a la interacción de radiación de microondas de baja energía, con núcleos de átomos.*

Intervalos de trabajo en los espectros UV, Vis e IR.

UV	200-380 nm
Vis	380-780 nm
IR cercano	0.78-2.5 μm
IR medio	2.5-15 μm

¿CÓMO ABSORBE RADIACIÓN LA MATERIA?

El color que se ve en un objeto se debe a las longitudes de onda transmitidas o reflejadas. Las demás longitudes de onda se absorben.

Una imagen cualitativa de la absorción de la radiación puede concebirse al considerar la absorción de la luz en la región visible. “Se ven” los objetos con color porque transmiten o reflejan sólo una parte de la luz en esa región. Cuando la luz policromática, o luz blanca, que contiene todo el espectro de longitudes de onda en la región visible, atraviesa un objeto, el objeto absorberá ciertas longitudes de onda y transmitirá las longitudes de onda que no absorba. Esas longitudes de onda residuales transmitidas se percibirán como un color. Este color es **complementario** a los colores absorbidos. De forma parecida, los objetos opacos absorben ciertas longitudes de onda y dejan que un color residual se refleje y “se vea”.

* N. del R. T. La radiación electromagnética conocida como *ondas de radio* se emplea también dentro de esta técnica analítica.

Sólo se ve una pequeña parte de la radiación electromagnética.

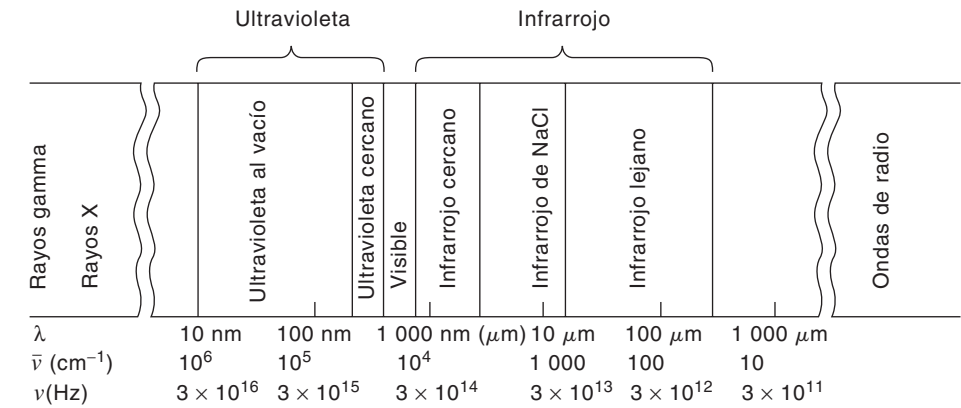


Figura 16.2. El espectro electromagnético.

En la tabla 16.1 se resumen los colores aproximados correspondientes a diferentes longitudes de onda en la región visible del espectro. Por ejemplo, una solución de permanganato de potasio absorbe luz en la región verde del espectro con un máximo de absorción a los 525 nm, y la solución es morada.

Hay tres procesos básicos mediante los cuales una molécula puede absorber radiación; todos consisten en elevar la energía interna de la molécula a un valor mayor y el aumento de energía es igual a la energía de la radiación absorbida ($h\nu$). Los tres tipos de energía interna están **cuantizados**, es decir, existen en niveles discretos. En el primero de ellos la molécula gira en torno a varios ejes, teniendo la energía de rotación niveles definidos, por lo que la molécula puede absorber radiación y ascender a un mayor nivel de energía de rotación o rotacional en lo que se denomina una **transición rotacional**. En el segundo, los átomos o grupos de átomos dentro de una molécula vibran entre sí, y la energía de esta vibración posee también niveles definidos cuantizados; en ese caso, la molécula puede absorber una cantidad discreta de energía y ascender a un nivel más alto de energía de vibración, en una **transición vibracional**. En el tercer tipo, los electrones de una molécula pueden ascender a una energía electrónica mayor, lo cual corresponde a una **transición electrónica**.

En vista de que cada una de esas transiciones de energía interna está cuantizada, éstas sólo ocurrirán a *longitudes de onda definidas*, que correspondan a una energía $h\nu$ equivalente al incremento cuantizado en energía interna. Sin embargo, hay muchos niveles *diferentes* de energía para cada tipo de transición, por lo que se pueden absorber varias longitudes de onda. Las transiciones se pueden ilustrar con diagramas de niveles de energía, como el de la figura 16.3. Los niveles relativos de energía entre los tres procesos de transición siguen el orden electrónica > vibracional > rotacional, y cada uno es aproximadamente un orden de magnitud respecto de los demás. Entonces, las transiciones rotacionales pueden efectuarse con energías muy bajas (grandes longitudes de onda, es decir, en la región de microondas o del infrarrojo lejano), pero las transiciones vibratorias requieren mayores energías en la región del infrarrojo cercano; las transiciones electrónicas requieren energías todavía mayores (en las regiones visible y ultravioleta).

Una molécula absorbe un fotón y sufre una transición de energía exactamente igual a la energía del fotón. El fotón debe tener la energía adecuada para que se efectúe esta transición cuantizada.

TRANSICIONES ROTACIONALES

Las transiciones puramente rotacionales se pueden efectuar en las regiones del **infrarrojo cercano** y de las **microondas** (de unos 100 μm a 10 cm), donde la energía es insuficiente para provocar transiciones vibratorias o electrónicas. La molécula a temperatura am-

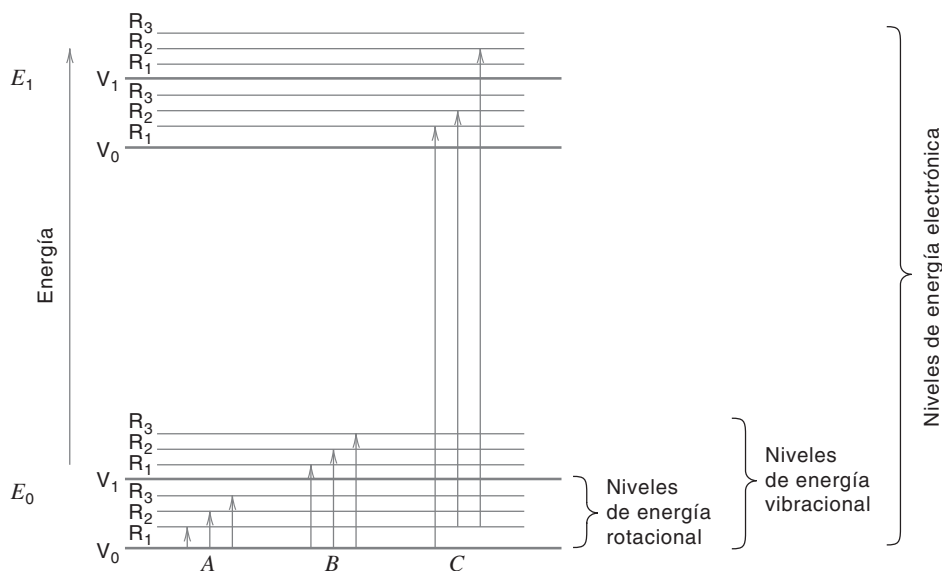


Figura 16.3. Diagrama de niveles de energía donde se ven los cambios de energía relacionados con la absorción de radiación electromagnética: A, cambios puramente rotacionales (infrarrojo lejano); B, cambios rotacionales y vibracionales (infrarrojo cercano); C, transiciones rotacionales, vibracionales y electrónicas (en visible y ultravioleta). E_0 es el estado electrónico fundamental o basal y E_1 es el primer estado electrónico excitado.

Las transiciones rotacionales se efectúan a longitudes de onda muy grandes (baja energía, infrarrojo lejano). Se registran espectros nítidos de líneas.

biente suele tener su energía electrónica en su nivel más bajo, el llamado **estado fundamental** o **basal** (E_0). Así, la transición rotacional pura se efectuará en el nivel electrónico de estado fundamental (A en la figura 16.3), aunque también es posible tener una población considerable de moléculas en **estados excitados**. Cuando sólo se efectúan transiciones rotacionales, en el espectro habrá *líneas* o *rayas* de absorción discretas, y la longitud de onda de cada línea corresponderá a determinada transición. Por tanto, se puede obtener información fundamental sobre los niveles de energía rotacional de las moléculas. Sin embargo, esta región se usa poco en análisis.

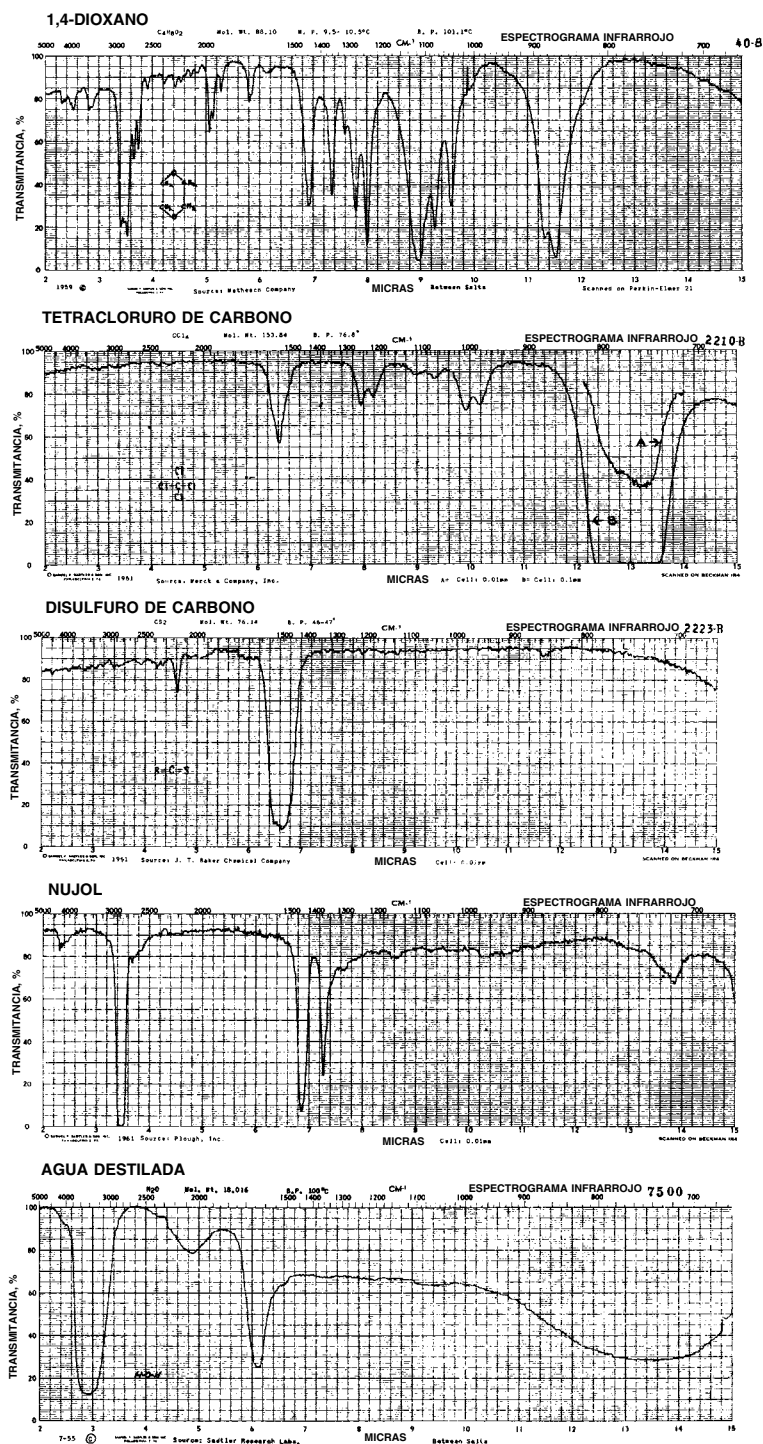


Figura 16.4. Ejemplos de espectros infrarrojos. (Según 26 *Frequently Used Spectra for the Infrared Spectroscopist*, Standard Spectra, Midget Edition. Copyright © Sadtler Research Laboratories, Inc. Reproducción autorizada por Stadler Standard Spectra ©. Todos los derechos reservados por Stadler Research Laboratories, Inc.)

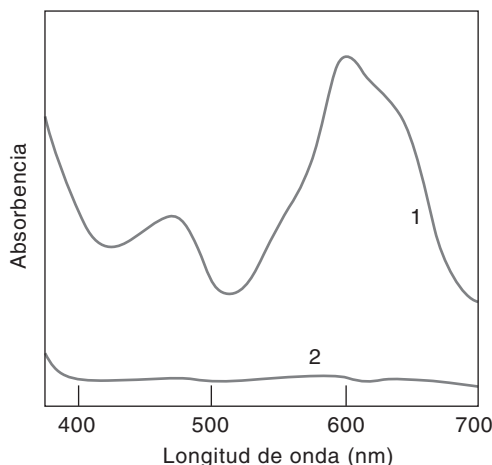


Figura 16.5. Ejemplo de un espectro de absorción visible típico. Reacción de ácido tartárico y β -naftol con ácido sulfúrico. 1, Muestra; 2, blanco o testigo. [Según G. D. Christian, *Talanta*, **16** (1969) 255. Reproducción autorizada por Pergamon Press, Ltd.]

TRANSICIONES VIBRACIONALES

Al aumentar la energía (y disminuir la longitud de onda), se presentan transiciones vibracionales *además* de las transiciones rotacionales, y hay combinaciones diferentes de transiciones vibracionales-rotacionales. *Cada uno* de los niveles rotacionales del nivel vibracional más bajo puede ser excitado a distintos niveles rotacionales del nivel vibracional excitado (*B*, en la figura 16.3). Además, puede haber varios niveles vibracionales excitados, cada uno con varios niveles rotacionales. Esto causa numerosas transiciones discretas. El resultado es un espectro de *máximos* o de “envolventes” de estructura fina no resuelta. Las longitudes de onda a las que se presentan esos picos se pueden relacionar con modos vibracionales dentro de la molécula. Se presentan en las regiones del infrarrojo medio y lejano. En la figura 16.4 se muestran algunos espectros infrarrojos característicos.

TRANSICIONES ELECTRÓNICAS

A energías incluso mayores (longitudes de onda en las regiones del visible y el ultravioleta) se producen distintos niveles de transiciones electrónicas, y a ellas se sobreponen transiciones vibracionales y rotacionales (*C*, en la figura 16.3). Esto causa una cantidad aún mayor de transiciones posibles. Aunque todas las transiciones se presentan en etapas cuantizadas que corresponden a diferentes longitudes de onda, esas longitudes de onda individuales son muy numerosas y están demasiado cercanas para resolverlas en líneas o máximos vibracionales individuales, y el resultado neto es un espectro de *bandas* anchas de longitudes de onda absorbidas. En las figuras 16.5 y 16.6 se ven espectros visible y ultravioleta característicos.

Las transiciones vibracionales también son discretas. Pero las transiciones rotacionales simultáneas causan un espectro “extendido” de líneas no diferenciadas.

Las transiciones electrónicas discretas (en regiones visible y ultravioleta) se sobreponen a las transiciones vibracionales y rotacionales. Los espectros están cada vez más “extendidos”.

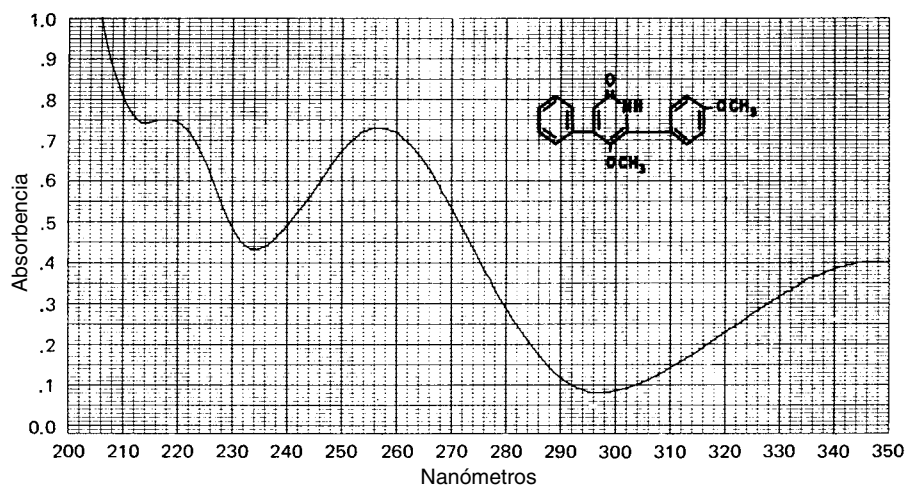


Figura 16.6. Espectro de ultravioleta típico. 5-Metoxi-6-(*p*-metoxifenil)-4-fenil-2(1*H*)-piridona en metanol. (Según *Sadtler Standard Spectra-u.v.* Copyright © Sadtler Research Laboratories, Inc., 1963. Reproducción autorizada por Sadtler Standard Spectra®. Todos los derechos reservados por Sadtler Research Laboratories, Inc.)

Las moléculas pierden la mayor parte de la energía que absorben de la radiación como calor debido a procesos de colisión, esto es, aumentando la energía cinética de las moléculas con las que chocan.

Radiación	Tipo de transición
Microondas	Rotacional
Infrarroja	Rotacional/ vibracional
IR cercano	Vibracional
Visible	Electrones externos
UV	Transiciones electrónicas

Los electrones π (de dobles y triples enlaces) y n (de capa externa) causan la mayor parte de las transiciones electrónicas en UV y visible.

Los electrones excitados entran en orbitales de antienlace (π^* o σ^*). La mayor parte de las transiciones arriba de 200 nm son $\pi \rightarrow \pi^*$ o $n \rightarrow \pi^*$.

¿QUÉ LE SUCEDE A LA RADIACIÓN ABSORBIDA?

Los estados excitados de las moléculas duran muy poco, disipan su energía y regresan a su estado fundamental. Sin embargo, más que emitir esta energía en forma de un fotón de la misma longitud de onda que la absorbida, la mayor parte de las moléculas se desactivan debido a procesos de colisión, en los que la energía se pierde en forma de calor; en la mayor parte de los casos el calor es demasiado pequeño para detectarlo, y por ello la solución de ciertas sustancias tiene color. Si la luz se reemitiera, la solución sería incolora.³ En algunos casos, se emitirá luz, en general a mayores longitudes de onda; esto se describe con mayor detalle en la sección 16.15, donde se estudia la fluorescencia.

16.2 Espectros electrónicos y estructura molecular

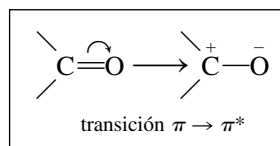
Las transiciones electrónicas que se efectúan en las regiones visible y ultravioleta del espectro se deben a la absorción de radiación por tipos específicos de grupos, enlaces y grupos funcionales en la molécula. La longitud de onda de absorción, y su intensidad, depende de esos tipos. La longitud de onda de absorción es una medida de la energía que se requiere en la transición. Su intensidad depende de la probabilidad de que suceda la transición cuando el sistema electrónico y la radiación interaccionan, y de la polaridad del estado excitado.

CLASES DE TRANSICIONES

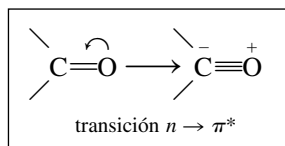
Los electrones de una molécula pueden clasificarse en cuatro tipos diferentes: 1) Electrones de órbitas cerradas (de *core* o *kernel*) que no participan en los enlaces. Tienen energías de excitación muy altas, y no contribuyen a la absorción en las regiones visible o ultravioleta. 2) Electrones covalentes de enlace sencillo (electrones σ o sigma); por ejemplo, enlaces sencillos en hidrocarburos saturados, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$). También poseen energías de excitación demasiado altas para absorber radiación visible o UV. 3) Electrones no enlazantes de capa externa (electrones n), como los de N, O, S y los halógenos. Están unidos menos firmemente que los electrones σ , y pueden excitarse con radiación visible o UV. 4) Electrones en orbitales π (pi), como los de los enlaces dobles o triples. Son los que se excitan con mayor facilidad y son los responsables de la mayor parte de los espectros electrónicos en las regiones visibles y UV.

Los electrones residen en orbitales. Una molécula también posee *orbitales normalmente desocupados* que se llaman **orbitales de antienlace**; corresponden a niveles de energía de estados excitados, y pueden ser orbitales σ^* o π^* . Por consiguiente, la absorción de radiación causa una transición electrónica a un orbital de antienlace. Las transiciones más comunes son de los orbitales π o n , a orbitales π^* de antienlace, y se representan como transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$, que indican una transición a un estado π^* excitado. También el electrón n de antienlace puede ascender, a longitudes de onda muy cortas, a un estado σ^* de antienlace: $n \rightarrow \sigma^*$. Esto se produce a longitudes de onda menores a los 200 nm.

En las cetonas ($\text{R}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{R}'$) se ven ejemplos de transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$. Si se representan las transiciones electrónicas con estructuras de enlace-valencia, se puede escribir lo siguiente:



³No obstante, con radiación paralela unidireccional, la solución seguiría irradiando color debido a que la luz se emitiría como por una fuente puntual, en todas direcciones.



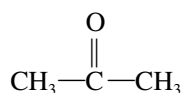
Por ejemplo, la acetona presenta una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de gran intensidad y una $n \rightarrow \pi^*$ de baja intensidad en su espectro de absorción. Un ejemplo de la transición $n \rightarrow \pi^*$ se presenta en los éteres ($R-O-R'$). Dado que esto tiene lugar por debajo de los 200 nm, los éteres, y también los tioéteres ($R-S-R'$), disulfuros ($R-S-S-R$), alquilaminas ($R-NH_2$) y halogenuros de alquilo ($R-X$) son transparentes en las regiones visible y UV; esto es, no presentan bandas de absorción en esas regiones.

La probabilidad de las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ es mayor que la de las transiciones $n \rightarrow \pi^*$, por lo que las intensidades de las bandas de absorción son mayores para las primeras. Las absorptividades molares, ϵ , en el máximo de la banda para las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, suelen ser de 1 000 a 100 000, en tanto que para las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ son menores de 1 000; ϵ es una medida directa de las intensidades de las bandas.

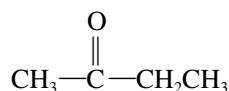
ABSORCIÓN POR CROMÓFOROS AISLADOS

A los grupos que absorben radiación en una molécula se les llama **cromóforos**. Una molécula que contiene un cromóforo se llama **cromógeno**. Un **auxócromo** no absorbe radiación por sí mismo, pero si está presente en una molécula, puede aumentar la absorción de un cromóforo o desplazar la longitud de onda de absorción cuando se une al cromóforo. Como ejemplos están los grupos hidroxilo, amino y los halógenos. Éstos poseen electrones n no compartidos que pueden interactuar con los electrones π en el cromóforo (conjugación $n-\pi$).

Los cambios espectrales se pueden clasificar como sigue: 1) **desplazamiento batocrómico**: el máximo de la absorción se desplaza a longitudes de onda mayores; 2) **desplazamiento hipsocrómico**: el máximo de la absorción se desplaza a longitudes de onda menores; 3) **hipercromía**, aumento en absorptividad molar, y 4) **hipocromía**, disminución en absorptividad molar. Por ejemplo, la acetona,



y la 2-butanona,



producen espectros de forma e intensidad parecidas. Si la alteración es mayor, o si está muy cercana al cromóforo, es de esperar que haya cambios.

De igual modo, los efectos espectrales de dos cromóforos aislados en una molécula (es decir, separados al menos por dos enlaces sencillos), en principio son independientes y son aditivos. Por lo anterior, en la molécula de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CNS}$ hay un máximo de absorción debido al grupo CNS, a 245 nm, con una ϵ de 800. En la molécula de $\text{SNCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CNS}$ hay un máximo de absorción a 247 nm, con aproximadamente el doble de intensidad ($\epsilon = 2\,000$). La interacción entre cromóforos puede perturbar los niveles de energía electrónica y alterar el espectro.

En la tabla 16.2 se aprecia una lista de cromóforos comunes y las longitudes de onda aproximadas de su absorción máxima.

Tabla 16.2

Bandas de absorción electrónica para cromóforos representativos^a

<i>Cromóforo</i>	<i>Sistema</i>	$\lambda_{m\acute{a}x}$	$\epsilon_{m\acute{a}x}$
Amina	—NH ₂	195	2 800
Etileno	—C=C—	190	8 000
Cetona	C=O	195	1 000
		270-285	18-30
Aldehído	—CHO	210	Fuerte
		280-300	11-18
Nitro	—NO ₂	210	Fuerte
Nitrito	—ONO	220-230	1 000-2 000
		300-400	10
Azo	—N=N—	285-400	3-25
Benceno		184	46 700
Naftaleno		202	6 900
		255	170
		220	112 000
		275	5 600
		312	175
Antraceno		252	199 000
		375	7 900

^a Según M. M. Willard, L. L. Merritt y J. A. Dean, *Instrumental Methods of Analysis*, 4a. ed., Copyright 1948, 1951, 1958, 1965 por Litton Educational Publishing, Inc., con autorización de Van Nostrand Reinhold Company.

Se debe destacar que no se pueden calcular con exactitud las longitudes de onda de una banda de absorción ni la probabilidad de absorción (es decir, la intensidad), y que el analista siempre debe correr estándares bajo condiciones cuidadosamente especificadas (temperatura, solvente, concentración, tipo de instrumento, etc.). Los instrumentos modernos pueden tener bases de datos de espectros estándar y se encuentran disponibles catálogos para referencia.

ABSORCIÓN POR CROMÓFOROS CONJUGADOS

Cuando hay enlaces múltiples (dobles o triples) separados sólo por un enlace sencillo se dice que están conjugados. Los orbitales π en ellos se traslapan, con lo que disminuye la brecha de energía entre los orbitales adyacentes. El resultado es un desplazamiento batocrómico en el espectro de absorción, y en general, un aumento de la intensidad. Cuanto mayor sea el grado de conjugación, es decir, que haya varios enlaces dobles, triples y sencillos alternados, el desplazamiento será mayor. La conjugación de enlaces múltiples con electrones no enlazantes (conjugación $n-\pi$) también causa cambios espectrales; por

ejemplo, el grupo $\begin{array}{c} \diagdown \\ \text{C=CH—NO}_2 \\ \diagup \end{array}$.

ABSORCIÓN POR COMPUESTOS AROMÁTICOS

Los compuestos aromáticos absorben intensamente la radiación UV.

Los sistemas aromáticos (que contienen grupos fenilo o benceno) poseen conjugación. Sin embargo, sus espectros son algo diferentes a los de otros sistemas conjugados, por ser más

complejos. El benceno, , absorbe fuertemente a 200 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 6\,900$) con una

banda más débil a 230-270 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 170$); véase la figura 16.7. La banda más débil tiene considerable estructura fina, y cada máximo se debe a la influencia de subniveles vibracionales en las transiciones electrónicas.

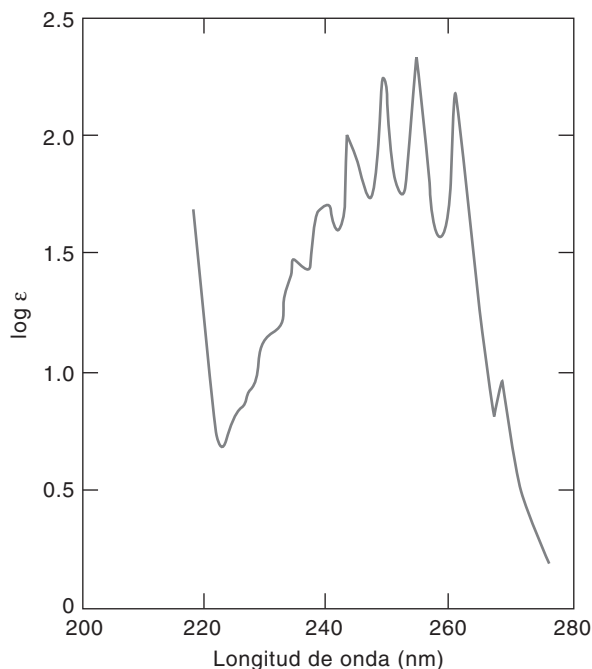
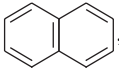
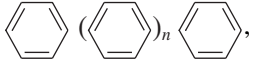
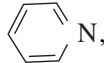


Figura 16.7. Espectro ultravioleta del benceno.

A medida que se agregan sustituyentes al anillo de benceno, por lo general desaparece la estructura fina y hay desplazamiento batocrómico y aumento de intensidad. Los grupos hidroxí ($-\text{OH}$), metoxi ($-\text{OCH}_3$), amino ($-\text{NH}_2$), nitro ($-\text{NO}_2$) y aldehído ($-\text{CHO}$), por ejemplo, aumentan unas 10 veces la absorción; este gran efecto se debe a conjugaciones $n-\pi$. Los halógenos y los grupos metilo ($-\text{CH}_3$) actúan como auxócromos.

Los compuestos aromáticos polinucleares (con anillos de benceno fusionados) como el naftaleno, , presentan mayor conjugación, por lo que absorben a longitudes de onda mayores. El naftaceno (cuatro anillos) tiene un máximo de absorción a 470 nm (visible) y es amarillo, y el pentaceno (cinco anillos) tiene un máximo de absorción a 575 nm y es azul (véase la tabla 16.1).

En los compuestos polifenílicos, , las moléculas enlazadas en *para* (posiciones 1,4, como se indica) son capaces de tener interacciones de resonancia (conjugación) en todo el sistema, y a mayor cantidad de anillos unidos en *para* mayores desplazamientos batocrómicos (por ejemplo, de 250 a 320 nm, al pasar de $n = 0$ a $n = 4$). Sin embargo, en las moléculas enlazadas en posiciones *meta* (posiciones 1,3), no es posible esta conjugación, y así no se presenta desplazamiento apreciable sino hasta $n = 16$; no obstante, aumenta la intensidad de la absorción por los efectos aditivos de los cromóforos idénticos.

Muchos compuestos aromáticos heterocíclicos, por ejemplo la piridina, , absorben en la región UV, y los sustituyentes que se agregan causarán cambios espectrales como en los compuestos bencenoides.

Los colorantes indicadores que se usan en las titulaciones ácido-base y redox (capítulos 8 y 14) son sistemas extensamente conjugados, por lo que absorben en la región visible. La pérdida o la adición de un protón o un electrón cambian mucho la distribución electrónica, y en consecuencia el color.

¿QUÉ OCURRE SI UNA MOLÉCULA NO ABSORBE LA RADIACIÓN?

Con frecuencia se puede preparar un derivado que absorba de un analito que no absorba.

Si un compuesto (orgánico o inorgánico) no absorbe en la región ultravioleta o visible, a veces se puede preparar un derivado del mismo que sí absorba. Por ejemplo, las proteínas forman un complejo colorido con el cobre(II) (reactivo de biuret). Los metales forman quelatos muy coloridos con muchos de los reactivos orgánicos de precipitación que se aprecian en la tabla 10.2, y también con muchos otros. Estos precipitados se pueden disolver o extraer (capítulo 18) con un disolvente orgánico, como el cloruro de etileno, para medir de manera espectrométrica el color de la solución. Más adelante se describirá el mecanismo de absorción de la radiación debida a compuestos inorgánicos.

Las mediciones espectrométricas en las regiones visibles o ultravioleta (en especial las primeras) se emplean mucho en química clínica, con frecuencia formando un derivado o un producto de reacción que tenga color y se pueda relacionar con la sustancia que se analiza. Por ejemplo, se hace reaccionar la creatinina hemática con ion picrato en solución alcalina para formar un producto colorido que absorbe a 490 nm. El hierro se hace reaccionar con batofenantrolina, y se mide a 535 nm; el fosfato inorgánico se hace reaccionar con molibdeno(VI), y el complejo que se forma se reduce para obtener “azul de molibdeno” (una especie +5) que absorbe a 660 nm; el ácido úrico se oxida con fosfotungstato alcalino, y el producto de reacción es azul y se mide a 680 nm. Entre las determinaciones en ultravioleta están la de los barbituratos en solución alcalina, a 252 nm, y el seguimiento de muchas reacciones enzimáticas, registrando el cambio de absorbencia a 340 nm debido a cambios en la forma reducida del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH), un reactivo o producto común en reacciones enzimáticas. En el capítulo 24 se describirán con más detalle las determinaciones clínicas.

QUELATOS INORGÁNICOS: ¿POR QUÉ ABSORBEN TAN INTENSAMENTE?

La absorción de radiación ultravioleta o visible por un complejo metálico se puede deber a una o más de las transiciones siguientes: 1) *excitación del ion metálico*, 2) *excitación del ligando* o 3) *transición por transferencia de carga*. La excitación del ion metálico en un complejo suele tener una absorptividad molar (ϵ) muy baja, del orden de 1 a 100, y no se usa en análisis cuantitativo. La mayor parte de los ligandos que se usan son agentes quelantes orgánicos con las propiedades de absorción antes descritas, esto es, pueden tener transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$. El complejamiento con un ion metálico se parece a la protonación de la molécula, y causa un cambio en la longitud de onda y en la intensidad de la absorción. En la mayor parte de los casos, esos cambios son pequeños.

Con frecuencia, el intenso color de los quelatos metálicos se debe a transiciones por transferencia de carga, las cuales consisten en el movimiento de electrones desde el ion metálico al ligando, o viceversa. Entre esas transiciones están la promoción de electrones de los niveles π en el ligando o de los orbitales de enlace σ a los orbitales desocupados del ion metálico, o a promociones de electrones σ enlazados a orbitales π desocupados en el ligando.

Cuando se efectúan esas transiciones, en realidad ocurre una reacción redox entre el ion metálico y el ligando. En general, el ion metálico se reduce y el ligando se oxida, y la longitud de onda (la energía) del máximo de absorción se relaciona con la facilidad con la que sucede el intercambio. Un ion metálico en estado de oxidación bajo complejoado con un ligando de gran afinidad electrónica se puede oxidar sin destruir el complejo. Un ejemplo importante es el quelato que forma la 1,10-fenantrolina y el hierro(II).

Las transiciones de transferencia de carga tienen una intensidad extremadamente intensa; sus valores de ϵ suelen ser de 10 000 a 100 000; se presentan en las regiones visibles o UV. La intensidad (la facilidad de transferencia de carga) aumenta al elevarse el grado de conjugación en el ligando. Los complejos metálicos de este tipo tienen colores intensos debido a sus grandes absorciones, y son muy adecuados para detectar y medir concentraciones traza en metales.

Las transiciones de transferencia de carga entre un ion metálico y un ligando de complejamiento son muy intensas.

16.3 Absorción en infrarrojo y estructura molecular

La espectroscopia en infrarrojo es muy útil para obtener información cualitativa sobre las moléculas. Pero las moléculas deben poseer ciertas propiedades para poder absorber.

ABSORCIÓN DE RADIACIÓN INFRARROJA

No todas las moléculas pueden absorber en la región del infrarrojo. Para que haya absorción debe presentarse un *cambio en el momento dipolar (polaridad) de la molécula*. Una molécula diatómica debe tener un dipolo permanente (un enlace covalente polar en el que un par de electrones se comparta en forma desigual) para absorber; pero las moléculas mayores no lo hacen. Por ejemplo, el nitrógeno en $\text{N}\equiv\text{N}$ no puede tener un dipolo, y no puede absorber en la región infrarroja. Una molécula diatómica asimétrica, como la del monóxido de carbono, sí tiene un dipolo permanente y por tanto absorbe. El dióxido de carbono, $\text{O}=\text{C}=\text{O}$, no tiene dipolo permanente, pero cuando vibra sí puede tener un momento dipolar. Así, en el modo vibracional $\text{O}\Rightarrow\text{C}\Leftarrow\text{O}$ hay simetría y no existe un momento dipolar, pero en el modo $\text{O}\Leftarrow\text{C}\Leftarrow\text{O}$ sí lo hay y la molécula puede absorber radiación infrarroja vía un dipolo inducido. Los tipos de grupos y moléculas absorbentes para las regiones infrarroja y de otras longitudes de onda se describirán adelante.

Estas descripciones se han limitado a moléculas, porque casi todas las especies absorbentes en solución son de naturaleza molecular. En el caso de átomos aislados (como los que hay en una llama o un arco eléctrico) que no vibran ni giran, sólo tienen transiciones electrónicas. Éstas se ven como líneas nítidas que corresponden a transiciones definidas, y serán materia de descripción en el siguiente capítulo.

La molécula debe sufrir un cambio en su momento dipolar para absorber radiación infrarroja.

Los átomos aislados sólo tienen transiciones electrónicas. Por tanto, sus espectros serán líneas nítidas.

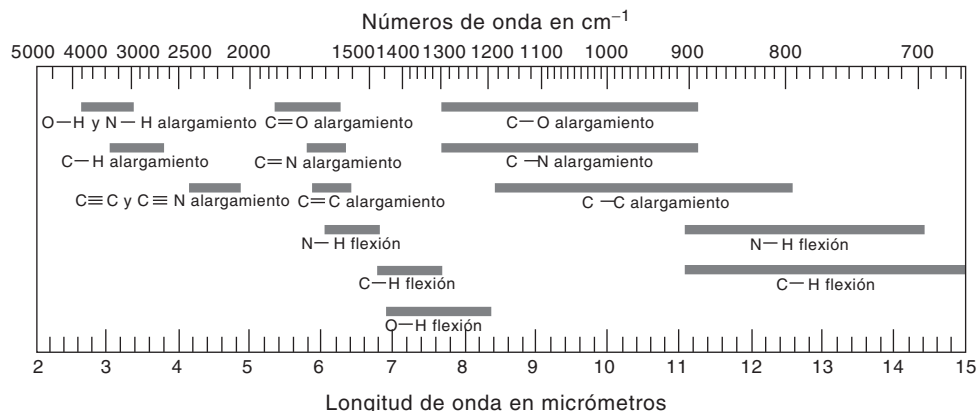
ESPECTROS INFRARROJOS

Los grupos absorbentes (vibracionales) en la región del infrarrojo absorben dentro de cierta región de longitudes de onda, y la longitud de onda exacta está influida por los grupos vecinos. Sin embargo, sus máximos de absorción son mucho más agudos que los de la región ultravioleta o visible, y son más fáciles de identificar. Además, cada molécula tendrá un espectro completo y exclusivo de absorción, por lo que se obtiene una “dactiloscopia” de la molécula. Véase, por ejemplo, el espectro superior de la figura 16.4. Existen catálogos de espectros infrarrojos para una gran cantidad de compuestos para fines de comparación. Véanse las referencias al final del capítulo, y la dirección de Internet al final de esta sección. Naturalmente, las mezclas de compuestos absorbentes poseerán espectros combinados de los compuestos. Aun así, con frecuencia es posible identificar los compuestos individuales a partir de máximos de absorción de grupos específicos en las moléculas. Entre los grupos funcionales más comunes que se pueden identificar se encuentran alcohol, hidroxilo, éster carbonilo, olefina e hidrocarburo insaturado aromático. En la figura 16.8 se resumen las regiones de absorción para ciertos tipos de grupos. La absorción en la región de 6 a 15 μm depende mucho del ambiente molecular, y se llama **región dactiloscópica**. Una molécula se puede identificar al comparar su absorción única en esta región con espectros conocidos en un catálogo.

La región IR es la región “dactiloscópica”.

Aunque el uso más importante de la espectroscopia del infrarrojo es para análisis de identificación y estructura, es útil en el análisis cuantitativo de mezclas complejas de compuestos similares debido a que algunos máximos de absorción de cada compuesto se presentan en longitudes de onda definidas y selectivas, con intensidades proporcionales a la concentración de la especie absorbente. Véase un resumen de las bandas de absorción comunes en <http://science.csustaniedu/tutorial/ir/index.htm>, y compárelo con la figura 16.8. Allí, de manera breve se hace una buena descripción de cómo identificar diferentes tipos de compuestos a partir de combinaciones de bandas, y se hace notar cuáles están ausentes.

Figura 16.8. Correlaciones sencillas entre vibraciones de grupos y regiones de absorción infrarroja. (Según R. T. Conley, *Infrared Spectroscopy*, 2a. ed., Boston: Allyn and Bacon, Inc., 1972. Reproducción autorizada por Allyn and Bacon, Inc.)



LA ESPECTROMETRÍA DEL INFRARROJO EN LA VIDA COTIDIANA

La espectrometría en infrarrojo tiene muchas aplicaciones, por ejemplo la vigilancia de la higiene industrial y la calidad del aire. Cuando se hace la verificación de emisiones de los vehículos (obligatoria en muchas ciudades), se inserta un sensor de infrarrojo en el tubo del escape para medir las concentraciones de CO, CO₂ e hidrocarburos (con base en una absorbividad molar promedio de los hidrocarburos).

Si se detiene a un conductor para comprobar si maneja bajo la influencia del alcohol, es probable que se mida el contenido alcohólico de la sangre por determinación de alcohol en el aliento mediante un instrumento infrarrojo. Se le indica soplar en un tubo para recolectar aire alveolar (de las profundidades de los pulmones) en una cámara de muestra (el aire alveolar está en equilibrio con la sangre en los capilares de los pulmones). Se determina el alcohol a una banda de absorción de 3.44 μm . Sin embargo, esta absorción no es específica del alcohol, y la sustancia en el aliento que puede interferir con más probabilidad es la acetona, que se produce en casos de acidosis (cetosis) cuando una persona es diabética o no ha comido durante algún tiempo. Para corregir la interferencia, también se mide la absorbencia a 3.37 μm , donde la acetona tiene una fuerte banda de absorción y la del alcohol es más débil. La calibración se hace soplando aire a través de una solución alcohólica patrón, a una temperatura determinada, que va a la celda de muestreo. El contenido de alcohol en el aliento se convierte (y se registra) como porcentaje de alcohol en la sangre, con un factor de conversión promedio de 2 100:1. En muchos lugares se considera que un porcentaje de alcohol en la sangre menor que 0.08% es el límite legal; es decir, a esta concentración o mayor, se supone que el individuo está bajo la influencia del alcohol. Este límite es todavía menor en muchos países europeos. Y si se es menor de edad, el límite podrá ser 0%, y se pierde la licencia a menos que se tenga la edad legal.

16.4 Pruebas no destructivas con espectrometría en infrarrojo cercano

La región del infrarrojo medio (de 1.5 a 25 μm) se usa mucho con fines cualitativos debido a la información de la estructura fina que se puede extraer de los espectros. El análisis cuantitativo es más limitado por la necesidad de diluir las muestras para las mediciones y la dificultad de encontrar disolventes que no absorban en las regiones de interés. La región del espectro contigua al extremo visible del espectro electromagnético, de 0.75 a 2.5 μm (750 a 2 500 nm) se denomina región del **infrarrojo cercano** (región NIR, de *near infrared*). En esta región, las bandas de absorción son débiles y casi no tienen características distintivas, pero son útiles en mediciones cuantitativas no destructivas, como en el análisis de muestras sólidas.

ARMÓNICOS Y BANDAS: LA BASE DE LA ABSORCIÓN EN INFRARROJO CERCANO

La absorción en infrarrojo cercano se debe a **armónicos** y **bandas combinadas** vibracionales, que son *transiciones prohibidas* de baja probabilidad, y por esta razón son débiles. Están relacionadas con las vibraciones fundamentales y con el infrarrojo medio. La excitación de una molécula desde un estado vibracional fundamental hasta uno de mayor nivel, donde el número cuántico de vibración ν sea ≥ 2 , causa absorciones armónicas. Entonces, la banda del primer armónico resulta de una transición de $\nu = 0$ a $\nu = 2$, en tanto que el segundo y tercer armónico resultan de una transición de $\nu = 0$ a $\nu = 3$ y de $\nu = 0$ a $\nu = 4$, respectivamente. Las bandas combinadas de absorción se producen cuando se excitan dos vibraciones moleculares diferentes en forma simultánea. La intensidad de las bandas armónicas disminuye aproximadamente un orden de magnitud por cada armónico sucesivo. La absorción en el infrarrojo cercano se debe principalmente a los movimientos de alargamiento y flexión de los enlaces C—H, O—H y N—H.

INFRARROJO CERCANO DE LONGITUD DE ONDA CORTA Y LARGA

La región del infrarrojo cercano (NIR) se puede subdividir en la NIR de longitud de onda corta (750 a 1 100 nm) y la de onda larga (1 100 a 2 500 nm). Estas subdivisiones sólo se basan en los tipos de detectores que se usan en ellas (detectores de silicio para la primera y detectores de PbS, InGaAs o de germanio para la última). En general, las absorbencias son más débiles en la región NIR de longitud de onda corta. Así, para ésta se podrá usar una celda de 1 a 10 cm, en tanto que para el NIR de onda larga se podrá necesitar una más corta, entre 1 a 10 mm. Esto constituye una distinción importante, porque la mayor longitud de trayectoria permitirá que la medición de la muestra sea más representativa. En general, la absorción en el infrarrojo cercano es 10 a 1 000 veces menos intensa que en la región del infrarrojo medio, por lo que las muestras suelen ser polvos, suspensiones o soluciones sin diluir. En el infrarrojo medio, las muestras se suelen diluir en forma de pastillas de KBr, películas delgadas, polvos o soluciones, y las longitudes de las celdas están limitadas entre 15 μm y 1 mm.

INFRARROJO CERCANO PARA PRUEBAS NO DESTRUCTIVAS: ¿CÓMO SE EFECTÚA UNA CALIBRACIÓN?

Si bien los espectros NIR casi no tienen características distintivas y tienen poca absorción, la proporción de señal a ruido es elevada, lo cual se debe a fuentes de radiación intensas, a la gran cantidad de radiación que pasa y a los detectores sensibles en los espectrómetros de infrarrojo cercano. El intervalo de ruido de operación en el infrarrojo medio suele estar en la región de miliabsorbencia, en tanto que los detectores de infrarrojo cercano trabajan con ruidos de microabsorbencia 1 000 veces menores (ver la definición de absorbencia, a continuación). Así pues, con una calibración adecuada, se pueden obtener excelentes resultados cuantitativos.

Debido a su penetración en muestras sin diluir y a la capacidad de usar celdas de trayecto largo, el infrarrojo cercano es útil para mediciones no destructivas y rápidas de las muestras más representativas. Sin embargo, la poca resolución de este método limitó su aplicación durante muchos años, hasta la llegada de computadoras al laboratorio, y el desarrollo de técnicas estadísticas (quimiométricas) para “dotar” a los instrumentos en el reconocimiento y resolución de espectros del analito, en una matriz compleja de muestra; por ejemplo, usando un análisis de regresión para los componentes principales. En las técnicas quimiométricas se usan procedimientos matemáticos de varias variables para mediciones de varios componentes, y se miden todos a la vez, y no un parámetro o componente tras otro. Se dispone de complicados paquetes de programas para la calibración y determinación automáticas. En esencia, se usan patrones de calibración que contienen al analito en diferentes concentraciones en la matriz de la muestra como conjuntos de adiestramiento, de cuyos espectros el programa de

La espectrometría en infrarrojo cercano es útil en mediciones cuantitativas no destructivas. Por ejemplo, se puede medir rápidamente el contenido de proteínas en granos.

cómputo del instrumento puede extraer el espectro del analito y preparar una curva de calibración. En general, se mide en forma simultánea todo el espectro (véase la sección 16.8) y se usan cientos o miles de longitudes de onda para extraer el espectro. Para los análisis cuantitativos (son el uso principal de la espectroscopia del NIR), debe conocerse la composición de los patrones, o se debe determinar con un método normalizado.

ALGUNAS APLICACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DEL INFRARROJO CERCANO

Uno de los principales usos de la espectrometría del infrarrojo cercano es la determinación de valores nutritivos en granos molidos a granel, como trigo, maíz, arroz y avena. Entre los métodos clásicos con que se analizaban esas muestras estaban el de Kjeldahl, para analizar proteínas, el de extracción en Soxhlet para grasas, el de secado al aire para la humedad, y la refractometría para los azúcares. Con una calibración adecuada con mezclas de esas sustancias es posible disponer una muestra pulverizada de granos en un recipiente y obtener un análisis completo en pocos minutos. No obstante, cada matriz de muestra (trigo, maíz, etc.) requiere su propio juego de calibración, porque se requiere la coincidencia de matrices para obtener un análisis exacto. Incluso granos de distinta procedencia geográfica pueden necesitar un modelo diferente de calibración para cada fuente, y por lo regular se requieren cientos de mezclas patrón. Así, la velocidad y flexibilidad de la técnica está contrapesada por más tiempo y esfuerzo necesarios para preparar los patrones y calibrar el instrumento, y en realidad la técnica se limita a mediciones en las que se analizan miles de muestras en forma sistemática. Otro ejemplo del uso del infrarrojo cercano es en la industria petroquímica para medir el octanaje, la presión de vapor, el contenido de aromáticos, etc., en las refinerías. Estas propiedades se relacionan con la composición de los hidrocarburos cuyos espectros se miden.

16.5 Bases de datos de espectros: identificación de incógnitas

En las referencias al final del capítulo se presentan varias fuentes de espectros UV-Vis e IR, catalogadas y útiles, para identificar compuestos. Bourassa *et al.* han compilado una excelente bibliografía sobre interpretación de espectros [*Spectroscopy* **12**(1) (enero) (1997) 10].

Hay bases de datos excelentes y versátiles disponibles. También hay algunas bases de datos básicas, sin costo. A continuación se mencionan algunas. En el texto del sitio Web se ven los detalles de cada una.

1. www.galactic.com. Base de datos sin costo para búsqueda en línea, con más de 6 000 espectros (www.galactic.com/spconline)
2. www.acdlabs.com. Refiere diversas bases de datos que se pueden descargar sin costo.
3. <http://webbook.nist.gov>. Puerta de entrada a colección de datos de NIST, para espectros UV-Vis e IR.
4. www2.chemie.uni-erlangen.de/services/telespec/. Simulación de espectros de infrarrojo.
5. www.ftirsearch.com. Bibliotecas de espectros, de pago por uso, para laboratorios pequeños, con 71 000 espectros.
6. www.chemicalconcepts.com. “La mayor colección de espectros del mundo”, con 660 000 espectros.
7. www.mattsonir.com. Incluye una biblioteca inorgánica para espectros de FTIR.*
8. www.sadtler.com. Sistema integrado de datos para UV-Vis e IR, y otros espectros.

*N. del R. T. Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier.

16.6 Disolventes en espectrometría

Es obvio que el disolvente que se use para preparar la muestra no debe tener una absorción considerable en la región de longitudes de onda donde se hace la medición. En la región visible no hay problema. Hay muchos disolventes incoloros y, naturalmente, para sustancias inorgánicas se usa agua. El agua se puede usar en la región del ultravioleta. Muchas sustancias que se miden en la región ultravioleta son compuestos orgánicos insolubles en agua, por lo que se debe usar un disolvente orgánico. La tabla 16.3 es una lista de varios disolventes que se usan en la región ultravioleta. El punto de corte es la longitud de onda mínima a la cual la absorbencia (véase más adelante) tiende a la unidad, usando una celda de 1 cm con agua como referencia. Todos esos disolventes se pueden usar cuando menos hasta la región visible.

La elección del disolvente afectará algunas veces al espectro en la región ultravioleta debido a interacciones disolvente-soluto. Al pasar de un disolvente no polar a uno polar puede perderse la estructura fina y desplazarse la longitud de onda de absorción máxima (en forma batocrómica o hipsocrómica, dependiendo de la naturaleza de la transición y del tipo de interacciones entre soluto y disolvente).

El problema de encontrar un disolvente adecuado es mayor en la región del infrarrojo, donde es difícil encontrar uno que sea completamente transparente. Con el uso de tetracloruro de carbono o disulfuro de carbono (sin considerar sus efectos sobre la salud) se cubre la región que más se usa, de 2.5 a 15 μm (véase la figura 16.4). El agua tiene fuertes bandas de absorción en la región infrarroja, y sólo se puede emplear para ciertas porciones del espectro. También deben usarse materiales especiales para la celda, compatibles con agua; en mediciones infrarrojas a menudo se usan celdas de sal gema o halita porque el vidrio absorbe esa radiación; pero la sal gema es soluble en agua. Para usar esas celdas deben emplearse disolventes libres de humedad.

Son pocos los disolventes transparentes en la región IR. Con frecuencia se deben usar soluciones bastante concentradas de la muestra.

Tabla 16.3

Límite inferior de transparencia para disolventes en la región ultravioleta

<i>Disolvente</i>	<i>Punto de corte (nm)</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Punto de corte (nm)^a</i>
Agua	200	Diclorometano	233
Etanol (95%)	205	Éter dibutílico	235
Acetonitrilo	210	Cloroformo	245
Ciclohexano	210	Propionato de etilo	255
Ciclopentano	210	Formato de metilo	260
Heptano	210	Tetracloruro de carbono	265
Hexano	210	<i>N,N</i> -Dimetilformamida	270
Metanol	210	Benceno	280
Pentano	210	Tolueno	285
Alcohol isopropílico	210	<i>m</i> -Xileno	290
Isooctano	215	Piridina	305
Dioxano	220	Acetona	330
Éter dietílico	220	Bromoformo	360
Glicerina	220	Disulfuro de carbono	380
1,2-Dicloroetano	230	Nitrometano	380

^a Longitud de onda a la cual la absorbencia es unitaria para una celda de 1 cm, con agua como referencia.

16.7 Cálculos cuantitativos

La fracción de radiación que absorbe una solución de un analito se puede relacionar cuantitativamente con su concentración. A continuación se presentarán los cálculos para una sola especie, y para mezclas de especies absorbentes.

LEY DE BEER: RELACIÓN ENTRE LA CANTIDAD DE RADIACIÓN ABSORBIDA Y LA CONCENTRACIÓN

No se trata de una ley de bebidas (por “Beer”, cerveza en inglés), aunque el término podría hacer referencia a la absorción de radiación que efectúa la cerveza ¡y que le da su color amarillo!

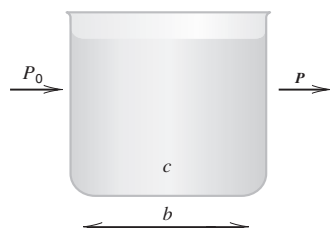


Figura 16.9. Absorción de la radiación. P_0 = potencia de la radiación incidente, P = potencia de la radiación transmitida, c = concentración, b = distancia recorrida por la radiación.

La cantidad de radiación monocromática que absorbe una muestra obedece a la ley de Beer-Bouguer-Lambert, que comúnmente se conoce como **ley de Beer**. Considérese la absorción de radiación monocromática que se ilustra en la figura 16.9. La radiación incidente, con potencia radiante P_0 , atraviesa una solución de una sustancia absorbente con concentración c recorriendo una trayectoria b (la longitud de la celda donde se encuentra la muestra); de aquí sale como radiación emergente (o transmitida), la cual posee una potencia radiante P . Esta potencia radiante es la cantidad que miden los detectores espectrométricos. En 1729, Bouguer (P. Bouguer, *Essai d'otique sur la gradation de la lumière*, París, 1729) y Lambert en 1760 (J. H. Lambert, *Photometria*, Ausburg, 1760), reconocieron que cuando se absorbe la energía electromagnética, la potencia de la energía transmitida disminuye geoméricamente (en forma exponencial). Supóngase, por ejemplo, que en la figura 16.9 se absorbe el 25% de la energía radiante en cierto recorrido b . Veinticinco por ciento de la energía restante (25% de $0.75P_0$) se absorberá en la siguiente longitud de trayectoria b , y queda 56.25% como radiación emergente. De ella, 25% se absorbería en otra longitud de onda b , y así sucesivamente, por lo que se necesitaría una longitud infinita de trayectoria para absorber toda la energía radiante. Ya que la fracción de energía radiante disminuye en forma exponencial en función de la longitud de onda, se puede escribir la siguiente forma exponencial:

$$T = \frac{P}{P_0} = 10^{-kb} \quad (16.4)$$

donde k es una constante, y T se denomina **transmitencia**, fracción de la energía radiante transmitida. Expresando la ecuación anterior en forma logarítmica se llega a

$$\log T = \log \frac{P}{P_0} = -kb \quad (16.5)$$

En 1852, Beer (A. Beer, *Ann. Physik Chem.*, **86** (1852) 78] y Bernard [F. Bernard, *Ann. Chim. et Phys.*, **35** (1853) 385] establecieron que una ley similar rige la dependencia entre T y la concentración c :

$$T = \frac{P}{P_0} = 10^{-k'c} \quad (16.6)$$

en la que k' es una nueva constante, y entonces

$$\log T = \log \frac{P}{P_0} = -k'c \quad (16.7)$$

Al combinar estas dos leyes se obtiene la ley de Beer, que describe la dependencia de T respecto de la trayectoria recorrida a través de la muestra y la concentración:

$$T = \frac{P}{P_0} = 10^{-abc} \quad (16.8)$$

donde a es una constante que resulta de la combinación de k y k' , y

$$\log T = \log \frac{P}{P_0} = -abc$$

(16.9)

Es más conveniente omitir el signo negativo del lado derecho de la ecuación y definir un término nuevo, **absorbencia**:

$$A = -\log T = \log \frac{1}{T} = \log \frac{P_0}{P} = abc$$

(16.10)

donde A es la absorbencia. Ésta es la forma común de la ley de Beer. Nótese que la *absorbencia* es la directamente proporcional a la concentración. ¡La ley de Beer es tan simple como el abc!

El **porcentaje de transmitencia** se define como

$$\% T = \frac{P}{P_0} \times 100$$

(16.11)

La ecuación 16.10 se puede reacomodar. Como $T = \% T/100$,

$$A = \log \frac{100}{\% T} = \log 100 - \log \% T$$

o sea

$$A = 2.00 - \log \% T$$

y

$$\% T = \text{antilog}(2.00 - A)$$

(16.12)

El siguiente cálculo y gráfica de la absorbencia y transmitencia, obtenidos en una hoja de cálculo, ilustra el cambio exponencial de la absorbencia en función de un cambio lineal en la transmitencia.

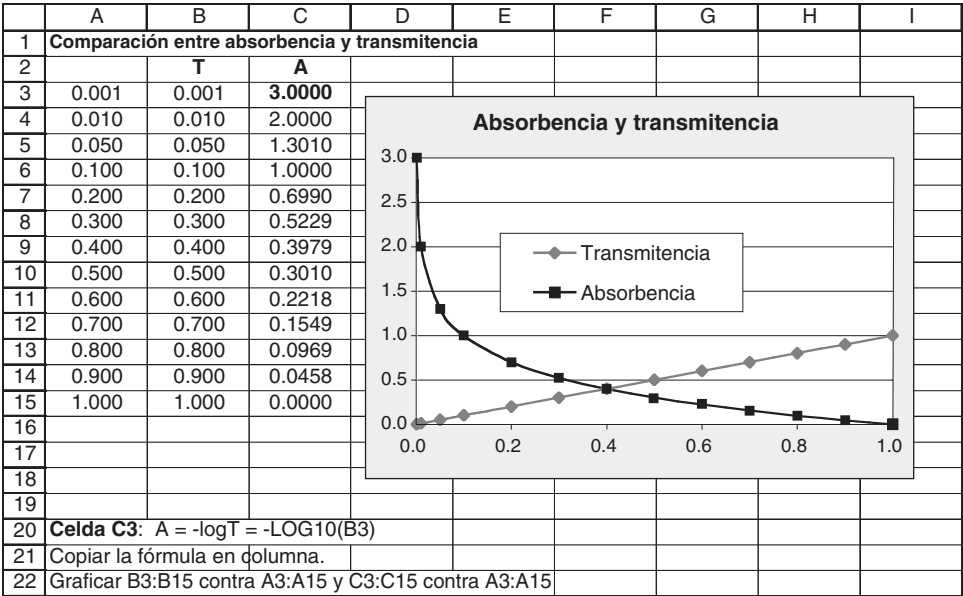


Tabla 16.4
Nomenclatura en espectrometría

En los libros y publicaciones se encuentran muchos símbolos y términos relacionados con la ley de Beer. Aquí se muestran algunos.

Nombre recomendado	Nombres o símbolos anteriores
Absorbencia (<i>A</i>)	Densidad óptica (OD), extinción, absorbencia
Absortividad (<i>a</i>)	Coefficiente de extinción, índice de absorbencia, índice de absorción
Longitud de la trayectoria (<i>b</i>)	<i>l</i> o <i>d</i>
Transmitencia (<i>T</i>)	Transmisión
Longitud de onda (nm)	<i>mμ</i> (milimicra)

La absortividad varía en función de la longitud de onda, y representa el espectro de absorción.

La longitud de trayectoria *b* (ancho de la celda) en la ecuación 16.10 se expresa en centímetros, y la concentración *c* en gramos por litro. A la constante *a* se le llama **absortividad**, y depende de la longitud de onda y de la naturaleza del material absorbente. En un espectro de absorción, la absorbencia varía con la longitud de onda en proporción directa de *a* (con *b* y *c* constantes). El producto de la absortividad por el peso molecular de la sustancia absorbente se llama **absortividad molar ε**. Entonces,

$A = \epsilon bc$

(16.13)

$a = \text{cm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ L}$
 $\epsilon = a \times \text{peso fórm.} = \text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$

donde *c* está ahora en *moles por litro*. La longitud de trayectoria en la celda, en espectrometría ultravioleta y visible, a menudo es 1 cm; entonces, las unidades de ε son cm⁻¹ mol⁻¹ L, en tanto que las de *a* son cm⁻¹ g⁻¹ L. Se puede emplear la absortividad *a* en otras unidades que no sean g/L, y las concentraciones se pueden expresar, por ejemplo, en ppm, pero las unidades recomendadas para publicar trabajos son las que se acaban de describir. La ley de Beer es estrictamente válida para radiación monocromática, porque la absortividad varía con la longitud de onda.

Aquí se han usado los símbolos y la terminología recomendados en la revista *Analytical Chemistry*. Pueden aparecer otros términos, como densidad óptica (OD) en vez de absorbencia, y el coeficiente de extinción en lugar de absortividad, en especial en publicaciones anteriores; empero, hoy no se recomienda más su uso. La tabla 16.4 muestra una lista con algo de la nomenclatura anterior.

Ejemplo 16.1

Se determina que una muestra en una celda de 1.0 cm, en un espectrómetro, transmite 80% de la luz a cierta longitud de onda. Si la absortividad de esta sustancia, a esta longitud de onda, es 2.0, ¿cuál es la concentración de la sustancia?

Solución

T no tiene unidades. Revisar las dimensiones de las unidades.

El porcentaje de transmitencia es 80%, por lo que *T* = 0.80:

$$\log \frac{1}{0.80} = 2.0 \text{ cm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ L} \times 1.0 \text{ cm} \times c$$
$$\log 1.25 = 2.0 \text{ g}^{-1} \text{ L} \times c$$
$$c = \frac{0.10}{2.0} = 0.050 \text{ g/L}$$

Ejemplo 16.2

Una solución contiene 1.00 mg de hierro (como complejo de tiocianato) en 100 mL, y se observa que transmite 70.0% de la luz incidente, en comparación con un testigo o blanco apropiado. *a)* ¿Cuál es la absorbencia de la solución a esta longitud de onda? *b)* ¿Qué fracción de luz transmitiría una solución cuatro veces más concentrada en hierro?

Solución

$$\begin{aligned} a) \quad T &= 0.700 \\ A &= \log \frac{1}{0.700} = \log 1.43 = 0.155 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} b) \quad 0.155 &= ab(0.0100 \text{ g/L}) \\ ab &= 15.5 \text{ L/g} \end{aligned}$$

Por consiguiente, $A = 15.5 \text{ L/g} (4 \times 0.0100 \text{ g/L}) = 0.620$

$$\begin{aligned} \log \frac{1}{T} &= 0.620 \\ T &= 0.240 \end{aligned}$$

La absorbencia de la nueva solución se pudo haber calculado de manera más directa:

$$\begin{aligned} \frac{A_1}{A_2} &= \frac{abc_1}{abc_2} = \frac{c_1}{c_2} \\ A_2 &= A_1 \times \frac{c_2}{c_1} = 0.155 \times \frac{4}{1} = 0.620 \end{aligned}$$

Ejemplo 16.3

Las aminas, RNH_2 , reaccionan con el ácido pícrico para formar picratos de amina, que absorben fuertemente a 359 nm ($\epsilon = 1.25 \times 10^4$). Se disolvieron 0.1155 g de una amina desconocida en agua, y se diluyó a 100 mL. De esta solución se diluye una alícuota de 1 mL a 250 mL, para su medición. Si esta solución final tiene una absorbencia de 0.454 a 359 nm con una celda de 1.00 cm, ¿cuál es el peso fórmula de la amina? ¿Cuál sería una fórmula probable?

Solución

$$A = \epsilon bc$$

$$0.454 = 1.25 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L} \times 1.00 \text{ cm} \times c$$

$$c = 3.63 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

$$\frac{(3.63 \times 10^{-5} \text{ mol/L})(0.250 \text{ L})}{1.00 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 9.08 \times 10^{-4} \text{ mol en la solución original}$$

$$\frac{0.1155 \text{ g}}{9.08 \times 10^{-4} \text{ mol}} = 127.2 \text{ g/mol}$$

El peso fórmula de la cloroanilina, $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{NH}_2$, es 127.6; por tanto, es la amina probable.

Ejemplo 16.4

La cloroanilina de una muestra se determina como picrato de anilina, según se describió en el ejemplo 16.3. Una muestra de 0.0265 g reacciona con ácido pícrico, y se diluye a 1 L. La solución tiene una absorbencia de 0.368 en una celda de 1 cm. ¿Cuál es el porcentaje de cloroanilina en la muestra?

Solución

$$\begin{aligned}
 A &= \epsilon bc \\
 0.368 &= 1.25 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L} \times 1.00 \text{ cm} \times c \\
 c &= 2.94 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \\
 (2.94 \times 10^{-5} \text{ mol/L})(127.6 \text{ g/mol}) &= 3.75 \times 10^{-3} \text{ g de cloroanilina} \\
 \frac{3.75 \times 10^{-3} \text{ g de cloroanilina}}{2.65 \times 10^{-2} \text{ g de muestra}} \times 100\% &= 14.2\%
 \end{aligned}$$

MEZCLAS DE ESPECIES ABSORBENTES

Es posible hacer cálculos cuantitativos cuando dos especies absorbentes en solución tienen espectros que se sobreponen. De acuerdo con la ley de Beer, la absorbencia total A , a determinada longitud de onda, es igual a la suma de las absorbencias de todas las especies absorbentes. Cuando hay dos especies absorbentes, si c está en gramos por litro, entonces

$$A = a_x bc_x + a_y bc_y \quad (16.14)$$

Las absorbencias de sustancias absorbentes individuales son aditivas.

o bien, si c está en moles por litro,

$$A = \epsilon_x bc_x + \epsilon_y bc_y \quad (16.15)$$

donde los subíndices se refieren a las sustancias x y y , respectivamente.

Considérese, por ejemplo, la determinación de las sustancias x y y , cuyos espectros individuales de absorción a la concentración dada fueran las curvas sólidas de la figura 16.10, y el espectro combinado de la mezcla fuera la curva de línea punteada. Como hay dos incógnitas, sólo habrá que hacer dos mediciones. La técnica es escoger dos longitudes de onda para medirlas, una que esté en el máximo de absorción para x (λ_1 en la figura), y la otra en el máximo de absorción para y (λ_2 en la figura). Entonces, se puede escribir lo siguiente:

$$A_1 = A_{x1} + A_{y1} = \epsilon_{x1} bc_x + \epsilon_{y1} bc_y \quad (16.16)$$

$$A_2 = A_{x2} + A_{y2} = \epsilon_{x2} bc_x + \epsilon_{y2} bc_y \quad (16.17)$$

Hay dos incógnitas (c_x y c_y). Se necesitan dos ecuaciones que se puedan resolver simultáneamente.

donde A_1 y A_2 son las absorbencias a las longitudes de onda 1 y 2, respectivamente (para la mezcla); A_{x1} y A_{y1} son las absorbencias debidas a x y y , respectivamente, a la longitud de onda 1; y A_{x2} y A_{y2} son las absorbencias debidas a x y y , respectivamente, a la longitud de onda 2. De igual modo, ϵ_{x1} y ϵ_{y1} son las absorptividades molares correspondientes de x y y a la longitud de onda 1, en tanto que ϵ_{x2} y ϵ_{y2} son las absorptividades molares respectivas de x y y , a la longitud de onda 2. Estas absorptividades molares se determinan midiendo las absorbencias de soluciones puras, de concentraciones molares conocidas de x y y , a las lon-

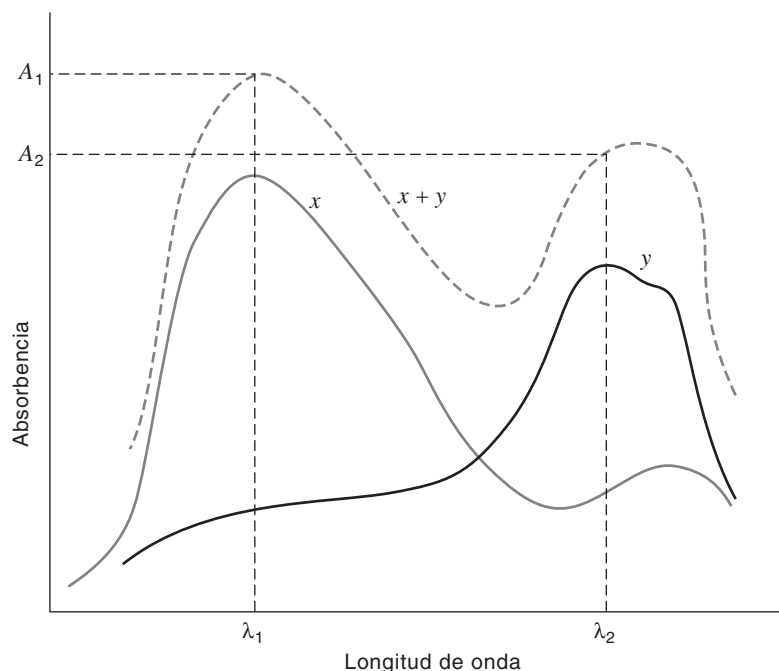


Figura 16.10. Espectros de absorción de las sustancias puras x y y , y de la mezcla de x y y a las mismas concentraciones.

gitudes de onda 1 y 2. Entonces, c_x y c_y son las únicas dos incógnitas en las ecuaciones 16.16 y 16.17, y se pueden calcular resolviendo las dos ecuaciones simultáneas.

Ejemplo 16.5

El dicromato de potasio y el permanganato de potasio en H_2SO_4 1 M tienen espectros de absorción que se sobreponen. El $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ tiene un máximo de absorción a 440 nm, y el KMnO_4 tiene una banda a 545 nm (en realidad, el máximo está en 525 nm, pero en general se usa la mayor longitud de onda, donde es menor la interferencia del $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Se analiza una mezcla midiendo las absorbancias a esas dos longitudes de onda, con los resultados siguientes: $A_{440} = 0.405$, $A_{545} = 0.712$, en una celda de 1 cm de largo (aproximadamente; no se conoce la longitud exacta). Las absorbancias de soluciones puras de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ($1.00 \times 10^{-3} M$) y del KMnO_4 ($2.00 \times 10^{-4} M$) en H_2SO_4 1 M , usando la misma celda, dieron los siguientes resultados: $A_{\text{Cr},440} = 0.374$, $A_{\text{Cr},545} = 0.009$, $A_{\text{Mn},440} = 0.019$ y $A_{\text{Mn},545} = 0.475$. Calcular las concentraciones de dicromato y permanganato en la solución de la muestra.

Solución

No se conoce con exactitud la longitud de la trayectoria b , pero como se usa la misma celda en todas las mediciones, ésta se vuelve una constante. Se calcula el producto ϵb obtenido en las mediciones de calibración y se usa esta constante en los cálculos (se llama k a la constante):

Si se mantiene fija la longitud de la trayectoria, se vuelve parte de la constante.

$$\begin{aligned}
 0.374 &= k_{\text{Cr},440} \times 1.00 \times 10^{-3} & k_{\text{Cr},440} &= 374 \\
 0.009 &= k_{\text{Cr},545} \times 1.00 \times 10^{-3} & k_{\text{Cr},545} &= 9 \\
 0.019 &= k_{\text{Mn},440} \times 2.00 \times 10^{-4} & k_{\text{Mn},440} &= 95 \\
 0.475 &= k_{\text{Mn},545} \times 2.00 \times 10^{-4} & k_{\text{Mn},545} &= 2.38 \times 10^3 \\
 A_{440} &= k_{\text{Cr},440}[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] + k_{\text{Mn},440}[\text{MnO}_4^-] \\
 A_{545} &= k_{\text{Cr},545}[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] + k_{\text{Mn},545}[\text{MnO}_4^-] \\
 0.405 &= 374[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] + 95[\text{MnO}_4^-] \\
 0.712 &= 9[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] + 2.38 \times 10^3[\text{MnO}_4^-]
 \end{aligned}$$

Resolviendo simultáneamente los resultados

$$[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] = 1.01 \times 10^{-3} M \quad [\text{MnO}_4^-] = 2.95 \times 10^{-4} M$$

Obsérvese que para el Cr a 545 nm, donde se traslapa con el máximo principal del Mn, sólo se midió la absorbencia con una cifra por ser tan pequeña. Eso es lo adecuado. Cuanto menor sea la corrección necesaria, mejor. En el caso ideal debería ser cero.

.....

EJERCICIO EN HOJA DE CÁLCULO: CÁLCULO DE MEZCLAS

Se usará Solver de Excel para hacer los cálculos de este problema. Si se representan las dos concentraciones como X y Y , se despejará Y y después se sustituirá este valor en la fórmula adecuada de X para calcular su valor. Las ecuaciones son

$$A_1 = k_{x1}X + k_{y1}Y \quad (1)$$

$$A_2 = k_{x2}X + k_{y2}Y \quad (2)$$

De la ecuación (1):

$$X = (A_1 - k_{y1}Y)/k_{x1} \quad (3)$$

Esto se sustituye en la ecuación (2):

$$A_2 = k_{x2}(A_1 - k_{y1}Y)/k_{x1} + k_{y2}Y \quad (4)$$

Reordenando:

$$k_{x2}(A_1 - k_{y1}Y)/k_{x1} + k_{y2}Y - A_2 = 0 \quad (5)$$

Se usará la ecuación (5) para calcular Y con Solver. En la hoja de cálculo se ingresa la fórmula (3) para calcular X también en forma automática. Se compararán los valores de X y Y calculados en la hoja con los del problema anterior.

Comprobar los cálculos anteriores. Se puede usar la hoja para resolver cualquier problema con mezcla de dos componentes sustituyendo los valores correspondientes de A_1 , A_2 , k_{x1} , k_{x2} , k_{y1} y k_{y2} (se debe guardar la hoja de cálculo en la computadora antes de usarla).

Si las dos curvas espectrales sólo se sobreponen en una de las longitudes de onda, la solución se simplifica. Por ejemplo, si el espectro de x no se traslapa con el de y en la longitud de onda 2, se puede determinar la concentración de y con una sola medición a la longitud de onda 2, como si no se tratara de una mezcla. Después se puede calcular la concentración de x a partir de la absorbencia a la longitud de onda 1, restando la contribución de y a la absorbencia a esa longitud de onda, esto es, con la ecuación 16.16. Naturalmente, debe determinarse la absortividad de y a la longitud de onda 1. Si no se traslapa alguno de los espectros a la longitud de onda de la medición (por lo general a la absorbencia máxima), cada sustancia se puede determinar de la manera normal.

Al hacer esas mediciones de diferencias se ha supuesto que la ley de Beer es válida en los intervalos de concentración que se manejan. Si una sustancia está mucho más concentrada que la otra, su absorbencia puede ser grande a ambas longitudes de onda en comparación con la de la otra sustancia, dando como resultado que no sea muy exacta la determinación de la otra sustancia.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Uso de Solver, de Excel, para resolver ecuaciones simultáneas de absorbencias de mezclas (ejemplo 16.5)								
2	$A_1 = k_{x1}X + k_{y1}Y$		A1 =	0.405	$k_{x1} =$	374	$k_{y1} =$	95	
3	$A_2 = k_{x2}X + k_{y2}Y$		A2 =	0.712	$k_{x2} =$	9	$k_{y2} =$	2.38E+03	
4	Se usará Solver para calcular Y (celda C9). Después se calcula X con el valor de Y.								
5									
6	$X = (A_1 - k_{y1}Y)/k_{x1}$ = Celda C8.			fórmula en C8 =		(\$D\$2-\$H\$2*C9)/\$F\$2			
7									
8		X =	0.001008						
9		Y =	0.000295						
10		Solver:	C9 = se cambia celda						
11									
12	fórmula:	-1.57E-14		Solver:					
13				B12 = celda objetivo					
14				Poner el valor en 0					
15	fórmula:	$k_{x2}((A_1 - k_{y1}Y)/k_{x1} + k_{y2}Y - A_2 = 0$ (el 0 no se ingresa)							
16	fórmula en B12 =	$\$F\$3*((\$D\$2-\$H\$2*C9)/\$F\$2)+\$H\$3*C9-\$D\$3$							
17									
18	Se usó Solver para calcular Y (C9). Este valor se sustituye en C8 para calcular X.								
19	Se podría haber calculado X con Solver y usarlo para calcular Y.								
20	Nota: No se puede restar la fórmula en la celda A3 de la que se ubica en la celda A2 e igualarla con								
21	A ₁ - A ₂ y usar Solver para cambiar X y Y para obtener una respuesta, porque hay								
22	una cantidad infinita de iteraciones.								
23									
24	Se puede usar esto para resolver otros problemas de mezclas sustituyendo los valores indicados								
25	por negritas (A₁, A₂, k_{x1}, k_{y1}, k_{x2}, k_{y2})								

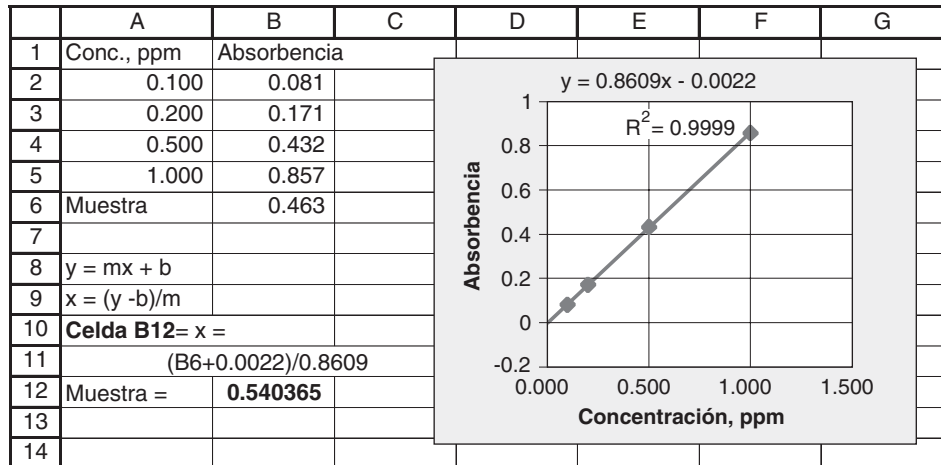
Los instrumentos digitales modernos que registran todo el espectro de una solución tienen con frecuencia algoritmos matemáticos incorporados que calculan las concentraciones de varios analitos diferentes cuyos espectros se traslapan usando los valores de absorbencia a muchas longitudes de onda diferentes (para asegurar los datos y mejorar la confianza) y resuelven los cálculos de ecuaciones simultáneas en computadora. Véase espectrómetros de serie de diodos, en la sección 16.10.

Con mediciones en varias longitudes de onda se pueden analizar media docena o más de componentes. Véanse la sección 16.9 y la figura 16.24.

EJERCICIO EN HOJA DE CÁLCULO: CÁLCULO DE INCÓGNITAS A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

El hierro se determina por espectrofotometría haciéndolo reaccionar con 1,10-fenantrolina, con lo que se forma un complejo que absorbe a 510 nm. Con una serie de soluciones valoradas se obtuvieron las siguientes absorbencias: 0.100 ppm: 0.081; 0.200 ppm: 0.171; 0.500 ppm: 0.432, y 1 ppm: 0.857. La solución de la muestra produce una absorbencia de 0.463. Se prepara una hoja de cálculo para trazar la curva de calibración, y calcular la concentración de la solución problema.

La recta de mínimos cuadrados tiene una pendiente de 0.861 y una ordenada al origen de -0.002 (con Opciones, en Tabla, agregar Tendencia cuando aparezcan tabla o línea). Por consiguiente, la concentración del problema es igual a $(0.463 - 0.002)/0.861$, como indica la fórmula en la hoja de cálculo (a continuación). La concentración de la muestra es 0.540 ppm. Ahora se hará este mismo cálculo sin trazar la curva de calibración, y se incluirá la desviación estándar de la concentración de la muestra.



DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA CONCENTRACIÓN DE LA MUESTRA

Ahora se presentarán algunas operaciones estadísticas nuevas que permitirán calcular la desviación estándar (S_c) de la concentración desconocida determinada con la curva de calibración basada en la cantidad de mediciones (N), la pendiente (m) de la curva de calibración, la absorbencia promedio (y_{prom}), la suma de cuadrados de las desviaciones (S_{xx}) de las concentraciones individuales (x_i) respecto al promedio de x (x_{prom}), y la desviación estándar respecto a la regresión (S_r). Primero se repasará el uso de las funciones estadísticas LINEST de Excel, de la sección 3.20. Se usarán algunas sintaxis (funciones estadísticas) nuevas para ayudar en los cálculos (repasar las sintaxis útiles en la sección 3.8).

Se definirán los siguientes términos:

N = cantidad de mediciones (usar CONTAR para calcular)

M = cantidad de análisis duplicados de la muestra (= 1 si no hay repeticiones)

y_{prom} = promedio de los valores de y para N datos de calibración (usar PROMEDIO para calcular)

S_{xx} = suma de desviaciones del valor promedio x_{prom}

$$S_{xx} = \sum (x_i - x_{\text{prom}})^2 \quad (\text{usar } N * \text{VARP para calcular}) \quad (16.18)$$

S_{yy} = suma de cuadrados de las desviaciones respecto al valor de y_{prom}

$$S_{yy} = \sum (y_i - y_{\text{prom}})^2 \quad (\text{usar } N * \text{VARP para calcular}) \quad (16.19)$$

S_r = desviación estándar respecto de la regresión = error estándar del estimado = error estándar en y (LINEST lo calculó para la curva de calibración en la figura 3.10)

$$S_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}} \quad (\text{usar STEYX para calcular}) \quad (16.20)$$

Se desea calcular la desviación estándar de la concentración obtenida con la curva de calibración:

$$S_c = \frac{S_r}{m} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{y_c - y_{\text{prom}}}{m^2 S_{xx}}} \quad (16.21)$$

Según se indicó, se pueden calcular los valores de S_r y S_{xx} con las funciones estadísticas de Excel (no se necesita calcular S_{yy} , necesaria para S_r , porque Excel lo hace). La siguiente hoja de cálculo es para hacer estos cálculos.

	A	B	C	D	E
1	Conc., ppm	Absorbencia			
2	0.100	0.081		N:	4
3	0.200	0.171		M:	1
4	0.500	0.432		m:	0.860918
5	1.000	0.857		y _{prom} :	0.38525
6	Muestra (y _c)	0.463		S _{xx} :	0.49
7				Sr:	0.003629
8	Celda E2 = N = CONTAR(B2:B5)			S _c :	0.0051
9	Celda E3 = M = replicados de muestra = 1				
10	Celda E4 = pendiente = m = PENDIENTE(B2:B5,A2:A5)				
11	Celda E5 = y _{prom} = PROMEDIO(B2:B5)				
12	Celda E6 = S _{xx} = N*VARP(A2:A5) = E2*VARP(A2:A5)				
13	Celda E7 = S _r = STEYX(B2:B5,A2:A5)				
14	Celda E8 = S _c = S _r /m*((1/M + 1/N + (y _c -y _{prom})/m ² *S _{xx})) ^{1/2}				
15	= E7/E4*((1/E3+1/E2+(B6-E5)/(E4^2*E6))^0.5)				
16					
17	Celda B18 = b = INTERSECCIÓN.EJE(B2:B7,A2:A7)				
18	= -0.0021633				
19	Celda B20: Muestra = x = (y _c -b)/m = (B6-B18)/E4				
20	= 0.54031054				
21	Muestra = 0.540+/-0.005 ppm				

La desviación estándar de la concentración desconocida, S_c , es 0.0051 para una concentración de la muestra igual a 0.5403 ppm; entonces el informe dirá que la concentración es de 0.540 ± 0.005 ppm.

MEDICIONES CUANTITATIVAS EN ESPECTROS INFRARROJOS

En general, los instrumentos de infrarrojo registran el porcentaje de transmitancia en función de la longitud de onda. La presencia de radiación dispersa, en especial a mayores concentraciones, cuando se trabaja en infrarrojo, dificulta la aplicación directa de la ley de Beer. También, debido a que las fuentes son bastante débiles, es necesario usar rejillas relativamente anchas, lo que causa desviaciones aparentes de la ley de Beer (véase más adelante). Por consiguiente, con frecuencia se emplean métodos empíricos en análisis cuantitativo en infrarrojo, manteniendo constantes las condiciones experimentales. Con frecuencia se usa el **método de la línea base** o **método de relación**, que se ilustra en la figura 16.11. Se selecciona un máximo que no esté muy cerca de otros para la sustancia que se mide o para otras sustancias. Se traza una recta en la base de la banda y se miden P y P_0 en el máximo de absorción. (La curva está de cabeza respecto al espectro normal de absorción, porque aquí se grafica la transmitancia en función de la longitud de onda.) Se grafica $\log P_0/P$ como de costumbre. Se comparan las incógnitas contra patrones obtenidos bajo las mismas condiciones instrumentales. Con esta técnica se reducen al mínimo los errores relativos que son proporcionales al tamaño de la muestra, pero no se eliminan los errores aditivos simples, como los que hacen desplazar la línea base.

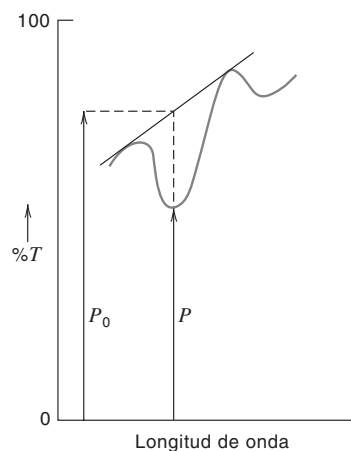


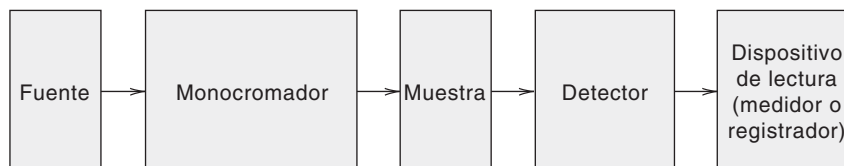
Figura 16.11. Método de la línea base para determinaciones cuantitativas en la región infrarroja del espectro.

16.8 Instrumentación espectrométrica

Un **espectrómetro** o **espectrofotómetro** es un instrumento que descompone la radiación policromática en distintas longitudes de onda. En la figura 16.12 se presenta un diagrama de bloques de un espectrómetro. Todos los espectrómetros necesitan: 1) una **fuentes** de

Los tipos de componentes en los instrumentos dependerán de la región de longitudes de onda.

Figura 16.12. Diagrama de bloques de un espectrómetro.



radiación continua en las longitudes de onda que interesan; 2) un **monocromador** para seleccionar una banda angosta de longitudes de onda del espectro de la fuente; 3) una celda para la muestra; 4) un **detector** o transductor, para convertir energía radiante en energía eléctrica, y 5) un instrumento para interpretar la respuesta del detector. La muestra puede estar antes o después del monocromador. Cada una de estas partes, a excepción del dispositivo de lectura, varía de acuerdo con la región de longitudes de onda.

FUENTES

Fuentes para:

Vis: lámpara incandescente
 UV: tubo de descarga en H_2 o D_2
 IR: emisor de óxido de tierras raras o de carburo de silicio

Intervalos de trabajo de las fuentes comunes de UV/Vis:

Arco de xenón de pulsos:
 180 a 2 500 nm
 Deuterio con dc:
 185 a 2 500 nm
 Arco con dc: 200 a 2 500 nm
 Filamento de cuarzo tungsteno-halógeno:
 220 a 2 200 nm

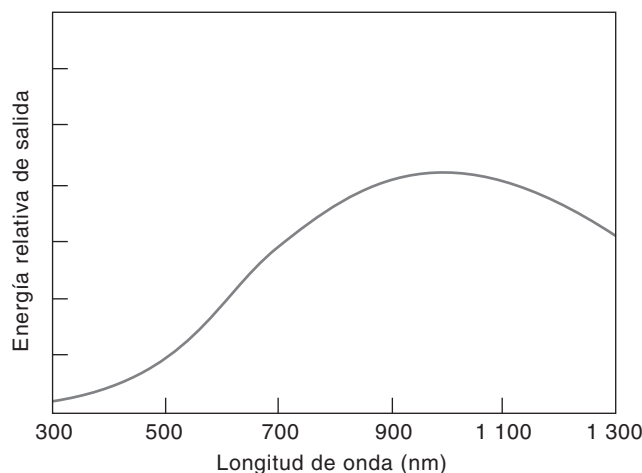
La fuente debe tener una producción de radiación fácilmente detectable en la región de longitudes de onda para la cual está diseñado el instrumento. Sin embargo, ninguna fuente tiene una emisión espectral constante. La fuente que más se emplea para la región **visible** es una *lámpara incandescente de filamento de tungsteno*. En la figura 16.13 se muestra el espectro de emisión de una de esas lámparas. El intervalo útil de longitudes de onda varía de 325 o 350 nm a $3\ \mu m$, por lo que también se puede usar en las regiones de ultravioleta cercano e infrarrojo cercano. La emisión con máxima longitud de onda se puede desplazar a menores longitudes de onda aumentando el voltaje a la lámpara y, en consecuencia, la temperatura del filamento,* pero se acorta su duración. Por esta razón se requiere una fuente de poder estable y regulada para alimentar la lámpara. Esto es igual para fuentes con otros intervalos del espectro. A veces se usa un acumulador de 6 V como fuente de voltaje.

Para la región **ultravioleta**, en general se usa como fuente un *tubo de descarga de hidrógeno* o de *deuterio* a baja presión. Los dos se pueden usar desde 185 hasta 375 nm, pero la fuente de deuterio tiene unas tres veces la salida espectral de la de hidrógeno. Las fuentes de ultravioleta deben tener una ventana de cuarzo, porque el vidrio no es transparente a esa radiación. Con frecuencia tienen enfriamiento por agua para disipar el calor generado.

La radiación **infrarroja** en esencia es calor, por lo que como fuentes se usan alambres calientes, focos luminosos o cerámicas incandescentes. La distribución de energía de fuentes de cuerpo negro tiende a llegar al máximo entre 100 y 2 000 nm (IR cercano) y decrece en el IR medio. Los espectrómetros para infrarrojo suelen operar a partir de 2 a $15\ \mu m$,

*N. del R. T. Fenómeno asociado con el de la radiación del cuerpo negro.

Figura 16.13. Intensidad de la radiación en función de la longitud de onda para un foco común de tungsteno a 3 000 K.



aproximadamente, y como la intensidad de la radiación es relativamente baja en esta región, se usan rendijas relativamente grandes para aumentar el flujo de la luz. Pero de ese modo se degrada la resolución de longitudes de onda. Por esta razón se prefiere un interferómetro, por su mayor capacidad (ver la descripción del instrumento de infrarrojo por transformada de Fourier en la sección 16.11). Una fuente característica para infrarrojo es el *radiador de Nernst*. Es una varilla formada por una mezcla de óxidos de tierras raras. Tiene un coeficiente térmico de resistencia negativo y no es conductor a temperatura ambiente. En consecuencia, se debe calentar para excitarlo y que emita radiación; una vez en operación se vuelve conductor y produce una radiación máxima a casi $1.4 \mu\text{m}$, o $7\,100 \text{ cm}^{-1}$ ($1\,500$ a $2\,000 \text{ }^\circ\text{C}$). Otra fuente de infrarrojo es el *Globar*. Es una varilla de carburo de silicio sinterizado, calentada a $1\,300$ a $1\,700 \text{ }^\circ\text{C}$. Su radiación máxima está en $1.9 \mu\text{m}$, aproximadamente ($5\,200 \text{ cm}^{-1}$), y debe estar enfriada por agua. El *Globar* es una fuente menos intensa que el radiador de Nernst, pero es más satisfactorio para longitudes de onda mayores de $15 \mu\text{m}$ porque su intensidad decrece con menor rapidez. Las fuentes de IR no tienen protección contra la atmósfera porque no existe material adecuado para fabricarlas.

En la **espectrometría de fluorescencia**, la intensidad de la fluorescencia es proporcional a la intensidad de la fuente de radiación (véase la sección 16.15). Para excitar la fluorescencia se usan diversas fuentes de UV continuas (véase más adelante), si bien el uso de láseres ha aumentado en importancia porque esas fuentes de radiación monocromática pueden tener grandes intensidades relativas. En la tabla 16.5 se aprecia una lista de las longitudes de onda y características de potencia de algunas fuentes comunes de láser. En general, sólo se usan las que tienen su radiación en la región ultravioleta para excitar la fluorescencia. El láser de nitrógeno (337.1 nm), que sólo puede funcionar en un modo de pulsos [no en

Los láseres son fuentes monocromáticas intensas, adecuados para la fluorescencia.

Tabla 16.5

Características de láseres comunes

Láser	Longitud de onda (nm)	Potencia (W)
<i>Cristal iónico</i>		
Rubí ^a	694.3	1-10 MW
Nd: YAG ^a	1 064.0	25 MW (8-9 ns)
<i>Gas</i>		
He-Ne	632.8	0.001-0.05
He-Cd	441.6	0.05
	325.0	0.01
Ar ⁺	514.5	7.5
	496.6	2.5
	488.0	6.0
	476.5	2.5
	465.8	7.0
	457.9	1.3
	333.6-363.8 (4 líneas)	3.0
Kr ⁺	752.5	1.2
	647.1	3.5
	530.9	1.5
	482.5	0.4
	468.0	0.5
	413.1	1.8
	406.7	0.9
	337.5-356.4 (3 líneas)	2.0
Nitrógeno ^a	337.1	200 kW

^a Operado en el modo de pulsos; estos valores son de potencia máxima (ancho de pulso).

Según G. D. Christian y J. E. O'Reilly, *Instrumental Analysis*, 2a. ed., Boston: Allyn and Bacon, Inc., 1986. Reproducción autorizada por Allyn and Bacon, Inc.

modo de onda continua, o modo CW (de *continuous wave*)], es útil para excitar láseres de color modulable. Los láseres de color contienen soluciones de compuestos orgánicos que presentan fluorescencia en las regiones UV, visible o infrarroja. En general, se puede sintonizar a un intervalo de longitudes de onda de 20 a 50 nm. Estos láseres sintonizados también son buenas fuentes en espectrometría de absorción, porque producen buena resolución (1 nm, aproximadamente) y gran potencia, aunque tienden a ser menos estables que las fuentes continuas. Los láseres sintonizables se consiguen desde unos 265 hasta unos 800 nm. Se requieren varios colorantes para abarcar un amplio intervalo de longitudes de onda.

Más adelante se describirá la forma en que se pueden ajustar los instrumentos espectrométricos para contrarrestar las variaciones en la intensidad luminosa dependientes de la longitud de onda, así como para variaciones en sensibilidad de detector en función de la longitud de onda.

MONOCROMADORES

Un monocromador está formado principalmente por lentes o espejos que enfocan la radiación por rendijas de entrada y salida que restringen radiación indeseable y ayudan a controlar la pureza espectral que emite el monocromador, y por un medio dispersante para “separar” las longitudes de onda de la radiación policromática procedente de la fuente. Hay dos tipos básicos de elementos dispersores: el prisma y la rejilla de difracción. También se pueden usar diversos tipos de filtros ópticos para seleccionar longitudes de onda específicas.

La dispersión mediante prismas es buena a longitudes de onda cortas, y pobre a longitudes grandes (IR).

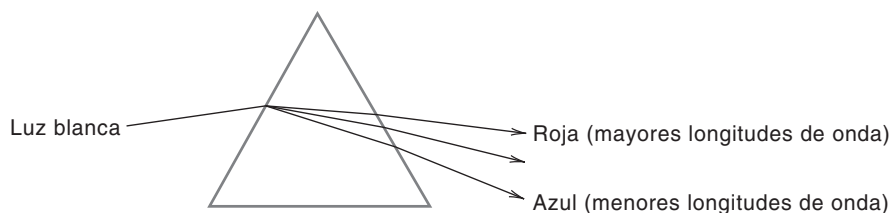
1. Prismas. Cuando la radiación electromagnética atraviesa un prisma se refracta debido a que el índice de refracción del material del prisma es diferente al del aire. El índice de refracción depende de la longitud de onda, y por tanto el grado de refracción también. Las longitudes de onda cortas se refractan más que las mayores. El efecto de la refracción consiste en “dispersar” la radiación en sus diferentes longitudes de onda (figura 16.14). Al girar el prisma se puede hacer que por una rendija de salida pasen diferentes longitudes de onda y lleguen a la muestra. Un prisma funciona en forma satisfactoria en las regiones de ultravioleta y visible, y también se puede usar en la región infrarroja. Sin embargo, debido a su **dispersión no lineal**, éste opera con mayor eficacia en las longitudes de onda menores. En la región visible se pueden usar prismas y lentes de vidrio, pero en la región ultravioleta se debe usar cuarzo o sílice fundido. Este último también puede usarse en la región visible.

En la región infrarroja el vidrio y el sílice fundido transmiten muy poco, y los prismas y demás componentes ópticos deben fabricarse con grandes cristales de halogenuros alcalinos o alcalinotérreos, que sí son transparentes a la radiación infrarroja. En la mayor parte de los instrumentos se usa cloruro de sodio (sal gema), y es útil en toda la región de 2.5 a 15.4 μm (de 4 000 a 650 cm^{-1}). Para mayores longitudes de onda, se puede usar KBr (de 10 a 25 μm) o CsI (de 10 a 38 μm). Estos dispersores (y el compartimento del monocromador) deben mantenerse secos.

2. Rejillas de difracción. Se componen de una gran cantidad de líneas (ranuras) paralelas trazadas en una superficie muy pulida, como de aluminio; para las regiones ultravioleta y visible son de 15 000 a 30 000 líneas por pulgada, y para la región infrarroja, de 1 500 a 2 500. Las ranuras funcionan como centros de dispersión para los rayos que llegan a la rejilla. El resultado es una dispersión igual para todas las longitudes de onda, con determinado orden; esto es, la **dispersión es lineal** (figura 16.15). El poder de resolución

La dispersión por rejillas es independiente de la longitud de onda, pero la intensidad varía con la longitud de onda.

Figura 16.14. Dispersión de la luz policromática en un prisma.



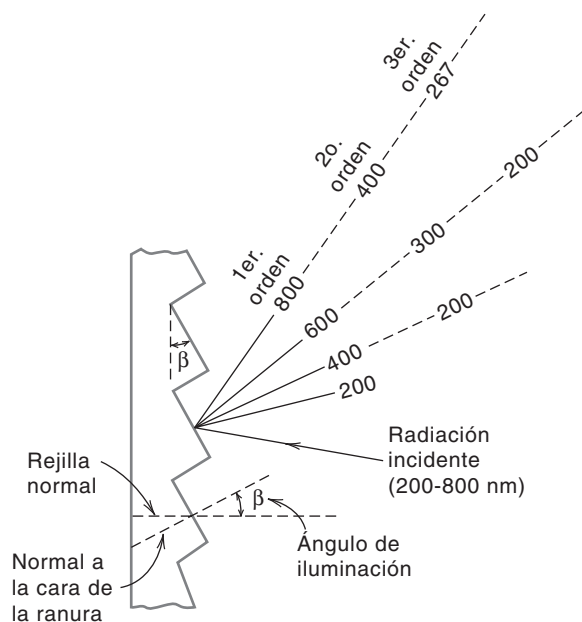


Figura 16.15. Difracción de la radiación con una rejilla.

depende de la cantidad de ranuras trazadas, pero en general el poder de resolución de las rejillas es mejor que el de los prismas, y las rejillas se pueden usar en todas las regiones del espectro. Se adaptan en particular a la región infrarroja debido a su dispersión homogénea de las longitudes de onda grandes. Es difícil preparar rejillas, y las rejillas originales son costosas. Sin embargo, a partir de una rejilla original se pueden preparar muchas **rejillas réplica**. Eso se hace recubriendo la rejilla original con una película de resina epóxica que, después de fraguar, se desprende para obtener la réplica. Ésta se hace reflectora aluminizando la superficie. Estas rejillas réplica son mucho menos costosas y se usan incluso en instrumentos pequeños y poco costosos.

Un haz incidente de radiación llega a la cara de la rejilla formando un ángulo i relativo a la normal de la rejilla (figura 16.15) y se refleja en ángulo θ en el otro lado de la normal de la rejilla. La distancia entre las ranuras es d . La diferencia de trayectorias entre dos rayos que llegan en ángulo i es $d \sin i$, y la diferencia de trayectorias entre los rayos correspondientes que salen es $d \sin \theta$. La diferencia de trayectorias para un rayo incidente y uno reflejado es $d \sin i - d \sin \theta$. Cuando esta diferencia es igual a una o más longitudes de onda, se produce interferencia totalmente constructiva, sin interferencia destructiva, y el resultado es una imagen brillante. La ecuación correspondiente a esa rejilla es

$$n\lambda = d(\sin i - \sin \theta) \quad (16.22)$$

donde n es el *orden de difracción*, y es un número entero. Se ve que si n aumenta y la longitud de onda disminuye en el mismo múltiplo, las longitudes de onda más cortas (de orden mayor) se reflejarán con el mismo ángulo, θ . Éstas deberán ser filtradas antes de llegar al detector (véase más adelante). Para dispersar la luz de muchas longitudes de onda se hace girar la rejilla para que cambie el ángulo i .

La *dispersión* de una rejilla para determinado ángulo i de incidencia es

$$\frac{d\theta}{d\lambda} = \frac{n}{d \cos \theta} \quad (16.23)$$

es decir, es igual al orden dividido entre el producto del espaciamiento de la rejilla por el coseno del ángulo de reflexión. El *poder de resolución* de una rejilla se define como el producto de la cantidad de rayas y por el orden. De esta manera, una rejilla grande tiene mayor poder de resolución que una pequeña.

Los órdenes mayores se dispersan mejor.

En fluorescencia, la radiación de orden mayor procedente de una longitud de onda menor de emisión (primaria) puede traslaparse con una longitud de onda primaria mayor que se esté midiendo. Antes de llegar a la rejilla, debe filtrarse y eliminarse la radiación primaria de menor longitud de onda. Véase también la sección 16.9 sobre los espectrómetros de haz único.

La intensidad de la radiación reflejada por una rejilla varía según la longitud de onda; la longitud de onda de la intensidad máxima depende del ángulo con el cual se refleja la radiación en la superficie de la ranura en la rejilla iluminada. En consecuencia, las rejillas se iluminan desde ángulos específicos para las diversas regiones de longitud de onda; una rejilla que se ilumine para la región azul sería pobre para un espectrofotómetro infrarrojo. Como se indicó, las rejillas también producen radiación en los *múltiplos* de la radiación incidente (véase la figura 16.15). Esos múltiplos se llaman **órdenes mayores** de la radiación. El orden primario se llama primer orden; el doble de la longitud de onda es el segundo orden; tres veces la longitud de onda es el tercer orden, y así sucesivamente. Entonces, una rejilla produce espectros de primer orden, espectros de segundo orden, etc. Los espectros de orden mayor están más dispersos y aumenta la resolución. Debido a que se producen órdenes mayores, la radiación con longitudes de onda menores que la región espectral debe eliminarse por filtración, ya que de otra manera los órdenes mayores se superpondrán a la radiación que interesa. Esta eliminación se puede hacer con distintos tipos de filtros ópticos (véase más adelante) que dejan pasar radiación sólo por arriba de cierta longitud de onda. Por ejemplo, si la radiación incidente de una muestra radiante (sustituye a la fuente de un espectrofotómetro) en el intervalo de 400 a 700 nm es la que se dispersa y mide (por ejemplo, por fluorescencia), toda radiación procedente de la muestra de 325 nm, por ejemplo, tendría un segundo orden a 650 nm, que se traslaparía con la radiación de primer orden a 650 nm. Esa radiación se puede eliminar por filtración colocando un filtro entre la muestra radiante y la rejilla que elimine la radiación de ≤ 400 nm de la trayectoria del haz incidente; de ese modo, la radiación de 325 nm no llegaría a la rejilla.

Las rejillas trazadas tienen un problema de aberración debido a errores periódicos en los mecanismos de la máquina marcadora, en especial cuando se usan las rejillas con fuentes de radiación de gran intensidad (por ejemplo, en instrumentos de fluorescencia; véase más adelante). Esta luz parásita se reduce mucho con las **rejillas holográficas**, que se preparan exponiendo una capa de *fotorecist* (polímero fotolitográfico) sobre un sustrato adecuado, al patrón de interferencia producido por dos haces de rayos láser monocromáticos, seguida por el revelado fotográfico para producir las ranuras, y después por un proceso de recubrimiento reflector. Un perfil de rayas más nítido causa menor dispersión de la luz. También se pueden obtener esas rejillas sobre superficies curvas, las cuales se usan para colimar la luz y eliminar espejos o lentes, que producen pérdidas de luz. Si bien el costo de esas rejillas es mayor que el de las más convencionales, en la actualidad son de uso común en los espectrómetros, en especial para medir muestras radiantes, como acontece en el análisis de fluorescencia. Hoy han sustituido a los prismas en la mayor parte de los instrumentos.

3. Filtros ópticos. Para aislar ciertas longitudes de ondas luminosas se pueden usar diversos tipos de filtros. Hay filtros de banda angosta, filtros de corte fino y filtros de interferencia. Los dos primeros suelen ser de vidrio y contienen sustancias (pigmentos) que absorben toda la radiación, excepto la que se desea que pase. Los filtros de corte fino absorben toda la radiación hasta determinada longitud de onda y permiten el paso de radiación de mayores longitudes de onda.

Los filtros de interferencia se componen de dos capas de vidrio en cuyas superficies internas se deposita una película metálica semitransparente y una capa interna de un material transparente como cuarzo o fluoruro de calcio. La radiación que llega al filtro sufre interferencia destructiva excepto en una banda estrecha de longitudes de onda, y el filtro está diseñado para permitir el paso de esa banda. El ancho de banda de los filtros disminuye a medida que aumenta la radiación transmitida.

CELDA PARA MUESTRA

La celda que contiene a la muestra (en general una solución), naturalmente debe ser transparente en la región de longitudes de onda que se esté midiendo. Los materiales antes

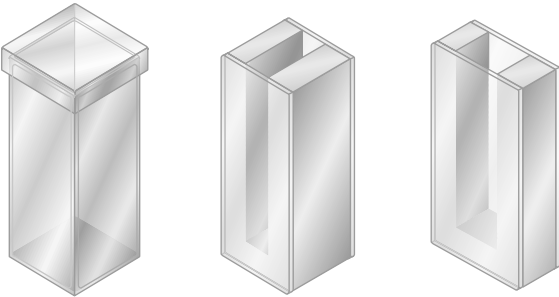


Figura 16.16. Algunos ejemplos de celdas para muestra para absorción en UV y visible.

descritos para las partes ópticas se usan como material de celda en los instrumentos diseñados para las diversas regiones del espectro.

Las celdas que usan los espectrómetros en **visible** y **ultravioleta** suelen ser prismas rectangulares huecos de 1 cm de ancho entre sus paredes paralelas *internas*, aunque pueden usarse celdas de diversas longitudes de paso y volúmenes (figura 16.16). Para los instrumentos de **infrarrojo** se usa una gama de celdas. La más común es una celda con ventanas de cloruro de sodio. Para estos fines se dispone de celdas de espesor fijo, y son las más utilizadas. Naturalmente, el disolvente no debe atacar las ventanas de la celda. Las celdas de cloruro de sodio deben protegerse de la humedad atmosférica y de los disolventes húmedos; deben guardarse en desecadores. Requieren pulimento periódico para eliminar el “halo” debido a la contaminación por humedad. Con frecuencia, se usan ventanas de cloruro de plata para muestras húmedas o soluciones acuosas. Son suaves y se oscurecen en forma gradual al exponerlas a la luz visible.

En la tabla 16.6 aparece una lista de las propiedades de diversos materiales que se utilizan en infrarrojo. Es difícil reproducir las pequeñas longitudes de trayectoria que se requieren en la espectrometría infrarroja, en especial cuando se deben volver a pulir las

Celdas para:
UV: cuarzo
Vis: vidrio, cuarzo
IR: cristales de sales

Longitudes de trayectoria (de paso) recomendadas para las celdas:
UV/Vis: 0.1 a 1 cm
IR cercano (800 a 1 100 nm): 5 a 10 cm
(1 100 a 3 000 nm): 0.1 a 2 cm

Tabla 16.6
Propiedades de materiales usados en infrarrojo

Material	Intervalo útil (cm ⁻¹)	Propiedades generales
NaCl	40 000-625	Higroscópico, soluble en agua, bajo costo; es el material de uso más frecuente.
KCl	40 000-500	Higroscópico, soluble en agua.
KBr	40 000-400	Higroscópico, soluble en agua; costo un poco mayor que el NaCl, y más higroscópico.
CsBr	40 000-250	Higroscópico, soluble en agua.
CsI	40 000-200	Muy higroscópico, soluble en agua; bueno para estudios en números de onda menores.
LiF	83 333-1425	Ligeramente soluble en agua; buen material para UV.
CaF ₂	77 000-1110	Insoluble en agua, resiste la mayor parte de los ácidos y álcalis.
BaF ₂	67 000-870	Insoluble en agua, frágil, soluble en ácidos y en NH ₄ Cl.
AgCl	10 000-400	Insoluble en agua, corrosivo para los metales. Se oscurece al exponerlo a luz visible de longitud de onda corta. Se guarda en la oscuridad.
AgBr	22 000-333	Insoluble en agua, corrosivo para los metales. Se oscurece al exponerlo a luz visible de longitud de onda corta. Se guarda en la oscuridad.
KRS-5	16 600-285	Insoluble en agua, muy tóxico, soluble en bases, blando, adecuado para trabajos de ATR.
ZnS	50 000-760	Insoluble en agua, ácidos y bases normales; frágil.
ZnSe	20 000-500	Insoluble en agua, ácidos y bases normales; frágil.
Ge	5000-560	Frágil, alto índice de refracción.
Si	83 333-1430	Insoluble en la mayor parte de ácidos y bases.
	400-30	
Cuarzo UV	56 800-3700	Inalterado por el agua y la mayor parte de los disolventes.
Cuarzo IR	40 000-3000	Inalterado por el agua y la mayor parte de los disolventes.
Polietileno	625-10	Material de bajo costo para trabajo en IR lejano.

Adaptado de McCarthy Scientific Co. Catálogo 489, con autorización.

superficies; por ello no se hacen análisis cuantitativos tan exactos en esta región. El uso de un estándar externo es de ayuda. La longitud de la trayectoria de la celda vacía se puede medir a partir de las franjas de los patrones de interferencia. También se consiguen celdas de longitud de trayectoria variable, desde 0.002 a 3 mm.

Cuando se tienen muestras en forma de líquidos puros se corren sin diluirlas en la región del infrarrojo; éste es un caso frecuente cuando en química orgánica se trata de identificar o confirmar la estructura de un compuesto desconocido o nuevo. Para este fin, la longitud de la celda debe ser escasa para mantener la absorbencia dentro de la región óptima; en general, las longitudes de trayectoria son de 0.01 a 0.05 mm. Si se va a preparar una solución de la muestra, se suele usar una concentración bastante alta debido a que ningún disolvente es por completo transparente en la región infrarroja, y se trata de mantener al mínimo la absorbencia del disolvente. Entonces se requieren también longitudes de trayectoria cortas, en general de 0.1 mm o menos.

Con frecuencia, los sólidos no son lo bastante solubles en los disolventes disponibles como para producir una concentración suficientemente alta con la que se pueda medir en la región infrarroja. Sin embargo, pueden usarse polvos en suspensión o un lodo espeso en un líquido viscoso que tenga más o menos el mismo índice de refracción para reducir la dispersión de la luz. La muestra se muele en el líquido, que con frecuencia es Nujol, un aceite mineral pesado refinado (véase la figura 16.4). Las grasas de clorofluorocarbono se usan cuando el Nujol enmascara todas las bandas C—H presentes. Esta técnica de lodos es útil en análisis cualitativo, pero es difícil reproducir para trabajos cuantitativos. También se pueden moler las muestras con KBr (que es transparente en la región del infrarrojo) y prensarlas formando una pastilla que se monta para la medición.

Los gases se pueden analizar con espectrometría infrarroja, para lo cual se usa una celda de trayectoria larga, por lo general de 10 cm de longitud, aunque se han usado celdas de hasta 20 m o más en aplicaciones especiales. En la figura 16.17 se ven algunas celdas características para infrarrojo.

DETECTORES

Detectores para:

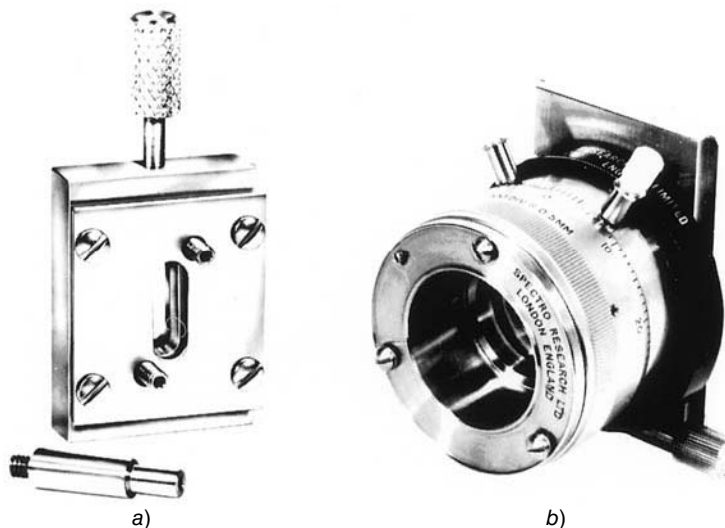
UV: fototubo, tubo fotomultiplicador, grupo de diodos

Vis: fototubo, tubo fotomultiplicador, grupo de diodos

IR: termopares, bolómetros, termistores

Detectores UV-Vis. También aquí los detectores varían en función de la región de longitudes de onda que se va a medir. Un **fototubo** o fotocelda es de uso común en las *regiones ultravioleta y visible*. Éste consiste de un cátodo fotoemisor y un ánodo. Se aplica un alto voltaje entre ánodo y cátodo. Cuando un fotón entra por la ventana del tubo y llega al cátodo se emite un electrón que es atraído hacia el ánodo, haciendo que pase una corriente que se puede amplificar y medir. La respuesta del material fotoemisor depende de

Figura 16.17. Ejemplos de celdas típicas para infrarrojo. a) Celda con longitud de trayectoria fija (cortesía de Barnes Engineering Co.); b) celda con longitud de trayectoria variable (cortesía de Wilks Scientific Corporation).



la longitud de onda, y se dispone de diversos fototubos para las diferentes regiones del espectro. Por ejemplo, se puede usar uno para las partes azul y ultravioleta, y un segundo para la parte roja del espectro.

Un **tubo fotomultiplicador** es más sensible que un fototubo en las *regiones visible y ultravioleta*. Se compone de un cátodo fotoemisor con el que choca el fotón, y una serie de electrodos (dinodos), cada uno a un potencial más positivo (de 50 a 90 V) que el anterior. Cuando un electrón llega a la superficie fotoemisora, se emite un electrón primario (éste es el efecto fotoeléctrico; curiosamente, Albert Einstein recibió el Premio Nobel de Física 1921 por su descubrimiento en 1905, y no por la teoría especial de la relatividad, que también publicó en 1905; véase www.lucidcafe.com/lucidcafe/library/96mar/einstein.html). El electrón primario liberado de la superficie fotoemisora se acelera hacia el primer dinodo. El impacto del electrón sobre la superficie del dinodo causa la liberación de muchos electrones secundarios, que a su vez son acelerados hacia el siguiente electrodo, donde cada electrón secundario libera más electrones, y así sucesivamente, hasta alcanzar unas 10 etapas de amplificación. Por último, los electrones se colectan en el ánodo. A su vez, la salida final del tubo fotomultiplicador se puede amplificar electrónicamente.

También aquí, los distintos tubos fotomultiplicadores tienen diferentes características de respuesta que dependen de la longitud de la onda. La figura 16.18 ilustra las características de respuesta de algunos tubos fotomultiplicadores con diferentes superficies catódicas fotoemisoras. El tubo 1P28 (con superficie de S-5) es popular porque se puede usar en las regiones ultravioleta y visible (es decir, en un espectrómetro UV-visible). Para la región infrarroja se necesita una superficie 1-S. Debido a la mayor sensibilidad de los tubos fotomultiplicadores se requiere radiación de menor intensidad, y se pueden usar menores anchos de rendija para tener mejor resolución de longitud de onda.

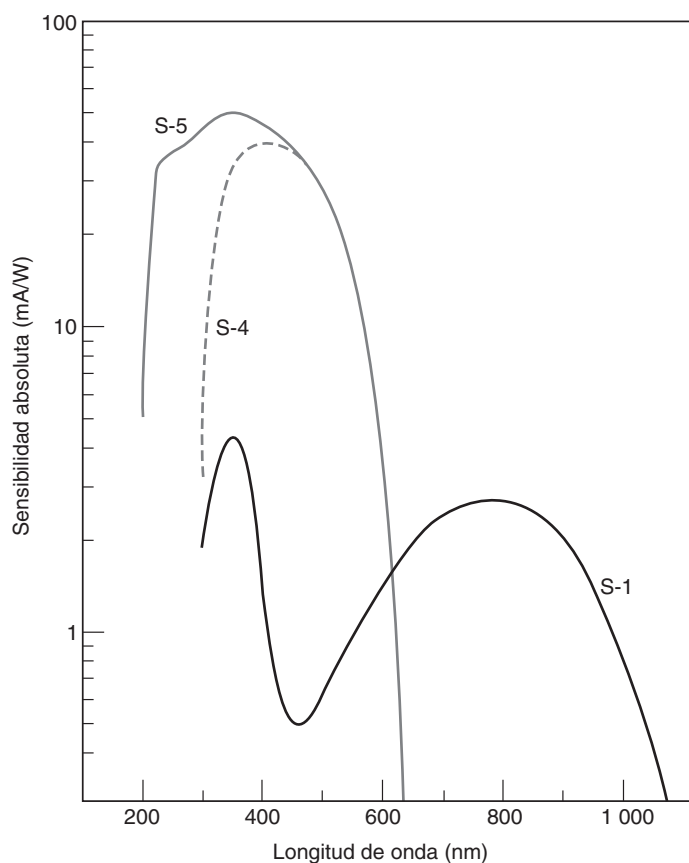


Figura 16.18. Algunas respuestas espectrales de fotomultiplicadores. S-5 = RCA 1P28; S-4 = RCA 1P21; S-1 = RCA 7102. (Según G. D. Christian y J. E. O'Reilly, *Instrumental Analysis*, 2a. ed. Boston. Allyn and Bacon, Inc., 1986. Reproducción autorizada por Allyn y Bacon, Inc.)

Los grupos o disposición de diodos pueden registrar todo el espectro de una vez, desde UV hasta IR cercano.

También se han desarrollado tubos fotomultiplicadores con respuesta limitada a la región ultravioleta (160 a 320 nm), los llamados **fotomultiplicadores ciegos solares**. Ayudan a reducir los efectos de luz parásita de la radiación visible y se usan como *detectores de UV* en sistemas no dispersivos.

Los detectores de grupo o serie de diodos se usan en espectrómetros para registrar simultáneamente todo un espectro (véase la sección 16.10). Un **grupo** o **serie de diodos** consiste en cientos de fotodiodos de silicio, lado a lado, sobre un solo *chip* o cristal de silicio. Cada uno tiene un capacitor de almacenamiento correspondiente que recopila e integra la fotocorriente generada cuando los fotones chocan con el fotodiodo. Su lectura es por descarga periódica, y tardan entre 5 y 100 ms para leer todo el conjunto. Si la radiación dispersa en sus distintas longitudes de onda cae sobre la superficie del grupo de diodos, puede registrarse un espectro. En la figura 16.19 se ve una fotografía de grupos de diodos. Consisten en 1 024 elementos de diodos en un espacio de un par de centímetros. La respuesta espectral de un conjunto de diodos de silicio es igual a la del silicio, de unos 180 a 1 100 nm, esto es, del ultravioleta al infrarrojo cercano. Véase la figura 16.20. Este intervalo es mayor que el de los tubos fotomultiplicadores y la eficiencia cuántica es mayor. En la sección 16.10 se describe el diseño de un espectrómetro de serie de diodos.

Otro tipo de detector de grupo es el detector de dispositivo de carga acoplada (CCD, *charge-coupled device*). En las cámaras digitales se usan CCD bidimensionales.

Con frecuencia, en los instrumentos de menor costo se usan diodos de silicio o fotoceldas. Consisten en un *chip* de silicio puro “dopado” con un elemento específico, en el cual cuando un electrón choca con él produce un impulso (corriente) eléctrico, que se amplifica para leerlo. Los diodos se preparan para que sean sensibles a colores específicos de luz.

Los espectrómetros que usan fototubos o tubos fotomultiplicadores (o grupos de diodos) como detectores se denominan, en general, **espectrofotómetros**, y a su técnica correspondiente se le llama **espectrofotometría**. Hablando con más propiedad, en la revista *Analytical Chemistry* se define el espectrofotómetro como el espectrómetro que mide la *relación* de la potencia radiante de dos haces, esto es, P/P_0 , por lo que puede entonces medir la absorbencia. Los dos rayos pueden medirse simultáneamente o por separado en un instrumento de haz doble o de haz único (véase más adelante). En la práctica, los instrumentos con fototubo y fotomultiplicador se usan casi siempre de esta manera. Una excepción es cuando la fuente de radiación es sustituida por una muestra radiante, cuyo espectro e intensidad deben medirse, como en el caso de la espectrometría por fluorescencia (véase más adelante). Si el monocromador de prisma o de rejilla se sustituye en un espectrofotómetro por un filtro que deje pasar una banda angosta de longitudes de onda, el instrumento puede llamarse fotómetro o fotocolorímetro.

Detector de IR. Como en el caso de las fuentes, los detectores que se usan en las regiones ultravioleta y visible no funcionan en la región infrarroja. Sin embargo, la radiación *infrarroja* posee la propiedad del calor, y se pueden usar detectores de calor que lo con-

Un espectrofotómetro es un espectrómetro de doble haz que mide en forma directa la absorbencia.

Detectores comunes:

Tubos fotomultiplicadores:

160 a 1 100 nm

Conjuntos de fotodiodos

de silicio: 180 a 1 100 nm

Dispositivos de carga aco-

plada (CCD): 180 a 1 100 nm

Fotodiodos de silicio:

350 a 1 100 nm

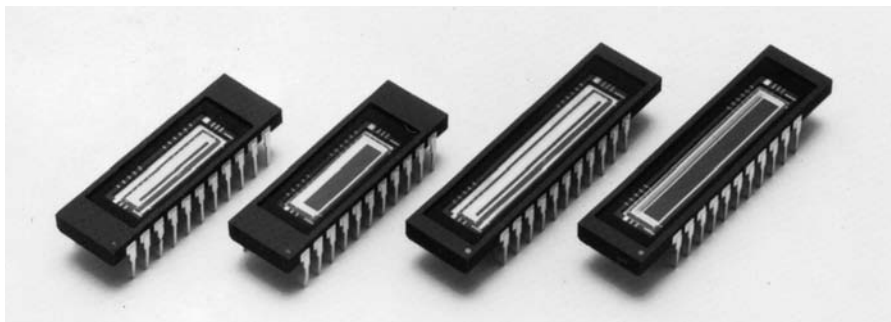
Arseniuro de indio y galio

(InGaAs): 800 a 1 700 nm

Sulfuro de plomo (PbS):

1 000 a 3 000 nm

Figura 16.19. Fotografía de grupos o serie de diodos de 1 024 elementos. (Cortesía de Hamatsu Photonics, K. K.)



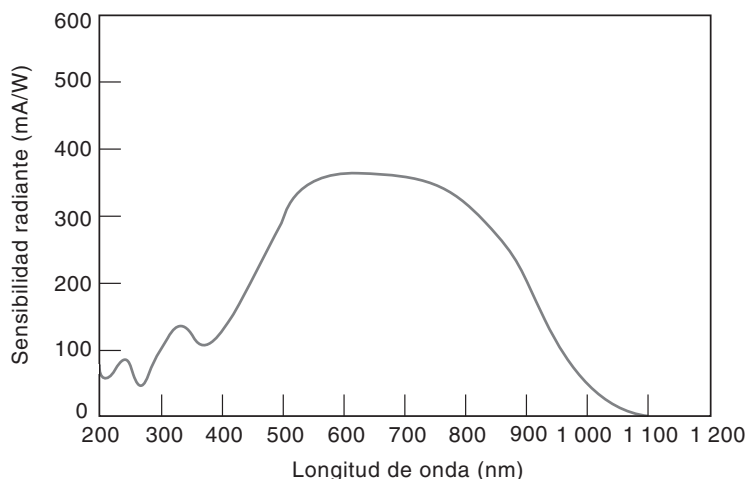


Figura 16.20. Típica respuesta espectral de un grupo o serie de diodos. (Según M. Kendall-Tobias, *Am Lab.*, marzo de 1989, p. 102. Reproducción autorizada por International Scientific Communications, Inc.)

viertan en señal eléctrica. Como detectores se usan termopares y bolómetros. Un **termopar** consiste en dos alambres de material distinto, por ejemplo de antimonio y de bismuto, conectados en dos puntos. Cuando existe diferencia de temperatura entre los dos puntos se desarrolla una diferencia de potencial que se puede medir. Una de las conexiones se coloca entonces en la trayectoria de la luz que sale del monocromador. Una **termopila** está formada hasta por seis termopares en serie, montados en un vacío para minimizar la pérdida de calor por conducción. La mitad de los termopares son sensores y la mitad está unida a un sustrato. Las termopilas tienen tiempos de respuesta aproximados de 30 ms. Los **bolómetros** y los **termistores** son materiales cuya *resistencia* depende de la temperatura. Los resistores térmicos se hacen con óxidos sinterizados de cobalto, manganeso y níquel. Su cambio de resistencia se mide con un circuito de puente de Wheatstone. La ventaja que tienen sobre los termopares es el menor tiempo de respuesta (4 ms, en comparación con 60 ms), por lo cual tienen mejor resolución y velocidades de barrido mayores, aunque su sensibilidad se halla comprometida. La respuesta de los detectores térmicos es, en esencia, independiente de las longitudes de onda que se miden.

Para las mediciones rápidas que se requieren en los instrumentos FTIR (*Fourier transform infrared*; transformada de Fourier en región infrarroja), y para mediciones de gran sensibilidad se usan detectores de fotones. Como ejemplos están los detectores fotoconductores de sulfuro de plomo (PbS), seleniuro de plomo (PbSe) o arseniuro de indio y galio (InGaAs). Los detectores fotovoltaicos son aun más rápidos (con respuestas hasta de 20 ns) y más sensibles, pero requieren enfriamiento con nitrógeno líquido. El detector de InSe se limita a $5.5\ \mu\text{m}$, en tanto que el de PbSnTe opera en el intervalo de 5 a $13\ \mu\text{m}$. El InGaAs tiene la máxima sensibilidad en el IR cercano, y se ha vuelto el detector de elección.

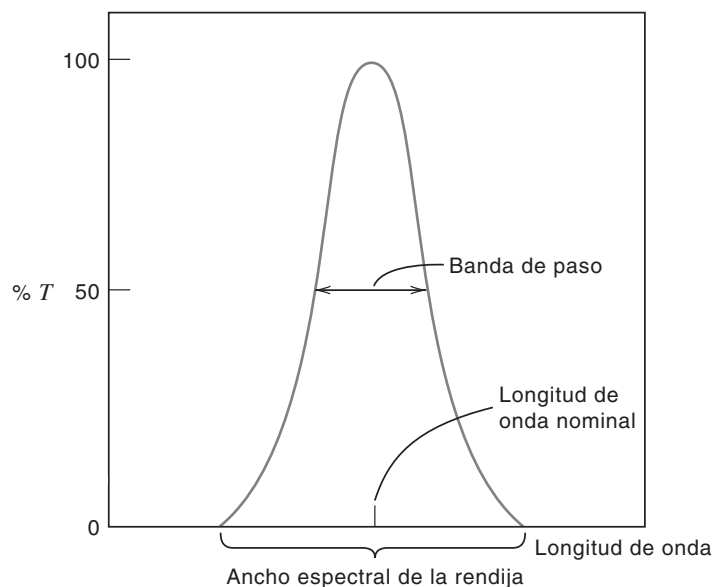
ANCHO DE RENDIJA: FÍSICO CONTRA ESPECTRAL

Ya se mencionó que es imposible obtener longitudes de onda espectralmente puras a partir de un monocromador. En vez de ello, del monocromador sale una **banda** de longitudes de onda, y el ancho de esta banda depende de la dispersión de la rejilla o del prisma, y del ancho de la rendija de salida. El poder de dispersión de un prisma depende de la longitud de onda y del material del prisma, así como de su diseño geométrico, en tanto que el de una rejilla depende de la cantidad de surcos por pulgada. La dispersión también aumenta a medida que se eleva la distancia a la rendija.

Después que se ha dispersado la radiación, una parte de ella llegará a la rendija de salida, y el ancho de esa rendija determina el ancho de la banda de longitudes de onda que verán la muestra y el detector. La figura 16.21 representa la distribución de longitudes de onda que salen de la rendija. La **longitud de onda nominal** es la que se ajusta en el instrumento y es la longitud de onda de intensidad máxima que pasa por la rendija. La inten-

La radiación que pasa por una rendija no es monocromática.

Figura 16.21. Distribución de las longitudes de onda que salen por la rendija de un monocromador.



sidad de la radiación a las longitudes de onda en cada lado de la rendija disminuye, y el ancho de banda de longitudes de onda que pasa a la mitad de la intensidad de la longitud de onda nominal es el **ancho de banda espectral** o **banda de paso**. Teóricamente, el **ancho espectral de la rendija** es el doble del ancho de banda espectral (en teoría, la figura 16.21 es un triángulo isósceles), y es una medida de la dispersión total de longitudes de onda que pasan por la rendija. Obsérvese que el ancho espectral de la rendija no es igual a su ancho mecánico, que puede variar desde algunos micrómetros hasta un milímetro o más (el ancho espectral de la rendija es la banda de radiación que pasa por la rendija mecánica, y se mide en unidades de longitud de onda). En teoría, el 75% de la intensidad de radiación está contenido entre las longitudes de onda del ancho de banda espectral.

Si son suficientes la intensidad de la fuente y la sensibilidad del detector, se puede mejorar la pureza espectral (la banda de paso se abate) disminuyendo el ancho de la rendija. Sin embargo, puede ser que la disminución no sea lineal, y se llega a un límite debido a aberraciones en el sistema óptico y a efectos de difracción causados por la rendija cuando es muy angosta. De hecho, la difracción aumenta el ancho espectral de la rendija. En la práctica real, se suele llegar al límite del instrumento antes de que los efectos de difracción sean muy graves.

En esencia, el ancho de banda o el ancho espectral de la rendija es constante con una rejilla como elemento de dispersión para todas las longitudes de onda de determinado orden espectral y a ajuste constante de ancho de rendija. Eso no sucede con un prisma debido a la variación de la dispersión conforme se cambia la longitud de onda. El ancho de banda es menor a menores longitudes de onda, y mayor en ondas mayores.

El ancho de banda varía con la longitud de onda en los prismas, pero es constante en las rejillas.

CALIBRACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA Y ABSORBENCIA DEL INSTRUMENTO

La lectura de la longitud de onda en un espectrofotómetro se comprueba usando soluciones de máximos y mínimos de absorción conocidos. El dicromato de potasio a pH 2.9 tiene absorbencias máximas a 257 y 350 nm, y mínimas a 235 y 313 nm. Un filtro de vidrio de óxido de holmio absorbe nítidamente a 279.2, 222.8, 385.8, 446.0, 536.4 y 637.5 nm.

El National Institute of Standards and Technology (NIST), de Estados Unidos, suministra estándares de referencia (SRM, *standard reference material*) para verificar la exactitud en longitud de onda y de lecturas de absorbencia (transmitencia). El SRM 930E para análisis en UV-Vis consiste en un juego de tres filtros de vidrio, de densidad neutra y de

espesor estándar, con transmitencias nominales de 10, 20 y 30%. Otros estándares de referencia consisten en soluciones valoradas, por ejemplo de dicromato de potasio o ftalato ácido de potasio en ácido perclórico. Véase la página Web del NIST (www.nist.gov) para los detalles y listas. En *Subject index* se busca *Standard Reference Materials, Catalogue* y se busca por número SRM; por ejemplo, 931F, 935A y 2031A. El SRM 1921A es una película de poliestireno para calibrar en infrarrojo. Véase R. A. Spragg y M. Billingham, *Spectroscopy* **10**(1) (1995) 41 para las correcciones rutinarias que se aplican (corrección de efectos de resolución, algoritmo localizador de pico y temperatura en las posiciones de la banda).

Hay fuentes comerciales de materiales de referencia para calibración espectral que se derivan de los estándares del NIST. Véase, por ejemplo, Starna Cells, Inc. (www.starnacells.com).

16.9 Tipos de instrumentos

Aunque todos los espectrómetros tienen el diseño básico que muestra la figura 16.12, hay muchas variantes que dependen del fabricante, las regiones de longitud de onda para las que está diseñado el instrumento, la resolución necesaria, etc. Su descripción al detalle no se considera indispensable, aunque se indicarán algunos de los tipos importantes de diseño y la operación general de un espectrómetro.

ESPECTRÓMETROS DE UN SOLO HAZ

Son los espectrómetros más comunes para los estudiantes, por ser menos costosos que los instrumentos más complicados, y con ellos se pueden obtener excelentes resultados. En la figura 16.22 se presenta un diagrama del espectrofotómetro Spectronic 20 de Bausch and Lomb, muy popular (instrumento de fototubo). Éste consiste en una lámpara de tungsteno como fuente de luz visible y una rejilla réplica poco costosa, de 600 ranuras por milímetro para dispersar la radiación, cuya longitud de onda varía de 330 a 950 nm. La rendija de salida permite pasar a una banda de radiación de 20 nm. Si se ajusta la longitud de onda, por ejemplo a 480 nm, por la rendija de salida pasará radiación de 470 a 490 nm. Al girar la leva de la longitud de onda, la rejilla gira y cambia la banda de 20 nm que atraviesa (en la figura sólo se muestra la trayectoria de una banda de 20 nm, después de la reflexión en la rejilla). El filtro elimina la difracción de segundo orden y órdenes superiores que procedan de la rejilla y puedan pasar por la rendija (radiación parásita). La selección del

Debe filtrarse radiación de órdenes mayores de la que sale de la rejilla.

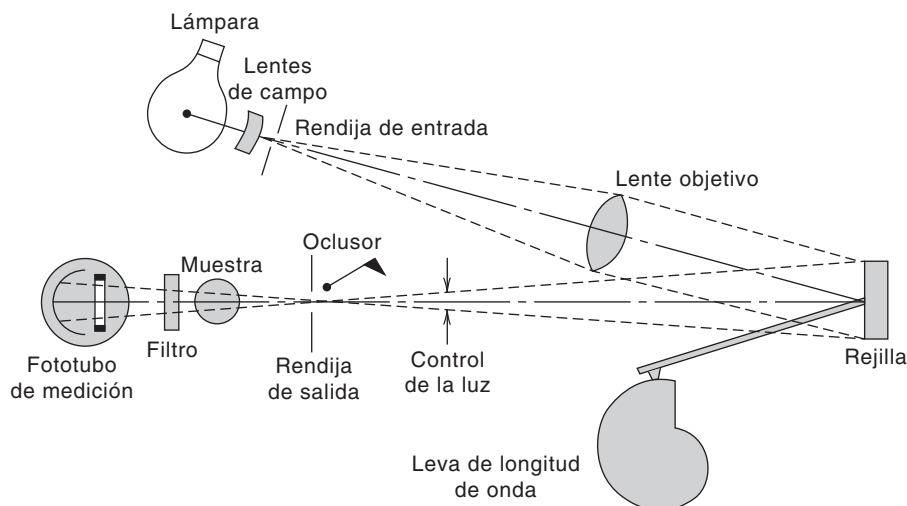


Figura 16.22. Diagrama óptico del espectrofotómetro Spectronic 20 de Bausch and Lomb (vista superior). (Cortesía de Bausch and Lomb, Inc.)

filtro depende de qué radiación debe restringirse. Para la mayor parte de las aplicaciones se usa un filtro de corte que pasa radiación por debajo de cierta longitud de onda donde se van a hacer las mediciones, pero no mayores longitudes de onda con las que pueden aparecer órdenes mayores de difracción. Los filtros de intervalo más angosto pueden ser mejores para algunas aplicaciones; por ejemplo, *un filtro rojo que elimine toda luz no roja, para que el detector vea rojo puro en esencia* (véase más adelante).

Toda radiación que no sea absorbida por la muestra llega al detector, donde la intensidad se convierte en una señal eléctrica que se amplifica y lee en una escala. El fototubo de medición para la región visible tiene su respuesta máxima a 400 nm, y sólo el 5% de esa respuesta a 625 nm. Las mediciones a más de 625 nm se hacen mejor instalando un fototubo sensible al rojo (RCA 6953) junto con un filtro rojo, para eliminar la difracción de segundo orden procedente de la rejilla (deja pasar la radiación roja, que es la que se desea, pero no radiación indeseable de órdenes mayores).

Los modelos Spectronic 20 están disponibles con lectura analógica (Modelo 20+) o digital (modelo 20D+). El modelo analógico tiene selección de longitud de onda, una perilla para encendido y puesta en cero, y un control *T/A* (transmitancia/absorbencia). La absorbencia se lee en un medidor analógico. La salida analógica es ajustable de 0 a 1.0 V dc, y se puede registrar en una gráfica o en un lector digital. El instrumento digital muestra numéricamente la longitud de onda y % *T*, *A* o concentración. En el modo FACTOR convierte electrónicamente los valores de absorbencia a unidades de concentración multiplicando la absorbencia por ese factor, el cual se ha establecido desde la calibración.

Se ha explicado que la intensidad espectral de las fuentes y la respuesta espectral de los detectores dependen de la longitud de onda. Por consiguiente, deben emplearse algunos métodos para ajustar la salida eléctrica del detector a la misma magnitud en todas las longitudes de onda. Esto se puede lograr en una de dos maneras: ajustando el ancho de rendija para dejar que más o menos luz llegue al detector, o ajustando la ganancia del detector (la cantidad de amplificación de la señal).

Un instrumento de un haz sencillo tiene un obturador que se puede colocar frente al detector para que no le llegue luz alguna. Es el oclisor del Spectronic 20, y cae a su lugar siempre que no hay celda de medición colocada en el instrumento. Con el obturador en posición, se usa una perilla de ajuste de “corriente oscura” para ajustar a 0% el porcentaje de transmitancia (absorbencia infinita) indicado en la escala. La **corriente oscura** es una corriente pequeña que puede fluir en ausencia de luz debido a emisión térmica de electrones del cátodo en el fototubo. En la operación que se describe, se ajusta la corriente oscura a una indicación cero en la escala cambiando realmente el voltaje del tubo. Entonces se coloca la celda llena con el disolvente en la trayectoria del rayo y se abre el obturador. Mediante un control de ancho de rendija que ajusta la cantidad de radiación que pasa o una perilla de “sensibilidad” (control de ganancia), se ajusta la salida del detector para que la indicación en la escala sea 100% de transmitancia (absorbencia cero). Se hacen varias veces los ajustes de corriente oscura y de 100% de transmitancia para asegurar que el ajuste de uno no perturbó al otro. Ahora queda calibrada la escala del instrumento y está listo para indicar una absorbencia desconocida. *La operación anterior debe repetirse en cada longitud de onda.*

Cada vez que se corre una serie de muestras se lee la absorbencia de una o más soluciones testigo⁴ contra la del disolvente puro; si es apreciable (≥ 0.01 A con el Spectronic 20), se resta de todas las indicaciones de analito en solución. En realidad, si la solución testigo o blanco es incolora en esencia (es decir, su absorbencia es pequeña), con frecuencia se usa esa solución en vez del disolvente para ajustar la indicación de 100% de transmitancia. En lo sucesivo, toda absorbencia del testigo queda corregida (restada) au-

Algunas corrientes fluyen en el detector, incluso cuando a éste no le llega la radiación. Ésta es la corriente oscura.

⁴ El testigo o “blanco” contiene todos los reactivos que se usan en la muestra, pero no el analito.

tomáticamente. Este método sólo debe emplearse si la indicación con el testigo es pequeña, y si se demuestra que es constante. Es más probable que una lectura grande con el testigo sea variable y requeriría una ganancia importante en el detector, causando un incremento en el nivel de ruido. Una ventaja de poner en cero el instrumento con el testigo es que se elimina una indicación, que siempre contiene algo de error experimental. Si se usa esta técnica, se aconseja verificar el cero en todas las soluciones testigo para asegurar que ese testigo sea constante.

ESPECTRÓMETROS DE HAZ DOBLE

En la práctica, son instrumentos bastante complejos, pero tienen varias ventajas. Se usan principalmente como instrumentos registradores, es decir, instrumentos donde se varía automáticamente la longitud de onda y se registra la absorbencia en función de la longitud de onda. El instrumento tiene dos trayectorias de luz: una para la muestra y otra para el testigo o la referencia. En una distribución común, el haz procedente de la fuente llega a un espejo vibracional o rotatorio que en forma alternada hace pasar el rayo a través de la celda de referencia y la celda de muestra, y desde cada una hasta el detector. De hecho, el detector ve alternativamente el haz de referencia y el de la muestra, y su salida es proporcional a la relación de las intensidades de los dos haces (P/P_0).

La salida es una señal alternante cuya frecuencia es igual a la del espejo vibracional o rotatorio. Para amplificar esa señal hay un amplificador de corriente alterna y no se registran las señales parásitas de corriente directa. Un motor cambia la longitud de onda al mover el elemento dispersor con una rapidez constante, y la rendija se ajusta continuamente mediante un servomotor para mantener en un valor constante la energía del rayo de referencia; es decir, ajusta automáticamente la transmitencia de la celda de referencia a 100% (la que suele contener al testigo o al disolvente).

Ésta fue una descripción simplificada de un instrumento con doble haz. Hay variantes sobre este diseño y operación, pero ilustra la utilidad de esos instrumentos. Son muy útiles en trabajos cualitativos en los que se requiere todo el espectro, y compensan automáticamente la absorbencia del testigo y también las variaciones de intensidad de la fuente.

Los espectrómetros de haz doble pueden recorrer automáticamente las longitudes de onda y registrar el espectro.

¿Haz sencillo o haz doble?

En la década de 1950, los primeros espectrofotómetros UV-Vis e IR eran grandes bultos que solían tener monocromadores de doble haz para compensar aberraciones ópticas y ruidos electrónicos. Eran lentos y de sensibilidad moderada. Con las mejoras en tecnología óptica y electrónica se ha reducido la necesidad de sistemas ópticos para doble haz, que reducen la energía del haz transmitido. Los modernos instrumentos de un solo haz son más pequeños, más rápidos, más sensibles y más económicos que las versiones anteriores. Pero los instrumentos con doble haz todavía tienen la estabilidad óptima, y la elección depende de las necesidades. Todos los instrumentos dispersores para IR son de un solo haz.

La variedad de resolución de los instrumentos va de los de poca resolución, para estudiantes, como el Spectronic 20 con resolución de 20 nm, hasta los instrumentos de investigación, de doble rejilla, con 0.05 nm. El instrumento característico tiene una resolución de unos 2 nm y programas incorporados que permiten su calibración con varios patrones, curvas polinomiales y cálculos estadísticos.

16.10 Espectrómetros de serie de diodos.

Obtención de todo el espectro al instante

En los espectrómetros de serie de diodos no hay rendija de salida, y todas las longitudes de onda dispersadas que llegan al grupo de diodos se registran al mismo tiempo.

Al describir los detectores se mencionó el uso de los de serie de fotodiodos para registrar todo un espectro en pocos milisegundos. En la figura 16.23 se ve el diseño básico de un espectrómetro arreglote serie de diodos. En este caso, la luz policromática atraviesa la muestra y el elemento dispersante se instala después de la muestra. Se elimina el uso de una rendija de salida para aislar determinada longitud de onda, y la luz dispersada se deja llegar a la cara del grupo de diodos detectores. De hecho, cada diodo funciona como una rendija de salida de un monocromador. La resolución está limitada por el tamaño del diodo elemental del grupo, pero en general, la resolución espacial tiene aproximadamente el doble de tamaño de un solo elemento.

Los espectrómetros de diodos son muy útiles para analizar mezclas de sustancias absorbentes cuyos espectros se superponen. El método convencional de la ecuación simultánea para analizar mezclas se limita a dos o tres componentes (la absorbencia se mide a dos o tres longitudes de onda) en las que los espectros son notablemente distintos. Con el espectrómetro de serie de diodos se puede medir la absorbencia en muchos puntos usando datos de los lados de las bandas de absorción, al igual que en los máximos de absorción. Este método de “determinación excesiva”, en el que se obtienen más puntos que analitos, mejora la fiabilidad de las mediciones cualitativas y permite determinar seis o más componentes o mezclas simples de componentes con espectros similares. En la figura 16.24 se muestra un ejemplo del análisis de varios componentes, midiendo de manera simultánea cinco hemoglobinas. Los cinco espectros fueron resueltos en forma cuantitativa comparándolos con espectros estándar de cada compuesto, guardados en la memoria de la computadora. El análisis de todo el espectro se puede efectuar con diversos paquetes de programas informáticos. Se pueden usar mezclas de estándares en la calibración, con lo que se compensan posibles interacciones entre los componentes.

Los instrumentos modernos han eliminado los registradores de gráficas. En su lugar, los barridos espectrales se muestran en pantallas de video y la computadora los imprime.

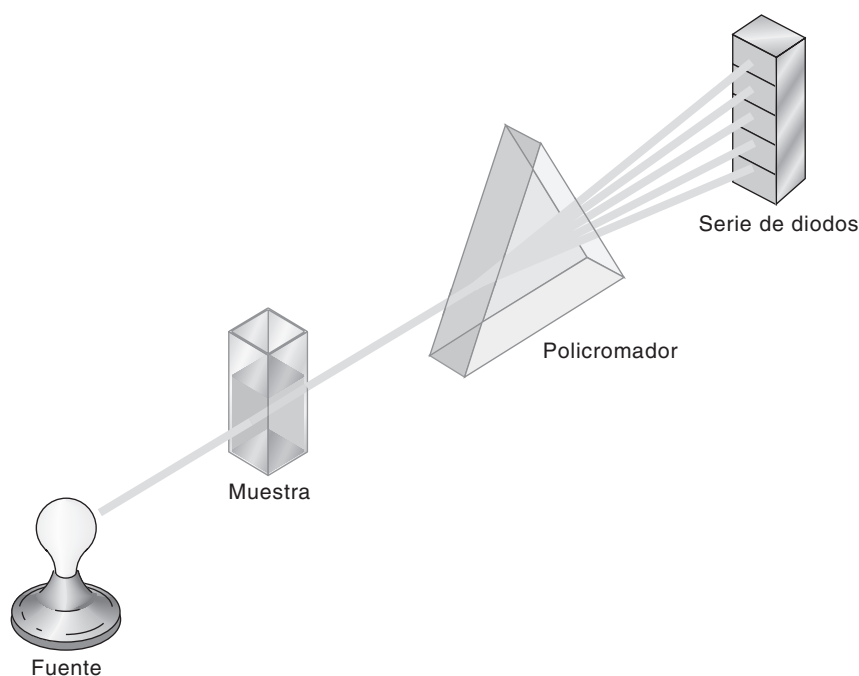
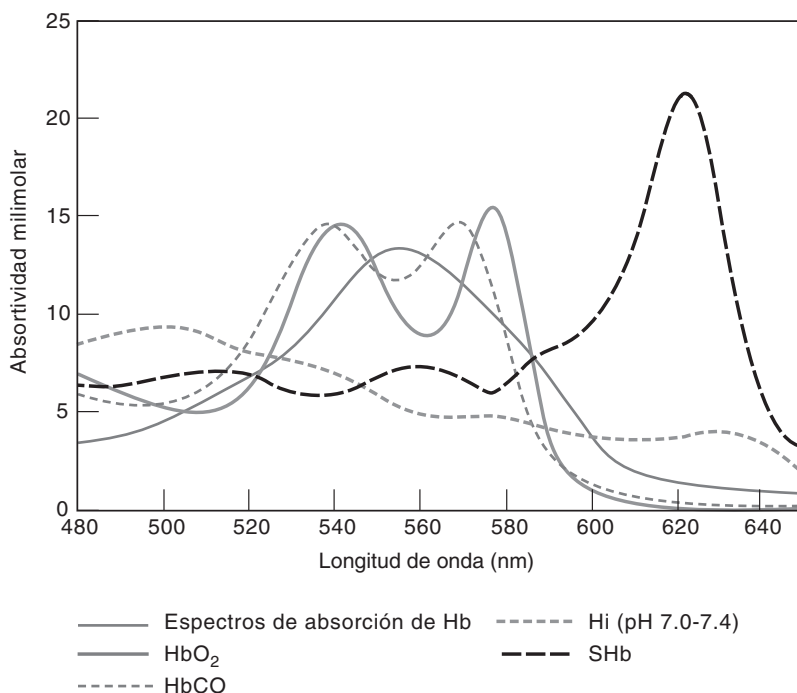


Figura 16.23. Esquema del espectrómetro de serie de diodos.



Nota: Hb = hemoglobina, HbO₂ = oxihemoglobina, HbCO = carboxihemoglobina, Hi = metemoglobina, SHb = sulfhemoglobina.

Figura 16.24. Absortividades milimolares, en $\text{mmol}^{-1} \text{L cm}^{-1}$. [Según A. Zwart, A. Buursma, E. J. van Kampen y W. G. Zijlstra, *Clin. Chem.*, **30** (1984) 373. Reproducción autorizada.]

La capacidad que tienen los espectrómetros de serie de diodos para adquirir rápidamente datos permite también usar estadísticas de medición para mejorar los datos cuantitativos. Por ejemplo, se pueden hacer 10 mediciones en cada punto en 1 segundo, de donde se obtiene la desviación estándar de cada punto. Entonces, la computadora del instrumento pondera los datos en un ajuste de mínimos cuadrados con base en sus precisiones. Con el método de “máxima posibilidad” se minimiza el efecto de datos defectuosos en los cálculos cuantitativos.

La precisión del análisis mejora al promediar muchas mediciones.

16.11 Espectrómetros de infrarrojo por transformada de Fourier

Los espectrómetros infrarrojos convencionales se llaman **instrumentos dispersivos**. Con la llegada de instrumentos con computadora y microprocesadores, los anteriores han sido sustituidos en gran parte por espectrómetros infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR, de *Fourier transform infrared*), que presentan diversas ventajas. Un instrumento FTIR usa un interferómetro para obtener un espectro, no un monocromador de rejilla.

La base de un instrumento con interferómetro se ilustra en la figura 16.25. La radiación procedente de una fuente IR convencional se divide en dos trayectorias gracias a un desdoblador de haz; una trayectoria va a un espejo de posición fija y la otra a un espejo móvil. Cuando se reflejan los rayos, uno está ligeramente desplazado (desfasado) respecto del otro debido a que recorre una distancia menor (o mayor) debido al espejo móvil, y se vuelven a combinar para producir un patrón de interferencia (de todas las longitudes de onda en el rayo) antes de atravesar la muestra. Ésta ve al mismo tiempo todas las longitudes de onda y el patrón de interferencia varía con el tiempo al moverse continuamente el espejo a una velocidad lineal. El resultado de la absorción de radiación por la muestra es un espectro en el **dominio del tiempo** que se llama **interferograma**; esto es, la intensidad de absorción en función de la diferencia de longitudes ópticas entre los dos rayos.

Los espectrómetros FTIR han sustituido en gran parte a los espectrómetros IR dispersivos.

Un interferograma es un espectro en el dominio del tiempo. La transformada de Fourier lo convierte al dominio de la frecuencia.

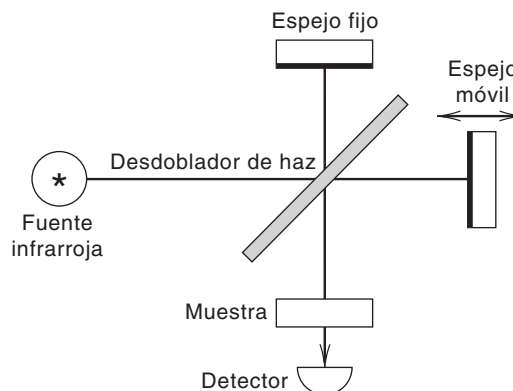


Figura 16.25. Esquema de un interferómetro para espectrometría FTIR.

La figura 16.26 muestra el diagrama de un interferograma. La parte alta de la señal corresponde al momento en que los dos espejos son equidistantes al desdoblador de haz, cuando la interferencia destructiva entre los dos haces es cero, y se llama máximo central del instrumento. La intensidad decrece rápidamente al alejarse de ese punto debido a la interferencia destructiva. Usando una computadora, ésta se convierte al dominio de la frecuencia mediante una operación matemática llamada **transformada de Fourier** (de donde proviene el nombre de **espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier**). El resultado es un espectro infrarrojo de apariencia convencional.

Ventajas de los espectrómetros FTIR: mayor capacidad, mayor relación de señal a ruido, medición simultánea en todas las longitudes de onda.

Las ventajas de un instrumento interferométrico es que su capacidad es mayor (ventaja de Jacquinot), porque toda la radiación es transmitida. Esto es, la muestra siempre interacciona con todas las longitudes de onda y no con una pequeña parte cada vez. Eso da como resultado mayor relación de señal a ruido. Además, se obtiene una *ventaja multiplex* (ventaja de Fellgett) porque el interferómetro mide todas las frecuencias IR al mismo tiempo, y entonces se obtiene en pocos segundos un espectro cuya resolución es comparable a la de un instrumento de rejilla o mejor.

Para tomar muchos interferogramas y promediarlos para aumentar la relación de señal a ruido, la computadora debe promediar el máximo central exactamente cada vez en la misma posición de la trayectoria del espejo. Para lograrlo, estos interferómetros tienen un pequeño láser rojo de helio-neón (He-Ne) cuyo haz monocromático atraviesa el interferómetro igual que la fuente infrarroja. Al recombinarse produce franjas de interferencia separadas por la longitud de onda exacta del láser, 632.8 nm. Estas franjas sirven como calibración de la posición variable del espejo y permiten que la computadora sincronice todos los espectros.

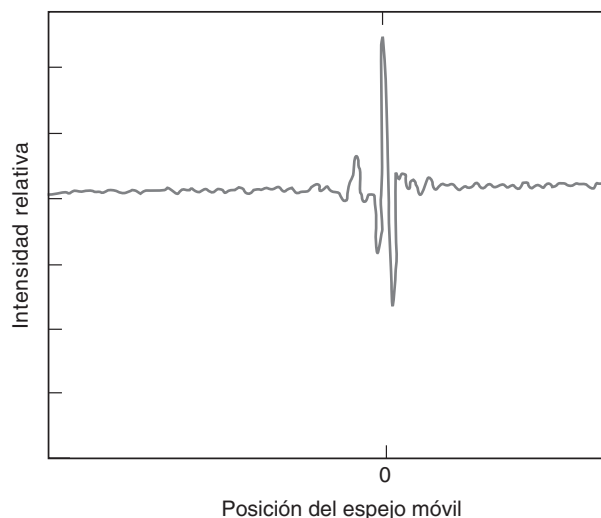


Figura 16.26. Interferograma típico. El punto marcado "0" es donde ambos espejos del interferómetro están a la misma distancia del desdoblador de haz. [Según D. W. Ball, *Spectroscopy*, 9(8) (1994) 24. Reproducción autorizada.]

Desde hace más de un siglo se conocen las bases de los interferómetros y de la transformada de Fourier, pero sus aplicaciones prácticas tuvieron que esperar hasta la llegada de técnicas digitales computarizadas de alta velocidad. Los instrumentos FTIR están disponibles como unidades portátiles de campo y como instrumentos de laboratorio más elaborados. Todos ellos tienen un desdoblador de haz de sal, que suele ser bromuro de germanio o de potasio, un espejo móvil montado en un cojinete mecánico de precisión o de aire, un detector de estado sólido o criogénico y una computadora para procesar el interferograma en dominio de tiempo y obtener un espectro en dominio de frecuencia. También se incorpora un detector monocromático de láser para calibrar la longitud de onda.

Aunque son menos comunes, los instrumentos dispersivos de un solo haz de barrido se pueden conseguir para sustituir la complejidad del interferómetro y tener la economía del monocromador. Esos instrumentos pueden tener una rapidez y resolución comparables a las de los instrumentos FTIR, pero no tienen la ventaja multiplex que disminuye el ruido para tener mediciones de nivel bajo.

Los instrumentos IR modernos con frecuencia tienen reflectancia u otras funciones de muestreo para obtener espectros IR que eliminan la necesidad de celdas de placas de sal, y simplifican el manejo de las muestras. El más útil es un método de reflectancia interna, llamado reflectancia total atenuada. La muestra se comprime sobre un sustrato de diamante y la radiación infrarroja la penetra y se refleja internamente; después emerge para su detección.

16.12 Instrumentos para IR cercano

Las fuentes de radiación para instrumentos de IR cercano trabajan en general entre 2 500 y 3 000 K, en comparación con 1 700 K en la región de IR medio y producen una radiación alrededor de 10 veces más intensa y menores relaciones de señal a ruido. Esto es posible porque la radiación IR de las fuentes características decrece en la región de IR medio y la intensidad máxima se desplaza más hacia la región de IR cercano al aumentar la temperatura. La mayor temperatura causa radiación IR media más débil, pero se favorece la región del IR cercano. Una lámpara de tungsteno-halógeno produce radiación intensa en el intervalo de 800 a 1 100 nm.

El detector de arseniuro de galio e indio (GaInAs) es el que más se usa en el IR cercano, y es unas 100 veces más sensible que los detectores de IR medio. La combinación de fuentes de radiación intensas y detectores sensibles da como resultado niveles de ruido muy bajos, del orden de microunidades de absorbencia. El vidrio y el cuarzo son transparentes a la radiación del IR cercano, por lo que los sistemas ópticos y las celdas son más fáciles de diseñar y usar que para la región del IR medio. La radiación de IR cercano se puede enviar a grandes distancias por fibras ópticas, y los instrumentos comerciales para análisis de proceso o en campo (portátiles) suelen usar sensores con fibra óptica (véase más adelante) para pruebas no destructivas.

Las fuentes de radiación para IR cercano son más intensas y los detectores son más sensibles que los de la región de IR medio; esto hace que los niveles de ruido sean 1 000 veces menores.

16.13 Error espectrométrico en las mediciones

Siempre habrá cierto margen de error o irreproducibilidad al leer en una escala de absorbencia o transmitancia. La incertidumbre en la indicación dependerá de varios factores instrumentales y de la región de la escala donde se lee, y por tanto de la concentración.

Debido a la relación logarítmica entre la transmitancia y la concentración, pequeños errores al medir la transmitancia causan errores relativamente grandes en la concentración

Es difícil medir con precisión disminuciones muy grandes o muy pequeñas de absorbencia.

calculada, a bajas y altas transmitencias. Quizá sea obvio para el lector que si la muestra sólo absorbe una cantidad muy pequeña de luz, puede resultar un error *relativo* considerable al leer un pequeño decremento de transmitencia. En el otro extremo, si la muestra absorbe casi toda la luz, se necesitaría un instrumento extremadamente estable para leer con exactitud la gran disminución en la transmitencia. Por lo anterior, hay cierta transmitencia o absorbencia óptima donde el error relativo al tomar los valores debe ser mínimo.

Para tener un error relativo mínimo, la transmitencia se puede deducir con la ley de Beer y el cálculo, suponiendo que ese error es, en esencia, resultado de la incertidumbre en la lectura en la escala del instrumento y también que el error *absoluto* es constante al leer la transmitencia y es independiente del valor de esta misma. El resultado es que teóricamente el error relativo mínimo en la concentración se produce cuando $T = 36.8$ o $A = 0.434$.

La figura 16.27 ilustra la dependencia entre el error relativo y la transmitencia, calculada a un error constante de $0.01T$ en la escala de lectura. En la figura se ve que aunque el mínimo está en $36.8\% T$, entre los límites de 20 y $65\% T$ (0.7 a $0.2 A$) ese error mínimo es casi constante. El porcentaje de transmitencia debería estar entre 10 y $80\% T$ ($A = 1$ a 0.1) para evitar grandes errores en los valores espectrofotométricos. Por consiguiente, se deben diluir (o concentrar) las muestras y se deben preparar soluciones valoradas para que la absorbencia esté dentro de los límites óptimos.

En la práctica, la figura 16.27 es una descripción aproximada del error sólo en instrumentos con **detectores Johnson o térmicos limitados por ruido**, como los detectores fotoconductores (CdS o PBs, de 400 a $3\,500\text{ nm}$) o los termopares, bolómetros y detectores Golay en la región infrarroja. El ruido Johnson se produce por movimiento térmico aleatorio en los elementos resistores del circuito.

Con fototubos y detectores de tipo fotomultiplicador (detectores fotoemisores, en región ultravioleta a visible), el ruido térmico es insignificante en comparación con el ruido de disparo (o de Schottky, de ametralladora, etc.). El **ruido de disparo** es la fluctuación aleatoria de la corriente de electrones que produce una superficie emisora de electrones (es decir, a través de una unión de cátodo a ánodo). En los tubos fotomultiplicadores se amplifica y es la fluctuación que limita al ruido. En instrumentos con estos detectores el error absoluto no es constante en todos los valores de T , y las ecuaciones para el error espectrofotométrico se vuelven más complicadas. Se ha calculado que para estos casos el error mínimo debe estar en $T = 13.6$ o $A = 0.87$. Estos instrumentos tienen un intervalo de trabajo aproximado de 0.1 a $1.5 A$, aproximadamente.

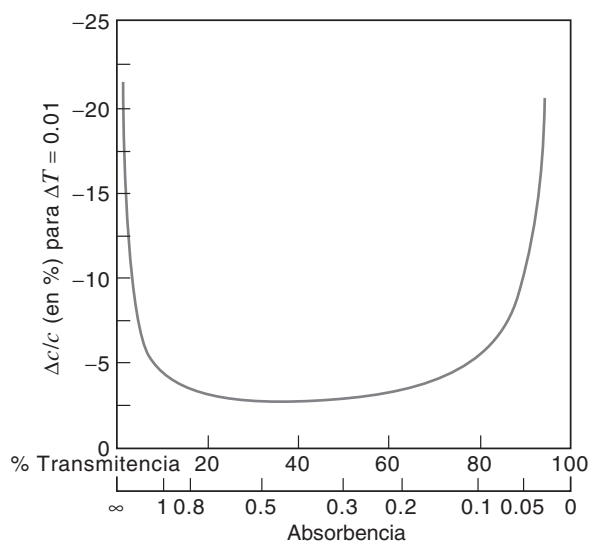


Figura 16.27. Error relativo de la concentración en función de la transmitencia, para 1% de incertidumbre en % T .

La absorbencia debe estar entre los límites de 0.1 y 1.

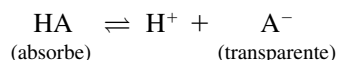
16.14 Desviaciones respecto a la ley de Beer

No siempre se puede suponer que se siga la ley de Beer; esto es, que haya una gráfica lineal de absorbencia en función de la concentración. Hay desviaciones respecto a la ley de Beer que son resultado de factores químicos e instrumentales. La mayor parte de las “desviaciones” respecto a la ley de Beer en realidad sólo son “aparentes”, porque si se tienen en cuenta los factores que causan la no linealidad, la curva corregida de absorbencia contra concentración será lineal. Las desviaciones reales respecto a la ley de Beer se producen cuando la concentración es tan alta que cambia el índice de refracción de la solución respecto al del testigo. Un caso parecido sucedería con mezclas de disolventes orgánicos y agua, por lo que la composición del disolvente en el testigo debe coincidir estrechamente con la de la muestra. El disolvente también puede tener un efecto sobre la absorptividad del analito.

Las desviaciones respecto a la ley de Beer dan lugar a curvas de calibración no lineales, en especial a mayores concentraciones.

DESVIACIONES QUÍMICAS

Las causas químicas de la no linealidad se presentan cuando existen equilibrios químicos asimétricos. Un ejemplo es el de un ácido débil que absorbe a determinada longitud de onda pero cuya base conjugada no lo hace:



La relación de la forma ácida a la forma salina dependerá, naturalmente, del pH (capítulo 7). Mientras la solución esté regulada o sea muy ácida, esa relación permanecerá constante en todas las concentraciones de ácido. Sin embargo, en una solución sin regular, el grado de ionización aumentará al diluir el ácido; esto es, el equilibrio anterior se desplazará hacia la derecha. Por tanto, existe una fracción menor de la especie disponible en su forma protonada para la absorción en soluciones diluidas del ácido que causan desviaciones aparentes respecto a la ley de Beer. El resultado será una desviación positiva respecto a la linealidad a mayores concentraciones (donde es menor la fracción disociada). Si la forma aniónica fuera la especie absorbente, la desviación sería negativa. Se aplican argumentos similares a los iones metálicos complejos o quelatos coloridos (absorbentes) en ausencia de un gran exceso del agente complejante. Es decir, en ausencia de un exceso de complejante, aumentará el grado de disociación del complejo al diluir ese complejo. En este caso la situación puede ser extremadamente complicada, porque el complejo se puede disociar en etapas formando complejos sucesivos que pueden absorber o no en la longitud de onda de la medición. También el pH es un factor en esos equilibrios.

Cuando la sustancia puede existir como dímero o como monómero al parecer también ocurren desviaciones. Aquí el equilibrio depende de la concentración. Un ejemplo de esto es la absorbencia que muestra el azul de metileno, que tiene una desviación negativa a mayores concentraciones debida a la asociación del azul de metileno.

La mejor manera de reducir al mínimo las desviaciones químicas respecto de la ley de Beer es regular bien el pH, agregar un gran exceso del agente complejante, el ajuste de la fuerza iónica, etc. Con la preparación de una curva de calibración dentro del intervalo de medición se corregirá la mayor parte de las desviaciones.

Si ambas especies en un equilibrio químico absorben y si sus curvas de absorción se cruzan, la longitud de onda a la cual ocurre esto se denomina **punto isobéptico**; en él, la absorptividad molar de ambas especies será igual. Ese punto se ilustra en la figura 16.28. Los espectros se grafican a distintos valores de pH, porque en general es el pH el que causa el desplazamiento en el equilibrio. Por tanto, resulta claro que el efecto del pH se podría eliminar haciendo mediciones en el punto isobéptico, pero entonces la sensibilidad

La absorptividad de todas las especies es la misma en el punto isobéptico.

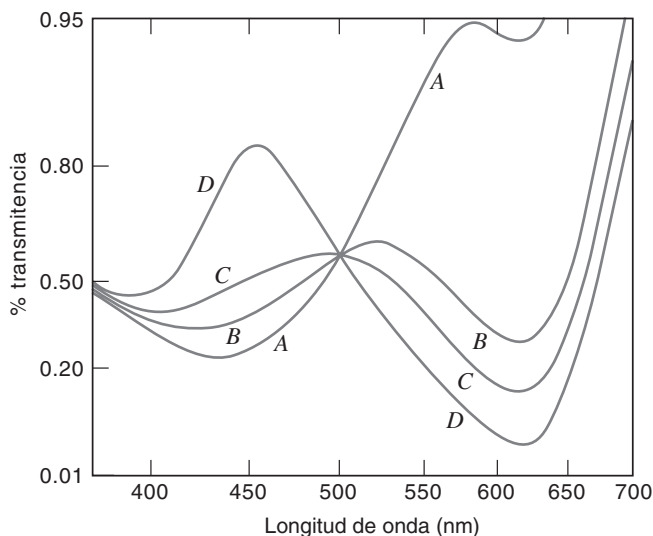


Figura 16.28. Ilustración del punto isobéptico del azul de bromotimol (501 nm): A) pH 5.45; B) pH 6.95; C) pH 7.50, D) pH 11.60.

decrece. Si se hace que la solución sea muy ácida o muy alcalina, una de las especies predominaría y aumentaría la sensibilidad al realizar la medición en estas condiciones.

Para un sistema de dos componentes donde las dos especies absorbentes están en equilibrio, todas las curvas se cruzan en el punto isobéptico, donde tienen el mismo valor de ϵ . La existencia de un punto isobéptico es una condición necesaria (aunque no suficiente) para demostrar que sólo hay dos sustancias absorbentes en equilibrio cuyas bandas de absorción se traslapan. Si ambas especies absorbentes se apegan a la ley de Beer, los espectros de absorción de todas sus mezclas en equilibrio se cortarían en una longitud de onda fija. Por ejemplo, las distintas formas coloridas de los indicadores en equilibrio (por ejemplo, las formas roja y amarilla del anaranjado de metilo) suelen tener un punto isobéptico que apoya la evidencia de que dos y sólo dos especies coloridas participan en el equilibrio.

La existencia de un punto isobéptico no demuestra la presencia de dos componentes únicamente. Puede haber un tercer componente con $\epsilon = 0$ a esta longitud de onda en particular. Sin embargo, la ausencia de un punto isobéptico demuestra, en forma definitiva, la presencia de un tercer componente, siempre que se pueda negar la posibilidad de desviación respecto a la ley de Beer en el sistema de dos componentes. Para un sistema de dos componentes, el punto isobéptico es una longitud de onda única para la determinación cuantitativa de la cantidad total de dos especies absorbentes en mutuo equilibrio.

DESVIACIONES DE LOS INSTRUMENTOS

La hipótesis básica para aplicar la ley de Beer es que se usa luz monocromática. En las descripciones anteriores se indicó que es imposible extraer radiación monocromática de una fuente continua. En su lugar se hace pasar una banda de radiación cuyo ancho depende del elemento dispersor y del ancho de la rendija. En un espectro de absorción, varias longitudes de onda se absorben en distinto grado; esto es, la absorptividad varía con la longitud de onda. A una longitud de onda que corresponda a un máximo bastante ancho en el espectro, la banda de longitudes de onda será absorbida más o menos en el mismo grado. Sin embargo, en una parte con inclinación pronunciada en el espectro se absorberán en diferentes grados. La pendiente del espectro aumentará al incrementar la concentración, y el resultado es que las fracciones de las cantidades de cada longitud de onda absorbida pueden cambiar, en especial si el ajuste del instrumento se desplaza durante la medición. Entonces se observará una desviación negativa en la gráfica de absorbencia en función de concentración. Cuanto mayor sea la pendiente de la curva espectral, mayor será la desviación.

Son obvias las ventajas de hacer la medición en un máximo de absorción cuando sea posible, para minimizar esta curvatura y también para tener una sensibilidad máxima. Como se pasa una banda de longitudes de onda, la absorción a determinada longitud de onda puede variar algo de un instrumento a otro, dependiendo de la resolución, ancho de rendija y agudeza del máximo de absorción. Por todo esto se debe comprobar la absorptividad y linealidad en cada instrumento y no confiar en absorptividades comunicadas. Es práctica común preparar curvas de calibración, de absorbencia contra concentración, y no confiar en cálculos directos de concentración según la ley de Beer.

Si hay una segunda especie absorbente (interferente) cuyo espectro se sobreponga al de la sustancia que se analiza, se producirá la no linealidad de la absorbencia total en función de la concentración de la sustancia que se analiza. Lo anterior se podrá considerar al preparar la curva de calibración agregando el compuesto que interfiere con los patrones a la misma concentración que se encuentra en las muestras. Es obvio que eso sólo será correcto si la concentración del compuesto que interfiere es constante en esencia, y esa concentración debe ser relativamente pequeña. Si no es así, será necesario hacer un análisis simultáneo, como se describió antes.

Entre otros factores instrumentales que pueden causar desviaciones según la ley de Beer están la radiación parásita que entra al monocromador y que se detecta, las reflexiones internas de la radiación dentro del monocromador, y celdas que no coinciden (respecto de la longitud de trayectoria) cuando se usan para distintas soluciones de analito, o se usan en los instrumentos de haz doble (cuando el blanco o el disolvente absorben de manera apreciable en la celda de referencia). La **luz parásita** (que es toda luz detectada que no es absorbida por la muestra o que sale del ancho de banda de la longitud de onda seleccionada) llega a ser limitante, en especial con altas absorbencias, y termina causando desviaciones respecto de la linealidad. El ruido que causa la luz parásita también es un factor importante del error espectrométrico o de la imprecisión a grandes absorbencias. La radiación que no interactúa con la muestra puede tener su origen en entradas de luz al instrumento, en dispersión de la luz en los componentes ópticos o en luz dispersada por la misma muestra. Un componente de luz parásita que equivalga a 0.1% de transmitancia causaría un error de 0.4% en una muestra cuya absorbencia sea la unidad.

Entre otras fuentes químicas e instrumentales de no linealidad en las mediciones de absorbencia pueden citarse los puentes de hidrógeno, la interacción con el disolvente, un detector no lineal, circuitos electrónicos no lineales, radiación no colimada y altos niveles de señal (saturación).

Un espesor no uniforme de celda puede afectar un análisis cuantitativo. Éste es un problema en potencia, en especial en la espectrometría del infrarrojo, donde se usan distanciadores de celda. Las burbujas de aire pueden afectar la longitud de trayectoria y causar luz parásita, por lo que es importante eliminarlas, y también en especial en el caso de celdas para infrarrojo.

La absorptividad a determinada longitud de onda puede variar de un instrumento a otro. Por consiguiente, siempre se corre un estándar.

La luz parásita es la causa más común de las desviaciones negativas de la ley de Beer. De acuerdo con esta ley, la luz que llega al detector disminuye a cero cuando la concentración es infinita (toda la luz se absorbe). Pero esto es imposible cuando hay luz parásita que llega al detector.

16.15 Fluorimetría

El análisis fluorométrico es extremadamente sensible, y se usa mucho en bioquímica, química clínica y química analítica en general.

PRINCIPIOS DE LA FLUORESCENCIA

Cuando una molécula absorbe energía electromagnética, en general esta energía se pierde en forma de calor cuando se desactiva la molécula por procesos de colisión. Sin embargo, con ciertas moléculas (de 5 a 10%), en especial cuando absorben radiación de alta energía, como radiación UV, sólo se pierde parte de la energía en los choques, y entonces

Algunas moléculas que absorben la radiación UV sólo pierden parte de la energía a través de las colisiones. El resto se reemiten como radiación a mayores longitudes de onda.

el electrón regresa al estado fundamental, emitiendo un fotón de menor energía (mayor longitud de onda) que la que absorbió. Véase la figura 16.29.

A temperatura ambiente, las moléculas están normalmente en estado fundamental, el cual suele ser un **estado singulete** (S_0), donde todos los electrones están apareados. Los electrones que ocupan el mismo orbital molecular deben estar “apareados”, es decir, tener espines opuestos. En un estado singulete, los electrones están apareados. Si los electrones tienen el mismo espín, están “desapareados” y la molécula se halla en **estado triplete**. Los estados singulete y triplete indican la **multiplicidad** de la molécula. El proceso que causa la emisión de un fotón fluorescente comienza con la absorción de un fotón (proceso que dura 10^{-15} s) por el fluoróforo, causando una transición electrónica a un estado de mayor energía (excitado). En la mayor parte de las moléculas orgánicas a la temperatura ambiente, esa absorción corresponde a una transición del nivel vibracional más bajo en el estado fundamental a uno de los niveles vibracionales del primero o segundo estado electrónico excitado de la misma multiplicidad (S_1 , S_2). La brecha energética entre los niveles vibracionales y rotatorios en esos estados electrónicos más elevados causa el espectro de absorción de la molécula.

Si la transición se da a un estado electrónico más elevado que S_1 , rápidamente se efectúa un proceso de **conversión interna**. Se cree que la molécula excitada pasa del nivel vibracional de este estado electrónico superior a un nivel vibracional elevado de S_1 , isoeenergético con el estado excitado original. Los choques con las moléculas del disolvente en ese momento eliminan con rapidez el exceso de energía del nivel vibracional elevado de S_1 ; a este proceso se le llama **relajamiento vibracional**. Estos procesos de degradación de energía (conversión interna y relajamiento vibracional) suceden rápidamente (en $\sim 10^{-12}$ s). Debido a esta rápida pérdida de energía, es rara la fluorescencia de emisión de estados superiores al primer estado excitado.

Una vez que la molécula llega al primer singulete excitado, la conversión interna al estado fundamental es un proceso relativamente lento. Así, la degradación del primer estado excitado por emisión de un fotón puede competir de manera efectiva con otros procesos de decaimiento. Este proceso de emisión es la **fluorescencia**. En general, la emisión de fluorescencia sucede con mucha rapidez después de la excitación (10^{-6} a 10^{-9} s). En consecuencia, a ojo no es posible percibir la emisión de fluorescencia después de haber removido la fuente de excitación. Dado que la fluorescencia se efectúa desde el estado ex-

Las longitudes de onda de la radiación emitida son independientes de la longitud de onda de excitación. Sin embargo, las intensidades sí dependen de ella.

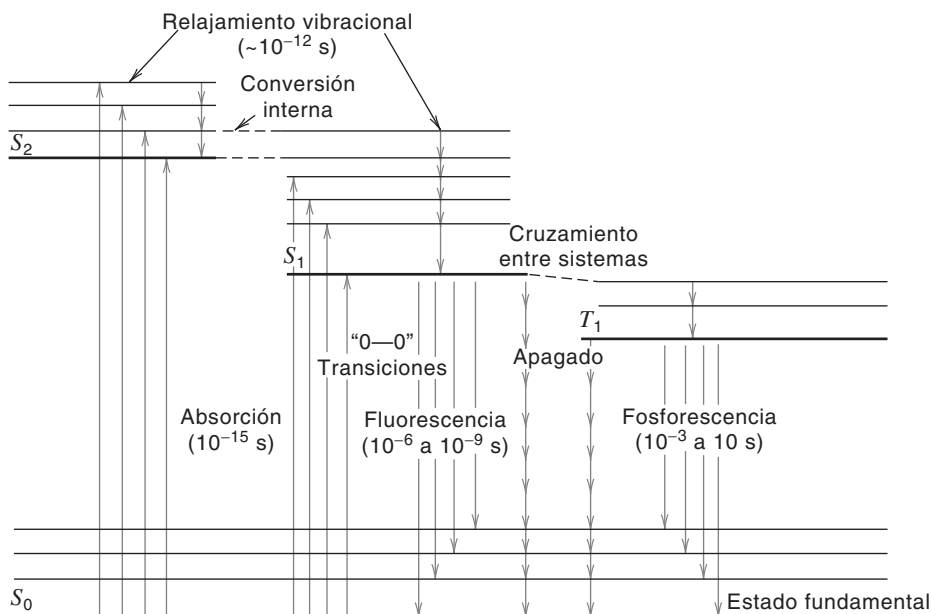


Figura 16.29. Diagrama de niveles de energía que muestra los procesos de absorción, los procesos de relajamiento y su rapidez.

citado más bajo, el espectro de fluorescencia, esto es, las longitudes de onda de la radiación emitida son independientes de la longitud de onda de la excitación. Sin embargo, la intensidad de la radiación emitida será proporcional a la intensidad de la radiación incidente (es decir, de la cantidad de fotones absorbidos).

Otra propiedad de las transiciones de excitación y emisión es que la máxima longitud de onda de excitación es igual a la mínima longitud de onda de emisión. Ésta es la banda “0-0” que corresponde a las transiciones entre el nivel vibracional 0 de S_0 , y el nivel vibracional 0 de S_1 (figura 16.29).

Aunque la molécula se encuentra en estado excitado, es posible que un electrón invierta su espín y pase a un estado triplete de menor energía en un proceso que se llama **cruzamiento entre sistemas**. Entonces, gracias a los procesos de conversión interna y relajamiento vibracional, rápidamente la molécula llega al estado vibracional mínimo del primer triplete excitado (T_1). De allí, la molécula puede retornar al estado fundamental S_0 emitiendo un fotón. Esta emisión se llama **fosforescencia**. Como las transiciones entre estados de diferente multiplicidad son “prohibidas”, T_1 tiene una duración mucho mayor que S_1 , y la fosforescencia dura mucho más que la fluorescencia ($>10^{-4}$ s). Por tanto, con mucha frecuencia se puede percibir una “persistencia de brillo” en la fosforescencia a pesar de remover la fuente de excitación. Además, debido a su duración relativamente larga, los procesos sin radiación pueden competir más efectivamente con la fosforescencia que con la fluorescencia. Por esa razón, normalmente no se observa fosforescencia en soluciones debido a las colisiones con moléculas de disolvente o de oxígeno. Las mediciones de fosforescencia se hacen enfriando las muestras a la temperatura de nitrógeno líquido (-196°C) para congelarlas y reducir al mínimo los choques con otras moléculas. Las muestras sólidas también fosforescen, y muchos minerales inorgánicos presentan fosforescencia de larga duración. Hay estudios en los que las moléculas en solución son adsorbidas en un soporte sólido, en el cual pueden fosforescer.

En la figura 16.30 se ve un ejemplo de un espectro de excitación y emisión de una molécula fluorescente. El espectro de excitación suele coincidir mucho, en su forma, con el espectro de absorción de la molécula. Con frecuencia (pero no necesariamente) hay una relación estrecha entre la estructura del espectro de excitación y la del espectro de emisión. En muchas moléculas relativamente grandes, las brechas vibracionales entre los estados excitados, en especial el S_1 , son muy parecidas a las del S_0 . Entonces, la forma del espectro de emisión causado por el decaimiento hasta los diversos niveles vibracionales de S_0 tiende a ser una “imagen especular” del espectro de excitación causado por la excitación

La fosforescencia dura más que la fluorescencia, y puede continuar después que se apaga la fuente de excitación.

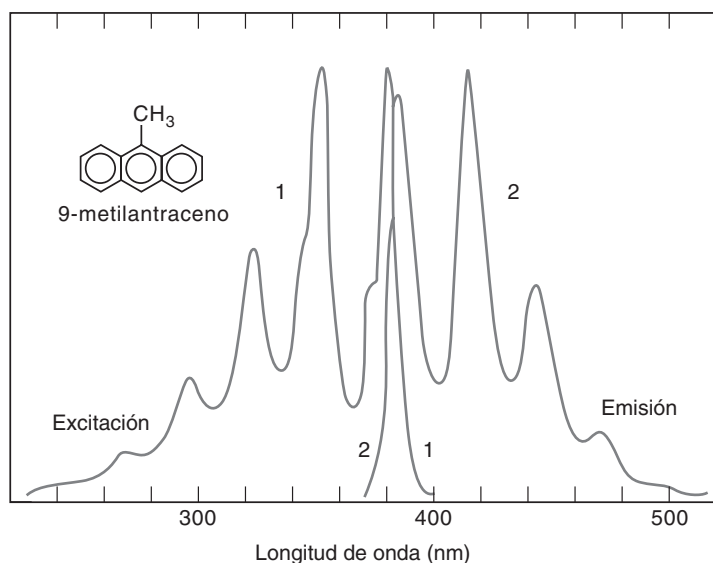


Figura 16.30. Espectros de excitación y emisión de una molécula fluorescente.

a los distintos niveles vibracionales del estado excitado, como S_1 . Naturalmente, la subestructura también se debe a diferentes niveles rotacionales en cada nivel vibracional.

La longitud de onda máxima de absorción y la mínima de fluorescencia tienden a ser iguales (la transición 0-0 en la figura 16.29). Sin embargo, con más frecuencia éste no es el caso, debido a diferencias en la solvatación de la molécula excitada y la molécula en estado fundamental. Son diferentes los calores de solvatación de cada una y eso causa disminución de la energía del fotón emitido en una cantidad igual a esos dos calores de solvatación.

Sólo pueden fluorescer las moléculas que absorben la radiación, en general la radiación ultravioleta; de las que sí absorben, sólo fluoresce 5 a 10%. Es una ventaja cuando se considera una posible interferencia en la fluorescencia. La radiación emitida puede estar en la región ultravioleta, en especial si el compuesto absorbe a menos de 300 nm, pero en general está en la región visible. La radiación emitida es la que se mide y se relaciona con la concentración.

ESTRUCTURA QUÍMICA Y FLUORESCENCIA

En principio, cualquier molécula que absorba radiación ultravioleta podría fluorescer. Hay muchas razones para que esto no suceda, pero no se examinarán aquí y sólo se hará notar, en general, qué clases de sustancias se espera que sean fluorescentes.

En primer lugar, cuanto mayor sea la absorción por una molécula, la intensidad de fluorescencia será mayor. Muchos compuestos aromáticos y heterocíclicos fluorescen, en especial si contienen ciertos sustituyentes. Los compuestos con varios dobles enlaces conjugados favorecen la fluorescencia. Uno o más grupos donadores de electrones, como $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ y $-\text{OCH}_3$ aumentan la fluorescencia. Los compuestos policíclicos, como la vitamina K, las purinas y los nucleósidos, así como los polienos conjugados como la vitamina A, son fluorescentes. Los grupos como $-\text{NO}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$ y los grupos azo tienden a *inhibir* la fluorescencia. La naturaleza de otras sustancias puede alterar el grado de fluorescencia. En muchas moléculas, la fluorescencia depende mucho del pH en los casos donde sólo la forma ionizada o no ionizada puede ser fluorescente. Por ejemplo, el fenol, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ es fluorescente, pero su anión, $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$, no lo es.

Si un compuesto no es fluorescente puede convertirse en un derivado que sí lo sea. Por ejemplo, los esteroides no fluorescentes se pueden hacer fluorescentes por deshidratación con ácido sulfúrico concentrado. Esos alcoholes cíclicos se convierten en fenoles. De igual modo, los ácidos dibásicos, como el ácido málico, pueden reaccionar con β -naftol en ácido sulfúrico concentrado y formar un derivado fluorescente. White y Argauer han desarrollado métodos fluorométricos para muchos metales, formando quelatos con compuestos orgánicos (véase la referencia 23). Los anticuerpos pueden hacerse fluorescentes condensándolos con isocianato de fluoresceína, que reacciona con los grupos amino libres de las proteínas. El NADH, la forma reducida del dinucleótido de adenina y nicotinamida, fluoresce. Se trata de un producto o reactivo (cofactor) en muchas reacciones enzimáticas (véase el capítulo 24), y su fluorescencia es la base de la sensible cuantificación de enzimas y sus sustratos. La mayor parte de los aminoácidos no fluoresce, pero se forman derivados fluorescentes por reacción con cloruro de dansilo.

EXTINCIÓN O APAGADO DE LA FLUORESCENCIA

Con frecuencia, la extinción de la fluorescencia es un problema en las mediciones cuantitativas.

Una dificultad que se encuentra en la fluorimetría es la de la **extinción o apagado de la fluorescencia** causada por muchas sustancias, las cuales, de hecho, compiten por recibir la energía de excitación electrónica y disminuyen el rendimiento cuántico (la eficiencia de conversión de la radiación absorbida en radiación fluorescente; véase más adelante). El ion yoduro es un extinguidor muy efectivo. Los grupos con sustituyentes yoduro y bromuro hacen bajar el rendimiento cuántico. Sustancias como éstas se pueden determinar indi-

rectamente midiendo el grado de supresión de la fluorescencia. Algunas moléculas no fluorescen porque pueden tener un enlace cuya energía de disociación es menor que la de la radiación. En otras palabras, se puede romper un enlace molecular y evitar la fluorescencia.

Una especie colorida en solución con la especie fluorescente puede interferir al absorber la radiación fluorescente. Es el llamado **efecto de filtro interno**. Por ejemplo, en una solución de carbonato de sodio, el dicromato de potasio tiene máximos de absorción a 245 y 348 nm. Estos máximos se traslapan con los picos de excitación (275 nm) y emisión (350 nm) del triptófano y causarán interferencia. También una concentración muy alta del fluoróforo mismo podría causar el efecto de filtro interno. Algunas de las moléculas del analito vuelven a absorber la radiación emitida por otras (véase a continuación la descripción de intensidad de fluorescencia y la concentración).

RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIÓN E INTENSIDAD DE FLUORESCENCIA

A partir de la ley de Beer se puede deducir con facilidad (problema 48) que la intensidad F de la fluorescencia está dada por

$$F = \phi P_0(1 - 10^{-abc}) \quad (16.24)$$

La intensidad de la fluorescencia es proporcional a la intensidad de la fuente. Por otra parte, la absorbencia es independiente de la intensidad de la fuente.

donde ϕ es el **rendimiento cuántico**, una constante de proporcionalidad que mide la fracción de los fotones absorbidos que se convierten en fotones fluorescentes. Por lo anterior, el rendimiento cuántico es menor o igual que la unidad. Los demás términos de la ecuación son los mismos que los de la ley de Beer. Se ve, en la ecuación, que si el producto abc es grande, el término 10^{-abc} se vuelve insignificante frente a 1, y F se vuelve constante:

$$F = \phi P_0 \quad (16.25)$$

Por otra parte, si abc es pequeño (≤ 0.01), desarrollando la ecuación 16.18 se puede demostrar⁵ que una buena aproximación es

$$F = 2.303\phi P_0 abc \quad (16.26)$$

Así, para todas las concentraciones, la intensidad de fluorescencia es directamente proporcional a la concentración y a la intensidad de la radiación incidente.

En general, esta ecuación es válida para concentraciones hasta de algunas partes por millón, dependiendo de la sustancia. A mayores concentraciones, la intensidad de la fluorescencia puede disminuir al aumentar la concentración. Se puede describir la proporción como sigue: en las soluciones diluidas, la radiación absorbida se distribuye por igual en toda la profundidad de la solución; sin embargo, a mayores concentraciones la primera parte de la solución en la trayectoria absorberá más radiación. Entonces, la ecuación sólo es válida si a mayor radiación que atraviesa la solución más de 92% aproximadamente de ella se transmite.

Para bajas concentraciones, la intensidad de fluorescencia viene a ser directamente proporcional a la concentración.

⁵ Se sabe que $e^{-x} = 1 - x + x^2/2! \dots$ y que $10^{-x} = e^{-2.303x}$. Por tanto, $1 - e^{-2.303abc} = 1 - [1 - 2.303abc + (2.303abc)^2/2! \dots]$. El término al cuadrado y los términos de orden mayor se pueden omitir si $abc \leq 0.01$, y entonces el término desarrollado se reduce a $2.303abc$. Se trata de una expansión en serie de Taylor.

INSTRUMENTACIÓN PARA FLUORESCENCIA

Para mediciones de fluorescencia es necesario separar la radiación emitida de la radiación incidente. Esto se hace con mayor facilidad midiendo la fluorescencia en ángulo recto con la radiación incidente. La radiación fluorescente se emite en todas direcciones, pero la radiación incidente atraviesa en forma directa la solución.

En la figura 16.31 se presenta un diseño sencillo de fluorómetro. Se requiere una fuente de radiación ultravioleta. La mayor parte de las moléculas fluorescentes absorben radiación ultravioleta dentro de una banda de longitudes de onda, por lo que para muchas aplicaciones basta con una fuente de línea sencilla. Esa fuente es una lámpara de vapor de mercurio. Se hace pasar una chispa a través de vapor de mercurio a baja presión y se emiten líneas principales a 2 537, 3 650, 5 200 (verde), 5 800 (amarillo) y 7 800 (rojo) Å. *Las longitudes de onda menores de 3 000 Å son perjudiciales a los ojos* y nunca se debe ver directamente a una fuente UV de corta longitud de onda. El vapor de mercurio mismo absorbe la mayor parte de la radiación de 2 537 Å (autoabsorción) y se puede agregar un filtro azul alrededor de la lámpara para eliminar la mayor parte de la luz visible. Así, la línea de 3 650 Å es la que se usa principalmente para la activación. Se suele usar un arco de xenón de alta presión (fuente continua) como fuente en instrumentos más complicados que escanearán el espectro (espectrofluorómetros). La presión de la lámpara es 7 atm a 25°C y 35 atm a las temperaturas de operación. ¡Téngase cuidado!

En el sencillo instrumento de la figura 16.31 se usa un filtro primario para eliminar las longitudes de onda cercanas a la de la emisión, porque en la práctica se dispersa algo de la radiación. El filtro primario permite sólo el paso de la longitud de onda de excitación. El filtro secundario (filtro 2) deja pasar la longitud de onda de emisión, pero no la de excitación (que se pueda dispersar). El vidrio deja pasar cantidades considerables de la línea de 3 650 Å, por lo que en algunos instrumentos se emplean cubetas y filtros de vidrio. Sin embargo, es mejor usar cuarzo (se encuentran disponibles grados especiales no fluorescentes). Este sencillo conjunto es satisfactorio para muchos fines.

Se puede comprender por qué los métodos fluorométricos son tan sensibles si se comparan con la espectrometría de absorción. En los métodos de absorción se mide la diferencia entre dos señales finitas, P_0 y P . Entonces, la sensibilidad estará determinada por la capacidad de distinguir entre las dos, lo cual depende de la estabilidad del instrumento, entre otros factores. Sin embargo, en la fluorescencia se mide la diferencia entre cero y un número finito, por lo que, en principio, el límite de detección está definido por la intensidad de la fuente y la estabilidad del detector (el “ruido de disparo”). Asimismo, en fluorescencia la señal tiene dependencia lineal respecto de la concentración, y se puede medir un intervalo dinámico mucho más amplio de concentraciones; no es raro un intervalo dinámico de 10^3 o 10^4 . Además de la mayor sensibilidad, se pueden hacer mediciones

Las mediciones de fluorescencia son 1 000 veces más sensibles que las de absorción. La absorbancia equivale a pesar un barco y su capitán para restar el peso del barco y obtener el peso del capitán ($P = P_0 - p$). En la fluorescencia sólo se pesa al capitán.

El filtro 1 elimina longitudes de onda que puedan pasar por el filtro 2 y aparecer como fluorescencia. El filtro 2 elimina las longitudes de onda de excitación dispersas, y permite el paso de la fluorescencia.

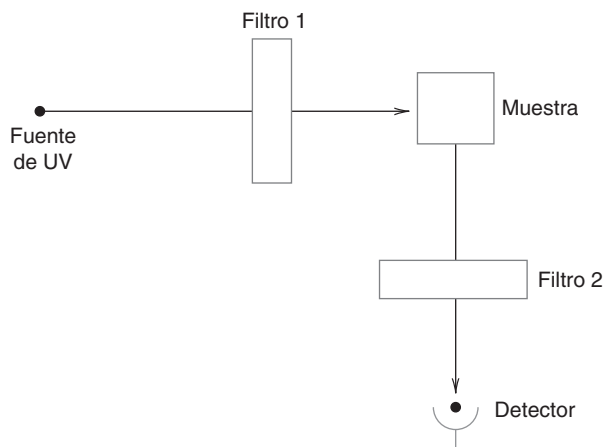


Figura 16.31. Diseño sencillo de un fluorómetro.

dentro de intervalos mucho más grandes de concentraciones; no es raro un intervalo de 1 000 veces o más.

En un **espectrofluorómetro** también se hace la medición en ángulo recto con la dirección de la radiación incidente. Pero en lugar de usar filtros, el instrumento contiene dos monocromadores, uno para seleccionar la longitud de onda de excitación y el otro para seleccionar la longitud de onda de fluorescencia. La longitud de onda de excitación de una fuente continua puede ser barrida y la fluorescencia medida a determinada longitud de onda para obtener un espectro de longitudes de onda de excitación. Esto permite establecer la longitud de onda de excitación máxima. A continuación se ajusta la longitud de onda de excitación en su valor máximo y la longitud de onda de emisión se puede barrer para establecer la longitud de onda de emisión máxima. Cuando se barre este espectro, suele haber un “máximo disperso” que corresponde a la longitud de onda de la excitación.

En los espectrofluorómetros es difícil corregir las variaciones de intensidad de la fuente o la respuesta del detector a diferentes longitudes de onda; entonces se suelen preparar curvas de calibración para determinado conjunto de condiciones. Ya que la intensidad de la fuente o la respuesta del detector pueden variar de un día al siguiente, se suele calibrar el instrumento midiendo la fluorescencia de una solución estándar y ajustar la ganancia para llevar la lectura del instrumento hasta el mismo valor. Con frecuencia se usa una solución diluida de quinina en ácido sulfúrico diluido como patrón de calibración.

A veces se requieren espectros “absolutos” de un compuesto fluorescente para calcular eficiencias cuánticas para diferentes transiciones. Para eso se necesitaría hacer correcciones punto por punto debido a las variaciones en la señal registrada, debidas a variaciones en los parámetros instrumentales. Se encuentran disponibles instrumentos comerciales que proporcionan “espectros corregidos”. En esos aparatos se ajusta la variación de la intensidad de la fuente con la longitud de onda para que la muestra se irradie con energía constante, y también corrigen variaciones en la respuesta del detector. El espectro de emisión que se registra se presenta directamente en cuantos de fotones emitidos por unidad de ancho de banda.

En un espectrofluorómetro los filtros se sustituyen con monocromadores de barrido. Se puede registrar el espectro de excitación (similar al espectro de absorberencia) o el de emisión.

16.16 Sensores ópticos: fibras ópticas

En años recientes se ha despertado el interés por el desarrollo de sensores ópticos que funcionan en forma muy parecida a los sensores electroquímicos (capítulo 15). Los sensores ópticos fueron posibles con la llegada de los cables de fibra óptica, que transmiten luz a lo largo de un cable flexible (guía de onda) o “tubo de luz”. Las fibras ópticas se desarrollaron para la industria de las comunicaciones, y pueden transmitir luz a grandes distancias, pero han demostrado su valor en la transmisión de luz a espectrómetros y en el desarrollo de sensores selectivos de analito, acoplando las composiciones químicas adecuadas a las fibras. Cuando se usan fibras ópticas no es necesario que una muestra se lleve al espectrómetro, porque la luz se puede transmitir a la muestra y regresar a través de los cables.

Los cables de fibra óptica permiten que la muestra esté alejada del espectrómetro.

PROPIEDADES DE LAS FIBRAS ÓPTICAS

En la figura 16.32 se representa la construcción de un cable de fibra óptica. Está formado por un *núcleo* cilíndrico que funciona como guía de onda rodeado por un material de *revestimiento*, de mayor índice de refracción, y por una capa amortiguadora protectora. La luz se transmite a lo largo del núcleo por reflexión interna total en la interfase núcleo-revestimiento. El ángulo de aceptación, θ_a , es el máximo ángulo para que la radiación se refleje por completo para determinada diferencia de índices de refracción entre el núcleo y el revestimiento. La luz que entra formando un ángulo mayor que θ no será transmitida, y θ_a define la abertura numérica (NA) de la fibra:

$$NA = n_{\text{ext}} \sin \theta_a = \sqrt{n_1^2 - n_2^2} \quad (16.27)$$

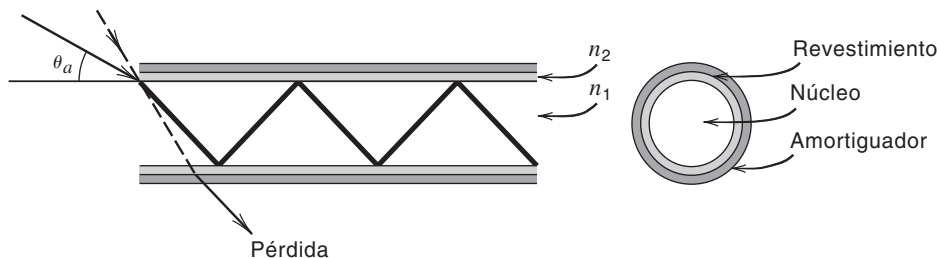


Figura 16.32. Estructura de una fibra óptica.

donde n_2 es el índice de refracción del revestimiento, n_1 el índice de refracción del núcleo, y n_{ext} el del medio externo. Cuanto mayor sea NA, la capacidad de reunir luz será mayor.

Por lo general, los fabricantes proporcionan datos de abertura numérica para diferentes fibras. Otra propiedad que informan con frecuencia es la pérdida de luz por unidad de longitud para diferentes longitudes de onda. Se da una curva espectral que muestra la atenuación en función de la longitud de onda. La atenuación se suele expresar en decibeles por kilómetro (dB/km), y se define como

$$\text{dB} = 10 \log \frac{P_0}{P} \quad (16.28)$$

donde P_0 es la intensidad en la entrada y P es la intensidad en la salida. Por ejemplo, la atenuación para fibras de sílice a 850 nm es del orden de 10 dB/km. Se debe tener en cuenta que $1 \text{ dB} = 10 \times \text{absorbencia}$. Así, una fibra de 10 m (0.01 km) tendría una absorbencia de 0.01 (atenuación de 0.1 dB), que corresponde a 97.7% de transmitancia.

Se pueden conseguir fibras ópticas que transmitan radiación desde el ultravioleta (190 nm) hasta el infrarrojo ($\geq 5 \mu\text{m}$), pero cada una tiene un intervalo limitado de operación. Los materiales plásticos y de vidrio compuesto se usan para cortas distancias en la región visible, en tanto que las fibras de sílice se pueden usar desde el UV hasta el IR cercano ($2.3 \mu\text{m}$), pero son muy costosas. Los vidrios de fluoruro y calcogenuro (material inorgánico que contiene oxígeno, azufre, selenio o telurio) extienden la operación más hacia el infrarrojo.

Para acoplar las fibras ópticas y los espectrómetros se presenta un balance entre la mayor abertura numérica para recolectar más luz y el ángulo de recolección del espectrómetro mismo, que suele ser la limitante. Esto es, la luz recolectada con una abertura numérica mayor que el límite del espectrómetro no será vista por ese espectrómetro. Consultar la referencia 23 para una descripción de las consideraciones de diseño de un acoplamiento fibra óptica/espectrómetro.

Las fibras ópticas se pueden usar como sensores para mediciones convencionales espectrofotométricas y de fluorescencia. Debe transmitirse luz de una fuente de radiación y volver al espectrómetro. Si bien hay acopladores y diseños que permiten la transmisión y recepción de la luz en una sola fibra, en general se usa un cable de **fibra bifurcada**. Ésta consiste en dos fibras en una vaina, separadas en el extremo que va a la fuente de radiación y al espectrómetro. Con frecuencia, los cables se componen de un mazo de varias docenas de pequeñas fibras, y la mitad de ellas están separadas en forma aleatoria de las otras en un extremo. Para mediciones de absorbencia se monta un espejo pequeño (fijo al cable) a pocos milímetros del extremo de la fibra. La radiación de la fuente penetra a la solución de la muestra y se refleja regresando a la fibra para su recolección y transmisión hacia el espectrómetro. La longitud de la trayectoria de la radiación es el doble de la distancia entre la fibra y el espejo.

Las mediciones de fluorescencia se hacen de manera parecida, pero sin el espejo. La radiación emitida por un extremo de la fibra de forma cónica excita la fluorescencia en la solución de la muestra; esta fluorescencia se recolecta por el cable de retorno (la cantidad

En los cables bifurcados, una rama se usa para transmitir la radiación de la fuente y la otra para recibir la radiación absorbida o de fluorescencia.

depende de la abertura numérica) y se manda al espectrómetro. Con frecuencia se usa una fuente de radiación láser para tener buena intensidad de fluorescencia.

SENSORES DE FIBRA ÓPTICA

Los sensores de fibra óptica se pueden transformar en sensores selectivos de absorbencia o fluorescencia al inmovilizar los reactivos adecuados en el extremo de un cable de fibra óptica. Tienen la ventaja, sobre los sensores electroquímicos, de que no se necesita un electrodo de referencia (y el puente salino), y la radiación electromagnética no influye sobre la respuesta. Por ejemplo, un sensor fluorométrico de pH puede prepararse inmovilizando químicamente el indicador isotiocianato de fluoresceína (FITC, *fluorescein isothiocyanate*) en una perla de vidrio poroso adheriéndola con resina epóxica al extremo de la fibra. El espectro de fluorescencia del FITC cambia al variar el pH (figura 16.33) en el intervalo de pH de 3 a 7, aproximadamente, y se centra respecto al pK del indicador. La intensidad de fluorescencia medida en el máximo de fluorescencia se relaciona con el pH mediante una curva de calibración. Esta curva tiene forma sigmoide, porque de hecho representa una titulación del indicador. Véase, en las referencias 31 y 32, una descripción de las limitaciones de los sensores de fibra óptica para medir pH y actividad iónica.

Si se inmoviliza una enzima, por ejemplo penicilinas, junto con un indicador adecuado, el sensor se convierte en un biosensor para medir penicilina. La enzima cataliza la hidrólisis de la penicilina para producir ácido peniciloico, que causa disminución de pH.

Se han desarrollado sensores de fibra óptica para oxígeno, CO₂, metales alcalinos y otros analitos. Para que funcionen, sus reacciones químicas deben ser reversibles.

Los sensores ópticos no presentan los requisitos y dificultades asociados a un electrodo de referencia.

ESPECTRÓMETROS MINIATURA DE FIBRA ÓPTICA

Hay espectrómetros poco costosos que usan fibras ópticas para transmisión de la luz, ya sea a través de una celda de cubeta o con sensores de fibra óptica. Un ejemplo es el espectrómetro Ocean Optics S2000 (www.oceanoptics.com). Tiene un dispositivo de carga acoplada de 2 048 elementos, un detector de serie de silicio que acepta la energía luminosa transmitida por un solo filamento de fibra óptica y la dispersa mediante una rejilla fija por todo el grupo. La figura 16.34 ilustra este espectrómetro compacto. Se puede configurar para aplicaciones en UV, visible e IR cercano, de 200 a 1 100 nm, usando

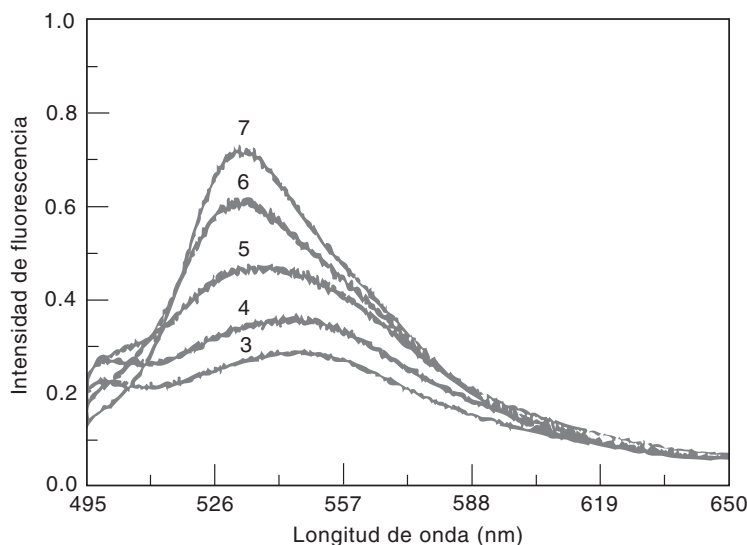
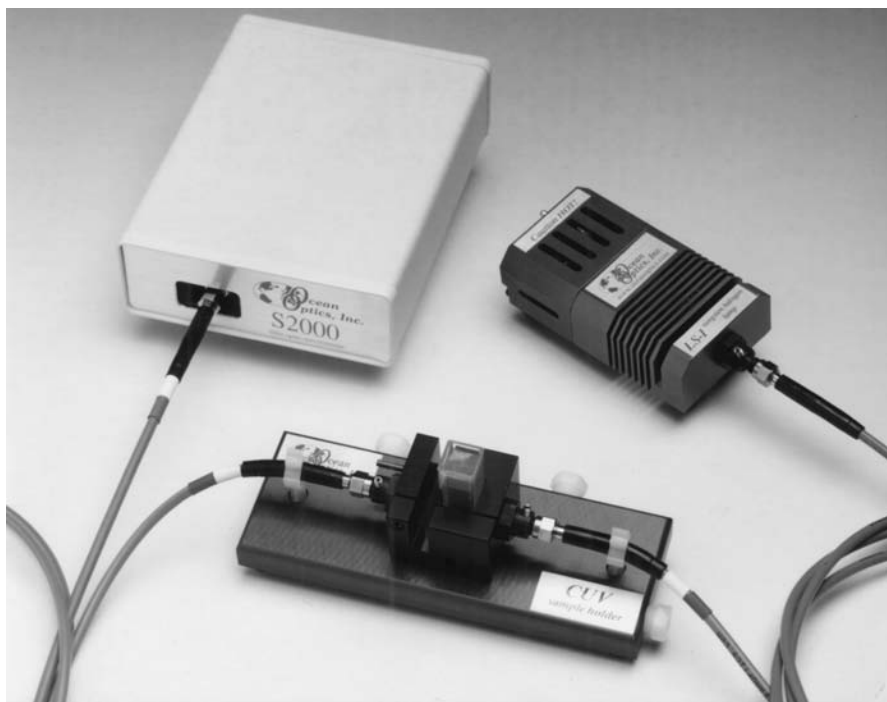


Figura 16.33. Espectros de fluorescencia de FITC inmovilizado en una perla de vidrio poroso, a pH 3, 4, 5, 6 y 7. [Según M.-R. S. Fuh, L. W. Burgess, T. Hirschfeld, G. D. Christian y F. Wang, *Analyst*, **112** (1987) 1159. Reproducción autorizada.]

Figura 16.34. Espectrómetro miniatura de fibra óptica. La caja es el espectrómetro. La fuente luminosa está a la derecha y el cable de fibra óptica guía la luz hacia la cubeta. El segundo cable toma la radiación transmitida y la lleva al espectrómetro. (Fotografía cortesía de Ocean Optics, Inc.)



distintas fuentes, rejillas, fibras ópticas y detectores. El instrumento produce todo el espectro sobre la longitud de onda de operación, y tiene programas informáticos para analizar los espectros.

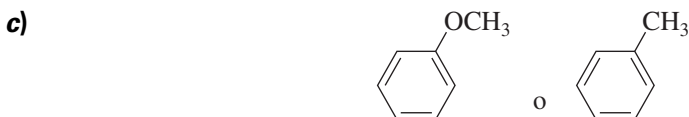
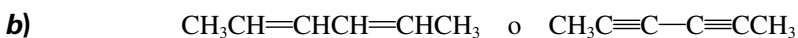
Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

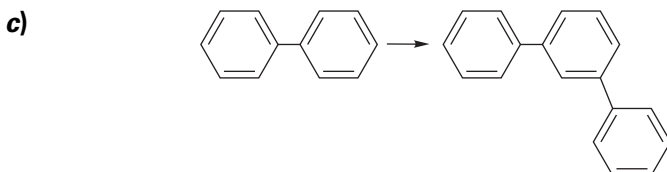
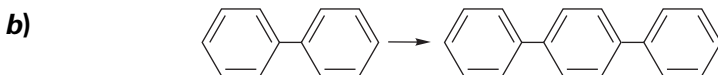
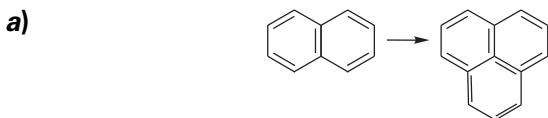
- Longitud de onda, frecuencias y energía de fotones (ecuaciones clave: 16.1 a 16.3), p. 458
- Cómo absorben radiación electromagnética las moléculas, p. 460
- Absorción UV-visible y estructura molecular, p. 464
- Absorción IR y estructura molecular, p. 469
- Espectrometría en IR cercano, p. 470
- Bases de datos espectrales, p. 472
- Cálculos con la ley de Beer (ecuaciones clave: 16.10, 16.13), p. 474
- Cálculos de mezclas (ecuaciones clave: 16.16 y 16.17); uso de hojas de cálculo, pp. 478, 480
- Uso de hojas de cálculo para determinar concentraciones desconocidas y sus desviaciones estándar, a partir de la curva de calibración, p. 481
- Espectrómetros (componentes) para regiones UV, visible e IR, p. 483
- Espectrómetros de transformada de Fourier para la región infrarroja (FTIR), p. 499
- Errores espectrométricos, p. 501
- Fluorimetría, p. 505
- Sensores ópticos y fibras ópticas, p. 511

ABSORCIÓN DE LA RADIACIÓN

1. Describir los fenómenos de absorción que se efectúan en las regiones de infrarrojo lejano, infrarrojo medio y ultravioleta visible del espectro.
2. ¿Qué tipos de electrones en una molécula intervienen en general en la absorción de la radiación UV o visible?
3. ¿Cuáles son las transiciones electrónicas más frecuentes durante la absorción de la radiación electromagnética? ¿Cuáles causan la absorción más intensa? Describir ejemplos de compuestos que presenten cada una de ellas.
4. ¿Cuál es un criterio para que haya absorción en la región del infrarrojo?
5. ¿Qué tipos de vibración molecular se asocian a la absorción en infrarrojo?
6. ¿Qué distingue la absorción en infrarrojo cercano de la absorción en infrarrojo medio? ¿Cuáles son sus ventajas principales?
7. Definir los términos siguientes: cromóforo, auxócromo, desplazamiento batocrómico, desplazamiento hipsocrómico, hipercromía e hipocromía.
8. ¿Cuáles de los siguientes pares de compuestos probablemente absorban radiación a la mayor longitud de onda y con mayor intensidad?



9. En los siguientes pares de compuestos, describir si debe haber aumento en la longitud de onda de absorción máxima y si debe haber aumento en la intensidad de absorción al pasar del primero al segundo compuesto.



10. ¿Por qué los indicadores ácido-base cambian de color al pasar de solución ácida a alcalina?
11. ¿Cuáles son los mecanismos por los que un complejo metálico puede absorber radiación?

RELACIONES CUANTITATIVAS

12. Definir absorción, absorbencia, porcentaje de transmitancia y transmitancia.
13. Definir absortividad y absortividad molar.

14. ¿Por qué es probable que una curva de calibración sea lineal dentro de límites más amplios de concentraciones a la longitud de onda de absorción máxima en comparación con una longitud de onda en un hombro de la curva de absorción?
15. Hacer una lista de algunos disolventes que se puedan usar en las regiones ultravioleta, visible e infrarroja, respectivamente. Indicar las restricciones para las longitudes de onda.
16. ¿Qué es un punto isosbético?
17. Describir y comparar las diferentes causas de las desviaciones respecto de la ley de Beer. Describir la diferencia entre desviaciones reales y aparentes.

INSTRUMENTACIÓN

18. Describir fuentes de radiación y detectores para las regiones ultravioleta, visible e infrarroja del espectro.
19. Describir la diferencia entre los dos tipos de monocromadores (dispersores de luz) que se usan en espectrofotómetros y hacer una lista de las ventajas y desventajas de cada uno.
20. Describir el efecto del ancho de rendija sobre la resolución de un espectrofotómetro y su apego a la ley de Beer. Comparar con el ancho espectral de rendija.
21. Comparar las operaciones en un espectrofotómetro de un haz y de doble haz.
22. Dada la débil absorción en la región de infrarrojo cercano, ¿por qué los instrumentos para infrarrojo cercano funcionan con sensibilidad razonable?
23. Describir el funcionamiento de un espectrómetro de serie de diodos.
24. Describir el funcionamiento de un interferómetro. ¿Cuáles son sus ventajas?
25. De acuerdo con la figura 16.28, ¿cuál sería el color de una solución ácida y de una solución alcalina a la absorción máxima? ¿Qué color de filtro sería el más adecuado para analizar cada una en un colorímetro de filtros? (Un filtro sustituye al arreglo de prisma y rendija.)

FLUORESCENCIA

26. Describir los principios de la fluorescencia. ¿Por qué en general la fluorescencia es más sensible que las mediciones de absorción?
27. ¿Bajo qué condiciones la intensidad de fluorescencia es proporcional a la concentración?
28. Describir la instrumentación necesaria para la fluorimetría. ¿Qué es un filtro primario? ¿Qué es un filtro secundario?
29. Sugerir un experimento para determinar ion yoduro por fluorescencia.

Problemas

LONGITUD DE ONDA/FRECUENCIA/ENERGÍA

30. Expresar $2\,500\text{ Å}$ en micrómetros y nanómetros.
31. Convertir $4\,000\text{ Å}$ en frecuencia (Hz) y en número de onda (cm^{-1}).
32. La región de longitudes de onda que más se usa en análisis en infrarrojo es de 2 a $15\text{ }\mu\text{m}$, aproximadamente. Expresar ese intervalo en angstroms y en números de onda.
33. Una mol de fotones (el número de Avogadro de fotones) se llama *un einstein* de radiación. Calcular la energía, en calorías, de un einstein de radiación de $3\,000\text{ Å}$.

LEY DE BEER

34. Algunos espectrofotómetros tienen escalas que indican absorbencia o porcentaje de transmitencia. ¿Cuál sería la lectura de absorbencia para 20% T ? ¿Y para 80% T ? ¿Cuál sería la lectura de transmitencia para 0.25 de absorbencia? ¿Y para 1.00 de absorbencia?
35. Una solución de 20 ppm de una molécula de ADN (peso molecular desconocido) aislada de *Escherichia coli* produjo una absorbencia de 0.80 en una celda de 2 cm. Calcular la absorptividad de la molécula.
36. Un compuesto con peso fórmula de 280 absorbió 65.0% de la radiación a cierta longitud de onda en una celda de 2 cm y a 15.0 $\mu\text{g/mL}$ de concentración. Calcular su absorptividad molar a esa longitud de onda.
37. Se hace reaccionar titanio con peróxido de hidrógeno en ácido sulfúrico 1 M para formar un complejo colorido. Si una solución $2.00 \times 10^{-5} M$ absorbe 31.5% de la radiación a 415 nm, ¿cuál sería: a) la absorbencia y b) la transmitencia y absorción porcentual de una solución $6.00 \times 10^{-5} M$?
38. Un compuesto con peso fórmula de 180 tiene $286 \text{ cm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ L}$ de absorptividad. ¿Cuál es su absorptividad molar?
39. La anilina, $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$, al reaccionar con ácido pícrico produce un derivado con absorptividad de $134 \text{ cm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ L}$ a 359 nm. ¿Cuál sería la absorbencia de una solución $1.00 \times 10^{-4} M$ de anilina reaccionada en una celda de 1.00 cm?

MEDICIONES CUANTITATIVAS

40. El medicamento tolbutamina (peso fórmula = 270) tiene absorptividad molar de 703 a 262 nm. Se disuelve una tableta en agua, y se diluye en 2 L. Si la solución tiene una absorbencia en la región UV a 262 nm igual a 0.687 en una celda de 1 cm, ¿cuántos gramos de tolbutamina hay en la tableta?
41. Las aminas (bases débiles) forman sales con ácido pícrico (2,4,6-trinitrofenol) y todos los picratos de amonio tienen un máximo de absorción a 359 nm, con absorptividad molar de 1.25×10^4 . Una muestra de 0.200 g de anilina, $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$, se disuelve en 500 mL de agua. Se hace reaccionar una alícuota de 25.0 mL con ácido pícrico en un matraz aforado de 250 mL, y se diluye al volumen. De este líquido, una alícuota de 10.0 mL se diluye a 100 mL y se determina la absorbencia a 359 nm, en una celda de 1 cm. Si la absorbencia es 0.425, ¿cuál es el porcentaje de pureza de la anilina?
42. Se puede determinar fósforo en orina tratándolo con molibdeno(VI) y reduciendo el complejo fosfomolibdico con ácido aminonaftolsulfónico para obtener el color azul característico del molibdeno. Éste absorbe a 690 nm. Un paciente excreta 1 270 mL de orina en 24 h, y el pH fue 6.5. Una alícuota de 1.00 mL de la orina fue tratada con reactivo de molibdato y ácido aminonaftolsulfónico y se diluyó a 50.0 mL. Una serie de patrones de fosfato recibieron el mismo tratamiento. Se midió la absorbencia de las soluciones a 690 nm comparadas con un blanco, y se obtuvo lo siguiente:

Solución	Absorbencia
1.00 ppm P	0.205
2.00 ppm P	0.410
3.00 ppm P	0.615
4.00 ppm P	0.820
Muestra de orina	0.625

- a) Calcular los gramos de fósforo excretados por día.
- b) Calcular la concentración de fosfato en la orina, en milimoles por litro.
- c) Calcular la relación de HPO_4^{2-} a H_2PO_4^- en la muestra:

$$K_1 = 1.1 \times 10^{-2} \quad K_2 = 7.5 \times 10^{-8} \quad K_3 = 4.8 \times 10^{-13}$$

43. El hierro(II) se determina espectrofotométricamente haciéndolo reaccionar con 1,10-fenantrolina para formar un complejo que absorbe fuertemente a 510 nm. Una solución estándar de hierro(II) para almacenaje se prepara disolviendo 0.0702 g de sulfato de amonio ferroso, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, en agua, en un matraz volumétrico de 1 L, agregándole 2.5 mL de H_2SO_4 y diluyendo al volumen. Se prepara una serie de patrones de trabajo transfiriendo alícuotas de 1.00, 2.00, 5.00 y 10.00 mL de la solución para almacenaje a matraces aforados de 100 mL separados, y adicionándoles solución de cloruro de hidroxilamonio para reducir todo hierro(III) a hierro(II), y después la solución de fenantrolina, diluyendo con agua hasta la marca. Se agrega una muestra a un matraz volumétrico de 100 mL y se trata en la misma forma. Se prepara un blanco agregando la misma cantidad de reactivos a un matraz aforado de 100 mL y diluyendo a la marca. Si se midieron las siguientes absorbencias en comparación con el blanco a 510 nm, ¿cuántos miligramos de hierro hay en la muestra?

Solución	A
Estándar 1	0.081
Estándar 2	0.171
Estándar 3	0.432
Estándar 4	0.857
Muestra	0.463

44. El nitrógeno de nitratos en agua se determina haciéndolo reaccionar con ácido fenoldisulfónico para producir un color amarillo con máximo de absorción a 410 nm. Se trata una muestra de 100 mL, previamente estabilizada por adición de 0.8 mL de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{L}$ con sulfato de plata para precipitar el ion cloruro, que interfiere con esta reacción. El precipitado se filtra y se lava (las aguas de lavado se agregan a la muestra). La solución de la muestra se ajusta a pH 7 con NaOH diluido y se evapora a sequedad. El residuo se trata con 2.0 mL de solución de ácido fenoldisulfónico y se calienta en baño de agua para ayudar a la disolución. Se agregan 20 mL de agua destilada y 6 mL de amoníaco para desarrollar el color máximo, y la solución transparente se pasa a un matraz volumétrico de 50 mL y se diluye a la marca con agua destilada. Se prepara un blanco con el mismo volumen de reactivos comenzando en el paso del ácido disulfónico. Se prepara una solución estándar de nitrato disolviendo 0.722 g de KNO_3 anhidro y diluyendo a 1 L. Se hace una calibración por adición de estándar agregando una porción separada de 100 mL de muestra con 1.00 mL de la solución estándar siguiendo todo el procedimiento. Se obtuvieron así las siguientes lecturas de absorbencia: blanco, 0.032; muestra, 0.270; muestra más estándar, 0.854. ¿Cuál es la concentración de nitrógeno de nitratos en la muestra en partes por millón?
45. Dos sustancias incoloras, A y B, reaccionan para formar un complejo colorido AB que absorbe a 550 nm con absortividad molar de 450. La constante de disociación para el complejo es 6.00×10^{-4} . ¿Cuál sería la absorbencia de una solución, preparada mezclando volúmenes iguales de soluciones de A y B 0.0100 M en una celda de 1.00 cm, a 550 nm?

MEZCLAS

46. Los compuestos A y B absorben en la región ultravioleta. El compuesto A tiene un máximo de absorción a 267 nm ($a = 157$) y un hombro posterior a 312 nm ($a = 12.6$). El compuesto B tiene un máximo de absorción a 312 nm ($a = 186$) y no absorbe a 267 nm. Una solución que contiene los dos compuestos tiene las absorbencias (en una celda de 1 cm) de 0.726 y 0.544 a 267 y 312 nm, respectivamente. ¿Cuáles son las concentraciones de A y B, en mg/L?
47. El titanio(IV) y el vanadio(V) forman complejos coloridos cuando se tratan con peróxido de hidrógeno en ácido sulfúrico 1 M. El máximo de absorción del complejo de titanio está en 415 nm, y el del complejo de vanadio a 455 nm. Una solución de complejo de titanio 1.00×10^{-3} M tiene 0.805 de absorbencia a 415 nm, y 0.465 a 455 nm, en tanto que una solución de complejo de vanadio 1.00×10^{-2} M tiene absorbencias de 0.400 y 0.600 a 415 y 455 nm, respectivamente. Se disolvió una muestra de 1.00 g de una aleación con titanio y vanadio, se trató con un exceso de peróxido de hidrógeno y se diluyó hasta un volumen final de 100 mL. La absorbencia de la solución fue 0.685 a 415 nm, y 0.513 a 455 nm. ¿Cuáles eran los porcentajes de titanio y vanadio en la aleación?

FLUORESCENCIA

48. Deducir la ecuación 16.24, que relaciona la intensidad de fluorescencia con la concentración.

Referencias recomendadas**GENERALES**

1. D. F. Swinehart, "The Beer-Lambert Law", *J. Chem. Ed.*, **39** (1962) 333.
2. J. C. Lindon, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, G. E. Tranter y J. L. Holmes, eds., San Diego: Academic, 1999 (3 volúmenes).
3. J. Workman y A. Springsteen, *Applied Spectroscopy. A compact reference for Practitioners*, San Diego: Academic, 1998. Cubre la espectrometría UV/Vis e IR cercano.
4. J. M. Chalmers, ed., *Spectroscopy in Process Analysis*, Boca Ratón, FL: CRC Press, 2000.
5. J. Workman, *Handbook of Organic Compounds. NIR, IR, Raman, and UV-Vis Spectra Featuring Polymers and Surfactants*, San Diego: Academic, 2000 (3 volúmenes).
6. R. M. Silverstein y F. X. Webster, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6a. ed., Nueva York: Wiley, 1997.
7. G. D. Christian y J. B. Callis, eds., *Trace Analysis: Spectroscopic Methods for Molecules*, Nueva York: Wiley, 1986.
8. G. H. Morrison y H. Freiser, *Solvent Extraction in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1975, pp. 189-247. Determinación colorimétrica de metales.

CATÁLOGOS DE ESPECTROS

9. *Catalogue of Infrared Spectral Data*, Washington, DC: American Petroleum Institute, Research Project 44. La serie de varios volúmenes se inició en 1943.
10. *Catalogue of Ultraviolet Spectral Data*, Washington, DC: American Petroleum Institute, Research Project 44. La serie de varios volúmenes se inició en 1945.
11. "Infrared Prism Spectra", en *The Sadtler Standard Spectra*, vols. 1-36: "Standard Infrared Grating Spectra", en *The Sadtler Standard Spectra*, vols. 1-16, Filadelfia: Sadtler Research Laboratories.
12. L. Lang, ed., *Absorption Spectra in the Ultraviolet and Visible Regions*, vols. 1-23, Nueva York: Academic, 1961-1979.
13. *U.V. Atlas of Organic Compounds*, vols. I-V, Londres: Butterworths, 1966-1971.
14. "Ultraviolet Spectra", en *The Sadtler Standard Spectra*, vols. 1-62, Filadelfia: Sadtler Research Laboratories. Un catálogo detallado de espectros ultravioleta de compuestos orgánicos.
15. D. L. Hansen, *The Spouse Collection of Spectra. I. Polymers, II. Solvents by Cylindrical Internal Reflectance, III. Surface Active Agents, IV. Common Solvents-Condensed Phase, Vapor Phase and Mass Spectra*, Amsterdam: Elsevier Science, 1987-1988. Para cada uno se ofrece un programa informático de búsqueda en tabla de máximos.

INFRARROJO

16. P. R. Griffiths, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1986.
17. B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Boca Ratón, FL: CRC Press, 1996.
18. B. C. Smith, *Infrared Spectral Interpretation. A Systematic Approach*, Boca Ratón, FL: CRC Press, 1999.
19. B. R. Singh, *Infrared Analysis of Peptides and Proteins*, Washington, DC: American Chemical Society, 1999.
20. D. A. Burns y E. W. Ciurzak, eds., *Handbook of Near-Infrared Analysis*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 2001.
21. R. Raghavachari, ed., *Near-Infrared Applications in Biotechnology*, Nueva York: Marcel Dekker, 2000.

FLUOROMETRÍA

22. A. Sharma y S. G. Schulman, *An Introduction to Fluorescence Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1999.
23. C. E. White y R. J. Aragner, *Fluorescence Analysis: A Practical Approach*, Nueva York: Marcel Dekker, 1970.
24. R. J. Hurtubies, *Phosphorimetry. Theory, Instrumentation and Applications*, Nueva York: VCH, 1990.

FIBRAS ÓPTICAS

25. K. T. Grattan y B. T. Meggitt, *Optical Fibre Sensor Technology. Chemical and Environmental Sensing*, vol. 4, Boca Ratón, FL: CRC Press/Chapman Hall, 1999.

26. O. S. Wolfbeis, ed., *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*, vols. 1 y 2, Boca Ratón, FL: CRC Press, 1991.
27. L. W. Burgess, M.-R. S. Fuh y G. D. Christian, "Use of Analytical Fluorescence with Fiber Optics", en P. Eastwood y L. J. Cline-Love, eds., *Progress in Analytical Luminescence*, ASTM SP 1009: American Society for Testing and Materials, 1988.
28. M. J. Webb, "Practical Consideration When Using Fiber Optics with Spectrometers", *Spectroscopy*, **4** (1989) 9.
29. W. R. Seitz, "Chemical Sensors Based on Fiber Optics", *Anal. Chem.*, **56** (1984) 16A.
30. W. R. Seitz, "Chemical Sensors Based on Immobilized Indicators and Fiber Optics", *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **19** (1988) 135.
31. J. Janata, "Do Optical Fibers Really Measure pH?", *Anal. Chem.*, **59** (1987) 1351.
32. J. Janata, "Ion Optrodes", *Anal. Chem.*, **64** (1992) 921A.
33. M. A. Arnold, "Fiber-Optic Chemical Sensors", *Anal. Chem.*, **64** (1992) 1015A.



Capítulo diecisiete

MÉTODOS DE ESPECTROMETRÍA ATÓMICA

En el capítulo 16 se explicó la determinación espectrométrica de sustancias en solución; es decir, la absorción de energía llevada a cabo por moléculas orgánicas o inorgánicas. En este capítulo se presenta la espectroscopia de átomos. Como los átomos son la forma más sencilla y pura de la materia y no pueden girar ni vibrar como lo hace una molécula, sólo pueden efectuarse transiciones electrónicas dentro de ellos cuando se absorbe energía. Debido a que las transiciones son discretas (están cuantizadas), lo que se obtiene es un espectro de líneas o rayas. Hay diversas formas de obtener átomos libres (vapor atómico) y medir la absorción o emisión de la radiación en ellos.

Entre las técnicas principales que se describen en este capítulo se encuentra la espectrometría de emisión de flama, en la que los átomos tienen la forma de vapor atómico y se producen en una flama; una parte de ellos es excitada térmicamente y mediante colisiones, con lo cual ascienden a un nivel mayor de energía electrónica; posteriormente, los átomos regresan a su estado fundamental de energía emitiendo fotones y creando espectros de emisión de rayas o líneas nítidas. Por otra parte, la espectrometría de absorción atómica mide la cantidad de radiación absorbida por átomos en estado fundamental, formados en una flama o en un horno pequeño; el espectro de absorción correspondiente también está formado por rayas nítidas. En este capítulo se describirán los diferentes tipos de flamas que se usan en la emisión y absorción, se citarán las interferencias en las flamas y el uso de atomizadores sin flama (electrotérmicos, hornos miniatura) para efectuar mediciones extremadamente sensibles de absorción atómica.

La espectrometría atómica se usa extensamente en muchos laboratorios, en especial cuando se requieren determinaciones de trazas de elementos. La contaminación por metales pesados puede analizarse a partir de muestras tomadas del medio ambiente, y es posible determinar impurezas metálicas de muestras farmacéuticas. En la industria del acero es necesario determinar componentes secundarios y primarios. La técnica especial que se use dependerá de la sensibilidad requerida, de la cantidad de muestras por analizar y de si es necesario medir uno o varios elementos. La descripción que sigue presenta las posibilidades de estas técnicas.

17.1 Espectrometría por emisión de flama¹

En este método, que antes se denominaba fotometría de flama, la fuente de energía de excitación es una flama. Se trata de una fuente de baja energía, por lo que el espectro de

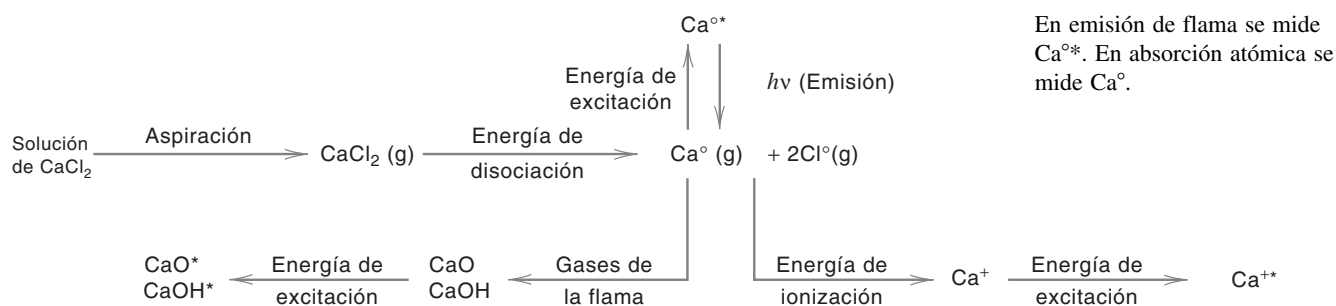


Figura 17.1. Procesos que se efectúan en una flama.

emisión es simple y con pocas líneas de emisión. La muestra se introduce en una flama en forma de solución, por lo que es muy fácil realizar cuantificaciones mediante esta técnica.

Hay muchos tipos de quemadores de aspiración que pueden utilizarse; la base es introducir la solución a la flama en forma de aspersión fina. El mecanismo para obtener el vapor atómico es complejo, pero en la figura 17.1 se explican los procesos básicos. El disolvente se evapora y deja la sal deshidratada, la cual se disocia en átomos gaseosos libres en estado fundamental. Una fracción de ellos puede absorber energía de la flama y acceder a un estado electrónico excitado. Los niveles excitados tienen corta duración y regresan al estado fundamental emitiendo fotones² de longitudes de onda característica cuya energía es igual a $h\nu$ y que se pueden detectar con un dispositivo convencional de monocromador-detector.

La intensidad de la emisión es directamente proporcional a la concentración del analito en la solución aspirada. Por consiguiente, es posible preparar una curva de calibración de intensidad de emisión en función de la concentración.

Como se ve en la figura, las reacciones secundarias en la flama pueden hacer disminuir la población de átomos libres y, por tanto, la señal de emisión. Esto se describirá en la sección 17.3.

En los primeros años de la fotometría de flama sólo se usaban flamas relativamente frías. Más adelante veremos que las flamas sólo excitan una pequeña fracción de átomos de la mayor parte de los elementos, y que esa fracción excitada aumenta al elevarse la temperatura. En consecuencia, son relativamente pocos los elementos que se determinan de manera sistemática mediante espectrometría de emisión de flama; sobre todo son pocos los que emiten espectros de líneas (algunos pueden existir en las flamas como especies moleculares, en particular como óxidos, por lo que emiten espectros moleculares de bandas). Sólo los metales alcalinos sodio, potasio y litio, que son relativamente fáciles de excitar, se determinan en forma rutinaria por espectrometría de emisión de flama en el laboratorio clínico. Sin embargo, con flamas como las de oxiacetileno y óxido nitroso-acetileno, hoy se pueden determinar más de 60 elementos mediante esta técnica a pesar de que se cuenta sólo con una pequeña fracción de átomos excitados disponibles para la emisión. Se tiene buena sensibilidad porque, como en la fluorescencia (capítulo 16), en principio se mide la diferencia entre cero y una señal pequeña, pero finita; de esta manera, la sensibilidad está limitada realmente por la respuesta y la estabilidad del detector y por la estabilidad (nivel de ruido) del sistema de aspiración de la flama.

En estado gaseoso los átomos tienen espectros de líneas nítidas porque sólo sufren transiciones atómicas (electrónicas).

² Lo contrario ocurre con las moléculas excitadas en solución, donde hay probabilidades mucho mayores de que sufran choques con moléculas de disolvente u otras. En la flama hay menor probabilidad de colisiones porque hay un número mucho menor de moléculas y, por consiguiente, muchos de los átomos pierden su energía de excitación en forma de radiación electromagnética y no como calor.

17.2 Distribución entre los estados fundamental y excitado: la mayor parte de los átomos se encuentra en estado fundamental

Las poblaciones relativas del estado fundamental (N_0) y el estado excitado (N_e) a determinada temperatura de flama se determinan con la **expresión de Maxwell-Boltzmann**:

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{g_e}{g_0} e^{-(E_e - E_0)/kT} \quad (17.1)$$

Casi todos los átomos gaseosos están en estado fundamental. Sin embargo, la emisión atómica es sensible por la misma razón que la espectrometría por fluorescencia. No es necesario medir un pequeño decremento en una señal (lo que conlleva algo de ruido) como en la absorción.

donde g_e y g_0 representan la *ponderación estadística* de los estados excitado y fundamental, respectivamente; E_e y E_0 son las energías de los dos estados ($= h\nu$; E_0 suele ser cero); k es la constante de Boltzmann ($1.3805 \times 10^{-16} \text{ J K}^{-1}$) y T es la temperatura absoluta. La ponderación estadística representa la probabilidad de que un electrón esté en determinado nivel de energía, y se determina con cálculos mecánico cuánticos.³ Véase un ejemplo de cálculo en el problema 21.

La tabla 17.1 muestra las relaciones de población relativa para algunos elementos a 2 000, 3 000 y 10 000 K. Se ve que incluso para un elemento de excitación relativamente fácil, como el sodio, la población en estado excitado es pequeña, excepto a 10 000 K, característica de un plasma. Los elementos de longitud de onda corta (mayor energía, $h\nu$) requieren mucho mayor energía para excitarse y dan mala sensibilidad en la espectrometría de emisión de flama, donde rara vez las temperaturas rebasan los 3 000 K. Los de emisiones con mayor longitud de onda tienen mejor sensibilidad. Las mediciones con átomos en estado fundamental, como en la absorción atómica —más adelante—, dependerán menos de la longitud de onda de su emisión. También se ve en la tabla 17.1 que la fracción de átomos excitados depende de la temperatura, puesto que la fracción en estado fundamental es casi constante (casi 100% residen allí a todas las temperaturas).

En los métodos por emisión de flama se mide la población en estado excitado, y en los métodos de absorción atómica (más adelante) se mide la población en el estado fundamental. Debido a las reacciones químicas que tienen lugar en la flama, en la práctica las diferencias en las sensibilidades de emisión de flama y absorción atómica a más de 300 nm no son tan grandes como se pensaría de acuerdo con la distribución de Boltzmann. Muchos elementos reaccionan parcialmente con gases de la flama y forman óxidos o hidróxidos, y esta reacción los remueve por igual de la población atómica en ambos métodos; de igual manera, en ambos casos se tiene la misma dependencia respecto de la temperatura.

³ La ponderación estadística es $2J + 1$, siendo J el acoplamiento de Russell-Saunders igual a $L + S$ o $L - S$; L es el número cuántico del momento angular total, representado por las series nítida (S), principal (P), difusa (D) y fundamental (F) ($L = 0, 1, 2$ y 3 , respectivamente), y S es el espín ($\pm \frac{1}{2}$). La información se suministra en forma de símbolos de términos, $N^M L_J$, donde N es el número cuántico principal y M es la multiplicidad. Por ejemplo, la transición para la línea del sodio de 589.0 nm, omitiendo el número cuántico principal N , es $^2S_{1/2} - ^2P_{1/2}$, y $g_e/g_0 = [2(\frac{1}{2}) + 1]/[2(\frac{1}{2}) + 1] = 2/2 = 1$.

Tabla 17.1
Valores de N_e/N_0 para distintas líneas de resonancia

Línea (nm)	N_e/N_0		
	2 000 K	3 000 K	10 000 K
Na 589.0	9.9×10^{-6}	5.9×10^{-4}	2.6×10^{-1}
Ca 422.7	1.2×10^{-7}	3.7×10^{-5}	1.0×10^{-1}
Zn 213.8	7.3×10^{-15}	5.4×10^{-10}	3.6×10^{-3}

17.3 Espectrofotometría de absorción atómica

Una técnica estrechamente relacionada con la espectrometría de emisión de flama es la espectrofotometría de absorción atómica (AAS, *atomic absorption spectrophotometry*), porque ambas usan una flama como atomizador. Aquí se describirán los factores que afectan la absorción, y debido a la estrecha relación entre absorción atómica y fotometría de flama, se harán comparaciones entre las dos técnicas cuando corresponda.

PRINCIPIOS

La solución de la muestra se aspira y se introduce en una flama, como en la espectrometría de emisión de flama; el elemento en la muestra se convierte en vapor atómico. De esta manera, la flama contiene átomos del elemento; algunos son excitados térmicamente por la temperatura de la flama, pero casi todos permanecen en estado fundamental, como se ve en la tabla 17.1. Estos átomos en estado fundamental pueden absorber radiación de determinada longitud de onda producida en una fuente especial que contenga a ese mismo elemento (ver “Fuentes”). Las longitudes de onda de la radiación emitida por la fuente son las mismas que absorben los átomos en la flama.

El principio de la espectrofotometría de absorción atómica es idéntico al de la espectrofotometría de absorción descrita en el capítulo anterior. La absorción obedece la ley de Beer. Esto es, la *absorbencia* es directamente proporcional a la longitud de trayectoria en la flama* y a la concentración de vapor atómico en ella. Ambas variables son difíciles de determinar, pero se puede mantener constante la longitud de trayectoria y entonces la concentración del vapor atómico será directamente proporcional a la concentración del analito en la solución que se aspira. El procedimiento se puede utilizar para preparar una curva de calibración —de concentración en la solución— en función de la absorbencia.

La desventaja principal de hacer mediciones por absorción atómica, como se verá adelante, es que para cada elemento se requiere una fuente diferente.

INSTRUMENTACIÓN

Como en la espectrofotometría normal de absorción, las necesidades para la espectrofotometría de absorción atómica son una fuente luminosa, una celda (la flama), un monocromador y un detector. La flama se sitúa entre la fuente y el monocromador. En la figura 17.2 se ve un diagrama esquemático de un espectrofotómetro de absorción atómica. Se trata de un instrumento de haz doble que mide la relación de P_0/P . El haz de la fuente se envía de manera alternada a través de la flama y en otra trayectoria que no pasa por ella mediante un espejo de sector que lo divide. El detector mide esta alternancia y despliega el logaritmo de la relación. El amplificador del detector se ajusta para sólo recibir radiación

En la absorción atómica se sigue la ley de Beer.

*N. del R. T. Ahora la longitud de trayectoria no corresponde a la longitud de una celda, sino a la longitud del quemador a través del cual pasa la radiación.

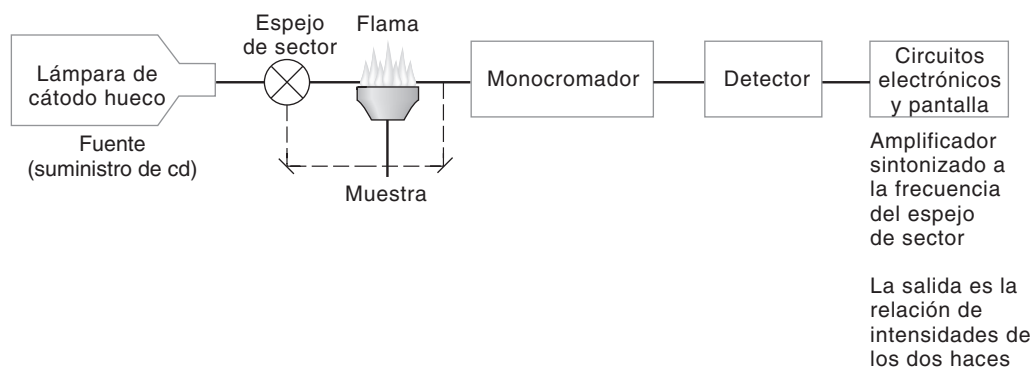


Figura 17.2. Diagrama de un instrumento de absorción atómica. (Según G. D. Christian y F. J. Feldman, *Atomic Absorption Spectroscopy. Applications in Agriculture, Biology and Medicine*, Nueva York: Interscience, 1970. Reproducción autorizada por John Wiley & Sons, Inc.)

modulada a la frecuencia del espejo de sector y entonces se discrimina contra la emisión emitida por la flama.

Se requieren instrumentos de doble haz para la corrección de fondo si se usan lámparas continuas de deuterio (véase adelante). No obstante, el divisor de haz para obtener el haz doble reduce la energía radiante y causa mayores niveles de ruido (disminuye las relaciones de señal a ruido). Se encuentran disponibles instrumentos de un solo haz de fuente de alta energía que usan correcciones de fondo basados en una línea (miden la absorción del fondo con una línea cercana a la línea del analito); estos equipos proporcionan buenas relaciones de señal a ruido y son más pequeños e incluso más portátiles.

A continuación se describen los diversos componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.

1. Fuentes. Se requiere una fuente de líneas nítidas en absorción atómica porque el ancho de la *línea de absorción* es muy estrecho —de unas milésimas a una centésima de nanómetro, cuando mucho—. Por ser una línea de absorción tan angosta, sólo se absorbe una pequeña fracción de la radiación producida en una fuente continua que pasa por la rendija y llega al detector.

En AAS se usa una fuente de línea estrecha. La fuente emite las líneas del elemento que se va a medir, las cuales poseen las energías precisas necesarias para su absorción por los átomos de analito.

La fuente que se usa casi exclusivamente es una **lámpara de cátodo hueco** (HCL, *hollow-cathode lamp*). Se trata de una fuente de líneas definidas que emite longitudes de onda específicas (en esencia, monocromáticas) cuya construcción básica se ilustra en la figura 17.3. Consiste en un cátodo cilíndrico hueco hecho del elemento que se va a determinar o alguna aleación del mismo y un ánodo de tungsteno. Ambos están encerrados en un tubo de vidrio que suele tener una ventana de cuarzo, porque con frecuencia las líneas de interés están en la región ultravioleta. El tubo se encuentra a presión reducida relleno con un gas inerte como argón o neón. Entre los electrodos se aplica un alto voltaje que causa la ionización de los átomos del gas en el ánodo. Estos iones positivos son acelerados hacia el cátodo negativo, y cuando lo bombardean hacen que algo del metal se desprenda y se evapore. El metal vaporizado se excita a niveles electrónicos más altos debido a las continuas colisiones con los iones gaseosos de alta energía; cuando los electrones regresan al estado fundamental emiten las líneas características de ese elemento metálico. También se emiten las líneas del gas de relleno, pero en general no están lo suficientemente cerca de las del elemento como para interferir.

Estas líneas emitidas por la lámpara de cátodo hueco atraviesan la flama y pueden ser absorbidas por el elemento que se analiza debido a que poseen exactamente la energía necesaria (la longitud de onda adecuada) para producir transiciones electrónicas discretas. Con frecuencia la línea que se absorbe más intensamente es la que corresponde a la transición electrónica más probable, en general del estado fundamental al estado excitado más bajo. Ésta se denomina **línea de resonancia**. Las líneas de una lámpara de cátodo hueco son más estrechas que las de absorción del elemento en la flama; este ensanchamiento de la línea de absorción es consecuencia de la mayor temperatura y presión de la flama. De esta manera, se absorbe todo el ancho de la línea de la fuente. La mayor especificidad también se debe a que, mientras en una fuente *continua* un elemento que tuviera una línea de absorción en cualquier lugar del ancho de la rendija absorbería sólo parte de toda la radiación de esa fuente, las emisiones de una fuente *de líneas* no se absorberán a menos

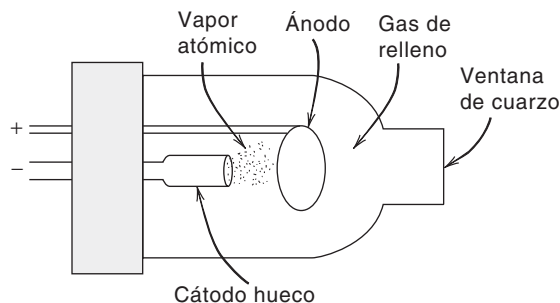


Figura 17.3. Diseño de una lámpara de cátodo hueco.

que las líneas de absorción del elemento *coincidan* con ellas. Hay muy pocos casos en los que sí hay traslape de líneas de diferentes elementos.

A veces es posible usar una aleación de varios elementos para fabricar el cátodo hueco y con esas lámparas se emiten las líneas de todos los elementos; se trata de las denominadas lámparas multielementos de cátodo hueco, y pueden usarse normalmente como fuentes para dos o tres elementos. Tienen menor vida útil que las lámparas de un solo elemento debido a la volatilización selectiva (“destilación”) de uno de los elementos del cátodo, el cual se condensa en las paredes de la lámpara.

2. Quemadores. El quemador que se usa en la mayor parte de los instrumentos comerciales es el **quemador con cámara de premezcla**, que a veces se llama **quemador de flujo laminar** y que se representa en la figura 17.4. El combustible y los gases de soporte se mezclan en una cámara antes de entrar a la cabeza del quemador (a través de una rendija), donde se queman. La solución de la muestra se aspira a través de un capilar gracias a un **efecto Venturi** creado con el gas de soporte para la aspiración, que suele ser aire. El aire crea un vacío parcial al final del capilar y succiona la muestra por éste. La muestra se divide y forma una aspersión fina en la punta o proceso normal de **nebulización**.⁴ Las gotas más grandes del aerosol que se produce se condensan y drenan de la cámara. Las restantes se mezclan con los gases de combustión y entran a la flama. Hasta 90% de las gotitas se condensan y salen, y sólo 10% entra a la flama.

En general, los quemadores de premezcla se limitan a flamas con rapidez de quemado relativamente baja. Aunque una gran parte de la muestra aspirada se pierde en la cámara, la “eficiencia de atomización”, que es la eficiencia de producción de vapor atómico de la parte de la muestra que llega a la flama, es alta porque las gotitas son más finas. También la longitud de la trayectoria es grande. La combustión con quemadores de premezcla es muy relajada. Una versión popular de los quemadores de premezcla es el quemador **Boling**. Se trata de un quemador de cabeza con tres ranuras que produce una flama más amplia y

⁴En espectrofotometría de absorción atómica se habla de “atomización” para referirse al proceso de obtener un vapor atómico. No se debe confundir con el proceso de nebulización.

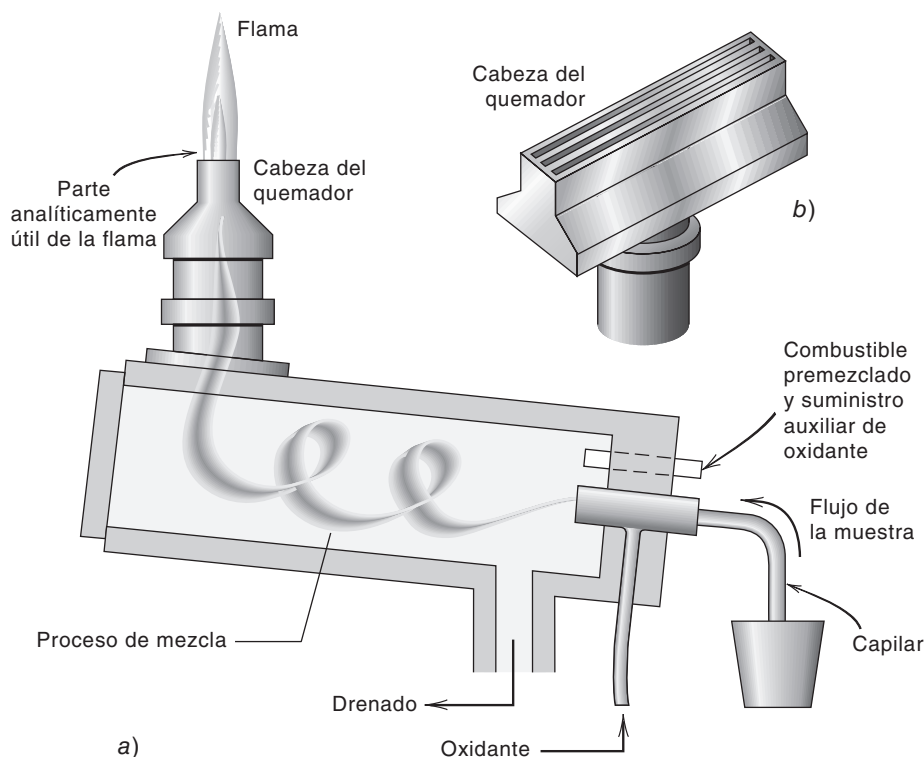


Figura 17.4. Quemador de premezcla. a) Nebulizador, cámara y quemador. b) Cabeza del quemador. (Según G. D. Christian y F. J. Feldman, *Atomic Absorption Spectroscopy. Applications in Agriculture, Biology, and Medicine*, Nueva York: Interscience, 1970. Reproducción autorizada por John Wiley & Sons, Inc.)

La flama de aire-acetileno es la que más se usa en la AAS. La mejor para los elementos refractarios es la flama de óxido nítrico-acetileno.

causa menor distorsión de la radiación cuando atraviesa las orillas de ésta (véase la figura 17.4). Sin embargo, este quemador se deforma con mayor facilidad que otros y se debe tener cuidado para no sobrecalentarlo.

3. Flamas. Las principales flamas que se usan en espectrometría de absorción y emisión atómica se muestran en la tabla 17.2 con sus temperaturas máximas de combustión. Las flamas que más se usan para absorción atómica son la flama de aire-acetileno y la de óxido nítrico-acetileno. Esta última, de alta temperatura, no se requiere e incluso puede ser perjudicial para muchos casos en absorción atómica debido a que causa la ionización de los átomos gaseosos (véase más adelante). Sin embargo, es útil para elementos que tienden a formar óxidos termoestables en la flama de aire-acetileno (los “elementos refractarios”). La flama de aire-acetileno y de otros hidrocarburos absorbe una gran fracción de la radiación a longitudes de onda menores a 200 nm, y para esa región del espectro se prefiere una flama de argón-hidrógeno con admisión de aire para tener la máxima capacidad de detección. Se trata de una flama incolora, y el gas oxidante real es el aire. Se usa para elementos como el arsénico (193.5 nm) y el selenio (197.0 nm) cuando se separan de sus soluciones por volatilización en forma de hidruros (AsH₃, H₂Se, etc.) y van a la flama como tales. Lo anterior es necesario porque esta flama fría es más propensa a tener más interferencias químicas que otras flamas (véanse los párrafos siguientes). Una flama de óxido nítrico-acetileno ofrece una ventaja en esta región del espectro cuando existe el peligro de interferencia molecular; la absorción de la flama es relativamente pequeña a longitudes de onda corta.

En espectrometría de emisión de flama se requiere una flama caliente para analizar una gran cantidad de elementos, y por ello se recurre a la de óxido nítrico-acetileno. La flama de oxiacetileno tiene gran rapidez de quemado y no se puede usar con un quemador de premezcla convencional. Sin embargo, la de óxido nítrico-acetileno sí se puede usar con quemadores de premezcla. Debido a sus altas temperaturas debe usarse una cabeza de quemador de acero inoxidable especial y gruesa. En el caso de la espectrometría de emisión de flama de los elementos sodio y potasio, fácilmente excitables, se prefiere una flama “fría” de aire-propano o similar debido a la menor ionización de estos elementos.

INTERFERENCIAS

Las interferencias se agrupan en tres clases: espectrales, químicas y físicas. Se describirán en forma breve y se señalarán sus efectos relativos en mediciones de emisión y absorción.

1. Interferencias espectrales. En los análisis de emisión, cuando otra línea de emisión o banda de emisión molecular está cerca de la línea emitida por el elemento analizado y

Tabla 17.2
Temperaturas y velocidades de quemado de flamas de uso frecuente

Mezcla de combustible	Velocidad máxima de la flama (cm/s)	Temperatura máxima (°C)
Hidrógeno-oxígeno	—	2 677
Hidrógeno-aire	—	2 045
Propano-aire	—	1 725
Propano-oxígeno	—	2 900
Acetileno-aire	160	2 250
Acetileno-oxígeno	1 130	3 060
Acetileno-óxido nítrico	180	2 955
Hidrógeno-argón con admisión de aire	—	1 577

Según G. D. Christian y F. J. Feldman, *Atomic Absorption Spectroscopy. Application in Agriculture, Biology and Medicine*, Nueva York: Wiley-Interscience, 1970. Reproducción autorizada por John Wiley & Sons, Inc.

el monocromador no es capaz de resolverlas, se produce interferencia espectral. El riesgo más probable se debe a la emisión molecular, como la de óxidos de otros elementos en la muestra. Se podría presentar una interferencia parecida en absorción atómica si se usase un instrumento de corriente directa, pero se elimina con uno de corriente alterna. Por otra parte, si un elemento o molécula es capaz de absorber la radiación de la fuente, se presentaría una interferencia positiva en absorción atómica. Con fuentes de líneas este peligro se minimiza, pero no se elimina.

La dispersión o absorción de la luz por partículas sólidas, gotitas de disolvente no vaporizadas o especies moleculares en la flama causan una interferencia positiva en espectrofotometría de absorción atómica. Este problema se presenta en especial a longitudes de onda menores de 300 nm cuando se aspiran soluciones salinas de alta concentración, porque puede ser que la sal no se haya desolvatado por completo o que sus moléculas no se hayan disociado en átomos. Esta **absorción de fondo** se puede compensar midiendo la absorbencia de una línea cercana a la línea de absorción del elemento que se analiza y que no sea absorbida por el elemento mismo. Como la absorción de interferencia se presenta en una banda de longitudes de onda, la absorbencia será esencialmente igual a varios angstroms de distancia de la línea de resonancia.

La medición debe hacerse al menos a dos anchos de banda espectral (capítulo 16) alejada de la línea de absorción. La línea usada para la corrección puede ser una línea del gas de relleno de la lámpara de cátodo hueco o una línea “de no resonancia” del elemento que no se absorbe, o se puede usar una línea cercana producida por una segunda lámpara de cátodo hueco. Siempre se debe aspirar una solución del elemento que se analiza para verificar que no absorba la línea de corrección de fondo. En esta técnica se requieren dos mediciones separadas de la muestra.

También se puede efectuar una **corrección de fondo** para absorción de banda ancha en la región UV (donde la mayor parte de los elementos absorben y la absorción de fondo es más notable) con una fuente continua de hidrógeno o deuterio. En la región visible se puede usar una fuente continua de tungsteno. El monocromador se ajusta a la misma longitud de onda que la de la línea de resonancia. Se supone que la absorción de una línea nítida de la fuente continua por parte del elemento que se analiza es despreciable en comparación con la del fondo ancho sobre el ancho de banda del monocromador, y entonces la absorbencia de la fuente continua sólo se debe restar de la absorbencia de la línea de resonancia de la lámpara de cátodo hueco. Ésta es la base de los correctores automáticos de fondo comerciales. Un espejo hace pasar en forma alterna la radiación del cátodo hueco y la radiación continua; se mide la absorción de cada una y se resta automáticamente la absorbencia de la fuente continua de la de absorbencia del cátodo hueco para obtener la absorbencia neta de línea nítida producida por el elemento de prueba. De este modo sólo se requiere una sola medición.

2. Interferencia por ionización. En flamas muy calientes se pueden ionizar fracciones apreciables de elementos alcalinos y alcalinotérreos y otros más. Como se están midiendo átomos no ionizados, éstos pueden disminuir las señales de emisión o de absorción. En sí, esto no es necesariamente grave, excepto que puede disminuir la sensibilidad y la linealidad. No obstante, la presencia de otros elementos fácilmente ionizables en la muestra añadirá electrones libres a la flama y limitará la ionización del elemento que se analiza, lo que causará mayor emisión o absorción e interferencia positiva. La interferencia por ionización se puede eliminar normalmente agregando la misma cantidad del elemento que interfiere a las soluciones estándar, o de manera más simple, agregando grandes cantidades a las muestras y a los estándares para que la intensificación sea constante y la ionización mínima. En general, se puede detectar la ionización cuando la curva de calibración tiene una desviación positiva o una curvatura ascendente a concentraciones elevadas debido a que una considerable fracción de los átomos se ionizan a bajas concentraciones.

La dispersión de la luz debida a partículas es un problema frecuente en la espectrometría de absorción atómica, aunque como es de naturaleza de bandas anchas se puede corregir con medición de absorción de fondo.

Se puede suprimir la ionización agregando una solución de un elemento que se ionice con mayor facilidad, como potasio o cesio.

Se evita la formación de compuestos refractarios mediante competencia química o usando una flama de alta temperatura.

3. Formación de compuestos refractarios. La solución de la muestra puede contener una sustancia (por lo general un anión) que podría formar en la flama un compuesto refractario (o termoestable) con el elemento que se analiza. Por ejemplo, el fosfato puede reaccionar con los iones calcio en la flama para producir pirofosfato de calcio, $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$; esto causa una reducción en la absorbencia, porque el calcio debe estar en forma atómica para absorber su línea de resonancia. En general, este tipo de interferencia se puede reducir o eliminar químicamente. En el ejemplo anterior, se puede agregar a la solución una alta concentración (casi 1%) de cloruro de estroncio o nitrato de lantano. El estroncio o el lantano, llamados agentes liberadores, se combinarán de preferencia con el fosfato y evitarán que reaccione con el calcio. También se puede añadir a la solución una alta concentración de EDTA para formar un quelato con el calcio que evite su reacción con el fosfato; el quelato de calcio-EDTA se disocia en la flama produciendo vapor de calcio libre. Esos tipos de interferencia pueden presentarse en la espectrometría de absorción atómica y la espectrometría de emisión de flama. También se pueden eliminar usando una flama de mayor temperatura, como la de óxido nitroso-acetileno.

Cuando el metal analito reacciona con los gases presentes en la flama ocurre una situación importante. Los elementos refractarios, como aluminio, titanio, molibdeno y vanadio pueden reaccionar con O y OH en la flama y generar óxidos e hidróxidos metálicos termoestables. Algunos de estos elementos no producen absorción o emisión apreciable en la flama convencional de aire-acetileno. Una flama más adecuada para esos elementos es la de óxido nitroso-acetileno, que suele usarse en la condición reductora (rica en combustible), donde se produce una gran zona de reacción secundaria en forma de pluma roja. Esta zona roja se produce por la presencia de CN, NH y otros radicales muy reductores. Estos radicales (o la ausencia de especies oxigenadas), combinados con la alta temperatura de la flama, descomponen o evitan la formación de óxidos refractarios, lo que permite la producción del vapor atómico del metal.

4. Interferencias físicas. La mayor parte de los parámetros que afectan la rapidez de flujo de la muestra al quemador y la eficiencia de atomización se pueden considerar interferencias físicas. Esto incluye aspectos como variaciones en la rapidez del flujo de gases, en la viscosidad de la muestra debido a la temperatura o en el disolvente, un alto contenido en sólidos y cambios en la temperatura de la flama. En general, estas interferencias se pueden compensar calibrando con frecuencia y usando estándares internos. Algunos instrumentos tienen la capacidad de usar patrones internos que puedan compensar parcialmente cambios en los parámetros físicos. Véase más adelante.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: A VECES ES MÍNIMA

La preparación de una muestra con frecuencia se puede reducir al mínimo mediante los métodos de flama. Cuanto más estén ausentes las interferencias químicas o espectrales, en esencia todo lo que se requiere es obtener la muestra en forma de solución diluida y filtrada (con eliminación de partículas suspendidas). No es común que haya diferencia respecto a la forma química en que se encuentre el analito debido a que se disocia en el vapor elemental libre en la flama. De este modo, se pueden determinar varios elementos en sangre, orina, líquido cefalorraquídeo y otros fluidos biológicos por aspiración directa de la muestra. En general, es necesario diluir con agua para evitar que se obstruya el quemador.

Considérese que en la preparación de los patrones siempre deben coincidir las matrices del analito; así, si se va a determinar la existencia de plomo en gasolina, se debe usar una matriz simulada del disolvente para obtener las soluciones estándar, no agua.

A menudo se pueden evitar las interferencias químicas sólo con añadir (o diluir) una solución de un reactivo adecuado. Por ejemplo, se diluye el suero 1:20 con una solución que contenga EDTA para determinar calcio y evitar la interferencia por parte del fosfato.

Se agregan sodio y potasio en concentraciones iguales a las que se encuentran en el suero a los estándares de calcio para evitar interferencias por ionización.

En la referencia 9 se presenta un panorama de las aplicaciones de la espectrofotometría de absorción atómica a muestras biológicas. Esta técnica se usa mucho en análisis de metales en fluidos y tejidos biológicos; en muestras de medio ambiente, como aire y agua, y en áreas de la salud y la seguridad ocupacional. En general, la aplicación sistemática de la espectrometría de emisión de flama se limita a los metales alcalinos y alcalinotérreos. Las mediciones con electrodos selectivos de iones (capítulo 13) han reemplazado en gran medida a las de emisión de flama en el laboratorio de química clínica.

CAPACIDADES RELATIVAS DE DETECCIÓN EN ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA Y DE EMISIÓN DE FLAMA

La tabla 17.3 es una lista representativa de algunos límites de detección para diversos elementos por espectrometría de absorción atómica y espectrometría de emisión de flama. Se debe diferenciar entre límite de sensibilidad y de detección. El primero de los términos se usa con frecuencia en las publicaciones escritas sobre absorción atómica. **Sensibilidad** se define como la concentración necesaria para producir 1% de absorción (0.0044 A); ésta es una medida de la pendiente de la curva de calibración analítica y no dice nada acerca de la relación de señal a ruido (*S/N*, *signal-to-noise*). El **límite de detección** se suele definir como la concentración requerida para producir una señal igual a tres veces la desviación estándar de la línea base (blanco). Véase el capítulo 3.

En general, la absorción atómica tiene mayor capacidad de detección para los elementos que emiten por debajo de los 300 nm debido a la gran energía térmica necesaria para excitar a los átomos por emisión a esas longitudes de onda, pero a longitudes de onda entre 300 y 400 nm cualquiera de los métodos puede tener capacidades comparables de detección, si bien la emisión de flama en general es superior en la región del visible.

Tabla 17.3

Límites de detección representativos para espectrometría de absorción atómica (AAS) y de emisión de flama (FES)

Elemento	Longitud de onda (nm)	Límite de detección (ppm)	
		AAS ^a	FES ^b
Ag	328.1	0.001(A)	0.01
Al	309.3	0.1(N)	
	396.2		0.08
Au	242.8	0.03(N)	
	267.7		3
Ca	422.7	0.003(A)	0.0003
Cu	324.8	0.006(A)	0.01
Eu	459.4	0.06(N)	0.0008
Hg	253.6	0.8(A)	15
K	766.5	0.004(A)	0.00008
Mg	285.2	0.004(A)	0.1
Na	589.0	0.001(A)	0.0008
Tl	276.8	0.03(A)	
	535.0		0.03
Zn	213.9	0.001(A)	15

^a Combustible: acetileno. La letra entre paréntesis indica el oxidante: A = aire, N = óxido nítrico.

^b Flama de óxido nítrico-acetileno.

La atomización electrotrémica es casi 100% eficiente, en comparación con el 0.1% para la atomización en flama. Sólo se requieren unos pocos microlitros de muestra.

ATOMIZADORES ELECTROTÉRMICOS, ULTRASENSIBLES

Aunque la aspiración a una flama es el método más cómodo y reproducible para obtener vapor atómico, es uno de los menos eficientes en cuanto a convertir todos los elementos en la muestra a vapor atómico y presentarlo en la trayectoria óptica. La eficiencia total de la conversión atómica y la medición de los iones presentes en soluciones aspiradas se estima en 0.1%. Además, los métodos de aspiración requieren, en general, varios mililitros de la solución para su análisis.

Los atomizadores electrotrémicos en general son un tipo de horno en miniatura en el que se seca una gota de la muestra y después se descompone a alta temperatura para producir una nube de vapor atómico.

Los atomizadores electrotrémicos tienen eficiencias de conversión cercanas al 100%, de modo que los límites absolutos de detección son, con frecuencia, de 100 a 1 000 veces mejores que los de los métodos de aspiración hacia la flama. El siguiente comentario se centrará en atomizadores con calentamiento resistivo (horno de grafito). Aunque en general no son útiles para mediciones de emisión, se adaptan bien para mediciones de absorción atómica. En la figura 17.5 se muestra un esquema de un atomizador electrotrémico típico.

En la mayor parte de las técnicas electrotrémicas se colocan unos cuantos microlitros de muestra en un tubo horizontal de grafito, en una varilla de carbono o una cinta de tantalio. El tubo o la varilla se calientan por resistividad haciendo pasar una corriente eléctrica por ellos. Primero se seca la muestra a baja temperatura (~ 100 a 200°C) durante algunos segundos y después sigue la pirólisis, entre 500 y $1\,400^{\circ}\text{C}$ para destruir la materia orgánica, lo que produce humo y dispersa la fuente luminosa durante la medición. El humo de la pirólisis es arrastrado por un flujo de argón gaseoso. Por último, la muestra se atomiza térmicamente a una temperatura elevada, de hasta $3\,000^{\circ}\text{C}$.

La trayectoria de la luz pasa sobre el atomizador (o atraviesa el tubo). Se registra un máximo agudo de absorbencia en función del tiempo cuando la nube atómica pasa por el haz de luz (figura 17.5). Se correlacionan ya sea la altura o el área del máximo observado directamente con la cantidad de metal vaporizado. El calentamiento se hace en una atmósfera inerte (por ejemplo, de argón) para evitar la oxidación del grafito o del carbono a las altas temperaturas que se desarrollan y también para evitar la formación de óxidos metálicos refractarios.

Una dificultad importante en los métodos de atomización electrotrémica es que los efectos interelementos en general son mucho más pronunciados que en las flamas. A veces las interferencias se pueden compensar usando un método de adiciones normalizadas para la calibración en el que se agrega un estándar a una alícuota separada de la muestra, y el

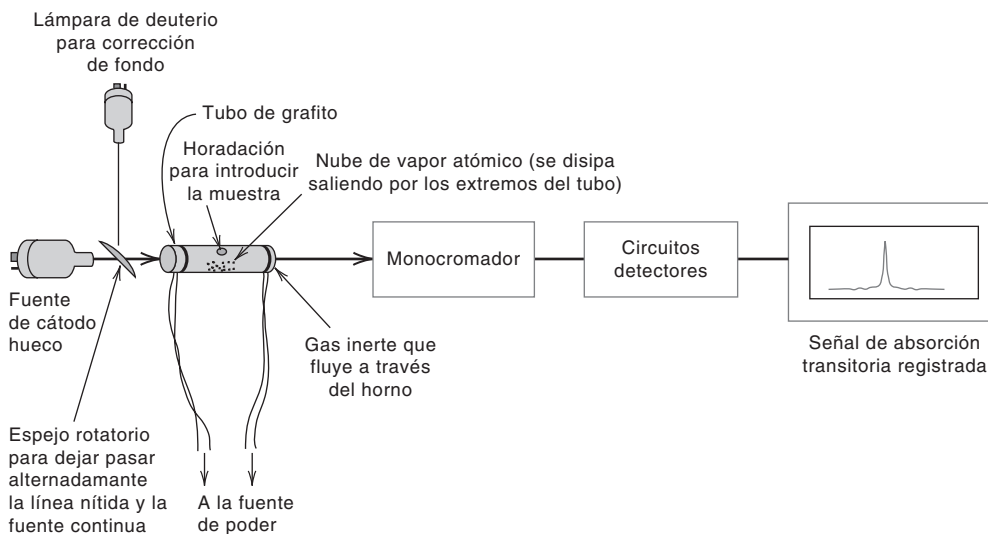


Figura 17.5. Atomización electrotrémica.

aumento en la señal medida es proporcional a la concentración agregada. De esta manera, el estándar queda sujeto a la misma matriz que la muestra (véase más adelante).

Cuando cambia la concentración de la matriz con frecuencia cambian la altura del máximo y la *forma* del máximo. En estos casos se puede lograr menor influencia de la matriz y mejor exactitud si se integra la señal o se mide su área, más que midiendo su intensidad máxima. Es claro que para esto se requiere una instrumentación más complicada.

Aun con pirólisis antes del paso de atomización, la absorción de fondo en los métodos electrotrémicos tiende a ser más prominente que en los métodos de flama, en especial con muestras biológicas y del medio ambiente; esto se debe al material orgánico residual o a sales vaporizadas de la matriz. Debido a esto, en general se requiere la corrección de fondo automática (véase antes).

Los límites de detección citados por los fabricantes de atomizadores electrotrémicos están normalmente en el intervalo de 10^{-10} a 10^{-12} g o menos. La concentración en el límite de detección dependerá del volumen de la muestra, que a su vez dependerá de la composición de la matriz de la muestra y de la concentración del elemento analizado. Suponiendo que se analiza una muestra de 10 μL para un elemento cuyo límite de detección es 10^{-11} g, entonces la concentración límite de detección sería de 10^{-11} g/0.01 mL, o 10^{-9} g/mL, que es igual a 1 ng/mL o una parte por mil millones. Con esto se puede apreciar la extrema sensibilidad de estas técnicas aun cuando se manejen volúmenes muy pequeños de muestra.

Los métodos electrotrémicos son complementarios a los métodos de flama, que son más adecuados cuando el elemento analizado está a una concentración lo suficientemente alta como para medirlo y se dispone de un volumen adecuado de solución; estos últimos proporcionan una reproducibilidad excelente y en general las interferencias se pueden manejar con facilidad. Por otra parte, los métodos electrotrémicos se requieren cuando las concentraciones son muy pequeñas o cuando el tamaño de la muestra es limitado. Con ellos es posible analizar en forma directa muestras sólidas sin preparar una solución. Por lo general, la calibración y el uso de los métodos electrotrémicos requieren mayor cuidado; estas técnicas están entre los métodos analíticos más sensibles de todos.

La corrección de fondo es más crítica en los atomizadores electrotrémicos.

17.4 Estándar interno y calibración por adición de estándar

En los métodos de espectrometría atómica las señales pueden variar con el tiempo debido a factores como fluctuaciones en los flujos de gas y la rapidez de aspiración. Se puede mejorar la precisión con la técnica de los **estándares internos**. Por ejemplo, un espectrómetro sencillo de emisión de flama diseñado para mediciones simultáneas de sodio y potasio en suero usando longitudes de onda fijas y dos detectores separados normalmente contendrá un tercer canal detector de longitud de onda fija para el litio. Se agrega una concentración fija de litio a todos los estándares y todas las muestras. El instrumento registra y determina las *relaciones* de las señales K/Li y Na/Li. Por ejemplo, si la rapidez de aspiración fluctúa, cada señal se altera en el mismo grado, y la relación a determinada concentración de K o Na permanece constante. Véase el ejercicio en hoja de cálculo en la sección 20.5 para un ejemplo de cómo hacer calibraciones con estándar interno a partir de las señales del analito y del estándar interno.

El elemento del estándar interno debe ser químicamente similar al elemento del analito y sus longitudes de onda no deben ser muy diferentes. Véase una descripción de la selección del estándar interno en la referencia 8.

Una segunda dificultad que se encuentra a menudo en los métodos espectrométricos de flama es una supresión (o a veces intensificación) de la señal originada por la matriz de la muestra, ya sea por alta viscosidad o por entrar en reacción con el analito. La técnica de **calibración por adición de estándar** se puede usar para minimizar errores de este tipo. La muestra se mide en la forma acostumbrada para producir determinada señal. Se toma

Un estándar interno sufre interferencias similares a las del analito. La medición de la relación de señales de analito a estándar interno cancela las interferencias.

En la calibración por adición de estándar, el estándar se agrega a la muestra, por lo que está sometido a los mismos efectos de la matriz que el analito.

una porción separada de muestra y se agrega con una cantidad conocida de un estándar, se hace pasar por el procedimiento analítico y se obtiene una nueva señal. Después el estándar se somete a la misma matriz que la del analito desconocido. El aumento en la señal se debe al estándar, y la señal original al analito. Es importante llevar a cabo correcciones con un blanco. Se considera que hay proporcionalidad en estas mediciones a partir de la suposición de que se está en una parte lineal de la curva de calibración. Para asegurar la linealidad se recomiendan dos adiciones del estándar.



Ejemplo 17.1

Se analizó potasio en una muestra de suero mediante espectrometría de emisión de flama usando el método de adiciones de estándar. Se agregaron dos alícuotas de 0.500 mL a dos porciones de 5.00 mL de agua. A una porción se agregaron 10.0 μL de solución de KCl 0.0500 *M*. Las señales netas de emisión, en unidades arbitrarias, fueron 32.1 y 58.6. ¿Cuál es la concentración de potasio en el suero?

Solución

La cantidad de solución valorada (estándar) agregada es

$$0.0100 \text{ mL} \times 0.0500 \text{ M} = 5.00 \times 10^{-4} \text{ mmol}$$

Eso produce una señal de

$$58.6 - 32.1 = 26.5 \text{ unidades arbitrarias}$$

Entonces, los milimoles de potasio en la muestra son

$$5.00 \times 10^{-4} \text{ mmol} \times \frac{32.1 \text{ unidades}}{26.5 \text{ unidades}} = 6.06 \times 10^{-4} \text{ mmol}$$

Esta cantidad está en 0.500 mL de suero, por lo que la concentración es

$$\frac{6.06 \times 10^{-4} \text{ mmol}}{0.500 \text{ mL suero}} = 1.21 \times 10^{-3} \text{ mmol/mL de suero}$$



Normalmente, cuando se aplica el método de adición de estándares, se construye una curva de calibración parecida a la de la figura 14.6, donde el eje *Y* sería la señal de emisión atómica o de absorbencia. Si los volúmenes de estándar añadidos son apreciables, se corrigen las señales por dilución multiplicándolas por $(V_i + v)V_i$ o por V_t/V_i , siendo V_i el volumen inicial, v el volumen añadido y V_t el volumen total.

EJERCICIO EN HOJA DE CÁLCULO: ADICIONES DE ESTÁNDAR MÚLTIPLES

Se determinó el calcio en una muestra de agua de río con AAS electrotérmica y usando adiciones de estándar múltiples. Se colocaron cuatro alícuotas de 25.0 mL en matraces volumétricos de 50 mL y se agregaron alícuotas de un estándar con 2.50 ppm en cantidades de 0, 1.00, 2.00 y 3.00 mL, seguidas por dilución hasta la marca. Se midieron volúmenes fijos de cada solución produciendo señales netas de absorbencia de 0.101, 0.183,

0.238 y 0.310, respectivamente. Usar una hoja de cálculo para preparar la curva de calibración y calcular la concentración de calcio en la muestra, así como su desviación estándar.

Para el análisis de error se repasan las ecuaciones 16.18 a 16.21 y la hoja de cálculo que les sigue en el capítulo 16. Además de los parámetros estadísticos que ahí se describen, será necesario determinar el error estándar x en S_x :

$$S_x = \frac{S_r}{m} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{(y_c - y_{\text{prom}})^2}{m^2 S_{xx}}} \quad (17.2)$$

Obsérvese la semejanza de esta ecuación y la ecuación 16.21. El valor de y_c es cero (el volumen de la ordenada al origen). Se usará esta ecuación para calcular la desviación estándar de la concentración en la incógnita:

$$S_c = -\frac{C_x S_x}{b_v} = -\frac{C_x S_x}{-b/m} \quad (17.3)$$

Se usó un signo menos porque la ordenada al origen es un número negativo, y con esto se obtiene un número positivo para S_c .

La absorbencia total, A_t , es la suma de la absorbencia de la muestra y la producida por el estándar agregado:

$$A_t = A_x + A_s \quad (17.4)$$

$$A_t = kC_x \frac{V_x}{V_t} + kC_s \frac{V_s}{V_t} \quad (17.5)$$

donde V_x es el volumen del problema (25.0 mL), V_s el volumen del estándar agregado, V_t el volumen total (50.0 mL), C_x la concentración desconocida, C_s la concentración del estándar (2.50 ppm) y k una constante de proporcionalidad. Ya que V_t es constante,

$$A_t = k' C_x V_x + k' C_s V_s \quad (17.6)$$

donde $k' = k/V_t$. Una gráfica de A_t en función de V_s para una serie de soluciones debe ser una recta con pendiente $k' C_s$ y ordenada al origen $k' C_x V_x$:

$$m = k' C_s \quad (17.7)$$

$$b = k' C_x V_x \quad (17.8)$$

Combinando:

$$C_x = \frac{bC_s}{mV_x} \quad (17.9)$$

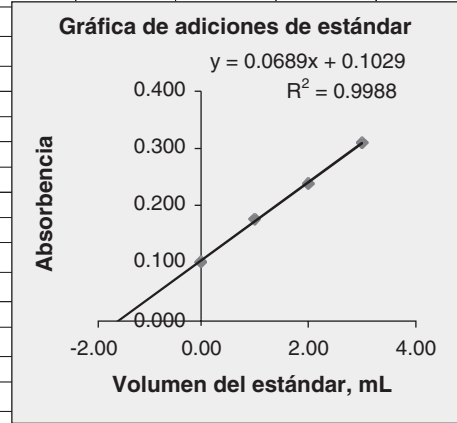
El volumen en la ordenada al origen es:

$$\frac{-b}{m} = -\frac{C_x V_x}{C_s} \quad (17.10)$$

$$C_x = -\frac{C_s}{V_x} \cdot \frac{-b}{m} \quad (17.11)$$

Se usará la hoja de cálculo para determinar b y m , y con ellas, C_x .

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Gráfica y cálculos para adiciones de estándar múltiples.							
2	Vol. Desc., V_x =	25.0	mL					
3	Conc. Est., C_s =	2.50	ppm					
4	V_s , mL	A_t						
5	0.00	0.101						
6	1.00	0.176						
7	2.00	0.238						
8	3.00	0.310						
9								
10	Pendiente, m:		0.0689					
11	Ordenada al origen, b:		0.1029					
12	Vol. intersección, b_v (-b/m):		-1.49347					
13	C_x , ppm:		0.149347					
14								
15	S_r :		0.003788					
16	N:		4					
17	S_{xx} :		5					
18	y_{prom} :		0.21					
19	Desv. est. en vol. = S_v :		0.078569					
20	Desv. est. en $C_x = S_c$:		0.007857					
21	Celda C10 = PENDIENTE(B5:B8,A5:A8)							
22	Celda C11 = INTERSECCION(B5:B8,A5:A8)							
23	Celda C12 = Intersección del Vol (b_v) = -b/m = -C10/C11							
24	Celda C13 = Conc. desconoc. = $C_x = -(C_s/V_x) \times (b_v) = -(B3/B2) \times (C12)$							
25	Celda C15 = S_r = ERROR.TÍPICOYX(B5:B8,A5:A8)							
26	Celda C16 = N = CONTAR(B5:B8)							
27	Celda C17 = S_{xx} = N*VARP(A5:A8) = C16*VARP(A5:A8)							
28	Celda C18 = y_{prom} = PROMEDIO(B5:B8)							
29	Celda C19 = Desv. est. en vol. = $S_r/m(1/N + ((0-y_{prom})^2)/((m^2) \times S_{xx}))^{1/2}$							
30	= C15/C10*SQRT(1/C16+((0-C18)^2)/((C10^2)*C17))							
31	C20 = Desv. est. incógnita = $S_c = -(C_x \times S_v)/b_v$							
32	= [-(C13*C19/C12)]							



La concentración es 0.149 ± 0.008 ppm. Obsérvese que el volumen de la intersección correspondiente a la incógnita es -1.49 mL. Esto corresponde a agregar 1.49 mL del estándar de 2.50 ppm a 50 mL, una dilución de 1:33.6, que produce una concentración de 0.0745 ppm en el matraz con la muestra. Los 25.0 mL de la muestra se diluyeron a la mitad, por lo que su concentración es 2×0.0745 , o 0.149 ppm, como se calcula en la celda C13:

$$-(C_s/V_x)(-b/m) = -(2.5/25)(-1.49)$$

O bien, se calcula que $1.49 \text{ mL} \times 2.50 \mu\text{g/mL} = 3.72 \mu\text{g}/50 \text{ mL} = 0.0745 \mu\text{g/mL}$ (0.0745 ppm) en el matraz de la muestra, que corresponde a 0.149 ppm en la muestra original.

Supóngase que no se diluyó a 50 mL después de agregar las alícuotas del estándar. Entonces V_t no hubiera sido constante y habría que considerarlo una variable. Para n adiciones, el volumen total agregado, V_s , es:

$$V_{S_n} = \sum_{i=1}^n V_{S_i} \quad (17.12)$$

Así, por ejemplo, después de dos adiciones, $V_{s2} = V_{s1} + V_{s2}$, que para el ejemplo anterior es $1.00 + 2.00 = 3.00$ mL. El volumen total, V_{T_n} , después de n adiciones, es:

$$V_{T_n} = V_x + V_{S_n} = V_x + \sum_{i=1}^n V_{S_i} \quad (17.13)$$

En el ejemplo anterior, después de dos adiciones V_T es $25.0 + 3.00 = 28.0$ mL.

Se puede plantear una ecuación parecida a la ecuación 17.5 para la absorbencia total, A_{T_n} , para n adiciones de estándar:

$$A_{T_n} = kC_x \frac{V_x}{V_{T_n}} + kC_s \frac{V_{S_n}}{V_{T_n}} \quad (17.14)$$

donde C_x es la concentración desconocida en el volumen original de la muestra y C_s es la concentración del estándar. V_{T_n} es una variable que se conoce para cada adición. Multiplicando por V_{T_n} :

$$A_{T_n} V_{T_n} = kC_x V_x + kC_s V_{S_n} \quad (17.15)$$

Comparar ésta con la ecuación 17.6. Una gráfica de $A_{T_n} V_{T_n}$ vs. V_{S_n} , siendo n la variable independiente, produce una recta con pendiente kC_s e intersección $kC_x V_x$:

$$m = kC_s \quad (17.16)$$

$$b = kC_x V_x \quad (17.17)$$

Al combinarlas se llega a la ecuación 17.9, y subsecuentemente a la 17.10 y 17.11 para calcular la concentración desconocida. Se prepara una hoja de cálculo similar a la anterior, pero graficando $A_{T_n} V_{T_n}$ contra V_{S_n} , en vez de A_t contra V_s . La gráfica del volumen total variable es más complicada que cuando sólo se grafica V_s , pero se evita un paso experimental de diluir al volumen. Se puede preparar la hoja de cálculo para determinar automáticamente V_{T_n} a partir de V_x y V_{S_n} , y de ésta, $A_{T_n} V_{T_n}$.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Espectrometría de emisión de flama, p. 522
- Distribución de átomos en una flama (ecuación clave: 17.1), p. 524
- Espectrometría de absorción atómica: de flama y electrotérmica, p. 525
- Calibración con estándar interno y por adición de estándares: uso de hojas de cálculo (ecuaciones clave 17.5, 17.11), pp. 533, 534

Preguntas

PRINCIPIOS

1. ¿Qué fracción de átomos en una flama se encuentran típicamente en estado excitado?
2. Describir los principios de espectrofotometría de emisión de flama y la espectrometría de absorción atómica.
3. Compare la emisión de flama y la espectrometría de absorción atómica en relación con su instrumentación, sensibilidad e interferencias.
4. ¿Por qué es preferible una fuente con línea nítida en espectroscopia de absorción atómica?
5. Explicar por qué con frecuencia la espectrometría de emisión de flama es tan sensible como la espectrofotometría de absorción atómica aun cuando en la flama sólo una pequeña fracción de los átomos estén térmicamente excitados.

6. De acuerdo con la ecuación de Maxwell-Boltzmann, la fracción de átomos excitados en una flama depende mucho de la temperatura y también de la longitud de onda, en tanto que la fracción de átomos en estado fundamental es prominente en todos los casos. Sin embargo, en la práctica, la espectrometría de emisión de flama y de absorción atómica no exhibe grandes diferencias de dependencia para muchos elementos si la longitud de onda es mayor a unos 300 nm. ¿Por qué?
7. Explicar por qué los espectros de absorción de las especies atómicas están formados por líneas discretas a longitudes de onda específicas y no por bandas anchas de especies moleculares.
8. ¿Qué ocasiona la “pluma roja” en una flama reductora de óxido nitroso-acetileno?
9. Explicar por qué los atomizadores electrotérmicos poseen sensibilidad muy pronunciada en la espectrofotometría de absorción atómica.
10. Explicar cómo un elemento como estándar interno puede mejorar la precisión de las mediciones en espectrometría atómica.

INSTRUMENTACIÓN

11. Explicar el mecanismo del funcionamiento de una lámpara de cátodo hueco.
12. Describir el quemador de cámara de premezclado. ¿Qué flamas pueden usarse con él?
13. Explicar por qué en los instrumentos de absorción atómica se suele modular la fuente de radiación.

INTERFERENCIAS

14. Se determinó plomo en agua de mar por espectrometría de absorción atómica. Se extrajo el quelato pirrolidincarboditioato de amonio (APCD) con metil isobutil cetona, y se aspiró el disolvente orgánico. Un estándar y un blanco con el reactivo se trataron de manera similar. La lectura con el blanco fue esencialmente cero. Se hicieron mediciones en la línea de 283.3 nm. Una determinación independiente con voltamperometría de desprendimiento anódico indicó que los resultados de la absorción atómica eran casi 100% excesivos. Suponiendo que los resultados de la voltamperometría de desprendimiento anódico son los correctos, indicar una razón por la que los resultados fueron erróneos y la forma en que podrían evitarse en análisis futuros.
15. ¿Por qué a veces se requiere una flama de alta temperatura de óxido nitroso-acetileno en espectrofotometría de absorción atómica?
16. ¿Por qué a veces se agrega una alta concentración de sal de potasio a estándares y muestras en los métodos de absorción o emisión de flama?
17. Las interferencias químicas se presentan más en flamas “frías”, como la de aire-propano, pero se prefiere esta flama para determinar metales alcalinos. Explicar por qué.
18. Un analista nota que una solución de 1 ppm de sodio produce una señal de emisión de flama de 110, en tanto que la misma solución que contiene también 20 ppm de potasio produce una lectura de 125. Se determinó que una solución con sólo 20 ppm de potasio no produce lectura del blanco. Explicar estos resultados.

Problemas

SENSIBILIDAD

19. Una solución con 12 ppm de plomo produce una señal de absorción atómica de 8% de absorción. ¿Cuál es la sensibilidad de absorción atómica?
20. La plata produce una sensibilidad de absorción atómica de 0.050 ppm bajo determinadas condiciones. ¿Cuál sería la absorción para una solución con 0.70 ppm?

DISTRIBUCIÓN DE BOLTZMANN

21. La transición para la línea de cadmio a 228.8 nm es una transición $^1S_0-^1S_1$. Calcular la relación de N_e/N_0 en una flama de aire-acetileno. ¿Qué porcentaje de los átomos está en estado excitado? La velocidad de la luz es 3.00×10^{10} cm/s. La constante de Planck es 6.62×10^{-27} J, y la constante de Boltzmann es 1.380×10^{-16} J K $^{-1}$.

CÁLCULOS CUANTITATIVOS

22. El calcio existente en una solución problema se va a determinar por espectrofotometría de absorción atómica. Para ello, se prepara una solución de calcio para almacenaje disolviendo 1.834 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en agua y se diluye a 1 L, y luego esta solución se diluye de nuevo, ahora 1:10. Se preparan estándares de trabajo diluyendo la segunda solución a 1:20, 1:10 y 1:5, respectivamente. La muestra se diluye 1:25. Se agrega a todas las soluciones cloruro de estroncio antes de la dilución, lo suficiente para tener 1% (peso/vol) para evitar la interferencia por fosfato. Se prepara un blanco para que tenga 1% de SrCl_2 . Las señales de absorbencia en el registrador de gráfica, cuando se aspiran las soluciones a una flama de aire-acetileno, son las siguientes: blanco, 1.5 cm; patrones, 10.6, 20.1 y 38.5 cm; muestra, 29.6 cm. ¿Cuál es la concentración de calcio en la muestra en partes por millón?
23. Se determina litio en el suero sanguíneo de un paciente maniaco-depresivo tratado con carbonato de litio por espectrofotometría de emisión de flama, usando calibración por adiciones de estándar. Cien microlitros de suero, diluidos a 1 mL, producen una señal de emisión de 6.7 cm en la gráfica. Una solución similar, a la que se agregaron 10 μL de solución de LiNO_3 0.010 M, produce una señal de 14.6 cm. Suponiendo que hay linealidad entre la señal de emisión y la concentración de litio, ¿cuál es la concentración de litio en el suero en partes por millón?
24. Los cloruros en una muestra de agua se determinan en forma indirecta por espectrometría de absorción atómica, precipitándolos como AgCl con una cantidad medida de AgNO_3 en exceso, filtrando y midiendo la concentración de plata que resta en el filtrado. Se agregan, a matraces Erlenmeyer secos de 100 mL, separados, alícuotas de 10 mL de la muestra y un estándar con 100 ppm de cloruro; a cada uno se le agregan, con una pipeta, 25 mL de una solución de nitrato de plata; después de esperar a que se forme el precipitado, las mezclas se transfieren parcialmente a tubos de centrifuga secos; cada filtrado es aspirado para medir su concentración de plata por absorción atómica; un blanco recibe un tratamiento similar en el que la muestra se sustituye con 10 mL de agua destilada desionizada. Si se registran las siguientes señales de absorbencia para cada solución, ¿cuál es la concentración de cloruro en la muestra de agua?

Blanco:	12.8 cm
Estándar:	5.7 cm
Muestra:	6.8 cm

Referencias recomendadas

GENERAL

1. L. Ebdon y E. H. Evans, eds., *An Introduction to Analytical Spectrometry*, 2a. ed., Chichester: Wiley, 1998.
2. J. W. Robinson, *Atomic Spectroscopy*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1996.
3. Web: G. M. Hieftje, "Atomic Spectroscopy-A Primer", www.septrosopynow.com, vínculo a *Education: Tutorials, o News & Features: Archives*.

ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN DE FLAMA Y ABSORCIÓN ATÓMICA

4. J. A. Dean, *Flame Photometry*, Nueva York: McGraw-Hill, 1960. Un clásico en cuanto a los fundamentos.
5. P. M. Hald, "Sodium and Potassium by Flame Photometry", en D. Seligson, ed., *Standard Methods of Clinical Chemistry*, vol. II, Nueva York: Academic, 1958, pp. 165-185. Describe determinaciones en suero.
6. G. D. Christian y F. J. Feldman, *Atomic Absorption Spectroscopy. Applications in Agriculture, Biology, and Medicine*, Nueva York: Wiley-Interscience, 1970. Describe los procedimientos de preparación de muestras.
7. K. W. Jackson, ed., *Electrothermal and Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1999.
8. F. J. Feldman, "Internal Standardization in Atomic Emission and Absorption Spectrometry", *Anal. Chem.*, **42** (1970) 719.
9. G. D. Christian, Medicine, Trace Elements, and Atomic Absorption Spectroscopy", *Anal. Chem.* **41** (1)(1969) 24 A. Muestra concentraciones de traza de elementos en muestras biológicas.

Capítulo dieciocho

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES Y EN FASE SÓLIDA



En el siguiente capítulo se introduce el tema de las técnicas cromatográficas para analizar muestras complejas; en ellas, los diversos analitos se separan en una columna y se detectan al ir emergiendo de ésta. Debe apuntarse que con mucha frecuencia las muestras deben “refinarse” antes de ser introducidas a la columna cromatográfica. Los métodos de extracción con disolventes y extracción en fase sólida, así como otras técnicas relacionadas, son muy útiles para aislar analitos de matrices complejas de muestra antes de su análisis cromatográfico. Asimismo, la extracción con disolventes es útil en determinaciones espectrofotométricas.

La extracción con disolventes consiste en la distribución o reparto de un soluto entre dos fases líquidas inmiscibles. Esta técnica es extremadamente útil para hacer separaciones muy rápidas y “limpias” de sustancias orgánicas e inorgánicas. En este capítulo se describe la distribución de sustancias entre dos fases y la forma de usarla para obtener separaciones analíticas, así como la extracción con disolventes orgánicos de iones metálicos.

La extracción en fase sólida es un método en el que se unen grupos funcionales hidrofóbicos a superficies de partículas sólidas y funcionan como fase extractora. Con ello se reduce la necesidad de manejar grandes volúmenes de disolventes orgánicos.

18.1 Coeficiente de distribución

Un soluto S se distribuye entre dos fases (después de agitarlas y permitir que se separen), y dentro de ciertos límites, la relación de concentraciones del soluto en las dos fases será constante:

$$K_D = \frac{[S]_1}{[S]_2} \quad (18.1)$$

en donde K_D es el **coeficiente de distribución**, y los subíndices representan al disolvente 1 (por ejemplo, un disolvente orgánico) y al disolvente 2 (por ejemplo, agua). Si el coeficiente de distribución es grande, el soluto tenderá a una distribución cuantitativa en el disolvente 1.

Las sustancias orgánicas neutras pasan del agua a disolventes orgánicos. “Lo semejante disuelve a lo semejante.”

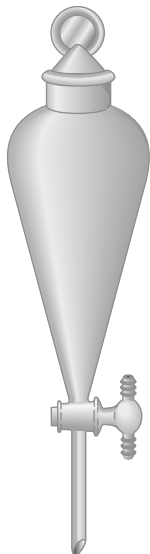


Figura 18.1. Embudo de separación.

El aparato que se usa para extracción con disolventes es el **embudo de separación**, como el que se ve en la figura 18.1. Lo más frecuente es que se realice la extracción de un soluto de una solución acuosa hacia un disolvente orgánico inmiscible. Después de agitar la mezcla durante más o menos un minuto, se dejan separar las fases, y la fase inferior (el disolvente más denso) se remueve para completar la separación.

Muchas sustancias se ionizan parcialmente en la fase acuosa y forman ácidos débiles. Eso produce un efecto de pH sobre la extracción; un ejemplo es la extracción de ácido benzoico de su solución acuosa. El ácido benzoico (HBz) es un ácido débil en agua con una constante de ionización particular K_a definida por la ecuación 18.4. El coeficiente de distribución es

$$K_D = \frac{[\text{HBz}]_e}{[\text{HBz}]_a} \quad (18.2)$$

donde e representa al disolvente éter y a representa al disolvente acuoso. Sin embargo, parte del ácido benzoico en la fase acuosa estará presente como Bz^- , dependiendo de la magnitud de K_a y del pH de la fase acuosa; en consecuencia, puede ser que no se logre una separación cuantitativa.

18.2 Relación de distribución

Resulta más significativo introducir un concepto diferente, la **relación de distribución**, que es la relación de las concentraciones de *todas* las especies del soluto en cada fase. En este ejemplo, se define por

$$D = \frac{[\text{HBz}]_e}{[\text{HBz}]_a + [\text{Bz}^-]_a} \quad (18.3)$$

Fácilmente se puede deducir la relación entre D y K_D a partir de los equilibrios implicados. La constante de acidez K_a para la ionización del ácido en la fase acuosa es

$$K_a = \frac{[\text{H}^+]_a [\text{Bz}^-]_a}{[\text{HBz}]_a} \quad (18.4)$$

Por consiguiente,
$$[\text{Bz}^-]_a = \frac{K_a [\text{HBz}]_a}{[\text{H}^+]_a} \quad (18.5)$$

A partir de la ecuación 18.2,

$$[\text{HBz}]_e = K_D [\text{HBz}]_a \quad (18.6)$$

Al sustituir las ecuaciones 18.5 y 18.6 en la ecuación 18.3 resulta

$$D = \frac{K_D [\text{HBz}]_a}{[\text{HBz}]_a + K_a [\text{HBz}]_a / [\text{H}^+]_a} \quad (18.7)$$

$$D = \frac{K_D}{1 + K_a / [\text{H}^+]_a} \quad (18.8)$$

Esta ecuación indica que cuando $[H^+]_a \gg K_a$, D es casi igual a K_D , y si K_D es grande, se extraerá el ácido benzoico y pasará a la fase de éter; D es máximo en estas condiciones. Por otra parte, si $[H^+] \ll K_a$, entonces D se reduce a $K_D[H^+]_a/K_a$, que será pequeño, y el ácido benzoico permanecerá en la fase acuosa. Esto es, en solución alcalina el ácido benzoico está ionizado y no se puede extraer, en tanto que en solución ácida está casi todo sin disociar. Estas conclusiones son las que en forma intuitiva se esperan de acuerdo con los equilibrios químicos.

La ecuación 18.8, igual que la 18.1, indica que la *eficiencia de extracción será independiente de la concentración original del soluto*. Ésta una de las propiedades atractivas de la extracción con disolventes: aplicable desde el nivel de trazadores (por ejemplo, radiactivos) hasta macroconcentraciones, en donde se precisa que la solubilidad del soluto en una de las fases no se vea rebasada y que no se presenten reacciones secundarias como la de dimerización del soluto extraído.

Naturalmente, si cambia la concentración de ion hidrógeno cambiará la eficiencia de extracción, D . En este ejemplo, la concentración de ion hidrógeno aumentará al incrementarse la concentración de ácido benzoico, a menos que se agregue un amortiguador ácido-base que mantenga constante la concentración de ion hidrógeno (véase una descripción de las soluciones amortiguadoras en el capítulo 7).

Al deducir la ecuación 18.8, en realidad no se incluyó en el numerador de la ecuación 18.3 un término para la parte del ácido benzoico que existe en forma de dímero en la fase orgánica. El grado de dimerización tiende a aumentar al incrementarse la concentración, y de acuerdo con el principio de Le Châtelier, eso hará que el equilibrio se desplace para favorecer una mayor concentración en la fase orgánica. Así pues, en casos como éste la eficiencia de extracción aumentará en realidad a mayores concentraciones. Como ejercicio, en el problema 12 se presenta la deducción de la ecuación más completa.

En la extracción con disolventes, la eficiencia de la separación suele ser independiente de la concentración.

18.3 Porcentaje extraído

La relación de distribución D es una constante independiente de la relación de volúmenes. Sin embargo, la fracción del soluto extraído sí dependerá de la relación de volúmenes de los dos disolventes. Si se usa mayor volumen de disolvente orgánico, debe disolverse más soluto en esa fase para mantener constante la relación de concentraciones y para satisfacer la relación de distribución.

La fracción de soluto extraído es igual a los milimoles de soluto en la fase orgánica divididos entre la cantidad total de milimoles de soluto. Los milimoles se obtienen multiplicando la molaridad por los mililitros. Así, el porcentaje de extracción está dado por

$$\% E = \frac{[S]_o V_o}{[S]_o V_o + [S]_a V_a} \times 100\% \quad (18.9)$$

donde V_o y V_a son los volúmenes de las fases orgánica y acuosa, respectivamente. A partir de esta ecuación (véase el problema 11) se puede demostrar que el porcentaje de extracción se relaciona como sigue con la relación de distribución:

$$\% E = \frac{100D}{D + (V_a/V_o)} \quad (18.10)$$

Si $V_a = V_o$, entonces

$$\% E = \frac{100D}{D + 1} \quad (18.11)$$

La extracción será cuantitativa (99.9%) para valores D de 1 000.

En el caso de volúmenes iguales, se puede considerar que el soluto se retiene en forma cuantitativa si D es menor que 0.001. Se extrae en forma esencialmente cuantitativa si D es mayor que 1 000. El porcentaje extraído sólo cambia de 99.5 a 99.9% cuando D aumenta de 200 a 1 000.



Ejemplo 18.1

Se agitan 20 mL de una solución de ácido butírico 0.10 M con 10 mL de éter. Después de que se separan las fases, por titulación se determina que en la fase acuosa quedan 0.5 mmol de ácido butírico. ¿Cuál es la relación de distribución y cuál es el porcentaje de extracción?

Solución

Se comenzó con 2.0 mmol de ácido butírico, por lo que se extrajeron 1.5 milimoles. Su concentración en la fase de éter es 1.5 mmol/10 mL = 0.15 M . La concentración en la fase acuosa es 0.5 mmol/20 mL = 0.025 M . Por lo anterior,

$$D = \frac{0.15}{0.025} = 6.0$$

Como se extrajeron 1.5 milimoles, el porcentaje extraído es $(1.5/2.0) \times 100\% = 75\%$; es decir

$$\% E = \frac{100 \times 6.0}{6.0 + (20/10)} = 75\%$$

La ecuación 18.10 muestra que la fracción extraída puede incrementarse si se disminuye la relación de V_a/V_o , por ejemplo, aumentando el volumen de la fase orgánica. Sin embargo, una forma más eficiente de aumentar la cantidad extraída, usando el mismo volumen de disolvente orgánico, es hacer extracciones sucesivas con menores volúmenes individuales de disolvente orgánico. Por ejemplo, con una D de 10 y $V_a/V_o = 1$, el porcentaje extraído es 91%, aproximadamente. Si se disminuye V_a/V_o a 0.5 (duplicando V_o) se obtendría un aumento de porcentaje E a 95%. Pero si se hacen dos extracciones sucesivas con $V_a/V_o = 1$, se obtendría una extracción total de 99%.

18.4 Extracción de metales con disolventes

Para extraer un metal con un disolvente orgánico debe neutralizarse su carga y estar asociado con un agente orgánico.

Una de las aplicaciones más importantes en la separación de cationes metálicos es la extracción con disolventes. En este método, el ion metálico se distribuye pasando de una fase acuosa a una fase orgánica inmiscible con el agua mediante reacciones químicas apropiadas. La extracción de iones metálicos con disolventes es útil para removerlos de una matriz que interfiera o para separar uno de los metales o un grupo de ellos (con las reacciones químicas adecuadas) del resto. El método se usa mucho en la determinación espectrofotométrica de iones metálicos porque los reactivos que se usan para lograr la extracción forman, con frecuencia, complejos coloridos con el ion metálico. También se usa en espectrofotometría de absorción atómica de flama para introducir la muestra en un disolvente no acuoso que va a la llama; así se obtiene mayor sensibilidad y se eliminan los efectos de la matriz.

La separación puede hacerse de varias maneras. Se habrá notado que las moléculas orgánicas tienden a disolverse inalteradas en la fase orgánica, en tanto que el anión cargado

de las moléculas ionizadas se queda en la fase acuosa polar. Se trata de un ejemplo de “lo semejante disuelve a lo semejante”. Los iones metálicos no tienden a disolverse en forma notoria en la fase orgánica. Para que se solubilicen debe neutralizarse su carga, y debe agregárseles algo para hacerlos parecer compuestos orgánicos. Básicamente, hay dos formas de hacerlo.

EXTRACCIÓN DE COMPLEJOS ASOCIADOS A IONES

En un método, el ion metálico se incorpora a una molécula voluminosa y se asocia con otro ion de carga opuesta para formar un **par iónico**, o el ion metálico se asocia a otro ion de gran tamaño (parecido a una sustancia orgánica). Por ejemplo, se sabe bien que el hierro(III) se puede extraer en forma cuantitativa con éter dietílico de un medio con ácido clorhídrico. No se ha comprendido por completo el mecanismo, pero existe evidencia de que el complejo de cloro con el hierro está coordinado con el átomo de oxígeno del disolvente (el disolvente desplaza al agua coordinada), y ese ion se asocia a una molécula de disolvente que está coordinada con un protón:



De igual manera, el ion uranilo UO_2^{2+} se extrae de su solución acuosa de nitrato con isobutanol mediante asociación con dos iones nitrato ($\text{UO}_2^{2+}, 2\text{NO}_3^-$); aquí tal vez el uranio esté siendo solvatado por el disolvente haciéndolo parecido a éste. El permanganato forma un par iónico con el ion tetrafenilarsonio [$(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{As}^+, \text{MnO}_4^-$] que lo hace parecido a un compuesto orgánico y que puede extraerse con cloruro de metileno. Hay muchos otros ejemplos de extracciones por asociación de iones.

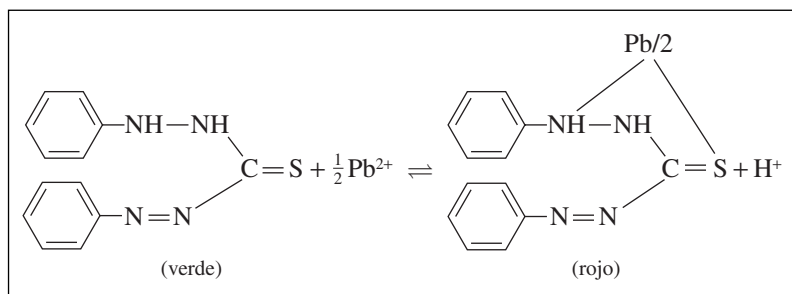
EXTRACCIÓN DE QUELATOS METÁLICOS

El método que más se usa para extraer iones metálicos es el de formación de un quelato con un agente quelante orgánico.

Como se indicó en el capítulo 9, un agente quelante contiene dos o más grupos complejantes. Muchos de estos reactivos forman quelatos coloridos con los iones metálicos, y son la base de los métodos espectrofotométricos para determinar los metales. Con frecuencia, los quelatos son insolubles en agua y precipitan; sin embargo, suelen ser solubles en disolventes orgánicos, como el cloruro de metileno. Muchos de los agentes precipitantes de la lista del capítulo 10 se usan como agentes de extracción.

PROCESO DE EXTRACCIÓN USANDO QUELATOS METÁLICOS

La mayor parte de los agentes quelantes son ácidos débiles que se ionizan en agua. El protón ionizable es desplazado por el ion metálico al formarse el quelato, y la carga del compuesto orgánico neutraliza la carga del ion metálico. Un ejemplo es el de la *difeniltiocarbazona* (*ditizona*), que forma un quelato con el ion plomo:



La práctica usual es agregar el quelante, HR, a la fase orgánica. Se distribuye entre las dos fases, y en la fase acuosa se disocia como ácido débil. El ion metálico, M^{n+} , reacciona con nR^- para formar el quelato, el cual se distribuye entonces a la fase orgánica. La relación de distribución se determina entonces a partir de la relación de la concentración del quelato metálico en la fase orgánica, entre la concentración del ion metálico en la fase acuosa. Se puede deducir la siguiente ecuación:

$$D = \frac{[MR_n]_o}{[M^{n+}]_a} = K \frac{[HR]_o^n}{[H^+]_a^n} \quad (18.12)$$

donde K es una constante que incluye la K_a de HR, la K_f de MR_n y la K_D de HR y MR_n . Obsérvese que la relación de distribución no depende de la concentración del ion metálico siempre que no se rebase la solubilidad del quelato metálico en la fase orgánica. Con frecuencia HR está en gran exceso y se considera constante. La eficiencia de la extracción sólo puede cambiar si se hace variar el pH o la concentración del reactivo. Un aumento de 10 veces en la concentración del reactivo hará aumentar la eficiencia de extracción en igual magnitud que un aumento en una unidad de pH (lo que disminuye $[H^+]$ a la décima parte). Cada efecto es mayor si n es mayor. Si se usa una alta concentración del reactivo, se podrá hacer la extracción en una solución más ácida.

Los quelatos de diferentes metales se extraen a diferentes valores de pH; algunos en solución de ácida a alcalina, y otros sólo en solución alcalina. Si se ajusta correctamente el pH, se puede tener selectividad en la extracción. También un uso adecuado de agentes enmascarantes, que son complejantes que evitan que reaccione un metal con el quelante, puede aumentar la selectividad.

18.5 Extracción acelerada y con microondas

La **extracción acelerada con disolventes** es una técnica para extraer de manera eficiente analitos de una matriz sólida de muestra para que pase a un disolvente. La muestra y el disolvente se colocan en un recipiente cerrado y se calientan a 50 a 200°C. La alta presión permite calentar por arriba del punto de ebullición, y la alta temperatura acelera la disolución de los analitos en el disolvente. Se reducen mucho el tiempo de extracción y el volumen necesario del disolvente, en comparación con la extracción a presión atmosférica.

En la **extracción asistida con microondas** (MAE, microwave-assisted extraction) el disolvente se calienta con energía de microondas. Los compuestos de analito se separan de la matriz de la muestra y pasan al disolvente. Este método es una extensión de la digestión ácida en un recipiente cerrado que se describió en el capítulo 2. Un recipiente cerrado, que contiene la muestra y el disolvente, se coloca en un horno de microondas parecido al de la figura 2.27. La cinética de la extracción es influida por la temperatura y por la elección del disolvente o mezcla de disolventes. El calentamiento atmosférico para la extracción se limita hasta el punto de ebullición del disolvente. Las temperaturas en recipientes cerrados a 175 libras por pulgada cuadrada llegan más o menos a 150°C, en comparación con los puntos de ebullición (de 50 a 80°C) de los disolventes de uso común. Se pueden usar mezclas de disolventes, siempre que uno de ellos absorba la energía de microondas. Algunos disolventes, como el hexano, son transparentes a las microondas y no se calientan; pero una mezcla de hexano y acetona se calienta con rapidez.

El recipiente cerrado debe ser inerte a los disolventes y debe ser transparente a las microondas. El cuerpo se fabrica de polieterimida (PEI) con un forro de perfluoroalcoxi (PFA). Se pueden colocar en el horno varios recipientes con muestra al mismo tiempo para hacer extracciones múltiples.

Las extracciones con microondas también pueden hacerse a presión atmosférica, sin necesidad de recipientes a presión (véase la referencia 6). Se emplean ciclos de calenta-

miento y enfriamiento para evitar que hierva el disolvente. Con esta técnica también se reducen en forma considerable los tiempos de extracción. Para obtener más información sobre los sistemas MAE comerciales, véase www.cem.com.

18.6 Extracción en fase sólida

Las extracciones líquido-líquido son muy útiles, pero tienen ciertas limitaciones. Los disolventes para extracción se limitan a los que son inmiscibles con agua (por ejemplo, para muestras acuosas). Se tiende a formar emulsiones al agitar los disolventes, y se usan volúmenes relativamente grandes de disolventes que generan un gran problema para eliminar los desechos. Con frecuencia se hacen manualmente las operaciones, y pueden requerir una extracción de reversa.

Muchas de estas dificultades se evitan si se usa la **extracción en fase sólida** (SPE, solid-phase extraction), técnica que ha llegado a ser muy usada para depurar y concentrar muestras, en especial antes de análisis cromatográfico (capítulo siguiente). En este método se unen químicamente grupos funcionales orgánicos hidrofóbicos a una superficie sólida, por ejemplo, de sílice pulverizada. Un ejemplo frecuente es la unión de cadenas de C18 a sílice con tamaños de partícula del orden de 40 μm . Estos grupos interactúan con compuestos orgánicos hidrofóbicos a través de fuerzas de van der Waals y los extraen de una muestra acuosa que esté en contacto con la superficie sólida. Las mismas fases sólidas que se usan en cromatografía líquida de alta eficiencia (capítulo 21) se usan en la extracción en fase sólida.

En general, la fase sólida se coloca en un pequeño cartucho, semejante a una jeringa de plástico. En el cartucho se coloca la muestra y se hace pasar a través de éste mediante un émbolo (presión positiva), un vacío (presión negativa) o por centrifugación (véase la figura 18.2). Se extraen las trazas de las moléculas orgánicas, se preconcentran en la columna, y se separan de la matriz de la muestra. Después se pueden eluir con un disolvente como metanol para analizarlas, por ejemplo mediante cromatografía (capítulos 19 a 21). Antes de su análisis se pueden concentrar más evaporando el disolvente.

La naturaleza de la fase extractora puede hacerse variar para permitir la extracción de distintas clases de compuestos. La figura 18.3 ilustra las fases unidas a base de fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno (atracción dipolar) y atracción electrostática.

Cuando las partículas de sílice se enlazan a una fase hidrofóbica, se vuelven “impermeables” y se deben acondicionar para poder interactuar con muestras acuosas. Ese acondicionamiento se lleva a cabo pasando metanol o un disolvente similar a través del lecho de sorbente. El metanol penetra en la capa enlazada y permite que las moléculas de agua y analito se difundan en la fase funcionalizada. Después del acondicionamiento, se hace pasar agua para eliminar el exceso de disolvente antes de agregar la muestra.

En la extracción en fase sólida, las cadenas unidas de C_{18} hacen el papel del disolvente orgánico.

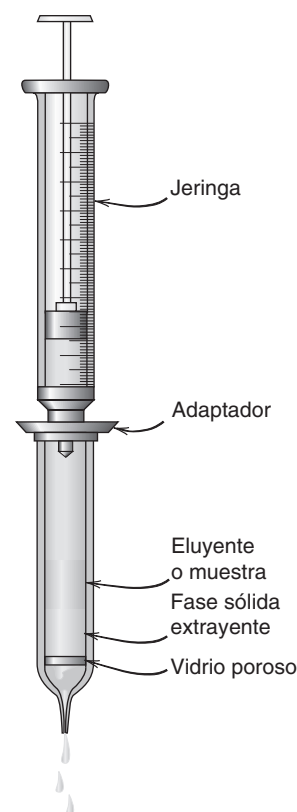


Figura 18.2. Cartucho con fase sólida y jeringa para elución a presión positiva.

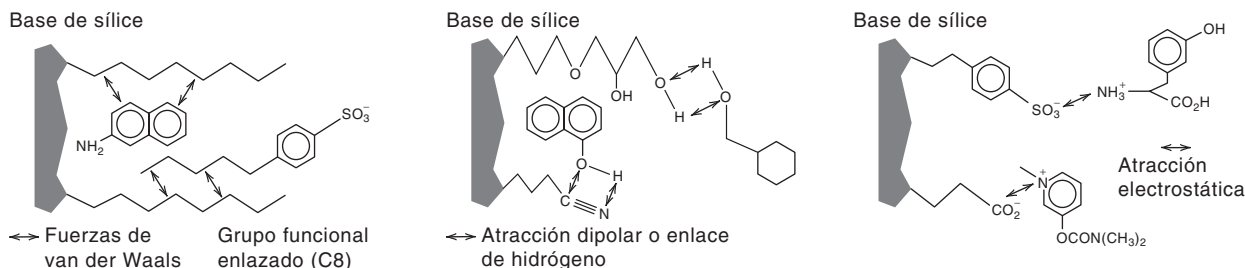


Figura 18.3. Lechos para extracción en fase sólida donde se usan interacciones no polares, polares y electrostáticas. (Adaptado de N. Simpson, *Am. Lab.*, agosto de 1992, p. 37. Reproducción autorizada por American Laboratory, Inc.)

La figura 18.4 ilustra una secuencia típica de extracción en fase sólida. Después del acondicionamiento, el analito y otros componentes de la muestra son adsorbidos en el lecho sorbente de extracción. Con una etapa de lavado se eliminan algunos de los componentes no deseados, en tanto que la elución remueve el analito que se desea, quizá dejando atrás otros componentes dependiendo de las intensidades relativas de interacción con la fase sólida o de la solubilidad en el disolvente de elución. Este procedimiento es el que sigue la Agencia de Protección Ambiental estadounidense (EPA) para determinar compuestos orgánicos en agua potable (referencia 9).

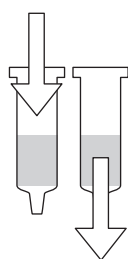
CARTUCHOS PARA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)

El sorbente para extracción en fase sólida (SPE) se encuentra preempacado en tubos de polipropileno para jeringa, normalmente con 500 mg de empaque en jeringas cuyos barriles son de 3 o 5 mL. Se han vuelto más populares jeringas más pequeñas, de 1 mL, empacadas con 100 mg, por el menor tamaño de muestra, la menor cantidad de disolvente necesario y los menores tiempos de limpieza; incluso hay empaques menores, de 10 mg. Naturalmente, estos empaques más pequeños tienen menor capacidad. Se podrán necesitar empaques mayores para preparar grandes volúmenes de muestras del medio ambiente, como las de agua contaminada que tiene grandes cantidades de contaminantes por eliminar.

Los cartuchos SPE se usan para aislar y concentrar drogas obtenidas de muestras biológicas y se suelen procesar en lotes de 12 a 24 usando un sistema de vacío múltiple (figura 18.5). Se trata de sistemas automáticos de manejo de líquidos para mejorar la eficiencia.

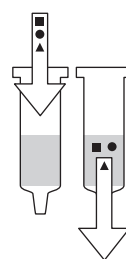
PUNTAS DE PIPETA SPE

Se ha automatizado la extracción en fase sólida. Los primeros sistemas usaban sistemas robóticos y después sistemas automáticos xyz para manejo de líquidos. Los sistemas automáticos para manejar líquidos se diseñaron para manejar puntas de pipeta con las que se dosifican líquidos. Entonces se introdujeron las puntas de pipeta para SPE (figura 18.6),



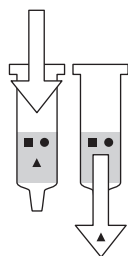
ACONDICIONAMIENTO

Al acondicionar el sorbente antes de la aplicación a la muestra se asegura una retención reproducible del compuesto de interés (el "aislado").



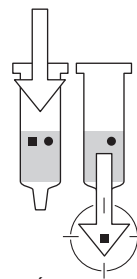
RETENCIÓN

- "Aislado" adsorbido
- Componentes no deseados de la matriz
- ▲ Otros componentes de la matriz indeseables



LAVADO

- ▲ Lavado de las columnas para eliminar los componentes no deseados de la matriz



ELUCIÓN

- Los componentes no deseados se retienen
- El "aislado", ya purificado y concentrado, queda listo para su análisis

Figura 18.4. Principios de la extracción en fase sólida. (Según N. Simpson, *Am. Lab.*, agosto de 1992, p. 37. Reproducción autorizada por American Laboratory, Inc.)

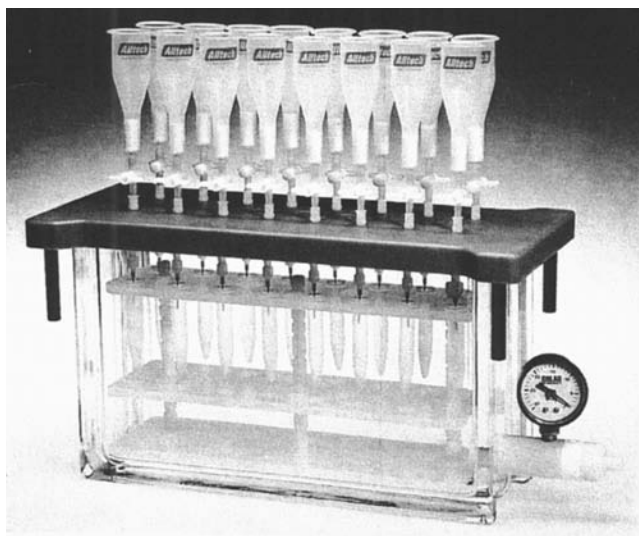


Figura 18.5. Sistema de vacío múltiple con 16 conexiones para usarlo con tubos de extracción en fase sólida. (Cortesía de Alltech.)

que se usan en sistemas automáticos. Esas puntas de pipeta se pueden usar con pipeteadores multicanales (véase capítulo 2). El flujo puede ser bidireccional, con las muestras líquidas succionándose desde el fondo y el eluyente dosificándose desde arriba. Existen puntas comerciales preparadas para aplicaciones específicas. Por ejemplo, se puede usar la punta Millipore ZipTipC₄ para desalinizar 1 μL de 100 femtomoles (10^{-15} moles) de péptidos antes de analizarlos por cromatografía de líquidos-espectrometría de masas. Las puntas de pipeta sólo se usan una vez y se desechan para eliminar cualquier problema de contaminación cruzada. Véase la página Web de EST Analytical, con ejemplos de separaciones donde se usan puntas de pipeta SPE; en www.estanalytical.com se ilustran cromatogramas de gases de muestras complejas purificadas.

DISCOS SPE

La pequeña área transversal de las puntas de pipetas SPE tiende a taparse con muestras de proteína. Entonces, también se ofrecen extrayentes de fase sólida en forma de filtro (discos de extracción) en los que se encuentran inmersas partículas de sílice de 8 μm en una red de fibrillas de PTFE [poli(tetrafluoroetileno)]. También se consiguen discos a base de fibra de vidrio, que son más rígidos. La mayor área transversal de los discos, con sus menores profundidades de lecho, permite mayores flujos para manejar muestras grandes con bajas concentraciones de analito, como las que suelen encontrarse en el análisis de medio ambiente. Los discos son menos propensos a las canalizaciones que los cartuchos empacados. Tienden a taparse si las muestras contienen partículas de materia, por lo que se puede usar un prefiltro. Los cartuchos de disco también se encuentran disponibles para que operen como cartucho normal.

PLACAS SPE DE 96 POZOS

La combinación de cromatografía de líquidos con espectrometría de masas (véase capítulo 21) se usa mucho en el análisis rápido y selectivo de medicamentos, y se pueden correr muestras en 1 a 3 minutos. En este caso se requieren formas más rápidas para depurar muestras que permitan procesar grandes cantidades. Para ello, se usan con frecuencia placas con 96 pozos (llamadas placas de microtitulación) para procesar grandes cantidades de muestras en instrumentos automáticos.

Se han diseñado sistemas de extracción en fase sólida en un formato de placas de microtitulación con 96 pozos para poder procesarlas automáticamente. Las placas en un bloque con 96 pozos contienen lechos o discos empacados con partículas de disolvente en

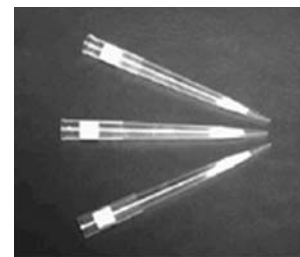


Figura 18.6. Puntas desechables para pipeta de extracción en fase sólida. [Cortesía de EST Analytical (www.estanalytical.com).]

un agrupamiento rectangular de 8 filas $\times$ 12 columnas (véase figura 18.7). Las placas descansan sobre un sistema de recolección para placas de 96 pozos. La química es la misma que en los formatos anteriores. Se procesan las muestras con un sistema de vacío o una centrífuga usando un portamicroplacas. Las columnas SPE son de 1 a 2 mL, con 10 a 100 mg de empaque con partículas de sorbente. La masa del lecho determina el disolvente y los volúmenes de elución, igual que la capacidad de componentes de analito y matriz de muestra. Se debe usar el menor lecho posible con el que se alcance la capacidad adecuada. Con ello se minimizan los tiempos de extracción, y los menores volúmenes de elución requieren menos tiempo para evaporarse antes de reconstituirlos y analizarlos.

Para aprovechar de manera óptima los procedimientos de extracción en fase sólida es necesario investigar distintas fases estacionarias, sus masas, los volúmenes de acondicionamiento, la carga de muestra, los disolventes de lavado y elución, y el tamaño de la muestra. Estas variables se estudian con facilidad en el formato de la columna. Pero es costoso o inconveniente usar sólo una fracción de las 96 cavidades para hacer todos los estudios. Por lo mismo, se han desarrollado placas modulares con cavidades que tienen pequeños cartuchos SPE de plástico desmontables que se ajustan estrechamente a la placa de base de 96 pozos y sólo se utiliza una parte para desarrollar determinado método.

OTROS SORBENTES PARA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

Existen sorbentes de cadena larga (C_{20} y C_{30}) para aislar moléculas hidrofóbicas. Se han desarrollado “sorbentes universales” que fijan grupos de compuestos estructuralmente similares. Un ejemplo se aprecia en la figura 18.8a, el cual se encuentra conformado por un polímero sintético de N_2 -vinilpirrolidona (la mitad superior de la molécula) y por divinilbenceno (la mitad inferior). Éste proporciona hidrofilia para humedecerse e hidrofobia para retener al analito. Una versión sulfonada, mostrada en la figura 18.8b, consta de un sorbente mixto que tiene propiedades tanto de intercambio iónico como de extracción por disolventes, y cuenta con la capacidad de retener varios medicamentos ácidos, neutros y básicos. Estos sorbentes susceptibles de humedecerse no requieren acondicionamiento.

BASES POLIMÉRICAS

Además de las partículas normales a base de sílice para SPE, también se usan soportes a base de polímero. Tienen la ventaja de ser estables dentro de amplios intervalos de pH y no poseen grupos de sílice residual que puedan interactuar, por ejemplo, con iones metá-

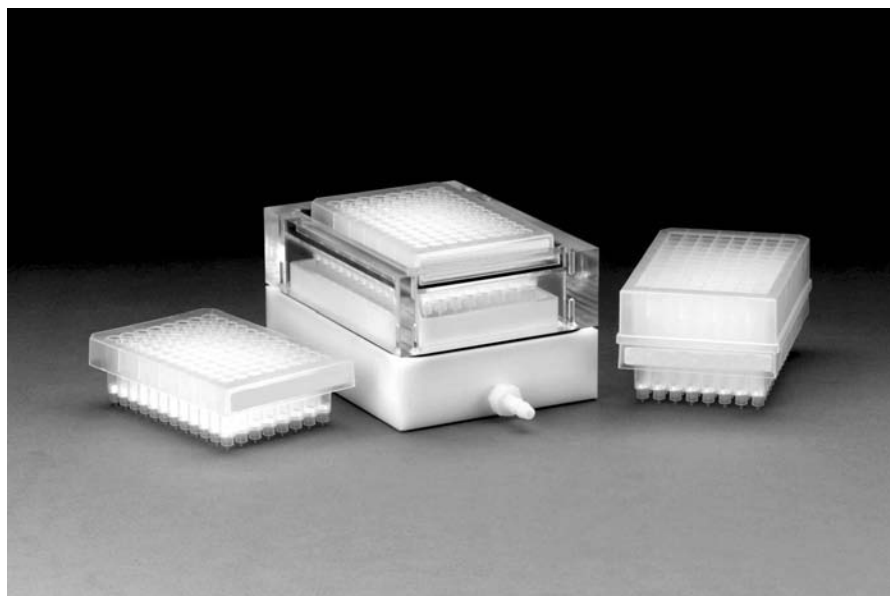


Figura 18.7. Placas de extracción con 96 pozos y sistema de vacío con plato de recolección.

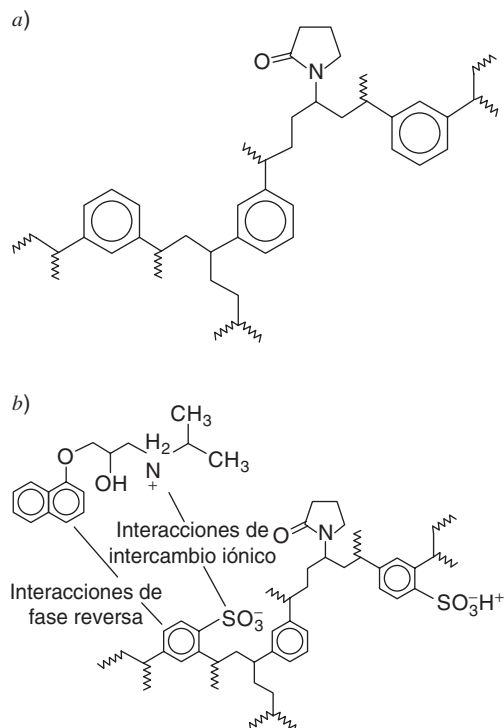


Figura 18.8. “Sorbentes universales”: estructuras químicas de sorbentes poliméricos: a) HLB y b) MXC Oasis, de Waters. La estructura superior en b) es el medicamento propanolol básico, con el que se muestra la interacción entre medicamento y sorbente. [Según D. A. Wells, *LC.GC*, 17(7) (1999) 600. Reproducción autorizada por LC.GC.]

licos u otras especies catiónicas. Las partículas son esféricas, en tanto que las partículas SPE a base de sílice tienen forma irregular; además, las partículas poliméricas se diseñaron para que pudieran humedecerse. En general, tienen mayor capacidad que las partículas a base de sílice.

FASES DUALES

El uso de dos fases diferentes puede ampliar la variedad de compuestos extraídos. Se usan tres tipos: fases de modo mezclado, estratificado y apilado. En el primer modo se mezclan en el cartucho dos tipos diferentes de fases químicamente adheridas. Un ejemplo es una mezcla de partículas de C8 y de partículas intercambiadoras de cationes. En el modo estratificado, las dos fases se empaican una sobre otra. Las fases apiladas usan dos cartuchos en serie para obtener mejores separaciones. Los dos primeros modos se adaptan con más facilidad a la automatización, porque sólo se usa un cartucho.

MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME)

La **microextracción en fase sólida** (SPME, solid-phase microextraction) es una técnica de extracción sin disolvente que suele usarse para recolectar analitos para determinaciones por cromatografía de gases (véase capítulo 20), y está basada en la adsorción. Se recubre una fibra de sílice fundida con un adsorbente sólido o un polímero inmovilizado, o con una combinación de ambos. En la figura 18.9 se muestra una fibra para microextracción en fase sólida. Las dimensiones de la fibra son en general de 1 cm × 110 μm. La fibra se introduce en un aparato con aguja de jeringa. Con la microextracción en fase sólida pueden muestrearse matrices sólidas, líquidas o gaseosas. La fibra se expone a una muestra gaseosa o líquida o al espacio libre ubicado inmediatamente arriba de una muestra sólida o líquida, durante un tiempo y temperatura definidos; con frecuencia se agitan las muestras para aumentar la eficiencia de adsorción del analito. Después de la adsorción, el analito se desadsorbe térmicamente, por lo regular de manera directa en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases para que ingrese en su columna.

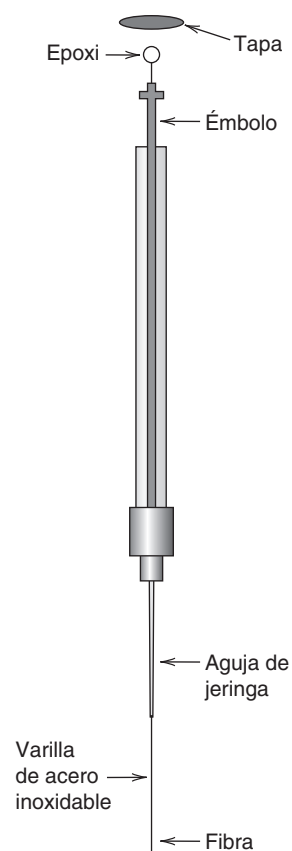


Figura 18.9. Esquema de un aparato para microextracción en fase sólida. [Según C. L. Arthur, D. W. Potter, K. D. Buchholz, S. Motlagh y J. Pawliszn, *LC.GC*, 10(9) (1992) 656. Reproducción autorizada por LC.GC.]

Hay un número limitado de adsorbentes. Uno muy utilizado es el poli(dimetilsiloxano), el cual es útil para seleccionar saborizantes volátiles para bebidas, alimentos y productos afines. Para los compuestos volátiles no polares se usa una capa de $100\ \mu\text{m}$. Otro ejemplo es el de una capa de poliacrilato de $85\ \mu\text{m}$. Es relativamente no polar debido a la presencia de grupos metilo. Es más polar debido a la presencia de grupos carbonilo, por lo que extrae compuestos polares semivolátiles.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Coeficiente de distribución, relación de distribución (ecuaciones clave: 18.1, 18.3, 18.8), pp. 541 y 542
- Porcentaje extraído (ecuación clave: 18.10), p. 543
- Extracción con disolventes de complejos y quelatos de iones metálicos, p. 544
- Extracción acelerada con disolventes y con microondas, p. 546
- Extracción en fase sólida, p. 547
- Microextracción en fase sólida, p. 551

Preguntas

1. ¿Qué es el coeficiente de distribución? ¿Y la relación de distribución?
2. Sugerir un método para separar anilina, $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$, que es una base orgánica, a partir de nitrobenzono, $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ (¡extremadamente tóxico!).
3. Describir dos de los principales sistemas de extracción con disolventes para iones metálicos. Dar ejemplos de cada uno.
4. Describir los procesos de equilibrio que intervienen en la extracción de quelatos metálicos con disolventes.
5. ¿Cuál es la máxima concentración de un quelato metálico que puede extraerse con un disolvente orgánico? ¿Y la concentración mínima?
6. Describir el efecto del pH y de la concentración del reactivo sobre la extracción de quelatos metálicos con disolventes.
7. ¿Cuál es la base de la extracción acelerada con disolventes?
8. ¿Cuál es la base de la extracción asistida con microondas?
9. ¿En qué difiere la extracción en fase sólida de la extracción con disolventes?
10. ¿Qué es microextracción en fase sólida?

Problemas

EFICIENCIAS DE EXTRACCIÓN

11. Deducir la ecuación 18.10 a partir de la ecuación 18.9.
12. Al deducir la ecuación 18.8 no se consideró que el ácido benzoico forma parcialmente un dímero en la fase orgánica ($2\text{HBz} \rightleftharpoons (\text{HBz})_2$; $K_p = [(\text{HBz})_2]/(\text{HBz})^2$, siendo K_p la constante de dimerización). Deducir una ecuación de la relación de distribución que tome en cuenta lo anterior.
13. De 100 mL de una solución, se extrae 96% de un soluto con dos porciones de 50 mL de un disolvente orgánico. ¿Cuál es la relación de distribución del soluto?

14. La relación de distribución del PdCl_2 entre HCl 3 *M* y fosfato de tri-*n*-butilo es 2.3. ¿Qué porcentaje de PdCl_2 será extraído de 25.0 mL de una solución 7.0×10^{-4} *M* pasándolos a 10.0 mL de fosfato de tri-*n*-butilo?
15. Se extrae 90% de un quelato metálico cuando se usan volúmenes iguales de fases acuosa y orgánica. ¿Cuál será el porcentaje extraído si el volumen de la fase orgánica aumenta al doble?

EXTRACCIONES MÚLTIPLES

16. Sustentar, mediante cálculos para un soluto con relación de distribución de 25.0, qué es más efectivo, si una extracción de 10 mL de una solución acuosa con 10 mL de disolvente orgánico o la extracción con dos porciones separadas de 5.0 mL de disolvente orgánico.
17. Se extrae 70% de arsénico(III) de HCl 7 *M* con un volumen igual de tolueno. ¿Qué porcentaje quedará sin extraer después de haber hecho tres extracciones individuales con tolueno?

Referencias recomendadas

EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES

1. G. H. Morrison y H. Freiser, *Solvent Extraction in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1957. Un clásico. Se explica con detalle la extracción de metales.
2. J. Stary, *The Solvent Extraction of Metal Chelates*, Nueva York: Macmillan, 1964.

EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES, ACELERADA Y CON MICROONDAS

3. B. E. Richter, B. A. Jones, J. L. Ezzell, N. L. Porter, N. Avdalovic y C. Pohl, Jr., "Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation", *Anal. Chem.* **68** (1996) 1033.
4. A. Zlotorzynski, "The Application of Microwave Radiation to Analytical and Environmental Chemistry", *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **25** (1997) 43.
5. Zu B. W. Renoe, "Microwave Assisted Extraction", *Am. Lab.*, agosto (1994) 34.
6. K. Ganzler, A. Salgo y K. Valco, "Microwave Extraction. A Novel Sample Preparation Method for Chromatography", *J. Chromatogr.*, **371** (1986) 371.

EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

7. N. J. K. Simpson, ed., *Solid-Phase Extraction, Principles, Techniques, and Applications*, Nueva York: Marcel Dekker, 2000.
8. J. S. Fritz, *Analytical Solid-Phase Extraction*, Nueva York: Wiley-VCH, 1999.
9. *Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water* (Suplemento 1), Cincinnati Environment Monitoring Systems Laboratory, Office of R&D, U. S. Environmental Protection Agency, 1990.

MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

10. SPME Applications Guide, Supelco (www.sigma-aldrich.com). Más de 600 referencias, clasificadas de acuerdo con aplicación, analito/matriz y condición de extracción.

11. S. B. Hawthorn, D. J. Miller, J. Pawliszyn y C. L. Arthur, "Solventless Determination of Caffeine in Beverages Using Solid Phase Microextraction with Fused Silica Fibers", *J. Chromatogr.*, **603** (1991) 185.
12. C. Arthur, L. Killiam, K. Buchholz y J. Pawliszyn, "Automation and Optimization of Solid Phase Microextraction", *J. Anal. Chem.*, **64** (1992) 1960.
13. Z. Zhang y J. Pawliszyn, "Headspace Solid Phase Microextraction", *Anal. Chem.*, **65** (1993) 1843.
14. J. Pawliszyn y R. M. Smith, eds., *Applications of Solid Phase Microextraction*, Berlín: Springer, 1999.
15. S. A. S. Wercinski, ed., *Solid Phase Microextraction. A Practical Guide*, Nueva York: Marcel Dekker, 1999.

Capítulo diecinueve

CROMATOGRAFÍA: PRINCIPIOS Y TEORÍA



Tswett, un científico ruso, informó en 1906 acerca de la separación de los componentes de diferentes colores procedentes de hojas al hacer pasar un extracto de éstas a través de una columna de carbonato de calcio, alúmina y sacarosa. Acuñó el término **cromatografía** con las palabras griegas que significan “color” y “escribir”. Los experimentos originales de Tswett pasaron casi inadvertidos en las publicaciones durante décadas, pero finalmente se desarrollaron otros métodos y hoy existen varios tipos diferentes de cromatografía. En la actualidad se interpreta la cromatografía como la separación de componentes de una muestra al distribuirse entre dos fases: una estacionaria y otra móvil, que por lo regular, pero no necesariamente, se hace en una columna.

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) ha propuesto una definición de cromatografía: “cromatografía es un método físico de separación, en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una estacionaria (fase estacionaria) y otra que se mueve (fase móvil) en una dirección definida” [L. S. Ettre, “Nomenclature for Chromatography,” *Pure & Appl. Chem.*, **65**(4) (1993) 819-872]. La fase estacionaria suele estar en una columna, pero puede tener otras formas, como una fase plana (una hoja, por ejemplo). Las técnicas cromatográficas han sido más valiosas que cualquier otra en la separación y el análisis de mezclas muy complejas, y han revolucionado las posibilidades de la química analítica. En este capítulo se presentarán los conceptos y principios de la cromatografía, incluyendo sus diversos tipos, y se describirá la teoría del proceso cromatográfico en columnas.

Los dos tipos principales de cromatografía son la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía de líquidos (LC). En la cromatografía de gases se separan sustancias gaseosas con base en su adsorción o partición en una fase estacionaria a partir de una fase gaseosa, y se describirá en el capítulo 20. La cromatografía de líquidos comprende técnicas como la de exclusión de tamaño (separación basada en el tamaño molecular), de intercambio iónico (separación basada en cargas eléctricas) y de cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC, high-performance liquid chromatography), basada en la adsorción o separación de una fase líquida. Éstas se presentarán en el capítulo 21, junto con la cromatografía en capa delgada (TLC, thin-layer chromatography), una forma plana de LC, y la electroforesis, donde la separación en un gradiente eléctrico se basa en el signo y la magnitud de la carga del soluto.

Las formas más usadas de cromatografía son la CG (cromatografía de gases) y la HPLC (cromatografía de líquidos de alta eficiencia).

Nacimiento de la cromatografía moderna de líquidos y de gases

En junio de 1941, los químicos ingleses A. J. P. Martin y R. L. M. Synge presentaron, en Londres, un trabajo en el marco de una reunión de la Sociedad de Bioquímica acerca de la separación de ácidos monamino monocarboxílicos en madera usando una nueva técnica de cromatografía líquido-líquido, llamada cromatografía de partición. Los detalles se publicaron en *Biochem. J.*, **35** (1941) 91. Por este trabajo recibieron el Premio Nobel de Química en 1952 (www.almz.com/nobel). En un segundo trabajo indicaron que “La fase móvil no necesita ser un líquido, sino que puede ser un vapor...” y que “por consiguiente, deben poderse llevar a cabo separaciones muy refinadas de sustancias volátiles en columnas en las que se tenga un flujo permanente de gas sobre un gel impregnado con un disolvente no volátil”. Pero estos trabajos pasaron inadvertidos durante la Segunda Guerra Mundial, periodo durante el cual muchas bibliotecas no recibieron revistas científicas, y no fue sino hasta 1950 que Martin, junto con A. T. James, un joven colega, demostraron con éxito la “cromatografía de partición líquido-gas” en el encuentro de octubre de la Sociedad de Bioquímica [A. T. James y A. J. P. Martin, *Biochem. J. Proc.*, **48**(1) (1950) vii.] Así nacieron dos de las técnicas analíticas más poderosas que se usan en la actualidad. Véase L. S. Ettre, “The Birth of Partition Chromatography”, *LC-GC*, **19**(5) (2001) 506, con una fascinante reseña histórica de estos desarrollos.

19.1 Principios de las separaciones cromatográficas

Un soluto está en equilibrio entre una fase móvil y una estacionaria. Cuanto más interactúe con la fase estacionaria, más lentamente se moverá a través de una columna.

Si bien los mecanismos de retención en los diversos tipos de cromatografía difieren, todos se basan en establecer un equilibrio entre una fase estacionaria y una fase móvil. En la figura 19.1 se ilustra la separación de esos componentes en una columna cromatográfica. Se coloca un pequeño volumen de la muestra en la parte superior de la columna, llena con



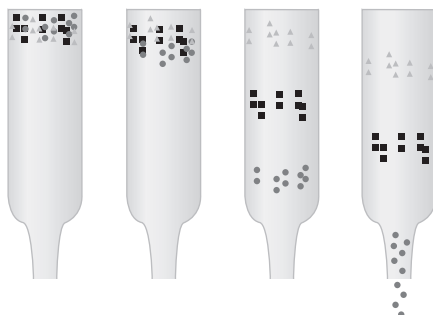


Figura 19.1. Principio de las separaciones cromatográficas.

partículas cromatográficas (fase estacionaria) y disolvente. Se agrega la fase móvil de disolvente a la columna y se deja que salga lentamente por su parte inferior. Los componentes individuales interactúan con la fase estacionaria con diversas intensidades,

$$X_m \rightleftharpoons X_s \quad (19.1)$$

El equilibrio de distribución se define con la constante de distribución

$$K_c = \frac{[X]_s}{[X]_m} \quad (19.2)$$

donde $[X]_s$ es la concentración del componente X sobre o en la fase estacionaria, y $[X]_m$ es su concentración en la fase móvil. Esta constante de equilibrio está gobernada por la temperatura, la clase de compuesto y las fases estacionaria y móvil. También se llama coeficiente de distribución o coeficiente de partición en la cromatografía de partición. Los solutos con un valor grande de K_c serán retenidos con mayor fuerza por la fase estacionaria que los que tienen un valor pequeño. Como resultado, estos últimos avanzarán por la columna (serán eluidos) con mayor rapidez. Debido a que no se alcanza un equilibrio verdadero entre las dos fases, habrá algo de retraso de las moléculas de analito entre ellas, lo cual dependerá de la rapidez de flujo de la fase móvil y del grado de interacción con la fase estacionaria; el resultado será el ensanchamiento de la banda. La figura 19.2 muestra la distribución de dos especies, A y B, a lo largo de una columna al bajar por ella. Si se mide la concentración de las moléculas eluidas al salir de la columna y se grafica en función del tiempo o del volumen de fase móvil que pasó por la columna, el resultado será un cromatograma. Obsérvese que a medida que las sustancias bajan por la columna cada banda se ensancha más; las áreas bajo los máximos permanecen constantes. Los efectos del ensanchamiento de bandas se explicarán más adelante. En la cromatografía moderna se coloca un detector al

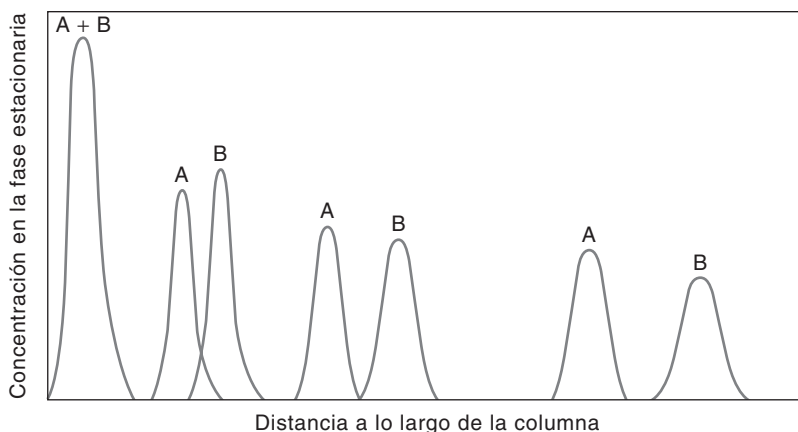


Figura 19.2. Distribución de dos sustancias, A y B, a lo largo de una columna cromatográfica en una separación cromatográfica típica.

final de la columna que mida automáticamente los compuestos eluidos e imprima un cromatograma de los máximos correspondientes a las sustancias separadas.

Aunque hay diversas formas de cromatografía, este modelo simplificado tipifica el mecanismo de cada una; es decir, *nominalmente hay equilibrio entre dos fases, una móvil y una estacionaria* (nunca se alcanza realmente el equilibrio). Al agregar continuamente más fase móvil, los analitos se distribuirán entre las dos fases y terminarán por ser eluidos, y si la distribución es lo suficientemente distinta para las diversas sustancias, terminarán por separarse.

19.2 Clasificación de las técnicas cromatográficas

Los procesos cromatográficos se pueden clasificar de acuerdo con el proceso de equilibrio que se maneje, el cual estará gobernado por la fase estacionaria. Algunas bases para el equilibrio son: 1) adsorción, 2) partición, 3) intercambio iónico y 4) penetración en poros.

CROMATOGRAFÍA DE ADSORCIÓN

La fase estacionaria es un sólido sobre el que se adsorben los componentes de la muestra. La fase móvil puede ser un líquido (*cromatografía líquido-sólido*) o un gas (*cromatografía gas-sólido*); los componentes se distribuyen entre las dos fases por una combinación de procesos de sorción y desorción. La cromatografía en capa delgada (TLC, thin-layer chromatography) es un ejemplo especial de cromatografía de adsorción donde la fase estacionaria es un *plano* en la forma de un sólido soportado sobre una placa inerte, y la fase móvil es un líquido.

CROMATOGRAFÍA DE PARTICIÓN

La fase estacionaria en la cromatografía de partición es un líquido soportado en un sólido inerte. Aquí la fase móvil también puede ser un líquido (*cromatografía de partición líquido-líquido*) o un gas (*cromatografía gas-líquido*, GLC).

En la cromatografía de fase normal se separan los componentes polares sobre una fase estacionaria polar. En la cromatografía de fase inversa, los compuestos no polares se separan en una fase estacionaria no polar. ¡Esta última es más común!

En el modo normal de operaciones de la partición líquido-líquido se usa una fase estacionaria polar (como metanol sobre sílice) con una fase móvil no polar (como hexano). Esto favorece la retención de compuestos polares y la elución de compuestos no polares, y se denomina **cromatografía de fase normal**. Si se usa una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar, entonces se retienen más los solutos no polares y los solutos polares se eluyen con mayor facilidad. A esto se le llama **cromatografía de fase inversa** o **reversa**, y en realidad es la más común.

CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO Y DE EXCLUSIÓN DE TAMAÑO

En la cromatografía de intercambio iónico se usa una resina de intercambio iónico como fase estacionaria. El mecanismo de separación se basa en equilibrios de intercambio iónico. En la cromatografía de exclusión de tamaño se separan moléculas solvatadas de acuerdo con su tamaño gracias a su facilidad de penetrar en una estructura como la de una criba (la fase estacionaria).

Las anteriores son clasificaciones arbitrarias de las técnicas cromatográficas. Algunos tipos de cromatografía, al conjuntarse, se consideran una técnica aparte, como la *cromatografía de gases*, que puede considerarse como una cromatografía gas-sólido o una gas-líquido. En cualquier caso los equilibrios sucesivos que operan son los que determinan hasta qué grado el analito se atrasa o se mueve con el eluyente (fase móvil). En la cromatografía en columna, la columna puede empacarse con partículas pequeñas que constituyen

la fase estacionaria (cromatografía de adsorción), o recubierta con una capa delgada de fase líquida (cromatografía de partición). En la cromatografía de gases, la forma más común en la actualidad es una columna capilar, en la que micropartículas o un líquido recubren la pared interna del tubo capilar. En el capítulo 20 se verá que esto da por resultado una eficiencia de separación muy pronunciada.

Nomenclatura y términos en cromatografía

En las descripciones fundamentales que siguen se usarán los símbolos y términos recomendados por IUPAC, publicados en 1993 (referencia 5). La lista es muy extensa: 54 páginas. L. S. Ettre, quien dirigió al comité de IUPAC, publicó una lista abreviada de símbolos y los cambios más importantes respecto del uso tradicional [L. S. Ettre, “The New IUPAC Nomenclature for Chromatography”, *LC.GC*, **11**(7) (julio) (1993) 502.] Majors y Carr publicaron el útil y actualizado trabajo “Glossary of Liquid-Phase Separation Terms”, R. E. Majors y P. W. Carr, *LC.GC*, **19**(2) (febrero) (2001) 124, www.chromatographyonline.com. El texto completo también se puede consultar en www.zirchrom.com/pdf/glossary.pdf. En él se incorporaron los términos recomendados por IUPAC.

En la tabla siguiente se presentan algunos de los términos anteriores y los términos recomendados:

<i>Anterior</i>		<i>Nuevo</i>	
<i>Símbolo</i>	<i>Término</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Término</i>
α	Factor de selectividad	α	Factor de separación
HETP	Altura equivalente a un plato teórico	H	Altura de plato
k'	Factor de capacidad	k	Factor de retención
n	Número de platos teóricos	N	Eficiencia, número de platos
n_{efec}	Número efectivo de platos teóricos	N_{efec}	Platos teóricos efectivos; número de platos efectivos
t_m	Tiempo muerto de fase móvil	t_M	Tiempo muerto de la fase móvil
t_r	Tiempo de retención	t_R	Tiempo de retención
t'_r	Tiempo de retención corregido	t'_R	Tiempo de retención corregido
w	Ancho de la base del máximo	w_b	Ancho de banda del máximo

Además de esos términos, en el capítulo se usarán varios más para describir las propiedades de la cromatografía de gases y de líquidos. Estos términos se resumen a continuación, como referencia.

A = término de difusión por arremolinamiento = $2\lambda d_p$
 λ = factor de empaquetamiento
 d_p = diámetro de partícula promedio

B = término de difusión longitudinal = $2\gamma D_M$

γ = factor de obstrucción

D_M = coeficiente de difusión

C = término de transferencia de masas entre fases = $\frac{1}{6} \frac{d_p^2}{D_M}$

C_m = término de transferencia de masa en fase móvil

C_s = término de transferencia de masa en fase estacionaria

L = longitud de la columna

u = velocidad lineal de la fase móvil, cm/s

$\bar{u}$ = velocidad lineal promedio de la fase móvil, cm/s

v = velocidad reducida

h = altura de plato reducida

R_s = resolución

19.3 Teoría de la eficiencia de la columna cromatográfica

El ensanchamiento de banda que se presenta en la cromatografía en columna es resultado de varios factores que influyen sobre la eficiencia de las separaciones. Es posible describir cuantitativamente la eficiencia de una columna y evaluar los factores que contribuyen a esto.

PLATOS TEÓRICOS

Un plato teórico representa una sola etapa de equilibrio. Cuantos más platos teóricos haya, el poder de resolución será mayor y será mayor el número de etapas de equilibrio.

La eficiencia de separación de una columna se puede expresar en función del número de platos teóricos que posee. Un plato teórico es un concepto definido derivado de la teoría de la destilación, y en cromatografía se puede concebir como una de las etapas de equilibrio. En realidad, los platos teóricos son una medida de la eficiencia de una columna. Para que la eficiencia sea grande es necesario un número elevado de platos. La **altura de plato**, H , equivale a la longitud de una columna dividida entre el número de platos teóricos. Entonces, para evitar que la columna sea larga, H debe ser tan corta (delgada o pequeña) como sea posible. Estos conceptos se aplican a todas las formas de cromatografía en columna, si bien los parámetros se determinan con mayor facilidad en la cromatografía de gases.

En forma experimental, la altura de plato es una función de la varianza, σ^2 , de la banda cromatográfica y de la distancia, x , que ha recorrido por la columna, y está dada por σ^2/x ; σ es la desviación estándar del máximo cromatográfico de Gauss, y es igual al ancho del máximo en la porción con mayor pendiente de la curva (el punto de inflexión). El ancho a la mitad de la altura, w_h , corresponde a 2.35σ , y el ancho de la base del máximo, w_b , es igual a 4σ (véase figura 19.3). El número de platos, N , para un soluto que se eluye a través de una columna de longitud L es $L/H = Lx/\sigma^2 = L^2/\sigma^2$ (para toda la longitud de la columna: $x = L$) = $16 L^2/w_b^2$.

Se puede calcular el **número de platos** o **eficiencia** de un cromatograma con la ecuación:

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2 \quad (19.3)$$

donde N es el número de platos de una columna *con respecto a determinado compuesto*; t_R es el *tiempo de retención* y w_b es el ancho del máximo medido en la base, en las mismas

Cuanto más angosto sea el máximo, mayor será el número de platos.

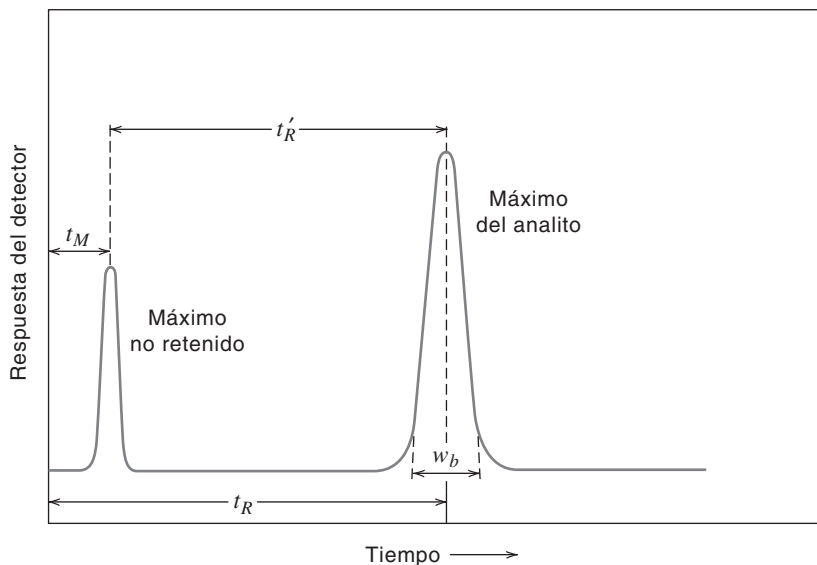


Figura 19.3. Determinación del número de platos.
 $w_b = 4\sigma$.

unidades que t_R . Todo lo anterior se ilustra en la figura 19.3. El *volumen de retención* V_R se puede usar en lugar de t_R . Se debe notar que w no es el ancho de la base del máximo, sino el obtenido a partir de la intersección en el eje de las abscisas con tangentes trazadas en los puntos de inflexión a cada lado del máximo.

Un método alternativo para estimar el número de platos es partir del ancho del máximo medido a la mitad de su altura, w_h :

$$N = \frac{5.545 t_R^2}{w_h^2} \quad (19.4)$$



Ejemplo 19.1

Calcular el número de platos en la columna que genera el máximo cromatográfico de la figura 19.3.

Solución

Al medir con una regla, $t_R = 52.3$ mm, y $w_b = 9.0$ mm

$$N = 16 \left(\frac{52.3}{9.0} \right)^2 = 54_0$$

Como se verá adelante, no se trata de una columna muy eficiente.

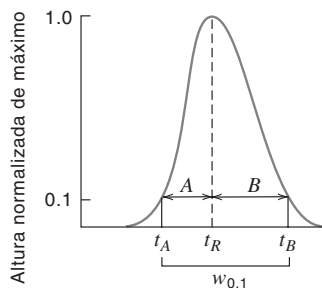


El *número efectivo de platos* corrige los platos teóricos por volumen muerto (o vacío), por lo que es una medida del número real, útil, de platos en una columna:

$$N_{\text{efec}} = 16 \left(\frac{t'_R}{w_b} \right)^2 \quad (19.5)$$

en donde t'_R es el *tiempo de retención corregido*.

$$t'_R = t_R - t_M \quad (19.6)$$



Máximo asimétrico y términos de la ecuación de Foley-Dorsey.

y t_M es el tiempo que requiere la fase móvil para atravesar la columna, que corresponde con el tiempo que tardaría en aparecer un soluto que no se retuviera. En cromatografía de gases con frecuencia aparece un máximo de aire no retenido, inyectado con la muestra, y el tiempo que tarda en aparecer se toma como t_M .

En las ecuaciones anteriores se supone que el máximo tiene forma de campana de Gauss, como en la figura 19.3, y la posición de su máximo es la que se toma para los cálculos. Para los máximos asimétricos (con cola prolongada) es mejor determinar la eficiencia con el centroide del máximo y con la varianza, mediante un análisis matemático como el que describe la *ecuación de Foley-Dorsey* [J. P. Foley y J. G. Dorsey, "Equations for Calculation of Figures of Merit for Ideal and Skewed Peaks", *Anal. Chem.*, **55** (1983) 730-737]. Estos autores dedujeron ecuaciones empíricas basadas sólo en el tiempo de retención medible gráficamente, t_R , un ancho del máximo a 10% de su altura, $w_{0.1}$, y el *factor de asimetría* empírico, A/B . $A + B = w_{0.1}$, y son los anchos a partir de t_R a la izquierda y la derecha, respectivamente, del máximo asimétrico. (Cuando el máximo es simétrico, $A = B = \frac{1}{2}$ del ancho del máximo a 10% de su altura.)

Foley y Dorsey derivaron el número de platos teóricos:

$$N_{\text{sis}} = \frac{41.7(t_R/w_{0.1})^2}{A/B + 1.25} \quad (19.7)$$

Esta ecuación corrige el tiempo de retención y el número de platos para máximos que prolongan su cola, así como el ensanchamiento debido a fuentes exteriores a la columna.

Para un máximo simétrico ($A/B = 1$) lo anterior se vuelve $N_{\text{sis}} = 18.53(t_R/w_{0.1})^2$, que se acerca a la ecuación teórica de $N_{0.1} = 18.42(t_R/w_{0.1})^2$; es decir, la ecuación es válida para máximos ideales y también asimétricos.

Una vez conocido el número de platos se puede obtener H dividiendo la longitud L de la columna entre N ($H = L/N$). El ancho del máximo, entonces, se relaciona con H , y es más angosto a medida que H decrece. Se puede expresar H en centímetros/plato, milímetros/plato, etc. La altura *efectiva* de plato, H_{efec} , es L/N_{efec} .

El término H se suele determinar para el último compuesto en eluirse. Para una columna de cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) bien diseñada, H debe ser dos a tres veces el diámetro de partícula. Son típicos los valores de 0.01 a 0.03 mm.

EFICIENCIA DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES: ECUACIÓN DE VAN DEEMTER

Se trata de que H sea mínima, pero para acortar los tiempos de separación se requiere usar velocidades mayores a $\bar{u}_{\text{opt}}$.

Van Deemter demostró que para una columna empacada de cromatografía de gases el ensanchamiento de un máximo es igual a la suma de efectos algo interdependientes debidos a fuentes diversas. La **ecuación de Van Deemter** expresa la altura del plato, H , en función de esas fuentes:

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u} \quad (19.8)$$

donde A , B y C son constantes para determinado sistema, y se relacionan con los tres factores principales que afectan a H ; $\bar{u}$ es la velocidad lineal promedio del gas acarreador en cm/s. Si bien la ecuación de Van Deemter se desarrolló para cromatografía de gases, en principio es válida también para la cromatografía de líquidos, aunque el término de difusión es menos importante, en tanto que el término de equilibramiento es más crítico

(véase más adelante). Para la cromatografía de líquidos, $\bar{u}$ representa la velocidad de la fase móvil líquida.

El valor de $\bar{u}$ es igual a la longitud L de la columna dividida entre el tiempo, t_M , en que se eluye una sustancia no retenida (véase figura 19.3):

$$\bar{u} = \frac{L}{t_M} \quad (19.9)$$

El término de flujo general para la cromatografía es la *velocidad de la fase móvil*, u ; si bien, en la cromatografía de gases la velocidad lineal es diferente a distintas posiciones a lo largo de la columna a causa de la compresibilidad de los gases. Por lo anterior, se usa la *velocidad lineal promedio*, $\bar{u}$. En la cromatografía de líquidos la compresibilidad es intrascendente y $\bar{u} = u$. Debido a esto, en general se usará el término u .

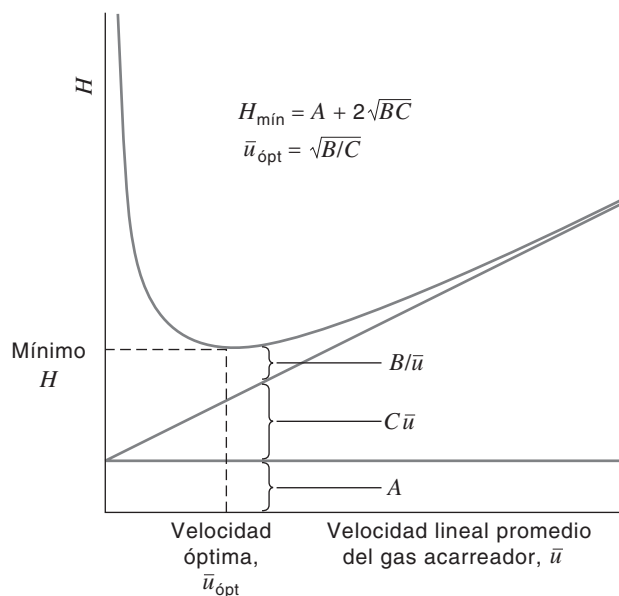
La importancia de los tres términos, A , B y C , en la cromatografía de gases en columna empacada se ilustra en la figura 19.4, que es una gráfica de H en función de la velocidad del gas acarreador. En este caso, A representa la *difusión por arremolinamiento*, la cual se debe a la diversidad de trayectorias tortuosas (de longitud variable) que se encuentran disponibles entre las partículas de la columna y que es independiente de la velocidad del gas o la fase móvil. La heterogeneidad de las velocidades axiales (difusión por arremolinamiento) se relaciona con el tamaño de partícula y la geometría del empaquetamiento de la siguiente manera:

$$A = 2\lambda d_p \quad (19.10)$$

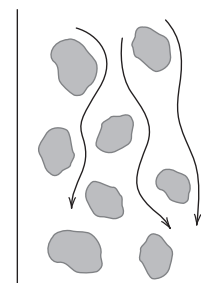
donde λ es una constante empírica de la columna (factor de empaquetamiento), con valores típicos de 0.8 a 1.0 para una columna bien empacada, y d_p es el diámetro promedio de partícula. Se reduce al mínimo cuando se usan partículas pequeñas y uniformes, y empaques más compactos (lo cual, sin embargo, crea contrapresiones). Pero un soporte extremadamente fino es difícil de empacar de manera uniforme, lo cual afecta la difusión por arremolinamiento.

El término B representa la **difusión longitudinal** (axial) o **molecular** de los componentes de la muestra en el gas acarreador o la fase móvil, y se debe a gradientes de concentración en el interior de la columna; es decir, hay un gradiente en la interfase de la zona de la muestra y la fase móvil, y las moléculas tienden a difundirse hacia donde la concentración es menor. La difusión en la fase móvil está representada por:

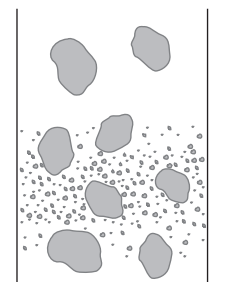
$$B = 2\gamma D_M \quad (19.11)$$



Los máximos se ensanchan por difusión por arremolinamiento, difusión molecular y bajas velocidades de transferencia de masa. Con partículas pequeñas y uniformes se minimiza la difusión por arremolinamiento. Un flujo más rápido abate la difusión molecular, pero aumenta los efectos de transferencia de masa. No obstante, siempre hay un flujo óptimo.



Difusión por arremolinamiento



difusión molecular

La difusión molecular suele ser despreciable en cromatografía de líquidos, pero es importante en cromatografía de gases.

Figura 19.4. Ilustración de la ecuación de Van Deemter.

donde γ es un factor de obstrucción con valor típico de 0.6 a 0.8 y D_M es el coeficiente de difusión. La difusión molecular está en función tanto de la muestra como del gas acarreador (en cromatografía de gases, donde es importante). Como los componentes de la muestra están fijos en un análisis dado, la única forma de cambiar B o $B/\bar{u}$ es variando el tipo, la presión y la rapidez de flujo del gas acarreador. Con flujos elevados se reduce la difusión molecular, igual que con gases más densos, como nitrógeno o dióxido de carbono, en comparación con helio o hidrógeno. En cromatografía de líquidos la difusión molecular en la fase estacionaria es muy pequeña en comparación con el caso de los gases. En la cromatografía de gases solamente domina a rapidez de flujo menor que $\bar{u}_{\text{opt}}$, y para cromatografía de líquidos suele ser intrascendente bajo las condiciones normales de operación. Se acostumbra operar a flujos mayores que $\bar{u}_{\text{opt}}$, debido a que H no aumenta mucho y las separaciones son más rápidas.

La transferencia de masa domina en cromatografía de líquidos.

La constante C es la **transferencia de masa entre fases** y se debe al tiempo finito necesario para que se establezca el equilibrio del soluto entre las dos fases al moverse entre las fases móvil y estacionaria. Ésta depende del coeficiente de difusión y del tamaño de partícula (puesto que esto influye sobre las distancias entre las partículas a través de las cuales debe difundirse el soluto). Se estima mediante:

$$C = \frac{1}{6} \frac{d_p^2}{D_M} \quad (19.12)$$

Sobre éste influye el coeficiente de partición, y por consiguiente la solubilidad relativa del soluto en la fase líquida estacionaria (es decir, el tipo y la cantidad de fase líquida, así como la temperatura); o bien, en el caso de la cromatografía de adsorción, es influido por la facilidad de adsorción del soluto en la fase sólida. Al aumentar la solubilidad de los componentes del vapor de la muestra (para la cromatografía de gases) en la fase líquida estacionaria al descender la temperatura puede disminuir C , siempre que la viscosidad de la fase líquida no aumente como para que el equilibrio de intercambio se vuelva lento. El termino $C\bar{u}$ también se reduce al disminuir la rapidez del flujo, permitiendo mayor tiempo para el equilibrio. Además, también se minimiza manteniendo la película de la fase estacionaria líquida lo más delgada posible para reducir la difusión dentro de esa fase. En cromatografía de líquidos este término domina debido a la lenta difusión en la fase móvil líquida. Esto se minimiza usando partículas pequeñas, películas delgadas de fase estacionaria, fases móviles de baja viscosidad y altas temperaturas.

De acuerdo con las ecuaciones 19.10 a 19.12, la regla para una columna empacada normal es:

$$H = 1.5d_p + \frac{D_M}{\bar{u}} + \frac{1}{6} \frac{d_p^2}{D_M} \bar{u} \quad (19.13)$$

Véase el problema 11 para una hoja de cálculo de una ecuación de Van Deemter y la gráfica de la variación de A , $B/\bar{u}$ y $C\bar{u}$ en función de $\bar{u}$.

Como la rapidez de flujo del gas acarreador (por ejemplo en L/min) es proporcional a la velocidad lineal, se obtiene una curva cualitativa semejante a la de la figura 19.4 al graficar H en función de la rapidez de flujo. Las constantes A , B y C tendrían valores numéricos distintos (usando rapidez de flujo en vez de $\bar{u}$ en la ecuación 19.8).

Las condiciones (como la rapidez de flujo) se deben ajustar para obtener un balance entre la difusión molecular y la transferencia de masa. Los tres términos, A , $B/\bar{u}$ y $C\bar{u}$ se mantienen lo más pequeños posible para obtener la H mínima para el soluto de la muestra más difícil de eluir (el último que se eluye de la columna). Una gráfica de Van Deemter puede ayudar a optimizar las condiciones. Se pueden determinar A , B y C a partir de tres puntos y la solución de las tres ecuaciones simultáneas de Van Deemter. Teóricamente, una gráfica de la ecuación 19.8 tiene un mínimo, $H_{\text{mín}}$, de $A + 2\sqrt{BC}$ a $\bar{u}_{\text{opt}} = \sqrt{B/C}$. Obsérvese

la importancia de la pendiente más allá de $\bar{u}_{\text{opt}}$. Cuanto menor sea la pendiente mejor, porque entonces la eficiencia variará poco a velocidades mayores de $\bar{u}_{\text{opt}}$.

Una columna de cromatografía de gases empacada con eficiencia tendrá varios miles de platos teóricos, y las columnas capilares tienen más de 10 000 platos teóricos. El valor de H para una columna de 1 m con 10 000 platos teóricos sería 100 cm/10 000 platos = 0.01 cm/plato. En una columna para cromatografía de líquidos de alta eficiencia (véase más adelante) se logra llegar a una eficiencia del orden de 400 platos teóricos por centímetro, y las columnas tienen 10 a 50 cm de longitud.

ALTURA DE PLATO REDUCIDA EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

Para comparar el funcionamiento de diferentes columnas se usa un término de altura adimensional llamado *altura de plato reducida*, h , que se obtiene al dividir entre el diámetro de partícula:

$$h = \frac{H}{d_p} \quad (19.14)$$

Una columna bien empacada debe tener un valor h igual a 2 o menos cuando el flujo es óptimo. Para columnas tubulares abiertas,

$$h = \frac{H}{d_c} \quad (19.15)$$

donde d_c es el diámetro interno de la columna.

La altura de plato reducida se usa con la *velocidad reducida*, v , para comparar diferentes columnas empacadas dentro de una gran variedad de condiciones; v relaciona el coeficiente de difusión en la fase móvil y el tamaño de partícula del material de empaque de la columna:

$$v = \bar{u} \frac{d_p}{D_M} \quad (19.16)$$

(Para columnas tubulares abiertas, d_p se sustituye por d_c .) La *forma reducida de la ecuación de Van Deemter* es:

$$h = A + \frac{B}{v} + Cv \quad (19.17)$$

La forma reducida de la ecuación 19.13 es:

$$h = 1.5 + \frac{1}{v} + \frac{v}{6} \quad (19.18)$$

COLUMNAS TUBULARES ABIERTAS EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

Como se explicará en el capítulo 20, las columnas capilares son las que más se usan en cromatografía de gases por su alta eficiencia, debida a sus elevados números de platos. Estas columnas no tienen empacado, por lo que el término de difusión por arremolinamiento desaparece en la ecuación de Van Deemter. Para columnas tubulares abiertas, la modificación de la ecuación de Van Deemter que opera es la llamada *ecuación de Golay*:

En columnas tubulares abiertas no hay difusión por arremolinamiento.

$$H = \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u} \quad (19.19)$$

Golay fue precursor en el desarrollo de las columnas capilares para cromatografía de gases y reconoció su diferencia respecto de las empacadas tanto en funcionamiento como en teoría.

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICIENCIA: ECUACIONES DE HUBER Y KNOX

La cromatografía de líquidos contiene una corrección para la transferencia de masa, tanto en la fase móvil como en la fase estacionaria.

Cuando se aplica una gráfica de Van Deemter a la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) se produce una curvatura que se aleja de la curva teórica cuando las velocidades son grandes. Huber hizo notar que al relacionar la altura de plato con factores cinéticos de transferencia de masa, se debe agregar otro término que tome en cuenta la transferencia de masa, tanto en la fase estacionaria como en la fase móvil:

$$H = A + B/\bar{u} + C_m\bar{u} + C_s\bar{u} \quad (19.20)$$

Ésta es la llamada *ecuación de Huber*. En ella, $\bar{u}$ es la velocidad lineal de la fase móvil; la constante C_m es el término de transferencia de masa en la fase móvil, y C_s es el término de la fase estacionaria. El término B (difusión longitudinal), excepto a muy bajas velocidades de la fase móvil, es casi cero y se puede ignorar; es función de la viscosidad de la fase móvil y de la molécula del analito. Sucede que el término A (difusión por arremolinamiento) es pequeño en comparación con la difusión entre las fases líquidas, y su valor es casi constante; por todo ello suele no tomarse en cuenta. Así pues, H se determina a partir de:

$$H = C_m\bar{u} + C_s\bar{u} \quad (19.21)$$

El término C_s es relativamente constante; C_m en este caso incluye una transferencia en la fase móvil estancada (en los poros de las partículas). En la figura 19.5 se presentan gráficas representativas de H en función de u para HPLC para diferentes tamaños de partícula (véase más adelante el tamaño de partícula y la eficiencia).

A velocidades muy lentas y para partículas pequeñas, la difusión molecular se vuelve apreciable, y H aumenta un poco. Nótese la menor dependencia respecto de la velocidad de flujo en comparación con la cromatografía de gases para las partículas menores. Para columnas bien empacadas con partículas de $5\ \mu\text{m}$ (tamaño típico), los valores de H suelen estar en el intervalo de 0.01 a 0.03 mm (10 a 30 μm). Obsérvese en la figura 19.5 que la escala está en ese intervalo.

Knox desarrolló una ecuación empírica para la cromatografía de líquidos que contiene un término útil para corregir la desviación respecto de la ecuación de Van Deemter,

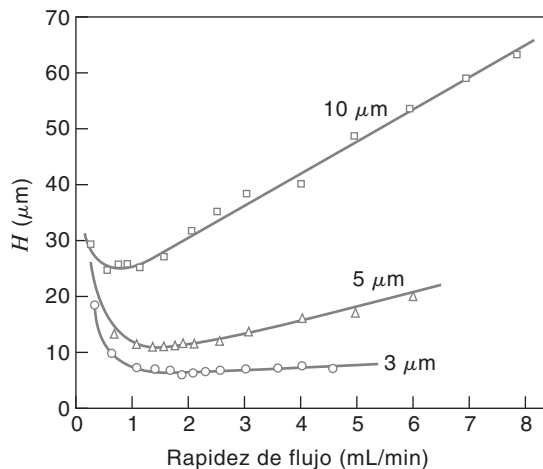


Figura 19.5. Gráficas de Van Deemter para distintos tamaños de partícula en HPLC. Los menores tamaños de partícula son más eficientes, en especial con rapidez de flujo alta. Columna i.d.: 4.6 mm; fase móvil: 65% acetonitrilo/35% agua; muestra: *t*-butilbenzeno. [Según M. W. Dong y M. R. Gant, *LC.GC.* 2 (1984) 294. Reimpresión autorizada.]

que contiene la raíz cúbica de la velocidad. La *ecuación de Knox* se expresa normalmente en su forma adimensional reducida debido a que no está claro el significado físico del término:

$$h = Av^{1/3} + \frac{B}{v} + Cv \quad (19.22)$$

El valor típico de A es de 1 a 2; un valor grande representa un lecho pobremente empacado; B vale cerca de 1.5, y C casi 0.1. Entonces, para una buena columna:

$$h = v^{1/3} + \frac{1.5}{v} + 0.1v \quad (19.23)$$

EFICIENCIA Y TAMAÑO DE PARTÍCULA EN HPLC

La eficiencia de la columna se relaciona con el tamaño de partícula. Sucede que para columnas bien empacadas para HPLC, H posee un valor dos a tres veces el diámetro promedio de partícula; esto es:

$$H = (2 \text{ a } 3) \times d_p \quad (19.24)$$

La figura 19.6 muestra la variación de N en función de la velocidad lineal para distintos tamaños de partícula. Considerar que N está en escala logarítmica. Partículas de distintas distribuciones de tamaño empacadas en columnas de igual diámetro tendrán en esencia la misma difusión longitudinal. Las partículas mayores poseen mayor transferencia estancada de la fase móvil (C) porque la molécula del soluto debe recorrer una trayectoria más larga en los poros; esto aumenta el ensanchamiento de bandas.

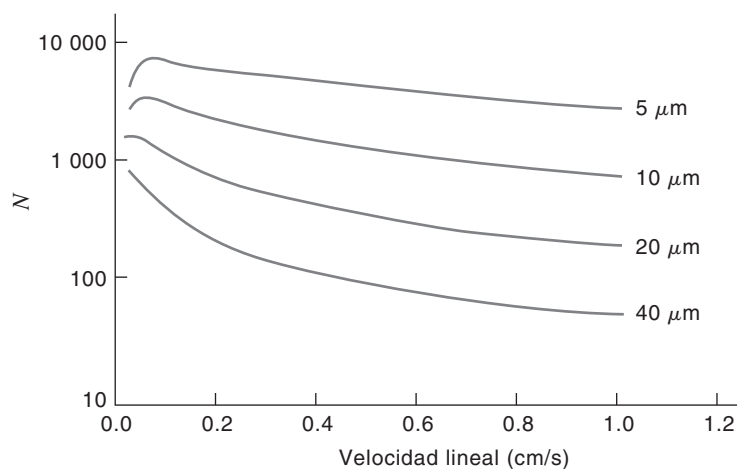


Figura 19.6. Número de platos en función de la velocidad lineal para diferentes tamaños de partícula en una columna de 10 cm. [Según J. MacLennan y B. Murphy, *Today's Chemist at Work*, febrero (1944) 29. Copyright 1994 por American Chemical Society. Reproducción autorizada por Waters Corporation.]

FACTOR DE RETENCIÓN EN CROMATOGRAFÍA

El **factor de retención** k , para el máximo de una muestra, está definido como:

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M} \quad (19.25)$$

El factor de retención es una medida del tiempo de retención y, en consecuencia, de la capacidad de resolución.

donde t_R es el **tiempo de retención** (el tiempo que tarda en aparecer el máximo de un analito) y t_M el tiempo que tardaría en aparecer un soluto no retenido (véase la ecuación 19.6). Un factor de retención grande favorece una buena separación. Sin embargo, los factores de retención grandes se traducen en mayor tiempo de elución, por lo que hay un compromiso entre la eficiencia y el tiempo de separación. Se puede incrementar el factor de retención aumentando el volumen de la fase estacionaria. Un cambio en el factor de retención es síntoma de que hay degradación de la fase estacionaria.

El número efectivo de platos se relaciona con el factor de retención y el número de platos efectivos como sigue:

$$N_{\text{efec}} = N \left(\frac{k}{k + 1} \right)^2 \quad (19.26)$$

El volumen de una columna cromatográfica está formado por el volumen de la fase estacionaria y el **volumen muerto** (vacío o hueco), que es el volumen ocupado por la fase móvil. Este último se puede calcular con t_M y la rapidez de flujo. Se requiere un volumen muerto de la fase móvil para lavar una vez la columna.



Ejemplo 19.2

Calcular el factor de retención para el máximo cromatográfico de la figura 19.3.

Solución

Al medir con una regla se ve que $t_R = 52.3$ mm y $t_M = 8.0$ mm.

$$k = \frac{52.3 - 8.0}{8.0} = 5.5_4$$

Los valores preferidos de factor de retención son 1 a 5. Si son muy bajos, los compuestos recorren con rapidez la columna y el grado de separación puede ser suficiente. Los valores grandes de k se traducen en largos tiempos de retención y largos tiempos de análisis.



RESOLUCIÓN EN CROMATOGRAFÍA

La resolución de dos máximos cromatográficos se define como sigue:

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{(w_{b1} + w_{b2})/2} \quad (19.27)$$

Se debe buscar tener una resolución mínima de 1.0.

donde t_{R1} y t_{R2} son los tiempos de retención de los dos máximos (el máximo 1 se eluye primero) y w_b es el ancho de la línea base de los máximos. Es una medida de la capacidad que tiene una columna para separar dos máximos. Para definir un valle entre dos máximos de igual altura es necesaria una resolución de 0.6. Un valor de 1.0 causa un traslape de

2.3% de dos máximos de igual ancho, y se considera lo mínimo en una separación para permitir una buena cuantificación. Una resolución de 1.5 origina un traslapo de 0.1% para máximos de igual ancho e igual altura y se considera suficiente para una resolución a nivel de la base.

La resolución se puede describir en términos termodinámicos sin considerar el ancho del máximo. El **factor de separación**, α , es una cantidad termodinámica que mide la retención relativa de los analitos y se determina por medio de:

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{k_2}{k_1} \quad (19.28)$$

donde t'_{R1} y t'_{R2} son los tiempos de retención corregidos (ecuación 19.6) y k_1 y k_2 son los factores de retención correspondientes (ecuación 19.25). Este factor describe lo bien que están separados los máximos sin tener en cuenta su ancho. Entonces, la resolución se puede expresar como sigue:

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_2}{k_{\text{prom}} + 1} \right) \quad (19.29)$$

donde k_{prom} es el promedio de los factores de capacidad de los dos máximos. En esta ecuación se relaciona la resolución con la eficiencia, esto es, el ensanchamiento de bandas y el tiempo de retención (ecuación 19.3), y se conoce como *ecuación de resolución* o *ecuación de Purnell*. Téngase en cuenta que, como N es proporcional a L , la resolución es proporcional a $\sqrt{L}$; la raíz cuadrada de la longitud de la columna. Esto es estrictamente válido sólo para columnas empacadas. Entonces, al aumentar al doble la longitud de la columna, la resolución aumenta en $\sqrt{2}$ o 1.4. Un aumento de cuatro veces haría duplicar la resolución. Naturalmente, los tiempos de retención aumentarían en proporción directa con la longitud de la columna. Para máximos asimétricos se deben usar sus centroides para calcular los tiempos de retención y los valores de α .

La cantidad de platos que se requieren para determinado grado de resolución es:

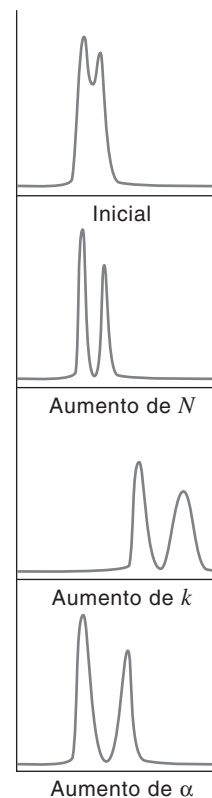
$$N_{\text{req}} = 16R^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{k_{\text{prom}} + 1}{k_2} \right)^2 \quad (19.30)$$

Sustituyendo a partir de la ecuación 19.26, el número de platos efectivos requerido es:

$$N_{\text{efec(req)}} = 16R^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \quad (19.31)$$

La figura al margen ilustra cómo aumenta la resolución en forma diferente al elevarse los valores de N , k o α . Obsérvese que al aumentar k también se eleva el tiempo de retención para ambos máximos, y los ensancha. En columnas uniformemente empacadas los anchos de las bandas aumentan con la raíz cuadrada de la distancia migrada, en tanto que la distancia entre los centros de los máximos aumenta en proporción directa a la distancia recorrida. Como las bandas o los máximos se mueven con mayor rapidez que el ensanchamiento, se produce la separación.

Si bien es preferible aumentar la cantidad de platos, la resolución en una columna empacada, como ya se dijo, sólo aumenta en proporción a la raíz cuadrada de N (por ejemplo, al aumentar L), y la caída de presión aumenta. Es más eficaz tratar de aumentar la selectividad (α) o el factor de retención (k) haciendo variar las fases estacionaria y móvil. El aumento del tiempo de retención, claro está, alarga el tiempo del análisis, y en general se opta por un compromiso entre la velocidad y la resolución.



Ejemplo 19.3

Se separan etanol y metanol en una columna capilar de cromatografía de gases y sus tiempos de retención respectivos son 370 y 385 s. Los anchos de base respectivos (w_b) son 16.0 y 17.0 s. El máximo no retenido se presenta a los 10.0 s. Calcular el factor de separación y la resolución.

Solución

Se usa el máximo de la elución más retardado para calcular N (ecuación 19.3):

$$N = 16 \left(\frac{385}{17.0} \right)^2 = 8.21 \times 10^3 \text{ platos}$$

A partir de la ecuación 19.28,

$$\alpha = \frac{385 - 10}{330 - 10} = 1.04_2$$

A partir de la ecuación 19.25,

$$k_1 = \frac{370 - 10}{10.0} = 36.0$$

$$k_2 = \frac{385 - 10}{10.0} = 37.5$$

$$k_{\text{prom}} = (36.0 + 37.5)/2 = 36.8$$

A partir de la ecuación 19.29,

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{8.21 \times 10^3} \left(\frac{1.042 - 1}{1.04_2} \right) \left(\frac{37.5}{36.8 + 1} \right) = 0.91$$

O bien, de la ecuación 19.27 resulta:

$$R_s = \frac{385 - 370}{(17.0 + 16.0)/2} = 0.91$$

19.4 Programas de simulación de cromatografía

Se va a desarrollar una nueva separación cromatográfica. Para ello es necesario seleccionar la columna adecuada (fase estacionaria) y sus dimensiones; la fase móvil, y las variables de optimización, como porcentaje de disolvente orgánico, gradiente de disolvente o de temperatura, etc. Normalmente, la optimización necesitará muchas corridas cromatográficas repetitivas, ¡pero la ayuda está aquí! Hay paquetes informáticos comerciales que ayudan al analista a desarrollar y optimizar su método; algunos de ellos se indican en el sitio Web de este libro, con descripciones detalladas de sus posibilidades. A continuación se mencionan: *DryLab* (LC Resources): www.lcresources.com; *ACD/GC Simulator*, *ACD/LC Simulator* y *ACD/ChromManager* (ACD/Labs): www.acdlabs.com, y *ChromSword® AUTO* (Merck KGaA): www.hii.hitachi.com/LC%20ChromSword.htm.

19.5 Sin costo: bases de datos de compañías con cromatogramas que se pueden consultar

Agilent Technologies (www.chem.agilent.com) suministra una base de datos con una extensa biblioteca de cromatogramas de GC y LC con base en aplicaciones hechas por químicos de Agilent. Véase www.chem.agilent.com/scripts/chromatograms.asp; también www.chem.agilent.com/scripts/chromatograms.asp, con un tutorial sobre columnas de HPLC. En el sitio Web de este libro se presenta una descripción de estos sitios, y también del de Supelco (www.sigmaaldrich.com) y el de Hamilton (www.hamiltoncompany.com), con bases de datos de cromatogramas.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Cómo se separan las sustancias químicas en una columna, p. 556
- Tipos de cromatografía: de adsorción, partición, intercambio iónico y exclusión de tamaño, p. 558
- Nomenclatura cromatográfica (véase tabla de términos), p. 559
- Teoría de la eficiencia de la columna, p. 560
 - Número de platos (ecuación clave: 19.3), p. 560
 - Ecuación de Van Deemter para columnas empacadas de cromatografía de gases (ecuaciones clave: 19.8 y 19.13), p. 562
 - Ecuación de Golay para columnas tubulares abiertas en cromatografía de gases (ecuación clave 19.19), p. 565
 - Ecuaciones de Huber y Knox para HPLC (ecuaciones clave 19.20 y 19.22), p. 566
- Factor de retención (ecuación clave 19.25), p. 568
- Resolución cromatográfica (ecuaciones clave 19.27 y 19.29), p. 568
- Factor de separación (ecuación clave 19.28), p. 569
- Programas informáticos de simulación de cromatografía y bases de datos, pp. 570, 571

Preguntas

1. ¿Cuál es la descripción de la cromatografía?
Describir los principios básicos de todos los procesos cromatográficos.
3. Clasificar las distintas técnicas cromatográficas y dar ejemplos de los principales tipos de aplicaciones.
4. ¿Qué es la ecuación de Van Deemter? Definir sus términos.
5. ¿En qué difiere la ecuación de Golay de la de Van Deemter?
6. ¿En qué difieren las ecuaciones de Huber y Knox de la de Van Deemter?

Problemas

RESOLUCIÓN CROMATOGRÁFICA

7. Un máximo de una cromatografía de gases tuvo un tiempo de retención de 65 s. El ancho de la base, obtenido con las intersecciones de la línea base y las extrapolaciones de los lados del máximo fue 5.5 s. Si la columna era de 3 pies de longitud, ¿de cuánto fue el valor de H en cm/plato?

8. Se desea resolver dos máximos de una cromatografía de gases con tiempos de retención de 85 y 100 s, respectivamente, usando una columna con $H = 1.5$ cm/plato bajo las condiciones de operación. ¿Qué longitudes de columna se requieren? Asumir que los dos máximos tienen el mismo ancho de base.
9. Se obtuvieron los siguientes datos de cromatografía de gases para inyecciones individuales de $2 \mu\text{L}$ de *n*-hexano en un cromatógrafo de gases con una columna de 3 m. Calcular el número de platos y H para cada rapidez de flujo y graficar H en función de la rapidez de flujo para determinar la rapidez de flujo óptima. Usar el tiempo de retención *ajustado*, t'_R .

Rapidez de flujo (mL/min)	t_M (máximo del aire) (min)	t'_R (min)	Ancho del máximo (min)
120.2	1.18	5.49	0.35
90.3	1.49	6.37	0.39
71.8	1.74	7.17	0.43
62.7	1.89	7.62	0.47
50.2	2.24	8.62	0.54
39.9	2.58	9.83	0.68
31.7	3.10	11.31	0.81
26.4	3.54	12.69	0.95

10. Tres compuestos, A, B y C, tienen factores de retención $k_A = 1.40$, $k_B = 1.85$ y $k_C = 2.65$, respectivamente, en una columna que sólo tiene 500 platos. ¿Se pueden separar con una resolución mínima de 1.05?

PROBLEMA PARA HOJA DE CÁLCULO

11. Preparar una hoja de cálculo para una gráfica de Van Deemter para los siguientes términos hipotéticos, A, B y C: $A = 0.5$ mm, $B = 30$ mm · mL/min y $C = 0.05$ mm · min/mL. Graficar H en función de $\bar{u}$ a velocidades lineales de 4, 8, 12, 20, 28, 40, 80 y 120 mL/min. También, en la misma gráfica, trazar la de A en función de $\bar{u}$, $B/\bar{u}$ vs. $\bar{u}$ y $C\bar{u}$ vs. $\bar{u}$, y ver cómo cambian con la velocidad lineal; es decir, cómo cambian sus contribuciones a H . Calcular la $H_{\min}$ y $\bar{u}_{\text{opt}}$ hipotéticas y comparar con $H_{\min}$ sobre la gráfica. También calcular $B/\bar{u}_{\text{opt}}$ y $C\bar{u}_{\text{opt}}$. Examinar la gráfica y ver dónde se cruzan las líneas $B/\bar{u}$ y $C\bar{u}$. Comparar los resultados con los del capítulo 19.

Referencias recomendadas

GENERAL

1. J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, Nueva York: Wiley-Interscience, 1991.
2. C. E. Meloan, *Chemical Separations: Principles, Techniques, and Experiments*, Nueva York, Wiley, 1999.
3. J. Cazes, ed., *Encyclopedia of Chromatography*, Nueva York: Marcel Dekker, 2001.
4. R. E. Majors y P. W. Carr, "Glossary of Liquid-Phase Separation Terms", *LC.GC*, **19**(2) (2001) 124.
5. L. S. Ettre, "Nomenclature for Chromatography", *Pure Appl. Chem.*, **65** (1993) 819.

RESEÑAS HISTÓRICAS

En las siguientes referencias se presenta una buena crónica sobre cómo han evolucionado las técnicas de separación, en especial las fases estacionarias que se usan y por qué se usan las actuales.

6. H. J. Isaaq, ed., *A Century of Separation Science*, Nueva York: Marcel Dekker, 2002.
7. L. S. Ettre, "The Birth of Partition Chromatography", *LC.GC*, **19**(5) (2001) 506.
8. M. S. Lesney, "Creating a Central Science. A Brief History of 'Color Writing'", *Today's Chemist at Work*, septiembre, 1988, 67.
9. "Chromatography. Creating a Central Science", *Today's Chemist at Work* (suplemento), septiembre, 2001. Una serie de artículos, de 88 páginas, sobre la evolución de las principales formas de la cromatografía.

SIMULACIÓN EN COMPUTADORA

10. J. W. Nolan y L. R. Snyder, "Gradient Elution Chromatography", en *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, vol. 13, *Theory and Instrumentation*, 11342 Chichester: Wiley, 2000.
11. R. G. Wolcott, J. W. Dolan y L. R. Snyder, "Computer Simulation for the Convenient Optimization of Isocratic Reversed-Phase Liquid Chromatography Separations by Varying Temperature and Mobile Phase Strength", *J. Chromatogr. A*, **869** (2000) 3.
12. J. W. Dolan, L. R. Snyder, L. C. Sander, R. C. Wolcott, P. Habner, T. Baczek y R. Kalistan, *J. Chromatogr. A*, **857** (1999) 41.



Capítulo veinte

CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases (CG) es una de las técnicas más versátiles y ubicuas en los laboratorios, y se usa mucho en la determinación de compuestos orgánicos. Por ejemplo, la separación de benceno y ciclohexano (puntos de ebullición 80.1 y 80.8°C) es extremadamente sencilla mediante cromatografía de gases, pero casi imposible con destilación convencional. Aunque Martin y Synge inventaron la cromatografía líquido-líquido en 1941, la introducción de la cromatografía de partición gas-líquido, por James y Martin (una década después) tuvo una repercusión mayor e inmediata por dos razones: la primera que, al contrario de la cromatografía líquido-líquido en columna que se operaba manualmente, la cromatografía de gases requirió instrumentos para su aplicación; ésta se desarrolló gracias a la colaboración de químicos, ingenieros y físicos, y los análisis fueron mucho más rápidos y se hacían en pequeña escala. La segunda fue que la industria petrolera, con su desarrollo, debía mejorar el control analítico, por lo que la cromatografía de gases se adoptó de inmediato. En pocos años se generalizó el uso de este método para analizar casi cada tipo de compuesto orgánico.

Con esta técnica se pueden separar mezclas muy complejas; cuando se acopla con la espectrometría de masas como sistema de detección, es posible la identificación virtualmente positiva de los eluidos con una muy alta sensibilidad, creando un sistema analítico muy poderoso.

Hay dos clases de cromatografía de gases: **cromatografía de gas-sólido (de adsorción)** y **cromatografía de gas-líquido (de partición)**. De ellas, la más importante es la cromatografía de gas-líquido (GLC, gas-liquid chromatography), usada en la forma de una columna capilar. En este capítulo se describirán los principios de operación de la cromatografía de gases, los tipos de columnas y los detectores que se usan con ella. Se describirán los principios de la espectrometría de masas (MS, mass spectrometry) y el acoplamiento del cromatógrafo de gases con el espectrómetro de masas (GC-MS).

20.1 Realización de separaciones con cromatografía de gases

El analito en el estado de vapor se distribuye entre la fase estacionaria y el gas acarreador. Los equilibrios en fase gaseosa son rápidos, por lo que la resolución puede ser alta, igual que el número de platos.

En cromatografía de gases, la muestra pasa al estado de vapor (si no es ya gaseosa) inyectándola a un puerto calentado, y el eluyente es un gas (el **gas acarreador**). En general, la fase estacionaria es un líquido no volátil soportado en una pared capilar con partículas sólidas inertes, como de tierra de diatomeas (kieselguhr, formado por restos de esqueletos de algas unicelulares marinas, microscópicas, constituidas principalmente por sílice). La tierra de diatomeas se suele calcinar para aumentar el tamaño de partícula, y formar así lo que se llama ladrillo refractario, que se vende, por ejemplo, con el nombre de Chromosorb

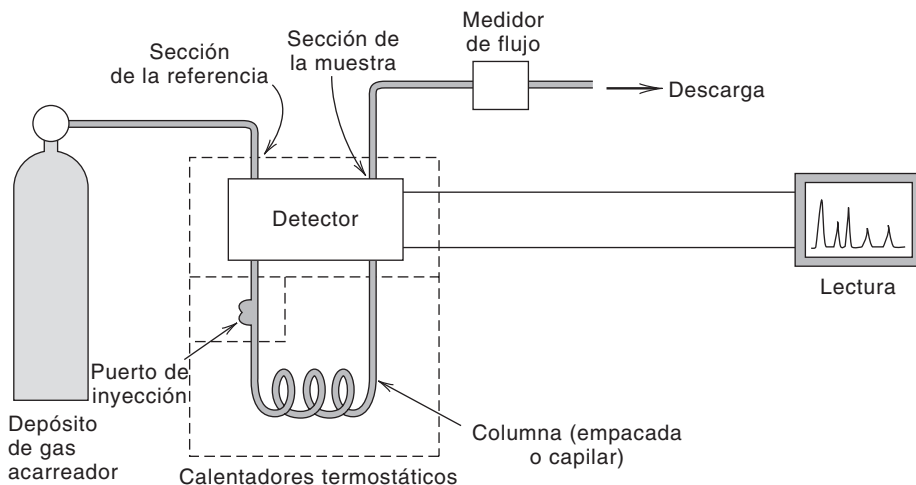


Figura 20.1. Esquema de un cromatógrafo de gases.

P o W. Hay una gran cantidad de fases líquidas disponibles, y cambiando la fase líquida y no la fase móvil es como se logran las diferentes separaciones. El factor más importante en la cromatografía de gases es la selección de la columna adecuada (fase estacionaria) para la separación particular sobre la que se desea experimentar. La naturaleza de la fase líquida o sólida determinará el equilibrio de intercambio con los componentes de la muestra, que a su vez dependerá de la solubilidad o adsorbabilidad de la muestra, de la polaridad de la fase estacionaria y de las moléculas de la muestra, del grado de enlaces de hidrógeno y de las interacciones químicas específicas. La mayor parte de las separaciones útiles se han determinado de manera empírica, aunque hoy se dispone de información más cuantitativa.

En la figura 20.1 se presenta un esquema de un cromatógrafo de gases, y en la figura 20.2 se aprecia la fotografía de un sistema moderno de cromatografía de gases. La muestra se inyecta rápidamente con una microjeringa hipodérmica (véase la figura 2.11) a través de un tapón septum de goma de silicona y pasa a la columna. El puerto de inyección de muestra, la columna y el detector se calientan a temperaturas a las que la muestra tenga una presión de vapor mínima de 10 torr, usualmente a unos 50°C por arriba del punto en el que hierve el soluto con mayor alto punto de ebullición. El puerto de inyección y el detector se suelen mantener un poco más calientes que la columna para evaporar rápidamente la mues-



Figura 20.2. Sistema automático moderno para cromatografía de gases. (Cortesía de Shimadzu Norteamérica.)

tra líquida y evitar que ésta se condense en el detector. Para columnas empacadas se inyectan muestras líquidas de 0.1 a 10 μL , en tanto que para muestras gaseosas son necesarios 1 a 10 mL. Los gases se pueden inyectar con una jeringa hermética de los gases o a través de una cámara especial para admisión de gases de volumen constante (válvula de muestreo de gases). Para columnas capilares sólo se deben inyectar volúmenes de aproximadamente 1/100 de los anteriores debido a la menor capacidad (aunque mayor resolución) de esas columnas. En los cromatógrafos diseñados para usar columnas capilares se incluyen separadores de muestra que desvían una fracción de ésta fija, pequeña, a la columna y el resto se desecha. Por lo regular también permiten llevar a cabo la inyección sin desviación de muestra cuando se usan columnas empacadas (inyectores divisores/sin derivación).

La separación se efectúa a medida que los componentes del vapor se equilibran con el gas acarreador y la fase estacionaria. El gas acarreador es un gas químicamente inerte que debe encontrarse en forma pura, como argón, helio o nitrógeno. Un gas muy denso tiene mejor eficiencia porque su difusividad es menor, pero un gas de baja densidad permite mayores velocidades. El gas que se escoja dependerá con frecuencia del tipo de detector.

La muestra se detecta automáticamente cuando sale de la columna (a un flujo constante) mediante diversos detectores cuya respuesta depende de la composición del vapor (véase más adelante). En general, el detector tiene una **sección de referencia** y una **sección de muestreo**. El gas acarreador pasa por la sección de referencia antes de entrar a la columna y sale de la columna por la sección de muestreo. La respuesta de la sección de muestreo en relación con la señal en la sección de referencia se alimenta a un registrador donde se grafican los máximos cromatográficos en función del tiempo. Al medir el **tiempo de retención** (los minutos entre el momento de inyectar la muestra y el momento en que se registra el máximo cromatográfico) y comparar esta vez con el de un estándar de la

La detección automática de los analitos en el momento en que salen de la columna hace que las mediciones sean rápidas y convenientes. Los tiempos de retención se usan para identificaciones cualitativas. Para las mediciones cuantitativas se usan las áreas de los máximos.

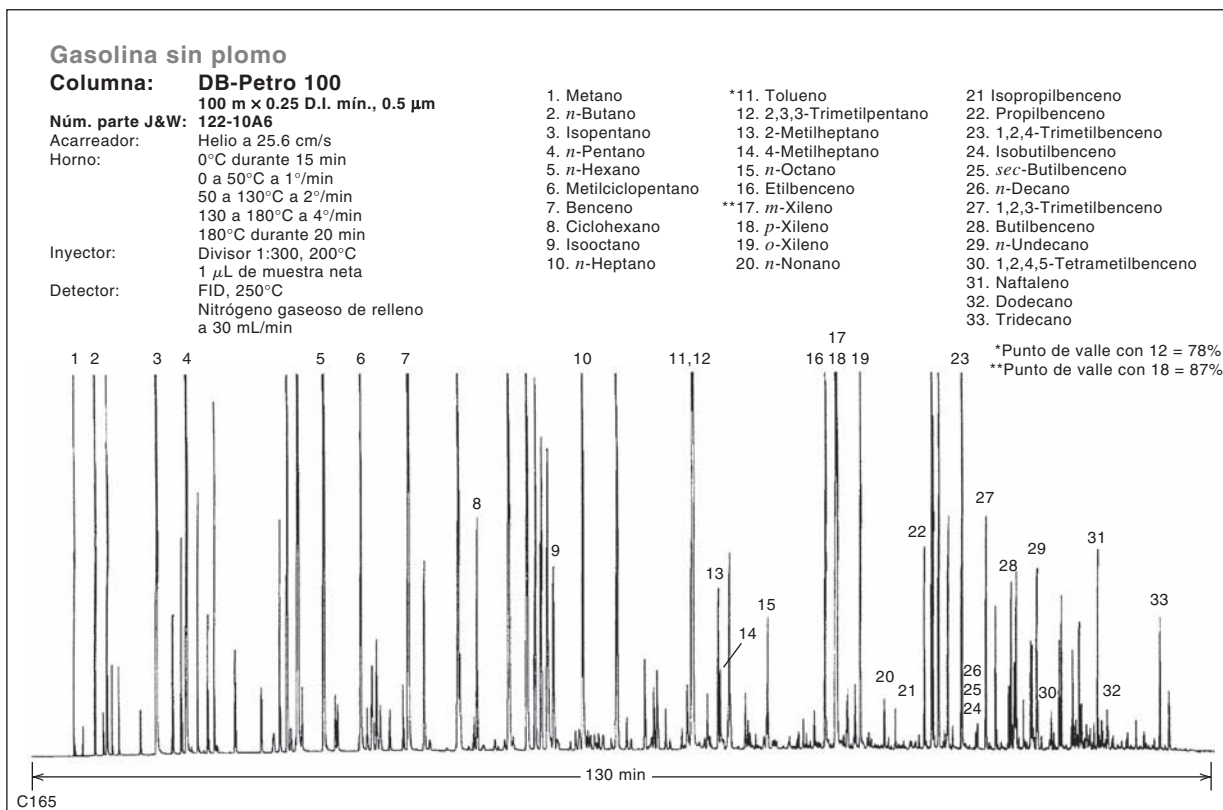


Figura 20.3. Ejemplo de un cromatograma de gases para una mezcla compleja, usando una columna capilar. (Cortesía de Agilent Technologies.)

sustancia pura se puede identificar el máximo (la coincidencia en los tiempos de retención de dos compuestos no garantiza que éstos sean idénticos). El área bajo el máximo es proporcional a la concentración, por lo que se puede determinar en forma cuantitativa la cantidad de sustancia. Con frecuencia los máximos son muy agudos, y en ese caso se puede comparar la altura del máximo con una curva de calibración preparada de la misma manera. En general, los sistemas de detección en cromatografía poseen una lectura automática del área del máximo y también del tiempo de retención.

La capacidad de separación de esta técnica se ilustra en el cromatograma de la figura 20.3. Ya que los máximos se registran en forma automática, el tiempo global de análisis es breve en forma sorprendente para las muestras complejas. Eso, aunado a la muestra tan pequeña que se requiere, explica la popularidad de esta técnica, lo que no excluye la razón más importante: que muchos de los análisis que se hacen simplemente no se pueden efectuar con otros métodos.

Cuando las mezclas son complejas no es fácil la tarea de identificar los numerosos máximos. Se dispone de instrumentos comerciales en los que el efluente gaseoso alimenta automáticamente a un espectrómetro de masas, donde se identifican de acuerdo con su masa (peso fórmula y patrón de fragmentación). Esta importante técnica analítica se llama **cromatografía de gases-espectrometría de masas** (GC-MS, o de manera coloquial, gases-masas). El espectrómetro de masas es un detector sensible y selectivo, y cuando se usa una columna capilar de GC (de muy alta resolución, véase la sección 20.2), esta técnica (GC-MS capilar) es capaz de identificar y cuantificar mezclas increíblemente complejas de trazas de sustancias. Por ejemplo, en los efluentes de alcantarillado se pueden identificar cientos de compuestos, y se pueden determinar trazas de medicamentos complejos en la orina o en la sangre, o de contaminantes en el agua. No obstante, para una sensibilidad óptima, algunos de los detectores específicos de elementos o tipos de compuesto que se mencionarán después ofrecen extraordinarios límites de detección.

Véanse mayores detalles de GC-MS más adelante.

¿Qué compuestos se pueden determinar con cromatografía de gases?

Con cromatografía de gases se pueden determinar muchísimos compuestos, aunque hay limitaciones. Éstos deben ser volátiles y estables a las temperaturas que se usan, por lo regular, de 50 a 300°C. La cromatografía de gases es útil para:

- Todos los gases
- La mayor parte de las moléculas orgánicas no ionizadas, sólidas o líquidas, que contengan hasta unos 25 carbonos
- Muchos compuestos organometálicos (se pueden preparar derivados volátiles de iones metálicos)

Si los compuestos no son volátiles o estables, con frecuencia se pueden preparar derivados adecuados para su análisis por GC. Este método no se puede usar para sales ni para macromoléculas; en esos casos, lo más generalizado es usar HPLC.

20.2 Columnas para cromatografía de gases

Los dos tipos de columnas que se usan en cromatografía de gases son las **columnas empacadas** y las **columnas capilares**. Las columnas empacadas fueron el primer tipo, y se usaron durante muchos años. En la actualidad, se usan más las columnas capilares, aunque las columnas empacadas se siguen usando en aplicaciones que no requieren grandes resoluciones, o cuando es necesaria mayor capacidad.

COLUMNAS EMPACADAS

Las columnas empacadas se pueden usar con tamaños de muestra grandes, y conviene usarlas.

Estas columnas pueden tener cualquier forma para llenar el horno de calentamiento; entre éstas se hallan los serpentines, los tubos en forma de U y en forma de W, pero las que se usan más son las primeras. Las columnas empacadas miden en general 1 a 10 m de longitud y 0.2 a 0.6 cm de diámetro. Las columnas bien empacadas pueden tener 1 000 platos/m, por lo que una columna normal de 3 m tendría 3 000 platos. Las columnas cortas pueden ser de vidrio, pero las más largas se hacen de acero inoxidable, por lo que se les puede enderezar para llenarlas y empacarlas; también se hacen de teflón. Para que sean inertes, se sigue prefiriendo el vidrio en las columnas más largas. La resolución en las columnas empacadas sólo aumenta en proporción de la raíz cuadrada de la longitud de la columna. En las columnas largas se requiere mayor presión y mayores tiempos de análisis y sólo se usan cuando no hay otra opción (por ejemplo, para solutos que tardan en eluirse cuando se usa una alta capacidad). En general se intenta llevar a cabo las separaciones seleccionando las columnas con longitudes en múltiplos de 3, como de 1 o 3 m. Si una separación no es completa en la columna más corta se intenta entonces con la siguiente más larga.

La columna se empaca con pequeñas partículas que en sí pueden servir como fase estacionaria (cromatografía de adsorción) o, con más frecuencia, se recubren con una fase líquida no volátil de polaridad variable (cromatografía de partición). La cromatografía gas-sólido es adecuada para separar especies gaseosas pequeñas, como H_2 , N_2 , CO_2 , CO , O_2 , NH_3 y CH_4 , así como hidrocarburos volátiles usando empaques inorgánicos de gran superficie, como alúmina (Al_2O_3) o polímeros porosos (como Chromosorb, una resina poliaromática con enlaces cruzados, con estructura rígida y un tamaño definido de poro). Los gases se separan de acuerdo con su tamaño debido a la retención por adsorción sobre las partículas. La cromatografía gas-sólido se prefiere para muestras acuosas.

El soporte sólido de una fase líquida debe tener una gran superficie químicamente inerte, pero que se humedezca con la fase líquida. Debe ser térmicamente estable y estar disponible en tamaños uniformes. Los soportes que se usan con mayor frecuencia se preparan con tierra de diatomeas, que es un material silíceo esponjoso que se vende bajo diversas marcas registradas. El Chromosorb W es una tierra de diatomeas que se ha calentado con un fundente alcalino para disminuir su acidez; su color es claro. El Chromosorb P es ladrillo refractario molido, mucho más ácido que Chromosorb W, y tiende a reaccionar con los solutos polares, en especial con los que tienen grupos funcionales básicos.

La polaridad del Chromosorb P se puede disminuir mucho silanizando* la superficie con hexametildisilazano $[(CH_3)_3Si]_2NH$. Ottenstein (véase referencia 7) llevó a cabo una revisión sobre la selección de los soportes sólidos, tanto de las tierras de diatomeas como de los tipos de polímeros porosos.

El material de empaque de la columna se recubre mezclándolo con la cantidad correcta de fase líquida disuelta en un disolvente de bajo punto de ebullición, como acetona o pentano. Haciendo uso de 5 a 10% del recubrimiento (peso/peso) se obtendrá una capa delgada. Después de recubrir, el disolvente se evapora calentándolo y agitándolo; las últimas huellas se pueden eliminar al vacío. Una columna recién preparada debe acondicionarse a temperatura elevada haciéndole pasar gas acarreador durante varias horas. Más adelante se comenta la selección de fases líquidas.

Las partículas deben tener tamaño uniforme para que se empaquen bien, y sus diámetros deben estar entre una malla de 60 y una de 80 (0.25 a 0.18 mm), una de 80 y una de 100 (0.18 a 0.15 mm) o una de 100 y una de 120 (0.15 a 0.12 mm). Las partículas menores no son prácticas debido a la alta caída de presión que causan.

COLUMNAS CAPILARES: LAS MÁS UTILIZADAS

Las columnas capilares pueden producir resoluciones muy altas en comparación con las columnas empacadas.

Marcel Golay publicó, en 1957, el trabajo titulado "Vapor Phase Chromatography and the Telegrapher's Equation" (Cromatografía en fase vapor y la ecuación del telegrafista) [*Anal. Chem.*, **29** (1957) 928]. Con su ecuación se predecía un mayor número de platos en una

*N. del R. T. El verbo *silanizar*, muy utilizado por los químicos analíticos, es el equivalente a *sililar*, manejado por los químicos orgánicos.

columna tubular abierta, delgada, con la fase estacionaria soportada en la pared interna. Se eliminaría el ensanchamiento de las bandas debido a trayectorias múltiples (difusión por arremolinamiento); y en las columnas angostas aumentaría la rapidez de transferencia de masa porque las moléculas deben recorrer distancias pequeñas para difundirse. Además, se puede usar mayor rapidez de flujo gracias a la menor caída de presión, con lo cual se abatiría la difusión molecular. El trabajo de Golay condujo al desarrollo de diversas **columnas tubulares abiertas** que hoy proporcionan resoluciones extremadamente altas y se han vuelto pilares de los análisis por cromatografía de gases. Estas columnas se fabrican con sílice fusionado delgado (SiO_2) recubierto en el exterior con un polímero de poliimida para soporte y protección de la frágil capilaridad del sílice, lo que permite que puedan enrollarse. La capa de poliimida es la que imparte un color pardo a las columnas, y con frecuencia se oscurece con el uso. La superficie interna del capilar es tratada químicamente para minimizar la interacción de la muestra con los grupos silanol ($\text{Si}-\text{OH}$) sobre la superficie del tubo, haciéndolos reaccionar con un reactivo tipo silano (por ejemplo, dimetil diclorosilano).

También se fabrican capilares de acero inoxidable, material que interactúa con muchos compuestos, por lo que se desactiva tratándolo con dimetil diclorosilano (DMCS) produciendo un delgado recubrimiento de sílice fusionado al que pueden adherirse fases estacionarias. Las columnas de acero inoxidable son más robustas que las de sílice fundido y se usan para aplicaciones que requieren temperaturas muy altas.

Los capilares tienen 0.10 a 0.53 mm de diámetro interior con longitudes de 15 a 100 m, y pueden tener varios cientos de miles de platos, incluso un millón de ellos. Se venden en forma de serpentines de unos 0.2 m de diámetro (véase figura 20.4). Las columnas capilares tienen las ventajas de una alta resolución con máximos muy delgados, tiempos de análisis cortos y gran sensibilidad (con los detectores modernos), pero se sobrecargan con facilidad cuando la muestra es demasiada. Con inyectores con derivación (para hacer circular sólo parte de la muestra) se resuelve en gran parte el problema de sobrecarga.

La figura 20.5 ilustra las mejoras en la capacidad de separación al pasar de una columna empacada (6.4×1.8 m) a una columna capilar de acero inoxidable muy larga, y considerablemente gruesa ($0.76 \text{ mm} \times 150$ m), y a una columna capilar delgada de vidrio pero más corta ($0.25 \text{ mm} \times 50$ m). Nótese que la resolución aumenta a medida que la columna se adelgaza, aun cuando la columna capilar sea más corta.

Hay tres tipos de columna tubular abierta. Las columnas **tubulares abiertas con pared recubierta** (WCOT, wall-coated open-tubular) tienen una delgada capa líquida que

Al aumentar el espesor de la película aumenta la capacidad, pero también la altura de plato y el tiempo de retención.

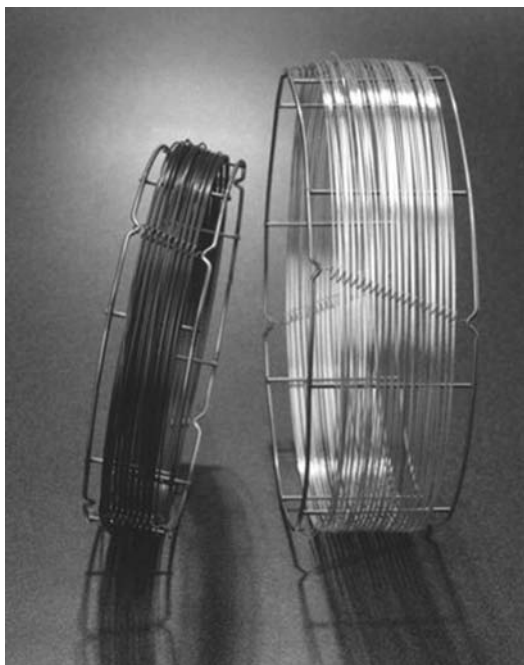
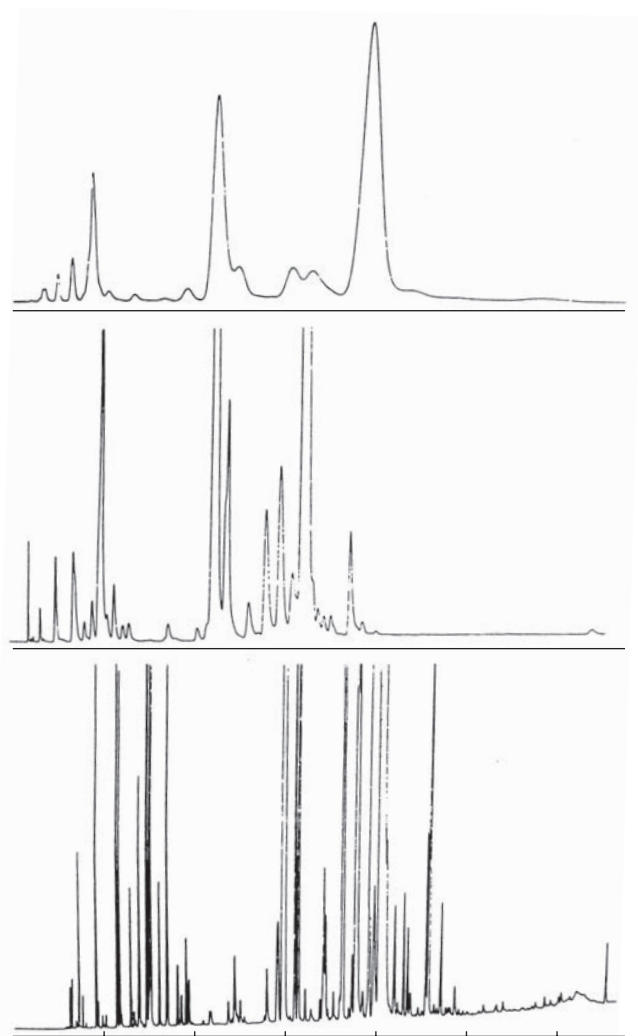


Figura 20.4. Columnas capilares para cromatografía de gases. (Cortesía de Quadrex Corp., Woodbridge, CT.)

Figura 20.5. Tres generaciones en la cromatografía de gases. Separación de aceite de menta en columna empacada de $\frac{1}{4}$ pulg $\times$ 6 pies (arriba); columna capilar de acero inoxidable de 0.03 pulg $\times$ 500 pies (centro); columna capilar de vidrio de 0.25 mm $\times$ 50 m (abajo). [Según W. Jennings, *J. Chromatogr. Sci.*, **17** (1979) 363. Reproducido del *Journal of Chromatographic Science*, con autorización de Preston Publications, División de Preston Industries, Inc.]



recubre a las paredes del capilar y las soporta. El recubrimiento se efectúa haciendo pasar lentamente una solución diluida de la fase líquida a través de las columnas. El disolvente se evapora haciendo pasar gas acarreador por ellas. Después del recubrimiento la fase líquida se entrecruza con la pared. La fase líquida estacionaria resultante posee un espesor de 0.1 a 5 μm . Las columnas tubulares abiertas con pared recubierta suelen tener 5 000 platos/m, por lo que una de 50 m tendrá 250 000 platos.

En las columnas **tubulares abiertas recubiertas con soporte** (SCOT, support coated open-tubular), micropartículas sólidas recubiertas con la fase estacionaria (de manera similar a lo que ocurre con las columnas empacadas) se adhieren a las paredes del capilar; con ello se consigue mayor área y mayor capacidad que las de pared recubierta. El diámetro del tubo de esas columnas es de 0.5 a 1.5 mm, mayor que las columnas de pared recubierta. Las ventajas de menor caída de presión y columnas largas siguen vigentes, pero la capacidad de éstas se aproxima a la de las columnas empacadas. La rapidez de flujo suele ser mayor y las conexiones en el volumen muerto a la entrada y en el detector son menos críticas. En muchos casos no se requiere dividir la muestra, siempre que el volumen de ésta sea 0.5 μL o menor. Si en una separación se requieren más de 10 000 platos, se debe considerar una columna de pared recubierta y no una columna empacada.

El tercer tipo es el de las columnas **tubulares abiertas de capa porosa** (PLOT, porous layer open-tubular), que tienen partículas de fase sólida adheridas a la pared de la columna para cromatografía de adsorción. Se suelen usar partículas de alúmina o de polímeros porosos (mallas moleculares). Esas columnas, como las columnas empacadas para

La resolución de las columnas tubulares abiertas es WCOT > SCOT > PLOT. Las capacidades de las columnas SCOT son semejantes a las de las columnas empacadas.

cromatografía de gas-sólido, son adecuadas para separar gases permanentes, así como hidrocarburos volátiles. La eficiencia de resolución en las columnas tubulares abiertas sigue en general el orden $WCOT > SCOT > PLOT$. Las columnas tubulares abiertas de calibre grande (0.5 mm) se han desarrollado con fases estacionarias líquidas más gruesas, hasta de $0.5\ \mu\text{m}$, y su capacidad se asemeja a la de las columnas SCOT y las columnas empacadas, si bien su resolución es menor.

Las columnas pueden tolerar una cantidad determinada de analito antes de sobrecargarse, causando distorsión y ensanchamiento de los máximos, y desplazamientos en los tiempos de retención. El intervalo de capacidad de la muestra va de unos 100 ng para una columna de 0.25 mm de diámetro interno y una película de $0.25\ \mu\text{m}$ de espesor, hasta $5\ \mu\text{g}$ para una columna de 0.53 mm de diámetro interno con una fase estacionaria de $5\ \mu\text{m}$ de espesor, aproximadamente.

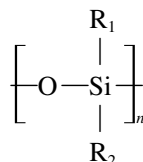
Las columnas tubulares abiertas, pilar de la separación por cromatografía de gases, son fabricadas por numerosas firmas. Algunas de las principales son Alltech Associates, Inc. (www.alltechweb.com), Agilent Technologies (www.chem.agilent.com/Scripts/PHome.asp), Perkin-Elmer Instruments (<http://instruments.perkinelmer.com>), Quadrex Corp. (www.quadrexcorp.com), Restek Corp. (www.restekcorp.com), SGE, Inc. (www.sge.com) y Sigma-Aldrich (Supelco) (www.sigmaaldrich.com).

FASES ESTACIONARIAS: LA CLAVE PARA DIFERENTES SEPARACIONES

Se han propuesto más de mil fases estacionarias para la cromatografía de gases, y hay numerosas fases comerciales disponibles. Se han usado cientos de fases en columnas empacadas buscando optimizar su baja eficiencia general, y la selección de la fase estacionaria es crítica para alcanzar selectividad. Se han hecho varios esfuerzos para predecir la selección adecuada de la fase líquida inmóvil sin recurrir sólo a las técnicas de ensayo y error (véase más adelante).

Las fases se seleccionan de acuerdo con su polaridad, teniendo en cuenta que “lo semejante disuelve a lo semejante”. Esto es, una fase estacionaria polar interactúa más con los compuestos polares, y viceversa. Se debe seleccionar una fase en que el soluto tenga cierta solubilidad. Las fases líquidas no polares en general no son selectivas, porque hay pocas fuerzas entre el soluto y el disolvente, y así las separaciones tienden a seguir el orden de los puntos de ebullición de los solutos, y primero se eluyen los de menor punto de ebullición. Las fases líquidas polares presentan diversas interacciones con los solutos, como interacciones entre dipolos, enlaces de hidrógeno y fuerzas de inducción, y no necesariamente hay la misma correlación entre elución y volatilidad.

Para columnas de sílice fusionadas, la mayor parte de las separaciones pueden hacerse con menos de 10 fases estacionarias líquidas enlazadas de polaridad variable. Esto se debe a su poder de resolución tan alto, y así la selectividad de la fase estacionaria es menos crítica. Las fases estacionarias son polímeros de alto peso molecular térmicamente estables que son líquidos o gomas. Las fases más comunes son polisiloxanos y polietilenglicoles (Carbowax); los primeros son los que más se usan. Los polisiloxanos tienen el esqueleto:



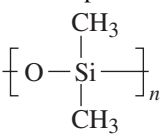
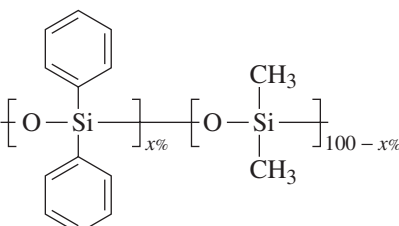
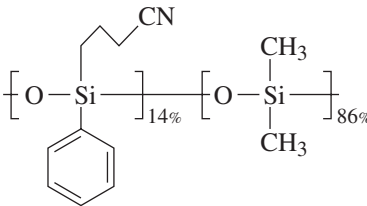
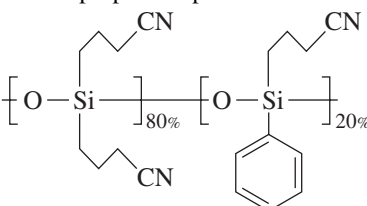
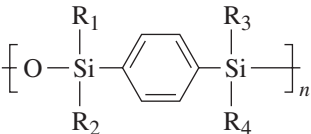
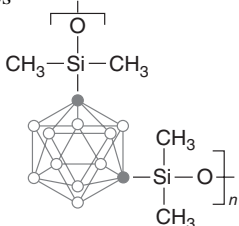
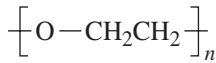
Las fases líquidas estacionarias se seleccionan con base en la polaridad, que se determina a su vez por las polaridades relativas de los solutos.

Los polisiloxanos son las fases estacionarias más comunes para la cromatografía capilar de gases.

Los grupos funcionales R determinan la polaridad e incluyen metilo (CH_3), fenilo () , cianopropilo ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) y trifluoropropilo ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}_3$). La tabla 20.1 presenta algunas fases estacionarias de uso común; las que tienen grupos ciano son susceptibles al ataque por agua y por oxígeno. Las fases Carbowax deben ser líquidas a las temperaturas de

Tabla 20.1

Fases estacionarias en sílice capilar fundido

Fase	Polaridad	Uso	Temp. máx. (°C)
Dimetil polisiloxano 100% 	No polar	Fase básica para propósitos generales de uso rutinario. Hidrocarburos, compuestos aromáticos polinucleares, policlorobencenos	320
Difenil, dimetil polisiloxano 	5% baja 35%, 65% intermedia 65%, 35% intermedia	Para propósitos generales, buenas características en alta temperatura. Pesticidas	320 300 370
14% cianopropilfenil-86% dimetilsiloxano 	Intermedia	Separación de pesticidas organoclorados mencionados en los métodos 608 y 8081 de EPA. Susceptibles a daños por humedad u oxígeno	280
80% Biscianopropil-20% cianopropilfenil polisiloxano 	Muy polar	Ácidos libres, ácidos grasos polisaturados, alcoholes. Evite disolventes polares como agua y metanol	275
Arilenos 	Varía R como antes para variar la polaridad	Alta temperatura, bajo sangrado	300-350
Carboranos  círculos vacíos = boro círculos llenos = carbono	Varía R como antes para variar la polaridad	Alta temperatura, bajo sangrado	430
Poli(etilenglicol) (Carbowax) 	Muy polar	Alcoholes, aldehídos, cetonas y separación de isómeros aromáticos, como xilenos	250

operación. Si se incorporan grupos fenilo o carborano en el esqueleto de siloxano, el esqueleto del polímero se fortalece y se vuelve más rígido, lo cual inhibe la degradación de la fase estacionaria a mayores temperaturas y causa menor sangrado (pérdida de fase estacionaria) de la columna. Estas columnas son importantes cuando se acoplan espectrómetros de masas muy sensibles para la detección, ya que debe minimizarse el sangrado.

ÍNDICES DE RETENCIÓN PARA FASES LÍQUIDAS ESTACIONARIAS

Anteriormente se mencionó el desafío que representa seleccionar la fase estacionaria adecuada para la columna empacada entre la miríada de fases posibles. Se han desarrollado métodos que agrupan las fases de acuerdo con sus propiedades de retención, por ejemplo, de acuerdo con su polaridad. Los **índices de Kovats** y la **constante de Rohrschneider** son dos métodos para agrupar materiales diferentes. Supina y Rose (véase referencia 8) tabularon las constantes de Rohrschneider para 80 fases líquidas comunes, lo cual permite decidir, casi por inspección, si vale la pena hacer la prueba con determinada fase líquida. De igual importancia resulta la facilidad de identificar las fases que sean muy similares y que sólo difieren por su marca comercial. McReynolds describió un método parecido definiendo las fases a partir de sus **constantes de McReynolds** (véase referencia 6). McReynolds usó un conjunto de compuestos estándar para medir los tiempos de retención a 120°C en columnas con 20% de carga para clasificar las fases estacionarias.

Otra publicación de referencia para seleccionar fases estacionarias es un folleto titulado *Guide to Stationary Phases for Gas Chromatography* (Guía de fases estacionarias para cromatografía de gases), compilado por Anlabs, Inc., North Haven, CT, 1977.

El **índice de retención de Kovats** también es útil para identificar un compuesto a partir de su tiempo de retención relativo a los de compuestos similares en una serie homóloga (los que difieren en la cantidad de átomos de carbono en una estructura similar, como en las cadenas de alcano). El índice I se define como sigue:

$$I = 100 \left[n_e + \frac{\log t'_{R(\text{prob})} - \log t'_{R(n_i)}}{\log t'_{R(n_i)} - \log t'_{R(n_{e-1})}} \right] \quad (20.1)$$

donde n_e es la cantidad de átomos de carbono en el alcano de cadena más corta y n_i se refiere al alcano de cadena más larga; t'_R es el tiempo de retención corregido (véase ecuación 19.6). El índice de Kovats para un compuesto problema se puede comparar con índices catalogados en diversas columnas para ayudar a identificarlo. El logaritmo del tiempo de retención, $\log t'_R$, es en general una función lineal de la cantidad de átomos de carbono en una serie homóloga de compuestos.

VOLATILIDAD DEL ANALITO

En las descripciones anteriores se ha subrayado el papel de la polaridad de la fase estacionaria (y del analito) para obtener separaciones efectivas; el otro factor importante es la volatilidad relativa de las especies del analito. Las especies más volátiles tenderán a migrar con mayor rapidez por la columna. Las especies gaseosas, en especial las moléculas pequeñas, como las de CO, migran rápidamente. El factor de retención k (véase ecuación 19.25) se relaciona con la volatilidad mediante

$$\ln k = \Delta H_v/RT - \ln \gamma + C$$

donde ΔH_v es el calor de vaporización del analito, por lo que un mayor valor (mayor punto de ebullición) causa menor volatilidad y mayor k . Al aumentar la temperatura T desciende esta contribución a la retención. El término $\ln \gamma$ es una función de la interacción con la fase estacionaria (polaridad, etc.), y es un término de actividad que disminuye desde la unidad para el estado puro conforme la interacción se incrementa, haciendo que k aumente;

C es una constante (y R es la constante de los gases). Gran parte de la selectividad de puntos de ebullición y de la capacidad de ajuste de las separaciones se debe al término dependiente de T en la ecuación, y es la causa de que se deban hacer programaciones de temperatura (véase más adelante).

Entonces, la selección de las condiciones cromatográficas (columna, temperatura, rapidez de flujo del acarreador) estarán influidas por la volatilidad del compuesto, su peso molecular y su polaridad.

20.3 Detectores para cromatografía de gases

Desde los primeros experimentos con la cromatografía de gases se han desarrollado más de 40 detectores. Algunos de ellos fueron diseñados para responder a la mayor parte de los compuestos en general; otros para ser selectivos hacia determinados tipos de sustancias. Se describirán a continuación algunos de los detectores más usados. La tabla 20.2 muestra y compara algunos detectores de uso común, con respecto a su aplicación, sensibilidad y linealidad.

El detector original para cromatografía de gases fue el **detector de conductividad térmica o de alambre caliente** (TCD, thermal conductivity detector). Conforme pasa un gas sobre un filamento caliente, la temperatura y por consiguiente la resistencia del alambre variarán de acuerdo con la conductividad térmica del gas. El gas acarreador puro se pasa sobre un filamento, y el gas efluente que contiene los componentes de la muestra se pasa sobre otro. Estos filamentos se encuentran en ramas opuestas de un puente de Wheatstone, que mide la *diferencia* de sus resistencias. Mientras no haya gas de la muestra en el efluente, las resistencias de los alambres serán iguales; pero cuando el gas acarreador lleva un componente eluido o eluato de la muestra habrá un pequeño cambio en la resistencia de la rama del efluente. Este cambio, que es proporcional a la concentración del componente de la muestra en el gas acarreador, se registra en la gráfica. El detector de conductividad térmica es particularmente útil en el análisis de mezclas gaseosas y de gases permanentes, como el CO_2 .

Con los detectores de conductividad térmica se prefiere usar hidrógeno y helio (por razones de seguridad, se prefiere el helio) como gases de arrastre, porque tienen una conductividad térmica muy alta en comparación con la mayor parte de los demás gases, por lo que se produce un cambio máximo de resistencia en presencia de los componentes de la mezcla. La conductividad térmica del hidrógeno es 53.4×10^{-5} , y la del helio es $41.6 \times 10^{-5} \text{ cal/}^\circ\text{C-mol}$ a 100°C , en tanto que las del argón, el nitrógeno, el dióxido de carbono y la mayor parte de los vapores orgánicos suelen tener una décima parte de estos valores. Las ventajas de los detectores de conductividad térmica son su simplicidad y su respuesta aproximadamente igual para la mayor parte de las sustancias. Su respuesta también es muy reproducible. Sin embargo, no son los detectores más sensibles.

La mayor parte de los compuestos orgánicos forman iones en una flama, en general cationes como CHO^+ . Ésta es la base de un detector extremadamente sensible, el **detector de ionización de flama** (FID, flame ionization detector). Los iones se miden (se colectan) mediante un par de electrodos de polaridad opuesta. La respuesta (cantidad de iones recolectados) depende de la cantidad de átomos de carbono en la muestra y del estado de oxidación del carbono. Aquellos átomos que se encuentran oxidados por completo no se ionizan, y los compuestos que tienen la mayor cantidad de carbonos en estado de oxidación bajo producen las señales más grandes. Este detector tiene una sensibilidad excelente y permite medir componentes en concentraciones de partes por mil millones. Es unas 1 000 veces más sensible que el detector de conductividad térmica. Sin embargo, el intervalo dinámico es más limitado y la cantidad de muestra líquida se restringe a $1 \mu\text{L}$ o menos. El gas acarreador tiene poca importancia relativa. Los que se usan con más frecuencia son el helio, el nitrógeno y el argón. El detector de ionización de flama es insensible a la mayor parte de los compuestos inorgánicos, incluyendo el agua, por lo que pueden inyec-

Los detectores por conductividad térmica son muy generales, aunque no muy sensibles.

El detector de ionización de flama muestra generalidad y es sensible al mismo tiempo. Es el detector que se usa con más frecuencia.

Tabla 20.2

Comparación de detectores para cromatografía de gases

<i>Detector</i>	<i>Aplicación</i>	<i>Intervalo de sensibilidad</i>	<i>Linealidad</i>	<i>Observaciones</i>
Conductividad térmica	General, responde a todas las sustancias	Buena, 5-100 ng, 10 ppm-100%	Buena, excepto termistores a mayores temperaturas	Sensible a cambios de temperatura y flujo; sensible a la concentración
Ionización de flama	Todas las sustancias orgánicas; algunos compuestos oxigenados responden pobremente. Bueno para hidrocarburos	Muy buena, 10-100 pg, 10 ppb-99%	Excelente, hasta 10 ⁶	Requiere un flujo muy estable de gas; la respuesta para el agua es 10 ⁴ a 10 ⁶ veces más débil que para los hidrocarburos; sensible a las masas
Fotométrico de flama	Compuestos de azufre (393 nm), compuestos de fósforo (526 nm)	Muy buena, 10 pg S, 1 pg P	Excelente	
Termoiónico de flama	Todos los compuestos nitrogenados y fosforados	Excelente, 0.1-10 pg, 100 ppt-0.1%	Excelente	Se debe recubrir la malla con sales de sodio; sensible a la masa
Perla de silicato de rubidio	Específico para sustancias nitrogenadas y fosforadas	Excelente		Sensible a la masa
Ionización de argón (rayos β)	Todas las sustancias orgánicas; con He gaseoso ultrapuro como gas acarreador, también para gases inorgánicos y permanentes	Muy buena; 0.1-100 ng, 0.1-100 ppm	Buena	Muy sensible a las impurezas y al agua; necesita gas acarreador muy puro; sensible a la concentración
Captura de electrones	Todas las sustancias que tienen afinidad para capturar electrones; no responde a hidrocarburos alifáticos ni nafténicos	Excelente para sustancias halogenadas, 0.05-1 pg, 50 ppt-1 ppm	Pobre	Muy sensible a impurezas y cambios de temperatura; análisis cuantitativo complicado; sensible a la concentración
Espectrometría de masas	Casi todas las sustancias. Depende del método de ionización	Excelente	Excelente	Puede suministrar información estructural y de peso molecular

tarse soluciones acuosas. Si se usa oxígeno como gas de soporte de flama en lugar de aire se pueden detectar muchos compuestos inorgánicos, porque se produce una flama más caliente que los puede ionizar. Siendo tan sensible el detector de ionización de flama, se puede derivar una parte de la mezcla mediante un divisor de flujo adecuado para poderlo recolectar y analizarlo después, si es necesario.

Cuando se queman compuestos de azufre y fósforo en una flama con detector de ionización se producen especies quimioluminiscentes que producen luz a 393 nm (azufre) y 526 nm (fósforo). Un filtro óptico de interferencia deja pasar la luz adecuada a un tubo fotomultiplicador, que es un detector sensible de fotones. A estos detectores se les llama detectores fotométricos de flama (FPD, flame photometric detector).

El **detector termoiónico de flama** es, en esencia, un detector de ionización de flama de dos tiempos diseñado para dar mayor respuesta específica para sustancias nitrogenadas y fosforadas. Arriba del primer detector de flama se monta un segundo, y los gases de la flama del primero pasan a la segunda flama. Las dos etapas se dividen con una malla de alambre recubierta con una sal o base alcalina, como hidróxido de sodio.

El efluente de la columna entra a la flama inferior, que funciona como detector de ionización de flama cuya respuesta se puede registrar. Una corriente pequeña normalmente fluye en la segunda flama, debido a la evaporación y a la ionización del sodio de la malla. Sin embargo, si se quema una sustancia con nitrógeno o fósforo en la flama inferior, los iones que resultan de esos elementos aumentan la volatilización del metal alcalino de la malla, lo que causa una respuesta mucho mayor (100 veces cuando menos) que la de la flama inferior hacia el nitrógeno o el fósforo. Si se registran las señales de ambas flamas puede obtenerse el cromatograma normal de un detector de ionización de flama y además un segundo cromatograma donde están amplificados los máximos correspondientes a los compuestos nitrogenados y fosforados respecto de los demás, que prácticamente se hallan ausentes. Este detector se conoce también como detector de nitrógeno-fósforo (NPD, nitrogen-phosphorus detector).

En el **detector de rayos β , o de ionización de argón**, la muestra se ioniza por bombardeo con rayos β de una fuente radiactiva, como estroncio-90. El gas acarreador es argón, que se excita con las partículas β que pasan a un estado metaestable. El argón tiene una energía de excitación de 11.5 eV, superior que el potencial de ionización de la mayor parte de los compuestos orgánicos, y las moléculas de la muestra se ionizan al hacer colisión con los átomos de argón excitados. Los iones son detectados de la misma manera que en el detector de ionización de flama. Este detector es muy sensible, pero menos exacto que los demás, y la fuente de rayos β es un riesgo potencial, aunque con blindaje adecuado no hay peligro alguno. La sensibilidad es unas 300 veces mayor que la de la celda de conductividad térmica convencional.

El ECD es muy sensible para compuestos halogenados, como los pesticidas, por ejemplo.

El **detector de captura de electrones** (ECD, electron capture detector) es extremadamente sensible para compuestos que contienen átomos electronegativos y es selectivo hacia ellos. Su diseño es parecido al del detector de rayos β ; como gas acarreador se usa nitrógeno o metano dopados con argón. Estos gases tienen bajas energías de excitación en comparación con el argón, y sólo se ionizan los compuestos con gran afinidad electrónica mediante captura de electrones.

El cátodo del detector consiste en una hoja metálica impregnada con un elemento emisor β , normalmente tritio o níquel-63; el primero proporciona mayor sensibilidad, pero tiene un límite superior de temperatura de 220°C debido a las pérdidas de tritio a altas temperaturas, en tanto que el níquel-63 se puede usar de manera sistemática a temperaturas de hasta 350°C. También el níquel es más fácil de limpiar que la fuente de tritio. Estas fuentes radiactivas inevitablemente desarrollan una película superficial que hace bajar la intensidad de emisión β y, en consecuencia, la sensibilidad. Se suelen usar soluciones de KOH a 30% para limpiar las fuentes.

La celda se polariza normalmente aplicándole un potencial, y los electrones (rayos β) emitidos por la fuente en el cátodo chocan con moléculas de gas haciéndolas liberar electrones. La cascada de electrones térmicos que resulta es atraída hacia el ánodo, y establece una corriente estable. Cuando un compuesto que posee afinidad electrónica se

introduce en la celda, captura electrones y forma un ion negativo grande. La movilidad del ion negativo en el campo eléctrico es unas 100 000 veces menor que la de los electrones, por lo que se produce disminución de corriente.

Son relativamente pocos los compuestos que poseen electronegatividades importantes, por lo que la captura de electrones es bastante selectiva y permite la determinación de componentes a nivel de trazas en presencia de sustancias que no capturan electrones. Entre los átomos o grupos con gran afinidad electrónica se encuentran los halógenos, los grupos carbonilo y nitro, ciertos compuestos aromáticos de anillos condensados y algunos metales. El detector de captura de electrones se usa mucho para pesticidas y bifenilos policlorados (PCB). La captura electrónica tiene poca sensibilidad hacia hidrocarburos que no sean aromáticos.

Los compuestos con baja afinidad electrónica pueden determinarse preparando sus correspondientes derivados apropiados. Por ejemplo, los compuestos biológicos más importantes poseen bajas afinidades electrónicas; los esteroides, como el colesterol, se pueden determinar preparando sus derivados de cloroacetato. Se han determinado trazas de elementos a niveles de nanogramo y picogramo preparando quelatos de trifluoroacetilacetona volátiles. Como ejemplos están cromo, aluminio, cobre y berilio. El cloruro de metilmercurio, presente en pescado contaminado se puede determinar a niveles de nanogramos.

El cromatógrafo de gases puede interconectarse con instrumentos de espectroscopia atómica para detectar elementos específicos. Esta poderosa combinación se usa para determinar diferentes formas de elementos tóxicos en el ambiente. Por ejemplo, un detector de emisión atómica en plasma de helio inducida por microondas (AED, atomic emission detector) se ha usado para detectar, en peces, derivados volátiles metilados y etilados de mercurio, separados por cromatografía de gases. Los cromatógrafos de gases también se pueden conectar con espectrómetros de masa de plasma inductivamente acoplados (ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometer) en los que se introducen especies atómicas isotópicas del plasma a un espectrómetro de masas (véase la sección 20.10 para una descripción de la espectrometría de masas) para tener una detección simultánea muy sensible de especies de varios elementos.

Los detectores son sensibles a la concentración o al flujo de masa. La señal de un detector sensible a la concentración se relaciona con la concentración del soluto en el detector, y se hace disminuir por dilución con un gas de relleno; en general, la muestra no se destruye. Los detectores de conductividad térmica, ionización de argón y captura de electrones son sensibles a la concentración. En los detectores sensibles al flujo de masa la señal se relaciona con la relación con la cual entran las moléculas de soluto al detector, y no se afecta por el gas de relleno. Esos detectores suelen destruir la muestra, como los detectores de ionización de flama y los termoiónicos de flama. A veces se usa cromatografía de gases en dos columnas para aumentar la resolución, tomando porciones de eluyentes de la columna inicial y conduciéndolos a una segunda columna para tener una separación secundaria. El primer detector debe ser no destructivo, o bien el eluyente debe dividirse antes de la detección para que una parte del mismo entre a la segunda columna.

20.4 Selección de la temperatura

La selección de una temperatura adecuada en la cromatografía de gases es un compromiso entre varios factores. La **temperatura de inyección** debe ser relativamente alta, consistente con la estabilidad térmica de la muestra, para producir la máxima rapidez de evaporación que haga pasar la muestra a la columna ocupando un volumen pequeño; con ello se obtendrá un menor ensanchamiento y una mayor resolución. Sin embargo, una temperatura de inyección demasiado elevada tenderá a degradar el tapón de hule septum y a ensuciar el puerto de inyección. La **temperatura de la columna** es un compromiso entre *velocidad*, *sensibilidad* y *resolución*. A temperaturas de columna altas, los componentes de la muestra pasarán la mayor parte del tiempo en la fase gaseosa, por lo que se eluyen con rapidez;

Las condiciones cromatográficas representan un compromiso entre velocidad, resolución y sensibilidad.

La programación de temperatura, de menor a mayor, acelera las separaciones. Los solutos más difíciles de eluir se eluyen más rápido a mayores temperaturas. Los que se eluyen con mayor facilidad se resuelven mejor a menores temperaturas.

sin embargo, la resolución será mala. A bajas temperaturas pasarán más tiempo en la fase estacionaria y se eluirán con lentitud; la resolución aumenta, pero la sensibilidad disminuye porque los máximos se extienden más. La **temperatura del detector** debe ser suficientemente alta para evitar la condensación de los componentes de la muestra. La sensibilidad del detector de conductividad térmica disminuye al aumentar la temperatura, por lo que ésta se mantiene en la mínima necesaria.

Las separaciones se facilitan con la **programación de la temperatura**, y la mayor parte de los cromatógrafos de gas tienen capacidad para programarla. La temperatura se hace aumentar automáticamente con una rapidez predeterminada durante la corrida del cromatograma; este aumento puede ser lineal, exponencial, escalonado, etc. De esta forma los compuestos eluidos con mayor dificultad se pueden eluir en un tiempo razonable sin forzar a los demás para que salgan demasiado rápido de la columna.

La figura 20.6 muestra la separación de una mezcla compleja de hidrocarburos con temperatura programada primero escalonada y luego lineal. Los primeros 12 componentes gaseosos o ligeros se eluyen fácilmente y se resuelven a una temperatura fija baja (100°C) en un tiempo de 5.5 min, en tanto que los demás requieren mayor temperatura. Pasados 5.5 min, se hace aumentar linealmente la temperatura a razón de 5°C/min durante 20 min, hasta 200°C, y después se mantiene en ese valor hasta eluir los últimos dos componentes.

Si el componente por determinar no es volátil a las temperaturas accesibles, puede convertirse en un **derivado volátil**. Por ejemplo, los ácidos grasos no volátiles se pueden convertir en sus ésteres metílicos, volátiles. Algunos halogenuros inorgánicos son apreciablemente volátiles a altas temperaturas y se pueden determinar por cromatografía de gases. Se pueden obtener compuestos volátiles de metales al complejarlos, por ejemplo, con trifluoroacetilacetona.

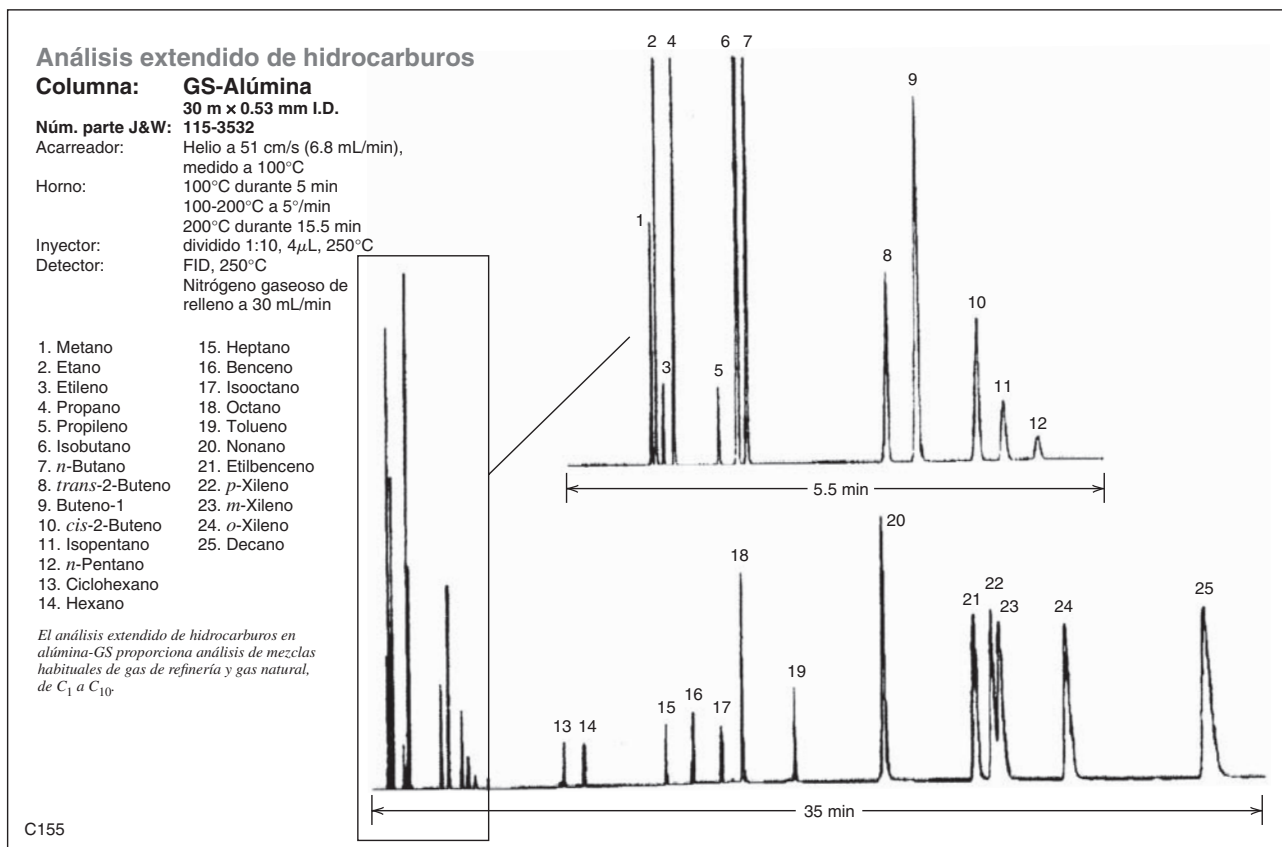


Figura 20.6. Análisis con temperatura programada. (Cortesía de Agilent Technologies.)

20.5 Mediciones cuantitativas

Las concentraciones de los solutos eluidos son proporcionales a las áreas bajo los máximos registrados. Las integraciones electrónicas en los instrumentos de cromatografía de gases imprimen las áreas de los máximos y generalmente también sus tiempos de retención. También es posible medir la altura del máximo para construir una curva de calibración. Siempre debería ser posible establecer la linealidad de una curva de calibración.

El método de **adiciones de estándar** es una técnica útil para efectuar calibraciones, en especial para muestras ocasionales. A una o más alícuotas de la muestra se les mezcla con una concentración conocida del estándar, y el incremento en el área del máximo es proporcional a la cantidad de estándar agregado. Este método tiene la ventaja de verificar que el tiempo de retención del analito desconocido sea igual al del estándar.

Un método más importante en el análisis cuantitativo es el uso de **estándares internos**. En él, a la muestra y a los estándares se les adiciona una cantidad igual de soluto cuyo tiempo de retención sea cercano al del analito. La relación del área del estándar o del analito a la del estándar interno se usa para preparar la curva de calibración y determinar la concentración desconocida. Este método compensa variaciones de parámetros físicos, en especial inexactitudes en el pipeteado o la inyección de volúmenes de muestras del orden de microlitros. Además, la retención *relativa* permanecería constante, aun cuando la rapidez de flujo pueda variar.

Se acostumbra agregar un estándar interno a las soluciones del estándar y de la muestra. Se mide la relación del área del máximo del analito con la del máximo del estándar interno, y permanecerá inalterada por pequeñas variaciones en el volumen inyectado y las condiciones cromatográficas.

EJERCICIO EN HOJA DE CÁLCULO: CALIBRACIÓN CON ESTÁNDARES

Cuando se detiene a un conductor por sospecha de conducir bajo la influencia del alcohol se determina el contenido de éste en sangre para ver si rebasa el límite legal permitido. La medición del aliento alcohólico se suele hacer en los arrestos rutinarios de conductores por ser no invasivo, y se aplica un factor para convertir la concentración de alcohol en la sangre, aunque éste a su vez está sujeto a variaciones biológicas en los individuos. En los casos en que hay un accidente, lesión o muerte, el alcohol en la sangre se suele determinar directamente analizando una muestra de sangre por cromatografía de gases.

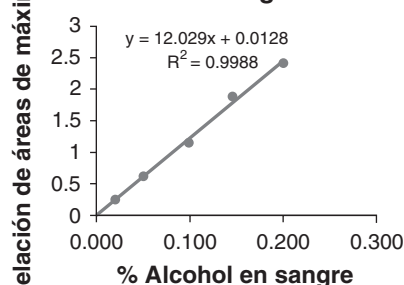
A una muestra de 5.00 mL de sangre de un sospechoso se le agregan 0.500 mL de un estándar interno con 1% de propanol. Una porción de 10 μ L de la mezcla se inyecta al cromatógrafo de gases y se registra el área del máximo. Los estándares se manejan del mismo modo. Se obtienen los siguientes resultados:

% EtOH (peso/vol)	Área del máximo de EtOH	Área del máximo de PrOH
0.020	114	457
0.050	278	449
0.100	561	471
0.150	845	453
0.200	1 070	447
Se desconoce	782	455

Preparar una hoja de cálculo para construir una curva de calibración de la relación de áreas EtOH/PrOH en función de la concentración de EtOH y calcular la concentración del problema y su desviación estándar. Véanse las ecuaciones 16.18 a 16.21 y la hoja de cálculo que les sigue en el capítulo 16 para recordar los cálculos estadísticos.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Determinación de etanol en sangre usando un estándar interno de propanol con cromatografía de gases							
2	%EtOH	Área de máx.	Área de máx.	Relación de áreas de máximos				
3		EtOH	PrOH	EtOH/PrOH				
4	0.020	114	457	0.249453				
5	0.050	278	449	0.619154				
6	0.100	561	471	1.191083				
7	0.150	845	453	1.865342				
8	0.200	1070	447	2.393736				
9	Problema (y_c)	782	455	1.718681				
10								
11	Pendiente, m:		12.0286923					
12	Orden al origen, b:		0.01276953					
13	Se desconoce % alcohol en sangre, C:		0.14182022					
14								
15	S_r :	0.0345743						
16	N:	5						
17	S_{xx} :	0.02132						
18	y_{prom} :	1.2637535						
19	M:	1						
20	S_c :	0.0033365						
21								
22	Celda D4 = relación = B4/C4 (copiar hacia abajo)							
23	Celda C11 = m = PENDIENTE(D4:D8,A4:A8)							
24	Celda C12 = b = ORDEN DEL ORIGEN(D4:D8,A4:A8)							
25	Celda C13 = C = ($y_c - b$)/m = (Relación _c - b)/m = (D9-C12)/C11							
26	Celda B15 = S_r = ERROR.TÍPICOYX(D4:D8,A4:A8)							
27	Celda B16 = N = CONTAR(A4:A8)							
28	Celda B17 = S_{xx} = N*VARP(A4:A8) = B16*VARP(A4:A8)							
29	Celda B18 = y_{prom} = PROMEDIO(D4:D8)							
30	Celda B19 = réplicas de la muestra = M = 1							
31	Celda B20 = desv. est. $S_c = S_r / (1/M + 1/N + (y_c - y_{prom})^2 / m^2 * S_{xx})^{1/2}$							
32	= B15/C11*((1/B19+1/B16+(D9-B18)/C11^2*B17))^0.5							

Determinación de contenido de alcohol en sangre con GC



La concentración de alcohol en la sangre es $0.142 \pm 0.003\%$, que es alta. El límite legal para conducir en muchas poblaciones es 0.08% de alcohol en sangre (peso/vol). La influencia sobre la capacidad de conducir es exponencial respecto de la concentración de alcohol, y aproximadamente sube al doble por cada 0.05% . Entonces, ¡alguien con 0.20% de alcohol en la sangre está ocho veces más alcoholizado que uno con 0.05% !

20.6 Análisis del espacio de cabeza

En el capítulo 18 se describió la extracción con disolventes y la extracción de fase sólida como métodos de preparación de muestra aplicables a los análisis con cromatografía de gases y otras técnicas. Una forma cómoda de muestrear sustancias volátiles para su análisis con cromatografía de gases es la técnica de **análisis del espacio de cabeza**. En éste se permite que una muestra en una ampollita sellada llegue al equilibrio a una temperatura fija, por ejemplo 10 min, y entonces el vapor en equilibrio sobre la muestra se extrae e inyecta al cromatógrafo de gases. En un procedimiento típico, un vial de 20 mL de vidrio se puede tapar con un tapón septum de hule de silicona recubierto con politetrafluoroetileno (PTFE). Se inserta en él la aguja de una jeringa para sacar una porción de 1 mL, o bien se deja que el vapor a presión se expanda en un contenedor de muestra de 1 mL a presión atmosférica para después barrer el contenido de éste con un gas acarreador auxiliar hasta el inyector del cromatógrafo de gases. Se pueden determinar compuestos volátiles en muestras sólidas o líquidas en cantidades de partes por millón o menos. Las tabletas de produc-

En el análisis del espacio de cabeza se evita la necesidad de extraer analitos volátiles con disolventes.

tos farmacéuticos se pueden disolver en una solución de sulfato de sodio en agua para analizar el gas en equilibrio.

20.7 Desorción térmica

La desorción térmica (TD, thermal desorption) es una técnica en la que se calientan muestras sólidas o semisólidas bajo el flujo de un gas inerte. Los compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles se extraen de la matriz de la muestra y pasan a la corriente gaseosa, la cual se introduce en un cromatógrafo de gases. Normalmente las muestras se pesan en un tubo para vapores desechable de PTFE, el cual se inserta en un tubo de acero inoxidable para su calentamiento.

La desorción térmica debe efectuarse a una temperatura menor al punto de descomposición de los restantes materiales en la matriz de la muestra. Los materiales sólidos deben tener gran superficie (como polvo, granos o fibras). Los materiales a granel se muelen con un agente enfriador, como dióxido de carbono sólido, antes de pesarlos. Con esta técnica se simplifica la preparación de la muestra y se evita la necesidad de disolver las muestras o de emplear extracción con disolventes. La desorción térmica está bien ubicada para trabajar con muestras secas u homogéneas como polímeros, ceras, polvos, preparaciones farmacéuticas, alimentos sólidos, cosméticos, ungüentos y cremas. En esencia, no se requiere preparación de la muestra.

Un ejemplo del uso de desorción térmica es en el análisis de sustancias orgánicas volátiles en pinturas a base de agua. El tubo de desorción térmica se usa en combinación con un segundo tubo que contiene un sorbente que separa el agua, ya que ésta no puede entrar a la columna capilar de cromatografía de gases. Se coloca una pequeña alícuota de pintura (por ejemplo, 5 μ L) sobre lana de vidrio en el tubo de desorción térmica. Los sólidos de la pintura, que perjudicarían a una columna de cromatografía de gases, quedan atrás.

En la desorción térmica el analito volátil se desorbe de la muestra calentándolo e introduciéndolo directo en el cromatógrafo de gases.

Véase la literatura sobre selección de disolventes para desorción térmica en www.markes.com.

20.8 Purga y captura

La técnica de **purga y captura** es una variación del análisis por desorción térmica en que las sustancias volátiles se purgan de una muestra líquida colocada en un recipiente haciendo burbujear un gas (por ejemplo, aire) a través de ella y recolectando las sustancias volátiles en un tubo que contiene un sorbente adecuado. Las sustancias volátiles capturadas se analizan entonces desorbiéndolas térmicamente. Ésta es una variante del análisis de “espacio de cabeza”, donde los analitos se concentran antes de introducirlos al cromatógrafo de gases. Un sorbente común es el hidrofóbico, que puede recolectar sustancias orgánicas de volatilidad variable, desde hexano hasta C16 o más. Como ejemplos están Tenax TA o el carbón grafitizado. Estos sorbentes permiten que los disolventes polares, como agua o etanol, los atraviesen en bloque sin retenerlos. El whisky se analiza para los ésteres etílicos con C4 a C6, los cuales son indicadores de su madurez, y el alcohol no interfiere en el cromatograma.

El purgado y captura es adecuado para muestras no homogéneas, porque éstas pueden ser considerablemente grandes, y también para muestras con mucha humedad. Como ejemplos están los alimentos como pizzas o frutas. La medición de las sustancias orgánicas malolientes en el vapor del espacio de cabeza de una muestra de alimento añejado se usa para determinar si todavía cumple con los requisitos de “frescura”. La muestra del alimento, colocada en un gran recipiente de purga, se calienta bajo un flujo de aire, y el aire efluente se recolecta en el sorbente.

Se pueden usar sorbentes más selectivos que los del tipo Tenax, y se pueden usar dos o más en serie para medir distintas clases de compuestos. Otros sorbentes pueden ser materiales para cromatografía, como alúmina, gel de sílice, Florisil (para PCB), carbón activado de coco, Poropak y Chromosorb. Algunos pueden recubrirse para aplicaciones específicas, como el gel de sílice recubierto con ácido sulfúrico, o el hidróxido de sodio para recolectar bases o ácidos.

La técnica de purga y captura es una forma de análisis de espacio de cabeza donde el analito volátil es capturado sobre un sorbente para después desorberlo en forma térmica.

Otra aplicación importante de la captura es en análisis directos de muestras gaseosas, como las del aire. La muestra se pasa directo por el tubo con sorbente y las sustancias volátiles capturadas en forma subsecuente se desorben o se remueven por extracción. Esta técnica se aplica mucho en el monitoreo de aire de interiores y exteriores.

Para mayor información sobre los sorbentes y la desorción térmica, consultar SKC (www.skcinco.com) y Markes International (www.markes.com). SKC presenta una lista de sorbentes para aplicaciones específicas (analitos).

20.9 Pequeña y rápida

Las fases estacionarias de película delgada, las columnas de pequeño diámetro y cortas, y un gas acarreador ligero permiten efectuar separaciones rápidas.

La llegada del manejo automatizado y computarizado de datos ha hecho posible el diseño de columnas cromatográficas con películas de fase líquida delgada que permiten hacer análisis muy rápidos, incluso con duración de segundos. Se usan columnas capilares de diámetro pequeño y cortas con hidrógeno como gas acarreador (éste permite una transferencia de masa más rápida) y rapidez en la programación de temperaturas altas. Se usan tasas de flujo y presiones mayores más rápidas. Para la elución rápida de los analitos se requiere que el tiempo de respuesta del detector y la velocidad de adquisición de datos sean rápidos, porque los anchos de los máximos son del orden de sólo 0.5 s en comparación con 0.5 a 2 s o más en la cromatografía de gases convencional, en tubo capilar; de este modo, los tiempos de análisis mejoran en un factor de 5 a 10. La cromatografía de alta velocidad con columnas cortas hace que la selección (selectividad) de la columna sea más crítica que en la cromatografía de gases capilar convencional. La figura 20.7 muestra una separación haciendo uso de cromatografía de gases rápida de una muestra de hidrocarburos que tomó menos de 10 s en llevarse a cabo usando una columna de 0.32 mm de diámetro y 5 m de longitud con fase estacionaria de 0.25 μm de espesor, lo que contrasta con una cromatografía de gases convencional que requiere 10 min.

Las columnas más cortas y una programación de temperaturas más rápida producen algo de pérdida en la resolución, lo cual se compensa parcialmente mediante un diámetro interior menor y una película líquida más delgada.

Se consiguen cromatógrafos de gases pequeños y portátiles de varias firmas comerciales. Tienen aplicaciones limitadas, sus estufas son isotérmicas, y operan bien con aplicaciones específicas. [Véase C. Henry, "Taking the Show on the Road. Portable GC and GC/MS" (reseña de producto), *Anal. Chem.*, **69**(5) (1997) 195A.]

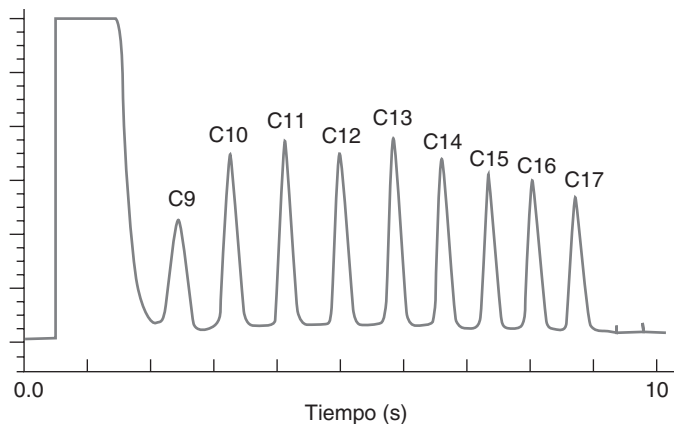


Figura 20.7. Separación de hidrocarburos de C9 a C17 mediante cromatografía rápida y programación rápida de temperatura. Condiciones: 5 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μm de espesor de película, 60°C, 19.2°C/s. [Según G. L. Reed, K. Clark-Baker y H. M. McNair. *J. Chromatogr. Sci.*, **37** (1999) 300. Reproducido del *Journal of Chromatographic Science* con autorización de Preston Publications, división de Preston Industries, Inc.]

20.10 Cromatografía de gases-espectrometría de masas

La aparición de un máximo cromatográfico a determinado tiempo de retención sugiere, pero no garantiza, la presencia de determinado compuesto. La probabilidad de que la identificación sea positiva depende de factores como el tipo y la complejidad de la muestra y de los procedimientos de preparación de muestra que se empleen. Un cromatograma de gases de una muestra de sangre diluida con una solución de un estándar interno (para verificar el tiempo de retención y el área relativa del máximo) que produce un máximo grande en el lugar esperado para el alcohol sugiere fuertemente la presencia de alcohol en la sangre, dado que hay pocos compuestos no tóxicos que podrían interferir. En general, se toma como indicio de la ingestión de alcohol, y la cuestión legal clave es: ¿cuál es la concentración? Sin embargo, puede suceder que el aspecto de un máximo de cocaína en cromatografía de gases no sea tan directa para confirmar la presencia de esta droga; en este caso se suelen buscar pruebas de confirmación, de aquí que se deba recurrir a la información espectral como la espectrometría infrarroja o la ultravioleta. Un método muy poderoso es la combinación de cromatografía de gases con la espectrometría de masas, y la técnica se llama **cromatografía de gases-espectrometría de masas** (gases-masas).

Los sistemas gases-masas solían llenar un recinto y costar varios cientos de miles de dólares; hoy se dispone de sistemas compactos, de escritorio, relativamente poco costosos, y se usan mucho en los laboratorios. En la figura 20.8 se muestra un moderno instrumento de gases-masas. Primero se describirán los principios de los espectrómetros de masas y los tipos de instrumentos, y a continuación se dirá cómo se usan juntas las técnicas de cromatografía de gases y espectrometría de masas.

PRINCIPIOS DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas es una técnica instrumental sofisticada que produce, separa y detecta iones en fase gaseosa; las partes básicas de un espectrómetro de masas se muestran en la figura 20.9. Una muestra con una presión de vapor moderadamente alta se introduce en un sistema de admisión, que trabaja a un vacío de 10^{-4} a 10^{-7} torr y a alta temperatura, hasta 300°C. La muestra se evapora y arrastra hacia la fuente de ionización. Los compues-

La cromatografía de gases-espectrometría de masas es una herramienta muy poderosa para obtener identificaciones positivas.



Figura 20.8. Sistema de escritorio para cromatografía de gases-espectrometría de masas. (Cortesía de Agilent Technologies.)

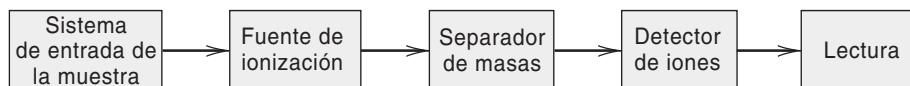


Figura 20.9. Diagrama de bloques de un espectrómetro de masas.

tos no volátiles se pueden evaporar mediante una chispa u otra fuente. Las moléculas del analito suelen ser neutras y se deben ionizar, lo que se logra con varios métodos, aunque lo habitual es bombardearla con electrones de alta energía en una fuente de impacto electrónico. Más adelante se describirán las fuentes de ionización comunes.

Los iones se separan en el espectrómetro al ser acelerados a través de un separador de masas descrito adelante. En realidad se hace la separación de acuerdo con las relaciones de masa a carga (m/e) de los iones. No se entrará en detalle de las muchas y útiles reglas para deducir la información estructural a partir de los espectros de masas; sin embargo, hay una de gran utilidad para identificar al ion molecular: la **regla del nitrógeno**. Para aplicarla se supone que M^+ es la masa máxima (el ion molecular), sin tener en cuenta las aportaciones de los isótopos. Esa masa molecular será un número par si contiene un número par (0, 2, 4,...) de átomos de nitrógeno; en caso contrario, será un número impar, es decir, cuando contenga un número impar de átomos de nitrógeno. Así pues, si no hay nitrógeno, la masa será par. Además, no debe haber pérdidas ilógicas en la fragmentación. Por ejemplo, las moléculas orgánicas rara vez pierden más de cuatro átomos de H para formar fragmentos $M-4$. Otras pérdidas que cabe esperar son de grupos metilo ($M-15$), NH_2 u O ($M-16$), OH o NH_3 ($M-17$), H_2O ($M-18$), F ($M-19$), HF ($M-20$) y C_2H_2 ($M-26$). No debe haber pérdidas de 4 a 14 ni de 21 a 25 unidades de masa. Si las hay, la asignación es incorrecta o se tiene el espectro de una mezcla.

La regla del nitrógeno indica si se tiene un compuesto con peso fórmula par o impar.

RESOLUCIÓN

La resolución indica lo precisa que puede ser la diferenciación de dos masas. Resolución unitaria quiere decir que se puede apreciar la diferencia en una unidad de masa.

En espectrometría de masas el poder de resolución, que es la capacidad para diferenciar dos masas, se determina con la resolución R , definida como la masa nominal dividida entre la diferencia de dos masas que se pueden separar.

$$R = \frac{m}{\Delta m} \quad (20.2)$$

donde Δm = diferencia de masas entre dos máximos resueltos

m = masa nominal donde se encuentra el máximo.

La diferencia de masa suele medirse en el promedio de alguna fracción fija de alturas de máximos, por ejemplo, al 10%. Una resolución de 1 000 quiere decir que una molécula con $m/z = 1\,000$ se podría resolver (diferenciar) de otra con $m/z = 1\,001$ (o $m/z = 10.00$ de 10.01); o que $m/z = 500$ se resuelve de $m/z = 500.5$.

El término **resolución unitaria** se usa a veces para indicar la capacidad para diferenciar masas con enteros sucesivos. Permite distinguir m/z 50 de m/z 51, o m/z 100 de m/z 101, o m/z 500 de m/z 501. Es obvio que cuanto mayor sea el peso molecular, R debe ser mejor para alcanzar una resolución unitaria. Para la mayor parte de las aplicaciones de cromatografía de gases son adecuadas resoluciones de 500.

FUENTES DE IONIZACIÓN

La ionización por impacto electrónico produce muchos fragmentos.

La tabla 20.3 ofrece una lista de las fuentes de ionización comunes que se usan en gases-masas, y también para líquidos-masas (capítulo 21). La fuente de ionización que se emplea con más frecuencia es la de **impacto electrónico** (EI, electronic-impact). Las moléculas gaseosas se bombardean con un haz de electrones de alta energía, normalmente de 70 eV, generados con un filamento de tungsteno. Un electrón que choca con una molécula neutra

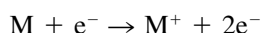
Tabla 20.3

Comparación de los métodos de ionización^a

Método de ionización	Analitos típicos	Introducción de la muestra	Intervalo de masa	Características del método
Impacto electrónico (EI)	Relativamente pequeños, volátiles	GC o sonda líquido-sólido	Hasta 1 000 dáltones	Método vigoroso, versátil, proporciona información sobre la estructura
Ionización química (CI)	Relativamente pequeños, volátiles	GC o sonda líquido-sólido	Hasta 1 000 dáltones	Método suave. Pico de ion molecular $[M + H]^+$
Electropulverizador (electrospray, ESI)	Péptidos, proteínas, no volátiles	Cromatografía de líquidos o jeringa	Hasta 200 000 dáltones	Método suave. Con frecuencia los iones tienen cargas múltiples
Desorción de la matriz asistida por láser (MALDI)	Péptidos, proteínas, nucleótidos	Muestra mezclada en matriz sólida	Hasta 500 000 dáltones	Método suave; masas muy altas

^a De la página Web de la profesora Vicki Wysocki, University of Arizona. Reproducción autorizada.

le puede impartir la energía suficiente para removerle un electrón, y se produce un ion con carga sencilla:



donde M es la molécula del analito y M^+ es el **ion molecular** o **ion precursor**. Los iones M^+ se producen en distintos estados de energía y la energía interna (de rotación, vibracional y electrónica) se disipa en reacciones de fragmentación, que producen fragmentos de menor masa; éstos a su vez son ionizados o convertidos en iones al prolongarse el bombardeo electrónico. El patrón de fragmentación es apreciablemente consistente para unas condiciones dadas (energía del haz electrónico). Puede ser que sólo se genere una pequeña cantidad del ion molecular o que no quede nada; si aparece, será el de mayor masa en un espectro de impacto electrónico, en el caso de que no haya isótopos múltiples. Los compuestos con anillos aromáticos, estructuras cíclicas o dobles enlaces son los que con mayor probabilidad producen picos del ion molecular por efectos de deslocalización que abaten la fragmentación. La figura 20.10 muestra un espectro sencillo de impacto electrónico del metanol, una molécula pequeña. En general, los picos se normalizan con respecto al de mayor abundancia (abundancia relativa, 100%); el pico más grande se llama **pico base**. El pico del ion molecular está en $m/z = 32$, que es el peso fórmula del CH_3OH . Obsérvese el pequeño pico en $m/z = 33$; se trata del ion molecular para el metanol con el isótopo de ^{13}C , cuya abundancia relativa es 1.11%, tomando a ^{12}C como 100%. El pico base en m/z es del fragmento CH_2OH^+ . La tabla 20.4 es una lista con las abundancias relativas de algunos elementos comunes.

FUENTE DE IONIZACIÓN QUÍMICA

La fuente de impacto de electrones es lo que se denomina la “fuente dura”, y puede producir demasiadas fragmentaciones como para permitir que la identificación del analito sea positiva; puede ser que no haya presente ion molecular alguno. La fragmentación consecutiva del ion puede hacer que los iones de poca masa formen la mayor parte de la intensidad iónica total, y que los fragmentos primarios, con mayor importancia analítica, tengan poca abundancia o se encuentren ausentes. La **ionización química** (CI, chemical ionization) es una técnica más “suave” que no produce mucha fragmentación, y el ion molecular es el dominante en los espectros de masas con esta técnica. En la ionización química se introduce un gas reactivo, como metano, isobutano o amoníaco, en la cámara de ionización por impacto electrónico a alta presión (gran exceso, de 1 a 10 torr) para que reaccione con las moléculas de analito y forme iones por transferencia de un protón o de

La ionización química produce el ion molecular.

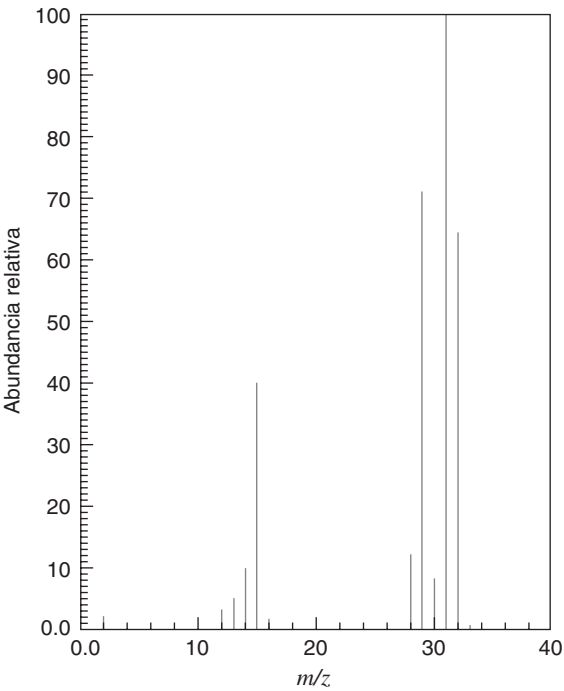


Figura 20.10. Espectro de masas por ionización electrónica del metanol. Según NIST MassSpec Data Center. Reproducción autorizada.

un hidruro. El proceso de ionización química comienza al ionizar el gas reactivo. Con el metano, los choques electrónicos producen CH_4^+ y CH_3^+ , los cuales reaccionan con CH_4 para formar CH_5^+ y C_2H_5^+ :

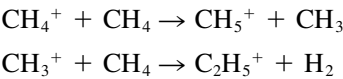
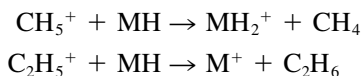


Tabla 20.4
Abundancias relativas y masas exactas de algunos elementos comunes^a

Elemento	Isótopo	Masa	Abundancia relativa (%)
Hidrógeno	¹ H	1.007825	100.0
	² H	2.014102	0.0115
Carbono	¹² C	12.000000	100.0
	¹³ C	13.003355	1.07
Nitrógeno	¹⁴ N	14.003074	100.0
	¹⁵ N	15.000109	0.369
Oxígeno	¹⁶ O	15.994915	100.0
	¹⁷ O	16.999132	0.038
	¹⁸ O	17.999160	0.205
Azufre	³² S	31.972071	100.0
	³³ S	32.971450	0.803
	³⁴ S	33.967867	4.522
Cloro	³⁵ Cl	34.968852	100.0
	³⁷ Cl	36.965903	31.96
Bromo	⁷⁹ Br	78.918338	100.0
	⁸¹ Br	80.916291	97.28

^a Al isótopo más abundante se le asigna 100% de abundancia, y los demás se calculan en relación con éste.

Estos iones reaccionan con la muestra, transfiriendo un protón (H^+) o extrayendo un hidruro (H^-) o un electrón, lo que imparte una carga de +1 a la molécula de muestra:



MH_2^+ y M^+ se pueden fragmentar y producir el espectro de masas. Puede ser que el ion M^+ no se observe, pero el peso molecular se obtiene con facilidad a partir de los iones $M + H$ o $M - H$ que se forman. Además, los iones de ácidos débiles en fase gaseosa simplifican los espectros. El $C_4H_9^+$ del isobutano y el NH_4^+ del amoníaco también se ionizan por transferencia protónica, pero con menos energía, y la fragmentación de MH_2^+ es mínima. La tabla 20.5 muestra una lista de las características de ionización química de diferentes reactivos. La ionización química está incorporada en forma casi universal en los instrumentos modernos de gases-masas, para determinar pesos moleculares de eluatos, que de otro modo sería difícil de obtener debido a la extrema fragmentación con fuentes más “duras”.

En los capítulos 21 y 25 se describirán otras fuentes de iones.

ANALIZADORES DE MASA

Los espectrómetros de masas basados en sectores magnéticos se usan mucho en química orgánica para determinar estructuras moleculares. Éstos deflexionan los iones dentro de un tubo curvo en un campo magnético con base en sus energías cinéticas, que a su vez están determinadas por su masa, carga y velocidad. El campo magnético se barre para medir diferentes iones. Este separador de masas es muy poderoso y posee una muy alta resolución; sin embargo, los instrumentos son bastante grandes y costosos, y no son muy adecuados para usarse con cromatógrafos de gases. La mayor parte de los instrumentos de gases-masas actuales son sistemas de escritorio que usan analizadores de masas más compactos y poco costosos, con menor resolución. Su disponibilidad es la razón del amplio uso de la técnica de gases-masas.

1. Filtro de masas cuadrupolar. El analizador de masas cuadrupolar es un “filtro de masas” que sólo permite el paso de iones específicos. La figura 20.11 muestra el diseño básico del analizador cuadrupolar. Consiste en cuatro varillas metálicas paralelas a las que se aplica al mismo tiempo un voltaje de cd (U) y un voltaje oscilante de radiofrecuencia ($V \cos \omega t$, donde ω es la frecuencia y el tiempo). Dos polos opuestos se cargan de modo positivo y los otros dos en forma negativa, y sus polaridades cambian durante el experimento. Los voltajes aplicados son $U + V \cos \omega t$ y $-(U + V \cos \omega t)$. Estos voltajes determinan la trayectoria de los iones mediante la trayectoria de vuelo entre los cuatro polos. Cuando los iones procedentes de la fuente de ionización entran al campo de radiofrecuencia a lo largo del eje z de los electrodos, oscilan con respecto a ese eje. Sólo los que tienen

El analizador cuadrupolar es el de uso más frecuente para cromatografía de gases-masas.

Tabla 20.5

Características de ionización química de diversos reactivos

Reactivo	Aductos producidos	Usos/limitaciones
Metano	$M-H^+$, $M-CH_3^+$	La mayor parte de los compuestos orgánicos. No siempre son abundantes los aductos. Fragmentación extrema
Isobutano	$M-H^+$, $M-C_4H_9^+$	Menos universal. Los aductos son más abundantes. Algo de fragmentación
Amoníaco	$M-H^+$ (compuestos básicos) $M-NH_4^+$ (compuestos polares)	Compuestos polares y básicos. Otros no se ionizan. Virtualmente sin fragmentación.

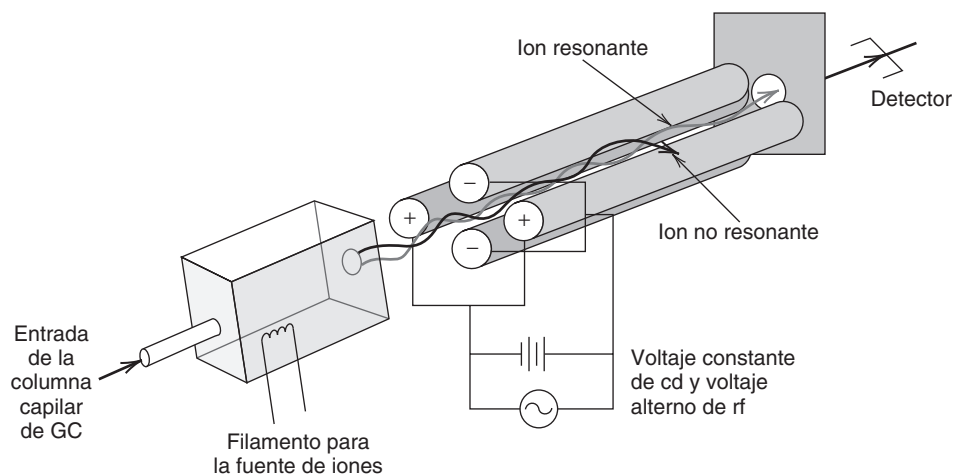


Figura 20.11. Espectrómetro de masas cuadrupolo.

determinada relación de carga-masa resuenan a lo largo del campo y tendrán una trayectoria estable hacia el detector. Otros, los que no resuenan, son deflexados (trayectoria inestable), y colisionarán con los electrodos y se perderán (se filtran y eliminan). Al variar rápidamente los voltajes, los iones de una masa tras otra tomarán la trayectoria estable y serán recolectados por el detector. Se hace variar ω manteniendo constantes U y V , o bien se hacen variar U y V manteniendo constante U/V .

El analizador cuadrupolo tiene varias ventajas que lo hacen ideal para gases-masas. La trayectoria no depende de la energía cinética (es decir, de la velocidad) ni de la deflexión angular de los iones que entran; entonces, la rapidez de transmisión es alta. Como sólo se requiere un cambio de voltaje, un barrido completo puede ser muy rápido. Se pueden registrar hasta ocho espectros por segundo sobre un intervalo aproximado de 800 unidades de masa. Se necesita un barrido rápido para monitorear los máximos de cromatografía que pueden tener una fracción de segundo de ancho. Se puede alcanzar una resolución de unos 1 500, y los sistemas de cromatografía de gases suelen proporcionar resolución unitaria. Por último, los instrumentos cuadrupolares son relativamente compactos y poco costosos.

El analizador de tiempo de vuelo es adecuado para moléculas grandes.

2. Analizador de tiempo de vuelo. El analizador de tiempo de vuelo (TOF, time-of-flight) es el segundo más difundido para gases-masas. La figura 20.12 muestra la construcción básica de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo. Los iones formados en la cámara de ionización se aceleran a través de las placas aceleradoras, cuyo voltaje es de 3 000 V, pulsando entre 3 000 y 20 000 veces por segundo; entran entonces al tubo de

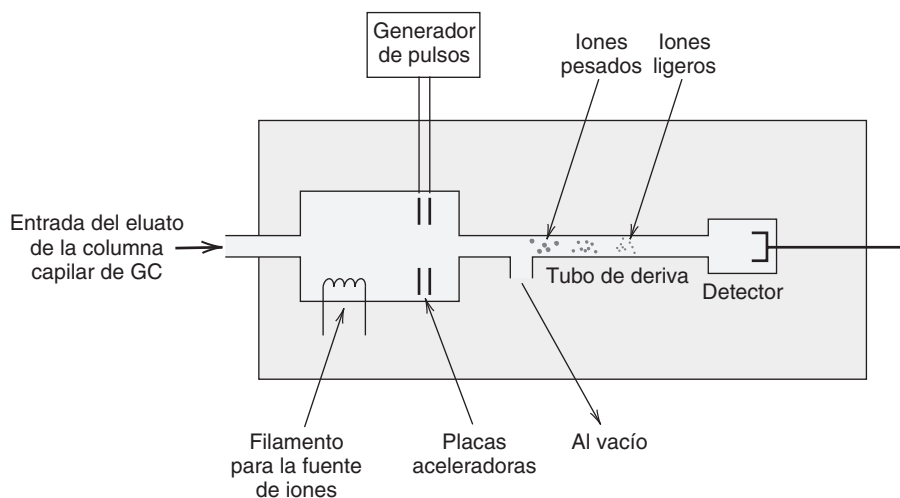


Figura 20.12. Espectrómetro de masas con analizador de tiempo de vuelo.

deriva o de vuelo con energía cinética constante. Los iones con m/z diferente viajan con velocidades diferentes. La energía cinética de los iones que salen de la fuente es:

$$\frac{mv^2}{2} = Vq \quad (20.3)$$

donde m = masa del ion
 v = velocidad del ion
 V = voltaje de aceleración
 q = carga del ion

Al reacomodar la ecuación se obtiene:

$$v = \sqrt{\frac{2Vq}{m}} \quad (20.4)$$

Entonces, la velocidad del ion es inversamente proporcional a la raíz cuadrada de la masa. El tiempo t para llegar al detector es $t = L/v$, siendo L la longitud del tubo de vuelo. La diferencia en tiempos de llegada, Δt , que separa a los dos iones, es

$$\Delta t = L \frac{(m_1)^{1/2} - (m_2)^{1/2}}{(2Vq)^{1/2}} \quad (20.5)$$

por lo que depende de la raíz cuadrada de las masas.

Es necesario que la aceleración sea de modo pulsado, porque una ionización y aceleración continuas produciría una corriente continua de todos los iones, traslapándose las masas. La secuencia de eventos en la operación pulsada es activar la fuente de electrones durante 10^{-9} s para que se forme un paquete de iones, y después aplicar el voltaje de aceleración durante 10^{-4} s para conducir los iones al tubo de deriva. Entonces se apaga la fuente durante el resto del intervalo entre pulsos para que el paquete de iones recorra el tubo hasta el detector.

Los analizadores de tiempo de vuelo, como los cuadripolos, barren rápidamente el espectro de masas. Se pueden alcanzar resoluciones de 500. Esos analizadores son populares para la detección de iones de gran masa porque en realidad no tienen límite superior real de masa.

ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON CROMATOGRAFÍA DE GASES

Uno de los problemas más grandes en los primeros desarrollos de gases-masas fue conectar la salida de la columna con el espectrómetro de masas. Se usaban columnas empacadas, y los grandes volúmenes, tanto de muestra como de gas acarreador, abrumaban el sistema de espectrometría de masas, que trabaja a baja presión, por lo que hubo que construir interconexiones especiales. El advenimiento de columnas capilares de sílice fusionada permitió eliminar la conexión gases-masas y el eluato de la columna se introdujo directamente a la fuente de iones. Es esencial que se reduzca al mínimo el sangrado de la columna, porque el espectrómetro de masas detectará los materiales de la fase estacionaria. El sangrado se evita adhiriendo químicamente alquilsiloxanos a la pared de la columna. Otras fases estacionarias con bajo sangrado ya se mencionaron antes.

Naturalmente, el monitoreo de los máximos de cromatografía de gases (varias veces por segundo) genera enormes cantidades de datos. La evolución de computadoras rápidas y de gran capacidad es el otro progreso de la tecnología que permitió que la técnica de gases-masas fuera sistemática.

Los iones separados se detectan mediante un multiplicador electrónico cuyo diseño es parecido al de los tubos fotomultiplicadores descritos en el capítulo 16. Son comunes las sensibilidades de detección al nivel de nanogramo.

El espectrómetro de masas puede funcionar en diversos modos. En el modo de **corriente iónica total** (TIC, total ion current) para detección se suman las corrientes de todos los fragmentos iónicos como una molécula (o moléculas) en un máximo de cromato-

Con espectrometría de masas se detectan cantidades a nivel de nanogramos.

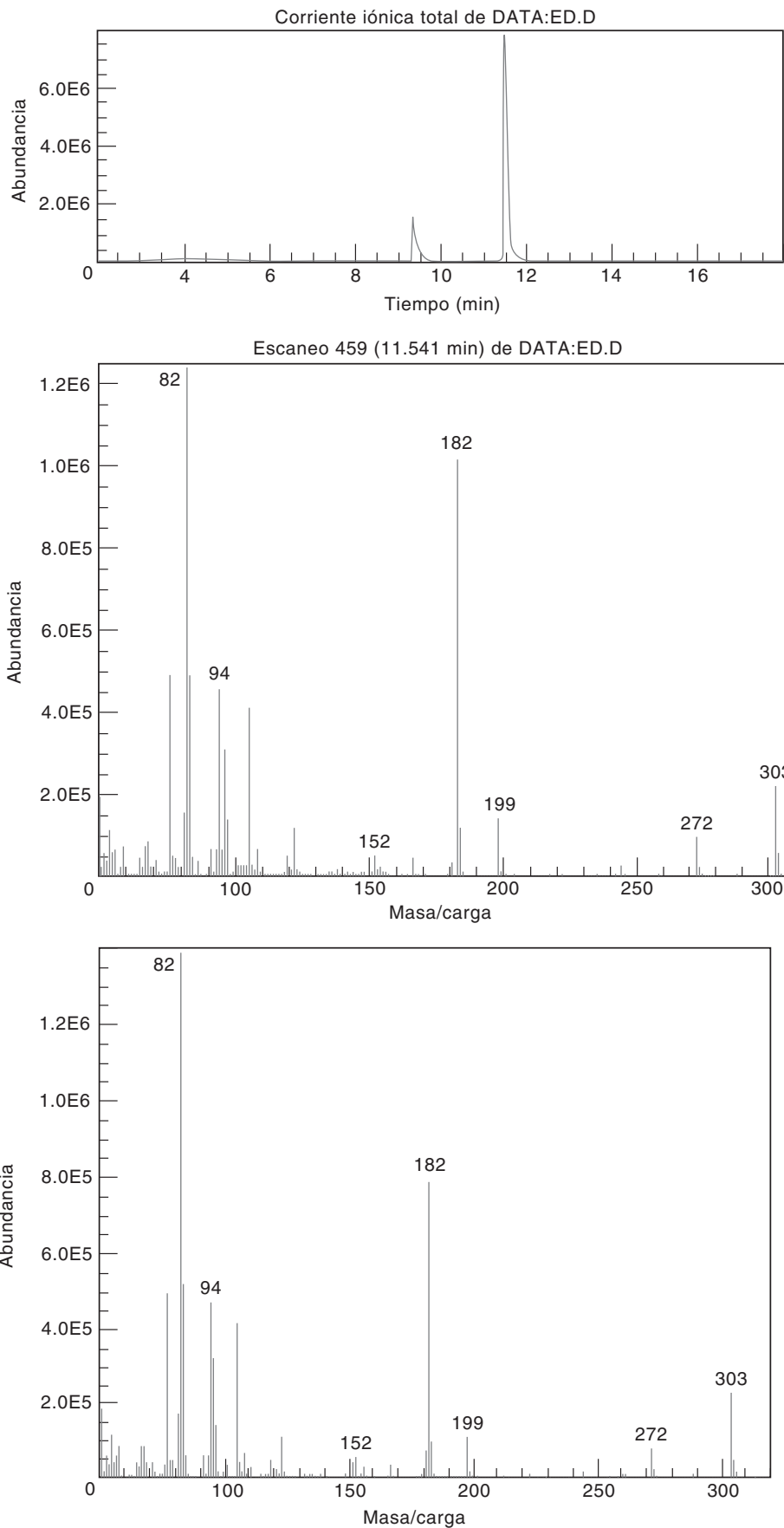


Figura 20.13. Confirmación de cocaína mediante gases-masas. *Arriba:* cromatograma de gases de cocaína en una muestra de orina por corriente iónica total. *Centro:* espectro de masas tomado del máximo a 11.5 min. *Abajo:* espectro de masas tomado del máximo de cromatografía de gases de un estándar de cocaína en el mismo tiempo de elución.

tografía de gases; pasa por el detector y produce un cromatograma de gases de aspecto convencional, con varios máximos. En el modo **selectivo de ion** se monitorea una relación m/z específica, por lo que sólo se detectan las moléculas que producen un ion o fragmento molecular con esa relación. El **espectro de masas** de cada molécula detectada se guarda en la memoria de la computadora, y así se puede leer el espectro de masas que corresponde a determinado máximo de una cromatografía de gases. El espectro de masas es característico de determinado compuesto (si sólo un compuesto se halla presente bajo el máximo cromatográfico) produciendo una “huella digital” de picos a distintas relaciones de m/z . Ciertos picos pueden dominar en intensidad.

La figura 20.13 ilustra la aplicación de gases-masas en la identificación positiva de la cocaína en una muestra sospechosa pulverizada disuelta en metanol. Arriba se ve el cromatograma de gases de la muestra obtenida a partir de la corriente iónica total (TIC). El máximo a los 11.5 minutos corresponde al tiempo de retención esperado para la cocaína. La figura central es el espectro de masas que corresponde al compuesto que origina este máximo, y la figura inferior es el espectro de masas de un estándar de cocaína. El espectro de masas de la muestra es esencialmente igual que el del estándar de cocaína. Además, el pico del ion precursor está presente en la relación m/z correspondiente a M^+ de la cocaína (peso fórmula 303.25). (Hay un pequeño pico a m/z a 304 que corresponde a MH^+ , que con frecuencia se forma en la cámara iónica.)

El pico de mayor m/z a menudo corresponde a MH^+ . Éste puede ser muy pequeño.

El patrón de fragmentación presenta con frecuencia picos que corresponden a la pérdida de grupos específicos en la molécula, como $-CO_2$ o $-NH$, lo que refuerza la sustentación acerca de la presencia de determinada molécula, o bien se pueden usar para conocer la información estructural de una molécula. Los fabricantes de los espectrómetros de masas proporcionan bibliotecas computarizadas de espectros de masas de miles de compuestos, y se pueden buscar en computadora espectros que coincidan con el espectro problema.

La base de datos *Mass Spectral Library*, de NIST/EPA/NIH, de 1998 (www.nist.gov/srd/analy.htm), es el producto de una extensa evaluación y expansión a lo largo de varios años de la biblioteca de referencia para espectros de masas más utilizada, y se vende en versiones ASCII y Windows. Contiene 108 000 compuestos con espectros de ionización electrónica, estructuras químicas y pesos moleculares, y se encuentra disponible con el Programa de Búsqueda NIST MS para elucidación en gases-masas, interpretación de espectros de masas y análisis de subestructura química. La página WebBook de química de NIST (<http://webbook.nist.gov>) es un sistema en línea *sin costo* que contiene los espectros de masas de más de 12 000 compuestos (este programa estándar de datos de referencia también tiene espectros IR y de UV-Vis).

El Registro de Datos de Espectros de masas, 7a. ed., 1999, de Wiley/NIST, contiene más de 390 000 espectros de referencia. Tiene un programa de búsqueda de 32 bits para identificar espectros de masas desconocidos. Se pueden consultar los espectros de referencia de acuerdo con las masas, los pesos moleculares o los picos.

La combinación de la cromatografía de gases en tubo capilar y la espectrometría de masas permite contar con un método analítico extremadamente poderoso. La cromatografía en capilar, con miles de platos teóricos, puede resolver cientos de moléculas formando máximos separados que se pueden identificar con espectrometría de masas. Aun cuando un máximo contenga dos o más compuestos, su identificación puede proporcionar todavía una identificación positiva, en especial cuando se combina con datos de retención.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Cromatógrafo de gases, p. 575
- Columnas de cromatografía de gases: empacadas, capilares, p. 578

- Fases estacionarias: de polares a no polares, p. 581
- Detectores para cromatografía de gases (véase la tabla 20.2), p. 584
- Programación de temperatura, p. 588
- Mediciones cuantitativas: estándares internos, hojas de cálculo, p. 589
- Análisis de espacio de cabeza, desorción térmica, purgado y captura, pp. 590, 591
- Columnas pequeñas para separaciones rápidas, p. 592
- Gases-masas, analizadores de masas, pp. 593, 597, 599

Preguntas

1. Describir los principios de la cromatografía de gases.
2. ¿Qué compuestos pueden determinarse por cromatografía de gases?
3. ¿Cuáles son los tipos principales de la cromatografía de gases?
4. Comparar las columnas empacadas y capilares en cuanto al número de platos.
5. Comparar las columnas WCOT, SCOT y PLOT.
6. Describir los principios de los siguientes detectores para cromatografía de gases:
a) conductividad térmica, *b)* ionización de flama, *c)* captura de electrones.
7. Comparar los detectores de la pregunta 6 en cuanto a sensibilidad y tipos de compuestos que se pueden detectar.
8. ¿Cómo la programación de temperatura mejora las separaciones?
9. ¿Qué se requiere para que un análisis por cromatografía de gases sea rápido?
10. Describir los principios de la cromatografía de gases-espectrometría de masas. ¿Cuáles son sus ventajas?
11. ¿Qué es un ion molecular?
12. ¿Cuál es la regla del nitrógeno?
13. ¿Qué fuentes de iones se suelen usar para gases-masas?
14. ¿Qué analizadores de masa se suelen usar para gases-masas?

Problemas

15. ¿Qué resolución se requiere en una espectrometría de masas para diferenciar masas moleculares de 600 y 601?
16. La resolución de un espectrómetro de masas es 5 000. ¿Qué tanto se llegan a resolver dos picos con masa nominal 600?
17. En los tanques de gas para cromatografía de gases se usan válvulas reductoras que suelen indicar la presión en psig (libras por pulgada cuadrada por arriba de la presión atmosférica). Si la presión atmosférica normal es 14.7 psi (760 torr), calcular la presión de entrada del gas al cromatógrafo de gases en torr, para 40.0 psig, si la presión ambiente es de 745 torr.

PROBLEMA PARA HOJA DE CÁLCULO

18. Se analizan trazas de benceno en una muestra de agua usando análisis de espacio de cabeza. Las muestras y los estándares se adicionan con una cantidad fija de tolueno, como estándar interno. Se obtienen los datos siguientes:

ppb benceno	Área del máximo de benceno	Área del máximo de tolueno
10.0	252	376
15.0	373	370
25.0	636	371
Muestra	533	368

¿Cuál es la concentración de benceno en la muestra? Preparar una hoja de cálculo similar a la descrita en el capítulo e imprimir la curva de calibración.

INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

19. Consultar *Chemical Abstracts* o *SciFinder Scholar* (para el acceso a *Chemical Abstracts* en línea, véase el apéndice A) si su biblioteca cuenta con una suscripción; buscar cuando menos un artículo sobre la determinación de etanol en sangre con cromatografía de gases. Leer el artículo en la revista y escribir un resumen acerca de las bases del método y preparar una sinopsis del procedimiento empleado, incluyendo la preparación de la muestra. ¿Hay información sobre la exactitud y la precisión del método?

Referencias recomendadas

GENERAL

1. H. M. McNair y J. M. Miller, *Basic Gas Chromatography*, Nueva York: Wiley-Interscience, 1997.
2. W. Jennings, E. Mittlefehldt y P. Stremple, eds., *Analytical Gas Chromatography*, 2a. ed., San Diego: Academic, 1997.
3. D. Rood, *A Practical Guide to Care, Maintenance, and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatography*, Nueva York: Wiley, 1999.
4. A. Van Es, *High-Speed Narrow-Bore Capillary Gas Chromatography*, Heidelberg: Huthig, 1992.
5. B. Kolb y L. S. Etrre, *Static Headspace-Gas Chromatography*, Nueva York: Wiley, 1997.
6. W. O. McReynolds, "Characterization of Some Liquid Phases", *J. Chromatogr. Sci.*, **8** (1970) 685.
7. D. M. Ottenstein, "Column Support Materials for Use in Gas Chromatography", *J. Gas Chromatog.*, **1** (4) (1963) 11.
8. W. R. Supina y L. P. Rose, "The Use of Rohrschneider Constants for Classification of GLC Columns", *J. Chromatogr. Sci.*, **8** (1970) 214.

CROMATOGRFÍA DE GASES/ESPECTROMETRÍA DE MASAS

9. M. C. McMaster y C. McMaster, *GC/MS: A Practical User's Guide*, Nueva York: Wiley, 1998.
10. H. J. Hubschmann, *Handbook of GC/MS*, Nueva York: Wiley, 2001.
11. M. Oehme, *Practical Introduction to GC-MS Analysis with Quadrupoles*, Nueva York: Wiley, 1999.

PÁGINAS WEB

12. Scientific Instrument Services, www.sisweb.com. Cuenta con una calculadora de masas exactas.
13. JEOL USA, Inc., www.jeol.com. Tiene tutoriales sobre espectrometría de masas básica y sobre analizadores de masa, así como vínculos con otros sitios Web de espectrometría de masas.



Capítulo veintiuno

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

La técnica de HPLC es el análogo de la cromatografía de gases, pero en fase líquida. El secreto de su éxito son las partículas pequeñas y uniformes que producen poca difusión arremolinante y su rápida transferencia de masa.

Debido a su rapidez y sensibilidad, así como a su amplio espectro de aplicaciones, a partir de su desarrollo la cromatografía de gases (GC, gas chromatography) se ha ido utilizando cada vez más que las diferentes técnicas de cromatografía de líquidos. Empero, la cromatografía de líquidos tiene un potencial de aplicaciones más amplio debido a que 85% de los compuestos conocidos no son lo suficientemente volátiles o estables como para ser separados por cromatografía de gases. La riqueza acumulada por la teoría de la cromatografía, en especial de parte de la cromatografía de gases, ha conducido al desarrollo de los métodos de **cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC, high-performance liquid chromatography)** que rivaliza en eficiencia con la cromatografía de gases y permite hacer separaciones y mediciones en cuestión de minutos. La causa de la rápida aceptación de la cromatografía de gases en la década de 1950 fue su aplicación inmediata en la industria petroquímica. En cambio, la aplicación de la HPLC en la industria farmacéutica se convirtió en el pilar de los laboratorios farmacéuticos en la década de 1970, y hoy día el mercado de nuevos instrumentos de HPLC es mayor que el más maduro de la cromatografía de gases.

En este capítulo se describirán los principios de la técnica de HPLC y los desarrollos responsables del fenómeno; también los métodos de la cromatografía de líquidos normal y de fase inversa (separaciones basadas en polaridad), la cromatografía por exclusión de tamaño (separaciones basadas en tamaños moleculares) y la cromatografía de intercambio iónico (separaciones basadas en cargas eléctricas). Asimismo, la cromatografía en capa delgada, de forma plana, además de la electroforesis, en la que las separaciones se obtienen con un gradiente de campo eléctrico basadas en el signo y la magnitud de la carga del analito.

21.1 Cromatografía de líquidos de alta eficiencia

En 1964, J. Calvin Giddings, de la Universidad de Utah, publicó el artículo “Comparación entre el límite teórico de capacidad de separación en la cromatografía de gases y de líquidos” [*Anal. Chem.*, **36** (1964) 1890]. Hasta esos días, la cromatografía de líquidos convencional se hacía en columnas grandes, con partículas grandes y con alimentación por gravedad; las fracciones de eluyentes se recolectaban manualmente para su medición en un espectrofotómetro. Giddings previó que el desempeño de la cromatografía de líquidos sería mejor si se pudieran usar partículas pequeñas, bajo mayor presión de flujo, con lo que teóricamente se podrían obtener números muy altos de placas. Un par de años después, Csaba Horvath y su colega S. R. Lipsky, de la Universidad de Yale, construyeron el primer equipo de HPLC, y lo llamaron “cromatografía de líquidos de alta presión”. Pero no fue

sino hasta los primeros años de la década de 1970, con el desarrollo de la tecnología para producir pequeñas partículas de sílice silanizadas, que fue posible usar las columnas de volumen pequeño y mayor longitud que permitieron un funcionamiento con alta resolución. Hoy en día, a este método se le llama “cromatografía de líquidos de alta eficiencia”.

PRINCIPIOS

La cromatografía de líquidos clásica ha sido sustituida en gran medida por la técnica, mucho más poderosa y analíticamente útil, de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia. La figura 21.1 muestra los componentes básicos de un sistema de HPLC, y la figura 21.2 ilustra un moderno cromatógrafo de HPLC. Estos instrumentos tienden a armarse en forma modular, a diferencia de la mayor parte de los instrumentos de GC, y permiten que el usuario cambie diversos componentes.

La rapidez de distribución de solutos entre la fase estacionaria y la fase móvil, en la cromatografía de líquidos tradicional, está controlada por difusión principalmente. La difusión en los líquidos es en extremo lenta, en comparación con los gases. Para minimizar la difusión y el tiempo requerido para el movimiento de los componentes de la muestra hacia los sitios de interacción en la columna y desde éstos, deben satisfacerse dos criterios. El primero es que el material de empaque debe estar finamente dividido y tener una alta regularidad esférica para permitir una óptima homogeneidad y densidad de empaque; en segundo lugar, la fase estacionaria debe estar en forma de una película delgada y uniforme, sin lugares para el estancamiento. La primera condición permite tener menor valor de A en la ecuación de Van Deemter (menor difusión por arremolinamiento) y la segunda da como resultado un valor pequeño de C (transporte de masa más rápido entre las fases, necesario para tener gran rapidez de flujo). Debido a que la difusión molecular en líquidos es pequeña, el término B de la ecuación 19.8 es pequeño. Por tanto, el aumento perjudicial en H a tasa baja lenta no sucede como en la figura 19.4. Esto se ilustra en la figura 21.3, y está expresado por la ecuación de Huber (ecuación 19.21) y por la ecuación de Knox (ecuación 19.23) en el capítulo 19.

La difusión molecular o longitudinal en los líquidos es lenta, y se puede despreciar.

La transferencia de masa es el determinante primario de H en HPLC.

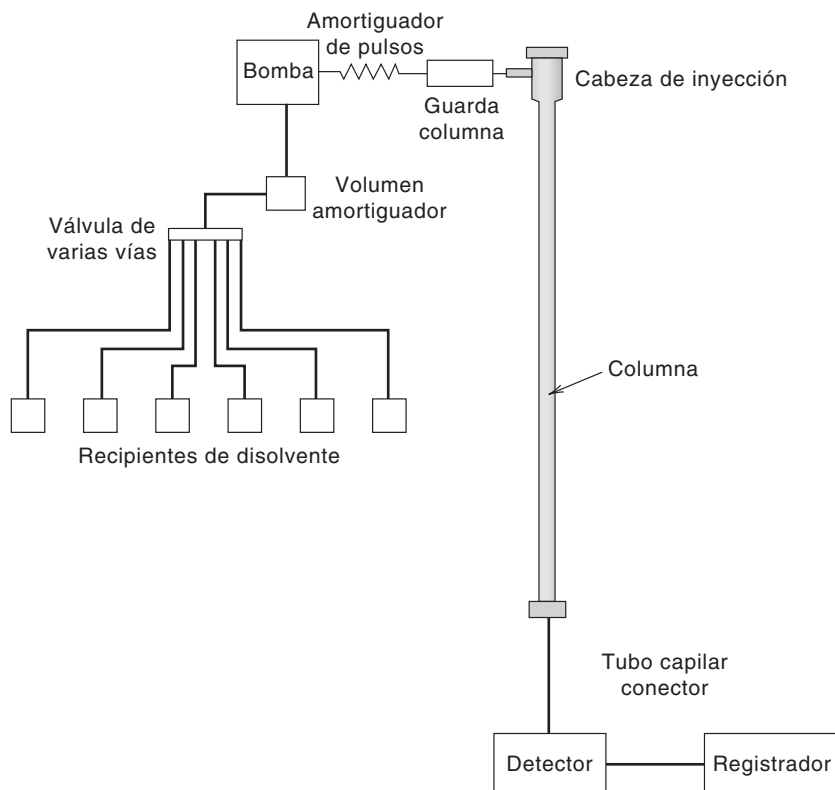


Figura 21.1. Componentes básicos de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia. (Adaptado de Analabs, Inc. *Research Notes*. Copyright © 1971. Reproducido con autorización.)



Figura 21.2. Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia. (Cortesía de Agilent Technologies.)

FASES ESTACIONARIAS

Las micropartículas en la HPLC original eran de gel de sílice o de alúmina, irregulares, porosas, de $10\ \mu\text{m}$ o menos. Desde entonces se han desarrollado partículas esféricas que se pueden empacar en forma más homogénea y permiten alcanzar mayor eficiencia (véase figura 21.4). Las partículas son de **sílice de alta pureza**, con bajo contenido de trazas de metales, y su diámetro típico es de 5 a $10\ \mu\text{m}$; sin embargo, las partículas de $3\ \mu\text{m}$ se están usando cada vez más en la cromatografía de alta velocidad (que se describirá adelante). Los tamaños de poro están en el intervalo de 60 a $100\ \text{\AA}$, aunque se usan tamaños de poro de $300\ \text{\AA}$ o más con biomoléculas más grandes, que les permiten penetrar los poros.

La mayor parte de las separaciones con HPLC se lleva a cabo en el modo líquido-líquido (cromatografía de partición), aunque la cromatografía de adsorción es útil para muchas aplicaciones. Las fases estacionarias líquidas se encuentran cubriendo a las partículas o químicamente enlazadas.

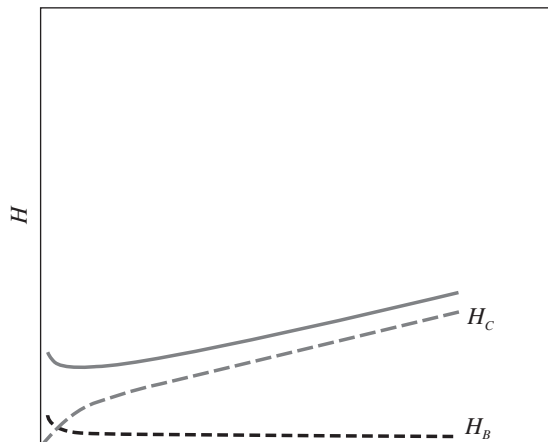


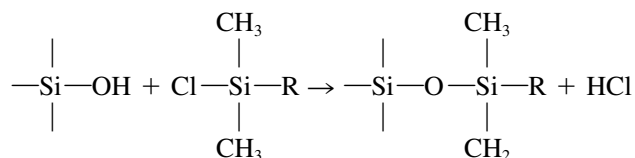
Figura 21.3. Gráfica de Van Deemter para HPLC.

Velocidad lineal promedio de la fase móvil, $\bar{\mu}$ (cm/s)

Las partículas que se usan con mayor frecuencia son las **partículas microporosas o difusivas**, permeables al disolvente (véase figura 21.5a). La superficie en su mayor parte está dentro de los poros. La fase móvil se mueve en torno a las partículas y el soluto se difunde entrando a la fase móvil estancada dentro de los poros e interactúa con la fase estacionaria; a continuación se difunde saliendo del poro y entra a la fase móvil. El uso de partículas pequeñas reduce al mínimo la longitud de la trayectoria de difusión, y en consecuencia el ensanchamiento de la banda. Las partículas de la figura 21.4 son microporosas. La figura 21.6 muestra una partícula esférica de agregados, con 50% de porosidad y 100 Å de tamaño de poro. También se ve una de uso muy frecuente, con estructura esponjosa y 70% de porosidad, con el mismo tamaño nominal de poro pero mayor superficie; sin embargo, tiene mayor distribución de tamaños de poro y menor resistencia a la solubilidad en solución alcalina.

La de sílice tiende a disolverse a un pH mayor que 8, y así para la separación de bases se usan partículas poliméricas entrecruzadas, por ejemplo, de poliestireno o polimetacrilatos. Pueden resistir fases móviles fuertemente básicas, pero tienen eficiencias algo menores.

Las partículas de sílice tienen grupos silanol, —SiOH, superficiales. Éstos se usan para unir químicamente fases estacionarias mediante reacciones de silanización con clorosilanos:



Más o menos la mitad de los grupos silanol se unen químicamente, y el resto se “recubre” con grupos trimetilsililo para hacerlos inertes. También Zorbax prepara partículas en las que los enlaces siloxano están protegidos por impedimento estérico de parte de los volu-

minosos grupos *ter*-butilo, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{—C—CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$, que son más grandes que los dos grupos metilo en

el agente derivatizante de organoclorosilano.

Las fases no polares enlazadas más comunes (para cromatografía de fase inversa) son las que poseen C₁₈ y C₈ (se mostraron antes); el más popular es C₁₈ (llamado ODS, de octadecilsilano); el C₈ tiene hidrofobicidad intermedia y el C₁₈ es no polar. También son útiles los grupos fenilo [R = (CH₂)₃C₆H₅]. Las partículas con C₅ se usan para HPLC-masas debido a sus bajas propiedades de sangrado. Las fases polares para cromatografía

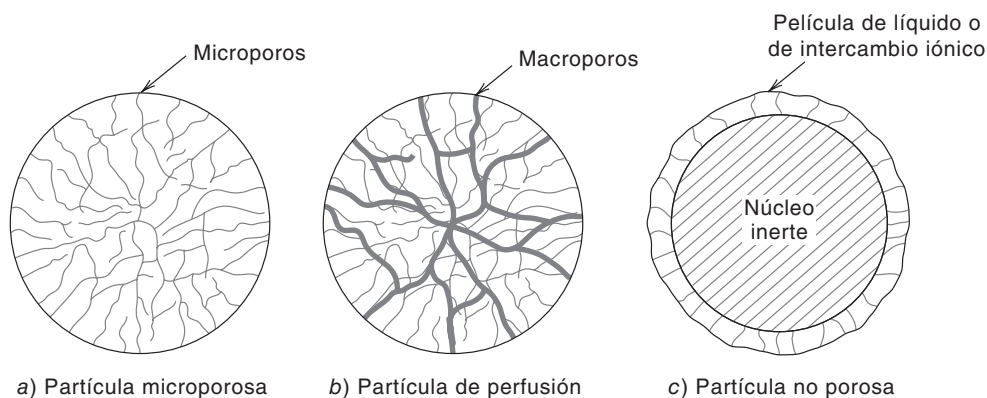


Figura 21.5. Tipos estructurales de partículas usadas en HPLC. (Según D. C. Scott, en *Modern Practice of Liquid Chromatography*, J. J. Kirkland, ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 1971; reproducción autorizada.)

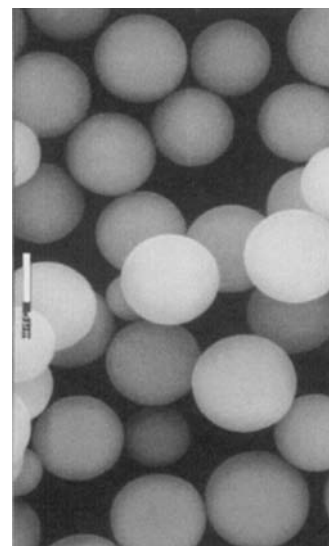
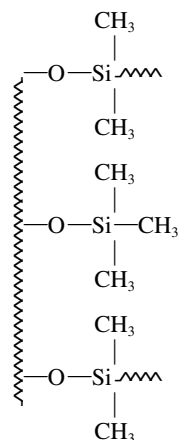


Figura 21.4. Partículas esféricas de sílice porosa, 10 μm; aumento 800×. Las partículas son totalmente porosas, con poros de 100 Å. Se encuentran disponibles como sílice base para cromatografía de adsorción, o con fases adheridas (Astrosil® de Stellar Phases, Inc. Cortesía de Stellar Phases, Inc.)



Recubrimiento. La mitad de los grupos SiOH libres ha sido recubierta.

Las fases adheridas químicamente (grupos funcionales) son más estables.

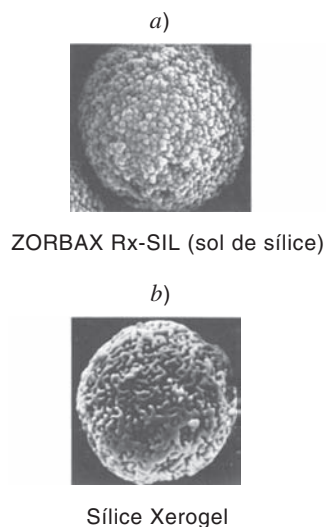


Figura 21.6. a) Microesfera porosa de sílice Zorbax, 50% de porosidad, poros de 100 Å. b) partícula de sílice Xerogel, 70% de porosidad, poros de 100 Å. (Cortesía de Agilent Technologies.)

fía de fase normal son, entre otras y por polaridad creciente, ciano [$R = (CH_2)_3CN$], diol [$R = (CH_2)_2OCH_2CH(OH)CH_2OH$], amino [$R = (CH_2)_3NH_2$] y dimetilamino [$R = (CH_2)_3N(CH_3)_2$].

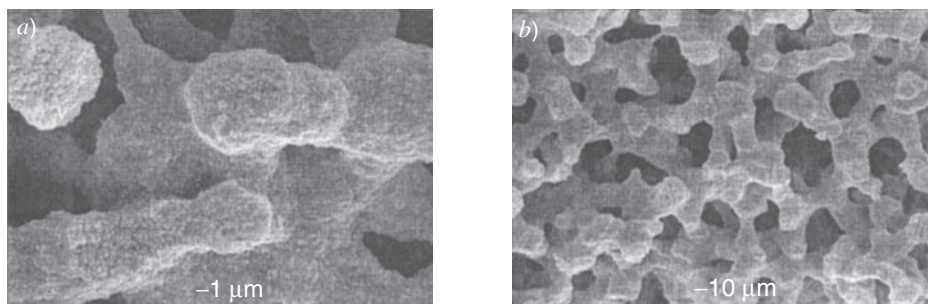
Cuando las partículas están recubiertas con fases líquidas, más que enlazadas, primero se tratan con trimetilclorosilano para desactivar los grupos silanol.

Los **empaques de perfusión**, desarrollados por Fred Regnier y colaboradores en la Universidad de Purdue, están formados por una mezcla de poros grandes y pequeños (poros grandes pasantes y poros pequeños difusivos, figura 21.5b). Los poros difusivos, como en las partículas microporosas, son los que dan la capacidad de sorción. Los poros pasantes permiten que la fase móvil atraviese en forma directa el empaque y con ello aumente la rapidez de transferencia de masa en la fase móvil. Como el soluto pasa menos tiempo intercambiando masa, los máximos son más angostos; en realidad, el proceso es una combinación de difusión y convección. Estos empaques son mayores que los microporosos, de unos 12 μm de diámetro. Se pueden usar con flujos más altos y alcanzan mayor eficiencia para moléculas grandes, como las de las proteínas. También son útiles en la cromatografía de preparación.

Los **empaques no porosos** (véase figura 21.5c), de sílice o de resina, tienen tamaños de partícula mucho menores, de 1.5 a 2.5 μm de diámetro, y tienen una capa porosa delgada. Eliminan la existencia de una fase móvil estancada, lo cual permite mayor rapidez de transferencia de masa. Las moléculas, grandes o pequeñas, pueden separarse en pocos minutos. Pero la capa delgada se limita a capacidades de carga muy pequeñas, y la contrapresión es mucho mayor que en columnas con empaques porosos de 3 o 5 μm . La contrapresión es inversamente proporcional al cuadrado del diámetro de partícula, por lo que al reducir el tamaño a la mitad, la caída de presión aumenta cuatro veces. Por estas razones se prefieren las partículas pequeñas y porosas en la mayor parte de las aplicaciones, y un empaque poroso de 3.5 μm puede producir tiempos de separación comparables con los de una columna que contenga una fase enlazada a sílice no porosa de 1.5 μm , pero con menos presión, cuando se trabaja a flujos elevados. Las columnas no porosas se usan para separar mezclas complejas de péptidos, en segundos o minutos, y se usan en cromatografía de intercambio iónico (véase más adelante).

Las **columnas monolíticas** son otro método para tener bajas caídas de presión y mayores velocidades de transferencia de masa. Se trata de columnas sólidas continuas de fase estacionaria de sílice porosa y no de partículas empacadas. Como con los empaques de perfusión, tienen una estructura bimodal de poro (véase figura 21.7). Los macroporos, que funcionan como poros de flujo tienen unos 2 μm de diámetro. El esqueleto de sílice contiene mesoporos con diámetros aproximados de 13 nm (130 Å). Su superficie se puede modificar con fases estacionarias como de C_{18} . Sobre el cilindro se encoge una camisa de plástico de polieterecetona (PEEK, polyetheretherketone) para evitar que haya “efectos de paredes” de solución que fluye por las paredes. La superficie de los mesoporos es de unos 300 m^2/g , y la porosidad total es 80%, comparada con 65% para partículas empacadas. La columna tiene una curva de Van Deemter que se aproxima a la de partículas empacadas de 3.5 μm , y produce una eficiencia bastante mayor que las partículas convencio-

Figura 21.7. Micrografía electrónica de estructuras: a) mesoporosas y b) macroporosas en un cilindro monolítico. [Según D. Lubda, K. Cabrera, W. Krass, C. Schaefer y D. Cunningham, *LC-GC* 19(12) (2001) 1186. Reproducción autorizada.]



nales de 5 μm . Debido a las bajas caídas de presión se pueden usar flujos hasta de 9 mL/min, por lo que las separaciones son rápidas. El transporte de masa se facilita por convección, además de la difusión, lo que hace que estas columnas se adapten bien para separaciones eficientes de proteínas, péptidos y polinucleótidos, así como para moléculas pequeñas. Las columnas monolíticas poliméricas son bastante cortas, y las cantidades de platos son muy pequeñas para efectuar separación isocrática de mezclas complejas, si bien se pueden conectar en serie varias columnas. Estas columnas las fabrica Merck KGaA, Darmstadt, Alemania (www.merck.de) y se llaman Chromolith.

En el desarrollo de partículas para HPLC se han adoptado varios métodos, además de los que son a base de polímeros, para usarlos con pH altos y también en solución ácida. El pH alto se requiere para separar compuestos básicos. En general, las partículas de sílice se limitan a pH aproximado de 8, porque los enlaces silano se hidrolizan en esos valores y tienen un límite inferior aproximado a pH 2. La empresa Waters Corporation (www.waters.com) desarrolló una partícula **híbrida de sílice/polímero** que llamó Xterra. Las partículas se derivan de una mezcla de dos monómeros de alta pureza: uno que forma unidades de SiO_2 y el otro que forma unidades de $\text{RSiO}_{1.5}$, donde R es un grupo metilo. Los grupos organosilano se incorporan en toda la estructura y a continuación se enlazan en forma superficial con diversos grupos de fase inversa (no polares) como C_{18} . La estabilidad a bajo pH se debe en parte a que las partículas se forman con silanos trifuncionales y no monofuncionales. Debido a que la partícula base ya contiene unidades de metil-siloxano, ésta da fases enlazadas con 30 a 50% menor concentración de grupos residuales silanol, lo cual produce la generación de colas en los máximos. Las partículas tienen buena estabilidad, tanto a pH alto (mayor a 11) como bajo.

Peter Carr, de la Universidad de Minnesota, desarrolló partículas de **circonio poroso** (ZrO_2) que son estables químicamente en el intervalo de pH de 1 a 14, y también son térmicamente estables hasta 200°C. Las fabrica ZirChrom Separations, Inc. (www.zirchrom.com). Se obtienen por agregación controlada inducida por polimerización de circonio coloidal de 1 000 Å, y forman esferas monodispersas porosas de 3 μm . Estas esferas se sinterizan entonces a temperaturas hasta de 900°C para producir una forma cristalográfica monoclinica de circonio. Las partículas se adhieren con varias fases estacionarias de fase inversa. Capas delgadas de polibutadieno o poliestireno recubren el circonio. También se obtienen partículas con una capa de carbono elemental que puede usarse como fase estacionaria. Se aplica una tecnología patentada de enlaces covalentes para injertar grupos C_{18} a la superficie de carbono. En el sitio Web de ZirChrom hay una lista de usos representativos para cada tipo de partícula. (Este sitio también tiene una calculadora para preparación de amortiguadores automática sin costo.) Véase también *Anal. Chem.*, **73** (2001) 598A para una excelente publicación de las propiedades de esas fases.

EQUIPO PARA HPLC

El precio que se debe pagar por tener separaciones más rápidas y más eficientes con empaques de columnas más finos es la presión y los componentes especiales para manejarlos. Se requieren presiones de hasta 1 000 a 3 000 libras por pulgada cuadrada para tener rapidez de flujo de 1 a 2 mL/min, en columnas de 3 a 5 mm de diámetro y de 10 a 30 cm de longitud, aunque en algunos casos se requieren presiones hasta de 6 000 psi. Es probable que 80 a 90% de las separaciones con HPLC se hagan con presiones menores a 1 200 psi, y hay algunos materiales en columnas de poliuretano que requieren presiones muy bajas, cercanas a la atmosférica.

Un aparato de cromatografía de líquidos de alta eficiencia se compone de cuatro partes principales:

- 1. Sistema de suministro de fase móvil.** Este sistema tiene una bomba para llegar a las altas presiones que se requieren, y suele contener algún medio para producir un gradiente de elución (es decir, cambiar concentraciones del eluyente, por ejemplo su di-

solvente, sus sales o su H^+). Los depósitos de disolvente se pueden llenar con varios disolventes de diferentes polaridades, siempre que sean miscibles, o bien se pueden llenar con soluciones de pH diferente que se mezclan en el volumen amortiguador. Los disolventes deben ser puros y estar desgasificados para evitar la formación de burbujas, toda vez que entorpecen el correcto funcionamiento de la válvula de no retorno o pueden entrar a la cámara del pistón. Además, generan máximos falsos cuando llegan a pasar por el detector. El problema es más grave cuando se mezclan disolventes (en general, acetonitrilo o metanol con agua), porque la solubilidad de aire en mezclas es menor que en la misma proporción de disolventes puros; cuando se mezclan disolventes saturados con aire, también se liberan burbujas. En los sistemas de desgasificación sólo se requiere eliminar el aire suficiente para que su concentración sea menor que los niveles de saturación. Las formas más comunes para desgasificar consisten en burbujear con helio, que elimina 80% del aire de la solución, o con vacío, que remueve un 60%. Cuando se burbujea con helio se evapora algo del disolvente más volátil, y en los sistemas comerciales se incorporan recipientes a presión para minimizar la evaporación. El aire se sustituye con otro gas, helio, pero su solubilidad es tal que la gasificación no representa un problema. Muchos fabricantes incorporan un sistema de desgasificación al vacío en línea en el que el disolvente atraviesa un tubo poroso de pared delgada polimérico, por ejemplo de PTFE o Teflón AF, un fluoropolímero amorfo con velocidades de difusión dos a tres veces mayores, dentro de una cámara al vacío. Para mantener bajo el contenido de gases, algunos prefieren burbujear primero con helio brevemente para después usar el desgasificador al vacío.*

Los flujos suelen ser de 1 a 2 mL/min en columnas convencionales de 4.6 mm de diámetro interior. Los disolventes deben ser de grado "HPLC", esto es, que se hayan filtrado en poros de 0.2 μm . Con esto se prolonga la duración de la bomba, porque se evita el rayado, y se reduce la contaminación o la obstrucción de la columna.

La bomba que más se usa en HPLC es la reciprocante. Tiene una pequeña cámara cilíndrica de pistón que se llena con fase móvil y se vacía en forma alternativa, con un movimiento de ida y vuelta del pistón. Así se produce un flujo pulsante, el cual debe amortiguarse. Las bombas reciprocantes tienen varias ventajas. Cuentan con pequeño volumen interno, son capaces de producir altas presiones y se pueden usar con facilidad para un gradiente de elución. Proporcionan flujos constantes, independientes de la viscosidad del disolvente o de la contrapresión en la columna. Otras bombas que también se usan son las de jeringa motorizadas y las neumáticas (de presión constante).

2. Sistema de inyección de muestra. Un sistema habitual de inyección es el que muestra la figura 21.8. Se compone de un anillo de acero inoxidable con seis conexiones diferentes, una de las cuales va a la columna. Dentro del anillo hay un cono móvil de teflón que tiene tres segmentos abiertos, y cada uno de ellos conecta un par de las conexiones externas. Dos de las conexiones se unen con un circuito externo de muestra, de volumen conocido o fijo. En una configuración, el cono permite el flujo directo del efluente a la columna, y así el circuito se puede llenar con la muestra. A continuación el cono se gira 30° para que el circuito de la muestra sea parte de la corriente en movimiento, la cual barre la muestra y la lleva a la columna. Se pueden inyectar muestras de algunos microlitros a presiones hasta de 6 000 psi.

Las muestras se pueden introducir en forma manual a la válvula con una jeringa que llena el circuito de la muestra. Hoy se usan, de manera sistemática, válvulas automáticas de muestreo en las que las muestras se toman de un muestreador automático y su operación no requiere atención. La principal limitante de los inyector de válvula es que el tamaño de la muestra es fijo, y se debe cambiar el circuito para variar la cantidad de muestra inyectada. Hay jeringas ajustables motorizadas que producen la presión suficiente para inyectar la muestra a través de una válvula de retención, que evita el flujo de retorno.

*N. del R. T. Un excelente método para remover el aire de los disolventes en cuestión de minutos consiste en llevar a cabo el burbujeo en presencia de ultrasonido.

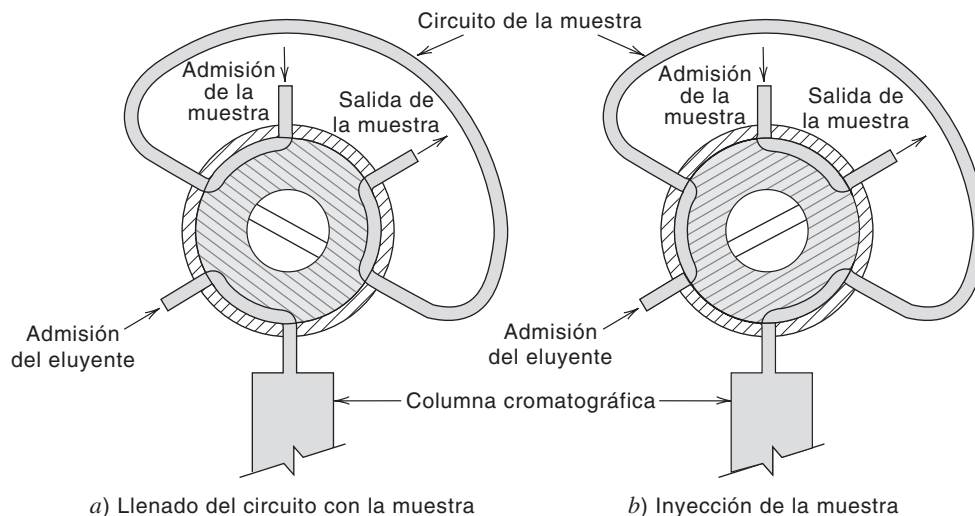


Figura 21.8. Inyector de circuito de la muestra. (Según D. C. Scott, en *Modern Practice of Liquid Chromatography*, J. J. Kirkland, ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 1971. Con autorización.)

3. Columna. Los tramos rectos de tubo de acero inoxidable permiten la construcción de columnas excelentes (véase figura 21.9). Son de varios diámetros y longitudes, los cuales dependen de la aplicación. En general, el diámetro interno tiene 3.9 o 4.6 mm. Una columna de 4.6 mm de diámetro, bien empacada con partículas de $5\ \mu\text{m}$ (d_p) debe tener un número de platos del orden de 60 000 a 90 000 placas/metro, a flujos de 1 mL/min. Una columna convencional de 15 cm de longitud con 4.6 mm de diámetro interior tiene 15 000 platos, con partículas de $3\ \mu\text{m}$, 9 000 platos con partículas de $5\ \mu\text{m}$ y 5 000 platos con partículas de $10\ \mu\text{m}$. Las partículas menores se limitan a longitudes de 25 cm o menos, por las grandes caídas de presión. Con 25 cm es posible tener 50 000 placas a una presión de 5 000 psi, y con mezclas de agua-metanol. Pueden resolver 50 a 100 máximos, que es más o menos el límite superior de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia convencional. Más adelante se verá que puede hacerse cromatografía rápida con columnas de mayor diámetro y cortas, pero las columnas delgadas producen mayor resolución.

A continuación se describirán algunas reglas para seleccionar las fases estacionarias y móviles en columnas. En general, no es necesario controlar la temperatura en la cromatografía líquido-sólido, a menos que deba trabajarse a temperaturas elevadas; pero en general sí se requiere para otras formas de cromatografía de líquidos (líquido-líquido, exclusión de tamaño, intercambio iónico). Algunos detectores, en especial los refractómetros, son muy



Figura 21.9. Columnas para HPLC. (Cortesía de Waters Corporation.)

Un guardacolumna prolonga la vida de la columna analítica y mejora las separaciones al remover compuestos de muy elevada retención y también basura.

sensibles a los cambios de temperatura, por lo cual, si la columna trabaja a temperatura mayor que la ambiente, debe colocarse una chaqueta de enfriamiento entre el extremo de la columna y el detector, para regresar la temperatura de la fase móvil a la ambiental.

Entre el inyector y la columna analítica se instala un **guardacolumna** o **precolumna** pequeño, de 3 a 10 cm. En general contiene el mismo empaque que la columna analítica. Se instala allí por dos razones. La primera es que retiene basura (por ejemplo, fragmentos de sellos de bomba) y materia sólida proveniente de la muestra que de otro modo llegarían a la columna, la ensuciarían y modificarían su eficiencia y selectividad. En segundo lugar, se retienen compuestos que se retienen muy fuertemente, que de otra manera quedarían atrapados en la columna analítica, sin eluirse. El guardacolumna prolonga la duración de la columna analítica. Periódicamente debe sustituirse o regenerarse. Algunas columnas analíticas tienen integrado un guardacolumna, diseñado para eliminar casi todo el volumen muerto, por ejemplo con conexión a tope con la columna, para minimizar ensanchamientos adicionales de la columna. Entre la bomba y el inyector se puede instalar un filtro en línea.

4. Detector. En la cromatografía de líquidos de alta eficiencia se requieren detectores con gran sensibilidad, en general para cantidades de microgramos a nanogramos. Los detectores que más se usan son refractómetros y detectores de ultravioleta (UV). El **detector de refractómetro diferencial**, llamado con frecuencia “detector universal”, mide cambios en el índice de refracción del eluyente causados por la presencia de solutos al salir de la columna. No se puede usar bien en eluciones con gradiente debido a un cambio en la referencia (cambio en el índice de refracción del disolvente al cambiar el gradiente) ni cuando el disolvente tiene índice de refracción cercano al de los solutos. Como se dijo, es muy sensible a los cambios de temperatura. Este detector es robusto, y detecta concentraciones aproximadas de 10^{-5} a 10^{-6} g/mL (10 a 1 ppm). El **detector ultravioleta** tiene mucho mejor selectividad, alrededor de 10^{-8} g/mL (0.01 ppm). No es sensible a la temperatura, cuesta relativamente poco y se puede usar con gradiente de elución. Es sensible a una gran cantidad de compuestos orgánicos. Debido a sus ventajas, con el detector UV se hacen cerca de 80% de las mediciones. Es claro que no se puede usar con disolventes que tengan absorción apreciable en el UV o con componentes de muestra que no absorban en el UV.

Muchos detectores de UV son sencillos filtros de interferencia que pueden medir la absorbancia sólo a unas cuantas longitudes de onda predeterminadas. Los detectores más costosos tienen un monocromador que permite seleccionar determinada longitud de onda. Incluso se puede lograr recorrer el espectro, para identificaciones cualitativas, deteniendo de manera momentánea el flujo de la fase móvil. El detector más popular en HPLC es el de longitud de onda variable UV-Vis. Puede medir nanogramos de analitos absorbentes de UV o los que tengan cromóforos adecuados que absorban en la región visible. Las columnas analíticas pueden manejar muestras de 100 μ L, por lo que estos detectores pueden medir, en casos favorables, concentraciones de 10 ppb (1 parte en 1 000 millones).

Un detector de serie de diodos proporciona poder adicional de resolución e incluso identificación a nivel de huellas digitales.

Una característica común de los instrumentos de HPLC es un detector de **serie de diodos**, como se describió en el capítulo 16. La adquisición instantánea del espectro de absorción proporciona una poderosa herramienta cualitativa. La fuente de radiación focal pasa a través de la celda de detector de flujo y es dispersada por una rejilla a una serie de fotodiodos para su detección. La capacidad para resolver espectros matemáticamente solapados proporciona capacidad adicional de separación cuando un máximo cromatográfico consiste en dos o más analitos.

Los **detectores de fluorescencia** pueden tener mejor selectividad que los de absorción ultravioleta porque son menos los compuestos que fluorescen que los que absorben (véase el capítulo 16). Se alcanzan sensibilidades cuando menos iguales, y quizá mejores que las del detector de UV, dependiendo de la geometría de la disposición fuente de excitación-detector, la intensidad de la fuente y la eficiencia cuántica del fluoróforo. El **detector amperométrico** (véase el capítulo 15) es adecuado para detectar sustancias electroactivas, y ha encontrado muchos usos en aplicaciones biológicas, por ejemplo, en la separación y detección de trazas de catecolaminas en el cerebro mediante HPLC.

Al configurar el aparato, debe haber un “volumen muerto” mínimo entre la conexión de inyección y la columna, y entre la columna y el detector, para minimizar el ensanchamiento de los máximos y para obtener la máxima eficiencia. En general, se puede usar un capilar de 20 cm de acero inoxidable para conectar la columna con el detector sin afectar mucho la eficiencia de ésta. También el volumen del detector debe ser pequeño, y los volúmenes normales son del orden de 1 μL , y en los detectores de alto rendimiento usados con sistemas capilares de cromatografía de líquidos se usan volúmenes menores al microlitro. Una celda espectrofotométrica de flujo suele tener una configuración de “celda Z”, con ventanas de cuarzo, donde la trayectoria de la luz sigue el eje de un tramo horizontal del flujo de efluente, para aumentar la trayectoria de la absorbancia y la sensibilidad.

DESARROLLO DEL MÉTODO HPLC: ¿QUÉ COLUMNA? ¿QUÉ DISOLVENTE?

La cromatografía de líquidos de alta eficiencia se usa en el modo de **cromatografía de adsorción** líquido-sólido, o en el de **cromatografía de partición** líquido-líquido. El más común es el modo de partición, ya sea normal o de fase inversa. Tanto la cromatografía de partición como la de adsorción aprovechan diferencias en la polaridad del soluto, porque la polaridad es importante para determinar tanto la adsorción como la solubilidad. Los procesos de partición líquido-líquido son bastante sensibles a pequeñas diferencias en el peso molecular, por lo que se prefieren para separar miembros de series homólogas. Por otra parte, los procesos de adsorción son sensibles a los efectos estéricos, y se prefieren para separar isómeros con distintas configuraciones estéricas. Las fases más frecuentes de adsorción son partículas de alúmina o de sílice.

Como regla general, los materiales muy polares se separan mejor con cromatografía de partición, en tanto que los que son mucho menos polares se separan con cromatografía de adsorción. Entre los extremos, se podría aplicar cualquiera de los procesos. La polaridad de los compuestos tiene el orden aproximado siguiente: hidrocarburos y derivados < hidrocarburos oxigenados < donadores de protones < compuestos iónicos; esto es, $\text{RH} < \text{RX} < \text{RNO}_2 < \text{ROR}$ (éteres) = RCO_2R (ésteres) = RCOR (cetonas) = RCHO (aldehídos) = RCONHR (amidas) < RNH_2 , R_2NH , R_3N (aminas) < ROH (alcoholes) < $\text{H}_2\text{O} < \text{ArOH}$ (fenoles) < RCO_2H (ácidos) < nucleótidos < $^+\text{NH}_3\text{RCO}_2^-$ (aminoácidos). En la cromatografía de adsorción suele mantenerse constante al adsorbente y se hace aumentar la polaridad del disolvente de elución, hasta que se completa la elución. Algunos disolventes de uso común, por polaridad creciente, son: disolventes ligeros de petróleo (hexano, heptano, éter de petróleo) < ciclohexano < tricloroetano < tolueno < diclorometano < cloroformo < éter etílico < acetato de etilo < acetona < *n*-propanol < etanol < agua. En algunas circunstancias se podrá necesitar un disolvente tan polar en la elución, que muchos solutos se estarán eluyendo juntos en lugar de separarse. En esos casos se debe usar un adsorbente menos polar.

En la **cromatografía de fase normal** (NPC, normal-phase chromatography) la fase estacionaria es polar. Se usa una fase móvil no polar, como *n*-hexano, cloruro de metileno o cloroformo. La fase estacionaria es un siloxano unido con un grupo funcional polar (orden de polaridad: ciano < diol < amino < dimetilamino). Esas fases retienen compuestos polares preferentemente a compuestos no polares.

En la **cromatografía de fase inversa** (RPC, reversed-phase chromatography) se usa una fase estacionaria relativamente no polar, y la fase móvil polar es, por ejemplo, metanol, acetonitrilo, tetrahidrofurano, agua o, con frecuencia, una mezcla de agua con uno de los disolventes orgánicos. El disolvente orgánico se llama **modificador**, y el más común es acetonitrilo. El contenido de agua se hace variar para ajustar la polaridad. Con los compuestos ácidos se usa metanol, y para los básicos se usa acetonitrilo. El tetrahidrofurano se usa para los que tienen grandes dipolos. Estos disolventes son transparentes al UV y tienen poca viscosidad. Las fases enlazadas más comunes son cadenas de *n*-octadecilo (C_{18}) o *n*-decilo (C_8), o grupos fenilo. Las columnas polares, de fase inversa, como polietilenglicol (PEG) contienen grupos éter que interactúan con analitos polares. Se usan para analizar compuestos fenólicos y multiaromáticos con grupos hidroxilo. Si bien muchos de

La HPLC de fase inversa se usa para separar compuestos orgánicos.

ellos se pueden separar en columnas con C_{18} , se pueden presentar traslapos. Cabe esperar que los órdenes de elución sean diferentes.

Una gran variedad de compuestos orgánicos se pueden disolver en fases mixtas de agua-disolvente orgánico para separarlos, de tal modo que la cromatografía de fase inversa es, con mucho, la forma más difundida de HPLC. Para los compuestos que se pueden separar por NPC o por RPC, el orden de elución se invierte, si bien no siempre es exacto. Naturalmente, si una muestra es mucho menos polar e insoluble en mezclas acuosas, se usa cromatografía de fase normal. En los demás casos se usa cromatografía de fase inversa.

1. Selección del disolvente. En contraste con la cromatografía de gas-líquido, donde la fase móvil gaseosa se encuentra fija y las condiciones de separación se cambian variando la fase estacionaria polar, en la cromatografía de partición líquido-líquido se puede variar la fase móvil, esto es, la “fuerza del disolvente”. Esto es más fácil de hacer que cambiar columnas, y el ajustar la fase móvil es parte del desarrollo en los métodos de separación de cromatografía de líquidos.

En la mayor parte de las aplicaciones, con un disolvente puro no se obtendrá la separación eficiente de una serie de compuestos, y deberá usarse una formulación con dos o más disolventes. El disolvente débil se llama disolvente A, y el fuerte se llama disolvente B. Para obtener un porcentaje óptimo del disolvente B se pueden hacer tanteos. Interesan dos factores para lograr separaciones eficientes con resolución de línea de base: el factor de retención k , que es un término de *polaridad*, y el factor de separación α , que es un término de *selectividad* (véase la ecuación 19.28). En general se trata de ajustar la concentración del disolvente para colocar todas las bandas de soluto dentro de un intervalo de k de aproximadamente 0.5 a 20. El ajuste a una polaridad aceptable permitirá que la resolución sea adecuada para muchos compuestos. Si la separación es incompleta, un cambio en % B, por ejemplo de 35 a 40 o 45% causará con frecuencia un cambio importante en el espaciamiento de las bandas, y producirá una mejor resolución. Pero aunque en ese caso algunas bandas pueden estar mejor separadas, otras se pueden traslapar, lo que no podría haber sucedido antes. Por ejemplo, una mezcla de dos disolventes, acetonitrilo y metanol, con agua, puede producir una separación intermedia de bandas con resolución aceptable, como se ve en la figura 21.10. Los dos experimentos, con 80 y 40% de acetonitrilo (ACN) dan una idea del intervalo de valores de k en relación con la concentración del disolvente; con

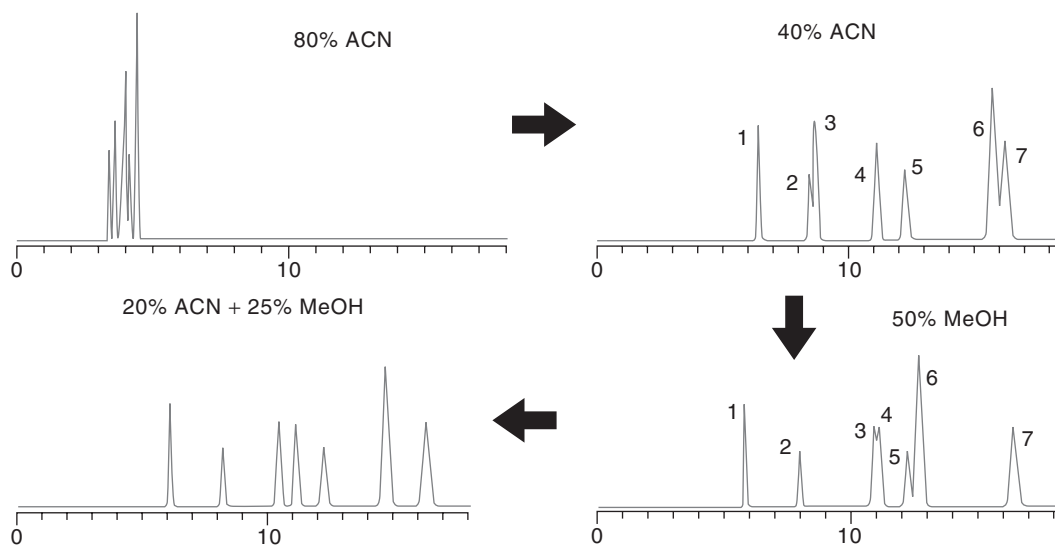


Figura 21.10. Serie hipotética de experimentos para desarrollo de un método, comenzando con una fase móvil concentrada de acetonitrilo 80% y agua. (Según L. R. Snyder, J. J. Kirkland y J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development*, 2a. ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 1998. Reproducción autorizada.)

40% de ACN se obtiene mayor resolución, pero todavía incompleta. Al cambiar de ACN a metanol (MeOH) al 50% cambia el espaciamento, pero se producen nuevos traslajos. Por último, al mezclar los dos disolventes (volúmenes iguales de ACN 40% y MeOH 50% que se usaron antes) se obtiene una separación intermedia entre las dos, con resolución aceptable. Este método de varios disolventes funciona bien en muchos casos.

2. Diferencias entre las columnas. Hay más de 100 diferentes marcas comerciales de columnas de fase inversa. Los fabricantes de columnas proporcionan información como el número de platos, selectividad única, reproducibilidad, caída de presión, etc. No obstante, si bien es importante tener conocimiento de todos estos datos, resultan de poca ayuda para seleccionar la columna más apropiada para la mayoría de las aplicaciones.

Si bien no se han desarrollado índices similares a los que se encuentran disponibles para la cromatografía de gases, se ha tratado de clasificar las columnas. Una de estas formas consiste en usar un solo compuesto, como aspirina, para caracterizar una serie de columnas con un analito de polaridad fija para determinar el tiempo relativo en el que éste se eluye. Otra es usar un método quimiométrico (estadístico) para agrupar las columnas de acuerdo con la eficiencia, simetría del máximo, formación de colas en el máximo y silano libre. Esos métodos, al presente, tienen valor limitado para discernir diferencias relativamente pequeñas. Lo que se puede decir es que la mejor manera de seleccionar la columna adecuada es la evaluación empírica, comenzando con las aplicaciones recomendadas por el fabricante.

3. Gradiente de elución. En cromatografía de gases se describió cómo se pueden mejorar y acelerar las separaciones mediante programación de temperaturas; pero en HPLC esta opción está limitada (sin embargo, véase la discusión acerca de la cromatografía rápida más adelante para excepciones). Un método más viable que no está disponible en la cromatografía de gases es emplear elución con gradiente de fase móvil. La cromatografía de líquidos con gradiente de elución es una de las formas más efectivas para separar varios analitos que tienen tiempos relativos de retención diferentes. En la elución isocrática (con la misma polaridad) en general hay mala resolución de máximos al iniciar el cromatograma y ensanchamiento de máximos con tiempos de retención más grandes. En la cromatografía de fase inversa el gradiente se consigue aumentando la fracción de disolvente orgánico modificador (por ejemplo, metanol). Esto permite eluir compuestos débilmente retenidos más tardíamente para resolverlos mejor de lo que sería con una elución isocrática, y los que se retienen más se eluirán más rápido para producir un cromatograma con máximos compactos y bien espaciados, con una mejor forma de pico y menores límites de detección debido a que se reduce el ensanchamiento de bandas.

Como en la programación de temperatura en cromatografía de gases, el gradiente puede elevarse de manera escalonada o continua. Las bombas se programan para mantener constante el flujo total. El disolvente inicial debe tener una polaridad que eluya rápido y resuelva los primeros componentes; la concentración (polaridad) del disolvente se eleva hasta un valor que resuelva los últimos máximos en un tiempo razonable. El método con varios disolventes que se describió antes puede ayudar a determinar las polaridades inicial y final.

Uno de los problemas que se encuentran en el gradiente de elución en cromatografía de fase inversa es que la columna se debe reequilibrar con el disolvente inicial entre corridas. Para eso se requiere lavar con 15 a 20 volúmenes de columna con la fase móvil inicial. John Dorsey, de la Universidad Estatal de Florida, elaboró un procedimiento que reduce en forma espectacular el tiempo de equilibrio cuando se controla la solvatación de las cadenas de alquilo enlazadas a lo largo de la corrida cromatográfica. [L. A. Cole y G. D. Dorsey, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 16]. Una solución de propanol al 3% forma una cubierta de casi monocapa en una superficie de C_{18} , y si se agrega 1-propanol al 3% a cada componente de fase móvil se reduce un 75% el tiempo de equilibrio. También, el efecto hidratante que produce el 1-propanol puede producir mayores eficiencias de columnas al inicio del cromatograma con una fase móvil inicial prominentemente acuosa. Véase también D. L. Warner y J. G. Dorsey, *LC-GC*, **15** (3) (1997) 254, con detalles adicionales sobre aplicaciones prácticas.

Véase una comparación muy detallada de 60 fases de C_{18} en www.mac-mod.com/comparison_guide.html. Éstas se clasifican por hidrofobicidad y polaridad relativas, y aparecen datos acerca de las eficiencias de la columna para compuestos básicos y neutros. Véase también el informe completo de NIST en <http://ois.nist.gov/srmcatalog/certificates/870.pdf>.

El gradiente de elución funciona bien con la cromatografía de partición de fase enlazada y con la cromatografía de adsorción, pero es difícil de usar con la cromatografía líquido-líquido.

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA RÁPIDA: LO PEQUEÑO ES MEJOR

Se obtienen separaciones más rápidas usando partículas más pequeñas y columnas más cortas.

Si las columnas se acortan y se empacan con partículas más pequeñas, pueden hacerse separaciones en la décima parte del tiempo que se requiere en HPLC convencional (del orden de 20 min), y algunas separaciones sólo requieren algunos segundos. Las columnas rápidas de cromatografía de líquidos (LC, liquid chromatography) tienen el mismo diámetro que las columnas convencionales, 4.6 mm, pero sólo tienen 1 a 3 cm de longitud, en vez de los 25 cm normales, y se empacan con partículas de 3 μm en vez de 5 μm , trabajando dentro de 1 a 3 mL/min. La gráfica de H en función de $\bar{u}$ es bastante plana a elevada rapidez de flujo (véase la figura 19.5), porque las partículas menos pequeñas son menos resistentes a la transferencia de masas (término C en la ecuación de Van Deemter). Las columnas son cortas debido a la mayor contrapresión con las partículas más pequeñas; pero una columna típica puede generar 4 000 platos, los suficientes para muchas separaciones. En 30 s se han separado hasta 20 máximos. Si bien no tienen gran resolución, estas separaciones resuelven muchos de los problemas analíticos en la industria farmacéutica, que ocupa más o menos la mitad del mercado de HPLC. En general, en el control farmacéutico los analistas necesitan buscar unos cuantos ingredientes activos en una tableta o formulación.

¿Por qué usar cromatografía de líquidos rápida? Además de la ventaja obvia de los análisis más rápidos, usa 50 a 80% menos de disolvente (generando menos desechos). La sensibilidad aumenta tres a cinco veces, porque hay menor dilución de los máximos de analito en los menores volúmenes de columna, resultado de un empaçado más estrecho. Estas columnas, empaçadas densamente, son más propensas a taparse. Entonces, antes del inyector se instala una columna o filtro secuestrante, además del guardacolumna que se instala antes de la columna.

Si se debe aumentar la resolución al usar esas columnas cortas, se puede ajustar la fase móvil para que todos los analitos se eluyan en un intervalo de k de 1 a 10 con una elución más lenta, por ejemplo 10 min en vez de 30 s. Se puede usar un modificador con 50% de acetonitrilo en la cromatografía de líquidos de alta velocidad, o sólo con 20% para cromatografía de líquidos de alta resolución.

Como en la cromatografía de gases de alta velocidad, en la LC de alta velocidad se requieren detectores y circuitos electrónicos de respuesta rápida para medir los máximos de elución angostos (de 0.5 s o 3 μL) y rápidos. El detector debe tener una constante de tiempo capaz de medir la rapidez de cambio de la señal del orden de 50 a 100 ms o menos. La rapidez de muestreo del sistema de datos debe ser >10 puntos/segundo, y con espectrómetros de arreglo de diodos >5 escaneos/segundo. Esas mediciones son más propensas a efectos adicionales de ensanchamiento en la columna y se deben minimizar los volúmenes muertos, lo que requiere una celda de flujo de detección pequeña (<3 μL), un inyector con baja dispersión (comercialmente disponible) y tubos de conexión más cortos y de pequeño diámetro. Las celdas de flujo más pequeñas tendrán longitud de trayectoria menor, por lo que se compromete algo la sensibilidad.

COLUMNAS DE PEQUEÑO CALIBRE: MAYOR SENSIBILIDAD, MENOR USO DE DISOLVENTE

Con columnas angostas mejora la sensibilidad.

Si se hacen columnas más angostas, el resultado es una mayor detección debido a que los máximos son más angostos y altos. Si se inyecta una muestra de 4 μL en una columna de 2.1 mm de diámetro se diluirá cinco veces menos, y el máximo será cinco veces más alto que cuando se inyecta en una columna de 4.6 mm de la misma longitud. La rapidez de flujo es proporcional al cuadrado del diámetro de la columna, y el flujo óptimo para tener la misma resolución es unas cinco veces menor para la columna más angosta; esto da como resultado una menor dilución volumétrica de la muestra. Naturalmente, se puede alcanzar

la misma sensibilidad en las columnas convencionales si se inyecta una muestra cinco veces mayor, 20 μL . Así, en realidad sólo cuando la muestra es limitada se aprovecha la ventaja de la sensibilidad, pero se reduce el disolvente a la quinta parte. Los volúmenes de muestra inyectados en las columnas de 2.1 mm no deben ser mayores a 5 μL para minimizar la influencia de la inyección sobre los volúmenes de los máximos. Y el volumen de la celda de flujo debe ser de 3 a 5 μL . La aplicación principal de esas columnas es cuando se interconectan con un espectrómetro de masas (líquidos-masas, véase más adelante) debido a los menores volúmenes de máximo y la baja rapidez de flujo volumétrico necesaria para su introducción al espectrómetro de masas.



Ejemplo 21.1

Calcular el volumen, en microlitros, de una zona de muestra que corresponda a 1 mm en: a) una columna de 2.1 mm de diámetro interno (d.i.) y b) una de 4.6 mm de diámetro interno, suponiendo que la fase móvil ocupa 65% del volumen de la columna.

Solución

a) Calcular el volumen en cm^3 y usar dimensiones en centímetros:

$$V = l\pi r^2 = 0.1 \text{ cm} \times 3.14 (0.105 \text{ cm})^2 = 0.0035 \text{ cm}^3 = 3.5 \mu\text{L}$$

Como la fase móvil ocupa 65% del volumen, se multiplica por 0.65 para obtener el volumen real:

$$3.5 \mu\text{L} \times 0.65 = 2.3 \mu\text{L}$$

b) $0.1 \text{ cm} \times 3.14 (0.23 \text{ cm})^2 \times 0.65 = 0.0108 \text{ cm}^3 = 10.8 \mu\text{L}$

Eso significa que la altura del máximo será la misma con una columna de 2.1 mm de diámetro interno para una muestra de 2.3 μL , que para una columna de 4.6 mm de diámetro interno con una muestra de 10.8 μL , cerca de la quinta parte del tamaño de la muestra. También significa que no se requiere una columna pequeña para tener alta sensibilidad si la muestra no se encuentra limitada.



Ejemplo 21.2

Si la rapidez óptima de flujo volumétrico para una columna de 4.6 mm de diámetro interno es 1.5 mL/min con partículas de 5 μm , ¿cuál sería para una columna de 2.1 mm de diámetro interno con las mismas partículas? ¿Cuánto disolvente se consumiría para tener una separación de 10 min con cada columna?

Solución

La rapidez de flujo es proporcional a la raíz cuadrada del diámetro interno de la columna:

$$\begin{aligned} \text{Rapidez de flujo (2.1 mm diámetro interno)} &= 1.5 \text{ mL/min} \times \frac{(2.1 \text{ mm})^2}{(4.6 \text{ mm})^2} \\ &= 0.31 \text{ mL/min} \end{aligned}$$

Para la columna de 4.6 mm de d.i. se usarían 15 mL de disolvente, en tanto que para la de 2.1 mm de d.i. sería la quinta parte.

La figura 21.11 muestra la diferencia en capacidades para una columna empacada de calibre angosto ($2.1 \text{ mm} \times 20 \text{ cm}$ de longitud) empacada con perlas de $2.5 \mu\text{m}$ con C_{18} , comparada con una de $4.6 \text{ mm} \times 5 \text{ cm}$, $5 \mu\text{m}$ d_p . Se logra triplicar la capacidad. La columna angosta se calienta para reducir la viscosidad del disolvente para hacerlo fluir a través de la columna más densamente empacada.

En líquidos-masas se usan ampliamente capilares de sílice fusionada, de 0.25 o 0.32 mm de diámetro interno, empacados con partículas de 3 o $5 \mu\text{m}$. Estas columnas requieren muestras pequeñas, del orden de un microlitro o menos. La rapidez de flujo volumétrico es de varios microlitros por minuto. Su resolución es comparable con la de las columnas analíticas normales.

¿Y LA TEMPERATURA?

Las partículas de circonio que se describieron antes son estables a altas temperaturas. Las de circonio poroso recubiertas con poliestireno se han usado hasta los 200°C . En estudios sobre LC rápida a alta temperatura, Peter Carr, de la Universidad de Minnesota, demostró que la eficiencia de la columna de alta velocidad mejora a mayores temperaturas, en especial para solutos que se retienen fuertemente. También la gráfica de Van Deemter se aplana de manera notable cuando se eleva la temperatura. Carr llevó a cabo separaciones a 150°C , con rapidez de flujo de 15 mL/min en una columna de $4.6 \text{ mm} \times 5 \text{ cm}$, con partículas de $3 \mu\text{m}$.

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

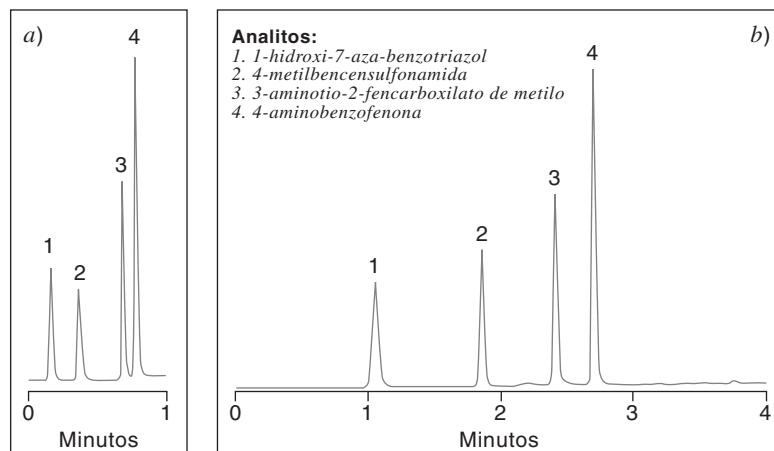
La detección por espectrometría de masas en la cromatografía de líquidos, igual que en la cromatografía de gases, se ha convertido en una poderosa herramienta de detección de masas sensible y selectiva para caracterizar muestras complejas. Se recomienda repasar las bases de la espectrometría de masas y los tipos de instrumentos que se usan en detección cromatográfica en el capítulo 20.

Es más difícil conectar un cromatógrafo de líquidos con un espectrómetro de masas debido a la necesidad de eliminar el disolvente. Además, los analitos son no volátiles y pueden ser térmicamente lábiles; sin embargo, deben ser presentados en forma gaseosa. Por lo anterior, a la combinación de cromatografía de líquidos y espectrometría de masas se le llamó “matrimonio improbable”, y se requirieron varios años de desarrollo en las conexiones para alcanzar una que fuese de uso fiable y sencillo. Hoy día existen diversos tipos de interconexiones que hacen de la técnica de líquidos-masas una técnica rutinaria. Se encuentran disponibles en el comercio sistemas compactos de escritorio (véase figura 21.12).

Las interconexiones de uso común son la fuente de ionización por electroaspersión (ESI, electrospray ionization), ionización por termoaspersión (TSI, thermospray ionization), ionización química a presión atmosférica (APCI, atmospheric pressure chemical ionization) y la ionización con haz de partículas. La elección depende mucho de la pola-

La ionización por electroaspersión es la interconexión HPLC-masas de uso más común.

Figura 21.11. Aumento de capacidad con columna de calibre estrecho. a) Columna: partículas de $2.5 \mu\text{m}$ con C_{18} , 2.1 mm de diámetro interno, 2.0 cm de longitud, 60°C . Volumen de inyección: $1 \mu\text{L}$. b) Partículas de $5.0 \mu\text{m}$, con C_{18} , 4.6 mm de diámetro interno, 5.0 cm de longitud, 30°C . Volúmenes inyectados: $3 \mu\text{L}$. (Cortesía de Waters Corpora-tion.)



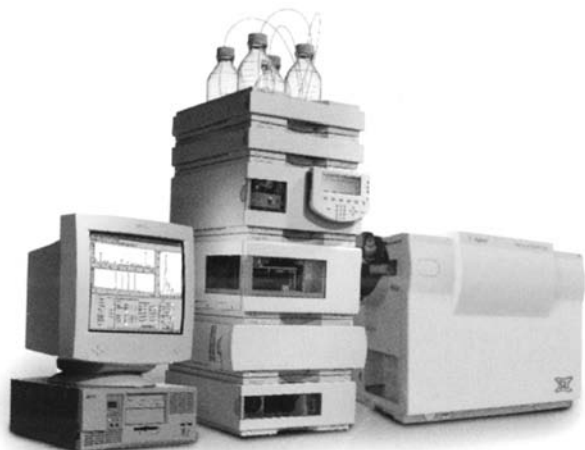


Figura 21.12. Sistema de escritorio para cromatografía de líquidos-espectrometría de masas. (Cortesía de Agilent Technology.)

ridad y estabilidad térmica del analito. Se prefiere la ionización por electroaspersión para moléculas polares, iónicas o muy grandes, como las de proteínas y péptidos. La ionización química a presión atmosférica también es adecuada para moléculas grandes y para compuestos no polares. La termoaspersión, que fue la primera técnica realmente exitosa, se usa para compuestos polares y no polares, y hoy ha sido sustituida por las técnicas atmosféricas. La ionización por haz de partículas es adecuada para moléculas relativamente volátiles y pequeñas ($< 1\,000$ daltons), polares y no polares.

En la figura 21.13 se ve un esquema de una interfase con **haz de partículas**. El eluyente que viene de la columna de HPLC se nebuliza con gas helio formando un aerosol en una cámara a presión reducida, calentada a 70°C . En el extremo de la cámara hay un cono con un orificio pequeño que conduce a una zona de menor presión. La diferencia de presiones causa una expansión supersónica del aerosol. El helio y las moléculas de disolvente son más ligeros que las moléculas del analito, tienden a difundirse fuera de la corriente y se bombean para removerlas. El vapor remanente que queda pasa por un segundo cono a otra área de presión aún menor, y después el vapor de analito entra a la fuente de iones. La interfase del haz de partículas produce espectros de ionización electrónica (EI, electron ionization) parecidos a los de gases-masas, por lo que se pueden usar los vastos conocimientos sobre espectros de ionización electrónica para identificar analitos.

En la interfase de **termoaspersión**, la muestra de la columna atraviesa por un tubo calentado y se expande rápidamente en forma de chorro de aspersión en una cámara al vacío calentada. La niebla de disolvente se carga en forma electrostática. El disolvente se aparta rápido de las gotitas por bombeo y se imparte a las partículas una carga estática, las cuales entran al espectrómetro de masas. La termoaspersión produce “ionización suave” con poca o ninguna fragmentación, y permite la ionización suave de compuestos orgánicos no volátiles y termolábiles. En general, el espectro muestra un ion molecular protonado.

La interfase de **ionización por electroaspersión** es la más difundida. También es un método de ionización suave. La solución de la muestra se rocía a través de una gran diferencia de potencial de algunos miles de voltios de una aguja hacia un orificio en la interfase

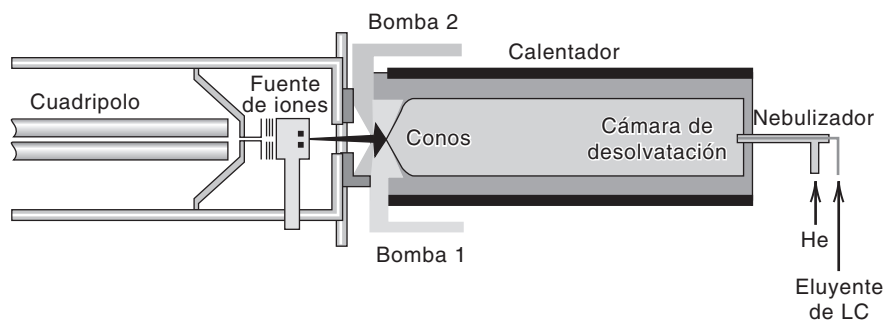


Figura 21.13. Interfase de haz de partículas. [Según A. N. Eaton, *Today's Chemist at Work*, octubre (1994) 34. Copyright 1994 por la American Chemical Society. Reproducción autorizada por Micromass Ltd.]

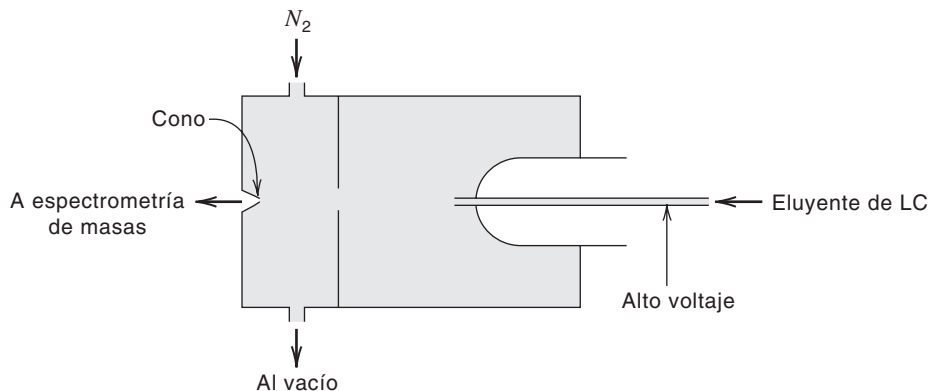


Figura 21.14. Interfase de ionización por electroaspersión, para líquidos-masas.

(véase figura 21.14). El flujo de calor y del gas desolvatan las gotitas cargadas y producen moléculas del analito cargado que entran al espectrómetro de masas. La ionización por electroaspersión puede producir iones con cargas múltiples, y la cantidad de carga aumenta al elevarse el peso molecular. Por ejemplo, en las proteínas y péptidos se producen sitios con cargas múltiples. Eso permite determinar pesos moleculares relativamente grandes, muy por encima del límite de la relación m/z normal, de 2 000 a 3 000 dalton en el espectrómetro de masas cuadripolar, porque la relación m/z decrece, por ejemplo en un factor de 5. Se pueden medir proteínas con 50 000 dalton o más. Naturalmente, debe evaluarse el número de cargas. Entre las técnicas para hacerlo está comparar dos estados de carga que difieren en una sola carga y resolver ecuaciones simultáneas; otra es identificar especies con la misma carga, pero diferentes masas de aducto; por último, buscar relaciones m/z para grupos isotópicos resueltos. La electroaspersión es adecuada para compuestos cargados, polares o básicos.

Como su nombre lo indica, en la **ionización química a presión atmosférica** se usa una interfase de ionización a presión atmosférica. La interfase es parecida a la que se usa en electroaspersión, pero se utiliza una descarga de corona para ionizar al analito en una región a presión atmosférica. (Nota: Ésta es diferente a la fuente de ionización química que se describió en el capítulo 20 para gases-masas.) La ionización en fase gaseosa de analitos menos polares es más eficiente que la ionización por electroaspersión, pero su manejo de masas se limita a unos 2 000 dalton. La ionización por electroaspersión y la ionización química a presión atmosférica son complementarias. La ionización química a presión atmosférica ha sustituido en gran parte a la ionización térmica como interfase en instrumentos comerciales.

El filtro de masas cuadripolar es el analizador de masas que más se usa en líquidos-masas por su bajo costo, su robustez y por ser compacto. En años recientes se han desarrollado analizadores de tiempo de vuelo para conectarlos a ionizadores por electroaspersión.

ALGUNAS APLICACIONES DE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICIENCIA

La técnica de HPLC se usa mucho en numerosas aplicaciones clínicas, forenses, ambientales e industriales. Ha sustituido muchos procedimientos de cromatografía de gases en análisis forenses en selección de drogas. Se pueden encontrar ejemplos de tipos específicos usando las bases de datos de cromatogramas que aparecen en los sitios Web al final del capítulo 19. Por ejemplo, en la base de datos Supelco se puede consultar la determinación de explosivos extraídos del agua usando microextracción en fase sólida (SPME, capítulo 18), o bien, la caracterización rápida de medicamentos que se venden sin receta, y muchos otros ejemplos.

Las moléculas que pueden penetrar en las partículas de gel se separan de acuerdo con su tamaño y forma. Las demás pasan directo por la columna.

21.2 Cromatografía por exclusión de tamaño

La cromatografía por exclusión de tamaño (llamada también cromatografía molecular o en gel) es un método en el que la fase estacionaria es una **malla o criba molecular**. Se usa

en columnas abiertas con alimentación por gravedad para separaciones de preparación, y para separaciones de alta eficiencia. Estas mallas son carbohidratos poliméricos y acrilamidas que tienen una red abierta formada por el entrecruzamiento de cadenas poliméricas. Son hidrofílicas, por lo que son capaces de absorber agua e hincharse, causando la abertura de su estructura. El grado de entrecruzamiento determina el tamaño de los “agujeros”.

Las moléculas solvatadas mayores que los poros más grandes del gel hinchado no pueden penetrar en éste, por lo que atravesarán la columna por los espacios que hay entre las partículas individuales. Sin embargo, las moléculas más pequeñas sí penetrarán el área abierta en las partículas en grado variable, lo cual dependerá de su tamaño y forma. En consecuencia, se retardarán en distintos grados y se eluirán por tamaño molecular decreciente. Los geles con alto grado de hinchamiento se usan para fraccionar moléculas grandes (en general de sustancias de alto peso molecular), en tanto que los más densos (de menor hinchamiento) se usan para separar compuestos de menor peso molecular.

Los bioquímicos usan nombres como **cromatografía por filtración en gel** (la fase móvil es agua) y **cromatografía por permeación en gel** (la fase móvil es un disolvente orgánico) para describir este método. Sin embargo, el término recomendado es **cromatografía por exclusión de tamaño**. Con esta técnica se puede obtener la distribución de pesos moleculares de los polímeros, y se pueden separar proteínas, enzimas, péptidos, ácidos nucleicos, hormonas, polisacáridos, etcétera.

El **límite de exclusión** es el peso molecular de moléculas que se encuentran en el límite para permear el gel y ser retardadas. Este peso puede variar desde 1 000 hasta varios millones, dependiendo del gel. Se debe subrayar que las separaciones se basan en el tamaño y configuración de las moléculas, y no sólo en su peso molecular, aunque por lo regular están correlacionados. En general, *las moléculas de tamaño por debajo del límite de exclusión se pueden fraccionar hacia abajo hasta cierto tamaño límite* (véase la tabla 21.1).

Los geles se deben equilibrar durante algunas horas o hasta un día o más con el disolvente que se vaya a utilizar, dependiendo de la absorción del disolvente. Los que tienen pocos entrecruzamientos diseñados para sustancias de alto peso molecular requieren periodos mayores de humidificación.

Un material muy usado en las mallas moleculares para separar proteínas es el **Sephadex**. Se trata de un carbohidrato polimérico que, debido a sus grupos hidroxilo a lo largo de la cadena polimérica, es altamente polar y por tanto adsorbe agua. La cantidad

Las proteínas se pueden separar por cromatografía de exclusión molecular.

Tabla 21.1
Características de Sephadex Gel^a y Bio-Gel^b

<i>Tipo de Sephadex</i>	<i>Intervalo de fraccionamiento^c para péptidos y proteínas globulares (PM)</i>	<i>Tipo de Bio-Gel</i>	<i>Intervalo de fraccionamiento (PM)</i>
G-10	Hasta 700	P-2	100-1 800
G-15	Hasta 1 500	P-4	800-4 000
G-25	1 000-5 000	P-6	1 000-6 000
G-50	1 500-30 000	P-10	1 500-20 000
G-75	3 000-70 000	P-30	2 500-40 000
G-100	4 000-150 000	P-60	3 000-60 000
G-150	5 000-400 000	P-100	5 000-100 000
G-200	5 000-800 000	P-150	15 000-150 000
		P-200	30 000-200 000
		P-300	60 000-400 000

^aCortesía de Pharmacia Fine Chemicals, Inc.
^bCortesía de Bio-Rad Laboratories.
^cEl límite superior es el límite de exclusión.

de entrecruzamiento se puede controlar con cuidado en la preparación para obtener diferentes tamaños de poro y límites de exclusión. Los geles se caracterizan de acuerdo con su capacidad de hinchamiento debida a su “ganancia de agua”. Esto representa la cantidad de agua embebida en los geles al hincharse. Los números de los geles Sephadex indican los valores de ganancia de agua. Así, el Sephadex G-10 tiene un valor de ganancia de agua aproximado de 1 mL/g de gel seco, y el valor para Sephadex G-200 es alrededor de 20 mL/g. En la tabla 21.1 se ven varios tipos de gel Sephadex, y los tamaños moleculares que fraccionan. Estos geles son insolubles en agua y son estables frente a agentes redox moderados, y también frente a bases y ácidos débiles.

Bio-Gel es una serie de geles para cribado molecular con mayor inercia química formados por poliacrilaminas. Son insolubles en agua y en disolventes orgánicos comunes, y se pueden usar en un intervalo de pH de 2 a 11. Con el gel inerte disminuye la posibilidad de adsorber sustancias polares; la adsorción tal vez sea una de las variables con Sephadex, ya que puede causar cambios en el comportamiento cromatográfico de estas sustancias. En la tabla 21.1 se presentan diferentes preparaciones de Bio-Gel y sus propiedades de separación.

El **Styragel** es un gel de poliestireno adecuado para separaciones puramente no acuosas en cloruro de metileno, tolueno, triclorobenceno, tetrahidrofurano, cresol, dimetilsulfóxido, etc. No se puede usar con agua, acetona o alcoholes. Sus geles se pueden preparar con límites de exclusión para pesos moleculares de 1 600 a 40 millones.

Las mallas moleculares son adecuadas para desalinizar proteínas que se fraccionaron parcialmente por efecto de un lavado con alta concentración de alguna sal. Un gel con bajo límite de exclusión, como el Sephadex 25, permite que las proteínas pasen por la columna mientras que las sales quedan retenidas. La dilución de la proteína se limita al volumen de elución de la columna (el volumen externo del gel hinchado que llena la columna).

En aplicaciones analíticas de alta eficiencia se usan pequeñas partículas de poliestireno o de sílice microporosa, de 5 a 10 μm de diámetro, con tamaño de poro desde unos pocos hasta varios cientos de nanómetros. Las partículas de sílice de poro controlado se recubren con una fase hidrofílica para reducir la adsorción de soluto. Las partículas poliméricas pueden usarse en un intervalo más amplio de pH (de 2 a 12), dado que la sílice se encuentra limitada a pH de 2 a 7.

21.3 Cromatografía de intercambio iónico

Los cationes y aniones se separan mediante cromatografía de intercambio iónico.

Aunque casi todos los demás tipos de cromatografía se usan principalmente para separar sustancias orgánicas complejas, la cromatografía de intercambio iónico se ubica en particular para separar iones inorgánicos, tanto cationes como aniones, porque esta separación se basa en el intercambio de iones en la fase estacionaria. También ha demostrado ser en extremo útil para separar aminoácidos.

En la cromatografía de intercambio iónico, la fase estacionaria está formada por perlas de un polímero de poliestireno entrecruzado con divinilbenceno. Este polímero (resina) tiene grupos fenilo libres unidos a la cadena que se pueden tratar con facilidad para agregarles grupos funcionales. Básicamente hay cuatro tipos de resinas de intercambio iónico que se usan en química analítica, y se presentan en la tabla 21.2. Como la cromatografía por exclusión de tamaño, la de intercambio iónico se usa en columnas empacadas de tubo abierto y alimentadas por gravedad, o en un modo de alta eficiencia conocido como *cromatografía iónica* (que se describe adelante).

RESINAS INTERCAMBIADORAS DE CATIONES

Esas resinas contienen grupos funcionales ácidos unidos al anillo aromático de la resina. Los intercambiadores de cationes ácidos fuertes tienen grupos sulfónico, $-\text{SO}_3\text{H}$, que son

Tabla 21.2

Tipos de resinas intercambiadoras de iones

<i>Tipo de intercambiador</i>	<i>Grupo funcional intercambiador</i>	<i>Nombre comercial</i>
<i>Catiónico</i>		
Ácido fuerte	Ácido sulfónico	Dowex ^a 50; Amberlite ^b IR120; Ionac ^c CGC-240; Rexyn ^d 101; Permutit ^e Q
Ácido débil	Ácido carboxílico	Amberlite IRC 50; Ionac CGC-270; Rexyn 102; Permutit H-70
<i>Aniónico</i>		
Base fuerte	Ion amonio cuaternario	Dowex 1; Amberlite IRA 400; Ionac AGA-542; Rexyn 201; Permutit S-1
Base débil	Grupo amino	Dowex 3; Amberlite IR 45; Ionac AGA-316; Rexyn 203; Permutit W

^a Dow Chemical Company.

^b Mallinckrodt Chemical Works.

^c J. T. Baker Chemical Company.

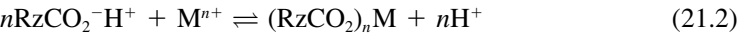
^d Fisher Scientific Company.

^e Matheson Coleman & Bell.

ácidos fuertes semejantes al ácido sulfúrico. Los intercambiadores para cationes con ácidos débiles tienen grupos carboxilo, —CO₂H, los cuales están sólo parcialmente ionizados. En estos grupos, los protones se pueden intercambiar con otros cationes:



y



donde Rz representa la resina. El equilibrio se puede desplazar hacia izquierda o derecha aumentando [H⁺] o [Mⁿ⁺], o disminuyendo alguno de ellos respecto de la cantidad de resina presente.

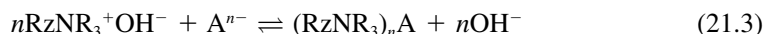
En general, las resinas intercambiadoras de cationes se suministran en la forma de ion hidrógeno, pero fácilmente se pueden convertir al ion sodio tratándolas con una sal de sodio. Después, los iones sodio se intercambian con otros cationes. La **capacidad de intercambio** de una resina es la cantidad total de equivalentes de hidrógeno sustituible por unidad de volumen o por unidad de peso de resina, y está determinada por la cantidad y fuerza de los grupos iónicos fijos en la resina. La capacidad de intercambio iónico afecta la retención de soluto, y con mucha frecuencia se usan los intercambiadores de alta capacidad para separar mezclas complejas, donde una mayor retención mejora la resolución.

Las resinas ácidas débiles intercambiadoras de iones tienen intervalos de pH más restringidos, de 5 a 14, en tanto que las ácidas fuertes se pueden usar a pH de 1 a 14. A bajos valores de pH los intercambiadores ácidos débiles se “unen” a los protones con demasiada fuerza como para que pueda haber intercambio. Asimismo, los intercambiadores ácidos débiles no remueven por completo los cationes de bases muy débiles, en tanto que las resinas ácidas fuertes sí. Esto es análogo a la naturaleza inconclusa de una reacción entre un ácido débil y una base débil. En general, las resinas ácidas débiles se usan para separar sustancias iónicas fuertemente básicas o multifuncionales, como proteínas o péptidos que con frecuencia son retenidos con firmeza en los intercambiadores ácidos fuertes, aunque en general se prefieren las resinas ácidas fuertes, en especial para mezclas complejas.

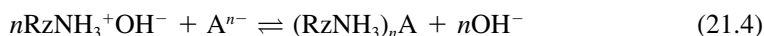
Las resinas ácidas fuertes se usan en la mayor parte de las separaciones. Las ácidas débiles se prefieren para proteínas y péptidos que quedan fuertemente retenidos por las resinas ácidas fuertes.

RESINAS INTERCAMBIADORAS DE ANIONES

Las resinas de intercambio aniónico contienen anión hidroxilo, que puede intercambiarse con otros aniones. Hay grupos básicos fuertes (grupos de amonio cuaternario) y grupos básicos débiles (grupos de amonio simples). Las reacciones de intercambio son las siguientes:



y



donde R representa un grupo orgánico, normalmente metilo.

Las resinas básicas fuertes son las que se aplican en general. Las básicas débiles se usan para separar ácidos fuertes.

Los intercambiadores básicos fuertes se pueden usar con un pH de 0 a 12, pero los de base débil sólo entre 0 y 9. Estos últimos intercambiadores, como los sulfonatos, no eliminan ácidos muy débiles, pero se prefieren para ácidos fuertes que pueden quedar retenidos en las resinas básicas fuertes.

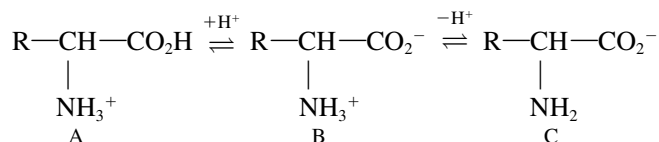
ENTRECruzAMIENTO

Cuanto mayor sea el entrecruzamiento en una resina, mayor será la diferencia de selectividades. Los fabricantes expresan el entrecruzamiento en forma de porcentaje de divinilbenceno. En general, el entrecruzamiento también aumenta la rigidez de la resina, reduce su hinchamiento, su porosidad y su solubilidad. Los materiales de porosidad media por lo regular son adecuados para especies iónicas de bajo peso molecular, y los materiales de alta porosidad, para especies iónicas de alto peso molecular. El entrecruzamiento de uso general es de 8 a 10% (de divinilbenceno).

EFFECTO DEL pH: SEPARACIÓN DE AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos pueden tener carga positiva o negativa o ser neutros (en su punto isoelectrico). Estas tres formas se pueden separar con una combinación de resinas intercambiadoras de cationes y de aniones.

Las formas iónicas de muchas sustancias son influidas por el pH de la solución efluente. La hidrólisis de los iones metálicos y de las sales de los ácidos y bases débiles se controla ajustando el pH. Los ácidos débiles no se disocian a altas concentraciones de ácido ni se intercambian; lo mismo sucede con bases débiles en altas concentraciones alcalinas. El control del pH tiene especial importancia en la separación de aminoácidos, que son **anfóteros** (pueden funcionar como ácidos o como bases). Hay tres formas posibles:



La forma B se llama **zwitterión**, y es la dominante al pH que corresponde al **punto isoelectrico** del aminoácido. El punto isoelectrico es el pH al cual la carga neta de la molécula es cero. En soluciones más ácidas a este punto, el grupo —CO_2^- se protona y forma un catión (la forma A), en tanto que en soluciones más alcalinas, el grupo —NH_3^+ pierde un protón y forma un anión (la forma C). El punto isoelectrico varía de un aminoácido a otro, dependiendo de la acidez y basicidad relativas de los grupos carboxilo y amino. Gracias a esto son posibles las separaciones de grupos basadas en el punto isoelectrico mediante control del pH.

A un pH dado, los aminoácidos se pueden separar en tres grupos, pasándolos sucesivamente a través de una columna de intercambio aniónico y una de intercambio catiónico. Los zwitteriones sin carga (en su punto isoelectrico) pasarán por ambas columnas, en tanto

que los aminoácidos con carga positiva y negativa quedarán retenidos en una de las columnas. Esos grupos se pueden seguir subdividiendo al cambiar el pH.

Moore y Stein [*J. Biol. Chem.*, **192** (1951) 663] pudieron separar exitosamente hasta 50 aminoácidos y compuestos afines en una sola columna de intercambio catiónico con Dowex 50, usando una combinación de control de pH y de temperatura (la temperatura afecta los equilibrios que se producen).

Los **analizadores automáticos de aminoácidos** basados en separaciones por intercambio iónico se encuentran disponibles en el comercio. La elución de cada aminoácido queda registrada automáticamente al medir el color que forma el aminoácido con la ninhidrina durante la elución. Al operar a presiones de varios cientos de psi son capaces de hacer separaciones en unos 200 min. Han demostrado su valor en bioquímica como auxiliares en la elucidación de la estructura de las proteínas. Los fragmentos de proteína se degradan hasta aminoácidos, que entonces deben determinarse.

EFFECTO DE LOS AGENTES COMPLEJANTES: SEPARACIÓN DE IONES METÁLICOS EN COLUMNAS DE INTERCAMBIO ANIÓNICO

Muchos metales se pueden separar en columnas de intercambio aniónico al convertirlos en aniones por complejamiento. El agente complejante es un anión, como cloruro, bromuro o fluoruro. Los agentes complejantes sin carga también afectan el equilibrio si forman un complejo que deba disociarse antes de que el metal se intercambie o si cambian de tamaño. Muchos agentes complejantes son ácidos o bases débiles, o son sales de ellos, por lo que con frecuencia se produce una interdependencia complicada entre el pH y el complejamiento.

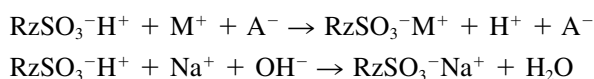
Algunas de las mejores separaciones de metales se han logrado en columnas de intercambio aniónico. Se agrega un ácido complejante en alta concentración para formar complejos aniónicos con los metales. El ácido clorhídrico concentrado forma complejos clorados con todos los metales comunes, a excepción de los alcalinos, alcalinotérreos, Al(III), Ni(II) y Cr(III), por lo que todos éstos se pueden adsorber en una columna de intercambio aniónico de amonio cuaternario.

Los complejos clorados de iones metálicos negativamente cargados en solución de HCl son retenidos por las resinas de intercambio aniónico. Se disocian y se eluyen diluyendo el ácido.

21.4 Cromatografía iónica

La aplicación de las técnicas de HPLC a la cromatografía de intercambio iónico se llama **cromatografía iónica**. En esta técnica se combinan el poder separador del intercambio iónico con la universalidad del detector de conductividad. En la cromatografía ordinaria de intercambio iónico, el uso del detector de conductividad se encuentra limitado por la alta conductancia de fondo del eluyente (milimhos). En 1970, William Bauman, de la Dow Chemical Company, sugirió una forma de eliminar el eluyente de fondo con una segunda columna de intercambio iónico permitiendo así la detección de los iones del analito con un detector muy sensible (micromhos). Esta segunda columna se llama **columna supresora**. Para analizar aniones, ésta es una columna de intercambio catiónico, en la forma ácida, y para el análisis de cationes, ésta es una columna de intercambio aniónico en su forma básica. En la cromatografía iónica se usan resinas intercambiadoras débiles, aunque también se usan las fuertes. En la figura 21.15 se muestran los principios de funcionamiento.

Supóngase que se separa la sal MA de un anión A⁻ en una resina intercambiadora de aniones y se eluye con NaOH. Al eluir de la columna se producirá una mezcla de MA y NaOH. Al pasarla por la columna supresora intercambiadora de cationes, se efectuarán las reacciones siguientes:



La cromatografía iónica es la forma de alto rendimiento para la cromatografía de intercambio iónico.

La columna supresora remueve los iones del eluyente e intercambia los iones del analito por H⁺ (cationes) u OH⁻ (aniones), por lo se puede usar un detector de conductividad de alta sensibilidad.

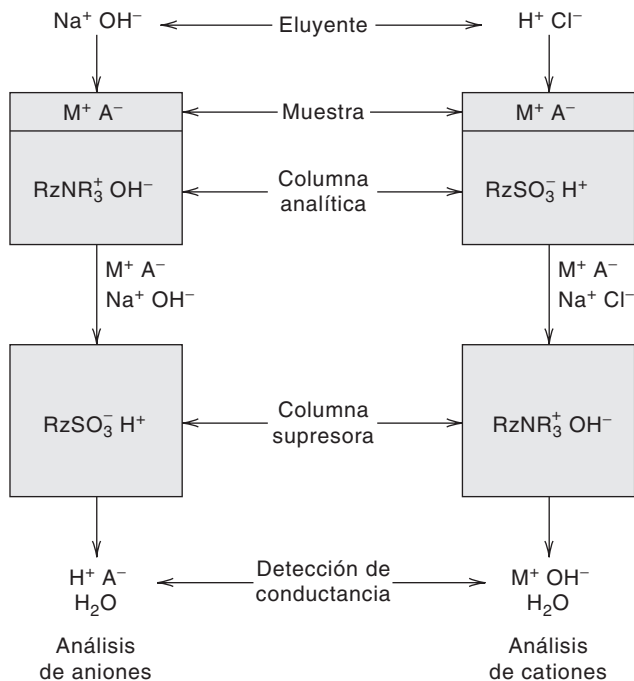
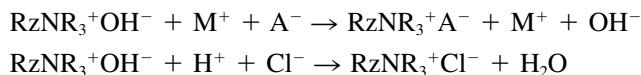


Figura 21.15. Principios de la cromatografía iónica.

Así el NaOH se convierte en H_2O y el ion analito se convierte al ácido HA correspondiente. El ácido HA se detecta en el detector de conductividad. Para analitos catiónicos, una mezcla de MA y HCl emerge de la primera columna (analítica). Éstos reaccionan en la columna de intercambio aniónico supresora, como sigue:



Se debe regenerar periódicamente la columna supresora.

El HCl se convierte en H_2O y el catión analito se convierte en la base MOH correspondiente, que se mide en el detector de conductividad.

Es obvio que la columna supresora terminará agotada y deberá regenerarse (con HCl para el intercambiador de cationes, y con NaOH para el de aniones). La columna supresora suele ser un lecho de poco volumen de una resina de alta capacidad para minimizar la extensión en la columna. Como suelen separarse microgramos o cantidades menores de analitos, se usa una columna analítica de baja capacidad acoplada con una concentración relativamente baja de eluyente (de 1 a 10 mM).

La cromatografía iónica es particularmente útil para determinar aniones. Un eluyente típico es una mezcla de NaHCO_3 y Na_2CO_3 , que se convierten en ácido carbónico de baja conductividad. Los aniones como F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , SCN^- , IO_3^- y ClO_4^- , así como los ácidos orgánicos y sus sales, se determinan con facilidad en cuestión de minutos hasta concentraciones de partes por millón o menos.

Si las soluciones son muy diluidas para analizarlas directamente, los analitos se pueden concentrar primero en una columna concentradora de intercambio iónico. De esta manera se pueden medir concentraciones de pocas partes por millón.

Con el advenimiento de los detectores de conductividad de alta eficiencia y con un intervalo dinámico amplio y la supresión electrónica de la conductancia de fondo se ha podido desarrollar la cromatografía iónica sin columna supresora. Se combina una columna analítica de baja capacidad con un eluyente de baja concentración, típicamente una solución amortiguadora de ftalato, para mediciones de aniones. La ventaja de evitar una columna supresora es que se elimina el ensanchamiento de banda, y los aniones de ácidos débiles como cianuros y boratos se detectan con más facilidad debido a que sólo se ionizan débilmente tanto en solución neutra como ácida.

Con la supresión electrónica de la conductancia de fondo se evita usar columnas supresoras.

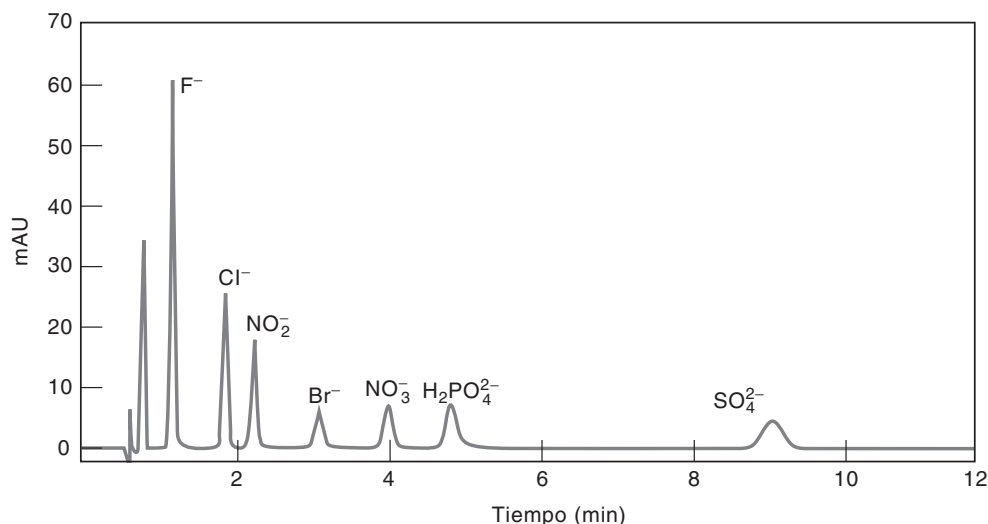


Figura 21.16. Separación de aniones por cromatografía iónica. (Cortesía de Hewlett-Packard Company.)

Las partículas intercambiadoras de iones para cromatografía de iones son partículas de resina con superficies funcionalizadas o partículas de sílice no porosa recubiertas con una película intercambiadora de iones, o con pequeñas partículas intercambiadoras de iones (véase figura 21.4). Entre las resinas están los copolímeros funcionalizados de poliestireno y divinilbenceno, y de polimetacrilato.

La figura 21.16 muestra un análisis de aniones por cromatografía de iones. Estos análisis serían difíciles con otros métodos. La cromatografía iónica es la base del análisis automático de aminoácidos.

Con frecuencia se da tratamiento previo a las muestras pasándolas por una pequeña precolumna de intercambio iónico. Con esto se concentran los iones que interesan, y se deja pasar el material de la matriz de la muestra. Entonces se eluyen los iones hacia la columna analítica. Se puede usar el mismo eluyente que se usa para la separación, para eluir la columna concentradora, siempre que la capacidad de la columna concentradora sea menor que 40% de la columna analítica. Al concentrar los iones de una muestra de 20 mL se pueden medir concentraciones de unas cuantas partes por mil millones. Véase C. A. Lucy, *LC-GC*, **14**(5) (1996) 406, para unos buenos comentarios acerca de los aspectos prácticos de la separación cromatográfica de iones.

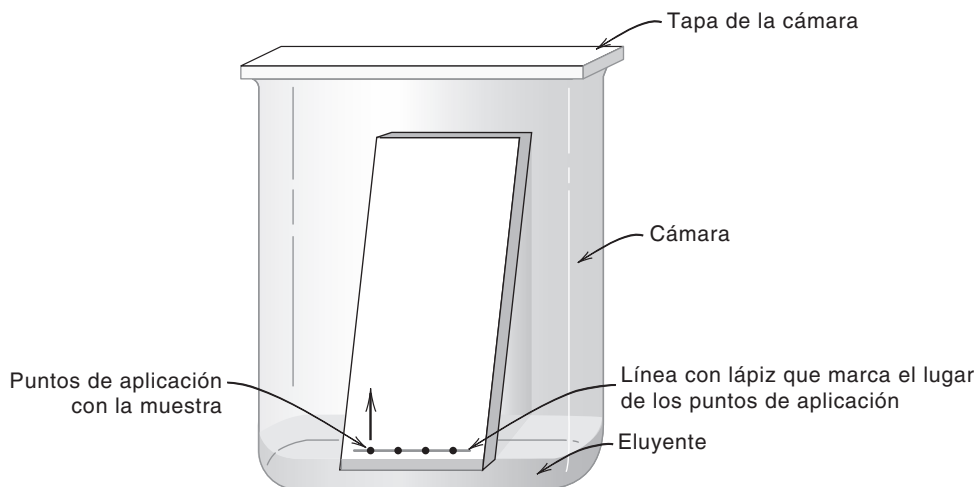
21.5 Cromatografía de capa delgada*

La cromatografía de capa delgada (TLC, thin-layer chromatography) es una forma plana de cromatografía que se aplica en el cribado a gran escala para análisis cualitativo, aunque también se puede usar en análisis cuantitativos. La fase estacionaria es una capa delgada de adsorbente finamente dividido soportado sobre una placa de vidrio o de aluminio, o sobre una banda de plástico. Cualquiera de los sólidos que se usan en cromatografía de líquidos en columna se puede usar aquí, siempre que se pueda encontrar un aglutinante adecuado para tener una buena adherencia a la placa.

Se deposita una muestra sobre la placa con una micropipeta y el cromatograma se “corre” colocando el lado inferior de la placa o cinta (pero no la mancha con la muestra, o *el punto de aplicación*) en un disolvente adecuado (véase la figura 21.17). El disolvente asciende por la placa por acción capilar y los componentes de la muestra suben por la

*N. del R. T. Todavía hasta hace pocos años a esta técnica se le denominaba cromatografía en capa *fin*a. Este término no debe usarse más.

Figura 21.17. Disposición para la cromatografía de capa delgada.



placa a diferentes velocidades que dependen de su solubilidad y de su grado de retención por la fase estacionaria. Después del desarrollo, las manchas individuales de soluto se ven o se hacen visibles tratándolas con un reactivo que forme un derivado colorido. En general, las manchas se mueven a cierta fracción de la velocidad con la que se mueve el disolvente y se caracterizan por su **valor de R_f** :

$$R_f = \frac{\text{distancia que recorre el soluto}}{\text{distancia que recorre el frente del disolvente}} \quad (21.5)$$

donde las distancias se miden desde el centro donde se depositó la muestra, en el lado inferior de la placa. El frente de disolvente será una línea que cruza la placa. La distancia que recorre el soluto se mide desde el centro de la mancha del soluto, o a su densidad máxima si se presenta corrimiento. Debido a pequeñas variaciones en las placas, siempre se aconseja determinar el valor del R_f en cada juego de placas.

DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

En la figura 21.17 se ve un ejemplo de dispositivo para cromatografía de capa delgada. Se traza una raya delgada con un lápiz que cruce la placa algunos centímetros arriba del fondo y sobre ella se practican los puntos de aplicación (las *manchas*) para referencia futura en mediciones del R_f . La mancha debe ser tan pequeña como sea posible para tener una separación máxima y un mínimo de arrastre (o prolongación excesiva). Lo mejor es hacerlo gota a gota, teniendo una pistola de aire caliente (por ejemplo, una secadora de cabello) para evaporar el disolvente después de cada gota. La placa se coloca en una cámara con su lado inferior sumergido en el disolvente de desarrollo. Se debe usar una cámara cerrada (a presión) para saturar la atmósfera con el disolvente y evitar que éste se evapore de la placa al ir subiendo. El desarrollo puede durar 10 min a 1 h, pero no requiere tiempo de operador. La cantidad de desarrollo dependerá de la complejidad de la mezcla de solutos que se esté separando. Si se usa una placa ancha, se pueden depositar varias muestras y patrones a lo largo del lado inferior para desarrollarlas al mismo tiempo.

Se pueden lograr tiempos de desarrollo de 5 min usando pequeños portaobjetos como placas de TLC, y se pueden hacer separaciones preliminares con ellas para determinar cómodamente las condiciones óptimas de desarrollo. Lo normal es que los tamaños de muestra vayan de 10 a 100 μg por punto de aplicación (por ejemplo, 1 a 10 μL de una solución al 1%). Los puntos de aplicación de la muestra deben tener 2 a 5 mm de diámetro.

Una de las principales ventajas de esta técnica es que puede lograrse mayor poder de separación usando la **cromatografía bidimensional de capa delgada**; para ello se usa una placa grande y cuadrada, y la muestra se deposita en una de sus esquinas inferiores. Después del desarrollo con determinado sistema de disolventes, la placa se gira 90° y se sigue desarrollando con un segundo sistema de disolventes. Entonces, si no se resuelven dos o más solutos por completo con el primer disolvente, será posible resolverlos con un segundo disolvente. Con frecuencia es importante hacer un buen control del pH para lograr separaciones eficientes.

DETECCIÓN DE LAS MANCHAS

Si los solutos fluorescen (compuestos aromáticos), se pueden detectar iluminando la placa con una lámpara de luz ultravioleta. Se traza una línea con lápiz, rodeando las manchas, para tener su identificación permanente. Con frecuencia se usan reactivos que desarrollen color. Por ejemplo, los aminoácidos y las aminas se detectan rociando la placa con una solución de ninhidrina, que forma un color azul o púrpura. Después de identificar las manchas, se pueden raspar y se lavan (eluyen) los solutos, para identificar cuantitativamente con un micrométodo.

Con frecuencia se pueden visualizar manchas incoloras o no fluorescentes exponiendo la placa desarrollada a vapores de yodo. Estos vapores interactúan con los componentes de la muestra, químicamente o por su solubilidad, y producen colores. Existen en el mercado placas y hojas para cromatografía de capa delgada que tienen incorporado un colorante fluorescente en el adsorbente en polvo. Cuando se iluminan con luz ultravioleta aparecen manchas oscuras donde hay manchas de muestra debidas a la reducción de la fluorescencia en la placa.

Una técnica frecuente para compuestos orgánicos es rociar la placa con una solución de ácido sulfúrico, para calentarla después hasta quemarla y desarrollar manchas negras. Sin embargo, con ello se descartan los análisis cuantitativos que podrían hacerse raspando la placa y eluyendo los compuestos para medirlos.*

FASES ESTACIONARIAS PARA CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA

La fase estacionaria es un polvo finamente dividido (tamaño de partícula de 10 a 50 μm). Puede ser un adsorbente, un intercambiador de iones o una malla molecular, o puede funcionar como soporte de una película de líquido. Se prepara una suspensión acuosa del polvo, por lo general con un aglomerante, como yeso o alcohol polivinílico, para ayudar a que se adhiera al material de soporte. La suspensión se extiende sobre la placa en forma de una película delgada, normalmente de 0.1 a 0.3 mm, usando un repartidor adaptador para asegurar que el espesor sea uniforme. Hay adaptadores en el comercio. El disolvente se evapora y los adsorbentes se activan colocándolos en una estufa a 110°C durante varias horas. También se consiguen placas y tiras ya preparadas.

Las fases estacionarias que se usan con más frecuencia son **adsorbentes**. Las más populares son el gel de sílice, la alúmina y la celulosa pulverizada. Las partículas de gel de sílice contienen grupos hidroxilo en su superficie que forman puentes de hidrógeno con moléculas polares. El agua adsorbida evita que otras moléculas polares lleguen a la superficie, por lo que el gel se activa por medio de calentamiento para eliminar el agua adsorbida. También la alúmina contiene grupos hidroxilo o átomos de oxígeno. Se prefiere la alúmina para separar compuestos débilmente polares, pero el gel de sílice es preferido para compuestos polares, como aminoácidos y azúcares. Se pueden usar como adsorbentes silicato de magnesio, silicato de calcio y carbón activado. A veces no se activan los adsorbentes por calentamiento, en cuyo caso el agua residual funciona como fase estacionaria.

Las **fases estacionarias líquidas** para capa delgada pueden ser preparadas para separación mediante cromatografía de partición líquido-líquido. La película, que normal-

En cromatografía de capa delgada se pueden usar las mismas fases estacionarias que en cromatografía en columna.

Los adsorbentes se están usando con más frecuencia.

*N. del R. T. Dos reveladores más muy utilizados para detectar la presencia de compuestos orgánicos, una solución de vainillina o de sulfato cérico (Ce^{4+}) en ácido sulfúrico.

mente es agua, está soportada sobre materiales como gel de sílice o tierra de diatomeas, como en la cromatografía de columna. Se pueden silanizar el gel de sílice o la tierra de diatomeas para convertir las superficies a grupos metilo no polares y correr la cromatografía como de fase inversa en capa delgada.

Las **resinas de intercambio iónico** se consiguen en tamaños de partícula de 40 a 80 μm , adecuadas para preparar placas de capa delgada. Como ejemplos están la resina intercambiadora de cationes Dowex 50 W, fuertemente ácida, y la intercambiadora de aniones Dowex 1, fuertemente básica, por lo general en sus formas sodio o hidrógeno, o cloruro, respectivamente. Una suspensión acuosa de seis partes de resina por una parte de polvo de celulosa es adecuada para extenderla y formar una capa de 0.2 a 0.3 mm.

Las capas delgadas para **exclusión de tamaño** se pueden preparar con Sephadex Superfine. El gel se remoja en agua durante unos tres días para completar el hinchamiento, y luego se extiende sobre la placa. Las placas no se secan, sino que se guardan húmedas. La acción capilar a través de estas mallas moleculares es mucho más lenta que en la mayor parte de las demás capas delgadas, normalmente de sólo 1 a 2 cm/h, por lo que su desarrollo tarda 8 a 10 h, en comparación con los 30 minutos para otras fases estacionarias.

FASES MÓVILES PARA CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA

Se aplican los mismos lineamientos que en la cromatografía de columna.

En la cromatografía de adsorción, el poder eluyente de los disolventes aumenta al incrementar su polaridad (por ejemplo, de hexano a acetona a alcohol a agua). Siempre que sea posible, debe usarse un solo disolvente, o dos o tres cuando mucho, porque los disolventes mezclados tienden a cromatografiarse al subir por la capa delgada y causan un cambio continuo en la composición del disolvente en función de la distancia en la placa. Eso puede causar valores variables de R_f , dependiendo de hasta dónde se permita subir a las manchas.

Los disolventes deben ser de gran pureza. La presencia de pequeñas cantidades de agua u otras impurezas puede causar cromatogramas irreproducibles.

MEDICIONES CUANTITATIVAS

Se ha combinado el gran poder de resolución de la cromatografía bidimensional de capa delgada con mediciones cuantitativas midiendo ópticamente la densidad de las manchas cromatográficas. Se lleva a cabo al medir la transmitancia de la luz que atraviesa la placa cromatográfica o por reflectancia de la luz, que se atenúa por el color del analito; o bien se mide la intensidad de fluorescencia al iluminar con radiación ultravioleta. Se dispone en el comercio de funciones de registro completo del espectro y barrido de varias longitudes de onda (con series de diodos).

CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA DE ALTA EFICIENCIA (HPTLC)

En la cromatografía de capa delgada de alta eficiencia se usan partículas más finas para tener separaciones rápidas y eficientes usando muestras más pequeñas.

El poder de la cromatografía de capa delgada se ha ampliado considerando los principios de la cromatografía para mejorar la rapidez y eficiencia de la separación, y desarrollando instrumentación que automatice la aplicación de la muestra, el desarrollo del cromatograma y la detección, incluyendo cuantificación exacta y precisa *in situ*, como se describió antes. Cuando se usa una capa de partículas muy finas se obtienen separaciones más rápidas y eficientes. El tamaño de partícula tiene intervalos de distribución más angostos, con un tamaño promedio de 5 μm , en vez de 20 μm de promedio en la cromatografía convencional de capa delgada. Con aplicadores mecánicos se puede tener la operación reproducible, y reducir el diámetro inicial de los puntos de aplicación. Se usan muestras con menor volumen, la décima parte más o menos, y los tiempos de separación se reducen en un factor de 10. Además de las capas de gel de sílice ya aplicadas, se consigue en el comercio una variedad de fases químicamente enlazadas, parecidas a las que se usan en la cromatografía de líquidos de alta eficiencia en fase normal y en fase reversa.

Las partículas tan finas que se usan en la HPTLC (high-performance thin layer chromatography, cromatografía en capa delgada de alta eficiencia) hace más lento el movimiento de la fase móvil, después de una distancia relativamente corta. Para evitarlo, se ha empleado una técnica de “flujo forzado” usando una cámara de presión. La fase móvil se dosifica con ayuda de una bomba a velocidad constante a través de una rendija bajo una hoja de plástico que cubre la fase estacionaria. Para conocer los detalles, consultar los estudios de Kalász y colaboradores [*J. Chromatogr. Sci.*, **18** (1980) 324; *Chromatographia*, **18** (1984) 628].

La cromatografía moderna de capa delgada puede complementar la HPLC. Permite procesar muchas muestras en paralelo, con análisis de bajo costo de mezclas simples para las cuales es alta la carga de trabajo de muestras. Las placas de cromatografía de capa delgada funcionan como “detectores de almacenamiento” del analito si éstas se guardan.

21.6 Electroforesis

Con los métodos de electroforesis se separan las sustancias de acuerdo con sus relaciones de carga a masa usando el efecto de un campo eléctrico sobre las cargas de esas sustancias. Estos métodos se usan mucho para separar partículas coloidales cargadas o iones macromoleculares, como los de proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos. Hay varios tipos de electroforesis, y la **electroforesis de zona** es uno de los más comunes.

En la electroforesis de zona, las proteínas están suspendidas en un sólido, de manera que además de las fuerzas eléctricas de migración, las fuerzas cromatográficas convencionales pueden influir sobre la eficiencia de la separación. Hay varios tipos de electroforesis de zona, de acuerdo con los diferentes soportes. Entre los soportes comunes están los geles de almidón, geles de poliacrilamida, espuma de poliuretano y papel. La electroforesis en gel de almidón es una técnica difundida, aunque hoy ha sido sustituida en parte por el uso de los geles de poliacrilamida que minimizan los efectos de convección y difusión. Se prepara un bloque o “placa” de gel de almidón y la muestra se aplica en forma de una banda angosta (línea) que cruza el bloque, más o menos a la mitad entre sus lados. Cuando se hace pasar corriente por la celda, los diversos componentes de las mezclas se mueven con velocidades que dependen de sus cargas eléctricas, tamaños y formas. Al avanzar la electroforesis, los componentes con carga negativa migran hacia el ánodo, y los que tienen carga positiva migran hacia el cátodo. El resultado es una serie de bandas o líneas separadas debidas a los componentes de la muestra, que se visualizan como una mancha.

Se pueden resolver mezclas muy complejas con electroforesis de zona. Por ejemplo, la separación electroforética en gel de almidón de las proteínas plasmáticas muestra 18 componentes. Para medir la intensidad de las zonas coloreadas y con ella obtener información cuantitativa se puede usar un densitómetro. La electroforesis capilar en gel es una poderosa variante de este método (se describe más adelante).

La velocidad de migración de cada sustancia depende del voltaje aplicado y del pH de la solución amortiguadora empleada. El voltaje aplicado se expresa en voltios por centímetro. Es hasta de 500 V en electroforesis de bajo voltaje, y puede ser de varios miles de voltios en la electroforesis con alto voltaje. Esta última se usa para tener separaciones rápidas de sustancias de bajo peso molecular. Las macromoléculas tienen menores movilidads iónicas y son menos propensas a separaciones con alto voltaje.

La electroforesis de zona se usa principalmente en química clínica y en bioquímica para separar aminoácidos y proteínas. Estas sustancias contienen grupos amino y carboxilo, que pueden ionizarse o protonarse dependiendo del pH. A cierto pH, la carga neta de un aminoácido es cero, y existe en forma de **zwitterión** (véase el capítulo 8) que no tiene movilidad electroforética. Este pH es el **punto isoelectrico** del aminoácido.

En el capítulo 25 se describirá el uso de la electroforesis en gel para separar ácidos nucleicos en la secuenciación de ADN.

Las moléculas grandes, como las de proteínas, migran en un campo eléctrico de acuerdo con sus relaciones de carga a masa, y también interactúan de manera cromatográfica con el soporte.

La movilidad está afectada por el voltaje aplicado y por el pH (el cual influye en la carga del analito).

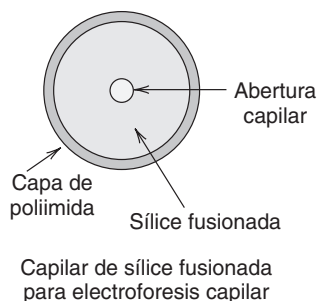
Las proteínas no migran al pH de su punto isoelectrico.

21.7 Electroforesis capilar

Un nuevo método de separación, capaz de apartar cantidades diminutas de sustancias en tiempos relativamente cortos con alta resolución es la **electroforesis capilar** (CE, capillary electrophoresis) o **electroforesis capilar de zona** (CZE, capillary zone electrophoresis). ¡Tiene capacidad de analizar un nanolitro (10^{-9} L) de muestra con más de un millón de platos teóricos y una sensibilidad de detección de los componentes inyectados en concentraciones de attomoles (10^{-18} mol) o menores!

El dispositivo básico en esta técnica se ilustra en la figura 21.18. En realidad, las necesidades de instrumentación son muy simples (excepto quizá por el detector), y el sistema es fácil de usar. El medio de separación es un tubo capilar de sílice fusionada (por ejemplo, de 25 a 75 μm d.i., 25 a 100 cm de longitud) que contiene un electrólito apropiado. Se introduce un pequeño volumen de la muestra por un extremo del capilar (véase adelante) y entonces cada extremo del capilar se introduce en una solución amortiguadora de electrólito (normalmente la misma que en el tubo capilar). Los electrodos de platino sumergidos en cada solución se conectan a una fuente de corriente directa (cd) de alto voltaje, capaz de hacer circular corrientes hasta de unos 250 μA y voltajes de 1 000 a 30 000 V.

Cerca de un extremo del capilar se instala un detector, por ejemplo un detector de absorbancia de UV, a través del cual pasa la solución. Se hace pasar un haz enfocado por el capilar y se puede recolectar con una fibra óptica acoplada a un tubo fotomultiplicador. Las cortas longitudes de trayectoria (de 10 a 100 μm) que se usan son un reto de la detección sensible. Pero los pequeños volúmenes de máximo, a menudo menores de 1 nL, producen límites de detección muy bajos, aun con detectores de sensibilidad moderada (es decir, el soluto se concentra en un volumen muy pequeño). ¡Con el uso de fuentes láser, en especial para detección de fluorescencia, los límites de detección han descendido a zeptomoles (10^{-21} mol)!* En la figura 21.19 se muestra un instrumento para electroforesis capilar.



¿CÓMO FUNCIONA LA ELECTROFORESIS CAPILAR? EL PODER DEL FLUJO ELECTROOSMÓTICO

La electroósmosis es el flujo masivo de disolvente (solución) a través de un campo eléctrico. Todos los analitos fluyen en la misma dirección; los positivos migran con mayor rapidez que los negativos.

El capilar es de sílice fusionada. La superficie de sus paredes internas contiene grupos silanol (SiOH) ionizables. El capilar se llena con una solución reguladora. A un pH mayor de 2, aproximadamente, los grupos silanol se ionizan y producen una carga negativa en la superficie del capilar, llamada **potencial zeta**. Este potencial atrae cationes de la solución amortiguadora, los cuales forman una doble capa eléctrica a lo largo de las paredes (figura 21.20). Cuando se aplica un alto voltaje de cd, las cargas positivas de la fase móvil en la capa externa doble difusa migran en dirección del cátodo. Como los iones están solvatados, el fluido

*N. del R. T. Esto equivale a detectar la presencia de unos cuantos cientos de moléculas.

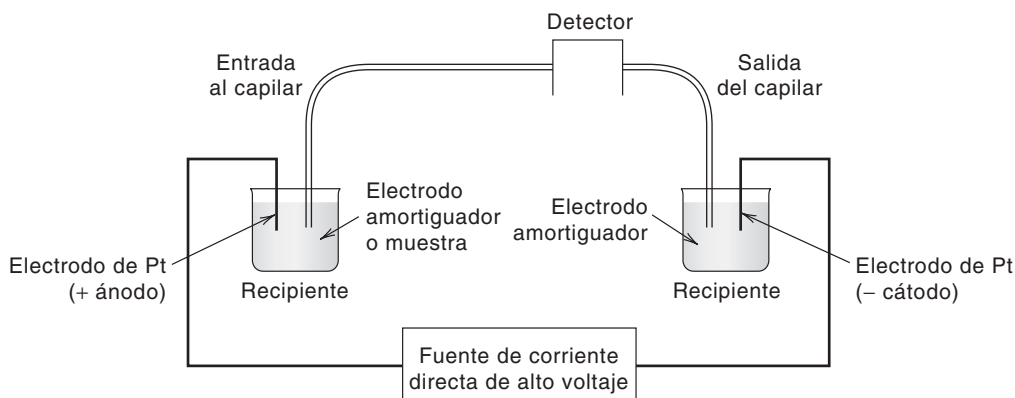


Figura 21.18. Sistema para electroforesis capilar.



Figura 21.19. Instrumento para electroforesis capilar. (Cortesía de Agilent Technology.)

amortiguador es arrastrado por la carga migrante y se forma un flujo de solución del disolvente masivo de hasta varios cientos de nanolitros por minuto (dependiendo del pH, de la concentración del amortiguador y de otros factores que afectan al potencial zeta). A esto se le llama **flujo electroosmótico** (EOF, electroosmotic flow). Mientras tanto, las moléculas del analito están sometidas a la **movilidad electroforética**, que consiste en que los cationes son atraídos hacia el ánodo, y los aniones hacia el cátodo. Pero el flujo de la solución hacia el cátodo da como resultado el flujo unidireccional de todos los analitos independientemente de su carga. Los iones pequeños con carga más positiva migran más rápido y serán los primeros que se detectan. Las moléculas neutras migran al mismo flujo que el de la electroósmosis, porque no se aceleran ni se retardan por el campo eléctrico y no se separan.

¿POR QUÉ LA ELECTROFORESIS CAPILAR TIENE TAN ALTO PODER DE RESOLUCIÓN? OTRA VEZ, LA MAGIA DEL FLUJO ELECTROOSMÓTICO

Se puede comprender la diferencia entre los sistemas de cromatografía a presión y los capilares operados con electroósmosis comparando los perfiles de flujo (véase figura 21.21). En el flujo impulsado por presión, el perfil de flujo es parabólico; el flujo en el centro va más o menos al doble de la velocidad promedio (**flujo laminar**). Esto causa ensanchamiento de las bandas, que es una razón de que los máximos en cromatografía de gases o de líqui-

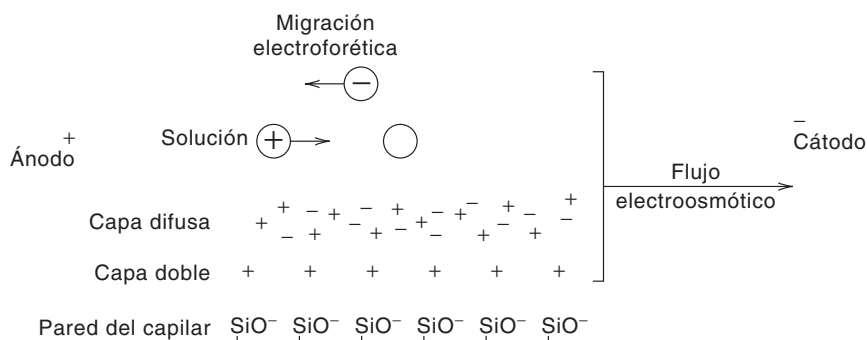
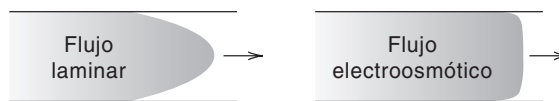


Figura 21.20. Distribución de cargas y flujo electroosmótico en un capilar de sílice fundida.

Figura 21.21. Perfiles de flujo impulsado por presión e impulsado por electroósmosis.



dos se ensanchen a medida que migran. Pero en la electroforesis capilar, el flujo electroosmótico se genera en toda la longitud del capilar y produce un flujo constante a lo largo del mismo (excepto en la región inmediata a la pared, donde la capa doble está fija). El resultado es que el perfil de flujo es como de un tapón y las moléculas del analito son arrastradas a la misma velocidad en el corte transversal del capilar, lo cual minimiza la dispersión de la muestra y genera máximos muy agudos.

En la electroforesis capilar no hay difusión por arremolinamiento ni efectos de transferencia de masa; sólo hay ensanchamiento por difusión molecular. La eficiencia de separación de la electroforesis capilar es 10 a 100 veces mayor que en HPLC.

En realidad, la electroforesis capilar no es un método cromatográfico.

No hay material de empaque ni fase estacionaria. Por tanto, no hay difusión por arremolinamiento (término *A*) ni equilibrios de transferencia de masa (término *C*); sólo hay difusión molecular (término *B*). Una clave de la alta eficiencia de separación en esta técnica es la gran relación de superficie a volumen del capilar, lo que permite un enfriamiento eficiente debido a la disipación de calor por las paredes del capilar. Eso minimiza el ensanchamiento de bandas por efectos térmicos causados por el calentamiento resistivo. De hecho, el calentamiento de Joule generado por la aplicación de alto voltaje es lo que limita la magnitud del voltaje en otras técnicas de electroforesis; de ahí la rapidez de las separaciones. En electroforesis capilar, la pared es gruesa y ayuda a disipar el calor.

Es probable que el lector haya notado que en realidad el mecanismo de la electroforesis capilar no contiene un mecanismo de distribución cromatográfica. En consecuencia, se puede aplicar tanto a moléculas grandes como a pequeñas; de ahí su valor para separar biomoléculas grandes. Con frecuencia se requiere una modificación química de la pared de sílice o la adición de detergentes al electrolito de fondo para eliminar adsorción de proteínas en la pared.

INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA EN ELECTROFORESIS CAPILAR

La muestra, típicamente unos cuantos nanolitros, se puede introducir en el capilar por **inyección hidrostática** (gravedad, presión o vacío) o por **electromigración**. El volumen de la muestra en general debe ocupar menos de 2% de la longitud total del capilar. En la introducción por gravedad, el extremo capilar para la muestra (que puede ser hasta de 5 μL) se sumerge en ella y se eleva durante un tiempo corto predeterminado para permitir que la muestra entre al capilar. También se inserta el capilar en un frasco a presión para forzar la entrada de la muestra al capilar; o bien se succiona desde el otro extremo. Después de la inyección, el frasco vial de la muestra se sustituye por una reserva de amortiguadores. En forma alternativa, el extremo de la muestra se puede sumergir en la solución de la muestra y se aplica un voltaje relativamente bajo durante algunos segundos; por ejemplo, 2 000 V durante 10 s. Con eso se inyecta por electroósmosis el pequeño volumen de muestra.

La reproducibilidad con inyección hidrostática es del orden de 1 a 2%. La ventaja de la inyección por electroósmosis es que se puede introducir más muestra, mejorando los límites de detección; la desventaja es que, por diferencias en movilidades iónicas, el tapón de muestra que entra al capilar no es representativo de la muestra.

Una forma de reducir el ancho de la zona de muestra en la inyección electroosmótica y mejorar la resolución, sensibilidad y representación, es disolviendo la muestra en una solución de menor fuerza iónica que la del electrolito de separación cuando se inyecta por vía electroosmótica. En este caso, la fuerza del campo es mayor en la zona de la muestra. Los iones de la muestra migran rápido hacia el regulador en el capilar hasta que encuentran el límite del electrolito y un menor campo eléctrico. Esta técnica se llama “apilamiento” y confina la zona de muestra dentro de una banda angosta, unas 10 veces menor. La muestra debe disolverse a una dilución de la décima parte del electrolito en el capilar, o en agua, en forma ideal.

DETECTORES EN ELECTROFORESIS CAPILAR

El detector se coloca en el extremo catódico del capilar, o cerca de éste, por donde pasa la solución. La pequeña longitud de trayectoria al atravesar el capilar convierte en un desafío la detección sensible. Pero los pequeños volúmenes de máximo, con frecuencia menores que 1 nL, permiten alcanzar límites de detección muy pequeños, hasta con detectores de sensibilidad moderada (porque el soluto está en un volumen muy pequeño).

El detector que se emplea con mayor frecuencia es el de absorbancia de UV. Se pasa un haz enfocado a través del capilar (donde se remueve una porción de la cubierta protectora) y se puede recolectar con una fibra óptica acoplada a un tubo fotomultiplicador. Para aumentar la longitud de trayectoria, el rayo de luz puede entrar al capilar formando un ángulo, a través de un agujero hecho en la vaina de un lado del capilar, para ser reflejado internamente por todo el capilar y salir por un agujero más adelante, por el otro lado. En la pared del capilar se puede depositar una cubierta reflejante.

En el capilar se puede insertar una celda de flujo. La figura 21.22 muestra un corte de una celda micro-Z comercial, donde la trayectoria de la luz pasa por el eje z horizontal para tener mayor longitud. Para analitos que fluorescen se usa detección de fluorescencia. El uso de fuentes de láser (fluorescencia inducida por láser) ha llevado los límites de detección a los zeptomoles (10^{-21} mol).

Entre otros detectores están los electroquímicos, sean conductométricos o amperométricos. También la detección por espectrometría de masas se ha difundido bastante usando una interfase del tipo de electroaspersión para introducir la muestra en un espectrómetro de masas cuadripolar, parecido al que se usa en HPLC. El intenso campo eléctrico en el extremo del capilar forma un aerosol de microgotas cargadas; el disolvente se evapora y deja iones gaseosos.



Figura 21.22. Corte transversal de una celda de flujo Z para electroforesis capilar. (Cortesía de Agilent Technology.)

LAS BASES: PROPIEDADES DE LAS SEPARACIONES POR ELECTROFORESIS CAPILAR

La eficiencia de la separación en la electroforesis capilar se puede caracterizar como se hizo para la cromatografía. El principal efecto dispersor en la electroforesis capilar es la difusión del soluto. La altura del plato, sin ensanchamiento externo (y con el calentamiento de Joule minimizado) es:

$$H = \frac{B}{\bar{u}} \quad (21.6)$$

Aquí $\bar{u}$ es virtualmente igual a u , porque el flujo es constante a través de la columna. La movilidad neta o aparente de un soluto, μ_{neta} , es la suma de la movilidad electroforética, μ_{ep} , y el flujo electroosmótico, μ_{es} :

$$\mu_{\text{neta}} = \mu_{\text{ep}} + \mu_{\text{es}} \quad (21.7)$$

La movilidad electroforética está dada por

$$\mu_{\text{ep}} = \frac{z}{6\pi\eta r} \quad (21.8)$$

donde z = número de cargas iónicas en el soluto
 η = viscosidad de la solución
 r = radio iónico

Será positiva para un catión, y negativa para un anión. El número de platos está determinado por tres factores:

$$N = \frac{\mu_{\text{neta}} V}{2D} \quad (21.9)$$

donde V es el voltaje aplicado y D es el coeficiente de difusión de la solución (cm^2/s). Entonces, el número de platos aumenta al incrementarse el voltaje. Las moléculas grandes, como las de las proteínas y los nucleótidos, tienen coeficientes de difusión muy pequeños, por lo que es posible obtener varios millones de platos para ellos. Nótese que, a diferencia de la cromatografía, el número de platos es independiente de la longitud de la columna. Sin embargo, con columnas más largas se pueden usar voltajes más altos, con lo que aumenta el número de platos.



Ejemplo 21.3

Para una columna capilar representativa, de 50 cm operada a 30 000 V, la movilidad neta para un tiempo de migración de 10 min suele ser de unos $2 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Calcular el número de platos para un ion pequeño, Li^+ ($D = 1.0 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) y para una proteína con peso molecular 100 000, con $D = 3 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

Solución

Para el Li^+ :

$$N = \frac{(2 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1})(30\,000 \text{ V})}{2(1.0 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1})} = 300\,000 \text{ platos}$$

Para la proteína:

$$N = \frac{(2 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1})(30\,000 \text{ V})}{2(3 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1})} = 10\,000\,000 \text{ platos}$$

El número de platos para la proteína es más de 30 veces mayor. En general, en la práctica no se puede llegar a esa cantidad de platos por otras causas de ensanchamiento de zona: la muestra inyectada tiene un ancho finito, hay algo de calentamiento en el capilar, el detector tiene cierto volumen muerto, etc. De manera sistemática se pueden alcanzar 100 000 platos o más, y en algunas ocasiones del orden de un millón.

La rapidez de migración, v , de un ion en un campo eléctrico es una función de la longitud L de la columna:

$$v = \mu_{\text{neta}} E = \mu_{\text{neta}} \frac{V}{L} \quad (21.10)$$

en la que E es la intensidad del campo eléctrico (V/cm). El tiempo de llegada al detector, t_D , es igual a la distancia, l_D , al detector dividida entre la velocidad:

$$t_D = \frac{l_D}{v} = \frac{l_D L}{\mu_{\text{neta}} V} \quad (21.11)$$

Si el detector está al final del capilar, entonces $t_D = L^2/(\mu_{\text{neta}} V)$. Entonces, para que las separaciones sean rápidas, se debe aplicar un alto voltaje a través de una columna corta. La velocidad de migración está influida por la temperatura, a través del término de viscosidad en la ecuación 21.8, y la solución reguladora es menos viscosa a mayores temperaturas.

Se puede determinar el flujo electroosmótico usando una molécula marcadora neutra, como de metanol, acetona o benceno, con el tiempo que tarda en llegar al detector y al campo eléctrico:

$$\mu_{\text{eo}} = \frac{1}{Et_D} \quad (21.12)$$

Entonces, a partir de la ecuación 21.7, se puede calcular la movilidad electroforética de un ion. El flujo electroosmótico está influido por el potencial zeta, que a su vez se determina principalmente por el pH.

El poder de separación y la sensibilidad de la electroforesis capilar se aprecian en la figura 21.23. Se separó una mezcla de 18 aminoácidos en 30 minutos, en cantidades que variaban de 2 a 7 attomoles. Los aminoácidos se combinaron con isotiocianato de fluoresceína para formar derivados fluorescentes, y se empleó un sistema fluorométrico de detección. Los límites de detección bajaron hasta 10^{-20} mol en 1 nL, que corresponde a 10^{-11} M ¡y a 6 000 moléculas!

SEPARACIÓN DE IONES PEQUEÑOS POR ELECTROFORESIS CAPILAR

La electroforesis capilar ha llegado a ser una alternativa atractiva de la cromatografía iónica y la espectrometría de absorción atómica para medir iones inorgánicos por su capacidad para varios iones, alta velocidad, alta resolución y sensibilidad, y por su costo relativamente bajo. Debido a que su movilidad electroforética es relativamente alta, los tiempos de análisis se pueden acortar para iones pequeños haciendo que se muevan de modo electroforé-

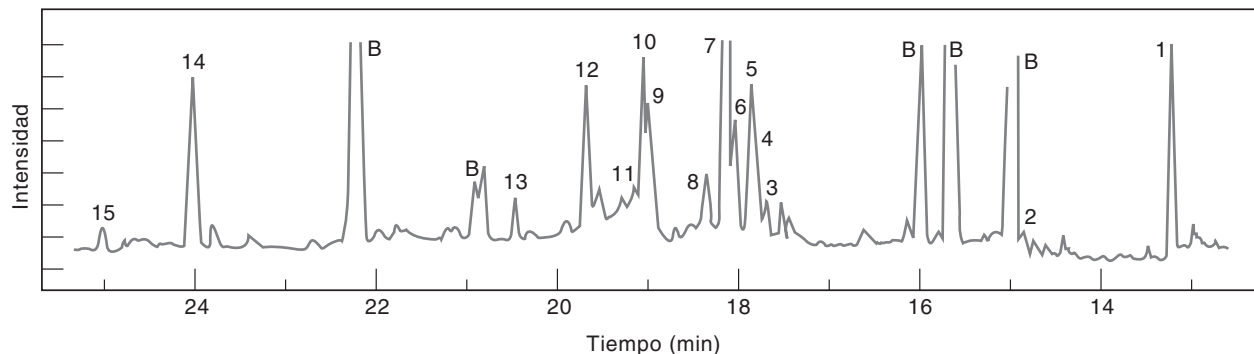
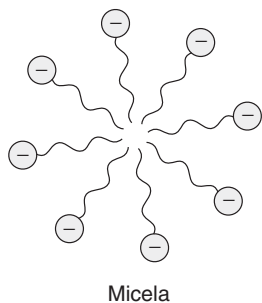


Figura 21.23. Separación de entre 2 y 7 attomoles de 18 aminoácidos por electroforesis capilar de zona. La separación se impulsa con un potencial de 25 kV y se usa una solución amortiguadora de pH 10. La inyección fue a 2 kV durante 10 s. Aminoácidos: máximo 1, Arg; 2, Lis; B son máximos relacionados con el banco del reactivo; 3, Leu; 4, Ile; 5, Trp; 6, Met; 7, Fen, Val, His y Pro; 8, Tre; 9, Ser; 10, Cis; 11, Ala; 12, Gli; 13, Tir; 14, Glu y 15, Asp. (Según N. J. Dovichi y Y. F. Cheng., *Am. Biotech. Lab.*, febrero, 1989, reproducción autorizada.)

tico en la misma dirección que la del flujo electroosmótico. Para los cationes no se necesita un cambio, porque se mueven en la misma dirección y tienen tiempos totales de migración muy rápidos. Pero por otro lado, un ion -1 pequeño tendría migración total más lenta que un ion -1 grande. La movilidad electroforética del ion -1 pequeño es alta, y eso hace que la velocidad total sea lenta porque su movilidad electroforética lo aleja del detector. Para los aniones, la pared del capilar se puede tratar con una sal de alquilamonio, R_4N^+ , por ejemplo, bromuro de cetiltrimetilamonio. Los iones R_4N^+ se fijan a los grupos silanol con carga negativa en la superficie, y a su vez crean una doble capa de aniones, lo cual invierte el flujo electroosmótico (hacia el ánodo). Naturalmente, el detector se coloca entonces en el extremo del ánodo. Otro método para los aniones es trabajar con un pH bajo, donde los grupos silanol no se ionizan, dominando entonces la migración electroforética de aniones hacia el ánodo.

SEPARACIÓN DE MOLÉCULAS NEUTRAS: MECC



Ya se mencionó que las moléculas neutras migran juntas en forma electroosmótica. Por esta razón no se separan en la clase de electroforesis capilar que se ha descrito, que se llama electroforesis capilar de zona (CZE, capillary zone electrophoresis). Si se agrega a la fase móvil un agente tensoactivo aniónico que forme micelas, como dodecilsulfato de sodio, entonces sí se podrán separar las moléculas neutras. Arriba de cierta concentración, llamada **concentración micelar crítica** (CMC), las moléculas del tensoactivo se autoagregarán formando micelas en las que las cadenas hidrofóbicas se dirigirán al interior dejando un núcleo no polar en el cual los solutos neutros se pueden separar. Los grupos hidrofílicos, con carga negativa, forman una coraza externa.

Los solutos neutros se separan entre las micelas y el amortiguador en forma parecida a lo que sucede en HPLC, y las diferentes moléculas reaccionarán de manera distinta. Como las micelas tienen carga negativa, su migración electroforética será hacia el ánodo aunque el flujo neto será hacia el cátodo debido al flujo electroosmótico, aunque a menor velocidad. Se debe recordar que las moléculas neutras se mueven a la velocidad electroosmótica. Cuando se equilibran con la micela, se vuelve más lento su movimiento. Cuanto más tiempo pasen dentro de las micelas, será mayor el tiempo de llegada al detector. A esta técnica se le llama **cromatografía electrocinética capilar micelar** (MECC, micellar electrokinetic capillary chromatography); es una forma de cromatografía donde las micelas funcionan como fase pseudoestacionaria. También se afecta el movimiento de los cationes

por las interacciones electrostáticas con las micelas cargadas. La MECC es adecuada para analizar compuestos neutros e insolubles en agua, como los esteroides.

ELECTROCROMATOGRAFÍA CAPILAR

Se pueden combinar las propiedades de la electroforesis capilar y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia para obtener una técnica híbrida que posea algunas de las mejores ventajas de cada una; esa técnica se llama **electrocromatografía capilar** (CEC), con la cual se separan moléculas neutras, como se hace en la HPLC. El capilar se llena con partículas de fase estacionaria para cromatografía de fase inversa, por ejemplo, partículas de sílice de 1.5 a 3 μm con C_{18} . No se desarrolla contrapresión en el bombeo electroosmótico, por lo que se pueden usar partículas muy finas. También se pueden usar columnas largas. Una fase móvil con disolvente polar es impulsada por el flujo electroosmótico, no por la presión. La solución amortiguadora acarreadora tiene, en general, 40 a 80% de disolvente orgánico, como acetonitrilo o metanol. La separación se basa en la distribución de los solutos entre la fase móvil y la fase estacionaria, como en HPLC. Pero el bombeo electroosmótico da como resultado un perfil plano tipo tapón y no uno parabólico, lo que produce bandas angostas y altas eficiencias de separación. Se pueden inyectar volúmenes muy pequeños de muestra. Es típico que con electrocromatografía capilar se obtenga más o menos el doble del número de platos que en HPLC para partículas del mismo diámetro y la misma longitud. La combinación de partículas menores y columnas más largas en la electrocromatografía capilar hace posible tener columnas con 100 000 a 500 000 platos, en comparación con 25 000 en HPLC.

Ésta sí es una técnica verdaderamente cromatográfica. Encuentra aplicación en las separaciones de biomoléculas. Si bien con la electroforesis capilar de zona se pueden lograr grandes números de platos para esas moléculas, en especial si son grandes, las diferencias de la relación carga a masa se vuelven menores, haciendo difícil la resolución por electroforesis capilar de zona, y la electrocromatografía capilar ofrece ventajas en la separación.

La resolución en la electrocromatografía capilar es aproximadamente el doble de la de HPLC, debido al flujo electroosmótico en tapón.

ELECTROFORESIS CAPILAR EN GEL

Se trata de una electroforesis capilar análoga a la electroforesis convencional de zona en gel para separar macromoléculas de acuerdo con su tamaño. El capilar se llena con un gel polimérico poroso, y se produce un cribado molecular cuando las moléculas se mueven a través del gel; es decir, la separación se basa tanto en la movilidad electroforética como en el tamaño molecular. Se alcanzan resoluciones muy altas. La tendencia es llenar el capilar con una matriz de gel líquido (soluciones de gel que se puedan bombear, como derivados de celulosa disueltos en la solución amortiguadora en la que se va a llevar a cabo la corrida). De este modo se puede sustituir el gel en el capilar para eliminar problemas de contaminación de la matriz de la muestra, lo cual se presenta en los geles fijos. Esta técnica se usa mucho para separar nucleótidos en la secuenciación del ácido desoxirribonucleico (ADN, capítulo 25).

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- HPLC, p. 604
 - Fases estacionarias, partículas, p. 606
 - Componentes de los instrumentos, p. 609
 - Desarrollo del método: selección de columna y disolvente, p. 613
 - Cromatografía de líquidos rápida, p. 616
 - Columnas delgadas, p. 616

- Líquidos-masas, p. 618
- Cromatografía de exclusión de tamaño, p. 620
- Cromatografía de intercambio iónico, catiónico y aniónico, p. 622
- Cromatografía de iones, columnas supresoras, p. 625
- Cromatografía en capa delgada, bidimensiones y de alto rendimiento, p. 627
- Electroforesis, p. 631
- Electroforesis capilar; flujo electroosmótico y movilidad electroforética, eficiencia (ecuaciones clave: 21.3, 21.6), pp. 632, 636
- Electro cromatografía capilar, p. 639
- Electroforesis capilar en gel, p. 639

Preguntas

1. Describir la diferencia entre cromatografía de líquidos de alta eficiencia y cromatografía de líquidos convencional.
2. Describir algunos detectores de uso común en cromatografía de líquidos, y sus principios de operación.
3. ¿En qué orden se eluirían los compuestos siguientes de una columna de alúmina, usando *n*-hexano como eluyente? $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$; CH_3CHO ; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$.
4. ¿Qué disolvente se escogería para separar un grupo de hidrocarburos, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{CH}_3$, en una columna de alúmina?
5. ¿Qué es la cromatografía de fase normal? ¿Y la cromatografía de fase inversa?
6. ¿Cuál es la forma más común de HPLC? ¿Por qué?
7. ¿Por qué se recubren las partículas de sílice en las partículas enlazadas de fase inversa?
8. ¿Cuáles son algunas de las fases no polares enlazadas de uso más frecuente en HPLC de fase inversa? ¿Cuáles son las fases polares enlazadas para cromatografía de fase normal?
9. Describir en forma breve las diferencias entre partículas microporosas, partículas perfusivas y partículas no porosas. ¿Cuáles son sus propiedades y usos exclusivos?
10. ¿Qué es un guardacolumna y para qué se usa?
11. ¿En qué consiste el método de selección de multidisolventes? ¿Cuáles son los dos factores que se optimizan en la selección de los disolventes?
12. ¿Por qué se usa un gradiente de elución de fase móvil en HPLC?
13. ¿En qué difiere la cromatografía de líquidos rápida de la técnica de HPLC convencional?
14. ¿Qué ventaja tienen las columnas de calibre angosto en HPLC?
15. ¿Cómo afecta la temperatura a las separaciones en HPLC?
16. ¿Cuáles son las interfases/ionizadores comunes en líquidos-masas?
17. Describir el principio de la cromatografía de exclusión de tamaño. ¿Qué es límite de exclusión?
18. ¿Qué es una criba o malla molecular?
19. Explicar la diferencia entre una resina de intercambio catiónico y una de intercambio aniónico.
20. Describir los factores que afectan la selectividad de las resinas de intercambio iónico.
21. Describir los principios de la cromatografía de iones.

22. ¿Qué es tiempo de retención? ¿Qué es el valor de R_f ?
23. ¿Cuáles son los valores máximo y mínimo de R_f ?
24. Describir la base de la separación con electroforesis.
25. Describir los principios de la electroforesis capilar. ¿Cuáles son sus ventajas?

Problemas

CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

26. De manera volumétrica se pueden detectar los iones alcalinos haciendo pasar una solución de ellos por una columna de intercambio de cationes en su forma hidrógeno. Éstos desplazan una cantidad equivalente de iones hidrógeno, que aparecen en el efluente y se pueden titular. ¿Cuántos milimoles de ion potasio hay en un litro de solución, si el efluente obtenido de 5 mL de alícuota pasados por una columna de intercambio catiónico requieren 26.7 mL de NaOH 0.0506 M para titularse?
27. El ion sodio, en 200 mL de una solución que contiene 10 g/L de NaCl por litro, se debe eliminar pasándolo por una columna de intercambio catiónico en su forma de hidrógeno. Si la capacidad de intercambio de la resina es 5.1 meq/g de resina seca, ¿cuál es el peso mínimo necesario de resina?
28. ¿Cuál será la composición del efluente cuando se pase una solución diluida de cada una de las siguientes sustancias a través de una columna de intercambio catiónico en su forma hidrógeno? a) NaCl; b) Na₂SO₄; c) HClO₄; d) FeSO₄; e) (NH₄)₂SO₄.

Referencias recomendadas

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICIENCIA

1. V. R. Meyer, *Practical High-Performance Chromatography*, 3a. ed., Nueva York: Wiley, 1999.
2. L. R. Snyder, J. J. Kirkland y J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1997.
3. A. Weston y P. F. Brown, *HPLC and CE: Principles and Practice*, San Diego: Academic, 1997.
4. U. D. Neue y M. Zoubair, *HPLC Columns: Theory, Technology, and Practice*, Nueva York: Wiley, 1997.
5. R. P. W. Scott, *Liquid Chromatography for the Analyst*, Nueva York: Dekker, 1994.
6. P. C. Sadek, *The HPLC Solvent Guide*, Nueva York: Wiley, 1996.
7. L. Huber y S. A. George, eds., *Diode-Array Detection in HPLC*, Nueva York: Dekker, 1993.
8. R. L. Cunico, K. M. Gooding y T. Wehr, *Basic HPLC and CE of Biomolecules*, Hercules, CA: Bay Analytical Laboratory, 1998.
9. W. M. A. Niessen, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1999.

CROMATOGRAFÍA POR EXCLUSIÓN DE TAMAÑO

10. *Sephadex-Gel Filtration in Theory and Practice*, Pharmacia Fine Chemicals, Upsalla, Suecia. Esta compañía también publica folletos anuales con referencias bibliográficas y sobre cromatografía por permeación en gel.

CROMATOGRAFÍA POR INTERCAMBIO IÓNICO Y DE IONES

11. J. Inczedy, *Analytical Applications of Ion Exchangers*, Oxford: Pergamon, 1996.
12. O. Samuelson, *Ion Exchange Separations in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1963.
13. J. S. Fritz y D. T. Gjerde, *Ion Chromatography*, 3a. ed., Nueva York: Wiley, 2000.
14. H. Small, *Ion Chromatography*, Nueva York: Plenum, 1989.
15. H. Small y B. Bowman, "Ion Chromatography: A Historical Perspective", *Am. Lab.*, octubre de 1998, 56C. El autor es pionero en cromatografía de iones.
16. P. K. Dasgupta, "Ion Chromatography. The state of art", *Anal. Chem.*, **64** (1992) 775A.

CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA

17. B. Fried y J. Sherma, *Thin-Layer Chromatography*, 4a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1999.
18. J. Sherma y B. Fried, eds., *Handbook of Thin-Layer Chromatography*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1996.

ELECTROFORESIS CAPILAR

19. G. Lunn, *Capillary Electrophoresis Methods for Pharmaceutical Analysis*, Nueva York: Wiley, 1999.
20. S. M. Palfrey, ed., *Clinical Applications of Capillary Electrophoresis*, Totowa, NJ: Humana, 1999.

ELECTROCROMATOGRAFÍA CAPILAR

21. I. S. Krull, R. L. Steveson, K. Mistry y E. Schwartz, *Capillary Electrochromatography and Pressurized Flow Capillary Electrochromatography: An introduction*, Nueva York: HNB, 2000.
22. A. L. Crego, A. Gonzalez y M. L. Marina, "Electrochromatography", *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **26** (1996) 261.
23. K. D. Altria, N. W. Smith y C. H. Turnbull, "A Review of the Current Status of Capillary Electrochromatography Technology and Applications", *Chromatographia*, **46** (1997) 664.
24. L. A. Colon, K. J. Reynolds, R. Aliceamaldonado y A. M. Fermier, "Advances in Capillary Electrochromatography", *Electrophoresis*, **18** (1997) 2162.
25. **Sitio Web:** www.ceandcec.com. Descripción muy básica de electroforesis capilar y de electrocromatografía capilar, pero tiene vínculos con muchos otros sitios Web útiles.

Capítulo veintidós

MÉTODOS CINÉTICOS DE ANÁLISIS



“Lo único permanente es el cambio.”

—Heráclito

En los capítulos 6 y 14 se mencionó el uso de catalizadores para alterar la rapidez de ciertas reacciones redox; la reacción de titulación de As(III) con Ce(IV) se cataliza con OsO_4 . El catalizador se adiciona en una concentración lo suficientemente alta como para que la reacción suceda de inmediato. Si la concentración del catalizador es baja y la reacción es lenta, entonces se puede medir la rapidez de la reacción y relacionarla con la concentración del catalizador. En este capítulo se describirá la cinética básica de las reacciones limitadas por su rapidez. A continuación se discutirán las reacciones catalizadas por catalizadores específicos llamados enzimas y la medición de la rapidez de reacción, ya sea para determinar la actividad (concentración) de la enzima o la concentración del sustrato catalizado agregando una cantidad fija de enzima a la solución.

22.1 Cinética: las bases

Cinética es la descripción de las **velocidades de reacción**. El **orden** de una reacción define la dependencia entre las velocidades de reacción y las concentraciones de las especies reaccionantes. El orden se determina en forma empírica, y no necesariamente se relaciona con la estequiometría de la reacción. Antes bien, está gobernado por el **mecanismo** de la reacción, es decir, por la cantidad de especies que deben colisionar para que la reacción tenga lugar.

El orden de una reacción define la cantidad de especies que deben reaccionar, y no la relación en que reaccionan (estequiometría).

REACCIONES DE PRIMER ORDEN

Las reacciones cuya rapidez es proporcional a la concentración de una sola sustancia se llaman reacciones de primer orden. Considerar la reacción



La sustancia A podría ser un compuesto que se descompone para formar uno o más productos. La rapidez de la reacción es igual a la rapidez de la desaparición de A, y es proporcional a la concentración de A:

$$-\frac{dA}{dt} = k[A] \quad (22.2)$$

Ésta es una **ecuación de rapidez**, o una **ley de rapidez**. Se incluye el signo menos frente al término del lado izquierdo de la ecuación para indicar que A desaparece en función del tiempo. A la constante k se le llama **constante específica de rapidez** a la temperatura especificada, y sus dimensiones son de recíproco de tiempo, por ejemplo s^{-1} . El **orden de una reacción** es igual a la suma de los exponentes a los que están elevados los términos de concentración en su ecuación de rapidez. Así, como ésta es una reacción de primer orden, su rapidez sólo depende de la concentración de A.

La ecuación 22.2 se llama **forma diferencial** de la ley de rapidez de primer orden. La **forma integrada** de la ecuación es

$$\log[A] = \log[A]_0 - \frac{kt}{2.303} \quad (22.3)$$

en la que $[A]_0$ es la concentración inicial de A ($t = 0$), y $[A]$ es su concentración cuando el tiempo es t , medido desde que inicia la reacción. Esta ecuación define la cantidad de A que ha reaccionado después de determinado intervalo de tiempo. Es la ecuación de una recta, y si se grafica t en función de $\log[A]$ (que se puede medir en tiempos diferentes) se obtiene una recta con pendiente $-k/2.303$ y ordenada al origen $\log[A]_0$. De este modo se puede determinar la constante de rapidez.

La rapidez de reacción disminuye con el tiempo.

Obsérvese que, de acuerdo con la ecuación 22.2, la rapidez de reacción (y *no* la constante de rapidez) disminuye a medida que la reacción avanza, porque la concentración de A disminuye. Como $[A]$ disminuye en forma logarítmica en función del tiempo (véase la ecuación 22.3), entonces la rapidez de la reacción disminuirá con el tiempo de manera exponencial. Al tiempo necesario para que reaccione la mitad de la sustancia se le llama **tiempo de vida media** o simplemente **vida media** de la reacción, $t_{1/2}$. La relación $[A]/[A]_0$ en este momento es $\frac{1}{2}$. Al insertar esto en la ecuación 22.3 y resolver para $t_{1/2}$, se ve que para una reacción de primer orden

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{k} \quad (22.4)$$

Se considera que una reacción es completa cuando transcurren 10 vidas medias. En realidad es necesario un tiempo infinito para que se complete.

Después de que la reacción llega a la mitad, la mitad de las sustancias reaccionantes remanentes reaccionarán en el mismo tiempo $t_{1/2}$, y así sucesivamente. Éste es el decaimiento exponencial que se ha mencionado. En teoría, sería necesario un tiempo infinitamente largo para que la reacción se complete, pero para fines prácticos se completa (en 99.9%) pasadas 10 vidas medias. Es importante hacer notar que la vida media, y por tanto el tiempo en que se completa la reacción, es independiente de la concentración para reacciones de primer orden.

El decaimiento radiactivo es un ejemplo importante de reacciones de primer orden.

REACCIONES DE SEGUNDO ORDEN

Considérese la siguiente reacción:



La rapidez de esta reacción es igual a la rapidez de desaparición de A o de B. Si se determina empíricamente que

$$-\frac{dA}{dt} = -\frac{dB}{dt} = k[A][B] \quad (22.6)$$

entonces la reacción es de primer orden respecto de [A] y [B], y de segundo orden general (la suma de los exponentes de los términos de concentración es 2). La constante específica de rapidez de reacción tiene dimensiones de tiempo y molaridad recíprocos, por ejemplo, $s^{-1} M^{-1}$.

La forma integrada de la ecuación 22.6 depende de si las concentraciones iniciales de A y de B (que son $[A]_0$ y $[B]_0$) son iguales. Si son iguales, la ecuación es

$$kt = \frac{[A]_0 - [A]}{[A]_0[A]} \quad (22.7)$$

Si $[A]_0$ y $[B]_0$ no son iguales, entonces

$$kt = \frac{2.303}{[B]_0 - [A]_0} \log \frac{[A]_0[B]}{[B]_0[A]} \quad (22.8)$$

Si la concentración de una de las especies, por ejemplo B, es muy grande en comparación con la de la otra, y si su concentración permanece esencialmente constante durante la reacción, entonces la ecuación 22.6 se reduce a una ley de rapidez de primer orden:

$$-\frac{dA}{dt} = k'[A] \quad (22.9)$$

Si se hace que la concentración de uno de los reactivos sea grande en comparación con la del otro, una reacción de segundo orden se comporta como una de pseudoprimer orden.

donde k' es igual a $k[B]$; la forma integrada resulta ser

$$kt = \frac{2.303}{[B]_0} \log \frac{[A]_0}{[A]} \quad (22.10)$$

Como $[B]_0$ es constante, la ecuación 22.10 es idéntica en forma a la ecuación 22.3. Se trata de una **reacción de pseudoprimer orden**.

La vida media de una reacción de segundo orden en la cual $[A]_0 = [B]_0$ está dada por

La vida media de una reacción de segundo orden depende de las concentraciones.

$$t_{1/2} = \frac{1}{k[A]_0} \quad (22.11)$$

Así, a diferencia de la vida media de una reacción de primer orden, la vida media aquí depende de la concentración inicial.

Una reacción entre A y B no necesita ser de segundo orden. Son frecuentes las reacciones de orden fraccionario. Una reacción como $2A + B \rightarrow P$ puede ser de tercer orden (rapidez $\propto [A]^2[B]$), de segundo orden (rapidez $\propto [A][B]$), o de un orden más complicado (incluso un orden fraccionario).

TIEMPO DE REACCIÓN

El tiempo para que una reacción proceda hasta su culminación depende de la constante de rapidez, y en el caso de las reacciones de segundo orden, de las concentraciones iniciales. Una reacción de primer orden esencialmente es instantánea si k es mayor que 10 s^{-1} (se completa en un 99.9% en un tiempo menor a 1 s). Cuando k es menor que 10^{-3} s^{-1} , el tiempo para que se complete en un 99.9% es mayor de 100 min. Aunque es más difícil calcular el tiempo para las reacciones de segundo orden, en general se pueden considerar instantáneas si k es mayor que 10^3 o $10^4 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$. Si k es menor que $10^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$, la reacción requiere horas para completarse.

22.2 Enzimas catalizadoras

Las enzimas son proteínas que representan los catalizadores de la naturaleza en los organismos vivos.

Las **enzimas** son proteínas naturales notables que catalizan reacciones *específicas* con un alto grado de eficiencia. Los pesos fórmula de las enzimas van de 10 000 a 2 000 000. Por supuesto, se encuentran relacionadas íntimamente con las reacciones bioquímicas en el organismo, esto es, en el proceso mismo de la vida. Por tanto, es importante la determinación de ciertas enzimas en el organismo para diagnosticar enfermedades. Además, estas últimas han demostrado ser extremadamente útiles en la determinación de **sustratos**, las sustancias cuya reacción catalizan las enzimas.

CINÉTICA ENZIMÁTICA

La ecuación de rapidez se puede describir en las reacciones enzimáticas mediante un modelo simple de reacción. La reacción típica catalizada por una enzima se puede representar como sigue:



La rapidez de reacción es de primer orden respecto del sustrato y la enzima. Si $[\text{S}]$ es grande, la reacción se vuelve de orden cero respecto de S.

donde E es la enzima, S el sustrato, ES el **complejo activado** que impone una barrera de energía más baja para la reacción, P es el (o los) producto(s), y las k las constantes de rapidez para cada etapa. Esto es, la enzima forma un complejo con el sustrato que entonces se disocia para formar el producto (véase figura 22.1). La rapidez de la reacción, R , es proporcional a la concentración del complejo, y por consiguiente a las concentraciones de sustrato y enzima:

$$R = k_3[\text{ES}] = k[\text{S}][\text{E}] \quad (22.13)$$

Suponiendo que k_1 y k_2 sean mucho mayores que k_3 , se ve que la rapidez de la reacción está limitada por la rapidez de disociación del complejo activado.

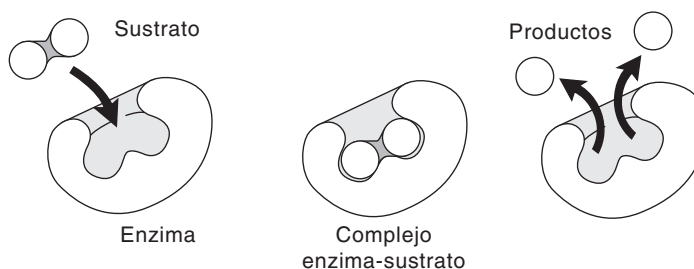


Figura 22.1. Mecanismo de la actividad enzimática. [D. Leja, National Human Genome Research Institute (www.nhgri.nih.gov). Reproducción autorizada.]

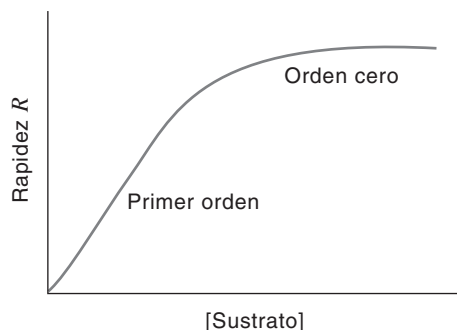


Figura 22.2. Dependencia entre la rapidez de una reacción catalizada por una enzima y la concentración del sustrato. Cuando la concentración es alta, la enzima se satura con sustrato, y la rapidez de reacción llega a ser máxima y constante porque $[ES]$ se vuelve constante (ecuación 22.13).

La dependencia entre la rapidez de una reacción catalizada por enzima y la concentración del sustrato se ilustra en la figura 22.2. Una enzima se caracteriza por la cantidad de moléculas de sustrato que puede complejar por unidad de tiempo para convertirlas en producto; se trata éste del **número de transferencia**. Mientras la concentración del sustrato sea lo suficientemente pequeña con respecto a la de la enzima como para no rebasar su número de transferencia, la rapidez de reacción será directamente proporcional a la concentración del sustrato; es decir, es de primer orden con respecto al sustrato (ecuación 22.13). Si se mantiene constante la concentración de la enzima, la reacción total es de primer orden y directamente proporcional a la concentración del sustrato ($k[E] = \text{constante}$ en la ecuación 22.13). Esto es lo que sirve como base para la determinación del sustrato.¹ Sin embargo, si la cantidad de sustrato es mayor que el número de transferencia para la cantidad de enzima presente, la enzima se *satura* con respecto a la cantidad de moléculas que puede complejar (se satura con respecto al sustrato), y la rapidez de reacción alcanza un valor máximo. En este punto la reacción se vuelve independiente de posteriores aumentos en la concentración del sustrato; es decir, la reacción se vuelve de **seudoorden cero** si la concentración de la enzima es constante (véase figura 22.2); en la ecuación 22.13, $[ES]$ se vuelve constante y $R = \text{constante}$.

Cuando la enzima se satura con respecto al sustrato, la reacción total es de primer orden respecto de la concentración de la enzima ($k[S] = \text{constante}$, en la ecuación 22.13). Esto se vuelve la base para la determinación de las enzimas, porque existirá una relación lineal entre la rapidez de reacción y la concentración de la enzima. Sin embargo, como el sustrato se consume en la reacción, debe mantenerse en una concentración suficientemente alta para que la reacción siga siendo de orden cero con respecto al sustrato durante el tiempo de reacción (es decir, que la enzima permanezca saturada). Al final, a altas concentraciones de enzima no habrá suficiente sustrato disponible y el resultado será una gráfica parecida a la de la figura 22.2.

PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS

La rapidez de una reacción enzimática depende de varios factores, como temperatura, pH, fuerza iónica, etc. La rapidez de la reacción aumenta al elevarse la temperatura hasta determinado punto. Arriba de cierta temperatura decrece la actividad de la enzima, porque al tratarse una proteína, se *desnaturaliza*; es decir, se destruye la estructura terciaria de la enzima al romperse los enlaces de hidrógeno. La naturaleza estérica de una enzima es crítica para su mecanismo catalítico. La mayor parte de las enzimas animales se desnaturalizan a temperaturas mayores de 40°C, aproximadamente.

Como en otras reacciones catalíticas, los cambios de temperatura del orden de 1 o 2°C pueden causar cambios hasta de 10 a 20% en la rapidez de reacción, bajo condiciones

Cuando la enzima se satura de sustrato, la rapidez de reacción es proporcional a la concentración de la enzima.

Arriba de la temperatura óptima, la enzima se desnaturaliza. Por ejemplo, cuando se cocina un huevo, su proteína se desnaturaliza.

¹Los sustratos no necesitan determinarse a partir de la velocidad de reacción. Más bien se puede dejar que la reacción proceda hasta que el sustrato quede totalmente convertido en producto. Previamente se mide la concentración del producto (testigo) y también después de la reacción. Cada uno de estos métodos se describe con detalle más adelante, en la determinación de enzimas y de sustratos de enzima.

de laboratorio. Por eso es importante controlar la temperatura durante las mediciones de reacciones enzimáticas.

Las enzimas se deben guardar a 5°C o menos, porque terminan por desactivarse después de cierto tiempo, aun a temperaturas moderadas. Algunas enzimas pierden su actividad cuando se congelan.

También las reacciones enzimáticas tienen su pH óptimo.

La rapidez de reacción será máxima a cierto pH, debido a complejos equilibrios ácido-base, como la disociación ácida entre el sustrato, el complejo activado y los productos. Además, la rapidez máxima puede depender de la fuerza iónica y del tipo de solución amortiguadora que se use. Por ejemplo, la rapidez de la oxidación aeróbica de la glucosa en presencia de la enzima glucosa oxidasa es máxima en un amortiguador de acetatos a pH 5.1, pero en un amortiguador de fosfatos con el mismo pH, desciende.

Las concentraciones enzimáticas se suelen expresar en actividad, y no en unidades molares.

La **actividad** de una preparación enzimática puede variar de una fuente a otra debido a que por lo regular no se purifican hasta un 100% de pureza; es decir, el porcentaje de la enzima varía de una preparación a otra. La actividad de una preparación dada se expresa en **unidades internacionales** (U.I.). La Unión Internacional de Bioquímica define la unidad internacional como “la cantidad que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones definidas”. Entre las condiciones definidas están la temperatura y el pH. Por ejemplo, cierta preparación comercial de glucosa oxidasa puede tener una actividad de 30 unidades por miligramo. Entonces, para la determinación de un sustrato, se toma cierto número de unidades enzimáticas. La **actividad específica** consiste en las unidades enzimáticas por miligramo de *proteína*. La **actividad molecular** se define como las unidades por molécula de enzima, es decir, es el número de moléculas de sustrato transformadas por minuto y por molécula de enzima. La **concentración** de una enzima en solución debe expresarse en unidades internacionales por mililitro o por litro.

INHIBIDORES Y ACTIVADORES DE ENZIMAS

Aunque las enzimas sólo catalizan ciertas reacciones o ciertos tipos de reacción, están sujetas a interferencias. Cuando se forma el complejo activado, el sustrato se adsorbe en un *sitio activo* en la enzima. Otras sustancias de tamaño y forma similares pueden quedar adsorbidas en el sitio activo. Aunque se adsorben no sufren transformación alguna. Sin embargo, sí compiten con el sustrato para llegar a los sitios activos, y hacen descender la rapidez de la reacción catalizada. A eso se le llama **inhibición competitiva**. Por ejemplo, la enzima succínica deshidrogenasa cataliza en forma específica la deshidrogenación del ácido succínico para formar ácido fumárico. Sin embargo, otros compuestos parecidos al ácido succínico pueden inhibir de manera competitiva la reacción. Entre los ejemplos están otros ácidos dipróticos, como el malónico y el oxálico. Se puede reducir la inhibición competitiva aumentando la concentración del sustrato en relación con la del que interfiere para que la mayor parte de las moléculas de la enzima se combinen con el sustrato.

Ocurre **inhibición no competitiva** cuando la inhibición sólo depende de la concentración del inhibidor. Esto suele deberse a la adsorción del inhibidor en un sitio diferente al sitio activo pero necesario para la activación. En otras palabras, se forma un derivado inactivo de la enzima. Como ejemplos están la reacción de los metales pesados mercurio, plata y plomo con los grupos mercapto (—SH) en la enzima. El grupo mercapto queda unido al metal pesado ($\text{ESH} + \text{Ag}^+ \rightarrow \text{ESAg} + \text{H}^+$), y esta reacción es irreversible. Ésa es la causa de que los metales pesados sean venenos: inactivan las enzimas en el organismo.

Algunas enzimas requieren la presencia de cierto metal para activarse, quizá para formar un complejo con las propiedades estequiométricas adecuadas. Toda sustancia que se compleje con el ion metálico puede entonces convertirse en un inhibidor. Por ejemplo,

el ion magnesio se requiere como activador de varias enzimas. Los iones oxalato y fluoruro forman complejos con el magnesio, por lo que son inhibidores. A los activadores de enzimas se les denomina en ocasiones **coenzimas**.

La **inhibición por sustrato** sucede a veces cuando está presente una cantidad excesiva de sustrato. En esos casos, la rapidez de reacción decrece en realidad, después de haber alcanzado la rapidez máxima. Se cree que eso se debe a que hay tantas moléculas de sustrato que compiten por los sitios activos en la superficie de la enzima, que bloquean los sitios y evitan que los ocupen otras moléculas del mismo sustrato.

CONSTANTE DE MICHAELIS

Como se explicó antes, una enzima a determinada concentración se llega a saturar de sustrato al aumentar la concentración de éste, y la rapidez de reacción llega al máximo, $R_{\text{máx}}$. La **ecuación de Lineweaver-Burk** describe la relación entre la eficacia de la enzima como catalizador y la rapidez máxima:

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_{\text{máx}}} + \frac{K_m}{R_{\text{máx}}[S]} \quad (22.14)$$

en la que K_m es la **constante de Michaelis**. Esta última es una medida de la actividad enzimática y se puede demostrar que es igual a $(k_2 + k_3)/k_1$ en la ecuación 22.12. También es igual a la concentración del sustrato cuando la rapidez es la mitad de la máxima, $R_{\text{máx}}/2$, lo cual se deduce de la ecuación 22.14 haciendo que $R = R_{\text{máx}}/2$. Una gráfica de $1/[S]$ en función de $1/R$ es una recta cuya **ordenada al origen** es $1/R_{\text{máx}}$, y cuya **pendiente** es $K_m/R_{\text{máx}}$. De esta manera se puede determinar la constante de Michaelis, que es característica de una enzima con un sustrato.



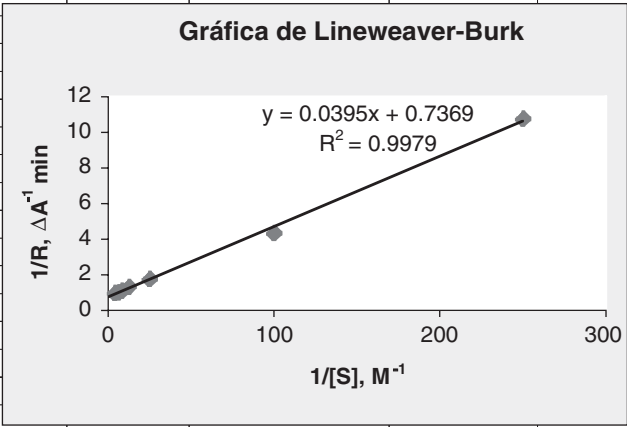
Ejemplo 22.1

En una reacción enzimática se obtuvieron los siguientes datos de absorbancia en función de la concentración de sustrato:

$[S]$ (M)	R ($\Delta A/\text{min}$)
0.0400	0.093
0.0100	0.231
0.0400	0.569
0.0800	0.758
0.120	0.923
0.160	0.995
0.240	1.032

Preparar una hoja de cálculo para la gráfica de Lineweaver-Burk, y calcular la rapidez máxima y la constante de Michaelis.

Solución

	A	B	C	D	E
1	Gráfica de Lineweaver-Burk				
2	[S], M	R, ΔA/min	1/[S], M ⁻¹	1/R, ΔA ⁻¹ min	
3	0.00400	0.093	250	10.753	
4	0.0100	0.231	100	4.329	
5	0.0400	0.569	25	1.757	
6	0.0800	0.758	12.5	1.319	
7	0.120	0.923	8.333	1.083	
8	0.160	0.995	6.25	1.005	
9	0.240	1.032	4.167	0.969	
10					
11	Celda C3 = 1/A3. Copiar hacia abajo.				
12	Celda D3 = 1/B3. Copiar hacia abajo.				
13	Pendiente (ΔA ⁻¹ min/M ⁻¹) =			0.0395	
14	Intersección = 1/R _{máx} =			0.737	
15	R _{máx} (ΔAmin ⁻¹) = 1/D14 =			1.357	
16	K _m (M) = pendiente x R _{máx} = D13*D15 =			0.0536	
17					
18					
19	Gráfica de Lineweaver-Burk 				
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					

Una K_m pequeña equivale a una rapidez grande de reacción y a una fácil saturación del sustrato.

.....

La importancia de K_m se ilustra en la figura 22.3 (parecida a la figura 22.2). Cuando la velocidad de reacción aumenta rápidamente con la concentración del sustrato, K_m es pequeña (curva 1). El sustrato que da la K_m más baja para una enzima dada, con frecuencia (pero no necesariamente) es el sustrato natural de la enzima, y éste es el origen del rápido incremento en la rapidez al aumentar la concentración de sustrato. Una K_m pequeña indica que la enzima se satura con pequeñas concentraciones de sustrato, y una K_m grande, al contrario, indica que se requieren altas concentraciones de sustrato para llegar a la rapidez de reacción máxima. En esos casos sería difícil alcanzar la rapidez de orden cero con respecto al sustrato, y el sustrato no sería el adecuado para la determinación de la enzima.

ESPECIFICIDAD DE LA ENZIMA

En general, hay cuatro tipos de especificidad enzimática: 1) **especificidad absoluta**, en la que la enzima sólo cataliza una reacción; 2) **especificidad de grupo**, cuando la enzima actúa sobre moléculas que contienen ciertos grupos funcionales, como amino, fosfato o metilo; 3) **especificidad de enlace**, cuando la enzima actúa sobre determinado tipo de

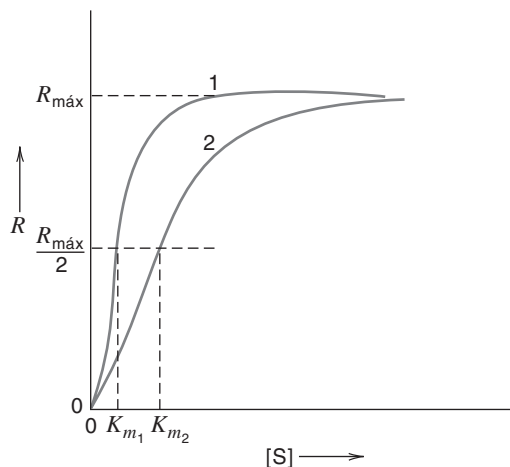


Figura 22.3. Relación entre la constante de Michaelis, $K_m = ([S] \text{ a } R_{\text{máx}}/2)$ y la rapidez de reacción. Curva 1, K_m pequeña; curva 2, K_m grande.

enlace químico, y 4) **especificidad estereoquímica**, cuando la enzima actúa sobre un isómero estérico u óptico determinado.

Además del sustrato sobre el que actúan, muchas enzimas requieren un segundo cosustrato. Éste puede activar muchas enzimas, y es un ejemplo de **cofactor** o **coenzima** (mencionado antes). Un ejemplo es el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+), que es un cofactor en muchas reacciones de la deshidrogenasa, donde actúa como aceptor de hidrógeno:

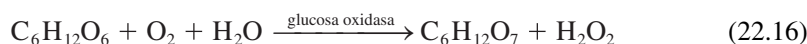


donde SH_2 es la forma reducida del sustrato; S es la oxidada (deshidrogenada), y NADH , la reducida de NAD^+ .

El NAD^+ es un cofactor común en mediciones de química clínica. Las reacciones se vigilan midiendo la concentración de NADH .

NOMENCLATURA DE ENZIMAS

Las enzimas se clasifican por el tipo de reacción y sustrato; es decir, de acuerdo con su especificidad de reacción y con su especificidad de sustrato. La mayor parte de los nombres de las enzimas terminan en “asa”. Las enzimas se pueden dividir en cuatro grupos de acuerdo con la clase de reacción química catalizada: 1) Las que catalizan la adición (*hidrolasas*) o la remoción (*hidrasas*) de agua; entre las hidrolasas se incluyen esterasas, carbohidrasas, nucleasas y desaminasas, en tanto que las hidrasas comprenden enzimas como la anhidrasa carbónica y la fumarasa. 2) Las que catalizan la transferencia de electrones (*oxidadas* y *deshidrogenasas*). 3) Las que catalizan la transferencia de un sustituyente, como las *transaminasas* (grupos amino), las *transmetilasas* (grupos metilo) o las *transfosforilasas* (grupos fosfato). 4) Las que catalizan la rotura o la formación de un enlace C—C (*desmoladas*). Por ejemplo, la α -glucosidasa actúa sobre cualquier α -glucósido. La velocidad de reacción puede ser para diferentes glucósidos. Sin embargo, más generalmente, las enzimas muestran especificidad absoluta para un sustrato en particular. Por tanto, la oxidasa cataliza la oxidación aeróbica (con oxígeno) de la glucosa para formar ácido glucónico y peróxido de hidrógeno:



En realidad, esta enzima tiene especificidad casi completa hacia la β -D-glucosa; la α -D-glucosa reacciona en una proporción de 0.64 relativa a 100 para la forma β . En esta última forma, todos los hidrógenos ocupan una posición axial y los grupos hidroxilo son

La glucosa oxidasa se usa para determinar glucosa.

ecuatoriales, lo que permite que la molécula descansa plana sobre el sitio activo de la enzima y forme el complejo enzima-sustrato. La forma α no tiene el mismo arreglo de hidrógenos e hidroxilos y no puede descansar en forma totalmente plana sobre la enzima. Entonces, la conversión aeróbica de la glucosa (en general 36% α y 64% β) depende de la mutarrotación de la forma α a la forma β . La mutarrotación (el equilibrio) desplaza a medida que se elimina la forma β . Otra enzima, la mutarrotasa, afecta la mutarrotación, pero en general ésta no se necesita. Hay otra sustancia más, la 2-desoxi-D-glucosa, que es afectada por la glucosa oxidasa. La rapidez relativa de esta reacción es aproximadamente 10% de la de β -D-glucosa y por lo regular no ocurre en muestras de sangre que serán analizadas en busca de glucosa.

Hay miles de enzimas en la naturaleza, y la mayor parte presentan especificidad absoluta.

DETERMINACIÓN DE LAS ENZIMAS

Las actividades enzimáticas se miden por determinación de la rapidez de conversión del sustrato bajo condiciones de pseudo-orden cero.

Las enzimas mismas se pueden analizar midiendo la cantidad de sustrato transformado o de producto que generan en determinado tiempo. El sustrato debe encontrarse en exceso para que la rapidez de reacción sólo dependa de la concentración de la enzima; los resultados se expresan en unidades internacionales de enzima. Por ejemplo, la actividad de una preparación de glucosa oxidasa se puede determinar midiendo en forma manométrica o amperométrica la cantidad de micromoles de oxígeno que se consumen por minuto. Por otra parte, el uso de enzimas para desarrollar procedimientos específicos para la determinación de sustratos, en especial en química clínica, ha demostrado ser de extrema utilidad. En este caso, la concentración de la enzima es excesiva para que la rapidez de reacción dependa de la concentración del sustrato.

DETERMINACIÓN DE LOS SUSTRATOS DE ENZIMA

Para medir los sustratos de una enzima se pueden usar dos técnicas generales. La primera es la **conversión completa** del sustrato; en ella, se analiza un producto o se mide la desaparición de un reactivo que originalmente se encontraba en exceso antes y después de la eliminación de una sustancia catalizada enzimáticamente. La sustancia analizada (su cambio neto) se relaciona entonces con la concentración original del sustrato. Con frecuencia estas reacciones no son estequiométricas con respecto a la concentración del sustrato debido a las posibles reacciones secundarias o la inestabilidad de los productos o reactivos; también puede ser que la reacción necesite tiempos extraordinariamente largos para su terminación. Por estas razones, se suele estandarizar el procedimiento analítico preparando una curva de calibración de algún tipo en la cual la cantidad medida se relaciona con concentraciones o cantidades conocidas del sustrato.

La enzima no se consume, y entonces sólo debe mantenerse constante su concentración durante las mediciones de la rapidez.

La segunda técnica para determinación de sustrato es medir la **rapidez** de una reacción enzimática, como la que se usa para determinar la actividad enzimática. Puede adoptar una de tres formas. En la primera se mide el tiempo requerido para que la reacción produzca una cantidad predeterminada de producto o para que se consuma una cantidad predeterminada de sustrato. En la segunda se mide la cantidad de producto formado o sustrato consumido en determinado tiempo (véase la determinación de glucosa en el experimento 35). Éstas son mediciones de un solo punto (llamadas *mediciones de punto final*) y requieren condiciones de reacción bien definidas; son fáciles de automatizar o de llevar a cabo manualmente. Un tercer procedimiento es la medición continua de la concentración de un producto o sustrato en función del tiempo para obtener la pendiente de la curva de rapidez de reacción, $\Delta c/\Delta t$; son las llamadas mediciones de rapidez real. En general, las mediciones deben hacerse durante la primera parte de la reacción, donde la rapidez es de pseudoprimer orden.

En general, los métodos de velocidad son más rápidos que los de punto final, o que los de las reacciones de conversión completa. Por otra parte, las reacciones de conversión completa son menos propensas de interferencias por inhibidores o activadores enzimáticos,

siempre que se deje tiempo suficiente para que la conversión sea completa. Véase también la discusión acerca de los electrodos enzimáticos en el capítulo 13 con una descripción de otro método para medir sustratos.

Ejemplo 22.2

El contenido de alcohol en la sangre de un individuo se determinó enzimáticamente haciendo reaccionar el etanol con NAD^+ en presencia de la enzima alcohol deshidrogenasa para formar NADH (véase tabla 22.1). Se midió la rapidez de formación del NADH a 340 nm (véase figura 22.4). Se leyeron las siguientes absorbancias para un estándar de 0.100% de alcohol (peso/vol) y para el problema, el cual se trató de la misma manera. Usar una hoja de cálculo para determinar la rapidez de cambio de absorbancia, y con ella la concentración del problema.

T (s)	A_{est}	A_{prob}
0	0.004	0.003
20	0.052	0.036
40	0.099	0.070
60	0.147	0.098
80	0.201	0.132
100	0.245	0.165

Solución

	A	B	C	D	E	F	G
1	T, seg	A est	Neto	$\Delta A/\Delta T$	A prob	Neto	$\Delta A/\Delta T$
2	0	0.004			0.003		
3	20	0.052	0.048	0.00240	0.036	0.033	0.00165
4	40	0.099	0.095	0.00238	0.070	0.067	0.00168
5	60	0.147	0.143	0.00238	0.098	0.095	0.00158
6	80	0.201	0.197	0.00246	0.132	0.129	0.00161
7	100	0.245	0.241	0.00241	0.165	0.162	0.00162
8	Prom.:			0.00241			0.00163
9	Desv. Est.:			0.00003			0.00004
10	Concentración de la muestra:		0.068	%(wt/vol)			
11							
12	Celda C3 =	B3-\$B\$2	Copiar hacia abajo				
13	Celda D3 =	C3/A3	Copiar hacia abajo				
14	Celda F3 =	E3-\$E\$2	Copiar hacia abajo				
15	Celda G3 =	F3/A3	Copiar hacia abajo				
16	Celda D8 =	PROMEDIO(D3:D7)					
17	Celda G8 =	PROMEDIO(G3:G7)					
18	Celda D9 =	DESVEST(D3:D7)					
19	Celda G9 =	DESVEST(G3:G7)					
20	Celda C10 =	0.1*(G8/D8)					

EJEMPLO DE ANÁLISIS ENZIMÁTICOS

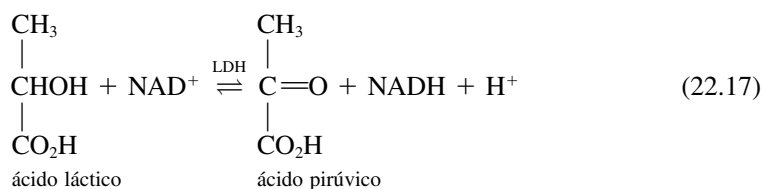
Se usan mucho los métodos espectrofotométricos para medir las reacciones enzimáticas. El producto de la reacción puede tener un espectro de absorción muy diferente al del sustrato, permitiendo una medición simple del producto o del sustrato. En otros casos se emplea un reactivo que comunique de color por reacción con el producto o el sustrato, y

se mide el aumento o disminución del color. Con frecuencia el cromógeno se acopla enzimáticamente al producto usando una segunda enzima.

Las reacciones con deshidrogenasa se siguen vigilando midiendo la absorbancia UV del NADH.

1. Reacciones de la deshidrogenasa. Las formas reducida (NADH) y oxidada (NAD⁺) del dinucleótido de adenina y nicotinamida muestran marcadas diferencias en sus espectros de absorción ultravioleta, por lo que se usan mucho para seguir el curso de las reacciones de la deshidrogenasa. En la figura 22.4 se presentan los espectros de absorción ultravioleta del NAD⁺ y el NADH. El NAD tiene absorción despreciable a 340 nm, en tanto que el NADH tiene un máximo de absorción allí; por tal razón es sencillo entonces seguir el aumento o la disminución de concentración de NADH.

Un ejemplo del uso del NADH en las mediciones es la determinación de la enzima **ácido láctico deshidrogenasa** (LDH), importante para confirmar el infarto al miocardio (ataque al corazón). El NAD⁺ se requiere en la oxidación catalizada por LDH de ácido láctico a pirúvico:



La reacción es reversible y se puede emplear hacia cualquier dirección. Hacia la derecha, el suero que contiene una cantidad desconocida de LDH se agrega a una solución con concentraciones saturantes de la enzima de ácido láctico y NAD, y se mide el aumento de absorbancia a 340 nm en función del tiempo.

A veces se usa NADH para seguir reacciones enzimáticas en las que no participa directamente, pero se acopla en una reacción secundaria con el producto. Por ejemplo, la transaminasa glutámica oxalacética (GOT) sérica cataliza la reacción de α -cetoglutarato y aspartato, y el producto se reduce con NADH en presencia de otra enzima, la deshidrogenasa de ácido málico (MDH):



La segunda reacción es rápida en comparación con la primera en presencia de un exceso de MDH, por lo que la rapidez de disminución de la concentración de NADH es directamente proporcional a la actividad GOT.

2. Sustratos de determinación frecuente. En la tabla 22.1 se muestra una lista de algunos sustratos determinados en la sangre o en la orina. Se describirán en ese orden en los párrafos siguientes.

Figura 22.4. Espectros de absorción ultravioleta del NAD y el NADH. (Cortesía de Worthington Biochemical Corporation.)

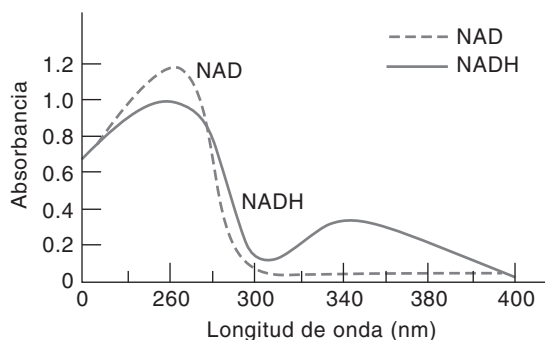


Tabla 22.1

Ejemplos de reacciones enzimáticas de uso frecuente para determinar sustratos en química clínica

<i>Sustrato determinado</i>	<i>Enzima</i>	<i>Reacción</i>
Urea	Ureasa	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{NH}_2-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$
Glucosa	Glucosa oxidasa	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}_2$ (glucosa) (ácido glucónico)
Ácido úrico	Uricasa	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3\text{N}_4 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ (ácido úrico) (alantoina)
Galactosa	Galactosa oxidasa	$\text{D-Galactosa} + \text{O}_2 \rightarrow \text{D-galactohexodialdosa} + \text{H}_2\text{O}_2$
Alcohol en la sangre	Alcohol deshidrogenasa	$\text{Etanol} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{acetaldehído} + \text{NADH} + \text{H}^+$

La ureasa fue la primera enzima que se aisló y cristalizó; ésta convierte cuantitativamente la urea en amoníaco y dióxido de carbono. La cantidad de urea se calcula determinando ya sea el amoníaco o el dióxido de carbono producidos. Se puede hacer de manera espectrofotométrica, haciendo reaccionar el amoníaco con un reactivo cromógeno.

Se suele determinar la glucosa midiendo el peróxido de hidrógeno producido por adición de glucosa oxidasa. La determinación es espectrofotométrica, acoplando el peróxido de hidrógeno a medida que se produce con un reactivo como la *o*-toluidina. Este acoplamiento se efectúa en presencia de una segunda enzima, peroxidasa de rábano, que genera un producto con color. Las preparaciones comerciales de glucosa oxidasa suelen contener impurezas que reaccionan con peróxido de hidrógeno y consumen parte de éste, por lo que la conversión no es estequiométrica. Por ejemplo, una de las impurezas es la catalasa, específica para la descomposición del peróxido de hidrógeno. Sin embargo, la fracción del peróxido de hidrógeno convertida al producto colorido es constante, y se puede preparar una curva de calibración con diferentes concentraciones de glucosa.

Hay varios inhibidores posibles en la determinación de la glucosa; sin embargo, muchos de ellos actúan sobre la segunda reacción enzimática. El método de la glucosa oxidasa sería entonces más específico si se midiera el peróxido de hidrógeno directamente sin necesidad de una segunda enzima. Por ejemplo, si se agrega ion yoduro en presencia de un catalizador de molibdeno(VI), el yoduro se oxida rápidamente a yodo. La concentración de yodo se puede seguir en forma amperométrica (capítulo 15). Como alternativa, se puede medir de manera amperométrica el consumo de oxígeno.

El ácido úrico suele determinarse midiendo su absorción ultravioleta a 292 nm. Sin embargo, la cantidad de ácido úrico en la sangre es pequeña, y la absorción no es específica. Así pues, luego de efectuar la medición, el ácido úrico se destruye agregando la enzima uricasa. Se vuelve a medir la absorbancia. La *diferencia* de absorbancias se debe al ácido úrico presente. Puesto que la uricasa sólo descompone el ácido úrico, el método es específico. En un procedimiento parecido de determinación colorimétrica de ácido úrico, éste se oxida con molibdato para formar azul de molibdeno, un compuesto de molibdeno(V). En principio, se podría determinar ácido úrico como la glucosa, pero las impurezas en las preparaciones de uricasa suelen destruir rápidamente la ínfima cantidad de peróxido de hidrógeno producido.

La galactosa se determina en la misma forma que la glucosa, oxidando el cromógeno con H₂O₂ en presencia de peroxidasa. Se puede determinar alcohol en sangre midiendo con UV el NADH producido.

Se siguen las reacciones de una oxidasa midiendo el consumo de O₂ o la producción de H₂O₂.

Con frecuencia se usan reacciones enzimáticas acopladas en reacciones de detección.

3. Enzimas que se determinan con frecuencia. La tabla 22.2 es un resumen de las reacciones para determinar la actividad de algunas enzimas que se encuentran con frecuencia en el laboratorio clínico. El piruvato que se forma en la reacción con GPT se acopla con NADH en presencia de LDH adicionado para la medición. La CK cataliza la transferencia de un grupo fosfato del fosfato de creatinina al nucleótido de adenosindifosfato (ADP) para producir adenosintrifosfato (ATP). El ATP reacciona con glucosa en presencia de la enzima hexocinasa para formar glucosa-6-fosfato, que entonces puede reaccionar con NAD en presencia de glucosa-6-fosfodeshidrogenasa. Además, actualmente se determina CK por cromatografía de líquidos de alta eficiencia, cromatografía por exclusión de tamaño, cromatografía de intercambio iónico o por electroforesis.

La LDH está formada por cinco componentes llamados **isozimas** o **isoenzimas** cuya relación varía según el tejido de procedencia. Los dos componentes electroforéticamente más rápidos se presentan en alto porcentaje en la LDH del músculo cardíaco, y la concentración de éstos se incrementa de preferencia en la sangre después de daño al músculo cardíaco. El método de la LDH mide las isozimas totales de la LDH, que en general indican el daño al corazón. Sin embargo, las dos isozimas mencionadas de músculo cardíaco catalizan más fácilmente la reducción del α -cetobutirato que los componentes de origen hepático, de movimiento más lento, y se refieren como α -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBD) activa. Una HBD elevada puede determinarse con la reacción indicada, y es más específica para el infarto al miocardio que la LDH; ésta también permanece elevada durante largos periodos después del infarto.

Las **fosfatasas** se determinan midiendo el color azul de la timolftaleína en una solución muy alcalina después de un tiempo específico. La elevada alcalinidad detiene las reacciones enzimáticas.

Naturalmente, las reacciones enzimáticas se pueden medir con técnicas diferentes a la espectrofotometría. Entre las que se han usado están la amperometría, la conductividad, la culombimetría y los electrodos selectivos de iones. Ciertas reacciones enzimáticas se

Tabla 22.2
Ejemplos de enzimas determinadas con frecuencia en química clínica

Enzima	Abreviatura	Reacción
Transaminasa glutámica pirúvica	GPT	α -Cetoglutarato + L-alanina $\xrightleftharpoons{\text{GOT}}$ glutamato + piruvato
		Piruvato + NADH + H ⁺ $\xrightleftharpoons{\text{LDH}}$ lactato + NAD ⁺
Transaminasa glutámica-oxaloacética	GOT	α -Cetoglutarato + aspartato $\xrightleftharpoons{\text{GOT}}$ glutamato + oxaloacetato
		Oxaloacetato + NADH + H ⁺ $\xrightleftharpoons{\text{MDH}}$ malato + NAD ⁺
Creatinina fosfocinasa	CK	Fosfato de creatinina + ADP $\xrightleftharpoons{\text{CK}}$ creatina + ATP
		ATP + glucosa $\xrightleftharpoons{\text{hexocinasa}}$ ADP + glucosa-6-fosfato
		Glucosa 6-fosfato + NAD ⁺ $\xrightarrow{\text{G-6PDH}}$ 6-fosfogluconato + NADH + H ⁺
Lactato deshidrogenasa	LDH	L-Lactato + NAD ⁺ $\xrightleftharpoons{\text{LDH}}$ piruvato + NADH + H ⁺
α -Hidroxibutirato deshidrogenasa	HBD	α -Cetobutirato + NADH + H ⁺ $\xrightleftharpoons{\text{HBD}}$ α -hidroxibutirato + NAD ⁺
Fosfatasa alcalina		Timolftaleína monofosfato de Na $\xrightarrow{\text{pH } 10.1}$ timolftaleína de Na + fosfato
Fosfatasa ácida		Igual que la fosfatasa alcalina, pero a pH 6.0

han medido con electrodos de enzima, cuya respuesta es específica para la reacción en particular; éstos se describieron en los capítulos 13 y 15.

Los **inhibidores** y **activadores enzimáticos** se pueden determinar empleando reacciones enzimáticas. La técnica más fácil es medir la disminución o el aumento de la rapidez de la reacción enzimática. En forma alternativa, se puede “titular” la enzima con un inhibidor (o viceversa), y se mide la cantidad de inhibidor necesaria para inhibir por completo la reacción. Por ejemplo, se han determinado elementos traza gracias a su inhibición o activación de las reacciones enzimáticas.

Lo ideal es que muchas enzimas representen el sueño, en química analítica, de ser reactivos absolutamente específicos, pero por los efectos de inhibidores, y también por problemas relacionados con el control del pH y la fuerza iónica, se deben usar con precaución.

La mayor parte de los procedimientos descritos antes se pueden adaptar a sistemas de seguimiento automático de rapidez para el análisis de las enzimas. Véase, por ejemplo, la referencia 7.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Reacciones de primer orden, vida media (ecuaciones clave: 22.3, 22.4), p. 643
- Reacciones de segundo orden, vida media (ecuaciones clave: 22.7, 22.8), p. 645
- Catálisis con enzimas: constante de Michaelis (ecuación clave: 22.14); uso de hojas de cálculo para determinarla, pp. 646, 649
- Determinaciones de sustrato (tabla 22.1), determinaciones de enzimas (tabla 22.2), p. 653

Preguntas

GENERALES

1. Indicar la diferencia entre una reacción de primer orden y una de segundo orden.
2. ¿Qué es vida media de una reacción? ¿Cuántas vidas medias son necesarias para que una reacción se complete?
3. ¿Qué es una reacción de pseudoprimer orden?
4. Indicar un método para determinar si una reacción entre dos sustancias A y B es de primero o de segundo orden.

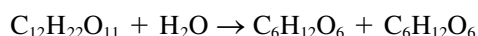
ENZIMAS

5. ¿Qué es una unidad internacional?
6. ¿Cuál es la diferencia entre la inhibición competitiva y la inhibición no competitiva de una enzima?
7. ¿Por qué los metales pesados con frecuencia son venenos para el organismo?
8. ¿Qué son las coenzimas?
9. Sugerir un método para determinar si un inhibidor enzimático es competitivo o no competitivo.
10. Sugerir cómo se podría usar una gráfica de Lineweaver-Burk para determinar si un inhibidor es competitivo o no competitivo.

Problemas

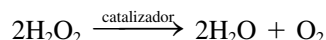
CINÉTICA

11. Una reacción de primer orden necesita 10.0 min para una conversión del 50% a productos. ¿Cuánto tiempo se requiere para el 90% de conversión? ¿Para el 99% de conversión?
12. Una reacción de primer orden necesitó 25.0 s para su conversión en un 30% a productos. ¿Cuál es la vida media de la reacción?
13. Una solución es 0.100 M en las sustancias A y B, que actúan con una reacción de segundo orden. Si la reacción se completa en un 15.0% en 6.75 min, ¿cuál es su vida media bajo estas condiciones? ¿Cuál sería la vida media si A y B tuvieran una concentración de 0.200 M, y cuánto tiempo sería necesario para completar 15% de la reacción?
14. La sacarosa se hidroliza formando glucosa y fructosa:



En solución acuosa diluida, la concentración de agua permanece esencialmente constante, por lo que la reacción es de pseudoprimer orden, y tiene cinética de primer orden. Si en 9.00 h se hidroliza 25.0% de una solución de sacarosa 0.500 M, ¿en cuánto tiempo las concentraciones de glucosa y fructosa serán iguales a la mitad de la concentración de la sacarosa remanente?

15. El peróxido de hidrógeno se descompone mediante una reacción de segundo orden:



Si en 8.60 min se descompone 35% de una solución 0.1000 M, ¿cuánto tiempo se requiere para desprender 100 mL de O_2 a partir de 100.0 mL de una solución de H_2O_2 0.1000 M medidos en condiciones estándar de presión y temperatura?

ENZIMAS

16. La actividad de una preparación de glucosa oxidasa se determina midiendo el volumen de oxígeno gaseoso consumido en función del tiempo. Una fracción de 10.0 mg de la preparación se agrega a una solución que contiene glucosa 0.01 M, saturada de oxígeno. A los 20 min se determina que se han consumido 10.5 mL de oxígeno en condiciones estándar de temperatura y presión. ¿Cuál es la actividad de la preparación enzimática, expresada en unidades enzimáticas por miligramo? Si la enzima purificada tiene una actividad de 61.3 unidades/mg, ¿cuál es el porcentaje de pureza de esa preparación enzimática?

PROBLEMA PARA HOJA DE CÁLCULO

17. Cuando se rebana una manzana se torna café al exponerla al aire debido a la catálisis de oxidación de los fenoles en la manzana por la enzima *o*-difeníl oxidasa. Se lleva a cabo un experimento para determinar la constante de Michaelis de la *o*-difeníl oxidasa moliendo trozos frescos de manzana y centrifugándolos para producir un sobrenadante que sirva como fuente de la enzima (véase www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/E/EnzymeKinetics.html). Como sustrato se usa catecol. Se agrega una cantidad fija de la preparación enzimática a un tubo que contiene catecol 0.300 mM, y se mide el cambio de absorbancia a 540 nm a intervalos de 1 minuto durante varios minutos. El experimento se repite con otros tres tubos que contienen catecol 0.600,

1.20 y 4.80 mM. Se obtienen los siguientes resultados (mM de catecol/ $\Delta A/\text{min}$): 0.30/0.020; 0.60/0.035; 1.20/0.048; 4.80/0.081. Preparar una hoja de cálculo para determinar K_m .

Referencias recomendadas

CINÉTICA

1. H. H. Bauer, G. D. Christian y J. E. O'Reilly, eds., *Instrumental Analysis*, Boston: Allyn and Bacon, 1978, capítulo 18, "Kinetic Methods", por B. Mark, Jr.
2. R. A. Reinke y H. B. Mark, Jr., "Kinetic Aspects of Analytical Chemistry", *Anal. Chem.*, **46** (1974) 413R.
3. H. L. Pardue, "A Comprehensive Classification of Kinetic Methods of Analysis Used in Clinical Chemistry", *Clin. Chem.*, **23** (1977) 2189.
4. D. Perez-Bendito y M. Silva, *Kinetic Methods in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1988.
5. H. A. Mottola, *Kinetic Aspects of Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley-Interscience, 1988.

ENZIMAS

6. H. U. Bergmeyer, *Methods of Enzymatic Analysis*, 3a. ed., Nueva York: Wiley. Una serie de 12 volúmenes más un volumen de índice.
7. N. Gochman y L. J. Bowie, "Automated Rate-Monitoring Systems for Enzyme Analyses", *Anal. Chem.*, **48** (1976) 1189a.

SITIOS WEB

8. www.worthington-biochem.com. Vínculo al manual Worthington de enzimas, donde aparecen sus propiedades, su cuantificación y referencias. También hay una introducción a la bioquímica de las enzimas, tomado de su *Manual of Enzyme Measurements*, 1972.
9. www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme o www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/kinetics. Nomenclatura de enzimas de acuerdo con la Unión Internacional de Bioquímica (IUB) y la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).



Capítulo veintitrés

AUTOMATIZACIÓN EN LAS MEDICIONES

*“Si usted no sabe cómo hacer una cosa,
menos sabrá hacerlo en una computadora.”*

—Anónimo (según J. F. Ryan, *Today's Chemist at Work*)

Los servicios del químico analítico aumentan constantemente a medida que se desarrollan más y mejores pruebas analíticas y laboratorios clínicos. Con frecuencia, el analista debe manejar una gran cantidad de muestras, procesar inmensas cantidades de datos, o ambas cosas. Hay instrumentos que hacen automáticamente muchas o todas las etapas de un análisis, lo que aumenta de manera considerable la capacidad del laboratorio. Los datos generados a menudo se pueden procesar mejor mediante técnicas computarizadas, y las computadoras incluso se pueden conectar a los instrumentos analíticos. Un tipo importante de automatización es el control del proceso cuando se vigila el progreso de un proceso en una planta industrial en tiempo real (es decir, en línea) y se alimenta con información analítica continua a los sistemas de control que mantienen el proceso en las condiciones predeterminadas.

En este capítulo se describirán en forma breve los tipos de instrumentos y dispositivos automáticos que se suelen usar y los principios de su funcionamiento. Se describe su aplicación al control de procesos.

23.1 Principios de la automatización

Hay dos tipos básicos de equipos para automatización. Los **dispositivos automáticos** hacen operaciones específicas en determinados puntos del análisis, con frecuencia en el *paso de medición*. Así, un *titulador automático* detiene una titulación en su punto de equivalencia, sea mecánica o eléctricamente, al detectar un cambio en una propiedad de la solución. Los **dispositivos automatizados**, por otra parte, controlan y regulan un *proceso* sin la intervención humana; lo hacen mediante aparatos mecánicos y electrónicos regulados por *retroalimentación de la información* desde uno o varios sensores. Por lo anterior, un *titulador automatizado* puede mantener el pH de una muestra en un valor predeterminado, agregando ácido o base cuando detecta, mediante un electrodo de pH, una desviación respecto del pH establecido. Este instrumento se llama *controlador de pH*, y se puede usar por ejemplo para mantener el pH durante una reacción enzimática que produce o consume protones. En realidad, la velocidad de la reacción se puede determinar registrando la rapidez de adición de ácido o base para mantener constante el pH de la solución.

Los dispositivos automatizados se usan mucho en los sistemas de control del proceso, en tanto que los instrumentos automáticos, de diversa sofisticación, se usan en el laboratorio analítico. Estos últimos pueden efectuar todos los pasos de un análisis, desde la toma de muestra y la medición hasta la reducción y la presentación de los datos.

Los instrumentos automáticos mejoran la eficiencia de los analistas al ejecutar algunas de las operaciones que se hacen manualmente. Los instrumentos automatizados controlan un sistema con base en los resultados del análisis.

23.2 Instrumentos automatizados: control de procesos

En el análisis de los procesos químicos se hacen mediciones analíticas para proporcionar información sobre el avance del proceso o la calidad del producto. Hay varias formas en las que se puede analizar el proceso, y éstas se presentan en la figura 23.1. Las muestras se pueden tomar en forma intermitente y transportarlas al laboratorio para su medición. Esto permite el acceso a los instrumentos usuales de laboratorio y la capacidad de hacer diversas mediciones. Sin embargo, este procedimiento es relativamente lento, y en general se debe completar para disponer de la información analítica. Por lo anterior, el análisis de laboratorio es más adecuado para el *control de calidad*, a fin de determinar la calidad de un producto. Se pueden hacer mediciones más eficientes si el instrumento se transfiere a la planta química. Sin embargo, para que los análisis sean verdaderamente en tiempo real,

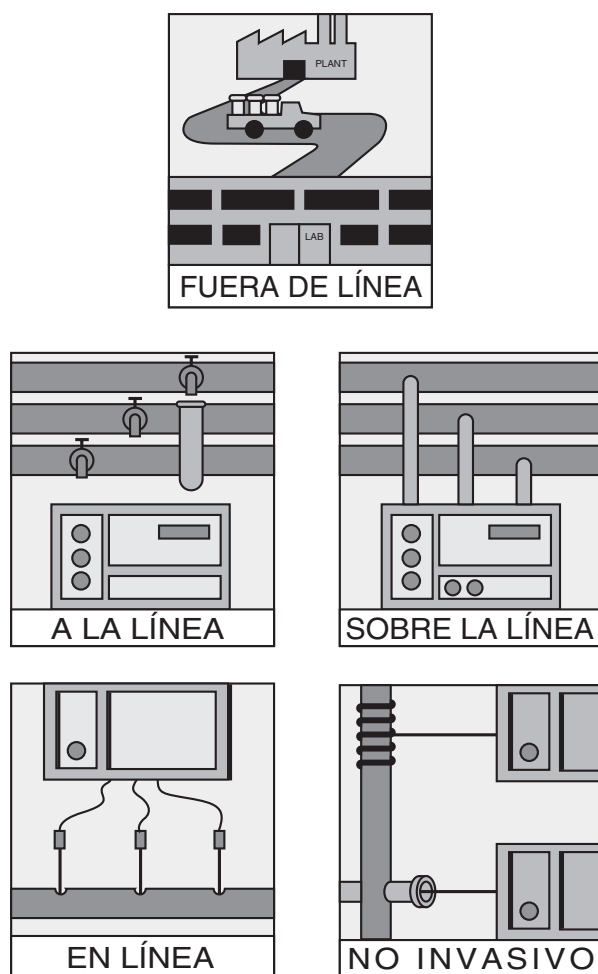


Figura 23.1. Métodos para analizar procesos. [Según J. B. Callis, D. Illman y B. R. Kowalski, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 624A. Copyright 1987 por American Chemical Society. Reimpresión autorizada por el propietario de los derechos.]

El uso de datos analíticos en el control automatizado del proceso puede ahorrar millones en efectivo en mejoras a la eficiencia de producción y a la calidad del producto.

deben conectarse los instrumentos directo al proceso químico y tener muestreo y análisis automáticos. Un método ideal sería instalar un sensor directo en la línea para que las mediciones sean continuas y no se requiera tratamiento químico de la muestra. Estos sensores tienen acción y disponibilidad más limitadas, porque deben ser selectivos para determinado analito y resistir el ambiente químico; no se deben envenenar y deben mantener su calibración. Un método todavía más ideal sería hacer mediciones no invasivas. Por ejemplo, un analito puede tener un espectro de absorbancia que permita su medición selectiva haciendo pasar luz por el sistema químico. También en este caso los tipos de mediciones del proceso serían limitados.

Un aspecto importante del análisis de procesos en tiempo real es el uso de los datos analíticos para controlar el proceso químico mediante retroalimentación de la información a un controlador que pueda alterar la adición de reactivos químicos para mantener a un intermediario, por ejemplo, en un nivel predeterminado. La aplicación de mediciones sobre la línea con control de procesos químicos por retroalimentación puede ahorrar millones o hasta cientos de millones por año a una empresa química al permitir la optimización del proceso para alcanzar la eficiencia máxima de reacción y formación de productos, y evitar así reacciones fallidas, detectar contaminantes, y cosas semejantes. Esta aplicación de la química analítica se ha convertido en una parte crítica de la producción industrial. El Centro de Química Analítica de Procesos (CPAC) de la Universidad de Washington es patrocinado por la industria para investigar sobre el avance de la tecnología para medición de procesos (ver www.cpac.washington.edu).

Los dispositivos de medición se pueden clasificar en continuos y discretos (por lote). El **instrumento continuo** mide constantemente alguna propiedad física o química de la muestra y produce una señal que es una función continua (uniforme) del tiempo. Un **instrumento discreto** o **por lote** analiza una muestra discreta o un lote y suministra información sólo en etapas discretas. En cualquier caso, se retroalimenta la información sobre la variable medida para vigilar o controlar los equipos. En cada técnica se usan procedimientos convencionales de medición analítica, y deben ser capaces de trabajar continuamente sin atenderlos.

ANALIZADORES CONTINUOS

Los instrumentos para el control continuo del proceso pueden hacer mediciones directamente en una corriente o en un reactor de procesos por lote, como un fermentador. En general, eso elimina cualquier operación analítica en la muestra y se deben usar dispositivos de detección directa, como los electrodos. Si se requiere diluir la muestra, controlar la temperatura o agregar un reactivo o si se hacen mediciones con instrumentos sin sensor, se desvía una pequeña fracción de la corriente que va a un conducto de pruebas donde los reactivos pueden mezclarse en forma continua y automática con la muestra para hacer la medición de prueba. La muestra puede pasar por un filtro antes de la medición.

Los instrumentos de control del proceso funcionan mediante un **circuito de control** formado por tres partes principales:

1. Un **sensor** o medidor, que vigila la variable que se controla.
2. Un **controlador**, que compara la variable medida con un valor de referencia (punto de control o de ajuste) y envía la información a un operador.
3. Un **operador** que activa algún dispositivo, como una válvula, para que la variable regrese al punto de control.

El ciclo de control funciona mediante un **mecanismo de retroalimentación**, como el que ilustra la figura 23.2. El proceso puede ser cualquier sistema industrial que prepare algún producto y tiene una o más entradas que se pueden controlar para proporcionar el producto (salida). El sensor mide la variable a controlar (por ejemplo, el pH, la temperatura, el

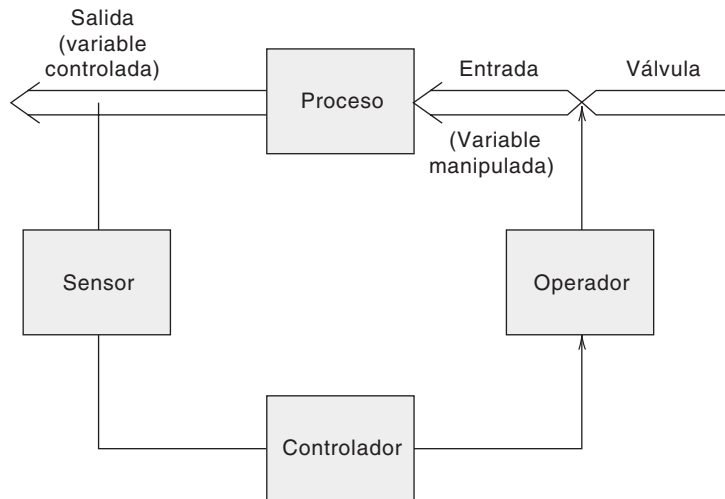


Figura 23.2. Circuito de control con retroalimentación.

reactivo). La información se envía al controlador, que compara la variable medida con un punto de referencia (punto de control) establecido. La diferencia se envía al operador, que activa la válvula (la abre o la cierra), o a algún aparato adecuado que ajuste la variable en el punto de control.

Esos dispositivos se caracterizan por su **tiempo muerto**. Éste es igual al intervalo de tiempo, después de la alteración de la variable en la entrada, durante el cual el sensor no siente cambio alguno en la variable a la salida. Éste incluye el tiempo analítico muerto. Se puede minimizar haciendo que el detector esté lo más cerca posible de la entrada y que el flujo sea rápido. En realidad, el sensor se puede poner en la entrada, antes del proceso; de esta manera se efectúa una acción correctiva sobre la variable manipulada (si cambia en forma errónea) antes de que el proceso tenga lugar y no necesita presentarse un error en la salida para que se inicie la acción correctiva. Sin embargo, el resultado no se detecta a la salida. A estos sistemas se les llama **sistemas de alimentación directa** y son **controles de circuito abierto**, al contrario de los **controles de circuito cerrado** en los sistemas de retroalimentación. Para el control se usan algoritmos complicados mediante computadoras, basados en métodos quimiométricos y en el análisis de varias variables, que rebasan el alcance de este texto.

ANALIZADORES DISCRETOS

En los analizadores discretos se toma una muestra de un lote a intervalos seleccionados y después se analiza; la información se envía al controlador y al activador de la manera acostumbrada. Es obvio que aumentan los tiempos muertos de muestreo y de análisis, en comparación con los analizadores continuos; la variable manipulada se mantiene en un valor fijo entre las mediciones. Si se presenta un error transitorio entre las mediciones no se detectará ni se corregirá. Por otro lado, un error transitorio corto se puede detectar durante el intervalo de medición para aplicarle una corrección durante todo el intervalo entre las mediciones.

Deben hacerse mediciones discretas cuando el instrumento detector requiera muestras discretas, como en un cromatógrafo o un analizador de inyección de flujo (ver adelante).

INSTRUMENTOS PARA EL CONTROL AUTOMATIZADO DE PROCESOS

En principio se puede usar cualquier medidor o técnica convencional en el control del proceso; pero en el caso normal, los instrumentos de laboratorio no son adecuados para medir sobre la línea. Los instrumentos deben ser más robustos y estar diseñados para trabajar sin atención, con un mínimo de exigencias para operarlos, pues con frecuencia el

personal de la planta no está formado por químicos analíticos adiestrados (no obstante, ¡como químico analítico residente usted estaría a cargo de seleccionar la técnica de medición, el instrumento y de que se obtengan datos fiables y seguros!).

La elección está dictada por costos y su aplicabilidad al problema. Los métodos más usados son: la espectrofotometría, para medir color, absorción ultravioleta o infrarroja, turbidez, espesor de película y cosas semejantes; electroquímica, en particular potenciometría, para medir el pH y la actividad de cationes o aniones, y la cromatografía de líquidos, sobre todo en la industria petroquímica, donde se vigilan mezclas complejas en las torres de destilación. Las mediciones espectrofotométricas y de otra índole se suelen efectuar con rapidez usando el análisis por inyección de flujo.

23.3 Instrumentos automáticos

Los instrumentos automáticos le alivian al analista la carga de diversas operaciones. La naturaleza precisa de las operaciones automáticas mejora la precisión.

Los instrumentos automáticos, como se dijo antes, no son aparatos de control por retroalimentación, sino que están diseñados para automatizar uno o más pasos en los análisis. Pretenden analizar varias muestras, ya sea para uno o varios analitos.

Los instrumentos automáticos hacen una o más de las operaciones siguientes:

1. Toma de muestra (por ejemplo, de un recipiente pequeño en un plato giratorio o en una línea de montaje)
2. Dosificación de la muestra
3. Dilución y adición de reactivo
4. Incubación
5. Colocación de la muestra que ya reaccionó en el sistema detector
6. Lectura y registro de los datos
7. Procesamiento de los datos (corrección por blancos y por curvas de calibración no lineales; cálculo de promedios o precisiones; correlación con el número de muestra; etc.)

Los instrumentos clínicos pueden tener además una función para desproteínizar la muestra. Los instrumentos que sólo hacen algunos de estos pasos, principalmente el procesamiento electrónico de los datos, se llaman **instrumentos semiautomáticos**.

Todos los instrumentos automáticos son “discretos” en la terminología de analizadores automatizados del proceso; eso quiere decir que analizan muestras discretas individuales. Se pueden clasificar como sigue:

1. **Instrumentos de muestreo discreto.** En el muestreo discreto, cada muestra reacciona (y en general es medida) en una celda o cámara separada. Esas muestras se pueden analizar una tras otra o en paralelo (ver más adelante).
2. **Instrumentos muestreadores de flujo continuo.** En el muestreo de flujo continuo las muestras pasan secuencial y continuamente por un tubo; quizás estén separadas por burbujas de aire. Cada una se mezcla en forma secuencial con reactivos, en el mismo tubo y en el mismo punto, para entonces pasar en forma secuencial a un detector.

Los muestreadores discretos tienen la ventaja de minimizar o evitar las contaminaciones cruzadas entre las muestras, aunque los instrumentos de flujo continuo requieren menos manipulaciones mecánicas, y pueden hacer mediciones muy precisas.

Se pueden diseñar instrumentos discretos para analizar un analito tras otro en las muestras. Son los llamados **instrumentos para lote** o **analizadores de un solo canal**. Véase la figura 23.3. Sin embargo, los que analizan las muestras en paralelo, es decir, simultáneamente,

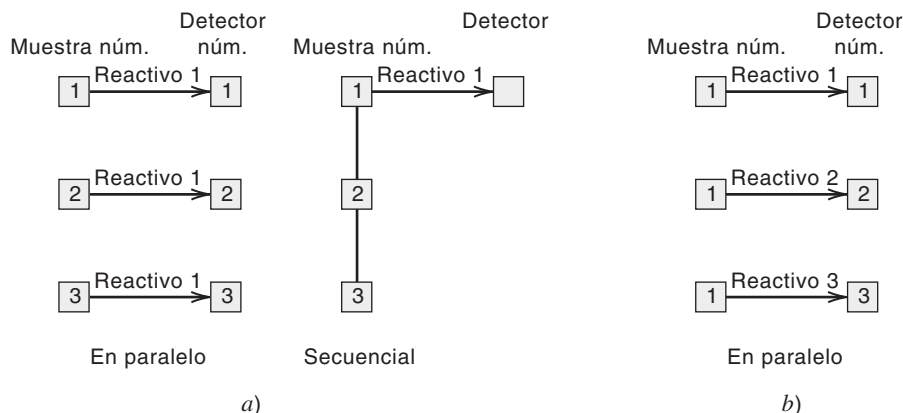


Figura 23.3. Analizadores discretos. a) De un solo canal (por lotes). b) De varios canales.

no en secuencia de uno por uno, pueden analizar una gran cantidad con mucha rapidez, y se pueden cambiar con facilidad para hacer diferentes análisis. Los analizadores discretos también pueden analizar alícuotas separadas de la misma muestra (una en cada recipiente) en paralelo para varios analitos diferentes. Son los **analizadores de varios canales**.

Los instrumentos de flujo continuo también pueden ser de un solo canal (por lotes), que determinan un solo analito en una serie continua de muestras, una tras otra (figura 23.4). También pueden ser instrumentos de varios canales, en los que se dividen las muestras en uno o más puntos corriente abajo y forman corrientes separadas para análisis de analitos diferentes, o se pueden tomar alícuotas separadas de las muestras con varias corrientes en paralelo.

Los instrumentos modernos son tan complicados que en realidad poseen funciones *automatizadas*, sea que se haga o no un análisis automático. Por ejemplo, pueden vigilar la temperatura de la cámara de la muestra y retroalimentarla a un regulador para mantenerla constante (importante en las reacciones enzimáticas).

23.4 Análisis por inyección de flujo

PRINCIPIOS

El análisis por inyección de flujo (FIA, flow injection analysis) se basa en la inyección de una muestra líquida en una corriente acarreadora continua, no segmentada, de un líquido adecuado. La muestra inyectada forma una zona, la cual es transportada hacia un detector. La mezcla del reactivo en la corriente se hace principalmente por procesos controlados por difusión, y se efectúa una reacción química. El detector registra continuamente la absorbancia, el potencial de electrodo u otro parámetro físico que varíe como resultado del paso del material de la muestra por la celda de flujo.

El análisis por inyección de flujo se parece a la HPLC sin columna. Es a baja presión y no hay separación. La muestra inyectada se mezcla y reacciona con la corriente del flujo. Se registra una señal transitoria (máximo).

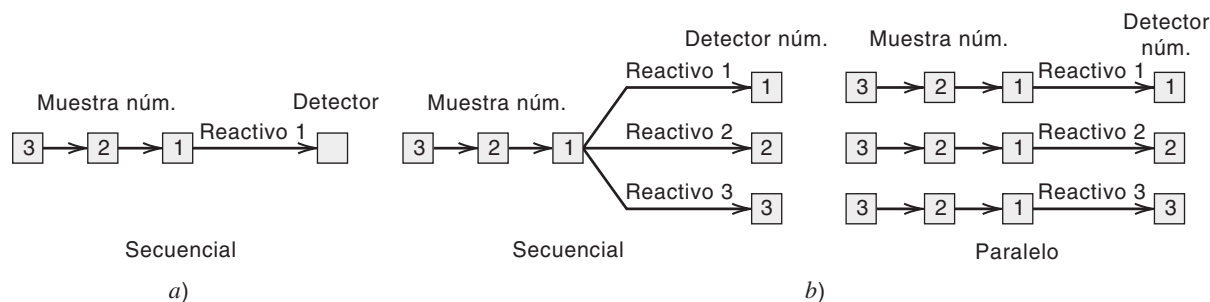


Figura 23.4. Analizadores de flujo continuo. a) Un solo canal (de lotes). b) De varios canales.

En la figura 23.5 se muestra un ejemplo de uno de los métodos más sencillos de inyección de flujo: la determinación espectrofotométrica de cloruro en un sistema de un solo canal. Está basado en la liberación de iones tiocianato, del tiocianato de mercurio(II), y su reacción con el hierro(II), para medir el color rojo resultante (ver los detalles en el experimento 37). Las muestras, con contenidos de cloruro entre 5 y 75 ppm, se inyectan (S) a través de una válvula de $30\ \mu\text{L}$ a la solución acarreadora, la cual contiene el reactivo mezclado; se bombea a $0.8\ \text{mL/min}$. En el camino al detector (D) se forma tiocianato de hierro(III), en un serpentín mezclador (de $50\ \text{cm}$ de longitud, $0.5\ \text{mm}$ de diámetro interno), y la muestra inyectada forma una zona que se dispersa en la corriente del reactivo acarreador. El serpentín de mezcla minimiza el ensanchamiento de la banda (de la zona de muestra) debido a fuerzas centrífugas y produce registro de máximos más agudos. Se vigila constantemente la absorbancia A de la corriente acarreadora a $480\ \text{nm}$ en una microcelda de paso ($10\ \mu\text{L}$ de volumen) y se registra (figura 23.5b). Para demostrar la reproducibilidad de la lectura analítica, cada muestra en este experimento se inyecta por cuadruplicado, por lo que se analizaron 28 muestras a siete concentraciones diferentes de cloruro. Como esto tardó 14 minutos, el promedio de la rapidez de muestreo fue de 120 muestras por hora. Los barridos rápidos de los máximos de las muestras de 75 y 30 ppm (mostrados a la derecha de la figura 23.5b) confirman que quedó menos de 1% de la solución en la celda de flujo para cuando se inyectó la siguiente muestra, y que no hubo sobreacarreamiento cuando se inyectaron las muestras a intervalos de 30 segundos.

Una propiedad clave del análisis por inyección de flujo es que como se reproducen todas las condiciones, la dispersión está muy controlada y es reproducible. Es decir, todas las muestras se procesan secuencialmente de la misma manera a su paso por el canal analítico; en otras palabras, lo que le sucede a una muestra le sucede de la misma manera a cualquiera otra.

Se suele usar una bomba peristáltica para impulsar la corriente. En los análisis de proceso, estas bombas no son adecuadas porque debe cambiarse con frecuencia el tubo de la bomba, y se usan bombas más robustas, como de jeringa, o bien el bombeo se hace por desplazamiento de aire en un recipiente. El inyector puede ser una válvula inyectora giratoria, como las que se usan en cromatografía de líquidos de alta eficiencia. Una derivación permite

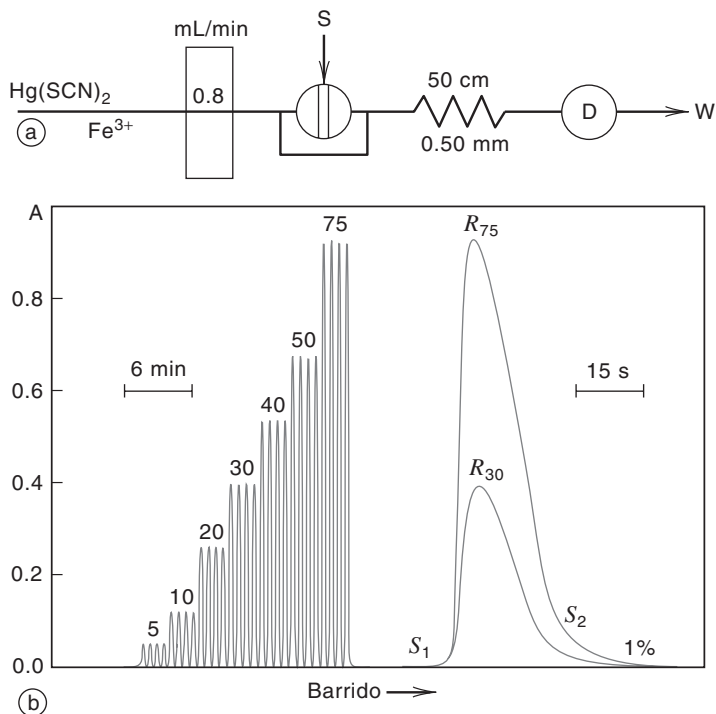


Figura 23.5. a) Diagrama de inyección de flujo para la determinación espectrofotométrica de cloruros: S es el punto de inyección de la muestra, D es el detector y W es la descarga. b) Resultado analógico que muestra los análisis de cloruros en el intervalo de 5 a 75 ppm de Cl^- con el sistema representado en a).

el paso del acarreador cuando la válvula de inyección está en la posición de cargar. El volumen de la muestra inyectada puede ser de 1 a 200 μL (el caso típico es de 25 μL), que a su vez no requiere más de 0.5 mL del reactivo por ciclo de muestreo. Esto hace que el análisis por inyección de flujo sea una técnica microquímica sencilla, capaz de tener una gran rapidez de muestreo y de consumir mínimas cantidades de muestra y reactivo. La bomba, la válvula y el detector pueden estar controlados por computadora en operación automatizada.

El análisis por inyección de flujo es una técnica general de manejo de soluciones aplicable a diversas tareas, que van de la medición del pH o la conductividad a la colorimetría y las determinaciones enzimáticas. Para diseñar bien cualquier sistema de análisis por inyección de flujo se debe tener en cuenta la función que se desea ejecutar. Para la medición del pH, o en la conductometría, o para la absorción atómica simple, cuando se debe medir la composición de la muestra original, la muestra debe transportarse por el canal de inyección de flujo y entrar a la celda de flujo sin diluir, en una forma que sea reproducible. Para otros tipos de determinaciones, como la espectrofotometría, el analito se debe convertir en un compuesto medible por un detector dado. Los requisitos previos para efectuar estas determinaciones consisten en que, durante el transporte por el canal de inyección de flujo, la zona de muestra se mezcle en forma adecuada con los reactivos y se permita que transcurra el tiempo necesario para producir determinado compuesto en cantidades detectables.

Además del sistema de una sola línea que se describe en la figura 23.5, se puede usar una variedad de múltiples configuraciones para permitir la aplicación a casi cualquier sistema químico. Varias de éstas se muestran en la figura 23.6. El sistema de dos líneas (B) es el que se usa con más frecuencia; la muestra se inyecta en un acarreador inerte y a continuación se mezcla con el reactivo. De esta manera el reactivo se diluye con una cantidad constante, aun cuando se inyecte la muestra, a diferencia del sistema de una sola línea; la dilución del reactivo por la muestra en un sistema de una sola línea estará bien siempre que haya exceso de reactivo y que éste mismo no tenga una respuesta de fondo que se altere por dilución. Si dos reactivos son inestables al mezclarlos se pueden mezclar sobre la línea (C o D) o bien con la muestra después de la inyección (E). El mezclado de serpentines puede ser esparcido entre los puntos de confluencia para permitir que haya dispersión antes de unirse.

Sólo se requieren unos pocos microlitros de muestra.

Con mayor frecuencia se usa un sistema de dos líneas.

COEFICIENTE DE DISPERSIÓN

El grado de dispersión o dilución en un sistema por inyección de flujo se caracteriza por el coeficiente de dispersión D . Imagínese un experimento simple de dispersión. Una solución de la muestra contenida dentro de la cavidad de la válvula antes de su inyección es homogénea y tiene la concentración original C^0 que, si pudiera ser escaneada por un detector, produciría una señal cuadrangular cuya altura sería proporcional a la concentración de la muestra (figura 23.7). Cuando se inyecta la zona de muestra, sigue el movimiento de la corriente acarreadora y forma una zona dispersa cuya forma depende de la geometría del canal y de la velocidad de flujo. Por lo anterior, la curva de respuesta tiene la forma de

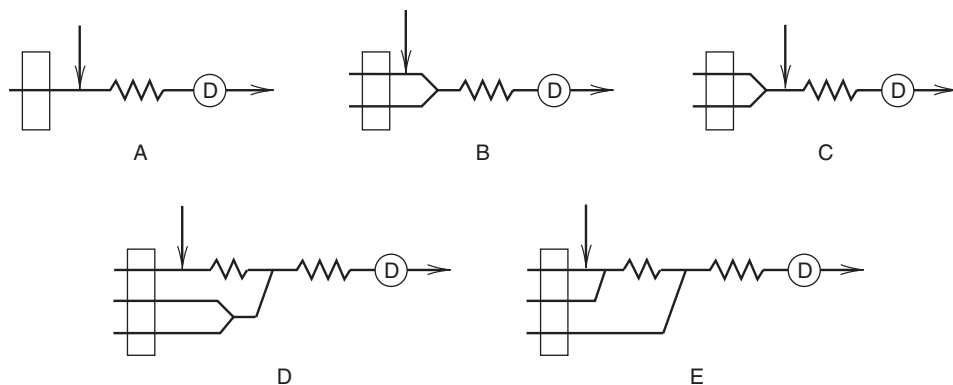
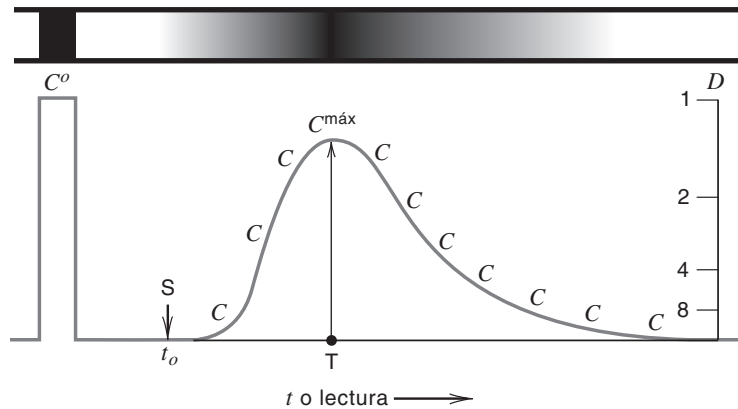


Figura 23.6. Tipos de análisis por inyección de flujo múltiples. A, Una sola línea; B, dos líneas con un solo punto de confluencia; C, reactivo premezclado en una sola línea; D, dos líneas con un solo punto de confluencia y premezclado del reactivo; E, tres líneas con dos puntos de confluencia.

Figura 23.7. La zona de muestra originalmente homogénea (arriba a la izquierda) se dispersa durante su movimiento a través del reactor tubular (arriba, centro) cambiando así de un perfil cuadrangular original (abajo, izquierda), de concentración inicial C^o a un gradiente continuo de concentración máxima $C^{\text{máx}}$ en el ápice del máximo.



una montaña, que indica un continuo de concentraciones (figura 23.7) que forman un gradiente de concentración dentro del cual no hay elemento aislado del fluido que tenga la misma concentración del material de la muestra que el de al lado. Sin embargo, es útil considerar que ese continuo de concentraciones está formado por elementos individuales del fluido, cada uno de ellos con cierta concentración C de material de muestra, porque cada uno de estos elementos es una fuente potencial de resultados.

Para diseñar en forma racional un sistema de análisis por inyección de flujo es importante conocer: *a*) cuánto se diluye la solución original de la muestra en su camino al detector, y *b*) cuánto tiempo ha pasado entre la inyección de la muestra y la lectura. Para este fin se ha definido el **coeficiente de dispersión D** como la relación de concentraciones del material de muestra antes y después de haberse efectuado el proceso de dispersión en el elemento de fluido que produce la lectura analítica:

$$D = \frac{C^o}{C} \quad (23.1)$$

Si la lectura analítica se basa en medir la altura del máximo, se debe considerar la concentración en el interior de ese elemento (imaginario) del fluido, que corresponde al máximo de la curva registrada ($C^{\text{máx}}$). Así, al relacionar $C^{\text{máx}}$ con la concentración original de la solución inyectada de muestra C_s^o (figura 23.7)

$$D_s^{\text{máx}} = \frac{C_s^o}{C_s^{\text{máx}}} \quad (23.2)$$

y así se pueden estimar las concentraciones de la muestra (y el reactivo). Obsérvese en el máximo que la definición de coeficiente de dispersión sólo considera el proceso físico de dispersión y no las reacciones químicas que siguen, ya que D se refiere a las concentraciones del material de la muestra antes y después de haber tenido lugar el proceso de dispersión.

La solución de la muestra, por ejemplo cuando $D = 2$, se ha diluido 1:1 con la corriente acarreadora. Por comodidad, la dispersión de la muestra se ha definido como *limitada* ($D = 1$ a 3), *media* ($D = 3$ a 10) y *grande* ($D > 10$), y los sistemas de análisis por inyección de flujo diseñados de acuerdo con ella se han usado para diversas tareas de análisis. Se prefiere la dispersión limitada cuando la muestra inyectada sólo es acarreada a un detector (por ejemplo, el electrodo selectivo de ion, o el espectrofotómetro de absorción atómica). La dispersión media se emplea cuando el analito debe mezclarse así como reaccionar con el reactivo acarreador para formar un producto que se detecte. La dispersión grande sólo se usa cuando la muestra debe diluirse para llevarla al intervalo de medición.

La forma más sencilla para medir el coeficiente de dispersión es inyectar un volumen bien definido de una solución con un colorante en una corriente acarreadora incolora y seguir

El coeficiente de dispersión es una medida del grado de dilución de la muestra inyectada en el momento de la lectura del resultado.

Las dispersiones típicas para reacciones son de 3 a 10.

la absorbancia de la zona del colorante dispersando continuamente con un colorímetro. Para obtener el valor de $D^{\text{máx}}$, se mide la altura (es decir, la absorbancia) del máximo registrado y se compara entonces con la distancia entre la línea base y la señal original obtenida cuando la celda está llena del colorante no diluido. Siempre que se aplique la ley de Beer-Lambert, la relación de las absorbancias respectivas produce un valor de $D^{\text{máx}}$ que describe el análisis por inyección de flujo múltiple, el detector y el método de detección para el mismo.

El análisis por inyección de flujo es resultado de dos procesos cinéticos, los cuales tienen lugar simultáneamente: el proceso *físico* de la dispersión de la zona y el proceso *químico*, resultado de las reacciones entre la muestra y las especies reactivas. El proceso físico fundamental se encuentra bien reproducido para cada ciclo de inyección individual; sin embargo, no es éste un mezclado homogéneo, sino una dispersión, cuyo resultado es un gradiente de concentración de la muestra dentro de la corriente acarreadora.

FACTORES QUE AFECTAN LA ALTURA DEL MÁXIMO

El grado de dispersión, y en consecuencia la altura registrada del máximo, se determinan de acuerdo con varios factores, que incluyen el volumen inyectado de muestra, la geometría y longitud del canal, y la rapidez del flujo.

1. Volumen de la muestra. Considérese un sistema de análisis por inyección de flujo de una línea donde la rapidez de bombeo Q es 1.5 mL/min, la longitud del tubo L es 20 cm, y el diámetro interior del tubo es 0.5 mm. Cuando se inyectan volúmenes crecientes de una solución de un colorante se registrarán varias curvas (figura 23.8a), todas ellas partiendo del mismo punto de inyección S, donde la altura de los máximos individuales aumentará hasta llegar a un límite superior de “estado estacionario”. En este nivel final, la

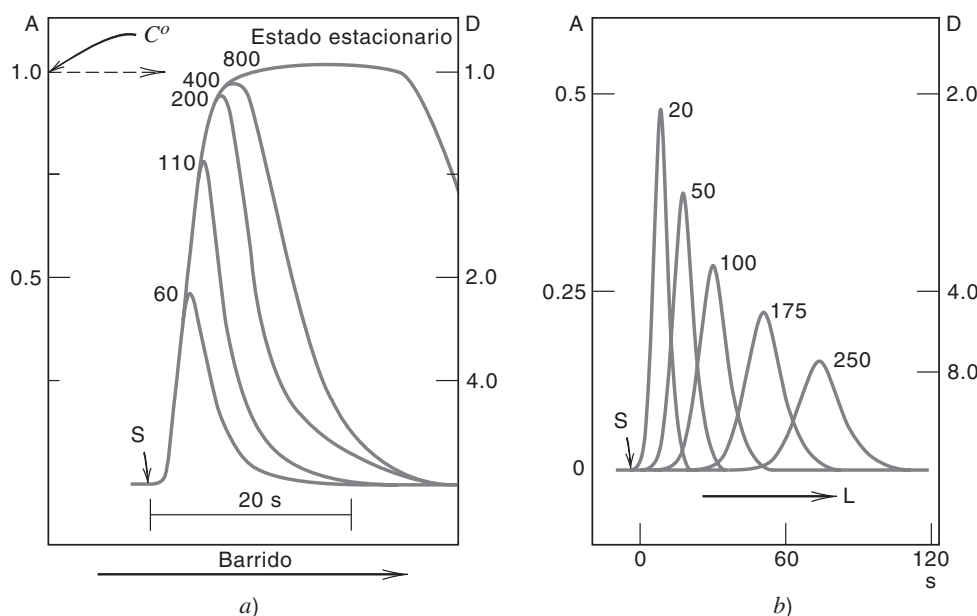


Figura 23.8. a) Curvas de respuesta en función del volumen inyectado de muestra. La altura del máximo aumenta al incrementar el volumen de muestra inyectada a un sistema de análisis por inyección de flujo, hasta llegar a una señal de estado estacionario. Todas las curvas parten desde el mismo punto S, y los volúmenes de muestra son 60, 110, 200, 400 y 800 μL . Obsérvese que $D = 1$ para el estado estable, y que el ancho del máximo aumenta al elevarse el volumen inyectado. b) Dispersión de la zona de muestra inyectada en un sistema de análisis por inyección de flujo en función de la longitud del tubo recorrida. El volumen de la muestra es 60 μL ; L se expresa en centímetros; el diámetro interno del tubo es 0.5 mm y Q es 1.5 mL/min en todos los experimentos.

absorbancia registrada corresponderá a la concentración del colorante sin diluir C^0 , y $D = 1$. Los bordes ascendentes de todas las curvas coinciden y tendrán la misma forma, independientemente de los volúmenes inyectados, por lo que:

$$\frac{C^{\text{máx}}}{C^0} = 1 - \exp(-kS_v) = 1 - \exp(-0.693n) = 1 - 2n = \frac{1}{D^{\text{máx}}} \quad (23.3)$$

donde $n = S_v/S_{1/2}$, y $S_{1/2}$ es el volumen de la solución de muestra necesaria para llegar a 50% del valor del estado estacionario, correspondiente a $D = 2$. Si se inyectan dos volúmenes $S_{1/2}$ se llega a 75% de C^0 , que corresponde a $D = 1.33$, y así sucesivamente. Por ende, nunca se puede alcanzar verdaderamente $D = 1$; sin embargo, la inyección de cinco volúmenes $S_{1/2}$ resulta en $D = 1.03$, y la de siete volúmenes $S_{1/2}$ resulta en $D = 1.008$, que corresponde a 99.2% de C^0 . Como no se usa el concepto de estado estacionario en el análisis por inyección al flujo, los requerimientos máximos de muestra no serán mayores a dos $S_{1/2}$ para dispersión limitada, y menos de una $S_{1/2}$ en todas las demás aplicaciones. Como la primera parte de la curva ascendente se podría considerar casi lineal, hasta 50% de C^0 (es decir, $D = 2$), entonces para los resultados del análisis por inyección de flujo con coeficientes de dispersión medianos y grandes, *la altura del máximo es directamente proporcional al volumen inyectado*.

Se ha demostrado que $S_{1/2}$ es una función de la geometría y del volumen del canal de flujo.

2. Longitud del canal y rapidez de flujo. El microrreactor entre el puerto de inyección y el detector puede tener longitudes, diámetros y geometrías diferentes. La influencia de la longitud L del serpentín y el radio interno R del tubo sobre la dispersión se han estudiado en detalle. El uso de tubería de diámetro pequeño dará por resultado bajos valores de $S_{1/2}$ debido a que el mismo volumen de la muestra ocupará mayor longitud de tubo (θ). Es decir, la muestra se mezclará y se dispersará con menor facilidad. El volumen inyectado de muestra, S_v , es igual a $\pi R^2 \theta$. Si el radio del tubo R baja a la mitad, la muestra ocupará una porción cuatro veces más larga del tubo (θ), por lo que el valor de $S_{1/2}$ será cuatro veces menor. Entonces, si se desea tener una **dispersión limitada**, se debe inyectar un volumen mínimo de muestra de una $S_{1/2}$ en un sistema múltiple formado por el tramo más corto posible de un tubo angosto que una el puerto de inyección y el detector.

Aunque se requiera un sistema de análisis de inyección de flujo de **dispersión intermedia**, resulta más económico usar canales angostos. La economía de la muestra y del reactivo mejora cuando se usan canales angostos, porque para la misma velocidad lineal de flujo, la rapidez de bombeo Q en un tubo de radio R es sólo la cuarta parte de la que se requiere para un tubo de radio $2R$. Los diámetros internos óptimos de los tubos que conectan el puerto de inyección con el detector son de 0.5 a 0.8 mm. Cuanto más angostos sean los conductos estarán más propensos a obstruirse.

Cuando se diseñan sistemas con dispersión media, donde se debe mezclar y hacer reaccionar la muestra con los componentes de la corriente acarreadora, se tiende a aumentar primero la longitud L del tubo para incrementar el tiempo medio T de residencia. Sin embargo, podría esperarse que la dispersión de la zona de muestra aumente al elevarse la distancia recorrida, y finalmente ese ensanchamiento de banda se traducirá en pérdida de la sensibilidad y menor frecuencia de muestreo (ver la figura 23.8). Así, al aumentar la longitud del tubo, se obtiene una serie de curvas cuya altura disminuye al aumentar la longitud del tubo. Se ha demostrado que la dispersión en un análisis por inyección de flujo causada por el flujo en un tubo angosto abierto aumenta en forma proporcional a la raíz cuadrada del tiempo medio de residencia T (o de la distancia recorrida L).

Así las cosas, aunque el ensanchamiento de zona se vuelva progresivamente menor en relación con la distancia recorrida, el aumento de T obtenido como consecuencia de aumentar la longitud L (para tener mayor dispersión) no tiene sentido más allá de cierto límite. Es preferible mantener L corta para tener máximos angostos y resultados rápidos.

La altura del máximo es proporcional al volumen inyectado de muestra, cuando la dispersión es media ($S_v < S_{1/2}$).

Al aumentar al doble el diámetro del tubo aumentan cuatro veces los volúmenes requeridos de muestra y reactivo.

Debido a las distancias físicas entre los componentes individuales del sistema de inyección de flujo (puerto de inyección, serpentines de reacción, celda de paso), debe hacerse un balance, y en consecuencia, en la práctica, la longitud total de un sistema múltiple para análisis por inyección de flujo es de 10 a 100 cm de tubo de 0.5 mm. Se pueden tener tiempos de residencia hasta de 20 s mediante una selección de la rapidez de flujo.

En resumen, la dispersión de la zona de muestra aumenta con la raíz cuadrada de la distancia recorrida en el conducto tubular y con la raíz cuadrada del radio del tubo. En general, aumenta algo al incrementarse la rapidez del flujo, pero puede comportarse de manera inversa con flujos muy bajos donde predominan los efectos de difusión.

$$D \propto L^{1/2} R^2$$

3. Geometría del conducto. Más que un tubo recto, se suele usar alguna forma de tubo enrollado o curvado como microrreactor para análisis por inyección de flujo. Esto tiene por objeto aumentar el grado del mezclado radial induciendo un flujo secundario debido a fuerzas centrífugas cuando la solución recorre una trayectoria curva. Esta mayor dispersión radial reduce el perfil parabólico en la dirección axial que se forma cuando se inyecta la zona de muestra a una corriente acarreadora con flujo laminar (en el flujo laminar, la velocidad en el centro es el doble que la velocidad promedio, en tanto que en las paredes del tubo es cero; esto da un perfil parabólico en la dirección axial). Por tanto, al inducir un flujo secundario, el reactivo se mezcla más fácilmente con la muestra y se reduce la dispersión axial de la zona de muestra.

El relajamiento del perfil laminar en la dirección radial se alcanza en forma óptima creando una turbulencia local, con lo que se modifica bruscamente la dirección del flujo. De este modo, los elementos del fluido que estén retrasados por estar cerca de las paredes del canal pasan a la línea central de avance rápido, en tanto que los elementos de fluido que hayan avanzado se dirigen a sitios más cercanos a la pared del tubo. Cuanto más frecuente sea la repetición de este proceso, el gradiente de concentración dentro de la zona dispersada de la muestra será más simétrico, y la forma del máximo cambiará de asimétrica a simétrica (gaussiana). Se produce un máximo más alto y más angosto. Esto se logra a veces preparando un reactor anudado; es decir, aquel en el que hay varios nudos dispuestos en forma cercana en un tubo de plástico.

Al inducir flujo secundario mediante rodeo de una curva, se agudizan los máximos y se incrementa su altura.



Ejemplo 23.1

Una solución de colorante fluye continuamente por la celda de flujo de un detector espectrofotométrico y la absorbancia registrada es 0.986. Se inyectan 25.0 μL de la misma solución de colorante a la corriente acarreadora en un circuito de inyección, y la absorbancia máxima del máximo que resulta con la inyección de flujo es 0.327. ¿Cuál es: a) el coeficiente de dispersión, y b) el valor de $S_{1/2}$?

Solución

$$D^{\text{máx}} = \frac{A^o}{A^{\text{máx}}} = \frac{0.986}{0.327} = 3.01$$

De la ecuación 23.3,

$$\begin{aligned} \frac{1}{D^{\text{máx}}} &= 1 - 2 \frac{S_v}{S_{1/2}} \\ \frac{1}{3.01} &= 1 - 2 \frac{25.0 \mu\text{L}}{S_{1/2}} \\ S_{1/2} &= 74.9 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Ejemplo 23.2

Si el volumen de la muestra en el ejemplo 23.1 es $25.0 \mu\text{L}$, la rapidez de flujo 1.00 mL/min , y la longitud del serpentín del reactor 50.0 cm con tubo de 0.800 mm de diámetro interno, ¿cuál sería el coeficiente de dispersión: *a)* si cambia el volumen de la muestra a $50.0 \mu\text{L}$, y *b)* si cambia la longitud del serpentín a 100 cm , con tubo de 0.500 mm de diámetro interno y rapidez de flujo de 0.750 mL/min ?

Solución

a) De la ecuación 23.3,

$$\frac{1}{D^{\text{máx}}} = 1 - 10^{-kS_v}$$

$$\frac{1}{3.01} = 1 - 10^{-k(25.0 \mu\text{L})}$$

$$\log 0.668 = -k(25.0 \mu\text{L})$$

$$k = 7.01 \times 10^{-3} \mu\text{L}^{-1}$$

Para $S_v = 50.0 \mu\text{L}$,

$$\frac{1}{D^{\text{máx}}} = 1 - 10^{-(7.01 \times 10^{-3} \mu\text{L}^{-1})(50.0 \mu\text{L})}$$

$$\frac{1}{D^{\text{máx}}} = 1 - 10^{-0.351} = 0.554$$

$$D^{\text{máx}} = 1.80$$

b) $D \propto L^{1/2} R^2 = kL^{1/2} R^2$

Por consiguiente

$$3.01 = k(50.0 \text{ cm})^{1/2} (0.0400 \text{ cm})^2$$

$$k = 266 \text{ cm}^{-2.5}$$

Para $L = 100 \text{ cm}$ y $R = 0.0250 \text{ cm}$,

$$D = 266 \text{ cm}^{-2.5} (100 \text{ cm})^{1/2} (0.0250 \text{ cm})^2$$

$$D = 1.66$$

MEDICIONES CON FLUJO DETENIDO

En el análisis por inyección de flujo se pueden hacer mediciones cinéticas.

El análisis por inyección de flujo es capaz de alcanzar precisiones muy altas, mejores al 1%, como resultado de una dispersión muy controlada de la muestra en una corriente de flujo continuo. Pueden hacerse mediciones cinéticas con el análisis por inyección de flujo deteniendo con precisión (bajo control por computadora) el flujo del analito producto de la celda detectora en una posición que corresponda al máximo o a algún punto posterior a éste, dependiendo de las concentraciones. Entonces se registra el cambio de señal, por ejemplo de absorbancia, durante un tiempo para obtener la rapidez. La pendiente de esta señal registrada se grafica para distintas concentraciones para preparar una curva de calibración. Esa técnica es útil para análisis enzimáticos (capítulos 22 y 24). Una ventaja de

estas mediciones cinéticas es que la curva de rapidez es selectiva para el analito, y la señal de rapidez no es parte de una señal de fondo (aunque de todos modos siempre se debe correr un blanco para establecer la señal plana de base para medir la parte seleccionada del máximo o para corregir alguna reacción enzimática de fondo).

Se remite al lector a las referencias al final del capítulo con descripciones completas de las muchas variaciones y aplicaciones del análisis por inyección de flujo.

ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

El análisis por inyección secuencial (SIA, sequential injection analysis) es un método de inyección controlado por computadora, de línea única, que simplifica el sistema múltiple y es más robusto para que su operación no deba de ser atendida. El flujo es intermitente y sólo se usan algunos microlitros de reactivo. En lugar de una válvula de inyección para introducir la muestra, la inyección usa una válvula de selección multipuertos como la que se ve en la figura 23.9. La conexión o puerto común de la válvula, al centro, puede comunicar con cualquiera de los demás puertos al girar eléctricamente la válvula. Está conectada con una bomba reversible de pistón mediante una válvula de dos posiciones. El acarreador se succiona en la bomba en una posición y se entrega a la válvula en la otra. Entre la bomba y la válvula se coloca un serpentín de retención para evitar que la solución aspirada (inyectada) entre a la bomba. Los diferentes puertos de la válvula se conectan a la muestra, al reactivo, a los estándares, al depósito de desechos y al detector. En funcionamiento primero se llena la bomba con el acarreador. La válvula se cambia a la posición del detector, y el pistón impulsa al acarreador por el sistema hasta que sale por el lado de los desechos. Entonces la válvula se cambia a la posición de la muestra y se succionan unos pocos microlitros de ella invirtiendo el flujo de la bomba operando con tiempos precisos (antes de iniciar el análisis, los tubos de muestra y de reactivo se llenan aspirando algo de exceso en el serpentín de retención y se evacúan hacia los desechos vía el puerto auxiliar de desechos). La bomba se detiene durante la rotación de la válvula para evitar golpes de presión. Después de introducir la muestra, el reactivo se aspira, junto a la muestra. Entonces las soluciones de muestra y de reactivo se inyectan sucesivamente al serpentín de retención, de ahí el nombre de análisis por inyección secuencial. Por último, la válvula se cambia a la vía del detector, se cambia la bomba a flujo directo y las soluciones inyectadas son impulsadas por el serpentín de reacción hacia la celda del detector de flujo. Las soluciones se mezclan por difusión y fuerzas secundarias, y reaccionan formando un producto que es detectado, causando una señal transitoria como en el análisis convencional por inyección de flujo.

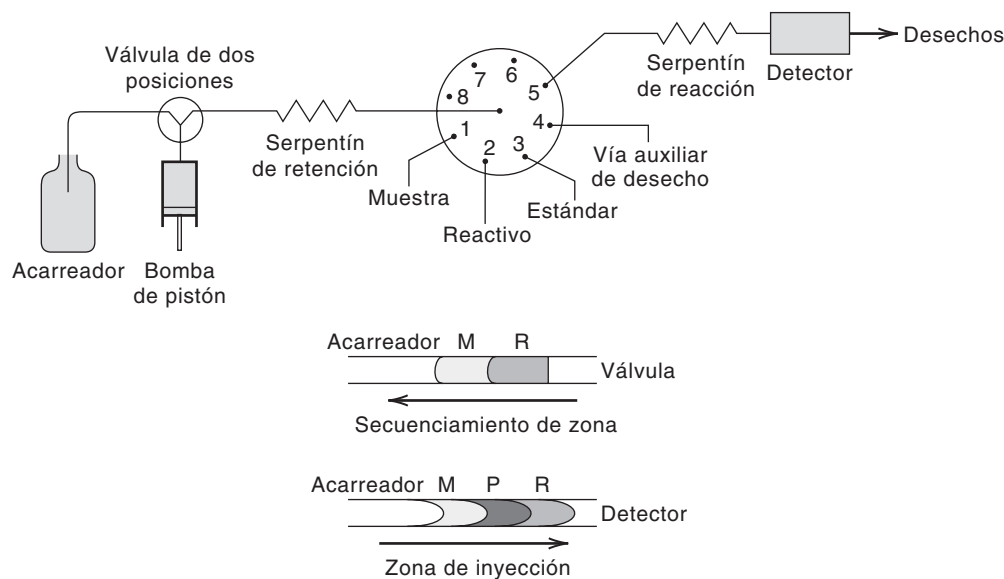
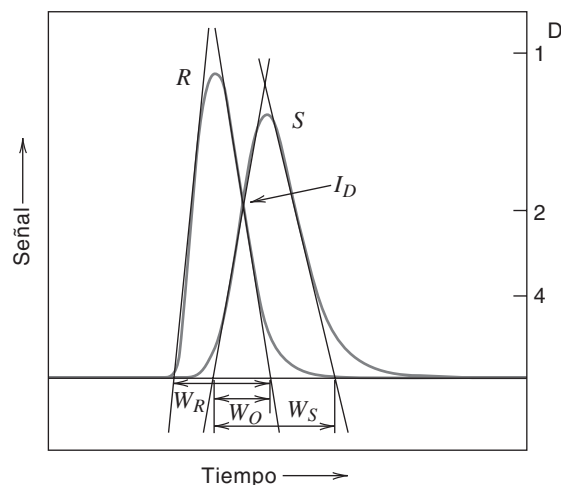


Figura 23.9. Sistema múltiple de SIA e inyección secuencial. M, P y R son muestra, producto y reactivo, respectivamente.

Figura 23.10. Zona de penetración en análisis por inyección secuencial. [Reimpresión autorizada por T. Gübeli, G. D. Christian y J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **63** (1991) 2407. Copyright 1991 por la American Chemical Society.]



En el análisis con inyección secuencial sólo se requieren una bomba y una válvula. Toda la operación está controlada por computadora para dar los tiempos precisos que se requieren; los sistemas comerciales cuentan con paquetería programable para ajustar las secuencias y los tiempos de aspiración. Además, la paquetería recaba datos de altura del máximo, prepara las curvas de calibración y calcula las concentraciones con datos de precisión. Se pueden introducir reactivos diferentes para hacer distintos análisis sólo programando desde el teclado para aspirar desde diferente puerto de un reactivo sin cambiar la tubería, como se requiere en el análisis por inyección de flujo. Se pueden usar dos reactivos químicos diferentes emparedando un volumen pequeño de la muestra entre ellos para que se traslapen las tres zonas antes de alcanzar el detector.

El parámetro de máxima importancia en SIA es el grado de penetración o de traslapo de zonas adyacentes. Este parámetro depende de los volúmenes relativos, además de los parámetros usuales de tamaño y longitud de tubo, de la geometría del serpentín de reacción, etc. El grado de penetración y la dispersión determinan la señal relativa que se registra. La zona de penetración se puede definir como sigue:

$$p = \frac{2w_0}{w_s + w_r} \quad (23.4)$$

donde w_0 es el ancho de la base del traslapo de zonas, y w_s y w_r los anchos de la línea base de la muestra y el reactivo, respectivamente. Véase la figura 23.10. Cuando $w_s + w_r = 2w_0$, el traslapo es completo (rara vez). En el caso normal, p está entre cero y uno, esto es, hay un traslapo parcial. En la figura 23.10, I_D es el punto de isodispersión. El objetivo es tener un traslapo suficiente para que el coeficiente de dispersión sea 2 cuando menos, de tal manera que haya un exceso de reactivo. Obsérvese que, en la figura 23.10, la zona de reactivo es la primera (menor tiempo de flujo) porque fue inyectada en segundo lugar, a una distancia más cercana de la válvula. Además, la zona de la muestra también recorre una mayor distancia hacia el detector, incrementando su dispersión. Si es necesario, se puede reducir la dispersión de la muestra invirtiendo el orden de inyecciones. Para conocer más detalles, ver la referencia 11. Para mayores datos de sistemas comerciales SIA y FIA consultar www.flowinjection.com.

23.5 Microprocesadores y computadoras

Se pueden adquirir instrumentos analíticos de diversa sofisticación dependiendo de las necesidades y del presupuesto. No obstante, casi todos tienen funciones electrónicas digitales modernas que facilitan la operación y la recolección de datos. Muchos de ellos se conectan a computadoras personales y pueden usarse poderosos programas para controlar

el instrumento y procesar datos. Algunos programas son específicos para el instrumento, en tanto que otros, en especial para recolectar y procesar datos, podrán ser paquetes comerciales más genéricos. Hay instrumentos que pueden tener incorporada una microcomputadora, por lo que se les llama instrumentos inteligentes. La computadora es un **microprocesador**, y los periféricos se construyen con circuitos microelectrónicos. Muchos instrumentos están preprogramados en “lenguaje de máquina”, pero otros tienen programas básicos que el operador puede modificar para ejecutar funciones dedicadas específicas. Para el diseño y la ingeniería de un microprocesador se pueden necesitar decenas o cientos de miles de dólares, pero los circuitos electrónicos se graban en *microchips* y su producción en masa puede ser económica. Un ejemplo es el reloj digital ordinario, que se puede comprar a bajo costo y tiene diversas informaciones guardadas, como fechas, además de programas con los que se puede indicar una hora específica para que suene una alarma, o para hacer cálculos.

Las comunicaciones entre el analista y el instrumento se establecen a través de un teclado que acepta comandos (por ejemplo, un botón de barrido repetitivo) y el ingreso de datos numéricos, como para indicar la cantidad de barrido que se desea. El instrumento tiene pantalla e impresión digitales, además del espectro registrado.

Los instrumentos controlados por microprocesadores pueden tener otras funciones, dependiendo del tipo de instrumento y de las capacidades deseadas. Se incluyen parámetros como la corrección automática de fondo, la primera y segunda derivada de los espectros; la integración o promedio de señales durante un intervalo predeterminado para mejorar la relación de señal a ruido, y la evaluación estadística de datos, como la desviación estándar. La calibración para la lectura en cualquier unidad de concentración que se desee se reduce sólo a colocar un estándar, teclear su concentración y oprimir un botón de calibración apropiado. Si se obtienen curvas analíticas no lineales, el microprocesador puede determinar el algoritmo de la curva y corregir automáticamente la no linealidad. Esta función es en especial valiosa para instrumentos de absorción atómica. Se pueden usar lecturas repetidas periódicas de uno o más estándares, para corregir en forma automática la deriva de calibración. Se pueden utilizar ajustes en las curvas de calibración por mínimos cuadrados.

Los instrumentos diseñados para determinaciones de enzimas y otros análisis cinéticos se programan para medir continuamente la señal (por ejemplo, de absorbancia) durante determinado intervalo de tiempo y calcular la rapidez de reacción. Si se calibran bien, se presentará la actividad de la enzima o la concentración del sustrato.

El instrumento puede contener funciones de control en circuito cerrado por retroalimentación (automatizado); se puede controlar la temperatura de la cámara de reacción para efectuar mediciones cinéticas; un titulador automático puede detectar la proximidad de un punto de equivalencia y desacelerar la adición de titulante cerca de ese punto para tener mayor precisión en su determinación, como lo haría una persona, pero quizás en una forma más reproducible. El instrumento puede monitorear sus propias funciones y apagarse, si funciona mal.

Los microprocesadores controlan instrumentos (por ejemplo, longitud de onda, rapidez de barrido). Pueden recolectar datos y procesarlos.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Control de proceso: analizadores continuos y discretos, p. 661
- Instrumentos automáticos, p. 664
- Análisis por inyección de flujo, p. 665
 - Coeficiente de dispersión (ecuación clave 23.3), p. 670
 - Volumen de muestra, $S_{1/2}$ (ecuación clave 23.3), p. 670
 - Análisis por inyección secuencial, p. 673
- Microprocesadores y computadoras en química analítica, p. 674

Preguntas

1. Indicar la diferencia entre un instrumento automático y uno automatizado.
2. Describir la diferencia entre dispositivos automatizados discretos y continuos.
3. Describir la diferencia entre instrumentos muestreadores automáticos discretos y de flujo continuo.
4. ¿Qué es un circuito de retroalimentación?
5. Describir los principios del análisis por inyección de flujo.
6. Describir los principios del análisis por inyección secuencial y en qué difiere del análisis por inyección de flujo.
7. Hacer un resumen de los principales usos de las computadoras en el laboratorio analítico.
8. ¿Cuáles son algunas de las funciones que puede hacer un microprocesador?

Problemas

ANÁLISIS POR INYECCIÓN DE FLUJO

9. Para un sistema FIA, el coeficiente de dispersión es 4.00. ¿Cuál sería si: *a*) se incrementase al doble el volumen inyectado, *b*) aumentase al doble el diámetro del tubo, o *c*) aumentase al doble la longitud del tubo? Comparar el resultado del punto *a*) con el ejemplo 23.2.
10. Calcular el volumen $S_{1/2}$ para un sistema FIA con un coeficiente de dispersión de 4.00 y un volumen de inyección de 50.0 μL .

Referencias recomendadas

GENERAL

1. G. D. Christian y J. E. O'Reilley, eds., *Instrumental Analysis*, 2a. ed., Boston: Allyn and Bacon, 1986. Capítulo 25, "Automation in Analytical Chemistry", por K. S. Fletcher y N. C. Alpert. Contiene una descripción excelente, pero breve, de diversos tipos y operaciones de instrumentos automatizados y automáticos.

ANÁLISIS POR INYECCIÓN DE FLUJO

2. J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1988.
3. M. Valcarcel y M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis, Principles and Applications*. Chichester: Ellis Horwood, 1987.
4. Z. Fang, *Flow Injection Separation and Preconcentration*, Weinheim: VCH, 1993.
5. Z. Fang, *Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry*. Nueva York: Wiley, 1995.
6. J. L. Bruguera, ed., *Flow Injection Atomic Spectroscopy*, Nueva York: Marcel Dekker, 1989.
7. M. M. Calatayud, *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals: Automation in the Laboratory*. Londres: Taylor and Francis, 1997.

ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

8. M. Trojanowicz, *Flow Injection Analysis: Instrumentation and Applications*. River Edge, NJ: World Scientific, 2000. El único libro que discute el análisis por inyección secuencial.
9. G. D. Christian, "Sequential Injection Analysis for Electrochemical Measurements and Process Analysis", *Analyst*, **119** (1994) 2309.
10. P. J. Baxter y G. D. Christian, "Sequential Injection Analysis: A Versatile Technique for Bioprocess Monitoring", *Accounts Chem. Res.*, **29** (1996) 515.
11. T. Gübeli, G. D. Christian y J. Ruzicka, "Fundamentals on Sinusoidal Flow Sequential Injection Spectrophotometry", *Anal. Chem.*, **63** (1991) 2407.

BASES DE DATOS EN LA WEB

12. Bibliografía de Hansen sobre inyección de flujo, www.flowinjection.com/search.html. Más de 8 000 referencias sobre el análisis por inyección de flujo.
13. Chalk's Flow Analysis Database, www.fia.unf.edu/fad.lasso. Más de 11 000 referencias sobre métodos de flujo.

ANÁLISIS DE PROCESO

14. G. D. Christian y E. D. Yalvac, "Process Analytical Chemistry", en R. Kellner, J.-M. Mermot, M. Otto y H. M. Widner, eds., *Analytical Chemistry*, Weinheim: Wiley-VCH, 1998.
15. J. B. Callis, D. L. Illman y B. R. Kowalski, "Process Analytical Chemistry", *Anal. Chem.*, **59** (1987) 624A.
16. M. T. Riebe y D. J. Eustace, "Process Analytical Chemistry. An Industrial Perspective", *Anal. Chem.*, **62** (1990) 65A.



Capítulo veinticuatro

QUÍMICA CLÍNICA

En los capítulos anteriores se describieron la metodología y las herramientas básicas en toda clase de análisis. En este capítulo y los dos siguientes se describirán en forma específica los aspectos prácticos de analizar algunos materiales de diferentes tipos. Se aplicarán los conocimientos adquiridos en los capítulos anteriores, y los capítulos que siguen serán más una referencia para análisis específicos donde se sugerirán métodos que se pueden adoptar para resolver problemas analíticos en la realidad.

En este capítulo se describirán en forma específica los aspectos prácticos de los análisis clínicos; los componentes clínicamente importantes de la sangre y la orina, incluyendo los electrolitos, proteínas y sustancias orgánicas principales; algunos de los procedimientos analíticos de uso frecuente en determinaciones clínicas importantes, es decir, los intervalos fisiológicos normales de los componentes y las condiciones bajo las que se puede salir de esos límites; finalmente, la sensible técnica de los inmunoensayos.

Se usan ampliamente las técnicas espectrofotométricas para determinar muchos analitos de importancia clínica. Cuando se recurre a un examen médico se hace un análisis de sangre para asegurar que no haya indicadores de enfermedades comunes, como glucosa, colesterol, lípidos y nitrógeno de la urea. En general, los múltiples análisis se efectúan en un analizador automático basado en la detección espectrofotométrica; se emplean diferentes reacciones químicas, como las enzimáticas o las inmunoquímicas, para determinar los diferentes analitos. Los electrolitos, como el sodio y el potasio, tal vez se cuantifiquen con un instrumento automático que tenga electrodos selectivos de iones. Muchos análisis específicos más pueden necesitar técnicas de separación, como la cromatografía de gases o líquidos. Es probable que las pruebas para determinar drogas ilícitas se hagan con inmunoensayos y confirmaciones con cromatografía (por ejemplo, gases-masas). Las secciones que siguen presentan información sobre cómo recolectar y preparar muestras, y mencionan algunas técnicas representativas para determinar analitos comunes.

24.1 Composición de la sangre

La mayor parte de los análisis de química sanguínea se practican en el suero.

La sangre entera se puede dividir en sus siguientes componentes generales: **plasma**, que contiene el *suero* y el *fibrinógeno*, y los **elementos celulares**, formados por *eritrocitos*, *leucocitos* y *plaquetas*, que se describieron en el capítulo 1. El plasma es la porción líquida de la sangre. Los glóbulos se separan del plasma centrifugando la sangre entera. Si se deja

coagular la sangre, el fibrinógeno se separa con los glóbulos y queda el suero. La mayor parte de los análisis clínicos se practican en la sangre entera, el plasma o el suero, y de ellos, la mayor parte es el suero. También con frecuencia se analiza la orina.

En la tabla 24.1 se resumen los intervalos normales de concentraciones de algunos componentes de importancia clínica en la sangre humana. Se debe subrayar que estos intervalos normales son aproximaciones. La tabla 5.3 muestra los principales componentes electrolíticos (cationes y aniones) de la sangre. Más adelante se describen los análisis de algunos de los componentes que se determinan con mayor frecuencia. También se describirá la importancia fisiológica de los resultados.

Véase la composición de electrolitos en sangre en la tabla 5.3.

Tabla 24.1

Información pertinente a muestras de sangre para exámenes químicos^a

<i>Determinación</i>	<i>Muestra^b</i>	<i>Intervalo normal</i>
Ácido úrico	Sangre	3-6 mg/dL
Ácidos grasos	Suero	200-400 mg/dL
Albumina	Suero	4-5 g/dL
Amilasa	Suero	Hasta 150 mg/dL
Amoniaco	Sangre	40-125 μ g/dL
Azúcar en la sangre (glucosa)	Sangre	65-90 mg/dL
Bilirrubina	Suero	Directa hasta 0.4 mg/dL Total hasta 1.0 mg/dL
Calcio	Suero	4.5-5.5 meq/L
Cloruro, suero	Suero	100-108 meq/L
Colesterol total	Suero	140-250 mg/dL ^c
Colesterol, ésteres	Suero	50-65% del total
Contenido de dióxido de carbono	Suero	25-32 meq/L
Creatinina	Suero	0.7-1.7 mg/dL
Depuración de creatinina		100-180 mL/min
Fosfatasa ácida	Suero	Hasta 4 unidades Gutman
Fosfatasa alcalina	Suero	Hasta 4 unidades Bodansky
Fosfolípidos	Suero	100-250 mg/dL
como fósforo		4-10 mg/dL
Fósforo inorgánico	Suero	3-4.5 mg/dL
Globulinas totales	Suero	2.5-3.5 g/dL
alfa-1		0.1-0.4 g/dL
alfa-2		0.3-0.7 g/dL
beta		0.4-0.9 g/dL
gamma		0.6-1.3 g/dL
Hierro en suero	Suero	50-180 μ g/dL
Lipasa	Suero	Hasta 1.5 unidades
Lípidos totales	Suero	350-800 mg/dL
Magnesio	Suero	1.5-2.5 meq/L
Nitrógeno de aminoácidos	Sangre	4-6 mg/dL
Nitrógeno de la urea (BUN)	Sangre	Hasta 20 mg/dL
Nitrógeno no proteico (NPN)	Sangre	25-40 mg/dL
Potasio	Suero	3.8-5.6 meq/L
Proteína total en suero	Suero	6.5-8 g/dL
Sodio	Suero	138-146 meq/L
Transaminasa (SGO)	Suero	Hasta 40 unidades
Yodo unido a proteína (PBI)	Suero	3.5-8 μ g/dL

^a Adaptado de J. S. Annino, *Clinical Chemistry*, 3a. ed., Boston: Little, Brown and Company, 1960.

^b S, suero; B, sangre.

^c Este intervalo varía con la edad.

24.2 Toma y conservación de las muestras

Con frecuencia, las muestras de sangre y orina se toman después de que el paciente ayunó durante cierto tiempo (por ejemplo, toda la noche), en especial para analizar el colesterol o la glucosa. En un estudio se demuestra que un desayuno promedio no tiene efecto apreciable sobre la concentración de dióxido de carbono, cloruro, sodio, potasio, calcio, nitrógeno de la urea, ácido úrico, creatinina, proteínas totales y albúmina. El fósforo del suero disminuye un poco 45 min después del alimento, pero no después de 2 h.

PRECAUCIÓN: La toma y el manejo de la sangre y otras muestras biológicas requiere de gran cuidado, por la posible presencia de componentes de enfermedades transmisibles, en especial VIH o sida. Deben usarse guantes de hule y con frecuencia también mascarillas. No deberían extraerse sangre ni otras muestras biológicas, ni manejar las muestras de individuos. Todos los experimentos están diseñados para usar materiales comerciales o sintéticos que sean seguros (por ejemplo, suero congelado y seco). Se puede comprar suero animal, como de caballo o bovino (www.sigma-aldrich.com). Un experimento usa orina, la cual puede ser la del lector, de un animal, o sintética.

Cuando se requiere suero para el análisis, la sangre se recibe en un tubo limpio y seco para evitar la contaminación y la **hemólisis**. La hemólisis es la destrucción de los glóbulos rojos con liberación de hemoglobina y otros componentes celulares que pasan al líquido que los rodea (suero o plasma). Cuando se presenta la hemólisis, el suero es apreciablemente rojo y no tiene su color paja normal. Una sustancia puede estar a una concentración mucho mayor en la parte celular de la sangre que en el suero o el plasma. Si lo que tiene importancia clínica es la concentración en el suero o el plasma, con la hemólisis se obtendrían muchos resultados erróneos, como en el caso de potasio, hierro, magnesio, zinc, urea, proteína (de hemoglobina) y otros. Por esta razón se deben centrifugar las muestras de sangre tan pronto como sea posible para separar el suero o el plasma de las células.

Si se requiere plasma o sangre entera para el análisis, se recibe entonces la sangre en un tubo que contenga un **anticoagulante**. Con frecuencia se usa *heparina* (sal sódica); sin embargo, su efecto es temporal y su costo alto. Por tanto, un anticoagulante muy usado es el *oxalato de potasio*, aproximadamente 1 mg por mL de sangre. El oxalato precipita el calcio, que se requiere en el proceso de coagulación. Es obvio que el plasma preparado en esta forma no puede analizarse para calcio o potasio; muchos otros metales se precipitan con el oxalato, por lo que se suelen analizar en el suero. Lo que se acostumbra para preparar las muestras de sangre entera o de plasma es agregar la cantidad necesaria de oxalato en solución al tubo de recolección, y después secar el tubo en una estufa a 110°C. Con este procedimiento no se diluye la sangre. Por ejemplo, se tomaría 0.5 mL de solución de oxalato de potasio al 2% y se secaría para recibir una muestra de 10 mL de sangre. El oxalato de potasio hace que los glóbulos rojos se contraigan y el resultado es que el agua intracelular se difunde en el plasma. Así, el plasma se debe separar tan pronto como sea posible.

Si se debe conservar una muestra en condiciones anaeróbicas, como en el caso de los análisis de CO₂, se agrega aceite mineral al tubo de recolección, pues al ser más ligero que la sangre, la cubre. En estos casos debe usarse un tapón de corcho, porque el aceite causa hinchamiento a los tapones de hule.

A veces se agrega un preservativo a la muestra, por lo general junto con el anticoagulante. El preservativo que se usa mucho con muestras donde se analiza la glucosa es el fluoruro de sodio, que es un inhibidor enzimático que evita la descomposición de la glucosa o **glucólisis**. Un miligramo de fluoruro de sodio por mililitro de sangre es lo adecuado. Como también inhibe otras enzimas, incluyendo la ureasa, no se debe agregar a muestras donde se analizarán enzimas o para urea basada en la catálisis de ureasa.

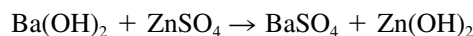
La hemólisis contamina el plasma o el suero con componentes celulares.

Si se va a separar el plasma, se debe agregar un anticoagulante.

Por lo general se pueden guardar las muestras durante uno o dos días si se refrigeran. Esto hace lentos los procesos enzimáticos y bacteriológicos, pero no los elimina; lo mejor entonces es analizar muestras frescas cuando sea posible. Las muestras siempre se llevan a la temperatura ambiente antes de analizarlas. Si se congelan, se conservarán largo tiempo y al mismo tiempo se suspenderá la actividad de enzimas en sangre. No debe congelarse la sangre entera, porque con ello se rompen los glóbulos rojos. Cuando se congelan, las muestras de suero y plasma se separan en capas de diferente composición, por lo que se deben agitar suavemente después de descongelarlas.

Las muestras son más estables si se prepara un **filtrado libre de proteína** (PFF, protein-free filtrate). Hay varios procedimientos para prepararlos. En el *método de Folin-Wu* o del *ácido tungstico*, se mezcla un volumen de sangre, suero o plasma con siete volúmenes de agua y un volumen de ácido sulfúrico 0.33 M, dejando que la mezcla se torne café. Entonces se agrega un volumen de tungstato de sodio al 10% (p/v, $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), y pasados dos minutos se filtra o centrifuga la proteína precipitada. En el *método del ácido tricloroacético* (TCA) se mezcla un volumen de sangre, suero o plasma con nueve volúmenes de TCA al 5% (p/v), y después de precipitar las proteínas, se filtra o centrifuga la mezcla. Ambos métodos producen filtrados ácidos, pero son útiles para analizar muchas sustancias.

Cuando la glucosa se analiza por oxidación (por ejemplo, con tartrato alcalino de cobre, *vide infra*), se obtienen resultados altos si se usan los filtrados anteriores. Un filtrado libre de proteína preparado con *hidróxido de bario* y *sulfato de zinc* elimina la mayor parte de las interferencias reductoras (véase el experimento 35). De este modo se obtiene un PFF esencialmente neutro, porque el producto $\text{Zn}(\text{OH})_2$ se precipita:



La glucosa es estable en un filtrado sin proteínas porque se eliminan las proteínas glucolíticas.

A veces es necesario un filtrado libre de proteína para evitar interferencias de matriz por parte de las proteínas.

24.3 Análisis clínicos: determinaciones frecuentes

La tabla 24.2 contiene un resumen de algunos de los componentes de la sangre que se determinan con mayor frecuencia y de los principios de algunos de los procedimientos que se emplean. Sólo son procedimientos representativos y en muchos casos hay numerosas variantes de diferentes procedimientos, que permiten varios grados de conveniencia, rapidez, sensibilidad, exactitud, precisión y otros más.

Los principales **electrólitos en el suero** son: sodio, potasio, calcio, magnesio, cloruro y bicarbonato (CO_2), y se determinan con bastante facilidad. Los metales se determinan con más facilidad usando métodos espectrofotométricos a la flama o de absorción atómica, aunque existen métodos colorimétricos para calcio y magnesio. El calcio, y con menos frecuencia, el magnesio también se titulan con EDTA. Para análisis sistemático de sodio, potasio y calcio se usan electrodos selectivos de iones. El bicarbonato también se analiza por titulación frente a un ácido valorado (véase el experimento 8), además de por un método manométrico. El cloro se determina mucho por titulación coulombimétrica con ion plata electrogenerado.

Las dos pruebas clínicas que se hacen con mayor frecuencia son las de **glucosa sanguínea** y **nitrógeno en urea sanguínea** (BUN, blood urea nitrogen). En los procedimientos que muestra la tabla 24.2 se cuantifica el total de todos los azúcares reductores, por lo que el resultado tiende a ser alto. Sin embargo, durante muchos años se han adoptado estos métodos como los normales. La determinación enzimática de la glucosa (capítulo 22) es un método establecido, y hoy se usan mucho analizadores enzimáticos de glucosa.

El **ácido úrico** se determina con mayor especificidad de manera enzimática que por el método descrito. El ácido úrico en una alícuota separada de la muestra se destruye con la

En el mundo se hacen probablemente más análisis de glucosa que de cualquier otra sustancia.

Tabla 24.2

Algunos procedimientos de análisis clínicos

<i>Sustancia determinada</i>	<i>Muestra analizada^a</i>	<i>Método de medición</i>	<i>Principio</i>
Ácido úrico	Suero	Espectrofotometría	Filtrado libre de proteína con ácido túngstico; oxidar con fosfotungstato alcalino y medir el producto de reducción de fosfotungstato azul a 680 nm
Azúcar (glucosa)	Sangre o suero	Espectrofotometría	Filtrado libre de proteína con Ba(OH) ₂ -ZnSO ₄ ; oxidar el azúcar con Cu(II) alcalino para formar Cu ₂ O; el Cu ₂ O se determina permitiéndole reducir el ácido fosfomolibdico para formar azul de molibdeno, que se mide a 420 nm, o hacer reaccionar el azúcar con <i>o</i> -toluidina y medir a 635 nm
Barbituratos	Suero	Espectrofotometría de ultravioleta	Se extrae barbiturato en CHCl ₃ , se vuelve a extraer en solución de NaOH y se mide la absorción UV a pH alcalino a 252 nm
Calcio	Suero	Espectrometría de absorción atómica	Se diluye 1:20 con Na ₂ EDTA 10 000 ppm y se mide la absorbancia a 422.7 nm
Cloruro	Suero	Volumétrico; coulombimétrico	Titulación con Ag ⁺ o Hg(II)
Creatinina	Suero	Espectrofotométrico	El filtrado libre de proteína (ácido tricloroacético) reacciona con picrato alcalino y se mide la absorbancia a 490 nm
Dióxido de carbono	Suero	Manométrico; electrodo	Método manométrico de Van Slyke; electrodo de CO ₂
Fosfatasa ácida	Suero	Espectrofotometría	Incubar con glicerofosfato de sodio durante 1 h a pH de 4.9 para liberar fosfato; determinar fosfato como con fósforo inorgánico
Fosfatasa alcalina	Suero	Espectrofotometría	Lo mismo, pero incubar a pH 9.6
Fósforo inorgánico	Suero	Espectrofotometría	Filtrado libre de proteína (ácido tricloroacético); hacer reaccionar con Mo(VI) para formar ácido fosfomolibdico y reducirlo a azul de molibdeno. Medir absorbancia a 660 nm
Hierro	Suero	Espectrofotometría de absorción atómica	El hierro en el filtrado libre de proteína se reduce a Fe(II) y se compleja con batofenantrolina; se mide la absorbancia a 535 nm
Magnesio	Suero	Espectrofotometría de absorción atómica	Diluir 1:20 con Na ₂ EDTA al 1% y medir la absorbancia a 285.2 nm
Nitrógeno de urea (BUN)	Sangre	Espectrofotometría (enzimático)	Filtrado libre de proteína con ácido túngstico; incubar con enzima ureasa a pH 6.8 para producir NH ₃ ; determinar el NH ₃ con el reactivo de Nessler
Nitrógeno no proteico (NPN)	Sangre	Espectrofotometría	Digerir el filtrado libre de proteína para formar NH ₄ HSO ₄ , adicionar yoduro mercurico alcalino (reactivo de Nessler) para complejar el amoniaco y medir la absorbancia a 480 nm
Potasio	Suero	Fotometría de flama; electrodo	Diluir 1:50 con NaCl 0.15 M y medir a 766 nm; electrodo sensible al ion K ⁺
Proteína total	Suero	Espectrofotometría	Reactivo de biuret (tartrato de cobre alcalino); forma un complejo con las proteínas; medir absorbancia a 550 nm después de 30 min
Salicilato	Suero	Espectrofotometría	Formar complejo con nitrato férrico en solución ácida y medir absorbancia a 535 nm
Sodio	Suero	Fotometría de flama; electrodo	Diluir 1:50 y medir a 589 nm; electrodo sensible a ion Na ⁺
Yodo unido a proteína (PBI)	Suero	Espectrofotometría (catalítico)	Precipitar proteínas con ácido tricloroacético, reducir a cenizas o digerir la proteína y medir el efecto catalítico de I ⁻ sobre la velocidad de la reacción entre Ce(IV) y As(III) midiendo la absorbancia de Ce(IV) a 420 nm pasados 20 min

^a S, suero; B, sangre.

enzima uricasa y se mide la disminución del producto de reducción fosfotungstato azul. La segunda alícuota sirve como testigo. El ácido úrico también se puede medir directamente por su absorbancia en la región ultravioleta a 290 nm, antes y después de incubar con uricasa.

La **albúmina** y las **globulinas** se pueden analizar con el mismo procedimiento que para proteínas totales, después de fraccionar y salar con sulfato o sulfito de sodio. Si se requiere información más detallada sobre las fracciones de proteína (globulinas α , β y γ), se puede usar electroforesis en gel de almidón para separarlas. Se usa análisis micro-Kjeldahl cuando se requieren datos muy exactos; la exactitud aproximada del método del biuret es del 4%.

Las **fosfatasas ácida** y **alcalina** son enzimas de la sangre y son activas en solución ácida y alcalina, respectivamente. El sustrato con que se analizan es glicerofosfato al pH adecuado. Estas enzimas hidrolizan al sustrato desprendiendo fosfato. Se pueden usar otros sustratos con fosfato.

Los **barbituratos**, sustancias que normalmente no están presentes en la sangre, se pueden extraer de ella (no ionizados) en cloruro de metileno. Después se vuelven a extraer en hidróxido de sodio 0.45 M de manera ionizada. Esta forma absorbe en la región ultravioleta, donde no absorbe la forma no ionizada. Con una gráfica del espectro de absorción se puede confirmar cualitativamente la presencia de barbituratos. La forma ionizada a pH de 13 a 14 presenta un máximo de absorción entre 252 y 255 nm, con un mínimo entre 234 y 237 nm; a pH de 9.8 a 10.5, una forma ionizada diferente tiene un máximo a 240 nm.

Varias de las pruebas anteriores también se hacen a muestras de orina, y con frecuencia se pueden usar los mismos procedimientos. Debido a las diferentes concentraciones e interferencias podrán introducirse modificaciones en los procedimientos. En general, los análisis se hacen con una muestra de 24 h, es decir, orina recolectada durante un periodo de 24 h, porque la excreción total diaria de gran parte de las sustancias tiene mucho mayor importancia que la concentración en una muestra aleatoria. En la figura 24.1 se muestra la composición de la orina comparada con la del suero.

Hay una necesidad definida de **análisis en punto de atención** para ciertas pruebas, cuyos resultados se deben obtener con rapidez. Por ejemplo, en un ataque al corazón, es muy importante el tiempo que transcurre entre la presentación del síntoma y el inicio del tratamiento para minimizar los daños cardíacos. La unidad de cuidados intensivos depende mucho de resultados rápidos de análisis de sangre, para confirmar un ataque cardíaco y proporcionar el cuidado correspondiente. Podría ser muy ineficiente llevar las muestras a un laboratorio y esperar los resultados. Entonces, la unidad de cuidados de urgencia puede tener un analizador enzimático al lado de la cama que requiera de manejo mínimo. Se le inserta una muestra de sangre, se oprime un botón y los resultados se obtienen en menos de un minuto.

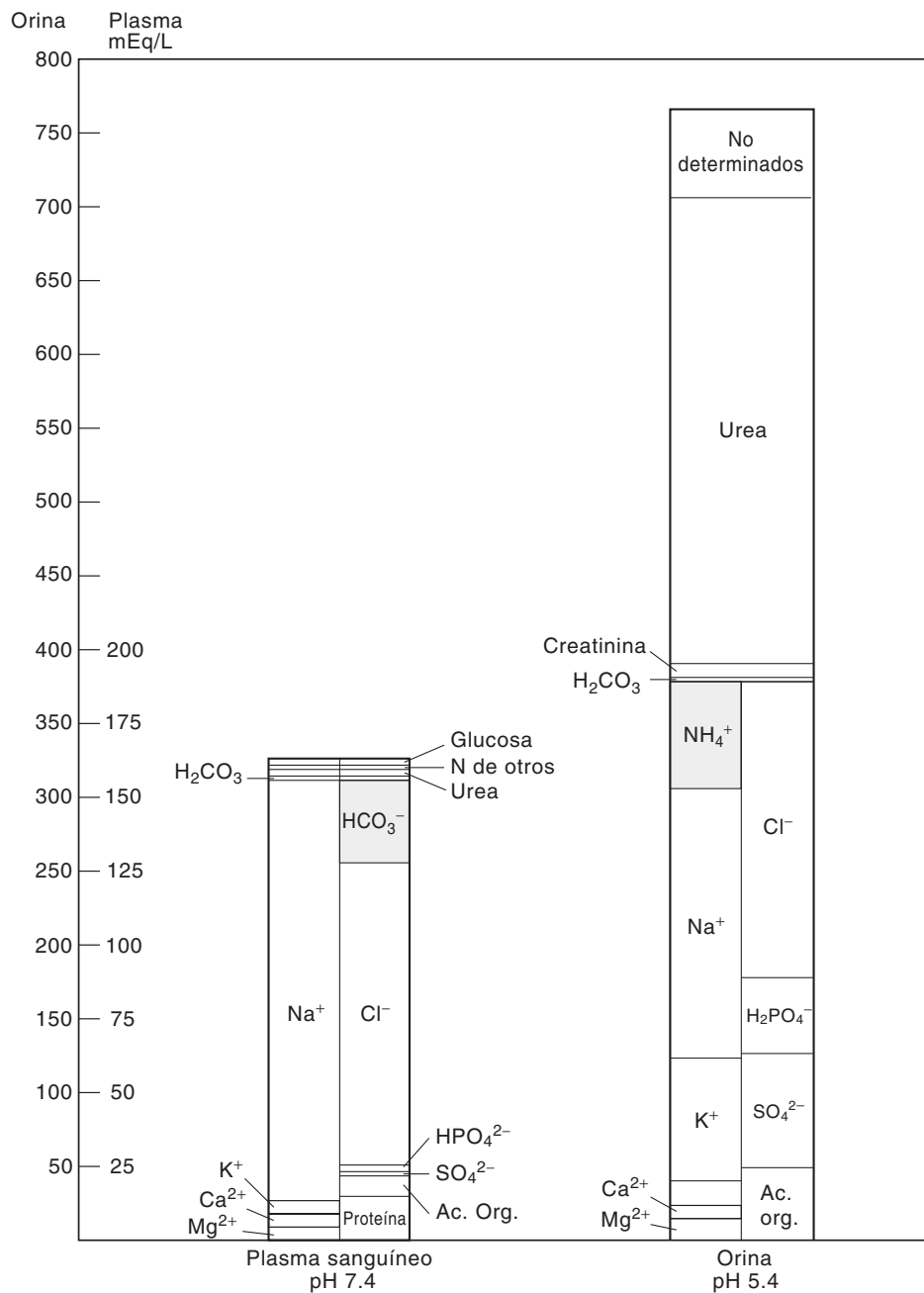
Uno de los analizadores con biosensor que más éxito ha tenido es el de glucosa que usan los diabéticos como monitores personales. El paciente sólo pone una pequeña gota de sangre (obtenida con una lanceta estéril) en una tira de prueba que contiene glucosa oxidasa, y la enzima cataliza la oxidación de la glucosa para formar peróxido de hidrógeno, el cual se mide entonces de manera electroquímica o fotométrica. Véase, por ejemplo, <http://abbott.com/diabetes/diabetes.html> y www.diabeticsupply.com.

24.4 Inmunoensayos

Las técnicas de inmunoensayo tienen importancia para determinaciones específicas de hormonas, drogas, vitaminas y otros compuestos en cantidades de nanogramo o menores. En estos métodos reaccionan un antígeno y un anticuerpo específico para formar un complejo o precipitado. La primera aplicación analítica fue el **radioinmunoensayo (RIA)**, con el que Berson y Yalow demostraron la capacidad para medir en forma selectiva pequeñas

Los inmunoensayos pueden ser muy selectivos y sensibles.

Figura 24.1. Comparación de composiciones de la orina y el plasma sanguíneo. Los no electrólitos se expresan como milimoles en la escala de miliequivalentes. Los valores en la escala incluyen todos los constituyentes (la suma de todos). (Según J. A. Gamble, *Chemical Anatomy, Physiology, and Pathology of Extracellular Fluid*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1950. Reproducción autorizada por Harvard University Press.)



cantidades de insulina (referencia 10). No fue sino hasta los últimos años de la década de 1960 y primeros de la de 1970 que se tuvo acceso al RIA para análisis rutinarios. En esa época, los métodos pasaron del laboratorio de investigación al laboratorio clínico en lo que debe ser un tiempo récord, demostrando que existía una necesidad real. Los inmunoensayos y los ensayos por unión competitiva relacionados se usan hoy mucho en el laboratorio clínico. La importancia atribuida a la técnica se ve además porque el Premio Nobel de Fisiología de 1977 fue otorgado a Rosalyn Yalow, después de la muerte de Berson, por desarrollar el método (www.almaz.com/nobel/nobel.html).

En general, en las técnicas de inmunoensayo se produce una reacción competitiva entre un antígeno analito y un antígeno estándar que ha sido marcado, y compiten por sitios de unión limitados sobre el anticuerpo de ese antígeno. La marca puede ser de un trazador radiactivo, una enzima o un fluoróforo. A continuación se describirán la técnica

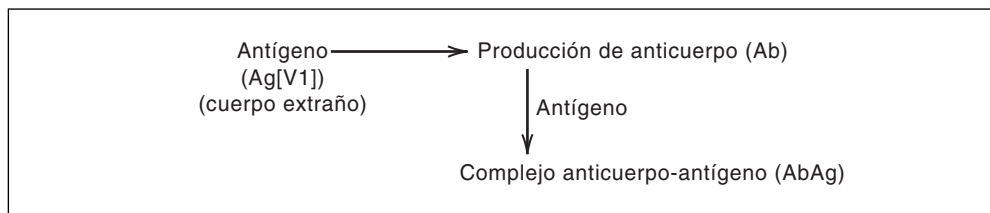


Figura 24.2. Principios de las reacciones inmunológicas.

de inmunoensayo, así como las bases comunes a todas las técnicas. También se describirán la fluorescencia y el inmunoensayo enzimático.

PRINCIPIOS DE LOS INMUNOENSAYOS

En los inmunoensayos se combina la sensibilidad de la radioquímica, de la fluorescencia o de los marcapasos enzimáticos con la especificidad de la inmunología. La inmunología es el estudio de los antígenos y sus reacciones con anticuerpos, es decir, el mecanismo de defensa de un organismo frente a cuerpos extraños a través de los anticuerpos (figura 24.2). Un **antígeno** (por ejemplo, una hormona) es una sustancia externa capaz de producir la formación de anticuerpos en el organismo, y puede reaccionar con (unirse a) ese anticuerpo. Un antígeno siempre es una molécula grande, como una proteína. Un **anticuerpo** es una proteína con la capacidad de reconocer, por asociación estereoespecífica, una sustancia extraña al organismo que ha invadido, por ejemplo, bacterias y virus.

Un anticuerpo es una proteína globulina de alto peso molecular, alrededor de 150 000 (véase la figura 24.3 para un modelo). Cuando la proteína tiene actividad como anticuerpo se llama inmunoglobulina (Ig). Realmente hay cinco inmunoglobulinas principales en el cuerpo humano (IgA, IgD, IgE, IgG e IgM), pero la más abundante es la IgG. La Ig está formada por dos cadenas ligeras de polipéptido de unos 214 residuos de aminoácido y una cadena pesada de unos 430 residuos. Están unidas por puentes de disulfuro formando una estructura flexible en forma de Y (figura 24.4). Cuando se trata enzimáticamente con papaína, se forman tres fragmentos de peso molecular aproximado de 50 000 cada uno. Dos son idénticos y conservan la capacidad de unirse con antígenos, de aquí que se refieran como Fab (fragment, antigen binding). El tercer fragmento no se une con el antígeno por sí mismo, pero se puede cristalizar de la solución, por lo que se le denomina Fc (fragmento cristalizante). El fragmento Fc tiene composición notablemente consistente, y los fragmentos Fab tienen porciones de composición variable y se unen en forma específica a determinados anticuerpos. Los dominios clave están en los extremos terminales de las regiones Fab (regiones sombreadas en la figura 24.4), que forman los sitios de unión para el an-

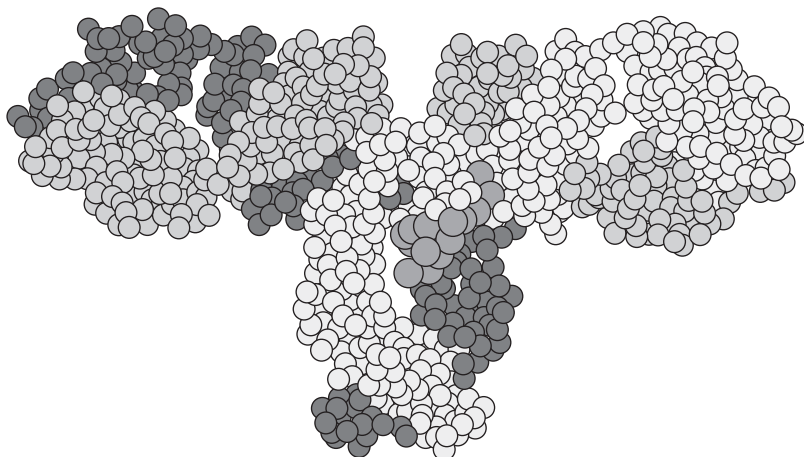


Figura 24.3. Modelo de esferas sólidas de la estructura de un anticuerpo.

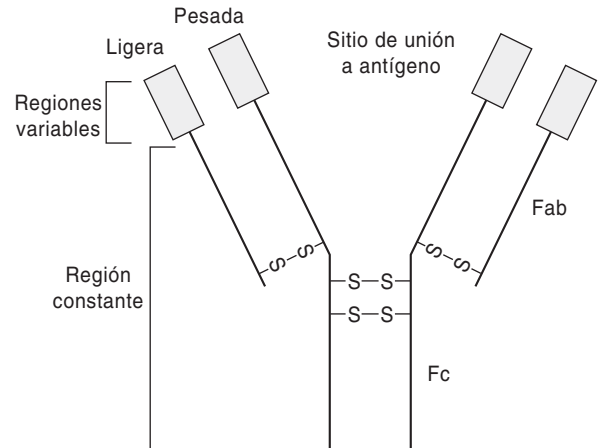


Figura 24.4. Anticuerpo.

tígeno (el fragmento Fc también se puede plegar para que su extremo se una con el antígeno, pero el Fab es el principal enlazante). Todos los anticuerpos tienen una estructura parecida, excepto por las partes variables de los fragmentos Fab que se unen a los antígenos.

El anticuerpo reacciona específicamente con un antígeno para formar un **complejo antígeno-anticuerpo**. Se produce en el organismo (donde durará algún tiempo) sólo después de que éste haya tenido cuando menos una exposición al intruso (por vacunación, espontánea o artificial). Un anticuerpo se produce para usarlo en inmunoensayos inyectando el antígeno en una especie animal para el que es extraño, y se recupera el suero que contiene el anticuerpo resultante (**antisuero**).

La fuerza del complejo antígeno-anticuerpo se llama **afinidad** o **avidez**. Afinidad se refiere a la constante de asociación intrínseca entre un anticuerpo y un antígeno univalente, en tanto que la avidez se refiere a la energía total de unión entre los anticuerpos y un antígeno multivalente. La reacción total para establecer este enlace puede escribirse como sigue



Y la constante de formación es

$$K = \frac{[\text{AbAg}]}{[\text{Ab}][\text{Ag}]} \quad (24.2)$$

Las constantes de formación son bastante grandes, por lo regular de 10^8 a 10^{10} . Las fuerzas de enlace son bastante débiles, de van der Waals, electrostáticas e hidrofóbicas, pero hay muchos grupos de unión. Las uniones se rompen (se disocia el complejo) agregando sales o aumentando el pH, la temperatura o la polaridad del disolvente.

Todos los procedimientos de inmunoensayo se basan en el descubrimiento original de Berson y Yalow de que pueden detectarse, en forma radioquímica, bajas concentraciones de anticuerpos de la hormona insulina, que funciona como antígeno gracias a su capacidad para enlazarse con insulina radiomarcada con ^{131}I . Entonces, la determinación de concentraciones desconocidas de antígeno se basa en que el antígeno radiomarcado y el no radiomarcado (de la muestra o de un estándar) compiten fisiológicamente por los sitios de unión de los anticuerpos (radioinmunoensayo, RIA). Esto se ilustra en la figura 24.5.

El recipiente inicial de reacción contiene una solución del anticuerpo (antisuero), antígeno marcado y la muestra sérica que puede contener **antígeno** no marcado (el natural, *la sustancia a determinar*). Al incubarlos, el anticuerpo (Ac) forma un inmunocomplejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac). En ausencia de antígeno no marcado, cierta fracción del antígeno marcado, Ag^* , se une como $\text{Ag}^*\text{-Ac}$. Pero cuando se agregan cantidades crecientes

El antígeno analito compite con el antígeno marcado por los sitios del anticuerpo. Se mide el antígeno marcado desplazado, sea en forma directa o indirecta.

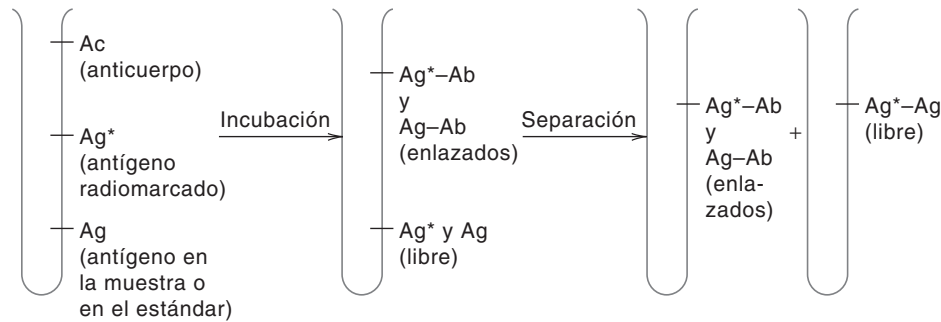


Figura 24.5. Principios del radioinmunoensayo.

de antígeno no marcado (Ag), los sitios de unión limitados en el anticuerpo se van saturando de manera progresiva, y el anticuerpo puede unirse cada vez menos al antígeno radiomarcado. Después de la incubación se separan los antígenos enlazados de los antígenos no enlazados (libres) y se mide la porción marcada (con radiactividad, fluorescencia, etc.) de alguna o ambas fases para determinar el porcentaje de unión del antígeno marcado.

La solución del anticuerpo es diluida inicialmente para que, en ausencia de antígeno estándar no marcado o desconocido, se enlace 50% de la dosis con trazador de Ag^* . Un menor enlace de antígeno marcado cuando se agrega la muestra indica la presencia de antígeno no marcado. Se prepara una curva de calibración usando soluciones estándar de antígeno de concentración conocida graficando el porcentaje de antígeno marcado que se enlazó, o bien la relación de porcentaje de enlazado a libre (B/F, bound/free) en función de la concentración de antígeno sin marcar. Con esta curva se puede determinar la concentración desconocida del antígeno.

En la figura 24.6 se muestra un ejemplo de una curva de calibración. Obsérvese el amplio intervalo de concentraciones (10^{-2} a 10^3 ng/mL en la región más lineal) y la gran sensibilidad. La pendiente de la curva de calibración, y en consecuencia el intervalo y la sensibilidad, dependen de la dilución inicial del anticuerpo. La sensibilidad es máxima con altas diluciones del anticuerpo, pero con un anticuerpo más concentrado se cubre un intervalo más amplio de concentraciones del antígeno. También, como se dijo antes, para obtener una sensibilidad muy alta se aconseja usar una dilución del antisuero que se enlace con casi 50% del antígeno marcado (usando una cantidad muy pequeña) en ausencia del antígeno no marcado. Esto se debe a que una disminución de 50% de la relación unido/libre (B/F) con un valor inicial de 1.0 (es decir, 50% unido inicialmente) se puede determinar con más exactitud que una disminución similar de porcentaje desde un valor inicial, por ejemplo, de 10 (91% enlazado). En el primer caso habría una disminución de 50% enlazado (B/F = 1.0) a 33% enlazado (B/F = 0.5), en tanto que en el segundo caso la disminución sería de 91% (B/F = 10) a 83% (B/F = 5). La sensibilidad de la parte inicial de la curva puede aumentarse usando cantidades mínimas de antígeno marcado.

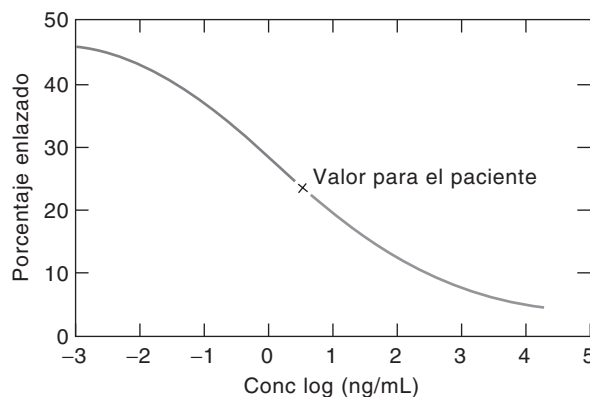


Figura 24.6. Ejemplo de curva de calibración para inmunoensayo.

El principio competitivo de los inmunoensayos se puede aplicar a otros sistemas. Toda sustancia que pueda unirse en forma específica a una macromolécula se puede cuantificar aplicando el principio de **unión competitiva de proteína**. La macromolécula específica que se enlace puede ser una proteína de suero, como la globulina que se une a la tiroxina, un receptor específico o un anticuerpo.

ESPECIFICIDAD DE LOS INMUNOENSAYOS

Ningún antisuero de los que se usan en los inmunoensayos es totalmente específico hacia determinado antígeno. La especificidad está influida por: *a)* la heterogeneidad del anticuerpo, *b)* la reacción cruzada con otros antígenos y *c)* las posibles interferencias de la reacción antígeno-anticuerpo debidas a sustancias de bajo peso molecular que puedan alterar el ambiente de la reacción. Determinado antígeno induce la formación de múltiples anticuerpos. Éste se puede combinar con los diversos anticuerpos en distintos grados, los cuales dependen de las constantes respectivas de equilibrio. Además, un solo tipo de anticuerpo puede tener una cantidad y ubicación variable de sitios de unión. El problema de la heterogeneidad se ha paliado con el desarrollo de mejores técnicas de purificación de antisueros. Además, la producción sintética de **anticuerpos monoclonales**, es decir, anticuerpos sencillos, permite tener gran especificidad.

El problema de reacción cruzada con otros antígenos es complejo y debe considerarse por separado para cada tipo de antígeno que se mide. Se podrán necesitar técnicas especiales de purificación.

Entre los factores no específicos que pueden modificar la rapidez de la reacción antígeno-anticuerpo están pH, fuerza iónica, altas temperaturas, composición de la solución amortiguadora para el medio de incubación, heparina, urea y altas concentraciones de bilirrubina. Los estándares de antígeno y las muestras problema deben prepararse (diluirse) en un plasma libre de antígenos para eliminar las diferencias de composición. Se debe usar el mismo amortiguador u otro diluyente. Si no se dispone de plasma libre de antígenos de la misma especie, se puede usar plasma de una especie que no tenga reacción cruzada.

PREPARACIÓN DEL ANTICUERPO

Por supuesto, se requiere un antisuero adecuado para el inmunoensayo. La concentración del anticuerpo (llamada **título**) es importante, pero el criterio principal para establecer un antisuero adecuado es su especificidad y afinidad para el antígeno que se determina.

El método general para inducir la formación de anticuerpos es inyectar de 0.2 a 2 mg del antígeno puro mezclado con el “auxiliar de Freund”, que es una mezcla de aceite mineral, ceras y bacilos muertos, que aumenta y prolonga la respuesta del antígeno. Entre los animales que se usan están conejos, ovejas, cobayos (“cuyos”), cabras, pollos o monos, dependiendo del volumen de antisuero que se desea y del grado de actividad extraña del antígeno.

Las moléculas que son demasiado pequeñas para inducir la formación de anticuerpos (pesos fórmula de 1 000 a 5 000, llamados **haptenos** en oposición a los antígenos, como los polipéptidos menores o los esteroides) se unen a acarreadores como proteínas o compuestos sintéticos antes de que sean inyectados. Entre los acarreadores comunes están la globulina gamma y la albúmina humana, péptidos sintéticos y polímeros.

Una vez inmunizado un animal, puede ser inyectado varias veces para obtener diferentes lotes de antisueros. Los antisueros son productos comerciales para la mayoría de los ensayos para los cuales los antígenos marcados están disponibles. Los antisueros diluidos se pueden guardar durante largo tiempo cuando se encuentran congelados. Una vez descongelados, se deben guardar a 4°C.

PERIODO DE INCUBACIÓN PARA EL ANÁLISIS

El tiempo necesario para llegar al equilibrio en la reacción antígeno-anticuerpo durante el análisis varía de algunas horas a varios días, dependiendo del antígeno específico que se esté

No es igual que el título descrito en el capítulo 5.

Los analitos de hapteno deben unirse a moléculas mayores para inducir la formación de anticuerpos.

midiendo. En general, no se desea tener incubaciones largas (se puede dañar el antígeno por exposición prolongada a las altas concentraciones de las proteínas plasmáticas, a los oxidantes, etc.), por lo que en algunos procedimientos no se alcanza el punto de equilibrio.

SEPARACIÓN DEL ANTÍGENO UNIDO Y DEL ANTÍGENO LIBRE

Se usan varias técnicas para separar el antígeno unido del antígeno libre después de la incubación, con lo cual es posible determinar el porcentaje de unión mediante la respuesta de la marca. El complejo inmune es una sustancia proteica que se puede **precipitar** (desnaturalizar) con altas concentraciones de diversas sales [por ejemplo, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4] o con disolventes orgánicos (por ejemplo, acetona, etanol). La precipitación es uno de los métodos más usados. En general, el complejo precipitado se separa por centrifugación (aunque también se puede usar filtración) y entonces se puede medir la respuesta de la marca en cualquiera de las fases.

La **técnica del doble anticuerpo** también se usa mucho. En este caso se emplea un segundo anticuerpo para precipitar el complejo primario antígeno-anticuerpo. Este segundo anticuerpo se produce inyectando a un segundo animal la globulina gamma producida en el primer animal con el que se preparó el primer anticuerpo. Aunque con el uso de un segundo anticuerpo se introduce otra fuente de error, el método del doble anticuerpo tiene la ventaja de poder aplicarse en casi todos los inmunoensayos, y la separación es completa.

Entre otras técnicas de separación se hallan la electroforesis (capítulo 21) y la unión del antígeno o anticuerpo con una fase sólida para usarlos como reactivo.

Éstos son análisis heterogéneos. Los ensayos homogéneos (más adelante) no requieren separaciones.

ENSAYOS POR INMUNOFLUORESCENCIA

Los anticuerpos y los antígenos se pueden marcar con tintes fluorescentes para después medir la fluorescencia (ver la referencia 12). Este método es popular por la mayor facilidad de manejo de los reactivos en comparación con las sustancias radiactivas y el problema del decremento de la radiactividad en función del tiempo. Los colorantes de uso frecuente son el isotiocianato de fluoresceína (FITC, fluorescein isothiocyanate) y la lisamina rodamina B (RB 200). La proteína que se va a conjugar (reaccionar) con el tinte suele ser una mezcla de inmunoglobulinas y no debe contener otras fracciones de proteínas de suero porque la albúmina y otras globulinas se marcan con mayor facilidad que la globulina gamma, lo que haría que el método no fuese específico. Después del marcado se remueve el tinte sin reaccionar, y la proteína marcada se purifica mediante cromatografía de exclusión de tamaño.

En este caso la marca es un fluoróforo. Su fluorescencia se apaga por la reacción inmunoquímica.

Con frecuencia, la fluorescencia de un antígeno marcado se apaga debido a una reacción inmunoquímica, y se puede medir la disminución de fluorescencia sin tener que hacer una separación física. Esto es la base de los **inmunoensayos homogéneos**, en contraste con los **inmunoensayos heterogéneos**, los cuales requieren una separación.

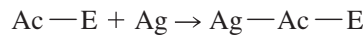
INMUNOENSAYOS ENZIMÁTICOS

En este método el marcador que se usa es una enzima, por ejemplo peroxidasa, y la actividad de la enzima sin reaccionar y el antígeno marcado se mide con una reacción enzimática apropiada. También aquí, en estas técnicas, con frecuencia se inhibe la actividad de la enzima con una reacción inmunoquímica, y se puede medir la disminución de actividad en un sistema de inmunoensayo homogéneo. Estos inmunoensayos enzimáticos homogéneos se suelen usar para la medición de moléculas de bajo peso molecular, como la digoxina, las anfetaminas y los medicamentos de prescripción.

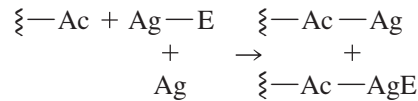
La actividad del marcador enzimático se inhibe por la reacción inmunoquímica.

Los inmunoensayos enzimáticos se conocen en general como **ensayos con inmunsorbente unido a una enzima** (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assays). Véase la descripción original en la referencia 13. En la figura 24.7 se aprecian los diferentes tipos.

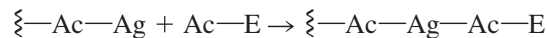
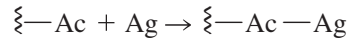
En la prueba ELISA, el antígeno o el anticuerpo se adsorbe en una superficie de plástico.



Inmunoensayo enzimático con unión no competitiva. E se inhibe al combinarse.



ELISA competitiva. La cantidad de uniones $\text{Ag}-\text{E}$ decrece conforme aumenta Ag.



ELISA no competitiva en sándwich. La unión AcE aumenta en proporción de la cantidad de Ag.

Figura 24.7. Ensayos de ELISA. Ag es el antígeno analito.

Estos ensayos se practican en forma conveniente inmovilizando el antígeno o anticuerpo sobre una superficie sólida, como vidrio o partículas de plástico. Se evita la centrifugación adsorbiendo en tubos o discos de polipropileno o poliestireno. Éstos se lavan con facilidad y adsorben una cantidad reproducible de anticuerpo o antígeno. Se suelen usar pequeños pozos de plástico troquelados en una hoja (por ejemplo, 96 pozos) para procesar muchas muestras y estándares al mismo tiempo. Hay pipeteadores y medidores automáticos que se usan con ellas.

Si un marcador enzimático se une al anticuerpo, éste es inhibido al reaccionar con el antígeno del analito; en este caso se trata de un ensayo de unión **no competitiva** de proteína (véase por ejemplo la referencia 11). En ELISA de **unión competitiva**, el anticuerpo del antígeno analito es adsorbido en la fase sólida mediante interacciones hidrofóbicas. Entonces se agrega una cantidad conocida de antígeno marcado con enzima junto con la muestra que contiene antígeno no marcado. Siguiendo la incubación, los pozos se lavan y se adiciona el sustrato de la enzima para producir por lo regular un producto colorido vía una reacción catalizada por enzima. Se produce una coloración máxima (máxima reacción enzimática) si no hay antígeno en la muestra que compita por la unión con el antígeno marcado, y esto disminuye en proporción a la cantidad de antígeno en la muestra. En esta técnica se requieren cantidades relativamente grandes de antígeno purificado, para que el marcado sea uniforme.

Los **ensayos sándwich** son no competitivos, dado lo cual la muestra se adiciona a los pozos que contienen al anticuerpo adsorbido, seguido (después de la incubación) por la adición de un anticuerpo marcado con enzima, el cual se une en proporción a la cantidad de antígeno unido. El anticuerpo no combinado y marcado se separa por lavado, y entonces la fase sólida contiene el antígeno sándwich entre anticuerpos no marcado y marcado. Entonces, el color que produce la reacción enzimática es directamente proporcional a la cantidad de antígeno.

En la prueba ELISA **indirecta**, el antígeno de la muestra se adsorbe primero en la fase sólida, sea en forma directa o a través de un anticuerpo, como se mencionó antes. El anticuerpo primario no marcado se adiciona, se incuba y se lava. Por último se agrega un anticuerpo secundario marcado (que surge contra la clase de inmunoglobulina de la especie de la cual se originó el anticuerpo primario), se incuba y se lava. También aquí la actividad enzimática (intensidad del color producido) es proporcional a la cantidad de antígeno. La ventaja de este método es que se puede usar un anticuerpo “universal” conjugado como el anticuerpo secundario contra todos los anticuerpos primarios usados de la misma clase de inmunoglobulina de la especie apropiada. Entonces no se requieren anti-

En la unión competitiva, el antígeno analito y el antígeno marcado compiten para ocupar sitios en el anticuerpo adsorbido.

En los ensayos sándwich, el antígeno analito se une al anticuerpo adsorbido y después el anticuerpo marcado se une al antígeno marcado.

En la prueba ELISA indirecta se usa un anticuerpo universal marcado.

cuerpos primarios marcados individualmente para cada antígeno analito. Los métodos de ELISA indirectos suelen ser más sensibles que los directos, tal vez debido a la unión de más de un anticuerpo secundario marcado a cada anticuerpo primario; además, los sistemas no competitivos suelen ser más sensibles que las determinaciones competitivas.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- ¿Qué se mide en la composición de la sangre? (Figura 24.2, tabla 24.1, tabla 24.2), p. 678
- Inmunoensayos: antígeno, anticuerpo; ensayo por inmunofluorescencia, inmunoensayo enzimático (ELISA), p. 683

Preguntas

1. ¿Cuáles son los principales componentes de la sangre?
2. ¿Qué es hemólisis y por qué es importante?
3. ¿Por qué con frecuencia se añade fluoruro de sodio a las muestras de sangre tomadas para analizar la glucosa?
4. ¿Por qué no deben congelarse las muestras de sangre?
5. ¿Cuáles son dos de los análisis clínicos que se practican con mayor frecuencia?
6. ¿Qué es un anticuerpo?
7. Explicar los principios de los inmunoensayos. ¿Qué marcadores se usan? ¿Cuáles son algunas de sus variaciones en sus aplicaciones?

Referencias recomendadas

GENERAL

1. C. A. Burtis y E. R. Ashwood, eds., *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 4a. ed., Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry, 1995.
2. C. A. Burtis y E. R. Ashwood, eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3a. ed., Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry, 1998.
3. M. Reiner y D. Seligson, eds., *Standard Methods in Clinical Chemistry*. San Diego: Academic. Serie de varios volúmenes iniciada en 1953.
4. D. Glick, ed., *Methods of Biochemical Analysis*. Nueva York: Wiley-Interscience. Serie de volúmenes anuales, iniciada en 1954.
5. D. S. Young y R. B. Friedman, *Effect of Diseases on Clinical Laboratory Tests*, 4a. ed., Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry, 2001.
6. D. S. Young y R. B. Friedman, *Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5a. ed., Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry, 2000.
7. J. Wang, *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. Nueva York: VCH, 1988.

INMUNOENSAYOS

8. J. T. Wu, *Quantitative Immunoassay: A Practical Guide for Assay Establishment, Troubleshooting, and Clinical Applications*. Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry, 2000.
9. C. P. Price y D. J. Newman, *Principles and Practice of Immunoassay*, 2a. ed., Basingstoke Hampshire, UK: Macmillan, 1997.
10. S. A. Berson y R. S. Yallow, "Immunoassay of Plasma Insulin", *Immunoassay of Hormones, Ciba Found. Colloq. Endocrinol.*, **14** (1962) 182.
11. T. A. Kelly y G. D. Christian, "Homogeneous Enzymatic Fluorescence Immunoassay of Serum IgG by Continuous-Flow Injection Analysis", *Talanta*, **29** (1982) 1109.
12. C. M. O'Donnell y S. C. Suffin, "Fluorescence Immunoassays", *Anal. Chem.*, **51** (1979) 33A.
13. E. Engvall y P. Perlman, "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Quantitative Assay of Immunoglobulin G", *Immunochemistry*, **8** (1971) 871.

Capítulo veinticinco

EL SIGLO DEL GEN. GENÓMICA Y PROTEÓMICA: SECUENCIACIÓN DE ADN Y PERFIL DE PROTEÍNAS



El siglo del gen se inició cuando James Watson y Francis Crick revelaron el secreto de la unidad de construcción de los genes: el ADN existe como una doble hélice. Por su trabajo precursor recibieron el Premio Nobel en 1962. Fue necesario que transcurrieran 40 años para determinar realmente la secuencia total de los genes humanos (el genoma). Los métodos y herramientas de la química analítica desempeñaron una participación crucial. En este capítulo se describirán las bases para la secuenciación del ADN y cómo ésta se utilizó para construir la secuencia genómica. Asimismo, se analizarán las herramientas que se están usando para alcanzar la aún más desafiante meta de determinar la función de las proteínas. Pero antes, un poco de biología.

Una buena introducción a este capítulo se halla en www.ornl.gov/hgmis/project/info.html, así como también en *From the Genome to the Proteome*.

25.1 ¿De qué estamos hechos?

Los elementos últimos de construcción de nuestro organismo son las proteínas, y éstas efectúan casi toda la actividad biológica. Nuestros músculos, dientes, hígado, piel, sangre —casi todo en nuestro organismo— usan proteínas para crear la química de la vida. ¿De dónde provienen las proteínas? Sus síntesis únicas están dirigidas por nuestros genes (ADN); el proceso de “expresión genética” es cómo los genes hacen realmente su trabajo de controlar las funciones biológicas. Los genes codifican para aminoácidos específicos, que son los bloques de construcción de las proteínas. Todo lo que hacen las células está codificado en su ADN, que indica qué células formarán el cabello y de qué color será, entre muchas otras cosas.

Los genes forman nuestros cromosomas. Los núcleos de casi todas nuestras células, 100 mil billones (10^{14}) de ellas en total, contienen 23 pares de cromosomas, es decir, 46 cromosomas individuales (figura 25.1). Las excepciones son los espermatozoides y los óvulos, cada uno de los cuales contiene 23 cromosomas. Cada padre contribuye con 23 cromosomas a su hijo; cada hijo posee sólo una parte (un subconjunto) del ADN de cada

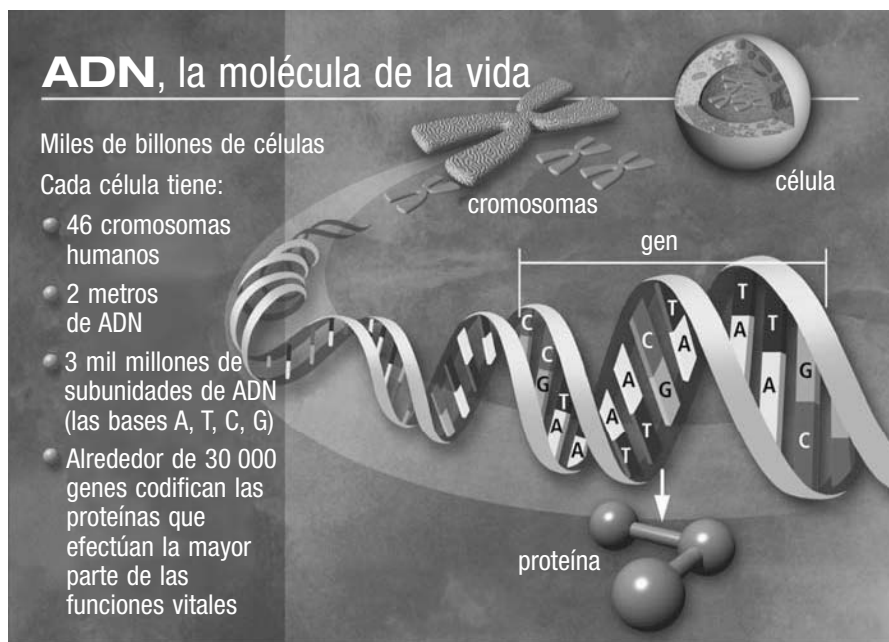


Figura 25.1. De los cromosomas a las proteínas. (Cortesía de U.S. Department of Energy Human Genome Program; www.ornl.gov/hgmis.)

uno de sus padres, y las piezas que recibe son aleatorias, por lo que cada hijo tiene un subconjunto diferente de genes de cada padre, a excepción de los gemelos idénticos.

Cuando los cromosomas se observan al microscopio, se ven como sustancias grasosas y de aspecto tubular. De hecho, están formadas por una serie de genes, los cuales son hebras dobles de moléculas de ADN trenzadas en forma ceñida (figura 25.2). Las dos hebras se mantienen unidas gracias a puentes de hidrógeno débiles formados entre pares de bases de nucleótidos presentes en cada una de éstas, que se pueden considerar como los “peldaños” de la “escalera” del ADN.

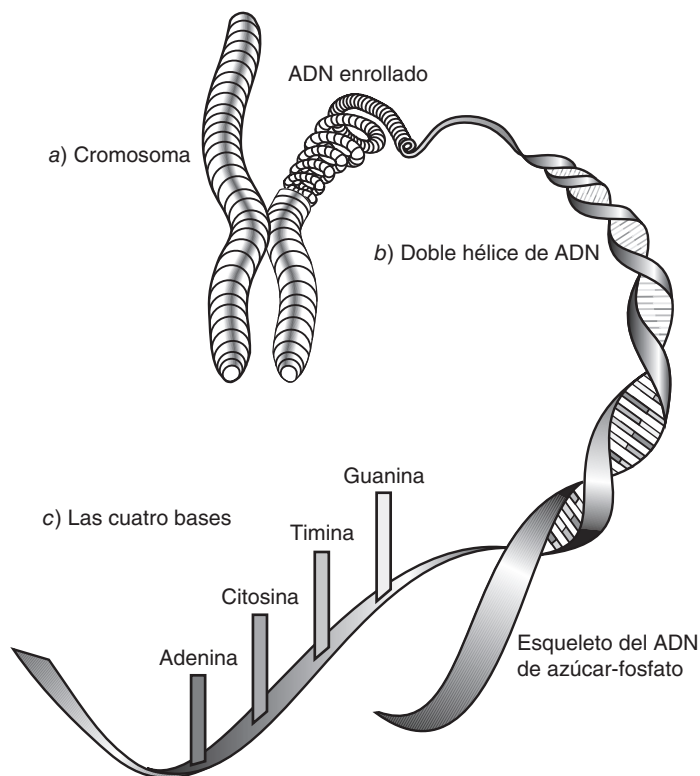


Figura 25.2. Estructura cromosómica. Cada cromosoma consiste en una doble hebra de ADN estrechamente trenzada que cuando se desenrolla revela su estructura de doble hélice. (Cortesía del Department of Energy Joint Genome Institute. El crédito es para la Universidad de California, la Biblioteca Nacional Lawrence Livermore y el Departamento de Energía, bajo cuyo patrocinio se llevaron a cabo los trabajos.)

25.2 ¿Qué es el ADN?

ADN quiere decir **ácido desoxirribonucleico**. Es una molécula polimérica larga, en la que los grupos que se replican son **nucleótidos**. Los nucleótidos consisten en un anillo de azúcar, un grupo fosfato y un anillo de ácido nucleico (el cual contiene un grupo nitrógeno básico, que viene a ser la **base** del nucleótido). El esqueleto de azúcar-fosfato no cambia, pero el grupo básico puede ser diferente a lo largo de la cadena. La estructura básica de un nucleótido se ve en la figura 25.3. Estos nucleótidos forman uniones entre el grupo 3' y el 5' (figura 25.4). Sólo hay cuatro bases del ácido nucleico en los nucleótidos del ADN, que forman cuatro nucleótidos diferentes. Éstos son adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T), y sus estructuras se aprecian en la figura 25.5.

Las bases de los nucleótidos en el ADN se unen (se aparean) *sólo en dos combinaciones*: A con T y G con C (figura 25.6). Todo lo que se requiere para escribir un código para cada parte del organismo son las diversas combinaciones de esos nucleótidos en la larguísima doble hebra del ADN. ¿Parece esto posible? Bueno, sólo recuerde el código Morse, que consiste sólo en puntos (·) y rayas (–), cuyas combinaciones se usan para crear el alfabeto (a = · –, b = – · ·, c = – · – ·, etc.). A continuación, con las 26 letras, se crean palabras (con espacios entre las letras); las palabras forman oraciones; las oraciones, párrafos; los párrafos, capítulos; los capítulos, libros, enciclopedias, etc. Como se verá más adelante, en el ADN se usan diversas combinaciones de nucleótidos en una fila para codificar la expresión del ADN. La figura 25.4 muestra tres nucleótidos unidos que forman un **oligonucleótido** del ADN. Obsérvese que los anillos de azúcar en el grupo OH 3' se unen con el grupo fosfato en la posición 5' del azúcar; entonces, un extremo del oligo ADN siempre termina con un grupo 5' y el otro con un grupo 3'. Ahora, cuando una sola hebra del ADN como ésta se une con otra idéntica (complementaria), lo hacen en direcciones opuestas, por lo que se dice que la estructura es antiparalela. En otras palabras, los azúcares están “hacia arriba” en una hebra y “de cabeza” en la otra, y los extremos 3' y 5' de cada hebra se encuentran en extremos opuestos. Las dos cadenas se sitúan de modo que sus bases puedan interactuar entre sí en la parte media y aparearse. Un nucleótido A siempre está frente a un nucleótido T, y uno G frente a uno C. Si bien las interacciones entre las bases son débiles, con un número suficiente de ellas se puede mantener unida la doble hebra.

25.3 El Proyecto del Genoma Humano

El Proyecto del Genoma Humano es un consorcio internacional de secuenciación del genoma humano (www.nhgri.nih.gov/NEWS/profiles.html) que fue formado en 1990 con la meta de identificar los 3 mil millones de bits (pares de bases) del ADN que forman todo el código genético humano en el genoma y establecer su secuencia correcta. El consorcio consiste en unos 20 grupos de Estados Unidos, el Reino Unido, Francia, Alemania, Japón y China, financiado principalmente por los Institutos Nacionales de Salud (NIH, National Institutes of Health) de Estados Unidos y Wellcome Trust de Londres, para reunir los aproximadamente \$2 500 millones de dólares. Las actividades científicas en Estados Unidos son manejadas por el Instituto Nacional de Investigación Genética y el Proyecto del Genoma Humano, del Departamento de Energía de Estados Unidos.

La meta original era terminar de ensamblar el genoma humano en 2003. Los laboratorios del consorcio secuencian el genoma bit a bit, en forma muy metódica, secuenciando “clon por clon” (más sobre esto, más adelante). Entonces entró a la escena un grupo privado llamado Celera Genomes Group, fundado por el Dr. Craig Venter, un ex investigador del NIH, quien anunció en 1998 que lanzaría un proyecto competidor y terminaría tres años antes. Él y sus colaboradores, en otras 13 localidades académicas no lucrativas e industrias, iniciaron la secuenciación en septiembre de 1999 y terminaron un borrador en octubre de

Antes o después de leer esta sección, consultar www.pbs.org/wgbh/nova/genome/dna.html, así como *Journey into DNA*.

Sólo cuatro bases codifican todas las funciones biológicas.

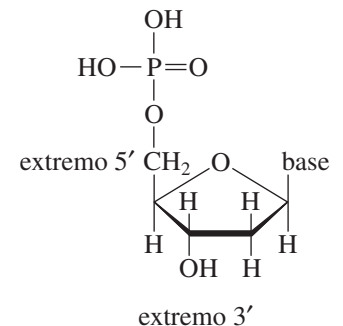


Figura 25.3. Estructura básica de los nucleótidos.

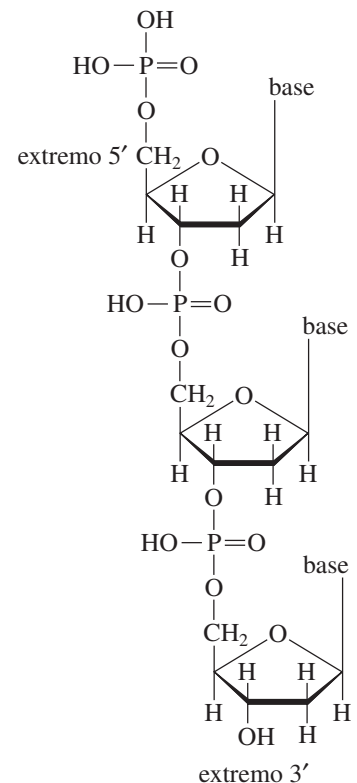
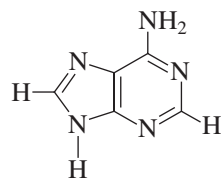
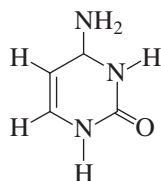


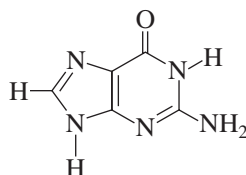
Figura 25.4. Oligonucleótido. Son aniónicos a pH fisiológico.



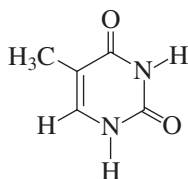
Adenina (A)



Citosina (C)



Guanina (G)



Timina (T)

Figura 25.5. Ácidos nucleicos en el ADN. Un hidrógeno se une con T y el hidrógeno del C se une con G en los oligonucleótidos.

Para revisar el papel de la química analítica en el Proyecto del Genoma Humano, véase E. Zubritsky, "How Analytical Chemists Saved the Human Genome Project", *Anal. Chem.*, **74** (2002) 23A (artículo especial).

Consultar estos anuncios históricos.

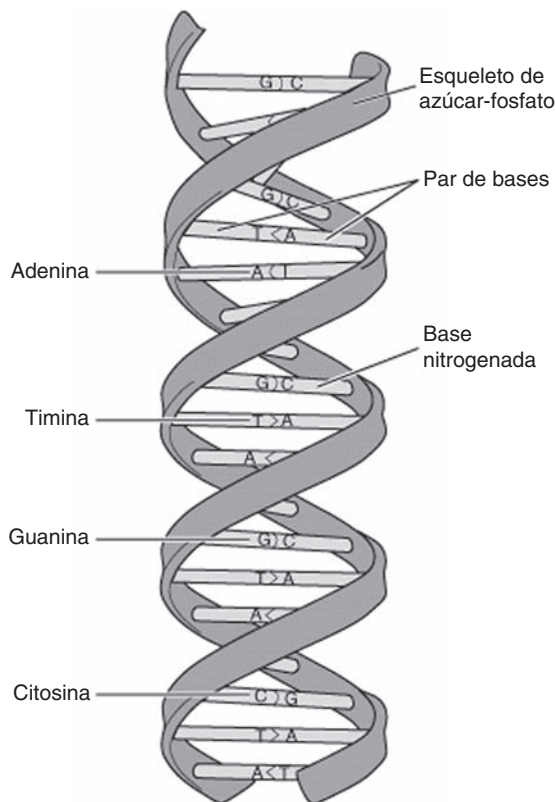


Figura 25.6. Doble hélice del ADN, formada por un esqueleto de azúcar-fosfato con apareamientos entre las bases A-T y C-G, lo que crea la forma enrollada. (D. Leja, National Human Genome Research Institute. Reproducción autorizada.)

2000, lo que fue un logro notable. ¿Cómo lo pudieron hacer? De dos maneras; primero, aprovecharon el vasto conjunto de datos que ya había reunido el consorcio (que están abiertos y sin costo para el público); después, desarrollaron una forma radicalmente nueva de secuenciación, conocida como "clonación de escopeta del genoma entero" (véase más adelante). Ellos comenzaron usando una nueva tecnología analítica automatizada más rápida, basada en electroforesis capilar de zona, más que en la electroforesis en gel que desarrolló su empresa hermana, Applied Biosystems: el ABI Modelo 3700 (más adelante, más acerca de las metodologías). Gran parte del consorcio se cambió a la misma tecnología para mantener el ritmo, y en junio de 2000 ambos lados acordaron anunciar que habían completado en gran medida la secuencia genética. En febrero de 2001, cada uno publicó sus resultados preliminares, el consorcio en *Nature*, **409** (2001) 860, y Celera en *Science*, **291** (2001) 1304. Se pueden ver los anuncios de la publicación en www.nature.com/genomics/human y en www.sciencemagazine.org/content/vol29/issue5501. Los datos del consorcio están abiertos al público. Celera llegó a un convenio con *Science* que permite que su equipo coloque sus datos en una base de datos con patente. Cualquiera tiene acceso a ella, pero no para propósitos comerciales.

En realidad, los resultados "preliminares" publicados acerca del genoma humano sólo estaban terminados en 89%, y su culminación y detalles completos requirieron otros tres años.

¿Cuáles fueron algunos de los hallazgos en la secuenciación del genoma humano? Algo de lo más sorprendente es que sólo hay de 30 000 a 35 000 genes que son los que producen las proteínas, representando apenas casi 1% del genoma. (A medida que se reúne más información, al parecer esto puede ser una desestimación para los primates.) Esto

constituye menos de la mitad de los 80 000 a 100 000 genes que se habían pronosticado. La mayor parte del genoma consiste en largos trechos de regiones no codificantes altamente repetitivas de ADN, y aproximadamente la cuarta parte del genoma es como un desierto que contiene largos segmentos libres de genes. Esta complejidad ha sido uno de los desafíos en la búsqueda de los genes.

25.4 ¿Cómo se secuencian los genes?

La secuenciación genética es un proceso complicado, pero hoy es bastante sistemático. Las figuras 25.7 y 25.8 resumen los pasos implicados, que se describirán adelante. Se secuencian fragmentos traslapados de genes, y a partir de las porciones que se traslapan se puede deducir el gen entero. El proceso consiste primero en aislar y multiplicar (clonar) grandes segmentos de los genes para obtener material suficiente para trabajar. Esos segmentos clonados forman una biblioteca genómica y se suministran a los laboratorios secuenciadores. Los segmentos largos que se traslapan se descomponen en tramos más cortos usando una técnica de cizallamiento aleatorio en la que se hace pasar la muestra por una aguja, donde las fuerzas de cizalla la rompen. Originalmente se empalmaban usando una enzima *nucleasa*, pero la técnica de cizalla da más aleatoriedad. (Las nucleasas degradan los ácidos nucleicos. Éstas pueden actuar sobre hebras individuales, sobre hebras dobles o sobre ambas. Una nucleasa puede degradar desde un extremo —una exonucleasa— o comenzar en la parte media —una endonucleasa.) Los empalmes se replican por apareamiento con los nucleótidos complementarios apropiados. Se comienza en un extremo y se agrega un nucleótido tras otro. De ordinario se avanzaría así hasta haber replicado todo el fragmento, pero se cuenta con una forma de detener aleatoriamente la replicación en diferentes puntos a lo largo del ADN, para cada uno de los cuatro nucleótidos. También se cuenta con una forma de determinar cuál es el nucleótido terminal, si es A, C, G o T. Si, entre los millones o miles de millones de clones de fragmentos, se obtienen algunos de todas las longitudes posibles a lo largo de la secuencia de nucleótidos, y si se pueden separar por su longitud y alinearlos, se tendrá el conjunto completo y ordenado de nucleótidos en la plantilla original del ADN. Supóngase que se ha aislado una serie de hebras, por orden de longitud, y que cada una termina en un nucleótido:

_____ T
 _____ A
 _____ A
 _____ C
 _____ G

Entonces la plantilla original era TAACG. A continuación se describirá cómo se hace.

25.5 Replicación del ADN: la reacción en cadena de la polimerasa

El ADN tiene una propiedad única: se desnaturaliza por calentamiento (en forma muy parecida a las proteínas), aunque esto ocurre por la separación de las dos hebras. Esto

Antes o después de leer las siguientes secciones sobre secuenciación, consultar www.pbs.org/wgbh/nova/genome/sequencer.html así como *Sequence for Yourself*.

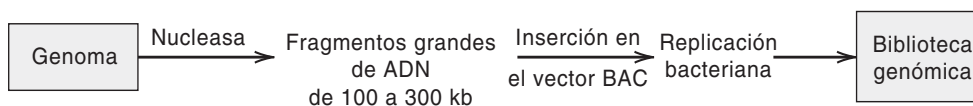


Figura 25.7. Creación de una biblioteca genómica.

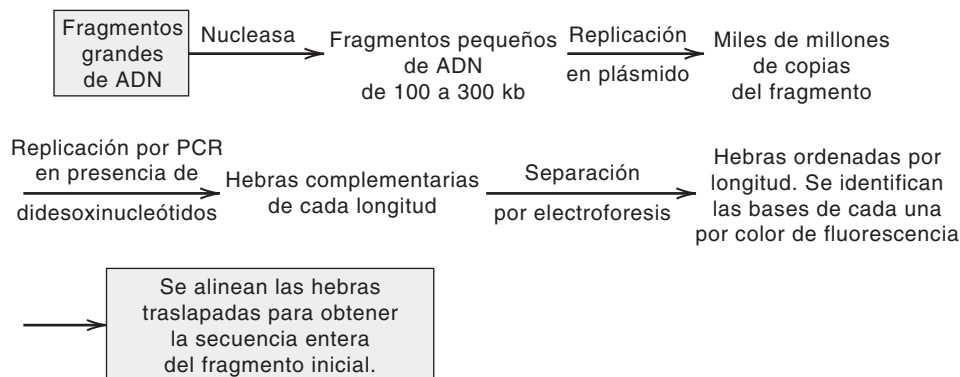


Figura 25.8. Secuenciación de una biblioteca genómica.

sucede si se calienta ADN en solución a la **temperatura crítica** (T_m). Las hebras separadas todavía son complementarias, y cuando la solución se enfríe, se alinearán por movimientos moleculares aleatorios uniéndose de nuevo, volviendo a formar el ADN. A este proceso se le llama **renaturalización** o **hibridación**.

Se desea multiplicar el ADN para tener suficiente material con qué trabajar en la secuenciación y la detección. En realidad se puede reconstruir cada una de las hebras complementarias separadas usando una enzima llamada **ADN polimerasa**, en presencia de los cuatro nucleótidos y un **cebador**. Un cebador es un trozo pequeño de ADN [oligonucleótido, en general de unas 20 bases (20 b) o nucleótidos (20 nt) de longitud]. El cebador es complementario a, y se une a uno de los extremos de la plantilla de ADN que se desea replicar. A continuación se presenta un cebador frecuente, el llamado T3:



Éste tiene 20 nt de longitud.

La ADN polimerasa adiciona nucleótidos complementarios a una hebra de ADN que sirve de plantilla.

La ADN polimerasa extiende el cebador para crear el complemento de la hebra de ADN, por lo que el cebador se usa para iniciar la reacción. La ADN polimerasa extiende el extremo 3' del cebador. “Lee” cada base en la plantilla de una hebra sencilla, y fija la base complementaria (es decir, A con T o T con A, y C con G o G con C). Al avanzar por la hebra crea el complemento exacto (es decir, para una hebra de 5' a 3' se tiene ahora la hebra complementaria de 3' a 5'), y lo mismo sucede con la otra hebra complementaria separada. De este modo se tiene ahora el doble del número de moléculas de ADN. Este proceso se puede repetir subiendo y bajando la temperatura hasta tener ADN suficiente para trabajar, cada vez duplicando el número de moléculas. Una sola copia de una hebra de ADN se puede amplificar para obtener miles de millones de réplicas. A este proceso se le llama **reacción en cadena de la polimerasa** o **PCR** (polymerase chain reaction).

Hay diferentes clases de polimerasas. La que se suele usar en PCR es la polimerasa Taq, que es estable a altas temperaturas y se obtiene de la bacteria *Thermophilus aquaticus*.

Con la reacción en cadena de la polimerasa se pueden detectar y medir cantidades extremadamente pequeñas de ADN, incluso en mezclas, y es útil en ciencia forense y en el diagnóstico clínico. Se usó, por ejemplo, en el caso de O.J. Simpson, para amplificar el ADN obtenido en pequeñas muestras de sangre en la escena del crimen. El ADN replicado se secuencia en la forma acostumbrada, como se describirá adelante, y se compara el patrón de nucleótidos contra el de un sospechoso.

25.6 Plásmidos y cromosomas bacterianos artificiales (BAC)

Para el proyecto genoma, se formaron “bibliotecas” de grandes piezas de ADN genómico clonadas, que son las que secuencian los investigadores. La clonación para las bibliotecas aprovecha la capacidad de la naturaleza de hacer la replicación por nosotros. Para replicar los fragmentos genómicos de ADN se usan distintos tipos de ADN, llamados vectores. Hay dos tipos comunes: los plásmidos y los cromosomas bacterianos artificiales (BAC, bacterial artificial chromosomes).

PLÁSMIDOS

Los plásmidos son pequeñas piezas circulares de ADN halladas en las bacterias y se pueden aislar en grandes cantidades. Los plásmidos aislados se empalman y el ADN que se desea secuenciar se adiciona (*se inserta*) a los empalmes. El ADN adicionado se denomina **inserto**. El plásmido que contiene el vector y el inserto se coloca de vuelta en las bacterias, y las bacterias lo replicarán junto con su propio ADN y producirán miles de millones de copias, las cuales a continuación se aislarán. Se suele conocer la secuencia del vector, pero no la del inserto. Los plásmidos típicos son pGEM, pBR322 y PUC18. Los ADN de los plásmidos poseen un tamaño limitado, alrededor de 2 a 20 kilobases (2 a 20 000 nt).

CROMOSOMAS BACTERIANOS ARTIFICIALES

Los BAC se usan para replicar hebras de ADN más grandes, en forma muy parecida a la de los plásmidos. Son vectores clonantes, capaces de insertar nucleótidos de 100 a 400 kilobases (100 000 a 400 000 nt); muy elevados. Como los plásmidos, se colocan en bacterias anfitrión que crecen y replican al BAC; en realidad producen minicromosomas. Las piezas mayores del ADN del genoma humano se han clonado de esta manera, creando una **biblioteca genómica** de BAC para su distribución en los laboratorios consorcio para el secuenciamiento. Cada biblioteca genómica contiene un fragmento grande del ADN genómico, de alrededor de 100 000 a 300 000 nt de longitud. Una biblioteca contendrá suficiente cantidad de estos BAC aleatorios como para que un gen dado tal vez esté en varios BAC traslapantes, y hay 99% de probabilidad de que cualquier pieza dada de ADN del empalme del ADN genómico esté presente. Los genomas completos se clonan en bibliotecas BAC, y los clones de BAC se secuencian con bastante rapidez, usando la técnica llamada **secuenciación de escopeta**.

Los comienzos de la secuenciación de los genes

La base para el tremendo esfuerzo de secuenciar el genoma humano data del decenio de 1970, cuando Frederick Sanger, en Cambridge, Inglaterra, desarrolló un método para secuenciar ADN usando trozos electroforéticos de gel. Naturalmente, esto se hacía en forma manual y era lento, de acuerdo con los patrones actuales, pero fue un avance fundamental. Sanger y sus colaboradores fueron los primeros en secuenciar genomas; el primero fue de un virus sencillo, seguido de un genoma mitocondrial. Después comenzaron a secuenciar genomas bacterianos. Sanger recibió dos Premios Nobel, uno por su trabajo en el desarrollo de secuenciación del ADN (1980, www.almaz.com/nobel/chemistry/1980c.html), y otro por su trabajo en la estructura de las proteínas (1958, www.almaz.com/nobel/chemistry/1958a.html).

El Dr. Maynard Olson (ahora director del Centro del Genoma en la Universidad de Washington) fue pionero de un sistema de clonación artificial en levaduras,

e introdujo ciertos marcadores de mapeo en la década de 1980 que fueron fundamentales para iniciar la secuenciación del gen humano. Otra pieza crítica fue el desarrollo de poderosos programas informáticos para clasificar los miles de millones de bits de información. El Dr. Phillip Green, colega de Olson, creó dos programas informáticos, llamados Phred y Phrap, que han desempeñado papeles críticos en el análisis de datos primigenios de ADN.

25.7 Secuenciación de ADN

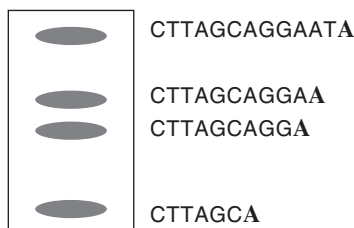
Con lo anterior ya se tienen diferentes segmentos del genoma listos para secuenciar. Estos fragmentos son de distintas longitudes y se traslaparán. Para armar el rompecabezas se secuenciará cada uno; después se alinearán para ver dónde están los traslapos y ¡listo!: se conocerá el genoma para todos los 23 pares de cromosomas (se ha simplificado un poco, debido a la estructura variada del genoma).

El proceso real de secuenciación es muy parecido al proceso PCR. Se pasa a través de la desnaturalización e hibridación para replicar las fracciones de ADN. La replicación o hibridación se hace en presencia de la plantilla de ADN, una polimerasa Taq y un cebador, para iniciar la replicación. Se debe hacer notar que, con frecuencia, la secuenciación precisa comienza a unas 50 bases del cebador. (La selección de un cebador es importante para colocarlo en un lugar adecuado en las plantillas de ADN, pero no se explicarán los detalles. Se debe poner un cebador a una distancia máxima del extremo 3', porque se extiende en esa dirección.)

El crecimiento de la cadena concluye con la adición de un didesoxinucleótido.

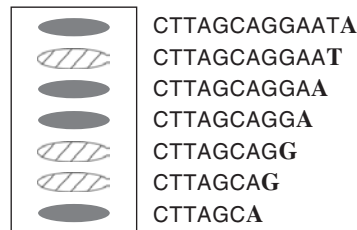
Hay una diferencia importante entre esto y la técnica de PCR convencional. Además de agregar los cuatro nucleótidos para construir la hebra complementaria, también se adiciona un pequeño porcentaje, cerca de 5%, de isómeros de cada nucleótido en los que el grupo 3'-hidroxi en el azúcar se reemplaza con un hidrógeno; éstos son los llamados **didesoxinucleótidos**. Considérese sólo el nucleótido A. La mayor parte del tiempo, cuando la polimerasa ve a una T, presentará la A complementaria y el proceso de hibridación continuará. Pero 5% de las veces se presentará el didesoxi-A. La polimerasa es incapaz de hacer crecer la hebra a partir de un didesoxinucleótido, y el alargamiento culminará, situación que se presenta también con los demás nucleótidos. Cuando se tienen miles de millones de copias de la plantilla de ADN, es seguro que se terminará una fracción de ellas con todas las longitudes posibles, cada una terminando en una molécula de didesoxi A, C, G o T. Habrá millones de cada una; se separarán por electroforesis y se medirán (véase más adelante). En este punto se debe mencionar una propiedad importante de los didesoxinucleótidos: están marcados químicamente, por lo regular con un fluoróforo que permite verlos a medida que son eluidos en un aparato de electroforesis. Cada uno tiene un marcador diferente, que fluoresce a distinta longitud de onda; entonces, a través de los cuatro colores fluorescentes diversos se conocerá en qué nucleótido termina el fragmento de ADN.

Si sólo se considera la marca A, las piezas separadas se podrían ver como las siguientes sobre el gel:



Los fragmentos más cortos migran con mayor rapidez hacia la parte inferior (y se eluyen primero). Aquí, en el fondo, los fragmentos primero y segundo están separados por dos fragmentos (no hubo terminaciones en A que correspondieran a esas dos longitudes), y los dos de arriba están separados por uno.

Ahora bien, en realidad se tiene una mezcla de fragmentos que terminan en los cuatro nucleótidos, y habrá algunos que tengan cada una de las longitudes posibles. Se separan y detectan cada uno de ellos, conociendo qué color de los cuatro posibles tiene (el grupo terminal). En el cromosoma anterior se llenaría como sigue:



Entonces, la secuencia es **CTTAGCAGGAATA**. Las letras en negritas son las que se han determinado. Se busca el traslazo con otros fragmentos analizados para determinar la secuencia entera. Por ejemplo, se podrían tener dos fragmentos como los siguientes:

CTTAGCAGGAATA
CTTAGCTAGGCCT

Las bases **TA** se traslapan, y entonces la secuencia es **AGGAATAGGCCT**. Las longitudes que se manejan en la realidad son mucho mayores, pero el principio se explica con el ejemplo anterior. Por convención, las secuencias siempre se escriben del extremo 5' al 3'.

La separación real y las mediciones se hacen con un instrumento automatizado de secuenciación de ADN. Las separaciones se hacen por electroforesis, en gel o capilar. Pueden tenerse 96 carriles de gel que se corren a la vez. La figura 25.9 muestra el orden reconstruido de bandas para una corrida típica. Un rayo láser en el instrumento barre cada

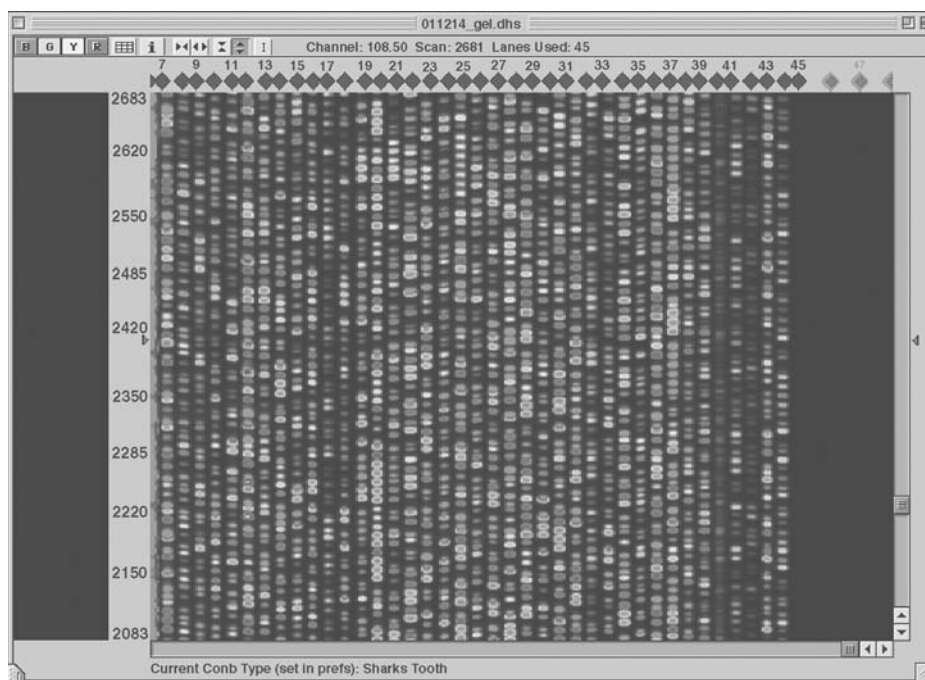


Figura 25.9. Separación de nucleótidos por electroforesis en gel. Cada carril vertical representa una muestra diferente; en cada banda las bases son eluidas por orden de tamaños: las más pequeñas se mueven con mayor rapidez; cada banda tiene uno de los cuatro colores básicos, que identifica la base terminal en el oligonucleótido que corresponde a esa banda. (Cortesía del Centro del Genoma, Universidad de Washington.)

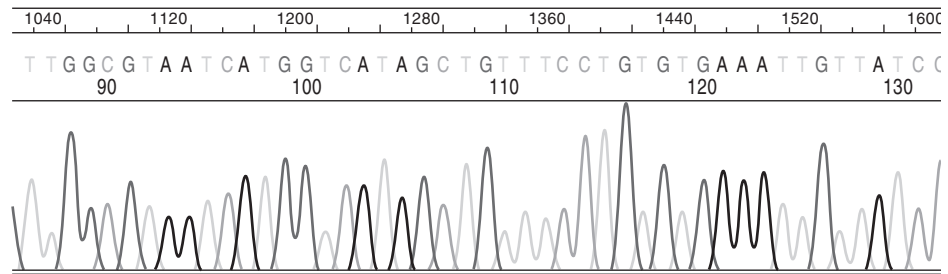


Figura 25.10. Cromatograma de bandas separadas. Cada máximo corresponde a uno de los cuatro colores, y la base de terminación está impresa arriba del máximo, en el mismo color. (Cortesía de DNA Sequencing Core, Universidad de Michigan.)

carril del gel cerca de la parte inferior, y el instrumento detecta la fluorescencia de cada banda de nucleótido (a la longitud de onda de emisión de cada una de las cuatro marcas de nucleótido).

A medida que se eluye y detecta cada nucleótido (los más pequeños salen primero), las señales de fluorescencia de las bandas se grafican y se obtiene un cromatograma. La figura 25.10 muestra un cromatograma parcial de un solo carril, barrido desde el fragmento más pequeño hasta el más grande. La computadora del instrumento, al conocer el color de cada banda que origina un máximo, imprime automáticamente el símbolo del nucleótido arriba de cada uno de ellos. La figura muestra sólo un pequeño segmento del cromatograma entero. Típicamente, se miden hasta 700 nucleótidos en una muestra; con mayor número de nucleótidos, el ensanchamiento de las bandas se vuelve excesivo como para lograr una detección exacta y sensible.

Lo que se acaba de describir es el método que usa el Proyecto del Genoma Humano, de patrocinio público. La National Science Foundation y los National Institutes of Health, en Estados Unidos, han patrocinado la preparación de bibliotecas de clones de cromosomas bacterianos artificiales (BAC, bacterial artificial chromosome). Los laboratorios participantes replican las bibliotecas y ejecutan la secuenciación usando la técnica de secuenciación de escopeta.

Resumiendo el procedimiento de secuenciación de escopeta del genoma, los laboratorios de secuenciación obtienen los clones BAC de las bibliotecas de clones BAC. Cada BAC contiene un fragmento grande del ADN genómico, de hasta 300 kb. Éstos se presentan en forma aleatoria, por lo que es probable que cualquier gen esté presente sobre los BAC traslapados. Los BAC son replicados por el laboratorio usando una ADN polimerasa. Sólo se pueden secuenciar unos pocos cientos de nucleótidos cada vez, por lo que los BAC multiplicados por lo regular se fragmentan usando fuerzas de cizalla, y los fragmentos se insertan en un vector (por lo general un plásmido) para replicarlos. Los fragmentos multiplicados se secuencian entonces usando una mezcla de los cuatro nucleótidos, sus isómeros didesoxi y un cebador, para formar hebras complementarias de diferentes longitudes. Las hebras se separan por orden de tamaño por electroforesis, y el nucleótido terminal de cada una de ellas es identificado por su color. De esta manera se escribe la secuencia de los nucleótidos en la dirección 5' a 3'. La secuencia de las hebras traslapadas da la secuencia completa de la pieza de BAC.

Phred y Phrap

La secuenciación del ADN genera inmensas cantidades de datos. Los máximos cromatográficos individuales se pueden traslapar, se pueden desplazar un poco respecto de su posición esperada, pueden tener una forma distorsionada, etc. Hay dos pro-

blemas que deben enfrentar los laboratorios: el primero es identificar de manera fiable los máximos de los nucleótidos, y el segundo es tomar la enorme cantidad de datos y ordenarla en las secuencias traslapadas apropiadas para formar la secuencia del genoma. El profesor Phillip Green, de la Universidad de Washington y miembro del U.W. Genome Center, ha escrito dos poderosos programas informáticos para resolver estos problemas, y estos programas se usan mucho en los laboratorios secuenciadores. Se llaman Phred (“phragment read”) y Phrap (“phragment assembly program” o “Phil’s revised assembly program”).

Phred lee e identifica las secuencias de ADN de los datos de trazas (bases), asigna valores de calidad a las bases y escribe las identidades de las bases y los valores de calidad en los archivos de resultados. Usa métodos de Fourier para examinar las trazas de las bases (máximos o perfiles cromatográficos) en la región donde se espera que haya una base; es decir, determina dónde debería estar centrado el máximo si no hubiera distorsiones ni otros factores que causen su corrimiento respecto de sus posiciones “verdaderas”.

Phrap es un programa para el ensamble de la secuenciación aleatoria. Delinea las identificaciones exactas probables de las bases en cada “lectura” y elimina las repeticiones. Construye una secuencia contigua en forma de un mosaico de las partes de máxima calidad de las lecturas, proporcionando secuencias con menos de un error por 10 kilobases. Se asigna una probabilidad de error a cada posición de secuencia de consenso, que permite a los investigadores concentrarse en la edición manual de las regiones determinadas que se necesiten.

25.8 Secuenciación de escopeta de todo el genoma

El método adoptado por el grupo privado Celera es algo diferente. No hacen uso de bibliotecas de BAC con largas piezas de ADN; en su lugar, rompen todo el genoma en fragmentos de sólo 2 000 a 10 000 nt de longitud y secuencian cada uno de ellos en grupos de unas 700 bases (el límite de resolución de los instrumentos). Si hay que ocuparse de 3 000 millones de bases, esto se traduce en una serie de piezas que deben separarse y ensamblarse en el orden correcto (en realidad, sólo se clasifica una parte de ellas, pero sigue siendo demasiado). Poderosas computadoras hacen la clasificación para ensamblar las piezas del rompecabezas.

Para procesar con mayor rapidez estos millones de piezas, toda la operación se realiza automáticamente haciendo las separaciones mediante electroforesis capilar, la cual tiene mayor poder de resolución y es más rápida que la electroforesis en gel. La detección se hace pasando un rayo láser a través de las gotas que se eluyen en los extremos de varios capilares. El consorcio público ha cambiado en forma prominente al uso de este instrumento también (el ABI modelo 3700).

Hay controversia acerca del método con el que se obtienen los resultados más exactos, y ambos grupos continúan llenando los huecos remanentes (recuerde que inicialmente sólo se determinaron 89% de los genes).

25.9 Polimorfismos de un solo nucleótido

La decodificación del genoma humano reveló que los seres humanos son marcadamente parecidos en su composición genética (de hecho, nuestro código genético no difiere mucho del de los animales). De los genes en los humanos, 99.9% son idénticos, y sólo 0.1% causan las distintas características que nos diferencian. Dentro de este 0.1% se encuentran también los genes que contribuyen a las enfermedades y a las disfunciones, y suelen dife-

Los polimorfismos de un solo nucleótido son los que nos diferencian a cada uno. Éstos constituyen 0.1% de los genes.

rir en una sola base. Naturalmente, 0.1% de 3 000 millones son tres millones de genes. Sin embargo, hay marcadores genéticos que estrechan la búsqueda de las regiones genómicas que interesan, las cuales reciben el nombre de **polimorfismos de un solo nucleótido** (SNP, single-nucleotide polymorphisms; se pronuncia “snip”). Se estima que 80 a 90% de la variación en los humanos se debe a los SNP. La detección de ellos es un área muy activa en la investigación para los estudios clínicos y farmacogénicos a fin de identificar defectos genéticos y para descubrir medicamentos para su tratamiento.

Los SNP suelen presentarse en los mismos sitios genómicos de todas las personas. Se han identificado unos tres millones, y quizás haya 10 millones en la población humana completa. Muchos tienen poca importancia, pero la presencia de SNP en regiones específicas posee alta correlación con enfermedades específicas. La mayor parte de las enfermedades tiene cientos de SNP diferentes. Sólo hay unos 200 000 SNP que tienen frecuencias razonables, y se ha encontrado que casi todas las enfermedades genéticas comunes se encuentran entre esos 200 000.

Los SNP se identifican por secuenciación. Se están desarrollando nuevas tecnologías basadas en microarreglos en ADN para hacer ensayos rápidos de SNP.

25.10 Chips de ADN

Los microarreglos de ADN contienen hebras conocidas de ADN. Los complementos híbridos de hebras específicas procedentes de muestras adicionadas se detectan mediante fluorescencia.

Para obtener información rápida y a bajo costo sobre las características genéticas de un individuo, en especial para identificar marcadores genéticos de diversas enfermedades, los científicos han desarrollado nuevas tecnologías. Éstas se fundamentan en los **microarreglos de ADN** o, como en la actualidad se les denomina, **chips de ADN**. Con ellos se analiza una muestra genética para ver si contiene determinadas secuencias de ADN, por ejemplo, ciertos SNP.

Los chips de ADN se basan en que las hebras complementarias de ADN se adhieren entre sí; se preparan los segmentos de una cadena de ADN de hebra sencilla de secuencia conocida (por desnaturalización) y se depositan (se ligan) sobre placas de microarreglos; cada mancha tiene una secuencia diferente de nucleótidos ligados, y la muestra desconocida se coloca sobre cada mancha. Cuando una secuencia desconocida encuentra su complemento, se une a éste. Se añaden marcadores fluorescentes que se enlazan a las hebras híbridas. Sólo se desarrolla la fluorescencia cuando se hibridan o unen los complementos; entonces se pueden identificar de inmediato las secuencias desconocidas a partir de los nucleótidos conocidos ligados con los que se unen gracias a sus manchas fluorescentes.

Sobre una rejilla microscópica de sólo unos pocos centímetros de largo se pueden colocar cientos o miles de diferentes secuencias de ADN. Los chips son producidos, marcados y vendidos en masa a los usuarios por empresas comerciales. También hay analizadores portátiles manuales de chips de ADN con unos 100 sitios de prueba (véase www.nanogen.com).

ANÁLISIS DE SNP

Los chips de ADN se usan en la determinación de SNP mutados que causan enfermedades.

La identificación de los SNP de un individuo que puedan estar relacionados con determinada enfermedad será una función importante en los diagnósticos, la prevención y el tratamiento médico en un futuro. La tecnología de chips de ADN será la clave en esas determinaciones. Se preparan chips con muchas variantes posibles de un gen debidas a enfermedades específicas. Se toma al paciente una muestra de ADN, y se amplifica mediante PCR. La muestra amplificada se coloca sobre el chip y la luminiscencia identifica la variante particular en la secuencia que pueda tener el paciente. Se pueden administrar diversos medicamentos y hacer más pruebas para ver cuáles podrían eliminar la variante.

Un ejemplo del uso de chips de ADN es la determinación de si una mujer posee mutaciones del gen BRCA1. Se cree que la mutación de este gen, y la del BRCA2, son responsables hasta de 60% de los cánceres hereditarios de mama y de ovarios. Los chips

de ADN contienen fragmentos de ADN BRCA1 normal. La muestra de ADN de la sangre de la paciente y una muestra de control que no contenga la mutación se desnaturalizan para formar hebras aisladas que se cortan en fragmentos más pequeños y manejables, y se marcan con colorantes fluorescentes. El ADN de la paciente se marca con un colorante verde y el control con uno rojo. Ambos conjuntos de muestras de ADN marcado se colocan en el chip y se dejan hibridar (unir) a los fragmentos BRCA1 en el chip. Si el ADN del paciente no presenta mutaciones, se hibrida con los mismos fragmentos BRCA1, como ocurre con la muestra normal, y las manchas del paciente se identificarán mediante la fluorescencia verde y los controles mediante la roja. Sin embargo, si hay mutaciones en los genes de la paciente, entonces su ADN no se hibrida en la región donde se localice la mutación.

PERFIL DE LA EXPRESIÓN

Un gen se expresa transcribiendo su secuencia de ADN a una copia complementaria de **ácido ribonucleico mensajero** (mARN). La secuencia de ARN se traduce a través de una enzima de ribosoma a la cadena de aminoácidos que forman determinada proteína. La respuesta de una célula a un estímulo, por ejemplo una toxina, se puede evaluar determinando el efecto sobre una expresión genética, es decir, determinando si el gen se activa o se desactiva.

También se puede aplicar el análisis de expresión para clasificar tipos de cánceres u otras enfermedades. Esto se hace obteniendo patrones de expresión genética de pacientes con variantes conocidas de la enfermedad y después comparando las secuencias de mARN con una nueva expresión genética del mARN del paciente. En este caso, los complementos conocidos de ARN para las variantes de la enfermedad se colocan en los chips como plantillas.

El análisis de expresión será muy importante en un futuro para clasificar los diversos tipos de cáncer y otras enfermedades con base en patrones de actividad genética en las células tumorales, lo que permitirá tratamientos más específicos dirigidos a cada tipo de cáncer y también que los investigadores determinen qué terapias son las más efectivas en cada caso.

La expresión genética se determina midiendo mARN sobre chips de ADN.

25.11 Borrador del genoma

La construcción del borrador del genoma humano fue lograda por el equipo de los centros de secuenciación mediante la producción de muchos datos traslapados. Se produjeron más de 22 000 millones de bases de datos de secuencias en bruto, que cubrieron siete veces el genoma entero (secuenciado siete veces). Hubo 3 900 millones de bases traslapadas en los fragmentos. Más de 30% de este borrador fue de alta calidad, terminando la secuencia, con un alcance de ocho a 10 veces y una exactitud de 99.9%. Sólo hubo pocos huecos en 89% de la parte terminada del genoma. El trabajo continuo rellenó los genes y las secuencias del resto del genoma (fecha de terminación, 2003).

25.12 Genomas y proteómica: el resto de la historia

La unidad fundamental de todos los sistemas vivos es la célula. El ADN en el núcleo da las instrucciones para dirigir las actividades celulares, principalmente mediante la producción de proteínas. Pero son las proteínas las que hacen la mayor parte de las funciones vitales, a menudo en forma de complejos entre proteínas. Para comprender la función de las proteínas, su relación con las enfermedades y para desarrollar medicamentos para enfermedades específicas, se debe estudiar la expresión genética en la producción de proteínas, así como determinar la estructura y las funciones de las proteínas. En esos estudios se emplean técnicas y herramientas analíticas.

La **genómica** se define como el estudio del ADN y el proceso de codificación implicado para la formación de proteínas. La **proteómica** es el estudio de las proteínas en una célula: identificación del complemento proteínico entero de una célula, tejido u organismo (el proteoma). Incluye el estudio de la interacción de las proteínas, e incluye la secuenciación de las proteínas para determinar su estructura primaria.

Las proteínas son moléculas grandes formadas por 20 clases distintas de **aminoácidos** (véanse los capítulos 10 y 21). A una serie de varios aminoácidos unidos se le llama **péptido**. Los aminoácidos se unen entre sus grupos carbonilo y amino expulsando una molécula de agua en una reacción de condensación, para formar enlaces —C(=O)—NH— (enlaces peptídicos). Los genes codifican la síntesis de proteínas a partir de los aminoácidos. Dentro de los genes hay una secuencia de tres bases específicas, llamadas **codones**, que dirigen la química de la síntesis de la proteína en la célula agregando un aminoácido específico que aumente la cadena de péptido. Por ejemplo, la secuencia de bases de nucleótidos ATG codifica la adición de una molécula de metionina. Un gen de tamaño medio contiene unas 3 000 bases, por lo que hay 1 000 codones de tres bases. Por lo anterior, una proteína codificada por el gen contendrá unos 1 000 aminoácidos. Éste es el **código genético**, una serie de codones que dirigen la formación de proteínas específicas. El contenido particular de aminoácidos en una proteína la hace plegarse, formando una estructura tridimensional específica que determina la forma en la que funcionará en la célula (véase la figura 25.11).

la de agua en una reacción de condensación, para formar enlaces —C(=O)—NH— (enlaces peptídicos). Los genes codifican la síntesis de proteínas a partir de los aminoácidos. Dentro de los genes hay una secuencia de tres bases específicas, llamadas **codones**, que dirigen la química de la síntesis de la proteína en la célula agregando un aminoácido específico que aumente la cadena de péptido. Por ejemplo, la secuencia de bases de nucleótidos ATG codifica la adición de una molécula de metionina. Un gen de tamaño medio contiene unas 3 000 bases, por lo que hay 1 000 codones de tres bases. Por lo anterior, una proteína codificada por el gen contendrá unos 1 000 aminoácidos. Éste es el **código genético**, una serie de codones que dirigen la formación de proteínas específicas. El contenido particular de aminoácidos en una proteína la hace plegarse, formando una estructura tridimensional específica que determina la forma en la que funcionará en la célula (véase la figura 25.11).

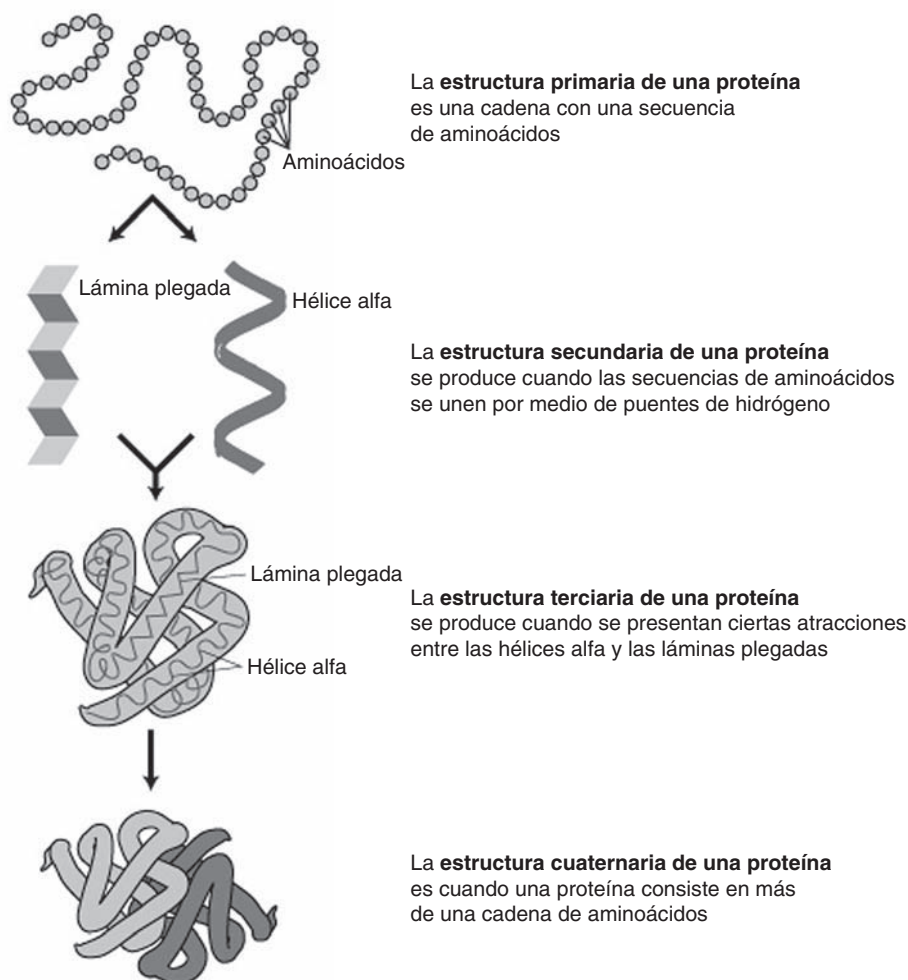


Figura 25.11. Estructura de las proteínas. (D. Leja, National Human Genome Research Institute. Reproducción autorizada.)

Las instrucciones de codificación en el gen se transmiten mediante la formación de una hebra sencilla complementaria intermediaria de ácido ribonucleico mensajero (mARN) a través de un proceso llamado **transcripción**. El mARN migra saliendo del núcleo y va al citoplasma, donde se transforma en la plantilla para síntesis de proteínas.

Ya antes se describió el método para estudiar la expresión genética usando chips o microarreglos de ADN, y cómo se usa la información para identificar mutaciones de genes que causan enfermedades específicas. El campo de la proteómica va más allá, en busca de obtener información estructural acerca de las proteínas. Se cuenta con poderosas herramientas para separar y estudiar las mezclas de proteínas.

PAGE BIDIMENSIONAL

La **electroforesis bidimensional en gel de poliacrilamida (2-D PAGE, two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis)** es la técnica principal para separar mezclas complejas de proteínas. Primero se separan las proteínas de acuerdo con su carga y después con base en su tamaño molecular. La muestra se coloca en la parte superior de un tubo de gel para su resolución inicial usando **enfoque isoeléctrico**, donde las proteínas se mueven en un campo eléctrico de acuerdo con su carga (sus puntos isoeléctricos; véase el capítulo 21). Hay un gradiente de pH inmovilizado en el gel que mejora la eficiencia de la separación cambiando la carga a medida que las proteínas descienden por el gel, de manera muy parecida a como lo hace la programación de temperatura en la cromatografía de gases. Después de esta primera separación unidimensional, se coloca el gel encima de un gel de poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio (SDS, sodium dodecyl sulfate), y las proteínas en cada posición en el gel de enfoque isoeléctrico se siguen separando por electroforesis de acuerdo con su tamaño (SDS-PAGE). Esta separación bidimensional se basa en principios de separación ortogonal, y permite obtener resoluciones muy altas. Se pueden separar varios miles de proteínas o de grupos de proteínas. Véase un ejemplo típico de la separación de una mezcla en la figura 25.12.

MALDI-TOF

Una vez separadas las proteínas, se presenta el problema de identificarlas, o de identificar las de interés. (Con frecuencia, en los estudios de expresión de proteínas, las manchas de proteínas, como las de una muestra cancerosa, se comparan con las de un control, y sólo las que parecen diferentes se analizan con mayor detalle. Las manchas se tiñen con un colorante fluorescente que ilumina las diferencias.)



Figura 25.12. Separación bidimensional de proteínas en gel. (Según Harefield Hospital, Middlesex, UK. Cortesía del Dr. Mike Dunn. Reproducción autorizada.)

La identificación de las proteínas se logra con un protocolo de análisis de secuencia, en el cual las proteínas en las manchas individuales son removidas del gel y degradadas para formar una mezcla de péptidos. La proteína se rompe con tripsina, una enzima proteolítica muy selectiva hacia los enlaces peptídicos que fragmenta (el lado C-terminal de arginina o lisina en la proteína). A continuación se analiza la mezcla de péptidos por espectrometría de masas para identificar los péptidos individuales.

En los análisis por espectrometría de masas se requiere una fuente de ionización y un analizador de masas (véase el capítulo 20). La opción adoptada para la ionización es la de **ionización/desorción con láser asistida por matriz** (MALDI, matrix-assisted laser desorption ionization), en tanto que el analizador de masas es de **tiempo de vuelo** (TOF, time-of-flight). La combinación es MALDI-TOF; MALDI es una técnica de “ionización suave” que induce muy poca degradación de las muestras de alto peso molecular. Con frecuencia se detecta el péptido intacto (protonado), lo que facilita la identificación. La muestra de péptido se mezcla con un gran exceso de material de matriz, una pequeña molécula orgánica absorbente en el UV como el ácido dihidrobenzoico, y la mezcla se seca sobre una placa para obtener una matriz cristalina. Sucede que la matriz seleccionada absorbe la energía de la longitud de onda del láser de nitrógeno que se usa (377 nm), convirtiéndola en calor. Esto hace que se evapore y que se ionice la muestra por protonación del péptido a la carga +1. Este vapor se introduce en el analizador de tiempo de vuelo mediante lentes electrostáticos. MALDI, además de producir un solo máximo en el espectro de masas que corresponde a la especie iónica, es muy sensible; sólo se requieren femtomoles (10^{-15} moles) de la muestra para obtener un buen espectro de masas.

El tiempo de vuelo es el más sencillo de los analizadores de masas; determina la relación m/z de los iones midiendo el tiempo que tardan en atravesar un trayecto fijo hasta un detector de iones. Cada ion tiene la misma energía cinética cuando entra al analizador, pero la velocidad varía con la masa, haciendo que cada ion llegue al detector en tiempos diferentes.

IDENTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

La digestión con tripsina desdobra la proteína en numerosos polipéptidos de unos 4 a 20 aminoácidos de longitud. Con el experimento MALDI-TOF se pueden identificar varios de ellos. Hay bases de datos sobre proteínas que contienen datos de secuencia de aminoácidos para más de 100 000 proteínas (véase Protein Information Resource: <http://pir.georgetown.edu>). Los programas de búsqueda computarizada en bases de datos comparan la huella digital experimental con las secuencias de péptidos en cada proteína de un organismo dado, y sólo una proteína puede producir la serie observada de péptidos. A veces es posible tener una identificación exacta de la proteína con cinco o seis coincidencias de péptido, así como comparar los datos observados de las huellas digitales de los péptidos con cada una de las posibles proteínas humanas.

Hay otras técnicas y procedimientos para analizar mezclas de proteínas; muchas están en etapa experimental para acelerar el procesamiento de las muestras, ya que los avances en el campo requieren investigar grandes cantidades de muestras, pero las metodologías y técnicas descritas siguen siendo los caballos de batalla.

En este capítulo se presentaron las bases de la secuenciación y el análisis de ADN, y el análisis de proteínas complejas. Hay muchos detalles técnicos que entran en la realización de estas tecnologías, pero que salen del alcance de este texto. Se deben consultar textos de bioquímica y biología molecular para tener más información acerca de la biología del ADN y las proteínas. Las referencias de la web que se mencionaron a lo largo del capítulo y las que se citan al final proporcionan información tutorial útil sobre estos temas.

Objetivos de aprendizaje**ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO**

La composición del ADN, p. 695

- El Proyecto del Genoma Humano; inicio y culminación, p. 695
- La secuenciación de genes; la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); plásmidos y BAC, pp. 697, 699
- Secuenciación de ADN; separación e identificación de los nucleótidos; electroforesis en gel y capilar, p. 700.
- Secuenciación en escopeta del genoma completo, p. 703
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) como marcadores genéticos, p. 703
- Chips de ADN, p. 704
- Proteómica; separación e identificación de proteínas: PAGE 2-D para separar, espectrometría de masas MALDI-TOF para identificar, pp. 705, 707

Preguntas

1. ¿Qué son los genes y los cromosomas?
2. ¿De qué está formado el ADN?
3. ¿Qué es la reacción en cadena de la polimerasa?
4. ¿Qué es un plásmido? ¿Qué es un BAC?
5. ¿Qué es una biblioteca genómica?
6. Explicar la secuenciación en escopeta del ADN.
7. ¿Qué es un SNP?
8. ¿Qué es un chip de ADN?
9. ¿Qué es un perfil de expresión?
10. ¿Qué es la genómica? ¿Qué es la proteómica?
11. ¿Cuáles son los componentes químicos básicos de una proteína?
12. ¿Cómo codifica un gen a una proteína?
13. ¿Qué es PAGE bidimensional?
14. ¿Qué es MALDI-TOF?
15. ¿Cómo se identifican las proteínas a partir de las huellas digitales de los aminoácidos?

Problemas

16. Se realiza una separación electroforética de los fragmentos de nucleótido procedentes de una sección de ADN. El cebador es GATCCA. Con los cuatro colores fluorescentes se identifican las siguientes marcas terminales, en orden creciente de longitud: ATTGCAT. Éste se traslapa con otro fragmento de ADN usando el mismo cebador, el cual produce marcas terminales, en orden creciente de longitud, de CATTCCGTA. ¿Cuál es la secuencia de los fragmentos traslapados?

Referencias recomendadas

SITIOS WEB

1. www.ornl.gov/hgmis. Sitio que contiene información de investigación sobre el genoma humano del Departamento de Energía de Estados Unidos. El vínculo *Education* tiene una excelente introducción a la genética molecular, donde se incluyen la determinación y la secuenciación del genoma humano y un glosario de términos. El vínculo *Science Behind the Project* presenta un tutorial breve sobre las funciones celulares básicas, del genoma al proteoma.
2. www.nhgri.nih.gov. Sitio del Instituto Nacional de Investigación del Genoma, de National Institutes of Health (NIH), en Estados Unidos. Contiene una lista alfabética de términos genéticos e ilustraciones genéticas, y también el Proyecto del Genoma Humano.
3. www.genome.washington.edu/UWGC. Centro del Genoma de la Universidad de Washington. Tiene un excelente tutorial, que incluye la secuenciación aleatoria. Muestra información técnica detallada y listas de genes.
4. <http://science-education.nih.gov>. El vínculo *Snapshots of Science & Medicine* tiene artículos novedosos; por ejemplo, sobre chips de ADN.
5. <http://seqcore.brcf.med.umich.edu>. De DNA Sequencing Core, Universidad de Michigan. Excelente tutorial sobre secuenciación.
6. www.ensembl.org. Excelente sitio con detalles de los cromosomas. Tiene figuras de cada cromosoma. Al hacer clic en un cromosoma se obtiene una figura detallada de los genes y SNP en distintas posiciones en el cromosoma.
7. www.pbs.org/wgbh/nova/genome. Buenos tutoriales visuales sobre ADN y secuenciación.
8. www.ncgr.org. Sitio del National Center for Genetic Resources. Se concentra sobre tecnología de programas informáticos.

EL GENOMA

9. K. Davies, *Cracking the Genome: Inside the Race to Unlock Human DNA*. Nueva York: Free Press, 2001.

PROTEOMAS

10. S. P. Gygi, G. L. Corthals, Y. Zhang, Y. Rochan y R. Aebersold, "Evaluation of Two-Dimensional Gel Electrophoresis-Based Proteome Analysis Technology", *Proc. National Acad. Sci.*, **97** (2000) 9390.
11. M. Mann, R. C. Hendrickson y A. Pandey, "Analysis of Proteins and Proteomes by Mass Spectrometry", *Ann. Rev. Biochem.*, **70** (2001) 437.
12. S. Pennington y M. J. Dunn, eds., *Proteomics: From Protein Sequence to Function*. Berlín: Springer, 2001.

BIOINFORMÁTICA

13. G. R. Grant y W. J. Ewens, *Statistical Methods in Bioinformatics: An Introduction*. Berlín: Springer, 2001.
14. S. Misener y S. A. Krawetz, eds., *Bioinformatics: Methods and Protocols*. Totowa, NJ: Humana, 2000.
15. D. W. Mount, *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

16. A. D. Baxevanis y B. F. Francis Ouellete, eds., *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, 2a. ed., Nueva York: Wiley-Liss, 2001.

MICROARREGLOS

17. M. Schena, ed., *Microarray Biochip Technology*. Westborough, MA: Eaton, 2000.
18. M. Schena, ed., *DNA Microarrays: A Practical Approach*. Oxford: Oxford University Press, 1999.
19. J. B. Rampal, ed., *DNA Arrays: Methods and Protocols*. Totowa NJ: Humana, 2001.



Capítulo veintiséis

MUESTREO Y ANÁLISIS DEL MEDIO AMBIENTE

Las mediciones analíticas son clave para comprender el medio ambiente.

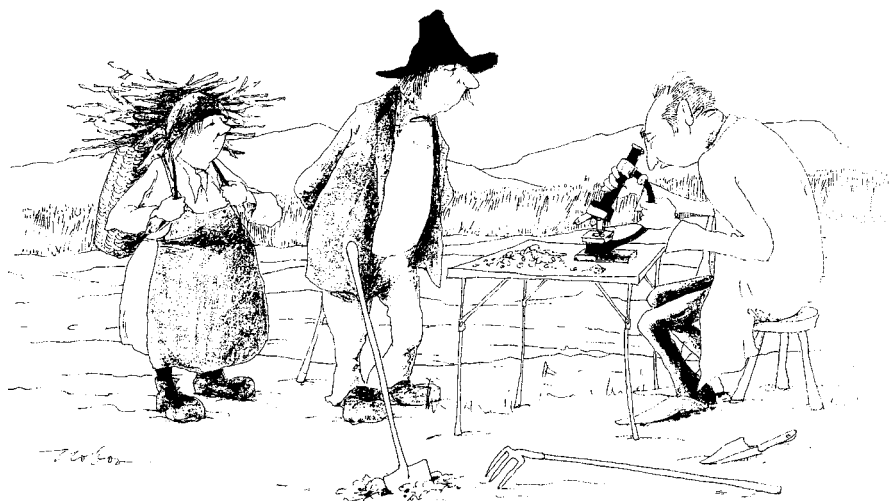
Los problemas del medio ambiente (aire, agua, desechos sólidos, e higiene y salud ocupacional) y su control tienen gran interés y publicidad. Se ha llegado a la conclusión que éste es un campo muy complejo, y si bien se ha avanzado bastante, aún hay mucho por aprender acerca del medio ambiente. La química analítica tiene un papel muy importante para definir y controlar la contaminación ambiental. En este capítulo se describirán en forma breve las técnicas analíticas que se usan para recolectar y analizar muestras del ambiente.

26.1 Obtención de una muestra adecuada

Es probable que la obtención de una muestra representativa sea el paso más importante en el análisis ambiental. Con frecuencia, los errores de muestreo del ambiente son mucho mayores que los errores en los procedimientos analíticos. Por ejemplo, en una encuesta se encontró que para las muestras geoquímicas la varianza analítica sólo era 0.1% de la varianza total, en tanto que la varianza en el muestreo era 43% del total, y 53% se podría atribuir a la varianza geoquímica real [M. H. Ramsey, "Appropriate Precision: Matching Analytical Precision Specifications to the Particular Application", *Anal. Proceed.*, **30** (1993) 112]. Para que la interpretación de los análisis químicos sea fiable, la varianza combinada de muestreo y analítica no debe ser mayor al 20% de la varianza total. La falta de homogeneidad en la muestra puede ser un problema. Se deben repasar las consideraciones para el muestreo en el capítulo 3 a fin de estimar la cantidad de muestras necesarias con objeto de tener un error aceptable de muestreo.

Se presentarán los cuidados en el muestreo y algunos procedimientos de muestreo y preparación de muestras de aire, agua y sólidos. Pero primero se describirán algunas técnicas genéricas para el muestreo.

El análisis de muestras líquidas y sólidas requiere, con mucha frecuencia, de alguna forma de extracción con disolventes para aislar los componentes orgánicos. Se puede usar la extracción con disolventes convencionales y ajustar el pH para lograr cierta selectividad;

*Análisis de campo*

Cortesía de Merck KGaA. Reproducción autorizada.

por ejemplo, extraer de una solución ácida para evitar que se extraigan componentes básicos. Hoy se emplean métodos más eficientes de extracción, como los asistidos por microondas, o la extracción acelerada con disolventes para las muestras sólidas (véase el capítulo 19). Véase www.sampleprep.duq.edu para una descripción general de la extracción con disolventes asistida por microondas. En este sitio aparecen los métodos EPA (*Environmental Protection Agency*) que utilizan este sistema. Se describen métodos para digestión ácida de material inorgánico usando una tabla periódica para seleccionar determinado elemento y el (los), ácido(s) recomendado(s).

26.2 Toma de muestras de aire y su análisis

Alguna vez se consideró que cuando determinado contaminante era arrojado a la atmósfera, su composición química no cambiaba, y que la determinación de ese contaminante indicaría el grado de contaminación. Sin embargo, hoy se reconoce que muchas sustancias sufren descomposición y reacciones fotoquímicas en la atmósfera formando diversos contaminantes que pueden ser aún más tóxicos que sus precursores. Por ejemplo, se considera que el conocido smog se relaciona con la interacción del óxido de nitrógeno, los hidrocarburos y la luz solar; estos factores señalan la importancia de un muestreo adecuado. Una vez tomada la muestra se podrá emplear cualquier cantidad de técnicas normales de medición.

El aire está formado principalmente por N_2 , O_2 y Ar, que forman 99.9% del aire seco. Hay una cantidad variable de vapor de agua, y muchos componentes menores y vestigiales gaseosos, así como especies en forma de aerosol y partículas. La tabla 26.1 es una lista de algunos componentes atmosféricos gaseosos de interés ambiental, junto con sus concentraciones representativas en la troposfera. Típicamente, las concentraciones gaseosas se expresan como relaciones de mezcla, es decir, concentraciones en volumen/volumen. Una concentración de 1 ppm representa 1 volumen en 10^6 volúmenes de aire. Esas relaciones de mezcla son independientes de la temperatura y la presión; sin embargo, los efectos ambientales se pueden relacionar en forma cuantitativa con concentraciones en masa, que se pueden expresar como masa por unidad de volumen, por lo general, o en mg/m^3 de aire en condiciones específicas de temperatura y presión. Ésta es la forma en que se expresan los aerosoles y las partículas.

Tabla 26.1
Algunos gases de importancia ambiental

Compuesto	Concentraciones aproximadas (cuando está presente) (v/v)	Cuantificación representativa
CO	0.1 a 20 ppm	Electroquímica; CG
CO ₂	345 ppm	
CH ₄	2 ppm	
CFCl ₃ (freón 11)	0.0002 ppm	
CF ₂ Cl ₂ (freón 12)	0.00035 ppm	CG, captura de electrones
Hidrocarburos	10 ⁻⁶ a 10 ⁻³ ppm	CG, captura de electrones
NO	5 × 10 ⁻⁶ a 10 ⁻³ ppm	IR
NO ₂	0.001 a 0.15 ppm	UV; quimioluminiscencia
		Espectrofotometría, quimioluminiscencia
N ₂ O	0.3 ppm	IR; CG, captura de electrones
O ₃	0.001 a 100 ppm	UV; quimioluminiscencia
SO ₂	0.001 a 100 ppm	Fotometría de llama; espectrofotometría

CG = cromatografía de gases.

CONSIDERACIONES GENERALES

Es diferente trabajar con gases que con líquidos y sólidos. Se trabaja con grandes volúmenes. Por lo general se determina el peso del analito en la muestra.

En el análisis ambiental, las muestras por lo general se recolectan por una de varias razones importantes: para establecer concentraciones peligrosas en el ambiente, para comprender la química del ambiente, para evaluar la eficiencia de las medidas de control ambiental o para determinar la fuente de un contaminante. Por lo tanto, el modo de muestreo puede ser importante. Entre las mediciones está el seguimiento del aire del ambiente, de las emisiones industriales o de otra índole, y el muestreo del aire en interiores para determinar sustancias tóxicas específicas. Los componentes del aire en el ambiente tendrán cambios a corto y largo plazos. El ozono en las ciudades pasa por ciclos diarios, aunque el ozono estratosférico varía con las estaciones, y ha sufrido una disminución a largo plazo. Los gases como el dióxido de carbono, el óxido nitroso y el metano tienen aumentos graduales, del orden de 0.8% por año.

Las emisiones industriales se pueden monitorear cuando el gas sale de una chimenea o de una descarga, donde las concentraciones son mucho mayores que cuando ya está disperso; puede efectuarse monitoreo remoto para obtener una medición integrada de las emisiones.

1. Tamaño de la muestra. El volumen de aire que se muestrea es determinado por la concentración de la sustancia que debe medirse, la sensibilidad de la medición y la información que se desee. El intervalo de concentración de una sustancia podría desconocerse, y el tamaño de la muestra debería entonces determinarse por tanteos. Podrían necesitarse muestras tentativas de más de 10 m³ para determinar una concentración en el ambiente.

2. Rapidez de muestreo. La rapidez útil de muestreo varía con el dispositivo de muestreo y se debe determinar en forma experimental. La mayor parte de los muestreadores de componentes gaseosos tienen flujos permisibles de 0.003 a 0.03 m³/min. La eficiencia de captación no necesita ser del 100%, siempre que sea reproducible y se pueda calibrar con patrones conocidos; sin embargo, esta eficiencia debe ser del 75%, cuando menos. Todos los muestreadores tienen un umbral de rapidez por debajo del cual la eficiencia baja casi hasta cero; esto varía con el dispositivo de muestreo, y se debe determinar bajo las condiciones usadas. Más adelante se describirán algunos muestreadores.

3. Duración del muestreo. La hora del día y la duración del muestreo se determinarán de acuerdo con la información que se desee. Recuérdese que el periodo de muestreo sólo

dará un indicio de la concentración promedio durante ese periodo. Tendría más sentido muestrear aire urbano para determinar su contenido de monóxido de carbono durante las horas de tráfico intenso y durante periodos intermedios para obtener una indicación realista de la exposición total de un individuo al CO en una ciudad. Sólo con una serie de tiempos relativamente cortos de muestreo se podrían determinar concentraciones que se sabe son perjudiciales. Se requeriría un muestreador capaz de funcionar de manera eficiente con altos flujos durante cortos tiempos de muestreo, y podría ser preferible, en los casos que requieran muchos muestreos en intervalos cortos, emplear monitoreo continuo automático usando detectores muy sensibles.

4. Almacenamiento de la muestra. El almacenamiento de las muestras de aire debe ser mínimo; se deben proteger del calor y de la luz. Hay que tener cuidado para que el componente que se desee analizar no reaccione con otros componentes o con el recipiente; a veces las muestras gaseosas se pueden tomar adsorbiéndolas en un sólido, y no deben perderse gases por desorción antes del análisis.

LA CADENA DEL MUESTREO

Los requerimientos para tomar muestras intermitentes de aire son una fuente de vacío, un medio para medir la cantidad de aire muestreado y un colector o combinación de colectores. Se podrá usar un programador de intervalos para controlar el tiempo y la duración del muestreo. El **muestreador** (colector) debe ser la primera unidad de la cadena de muestreo, seguido del medidor y después de la **bomba de vacío**. A continuación se describirán algunos de los muestreadores más comunes.

1. Fuentes de vacío. Para succionar la muestra y que pase por el muestreador se usa vacío. Lo que se suele usar son bombas de vacío de motor o manuales, aspiradores y aspiradoras de automóvil. Cuando se usan aparatos de vacío para succionar las muestras a través de un filtro, en el que puede aumentar la pérdida de presión durante el muestreo (por ejemplo, a medida que el filtro se tapa parcialmente), se recomienda adjuntar un dispositivo de flujo constante.

2. Medidores. Los medidores de flujo son de dos tipos generales: los que miden la rapidez de flujo y los que miden el volumen. Los primeros son pequeños y poco costosos, pero tienen la desventaja de sólo medir la rapidez instantánea de flujo, por lo que se deben cotejar con frecuencia durante el periodo de muestreo. Los medidores de volumen registran el flujo total que pasa por ellos, por lo que son más útiles; sin embargo, son más voluminosos y en general más costosos.

Un **rotámetro** es un medidor de rapidez de flujo formado por un flotador esférico dentro de un tubo que tiene grabada una escala (véase la figura 26.1). El diámetro interior del tubo forma un cono, y es mayor en la parte superior. El gas entra por la parte inferior del tubo y el flotador de acero inoxidable sube y baja en proporción directa con la rapidez de flujo del gas; de hecho, se suministra un orificio variable. La escala está calibrada para el gas determinado (por ejemplo, aire) cuyo flujo se va a medir. Con frecuencia se proporcionan gráficas con los medidores para aplicar correcciones de temperatura o de presión, y se puede calibrar la escala para medir otros gases.

El **medidor de gas seco** y el medidor de gas húmedo son aparatos muestreadores de volumen. Un conjunto de fuelles de plástico se llena y vacía alternativamente, impulsando los indicadores con un sistema de brazos acampanados; se requiere muy poca presión. En el medidor se incorporan un termómetro y un manómetro para aplicar correcciones por temperatura y presión. Los medidores de gas seco son útiles para la medición de grandes volúmenes. El **medidor de gas húmedo** por lo general es más exacto que el de gas seco y es para volúmenes menores; el gas impulsa un rotor, que a su vez impulsa el medidor. La caja del medidor está parcialmente llena de agua, y en ella gira el rotor. El fabricante lo calibra a determinado nivel de agua.

Se pueden medir directamente tanto la rapidez de flujo de un gas y el tiempo, como su volumen total.

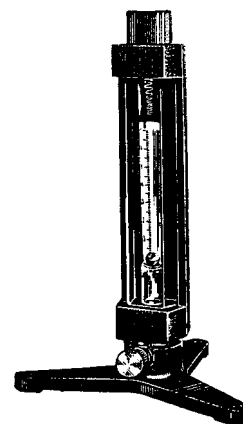


Figura 26.1. Rotámetro.
(Cortesía de Fisher Scientific Co.)



Figura 26.2. Bomba para muestreo de aire. [Cortesía de SKC (www.skcin.com).]

Las bombas de muestreo de aire pueden ser automedidoras; es decir, tener incorporado un medidor. La bomba se puede operar con una computadora programable para establecer las horas de arranque y detención, y hacer muestreos intermitentes, repetidos o continuos (véase la figura 26.2); la que se ve en la figura tiene un sensor de flujo isotérmico. Las fluctuaciones de temperatura o presión se corrigen automáticamente, y los datos del muestreo se pueden cargar en la computadora.

Todos los medidores de gases deben calibrarse antes y después de usarlos. Un método que se emplea con frecuencia es medir el volumen de un líquido (como agua) desplazado por el gas que pasa por el medidor; la figura 26.3 ilustra un método sencillo de calibración. Antes del medidor se pone un saturador (para saturar de agua el aire), para evitar la evaporación de parte del agua del contenedor. El agua desplazada del contenedor se pesa o la presión se mide. Al medir la presión con un manómetro en serie y la temperatura se obtiene un cálculo exacto del volumen del gas en condiciones estándar.

3. Muestreadores. El tercer componente de la cadena de muestreo es el colector, que puede ser de diversos tipos dependiendo de la aplicación en particular. Entre ellos están los filtros, los depuradores de vidrio sinterizado y los burbujeadores (*impingers*). Éstos y otros más se describen más adelante en el muestreo de componentes de aerosol y gaseosos.

Se pueden recolectar aerosoles de sólidos o líquidos, o se pueden recolectar gases y vapores.

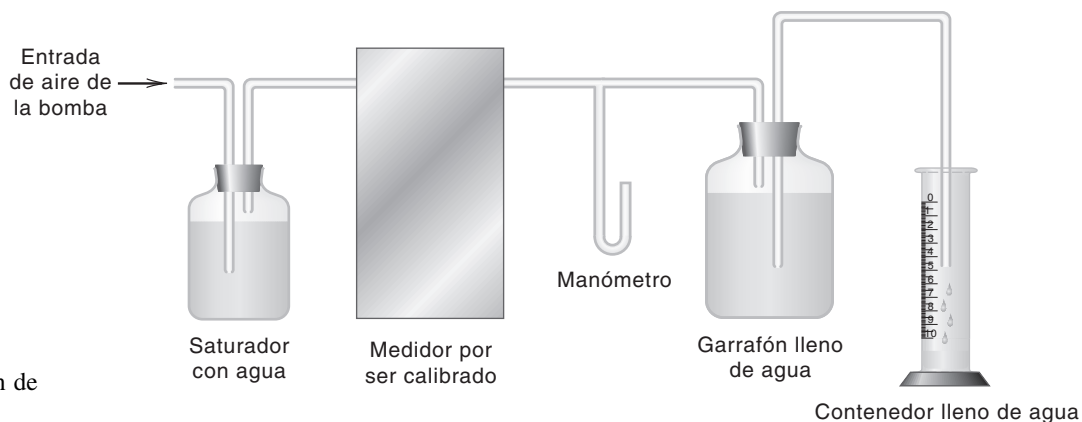


Figura 26.3. Calibración de los medidores de gas.

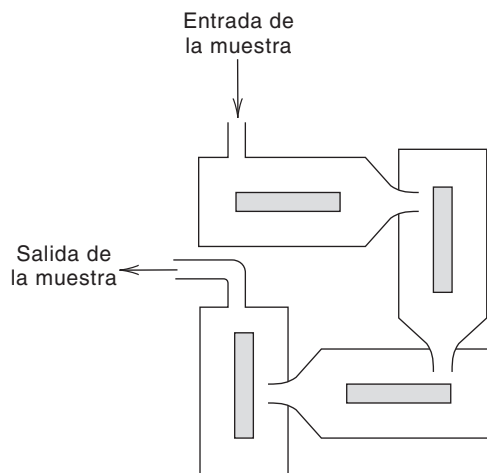


Figura 26.4. Impactador en cascada.

a) *Componentes del aerosol.* Uno de los métodos más usados para recolectar componentes de aerosol es la **filtración**. Después de recolectar en el filtro, se determina el contenido en aerosol pesando, analizando químicamente o clasificando por tamaño de partícula. Se usan filtros de fibra (de madera, papel, vidrio), granulares (vidrio o metal poroso, cerámica porosa, arena) y de membrana (éster de celulosa). El último es mejor para la clasificación por tamaños de partícula. La mayor parte de los filtros no se pueden usar a temperaturas elevadas o en condiciones húmedas, pero hay filtros de vidrio que se pueden usar a temperaturas hasta de 800°C.

Un segundo tipo de recolector para componentes en aerosol es el **burbujeador**, que sirve para aerosoles de sólidos y líquidos. En los burbujeadores secos, también llamados **impactadores**, los aerosoles chocan con una superficie expuesta a la corriente de aire. En la figura 26.4 se representa el impactador en cascada, que consiste en una serie de chorros progresivamente más pequeños que chocan en ángulo recto contra portaobjetos ordinarios de microscopio. Los impactadores son eficientes para recolectar partículas por debajo de 2 μm . Son adecuados para la recolección de aerosoles para examen microscópico.

En los **burbujeadores húmedos**, los aerosoles chocan con una superficie sumergida en un líquido (véase la figura 26.5). Hay un tubo de vidrio con un orificio en su extremo, que se dirige hacia una superficie plana, que puede ser el fondo del recolector o una plataforma de vidrio unida al tubo. Las partículas son retenidas por el líquido que hay en el tubo colector, y el líquido no debe disolver las partículas al ser recolectadas. Estos burbujeadores pueden recolectar partículas tan pequeñas como 0.1 μm .

Entre los colectores más sofisticados están los **precipitadores electrostáticos** y los **precipitadores térmicos**, que colectan partículas hasta de 0.001 a 0.01 μm .

b) *Constituyentes gaseosos.* Los gases y los vapores se pueden recolectar absorbiéndolos en un líquido, sobre una superficie sólida; congelándolos o condensándolos, o bien llenando un recipiente evacuado. La diferencia entre gases y vapores es que los últimos existen como líquidos a temperatura ordinaria y se pueden condensar con facilidad.

Los **tubos de adsorción de gas** son iguales a los tubos de desorción térmica descritos en el capítulo 20 y se usan para recolectar compuestos orgánicos volátiles. En el tubo pueden usarse uno solo o varios sorbentes. Una vez captados los analitos se pueden extraer del sorbente, o desorber térmicamente. Se puede usar microextracción en fase sólida (SPME, capítulo 18) para muestreo local del aire dejando que la fibra se equilibre con el aire; si la fibra está dentro de una aguja, la muestra puede succionarse sobre ella y hacer un muestreo integral. También se pueden usar el muestreo de espacio de cabeza y el de purga y trampa, como se describieron en el capítulo 20.

Para los gases y vapores en los que la concentración del analito es bastante mayor que los límites de detección del sistema medidor se pueden usar bolsas para muestrear aire

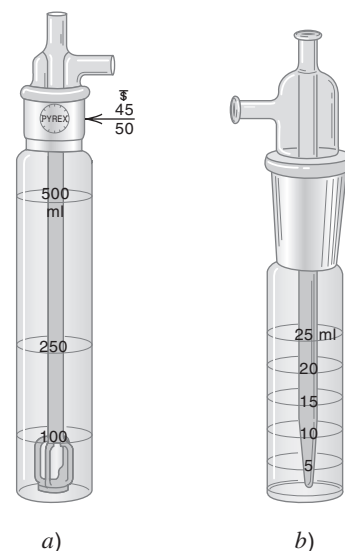


Figura 26.5. Burbujeadores húmedos. a) Burbujeador graduado. b) Burbujeador compacto. (Cortesía de Arthur H. Thomas Co.)

(véase la figura 26.6). Son de teflón o de Tedlar. En general, no se debe llenar una bolsa a más del 80% de su capacidad, y las muestras tomadas no deben mandarse por aire, a menos que estén en una cabina a presión; la menor presión barométrica podría causar la explosión de esas bolsas.

Ver ejemplos de bombas de muestreo y colectores para análisis de aire en www.skinc.com. En este sitio se presenta información acerca de los estándares EPA para el muestreo de aire, así como de estándares OSHA, NIOSH y ASTM.

ANÁLISIS DE LA MUESTRA DE AIRE

La mayor parte de los gases importantes para el medio ambiente son químicamente activos, y se pueden absorber en forma selectiva a partir de un volumen conocido de aire en una solución con el reactivo adecuado seguida por la medición física o química. Los gases con un enlace covalente, excepto los gases diatómicos no polares, como O_2 , N_2 y Cl_2 , en general tienen espectros característicos de absorción en la región infrarroja, y pueden absorber en la región UV. Se puede hacer que un analizador de gases sea selectivo hacia determinado gas mediante una selección apropiada de longitud de onda; se dispone de analizadores IR y UV no dispersantes que usan filtros para el aislamiento de longitudes de onda.

Más adelante se describirán procedimientos representativos para determinar algunos componentes atmosféricos importantes como indicadores de los métodos generales que se usan.

Un método muy sensible para determinar **dióxido de nitrógeno** en la atmósfera consiste en absorberlo en una solución de ácido sulfanílico que también contenga un reactivo formador de colorante azo. En 15 min se produce un color rosado estable. Se pueden medir concentraciones de 0.005 a 5 ppm de dióxido de nitrógeno en la atmósfera. Los **óxidos totales de nitrógeno**, con excepción del óxido nitroso, se determinan en los efluentes gaseosos de la combustión recolectando la muestra de gas en un frasco evacuado que contenga un absorbente oxidante de peróxido de hidrógeno en ácido sulfúrico diluido. Los óxidos de nitrógeno se convierten en ácido nítrico debido a la solución absorbente, y el ion nitrato que resulta se hace reaccionar con ácido fenoldisulfónico para producir una

Hay muchas formas de cuantificar sustancias químicas en la atmósfera. Es frecuente la cromatografía de gases para analizar componentes traza.

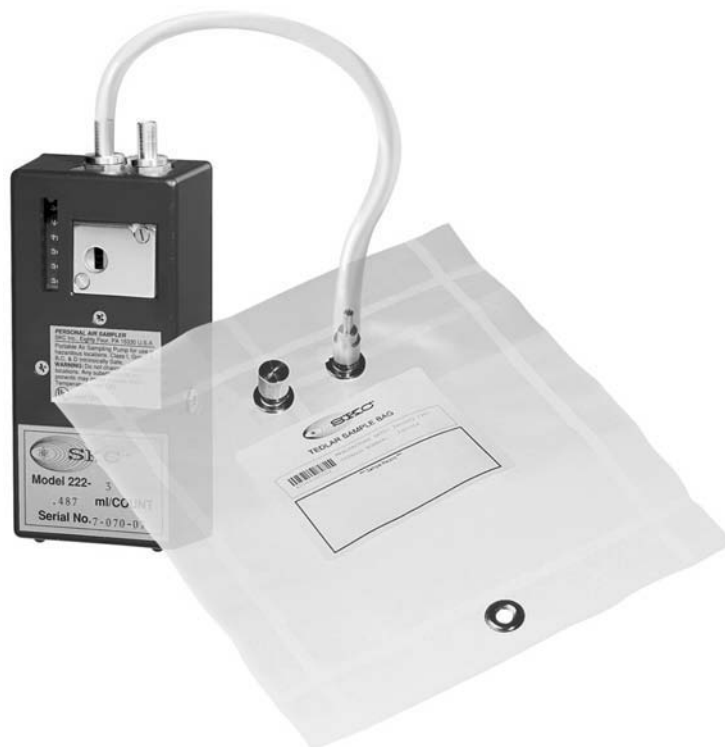


Figura 26.6. Bolsa para muestra de aire. [Cortesía de SKC (www.skinc.com).]

sustancia amarilla que se puede medir de modo colorimétrico. Se pueden determinar cinco a varios miles de partes por millón de óxidos de nitrógeno como dióxido de nitrógeno. El NO_2 se hace reaccionar con luminol en solución alcalina para producir luminiscencia, con emisión de fotones a 425 nm; se pueden determinar 30 ppt (10^{12}) de NO_2 .

El NO se mide por absorción de UV. Un método muy sensible y selectivo se basa en la reacción del NO con O_3 para producir NO_2^* , una especie excitada que emite radiación en el intervalo de 590 a 2 600 nm al regresar al estado fundamental. El **óxido nitroso**, N_2O , es el óxido de nitrógeno más abundante en la atmósfera y se mide por absorción IR o por cromatografía de gases con detección por captura de electrones.

El **ozono** se puede medir por absorción en UV. Si se hace reaccionar con etileno, C_2H_2 , se produce una especie excitada, CH_2O^* , que emite un fotón a 430 nm al regresar al estado fundamental. Se puede determinar de 10^{-4} a 1 000 ppm de O_3 .

Para determinar **dióxido de azufre** en la atmósfera, la muestra medida de aire se succiona a través de una solución de tetracloromercurato de sodio. El dióxido de azufre se absorbe con una formación del ion complejo diclorosulfitomercurato(II), $\text{HgCl}_2\text{SO}_3^{2-}$. Este ion complejo resiste la oxidación del oxígeno en el aire y reacciona con formaldehído y pararosanilina en solución ácida, formando un ácido pararosanilina-metilsulfónico, muy colorido, y que absorbe a 560 nm. Este método es sensible y está relativamente libre de interferencias. Huellas de metales como hierro y manganeso interfieren, y si no se eliminan como partículas en una prefiltración, su interferencia se elimina agregando un quelante, como EDTA, a la solución del colectado. Se puede medir una concentración tan pequeña como 0.003 ppm de dióxido de azufre en la atmósfera. Un monitor de SO_2 se basa en la medición fotométrica, usando una llama de aire-hidrógeno rica en combustible. Se forma S_2 , que produce líneas de emisión a 384.0 y 394.1 nm, detectándose la última con un tubo fotomultiplicador.

Los **hidrocarburos totales** en el aire se pueden determinar con espectrofotometría infrarroja. Los hidrocarburos se captan en una trampa de condensación sumergida en oxígeno líquido y absorben en la región de 3 a 4 μm del espectro infrarrojo usando una celda de 20 m de longitud de trayectoria. Se expresan en partes por millón de hexano, y el instrumento se calibra con un estándar de hexano.

Los **clorofluorocarbonos** son químicamente estables, y se separan y miden en partes por millón de millones (trillón, según el sistema norteamericano) usando cromatografía de gases y detección por captura de electrones.

Los gases de las **emisiones** se pueden medir colocando sensores en la corriente del gas, o bien a distancia espectrofotométrica por vía de un haz de luz que atraviese el gas de descarga y se refleje hacia el detector. El muestreo extractivo puede hacerse insertando un tubo de sonda de muestreo en el ducto, y bombeando gas hacia el analizador o hacia el colector de muestra.

No es necesario decir que sólo se han tocado algunos de los muchos procedimientos analíticos para muestras de aire. Entre otros análisis que se hacen está la determinación de acetileno, aldehídos totales, amoníaco, formaldehído, ácido fórmico y ácidos orgánicos totales. Se analizan con frecuencia varias fracciones de aerosoles en el aire.



Ejemplo 26.1

Se muestrea benceno en aire a 1.00 atm de presión y 75.0°F, succionándolo y haciéndolo pasar por un tubo de adsorción durante 10.0 min con una rapidez de flujo de 1.00 L/min. El benceno se desorbe térmicamente y se mide por cromatografía de gases. La muestra contuvo 88 ng de benceno. ¿Cuál es la concentración del benceno en el aire, en partes por mil millones (vol/vol)?

Solución

$$\frac{88 \times 10^{-9} \text{ g}}{10.0 \text{ L}_{\text{aire}}} = 8.8 \times 10^{-9} \text{ g/L}_{\text{aire}}$$

La temperatura es de $23.9^{\circ}\text{C} + 273.2^{\circ}\text{C} = 297.1 \text{ K}$. De acuerdo con la ley de Boyle, el volumen de 1 mol de vapor de benceno es

$$V = \frac{nRT}{P} = \frac{(1 \text{ mol})(0.08206 \text{ L atm/K mol})(297.1 \text{ K})}{1.00 \text{ atm}} = 24.4 \text{ L}$$

$$\frac{(8.8 \times 10^{-9} \text{ g/L}_{\text{aire}})(24.4 \text{ L/mol})}{78.11 \text{ g/mol}} = 2.7_5 \times 10^{-9} \text{ L/L}_{\text{aire}} = 2.7_5 \text{ ppb } (10^9) \text{ (vol/vol)}$$

.....

¿CÓMO SE CALIBRAN LOS ANALIZADORES DE GAS?

Es fundamental que la calibración de los medidores de gas sea correcta. Se deben preparar mezclas gaseosas de concentraciones conocidas (si es que no se consiguen en el comercio). La calibración se hace estáticamente por adición sucesiva de los componentes gaseosos de interés a un cilindro, midiendo el peso, o bien se preparan los patrones dinámicamente, por dilución de un patrón concentrado de un gas o de una mezcla de gases, en una corriente de un gas base, como aire o nitrógeno inerte. Se obtiene una corriente de gases mezclados que contiene concentraciones conocidas de los gases medidos. La dilución se hace con un tubo de permeación o de difusión. El compuesto de prueba, por ejemplo, NO o SO₂, de un contenedor se permea a través de una membrana o se difunde a lo largo de un capilar; la rapidez de permeación o de difusión depende de la presión de vapor del compuesto, la temperatura, la membrana y la geometría. La rapidez de permeación se determina midiendo la pérdida de peso del recipiente durante cierto tiempo.

26.3 Recolección y análisis de muestras de agua

Entre las fuentes potenciales de contaminantes del agua están industrias como la del petróleo; del hierro y el acero; de la celulosa y el papel; del carbón; de la industria química y la alimenticia; además de las fuentes privadas en el hogar y el alcantarillado público y privado. La erosión por escurrimientos y desechos mineros pueden ser un problema grave. Esta enumeración sólo sirve para señalar la complejidad que implica monitorear la pureza del agua; se ve también aquí que en el análisis de agua intervienen múltiples sustancias, con un gran número equivalente de métodos analíticos posibles. Los reglamentos gubernamentales establecen que muchas industrias vigilen con regularidad sus efluentes o descargas.

MUESTREO DEL AGUA

Hay varios tipos de matrices de agua que se muestrean y analizan, como las aguas superficiales (ríos, lagos y escurrimientos), las aguas freáticas y de manantial, el agua potable, las aguas de estuarios, el agua salada, el agua de la atmósfera (de lluvia, nieve, neblina, rocío), el vapor y las aguas de proceso. Algunas de ellas pueden ser muy heterogéneas, sea en el espacio o en el tiempo. Las consideraciones del muestreo dependerán del tipo de muestra de agua.

En general, las muestras se pueden tomar en las descargas de válvulas, en diversos puntos de sistemas de tuberías, en la superficie de ríos y lagos, así como en diversas pro-

fundidades. La consideración más importante es que sean suficientes la frecuencia y la duración del muestreo para obtener una muestra representativa y reproducible. En algunos casos se pueden usar muestras compuestas, en las que se obtienen fracciones a intervalos frecuentes y se combinan.

Para tomar muestras de grandes cuerpos de agua a un nivel específico se usan muestreadores de profundidad; éstos contienen algún mecanismo para remover un tapón cuando la botella se ha hecho descender hasta la profundidad que se desee, y se consiguen muestreadores comerciales en los comercios de artículos para laboratorio. Las muestras que se van a transportar deben tener un espacio de aire de 10 a 25 mL para permitir las expansiones.

MUESTRAS DE AGUAS SUBTERRÁNEAS

El agua subterránea o freática se monitorea perforando un pequeño pozo para llegar a la capa de agua. Antes del muestreo se purga el agua estancada en el pozo succionándola y dejando que se vuelva a llenar el pozo; es posible que se tengan que purgar varios volúmenes de pozo para asegurar que la muestra sea fresca. Entre los aparatos comunes de muestreo están las bombas eléctricas sumergibles, las peristálticas, las de diafragma, las de desplazamiento positivo, los tubos de achique (que también se pueden usar para purgar el pozo) y las membranas de diálisis. Con las bombas de succión o de vacío, los componentes volátiles pueden separarse, pero tienen la ventaja de mantener los sólidos pesados en suspensión. Las bombas peristálticas trabajan con una cabeza rotatoria de varios rodillos que oprime un tubo de hule (en forma muy parecida a cuando se giran los nudillos sobre un tubo), haciendo pasar el líquido por el tubo. El tubo de la bomba está conectado al tubo de muestreo, y debe ser de hule de silicón grado médico, para evitar que contenga los peróxidos orgánicos que se encuentran en otros grados. Si se van a analizar sustancias orgánicas, deben usarse tubos de conexión de teflón.

Los achicadores son útiles para muestrear pozos de pequeño diámetro y superficiales; la desventaja es que tienden a mezclar la muestra que se investiga, además de que se recolectan partículas del fondo del pozo, que la muestra puede aerearse y que la materia volátil se puede desgasificar (escapar) en el recipiente abierto. Puede modificarse el achicador con una válvula de toma en el fondo, y debe hacerse descender lentamente en el agua.

Las muestras deben analizarse tan pronto como sea posible después de tomarlas, para tener máxima exactitud. Para ciertos componentes y valores físicos es necesario el análisis en el campo para obtener resultados fiables, porque la composición de la muestra puede cambiar antes de llegar al laboratorio. Entre esos valores están el pH, la temperatura y los gases disueltos, como el oxígeno, el sulfuro de hidrógeno y el dióxido de carbono. En ciertos casos los gases se pueden fijar, haciéndolos reaccionar, para completar el análisis en el laboratorio. Debe tenerse cuidado para evitar la contaminación por oxígeno o dióxido de carbono en el aire. Los recipientes para la toma de muestras deben estar limpios, y no contaminar ni adsorber los analitos. Los recipientes de teflón, si bien son costosos, son los que se prefieren para guardar muestras con trazas de analitos. Los recipientes de vidrio, en particular, se deben lavar con ácido, y quizá guardarse llenos con solución de EDTA para minimizar las huellas de metales que pasen a la muestra.

Es obvio que en muchos análisis es necesario hacer mediciones en el sitio, o dispositivos de monitoreo. Por ejemplo, para obtener valores inmediatos de oxígeno se usan sensores amperométricos que se pueden sumergir en diferentes puntos y profundidades para reunir datos de interés. Para la vigilancia continua o regular se usan muestreadores e instrumentos automáticos. Por ejemplo, un aparato de inyección (véase el capítulo 23) se puede controlar con una computadora o un programador para tomar automáticamente una muestra a intervalos determinados, quizás a través de un filtro muestreador, para inyectarla y medirla. La detección puede hacerse mediante un sencillo colorímetro que contenga una pequeña celda de flujo, una fuente de diodo emisor de luz (LED) y un diodo detector. Se puede hacer el seguimiento de fosfatos o nitratos, por ejemplo, usando los reactivos apropiados.

En algunos análisis se requieren mediciones automáticas en el sitio.

ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA

El problema de analizar muestras de agua es, en esencia, diferente al de analizar soluciones acuosas en general. Véase la referencia 4, con una compilación de algunas de las muchas sustancias que se analizan con frecuencia en el agua, y los procedimientos correspondientes para los análisis. Entre las determinaciones pueden estar acidez o alcalinidad, demanda bioquímica de oxígeno, dióxido de carbono, cloro, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica, fluoruro, materia en partículas y disuelta, amoníaco, fosfato, nitrato, sílice, sulfatos, sulfitos, sulfuros, turbidez, iones de diversos metales, bacterias, microorganismos, etcétera.

26.4 Muestreo de suelo y sedimentos

Los sedimentos en contacto con las aguas superficiales varían en forma estacional, con el clima, los cambios de flujo y la profundidad. Muchos componentes orgánicos e inorgánicos se absorben en el sedimento, y sus concentraciones son mucho mayores que en el agua. Es importante el análisis de los sedimentos para evaluar el transporte de componentes traza del sedimento al agua que lo cubre y viceversa.

Las muestras se suelen obtener dragando el fondo para obtener una muestra aleatoria, o se toman núcleos de perforación. Las muestras aleatorias son fáciles de obtener y pueden ser grandes. La desventaja es que sólo se toman muestras perturbadas, y las partículas finas pueden ser arrastradas por el agua que se escurre. Las muestras de núcleos retienen las partículas finas, pero sólo abarcan un área pequeña, y entonces se debe tomar una mayor cantidad de muestras. Se mantiene la integridad vertical de los estratos en el sedimento.

Con frecuencia se usan para análisis muestras compuestas de sedimento. Los núcleos de la muestra de sedimento se subdividen y congelan para su conservación antes del análisis. También se puede congelar primero el núcleo para después seccionarlo. Las muestras de sedimento se pueden separar en tamaños de partícula por cribado en seco o en líquido (usando cribas de polietileno o de nailon para los sedimentos inorgánicos, o de acero inoxidable para los orgánicos). Se pueden secar al aire o en estufa, dependiendo de la volatilidad de los analitos; después se muelen para facilitar la extracción de los analitos. Los analitos volátiles se extraen de las muestras mojadas (almacenadas congeladas). Para analizar metales traza se suelen reducir las muestras a cenizas, en seco, o digeridas en fase líquida (como se digieren los materiales biológicos).

Los suelos superficiales se muestrean para caracterizar derrames recientes. Si los componentes son volátiles o ha pasado mucho tiempo, tal vez se requieran muestras más profundas. Las muestras superficiales, de 15 a 30 cm de profundidad, se pueden tomar con cucharas, paletas o palas. Cuando se muestrean materiales orgánicos se deben usar herramientas de acero inoxidable, y para sustancias inorgánicas, de polietileno. Un punzón para suelos (de tubo de acero de paredes delgadas) es mejor para tomar muestras reproducibles, y se empuja para introducirlo al suelo hasta la profundidad deseada.

Para muestras más profundas de 30 cm, se pueden hacer zanjas para obtener un perfil, pero eso suele ser costoso. Con frecuencia se usan barrenas, manuales o motorizadas, o despepitadoras; se van tomando muestras del material extraído por las barrenas. Un método mejor es barrenar hasta la profundidad deseada para entonces introducir en el suelo una sonda que retenga la muestra al sacarla.

26.5 Preparación de muestras para trazas de sustancias orgánicas

La determinación de compuestos orgánicos traza en las muestras del medio ambiente requiere separarlos de la matriz de la muestra antes de la medición, y suele implicar extrac-

ción de alguna clase. Entre las materias orgánicas traza comunes están hidrocarburos alifáticos y aromáticos, aldehídos, fenoles, disolventes clorados, bifenilos policlorados (PCB), plaguicidas, y ftalatos y adipatos (de la industria de los plásticos).

Las muestras de agua se extraen convenientemente usando disolventes inmiscibles con el agua y un embudo de separación. Los disolventes polares, como el acetato de etilo y el éter etílico se usan para extraer ácidos orgánicos. Los disolventes no polares, como hexano, heptano, ciclohexano o diclorometano, se usan para extraer lípidos neutros, como los triglicéridos y otros componentes no polares, como hidrocarburos alifáticos y plaguicidas orgánicos. Cada vez se usa más la extracción en fase sólida para separar y concentrar trazas de sustancias orgánicas en las muestras de agua.

Las muestras húmedas, como las de los suelos, se suelen secar en una estufa al vacío, para después molerlas. Antes de la extracción se vuelven a hidratar, agregando una solución amortiguadora acuosa, lo que ayuda a que los analitos se transfieran a un disolvente miscible con el agua, como la acetona.

La mezcla de sólido y disolvente se mezcla o agita, y a continuación se filtra o centrifuga para separar la matriz. Por lo regular es necesario hacer tres extracciones, usando pequeñas porciones de disolventes, para asegurar que la extracción sea cuantitativa. En algunos casos puede ayudarse con calor o bien con energía ultrasónica (lote ultrasónico o sonda ultrasónica) para aumentar la eficiencia. También con frecuencia se usa extracción en Soxhlet. Un extractor Soxhlet tiene un matraz de destilación de fondo redondo con una cápsula (dedo) porosa sobre él con una cámara de sifoneo; en esta cápsula se coloca la muestra. El disolvente atraviesa continuamente la muestra al destilarse, pasando entonces al condensador centrado sobre el dedo. El disolvente condensado permea a través de la matriz y del dedo, y se sifonea de regreso al matraz, donde comienza de nuevo su ciclo. El material extraído se concentra en el matraz.

Los analitos extraídos de muestras del medio ambiente se concentran antes de cuantificarlos, evaporando el disolvente a baja temperatura y presión reducida para eliminarlo rápidamente. Las materias volátiles en suelos y sedimentos se pueden muestrear directo mediante análisis del volumen dejado para cromatografía de gases.

Una vez que se tienen los analitos extraídos y preconcentrados, se debe hacer una limpieza adicional, por ejemplo, haciéndolos pasar a través de una columna con material adsorbente de empaque, como la sílice o la alúmina. Después, lo más frecuente es emplear cromatografía para las mediciones. Los plaguicidas se determinan por lo común con cromatografía de gases con detección por captura de electrones o mediante GC-MS. Se usa una columna capilar no polar en la cromatografía de gases. Las determinaciones de trazas de PCB y de hidrocarburos aromáticos policíclicos se pueden llevar a cabo con HPLC con detección UV.

26.6 Sitios terrestres contaminados. ¿Qué se debe analizar?

Uno de los problemas que se presentan con mayor frecuencia respecto del medio ambiente es evaluar el grado de contaminación en sitios terrestres. Es obvio que se deben tomar muestras que representen partes del sitio donde se espera que haya contaminación o que los contaminantes sean transportados. Se deben examinar muestras de la superficie del suelo; muestras de núcleos a varias profundidades; escurrimientos a corrientes; ríos o lagos cercanos; sedimentos, y vegetación de sistemas acuáticos superficiales y en el sitio de tierra.

26.7 Métodos EPA y análisis basados en el desempeño

La Agencia de Protección Ambiental (Environmental Protection Agency, EPA), de Estados Unidos, ha publicado cientos de métodos oficiales para cuantificar componentes orgánicos

e inorgánicos en el aire, el agua potable, las aguas residuales, los residuos sólidos y cosas afines, y para plaguicidas y sustancias tóxicas. Véase las referencias recomendadas 15 y 16, donde hay listas de sitios web con métodos EPA y fuentes de muchos de ellos (algunos están disponibles en línea).

Durante muchos años se pidió a los analistas que sólo usaran métodos y técnicas de EPA para hacer los análisis reglamentarios. Eso se debía observar, aun cuando hubiera nuevas técnicas o metodologías que tuvieran mejor eficiencia en sensibilidad, selectividad, rapidez o costo. Se ha relajado esta disposición, y los laboratorios pueden desarrollar métodos nuevos, siempre que cumplan con ciertos criterios. El Consejo de Administración de Vigilancia Ambiental (Environmental Monitoring Management Council, EMMC) de EPA ha aceptado el uso de un sistema de mediciones basadas en eficiencia o desempeño (PBMS, performance-based measurement system), que indica “qué” debe cumplirse, pero no prescribe “cómo” hacerlo. La EPA define al PBMS como “un conjunto de procesos en los que se especifiquen las necesidades, indicaciones o limitaciones en los datos de un programa o proyecto, y sirvan como criterios para seleccionar los métodos adecuados que satisfagan esas necesidades en forma económica”. (Véase www.epa.gov/sw-864/pbms.htm.)

El enfoque es hacia los resultados, más que hacia los métodos que se usen para obtenerlos. Se define un grado aceptable de desempeño para determinado análisis, con criterios como exactitud, precisión, límites de detección, especificidad, sensibilidad y robustez. Si un laboratorio puede demostrar que satisface los criterios, el método se convierte en aceptado. Véase mayores detalles en el capítulo 4 sobre la validación del método.

Objetivos de aprendizaje

ALGUNOS DE LOS PUNTOS CLAVE QUE SE APRENDIERON EN ESTE CAPÍTULO

- Recolección de muestras de aire; la cadena de muestreo, los muestreadores, p. 713
- Algunos ejemplos de análisis de agua, p. 718
- Muestreo del agua: superficial y freática, p. 720
- Muestreo de suelo y sedimentos, p. 722
- Extracción de sustancias orgánicas traza, p. 722
- Análisis EPA y basados en desempeño, p. 723

Problemas

1. ¿Cuáles son las partes principales de una cadena de muestreo de aire?
2. ¿Cuáles son los usos principales de los burbujeadores? ¿De los depuradores?
3. ¿Qué precauciones deben tenerse para proteger las muestras de aire antes de analizarlas?
4. ¿Cuáles son algunas de las sustancias o parámetros que se analizan con frecuencia en muestras de agua?
5. ¿Cuáles son algunos parámetros de muestras de agua que se miden mejor en campo?

Problemas

6. Se determinó que una muestra de 25 L de aire tiene 2.8 ppm (vol/vol) de monóxido de carbono. ¿Cuántos gramos hay en 1 L a 20°C y una presión de 1 atmósfera?

7. El tolueno en agua potable se determina con el método 502.2 de EPA, para carbono orgánico volátil (VOC, volatile organic carbon), un método de purga y trampa, con medición por cromatografía de gases en capilar. Se hace burbujear helio en una muestra de 5.00 mL en la cámara de purga, y el tolueno se captura en un tubo con sorbente Tenax. El tubo se calienta y se retrolava con helio para desadsorber el carbono orgánico volátil y llevarlo a una columna capilar de cromatografía de gases. Un patrón de 0.50 $\mu\text{g/L}$ de tolueno en agua se trata en la misma forma, y produce un área máxima de 128, en comparación con 97 de la muestra. ¿Cuál es la concentración del tolueno en el agua potable, en partes por millón de millones (partes por trillón, ppt, según las convenciones norteamericanas)?

Referencias recomendadas

GENERAL

1. D. Pérez-Bendito y S. Rubio, *Environmental Analytical Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 1998.
2. F. W. Fifield y P. J. Haines, eds., *Environmental Analytical Chemistry*, 2a. ed. Oxford: Blackwell Science, 2000.
3. S. E. Manahan, *Environmental Chemistry*, 7a. ed. Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry, 2000.
4. L. H. Keith, ed., *Principles of Environmental Sampling*, 2a. ed., Washington, DC: American Chemical Society/Oxford, 1996.
5. J. M. Van Emon, C. L. Gerlach y J. C. Johnson, eds., *Environmental Immunochemical Methods*. Washington, DC: American Chemical Society, 1996.
6. W. L. Budde, *Analytical Mass Spectrometry. Strategies for Environmental and Related Applications*. Washington, DC: American Chemical Society/Oxford, 2001.
7. R-K. Smith, *Handbook of Environmental Analysis*, 4a. ed., 1999; R. E. Wagner, *Guide to Environmental Analytical Methods*, 4a. ed., 1998. Amsterdam: Genium. Disponible en CD-ROM junto con la versión impresa.

ANÁLISIS DE AIRE

8. G. D. Wright, *Fundamentals of Air Sampling*. Boca Raton: CRC Press, 1994.
9. K. R. Spurny, *Analytical Chemistry of Aerosols*. Boca Raton: Lewis, 1999.
10. E. R. Kennedy, T. J. Fischbach, R. Song, P. M. Eller y S. A. Shulman. *Guidelines for Air Sampling and Analytical Methods Development and Evaluation*. Cincinnati: NIOSH, USDHH, publicación núm. 95-117, 1995.

ANÁLISIS DE AGUA Y SÓLIDOS

11. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20a. ed., Nueva York: American Public Health Association, 1998.
12. L. H. Keith, *Compilation of EPA's Sampling and Analysis Methods*, 2a. ed. Boca Raton: CRC Press, 1996.
13. H. Giergielewicz-Mozajska, L. Dabrowski y J. Namiesnik, "Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the Analysis of Environmental Solid Samples—Some Aspects of Theory and Practice", *CRC Critical Rev. Anal. Chem.*, **31** (2001) 149.

14. G. LeBlanc, "A Review of EPA Sample Preparation Techniques for Organic Compound Analysis of Liquid and Solid Samples", *LC-GC*, **19**(11) (2001) 1120.

SITIOS WEB

15. www.epa.gov/Standards.html *Métodos y lineamientos para análisis del ambiente.*
16. www.epa.gov/epahome/index *Índice de los métodos de análisis EPA.*

EXPERIMENTOS



“La teoría guía, el experimento decide.”

—I. M. Kolthoff

“Oigo y olvido.

Veo y recuerdo.

Hago y comprendo.”

—Confucio

Los experimentos que siguen se apegan al orden de su presentación en el texto, después de los experimentos de introducción acerca del uso de la balanza analítica y del equipo volumétrico de vidrio. Antes de llevar a cabo los experimentos se debe repasar el material del capítulo 2, acerca de las herramientas básicas de la química analítica y su uso, y el material en el apéndice D sobre la seguridad en el laboratorio. También es útil repasar el manejo de datos, en el capítulo 3, en especial las cifras significativas y la propagación de los errores, para conocer la exactitud con que se hace cada una de las mediciones que se piden. También se deberán utilizar las hojas de cálculo descritas en ese capítulo y en el capítulo 16, para trazar gráficas de calibración y calcular datos, incluyendo las precisiones.

Uso de aparatos

EXPERIMENTO 1 USO DE LA BALANZA ANALÍTICA

Antes de iniciar el experimento debe familiarizarse con los principios de la balanza y las reglas generales sobre peso que se exponen en el capítulo 2.

Principio

Usará una balanza electrónica o una mecánica de un platillo (si su balanza es de dos platillos, el profesor le indicará las instrucciones para usarla). La balanza electrónica se pone en cero usando la barra o botón de cero (tara), antes de pesar un objeto problema. En las balanzas mecánicas se determina el punto cero antes de pesar.

Soluciones y reactivos necesarios

Ninguno.

Procedimiento

1. *Puesta en cero, o determinación del punto cero.* Limpiar el polvo del platillo suavemente con una brocha pequeña. Cerrar las puertas de la balanza.
 - a) **Balanza electrónica.** Encienda la balanza y toque la barra o botón del cero (tara). La indicación se debe ajustar a 0.0000 g.
 - b) **Balanza mecánica.** La balanza tiene una perilla para dos posiciones: primero se suelta parcialmente el brazo (la barra horizontal) y el platillo y después se suelta por completo. Libere el brazo y el platillo y ajuste la lectura del cero. Sujete el platillo y el brazo y repita la operación. En lo que resta de este experimento realice todas las determinaciones del punto cero y el punto de descanso por *duplicado*; en lo sucesivo, debe ser suficiente efectuar determinaciones sencillas.

El cero o punto cero de la balanza no permanece constante. Puede variar en algunas décimas de miligramo de un día para otro, o incluso de una hora a otra. Por lo mismo, cada vez que se vaya a hacer una serie de pesadas, se debe hacer una nueva determinación del punto cero, o si el punto cero ha cambiado debe volver a realizarse un ajuste.
2. *Pesado de objetos.* Determine los pesos de tres objetos de prueba que le suministre el profesor. Uno de ellos podrá ser una tapa de crisol, que debe pesarse por diferencia como en la parte 3, más adelante.
 - a) **Balanza electrónica.** Asegúrese de que la balanza sigue estando ajustada en cero. Coloque el objeto problema en el platillo usando papel o tenazas. Cierre las puertas, y cuando se estabilice la indicación, anote el peso ajustando al 0.1 mg más cercano.
 - b) **Balanza mecánica.** Si ha pasado más de una hora o si otros han usado la balanza desde que se ajustó el punto cero de la balanza vacía, se debe realizar una nueva verificación. Coloque el objeto problema en el platillo usando papel o tenazas (nunca coloque o quite un objeto sin que esté puesto el freno). Cierre las puertas y mueva la perilla del freno a la primera posición. Esto libera parcialmente el brazo pero lo detiene si hay un desequilibrio que lo incline más allá de cierta posición. De este modo se evita dañar las cuchillas cuando haya objetos pesados sobre el platillo y la balanza esté muy desbalanceada. Determine el peso usando las perillas correspondientes a la décima de miligramo más cercana hasta que el brazo esté en movimiento (cerca del equilibrio). Comience con las pesas más grandes para llegar a los 10 g más cercanos, a continuación con las pesas de gramos (buscando el g más cercano) y por último las pesas de décimas de gramo (0.1 g más cercano). Después libere por completo el brazo y determine el peso al 0.1 mg más cercano a partir del contador vernier o digital cuando el sistema haya quedado inmóvil. Anote el peso total.
3. *Pesado por diferencia.* Consiga un crisol con tapa (o dos objetos cualesquiera que aproximadamente tengan esos pesos) en el almacén del laboratorio; pese la tapa del crisol como en la parte 2 y anote el peso; pese los dos objetos combinados y anote su peso; quite la tapa y determine el peso del crisol. La diferencia en las dos últimas pesadas representa el peso de la tapa del crisol. Debe concordar, hasta 0.5 mg, con la cantidad obtenida al pesarla directamente.
4. *Tarado en la balanza electrónica.* Coloque el crisol en el platillo y oprima la barra o el botón de tara. La lectura debe indicar a cero. A continuación coloque el crisol en el platillo, con la tapa, y anote el peso. ¿Concuerda bien este resultado con el peso del crisol obtenido en la parte 3?

EXPERIMENTO 2 USO DE PIPETAS Y BURETAS, Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Principio

La práctica en el uso de las pipetas se verifica pesando la cantidad de agua dispensada en pipeteadas sucesivas. Se determina la precisión de adición de diferentes volúmenes. Se pueden hacer experimentos similares con una bureta. También los experimentos suelen usarse para calcular (calibrar) los volúmenes del equipo de vidrio si se mide la temperatura del agua, como se describe en la tabla 2.4.

Soluciones y reactivos necesarios

Solución limpiadora; agua destilada.

Procedimiento

1. *Limpieza del material de vidrio.* Compruebe que la bureta y las pipetas estén limpias lavándolas con agua destilada y dejándolas escurrir. El material de vidrio limpio conservará una película continua e ininterrumpida de agua al vaciarse. Si es necesario, limpie la bureta con un detergente y un cepillo para buretas. Para las pipetas haga la prueba con agua tibia y después detergente con agua tibia. Si no limpian bien, use una solución comercial limpiadora. Lave varias veces la pipeta o bureta con agua corriente y por último con agua destilada. Deje llena la bureta con agua destilada cuando no la vaya a usar. Siempre revise la limpieza de su material de vidrio antes de usarlo y límpielo cuando sea necesario. Las buretas bien lavadas y llenas de agua destilada inmediatamente después de usarlas deben permanecer limpias durante varias semanas; sin embargo, las pipetas se contaminan con facilidad y se deben limpiar con frecuencia.

2. *Pipeteo.* Practique el llenado de una pipeta de 25 mL y el ajuste del menisco a la marca de calibración, hasta que lo haga bien. El dedo con que ajuste el nivel debe estar un poco humedecido. Si está muy mojado será imposible obtener un flujo constante.

Pese un matraz Erlenmeyer limpio y seco de 50 mL, con tapón de hule, con una exactitud al miligramo (0.001 g) más cercano.

Pase 25 mL de agua de la pipeta al matraz; deje que el agua salga con la punta de la pipeta tocando la pared del matraz y tenga cuidado de no salpicar agua, o de otra manera se depositará en el cuello del matraz. Es importante que el cuello del matraz y el tapón permanezcan secos durante el experimento. La pipeta debe sujetarse en posición vertical. Deje escurrir durante 10 s antes de remover la pipeta. No sople para sacar la última gota. Ponga el tapón y pese el conjunto.

Realice el procedimiento dos veces, cuando menos. Para las pesadas siguientes, sólo es necesario secar cuidadosamente el exterior y el cuello del matraz. Calcule la desviación estándar y el intervalo de dispensamiento, en partes por millar como se describe en el capítulo 3.

Repita lo anterior usando pipetas de 1, 5, 10 y 50 mL. Compare la precisión del dispensado para las diversas pipetas.

3. *Uso de la bureta.* Revise la llave de su bureta (si es de vidrio esmerilado) y compruebe que su lubricación sea la correcta, y asegúrese de que el interior y la punta estén limpios. Llénela con agua destilada y colóquela en las pinzas para bureta; el agua debe estar a temperatura ambiente. Desplace las burbujas de aire que haya en la punta de la bureta y ajuste hasta cerca de la marca del cero. Deje reposar durante unos minutos para comprobar que no haya escurrimientos y lea el volumen inicial con una exactitud de 0.01 mL.* Use un lector de menisco, y tenga cuidado de evitar errores de paralaje.

*N. del R. T. En lo sucesivo, cuando se indique en los experimentos que la medición se realiza, por ejemplo como en este caso, con una exactitud de 0.01 mL, deberá entenderse que dicha operación se lleva a cabo midiendo al 0.01 mL más cercano.

Use un procedimiento parecido al de las pipetas, y pase unos 5 mL al matraz tarado. Toque la pared del matraz con la punta de la pipeta para remover la gota adherida y lea el volumen con una exactitud de 0.01 mL. Inserte el tapón y pese con una exactitud de miligramos. Repita la operación, agregando los siguientes 5 mL de agua al matraz y vuelva a pesar. Continúe de esta forma hasta haber pesado los 50 mL.¹

Reste el peso del matraz vacío de cada uno de los pesos siguientes para obtener el peso de 5, 10, 15... mililitros de agua a la temperatura de observación.

Repita todo el procedimiento. A cada volumen aproximado, el peso, comparado con el volumen medido exacto, debiera encontrarse dentro de los 0.03 g del predicho de la primera medición. Coteje de nueva cuenta todos los puntos para los que esto no sea así.

4. *Calibración del material de vidrio.* Si su profesor le indica que use los datos de esos experimentos para calibrar los volúmenes del material de vidrio, use la tabla 2.4 para convertir el peso en aire a volumen. Debe determinarse la temperatura del agua adicionada.
5. *Estadísticas. La curva normal de error.* En este experimento hará 20 determinaciones del peso dispensado por una pipeta de 1 mL, como se describió antes, vertiendo volúmenes pipeteados sucesivos a un matraz Erlenmeyer pequeño y calculando el aumento en el peso cada vez. Asegúrese de tapar rápidamente el matraz cada vez. Grafique las frecuencias de los pesos en papel milimétrico para preparar una curva de error normal. Calcule la desviación estándar y relaciónela con la curva que graficó. ¿Caen 68% de los resultados dentro de una desviación estándar?

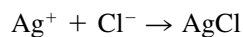
Gravimetría

EXPERIMENTO 3 DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DE CLORUROS

Principio

El contenido de cloruros en una muestra soluble se determina precipitando cloruro de plata con nitrato de plata que se agrega; después el precipitado se filtra, se seca y se pesa. El contenido de Cl se calcula a partir del peso de AgCl.

Ecuación



Soluciones requeridas

1. *Suministradas.* HNO₃ conc., NH₃ conc., HCl dil. (3 M).
2. *Preparadas*
 - a) **AgNO₃ 0.1 M.** Disuelva aproximadamente 3 g de AgNO₃ (no es necesario secarlos) en unos 180 mL de agua destilada. Guarde la solución en una botella de vidrio ámbar. No toque el AgNO₃ directamente con sus manos. Si eso sucede, lávelas de inmediato con una solución de tiosulfato de sodio. Si se deja en la piel aparecerán manchas de color café oscuro (plata metálica) a las pocas horas, y tardarán de dos a tres semanas en desvanecerse.
 - b) **Solución de lavado.** Agregue aproximadamente 2 mL de ácido nítrico concentrado libre de cloruros a unos 600 mL de agua destilada en un frasco lavador.

¹ Para reducir al mínimo los errores por evaporación, podrá ser que su profesor le indique volver a llenar la bureta por cada volumen dispensado (0-5, 0-10, . . . 0-50 mL) y verter éste en un matraz vacío.

Antes del experimento

1. *Pida su problema al profesor.*
 - a) **Solución.** Proporcione a su profesor un matraz volumétrico limpio y etiquetado de 250 mL con tapón. El matraz debe estar limpio y lavado con tres o cuatro porciones de agua destilada. No es necesario que esté seco. Después de recibir la solución problema en el matraz, diluya hasta la marca con agua destilada. Mezcle bien (vea el procedimiento correcto en el capítulo 2).
 - b) **Sólida.** Pida a su profesor una muestra de cloruro soluble y colóquela en un pesafiltros limpio. El pesafiltros y su tapa se colocan en un vaso marcado con su nombre, y se cubre con un vidrio de reloj durante el secado. Seque en la estufa durante 1 o 2 h a 160°C (alrededor de 1 h en una estufa con ventilación forzada, o 2 h en una estufa de convección por gravedad). Guárdela en un desecador después de secarla, hasta que esté lista para pesarla (espere a que se enfríe antes de colocar la tapa en el pesafiltros para evitar que se forme vacío en el pesafiltros tapado).
2. *Prepare tres crisoles de filtración como se describe en seguida.*
3. *Prepare la solución de AgNO_3 0.1 M.²*

Preparación de los crisoles

1. *Crisol con filtro de vidrio sinterizado.* Prepare tres crisoles. Use crisoles de porosidad fina o media, y *no* de porosidad gruesa. Limpie de contaminación superficial cada crisol con agua y jabón; enjuague y colóquelos en la alargadera de un matraz de filtración al vacío.* Si se requiere limpieza química, siga el procedimiento que se describe al final del experimento. Con succión suave pase por el filtro varias porciones pequeñas de agua destilada. Coloque tres crisoles así preparados en un vaso de precipitados (marcado con sus iniciales), cúbralo con un vidrio de reloj y ponga vaso y crisoles en la estufa a 120-130°C durante 1 o 2 h. Con pinzas de crisol limpias pase los crisoles calientes al desecador, enfríe durante 30 a 40 min y péselos con exactitud. Repita el calentamiento durante media hora, enfríe y pese. Continúe hasta que los pesos sean constantes, entre ± 0.3 y 0.4 mg.
2. *Crisoles de porcelana con papel filtro de fibra de vidrio.* Coloque dos papeles filtro de fibra de vidrio en el crisol que apenas cubran su fondo (crisol Gooch). Lávelos con agua como se indicó antes y caliéntelos hasta peso constante (hasta obtener ± 0.3 a 0.4 mg).

Procedimiento

1. *Preparación de la muestra.*
 - a) **Solución.** Pipetee tres alícuotas de 50 mL en tres vasos distintos de 500 mL. Diluya cada muestra con 100 a 150 mL de agua destilada. Agregue aproximadamente 0.5 mL de ácido nítrico concentrado. Cubra los vasos con vidrios de reloj limpios.
 - b) **Sólido.** Después de que la muestra seca se ha enfriado en un desecador durante cuando menos 30 a 40 min, pese exactamente por triplicado muestras entre 0.2 y 0.3 g y colóquelas en vasos de 400 mL numerados (las muestras pueden contener carbonato, que es higroscópico. En ese caso su profesor le indicará que pese las muestras por diferencia). Disuelva la mezcla en agua destilada,

² Es muy probable que el laboratorio tenga una botella de recolección para soluciones y precipitados con plata. Por economía y para abatir los niveles de contaminación es importante que estos materiales no se viertan al drenaje.

*N. del R. T. En muchos lugares de habla hispana, a este matraz se le denomina *Kitazato*.

y diluya a unos 150 mL. Agregue aproximadamente 0.5 mL de ácido nítrico concentrado libre de cloruros (si usa muestras que contengan carbonato, añada el ácido lentamente hasta que cese el burbujeo).

2. *Precipitación.* Suponga que la muestra sólida es cloruro de sodio y calcule los milimoles necesarios de nitrato de plata para precipitar el cloruro. La adición lenta de nitrato de plata a la solución se lleva a cabo de manera más satisfactoria usando una bureta y agitando. Lave bien la bureta con agua del grifo; a continuación, lávela con tres o cuatro porciones de agua destilada y por último llénela con solución de nitrato de plata aproximadamente 0.1 M. A cada muestra agregue solución de nitrato de plata lentamente y con agitación vigorosa hasta que haya añadido un exceso del 10% sobre la cantidad calculada. Caliente las suspensiones casi a ebullición con agitación frecuente o constante para coagular el cloruro de plata; la agitación evita las proyecciones de la solución durante el calentamiento y con ello el riesgo de perder precipitado. Deje asentar el precipitado y verifique si la precipitación fue completa agregando cuidadosamente unas gotas de nitrato de plata al líquido claro sobrenadante; si se forma más precipitado o turbidez agregue unos pocos mililitros más de solución de nitrato de plata; agite bien, caliente, deje asentar el precipitado y pruebe de nuevo. Continúe así hasta que la precipitación sea completa. Deje reposar sobre la mesa los vasos cubiertos con su contenido y *protegidos de la luz*,³ o cuando menos 2 h antes de filtrar; podrá necesitarse el reposo durante toda la noche, o de un periodo de laboratorio al siguiente, lo cual es correcto siempre que se conserven las muestras en la oscuridad.
3. *Filtración y lavado del precipitado.* Decante la solución de la primera muestra pasándola por el primer crisol pesado y viértala a lo largo de una varilla de agitación con succión generosa. El precipitado debe revolverse lo menos posible. Agregue unos 25 mL de la solución de lavado al precipitado en el vaso, agite bien, deje asentar el precipitado y decante la solución pasándola por el crisol de filtrado. La solución de lavado de ácido nítrico sustituye al nitrato de plata adsorbido sobre la superficie del precipitado. Se requiere que haya un electrólito para evitar la peptización de la muestra. El ácido nítrico se volatiliza en la etapa de secado. Repita el lavado por decantación cuatro veces, y por último lleve el precipitado al filtro; para la transferencia use pequeñas porciones de la solución de lavado. Desprenda cualquier partícula sólida adherida al vaso con un gendarme de hule. Continúe lavando el precipitado en el crisol con la solución de lavado hasta que las últimas porciones de los filtrados produzcan reacción negativa del ion plata. Se podrán necesitar diez o más lavados. Filtre y seque en la misma forma las muestras segunda y tercera.
4. *Secado y pesado del precipitado.* Coloque en la estufa los crisoles con los precipitados en un vaso cubierto durante 2 h a 120 a 130°C. Enfríe los crisoles en el desecador y péselos con exactitud. Vuelva a calentarlos durante periodos de 1 h necesarios para obtener peso constante dentro de ± 0.3 a 0.4 mg.

Limpeza de los crisoles

Después de terminar el análisis, limpie los crisoles como sigue: retire la masa solidificada de cloruro de plata y después ponga los crisoles en un vaso; adicione unos 5 mL de solución concentrada de amoníaco en cada crisol y cubra el vaso con un vidrio de reloj. Pasados 10 a 15 min, transfiera el crisol a la alargadera de un matraz de succión, y lave con varias porciones de agua destilada. Si la placa filtrante está oscura, vacíe y lave el amoníaco

³ Cuando se expone a la luz, el AgCl se descompone como sigue: $\text{AgCl} \rightarrow \text{Ag} + \frac{1}{2}\text{Cl}_2 \uparrow$, que produce una coloración púrpura sobre la superficie del precipitado debido a la formación de plata metálica y, consecuentemente, una pérdida de peso. Es inevitable que se forme algo de coloración, y no es grave siempre que se evite la luz intensa (en especial la luz solar) tanto como sea posible.

del matraz de vacío y trate en la misma forma el crisol, con algunos mililitros de ácido nítrico concentrado. Por último, lávelo bien con agua destilada.

Cálculos

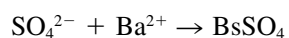
1. *Solución.* Calcule y reporte los gramos de Cl contenidos en su problema. Como se tomó la quinta parte de la muestra en cada determinación (50 mL de 250 mL), debe multiplicar el peso obtenido en cada alícuota por 5. Presente cada resultado individual, el promedio y la desviación estándar relativa, en ppm.
2. *Sólido.* Calcule y presente el porcentaje de Cl en su problema, para cada porción analizada. Presente cada resultado individual, el promedio y la desviación estándar relativa.

EXPERIMENTO 4 DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DE SO_3 EN UN SULFATO SOLUBLE

Principio

El sulfato se precipita como sulfato de bario, con cloruro de bario. Después de la filtración con papel, éste se quema y el precipitado se calcina a peso constante. El contenido de SO_3 se calcula a partir del peso de BaSO_4 .

Ecuación



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministradas.* AgNO_3 dil. (0.1 M), HNO_3 conc., HCl conc.
2. *Preparadas.* BaCl_2 0.25 M. Disuelva unos 5.2 g de BaCl_2 (no es necesario secarlos) en 100 mL de agua destilada.

Antes del experimento

1. *Obtenga su muestra problema y séquela.* Pida a su profesor una muestra de un sulfato soluble y séquela a la estufa a 110 o 120°C durante 2 h cuando menos. Déjela enfriar en un desecador durante al menos 0.5 h.
2. *Preparación de crisoles.* Limpie tres crisoles de porcelana con tapas. Póngalos sobre mecheros Tirrill y caliente a la temperatura máxima del mechero durante 10 a 15 min; después póngalos a enfriar en un desecador durante 1 h cuando menos. Pese con exactitud cada crisol con su tapa. Entre calentamiento y pesada debe manejar los crisoles y sus tapas sólo con pinzas de crisol.
3. Prepare la solución de BaCl_2 0.25 M.

Procedimiento

1. *Preparación de la muestra.* Pese con una exactitud de cuatro cifras significativas, y con el método directo, tres muestras de 0.5 a 0.7 g cada una. Páselas a vasos de 400 mL, disuélvalas en 200 a 250 mL de agua destilada y agregue 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado a cada una.
2. *Precipitación.* Suponga que la muestra es sulfato de sodio puro y calcule los milimoles de cloruro de bario necesarios para precipitar el sulfato en la muestra mayor. Caliente las soluciones apenas por debajo del punto de ebullición sobre una malla de alambre y con un mechero Tirrill. Con una bureta agregue lentamente, gota a gota, la solución de cloruro de bario 0.25 M hasta que haya agregado más de 10% en ex-

ceso sobre la cantidad calculada; agite vigorosamente durante la adición. Deje asentar el precipitado y vea si la precipitación fue completa agregando unas gotas de cloruro de bario sin agitar. Si se forma más precipitado, agregue lentamente y agitando 5 mL más de cloruro de bario, deje asentar y vuelva a determinar. Repita esta operación hasta que la precipitación sea completa. Deje las barras de agitación en los vasos, cúbralos con vidrios de reloj y digíelos en un baño de vapor hasta que el líquido sobrenadante sea transparente. (El precipitado inicial es de partículas finas. Durante la digestión las partículas crecen hasta volverse filtrables.) Se necesitarán 30 a 60 min o más. Agregue más agua destilada si el volumen desciende de 200 mL.

3. *Filtración y lavado del precipitado.* Prepare tres papeles filtro Whatman núm. 42 de 11 cm, o su equivalente, para la filtración; el papel debe ajustar bien al embudo para que el tallo del embudo quede lleno de líquido; de otro modo la filtración será muy lenta. Vea en el capítulo 2 la descripción de la preparación correcta de los filtros. Filtre las soluciones en caliente y tenga cuidado de no llenar demasiado el papel, porque el sulfato de bario tiende a “trepar” sobre la orilla del papel. Lave el precipitado en el filtro con agua destilada caliente, limpie el precipitado adherido al agitador y el vaso con un gendarme de hule, y lave de nuevo el contenido del vaso pasándolo al filtro. Examine con mucho cuidado el vaso para ver si tiene partículas de precipitado que pudieran haber quedado sin transferir. Lave el precipitado y el papel filtro con agua caliente destilada hasta que ya no se produzca turbidez cuando algunos mililitros de las aguas de lavado, acidulados con unas pocas gotas de ácido nítrico, no den reacción de cloruro con la solución de nitrato de plata. Durante el lavado, escurra el precipitado hacia abajo dentro del cono del filtro hasta donde sea posible. Examine el filtrado para ver si hay algo de precipitado que pueda haber atravesado el filtro.
4. *Calcinación y pesado del precipitado.* Extraiga el papel filtro de los embudos y deje escurrir algunos minutos. Doble cada filtro para formar un paquete que encierre el precipitado, con la capa triple de papel hacia arriba. Póngalos en los crisoles de porcelana tarados y oprímalos suavemente contra el fondo. Revise los embudos para ver si tienen rastros de precipitado. Si lo hay, límpielo con un pequeño trozo de papel filtro libre de cenizas húmedo y colóquelo en el crisol correspondiente. Ponga cada crisol sobre un triángulo en un tripié o el anillo del soporte, en posición inclinada y con la tapa ligeramente desplazada. Caliente suavemente con llama pequeña (mechero Tirrill) hasta que haya salido toda la humedad y el papel comience a humear y a carbonizarse. Ajuste el mechero para que el papel continúe quemándose sin desprender llamas. Si se inflama el papel, cubra el crisol para extinguir el fuego y baje la llama del quemador. Cuando el papel se haya carbonizado por completo suba gradualmente la temperatura lo suficiente para quemar por completo el carbón. Es normal que el carbón se ponga rojo al arder, pero no debe tener llama. Al final, el precipitado debe ser blanco sin partículas negras. Deje enfriar. Ponga el crisol en posición vertical en el triángulo y humedezca el precipitado con tres o cuatro gotas de ácido sulfúrico diluido 1:4. Caliente *con mucho cuidado* hasta que el ácido haya humeado y salido. Con este tratamiento, todo el precipitado que se haya reducido a sulfuro de bario por el carbón caliente se convierte en sulfato de bario. Entonces tape los crisoles y caliente apenas al rojo en la llama intensa del quemador Tirrill durante 15 min.

Deje enfriar los crisoles tapados en un desecador durante al menos 1 h y péselos. Caliente otra vez al rojo durante 10 a 15 min, enfríe en el desecador y pese de nuevo. Repita lo anterior hasta que dos pesadas sucesivas concuerden dentro de 0.3 a 0.4 mg.

Cálculos

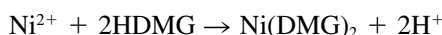
Calcule y presente el porcentaje de SO_3 en su muestra problema por cada porción analizada. También indique el promedio y la desviación estándar.

EXPERIMENTO 5 DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DE NÍQUEL EN ALEACIÓN DE NICROMO

Principio

El níquel forma un quelato rojo con la dimetilglioxima (DMG) que resulta muy adecuado para su análisis gravimétrico. La precipitación del quelato es completa en una solución amortiguadora de ácido acético-acetato, o en una solución amoniacal. Por lo general se usa el amortiguador de acetato cuando en la aleación hay Zn, Fe o Mn. La muestra que se le proporciona es una aleación llamada nicromo constituida por Ni (60%), Cr y Fe, como componentes principales. La interferencia del Cr y el Fe se elimina por acomplejamiento con iones tartrato o citrato. A continuación se hace la precipitación en solución amoniacal. El contenido de Ni se calcula con el peso del precipitado (véase la fórmula en la tabla 10.2).

Ecuación



Soluciones y reactivos suministrados

HCl (1:1), HNO₃ (1:1), solución de NH₃ (conc. y 1:1), DMG al 1% en etanol, solución de ácido cítrico al 20%, etanol al 30%.

Antes del experimento

1. *Pida a su profesor la aleación problema.*
2. *Prepare tres crisoles de filtrado de vidrio sinterizado.* Séquelos a peso constante de ± 0.3 a 0.4 mg (con calentamientos repetidos; vea el experimento 3).

Procedimiento

1. *Disolución de la muestra.* Pese con exactitud tres muestras de 0.10 a 0.12 g de la aleación. Póngalas en vasos separados de 400 mL, numerados, y a cada uno agregue 25 mL de HCl (1:1) y 25 mL de HNO₃ (1:1). Caliente moderadamente (bajo la campana) hasta que se emitan humos café, de 40 a 50 min. Mantenga los vasos cubiertos con vidrios de reloj. Podrá ver que en el residuo hay algo de partículas de carbón no disueltas. Si eso sucede, cuantitativamente filtre el contenido de cada vaso por papel filtro Whatman 40, en vasos de 600 mL separados. Lave varias veces el vaso de 400 mL, con pequeñas cantidades de agua y pase las aguas de lavado al vaso de 600 mL a través del filtro. Lave varias veces el filtro con pequeñas cantidades de agua. Remueva el papel filtro y lave el embudo y su tallo con pequeñas cantidades de agua antes de retirarlo del vaso receptor.
2. *Precipitación.* Agregue 4 a 6 mL de la solución de ácido cítrico y 100 a 150 mL de agua a cada vaso. Agregue gota a gota NH₃ conc., hasta que la solución sea ligeramente básica (olor a amoníaco en la solución). Se deben usar de 2 a 3 mL. Vea que el pH sea alrededor de 8, tocando el agitador con papel indicador. Tenga cuidado para que no se adhieran gotas al agitador para que la pérdida de la solución sea mínima. Si se forma un precipitado quiere decir que no se agregó suficiente ácido cítrico. Disuelva el precipitado agregando HCl (1:1) gota a gota (unos 3 mL), hasta que el pH sea 3, aproximadamente. Agregue 1 a 2 mL más de solución de ácido cítrico. Compruebe adicionando NH₃ conc. Si no se forma precipitado, agregue HCl (1:1) hasta que la solución sea ligeramente ácida (que no haya olor a amoníaco en la solución). Caliente los vasos en la parrilla hasta 70 u 80°C. No hierva. Saque los vasos de la parrilla y agregue unos 50 mL de solución de DMG, gota a gota y con agitación. Si se forma un precipitado rojo, agregue HCl(1:1) gota a gota hasta disolverlo. La DMG debe ser homogénea en toda la solución antes de que comience la precipitación. Agregue NH₃

(1:1) gota a gota y con agitación, hasta que la solución *huela mucho* a amoníaco. Se podrán necesitar 3 a 4 mL. Se forma un precipitado rojo. Es importante que la solución sea marcadamente alcalina en este punto. Como el olfato puede retener el olor del amoníaco, tenga cuidado de que éste provenga del vaso. Compruebe que el pH sea mayor que 8.5 tocando papel indicador con el agitador humedecido. Es mejor hacerlo *después* de que la mayor parte del precipitado se haya asentado. Cubra los vasos con vidrios de reloj y deje reposar durante al menos 2 h (de preferencia, toda la noche).

3. **Filtración y lavado del precipitado.** Filtre el precipitado en crisoles de vidrio previamente pesados con buena succión. Después de transferir al precipitado, lávelo con agua destilada tibia y transfíralo cuantitativamente al crisol. Si a las paredes del vaso se adhieren huellas de precipitado (que son difíciles de manejar con un gendarme de hule), disuélvalas con unas gotas de HCl (1:1), caliente y precipite agregando unas gotas de DMG 1% y NH_3 (1:1). Ahora, el precipitado obtenido no se adherirá y se podrá transferir a los crisoles. Lave el precipitado en el crisol, tres a cuatro veces cuando menos, con agua tibia. Por último, lave el precipitado *una vez* con alcohol al 30%, el cual disolverá todo exceso de DMG que haya en el precipitado.
4. **Secado y pesado del precipitado.** Coloque los crisoles en vasos (rotulados con su nombre y cubiertos con vidrios de reloj). Seque en la estufa durante 1 a 2 h, a 110 a 130°C. Enfríe los crisoles en un desecador (durante 30 a 40 min) y péselos con exactitud. Vuelva a calentar durante 1 h, las veces necesarias para obtener pesos constantes dentro de ± 0.3 a 0.4 mg.

Cálculos

Calcule y presente el porcentaje de níquel en su problema en cada porción analizada. Presente cada resultado individual, el promedio y la desviación estándar relativa.

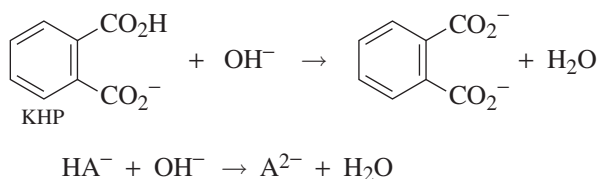
Titulaciones ácido-base

EXPERIMENTO 6 DETERMINACIÓN DE HIDRÓGENO SUSTITUIBLE EN UN ÁCIDO TITULANDO CON HIDRÓXIDO DE SODIO

Principio

Se prepara y estandariza hidróxido de sodio 0.10 M contra un estándar primario de ftalato ácido de potasio (KHP). El problema se titula con el hidróxido de sodio estandarizado.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos requeridos

1. **Suministrados.** KHP, solución de fenoltaleína al 0.2% en etanol al 90%; solución de NaOH al 50%.
2. **Para preparar.**⁴ Solución de NaOH 0.1 M. Esta solución no debe contener carbonatos. El Na_2CO_3 en las lentejas de NaOH es insoluble en NaOH al 50%. El Na_2CO_3

⁴ Si va a usar esta solución en el experimento 7 para normalizar HCl, prepare 1 L en lugar de 500 mL.

precipitado se asentará en el fondo después de varios días (hasta una semana), y el líquido sobrenadante transparente con aspecto de jarabe que sobrenada (NaOH aproximadamente 19 M) se puede remover con cuidado o decantar del recipiente, con lo cual se obtiene NaOH libre de carbonatos. La solución se prepara en un vaso al borosilicato (Kimax o Pirex); se calienta mucho y después de enfriar se guarda en una botella de polietileno. Su profesor le proporcionará la solución al 50% libre de carbonato.

En este experimento se necesitará agua destilada libre de dióxido de carbono. Para prepararla, llene un matraz de fondo plano de 1 000 mL casi hasta el cuello con agua destilada; introduzca una varilla de ebullición con la copa hacia abajo (la copa debe estar vacía); caliente a ebullición sobre una tela de alambre con un mechero Meker, y hierva durante 5 min. Cubra el matraz con un vaso invertido y déjelo enfriar durante la noche, o enfríelo bajo el chorro de agua fría. Prepare 800 mL más de la misma manera.

Llene una botella de 500 mL con tapón de hule hasta la mitad con agua libre de CO₂; agregue 2.5 mL de solución transparente de NaOH 50%; tape y agite para mezclar.⁵ Evite, hasta donde sea posible, que las soluciones se expongan a la atmósfera. Por último, agregue más agua libre de CO₂ hasta casi llenar la botella, ponga el tapón y agite vigorosamente.

El hidróxido de sodio que preparó es 0.1 M, aproximadamente. Éste se estandarizará contra el estándar primario de ftalato ácido de potasio.

Antes del experimento

1. *Consiga KHP y séquelo.* Seque unos 4 g del estándar primario de ftalato ácido de potasio en un pesafiltros, a 110 a 120°C durante 1 a 2 h. Enfríe en un desecador durante al menos 30 a 40 min antes de pesarlo.
2. *Solicite su problema y séquelo.* El problema puede ser líquido o sólido. Si es sólido, recíballo en un pesafiltros antes del día del experimento y séquelo durante 2 h de 110 a 120°C. Guárdelo en el desecador. Si el problema es líquido, recíballo en un matraz volumétrico limpio de 250 mL, y dilúyalo hasta la marca con agua libre de CO₂. Mezcle bien.

Procedimiento

1. *Estandarización de la solución de NaOH 0.1 M con ftalato ácido de potasio.* Pese con exactitud tres porciones, cada una de 0.7 a 0.9 g, del ftalato ácido de potasio seco y póngalas en matraces Erlenmeyer de boca ancha de 250 mL (estas cantidades están diseñadas para titulaciones utilizando buretas de 50 mL. Si tiene una bureta de 25 mL se le indicará que realice un ajuste a las cantidades de KHP y de problema). El método directo de pesar con un pesafiltros tarado puede aplicarse a este material. Disuelva cada muestra en aproximadamente 50 mL de agua destilada libre de CO₂. Lave su bureta con tres porciones pequeñas de la solución de NaOH 0.1 M, llénela y ajústela al cero. Anote el volumen inicial con exactitud de 0.02 mL. Agregue dos o tres gotas de indicador de fenolftaleína a cada muestra de KHP y titule con NaOH 0.1 M hasta el punto final, alcanzándose un color rosa intenso. El color debe persistir cuando menos 30 s. Agregue fracciones de gota al final de la titulación. Estime la indicación de la bureta con exactitud de 0.02 mL.

Calcule la molaridad del NaOH con cuatro cifras significativas a partir del peso de KHP utilizado (tres cifras significativas si la molaridad es un poco menor que 0.1 M). Use el promedio de los resultados.

Mantenga la botella de NaOH cerrada con un tapón de hule y proteja del aire la solución en la medida de lo posible para minimizar la absorción de CO₂. Prosiga tan pronto como sea posible a la determinación del ácido del problema; el estándar de

⁵ Si el NaOH fuera puro, sólo se necesitarían 2 mL (2 g de NaOH) para preparar 500 mL de NaOH 0.1 M. Sólo se requieren 2.5 mL para compensar el agua y el contenido de Na₂CO₃ de las lentejas.

hidróxido de sodio valorado debe usarse a menos de una semana de su preparación. Después de ese tiempo pueden haberse presentado cambios en la molaridad y será necesario volver a valorarlo.⁶

2. *Determinación del hidrógeno sustituible en un ácido desconocido.* Si el problema es un ácido débil, como KHP, ácido acético o vinagre, deberá usar indicador de fenolftaleína (cambio de color igual que el anterior). Si es un ácido fuerte, podrá usar otro indicador, como rojo de clorofenol (cambio de color amarillo a violeta).

Si el problema es sólido, séquelo durante 2 h a 110°C. Enfríe durante 30 min. Su profesor le indicará el peso aproximado que debe tomar de la muestra para poder usar 30 a 40 mL de NaOH. Si es de KHP se tomará aproximadamente 1 g. Pese tres muestras con una exactitud de 0.1 g y colóquelas en matraces Erlenmeyer numerados de 250 mL y boca ancha. Disuélvalos en 50 mL de agua libre de CO₂, calentando si es necesario. Agregue dos gotas de indicador y titule con NaOH 0.1 M, hasta que persista el cambio de color durante 30 s.

Si el problema es un líquido, transfiera con una pipeta tres alícuotas de 50 mL del matraz volumétrico de 250 mL y titule como se indicó antes.

Cálculos

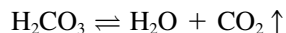
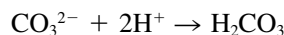
1. *Sólidos.* Calcule y reporte el porcentaje de hidrógeno sustituible o porcentaje de KHP en su problema para cada porción analizada.
2. *Líquidos.* Calcule y presente los miligramos de hidrógeno sustituible en su problema. Ya que para cada determinación se tomó la quinta parte de la muestra (50 mL de 250 mL), el peso determinado en cada alícuota debe multiplicarse por 5.

EXPERIMENTO 7 DETERMINACIÓN DE LA ALCALINIDAD TOTAL DEL CARBONATO DE SODIO COMERCIAL

Principio

Se estandariza ácido clorhídrico 0.1 M contra un estándar primario de carbonato de sodio. Para estimar el punto medio de la titulación se usa fenolftaleína; posteriormente se utiliza indicador anaranjado de metilo modificado o verde de bromocresol para detectar el punto final. Este último indicador se usa hirviendo la solución cerca del punto final para eliminar el CO₂ (vea la descripción en la figura 8.11). Alternativamente, se estandariza el ácido clorhídrico contra hidróxido de sodio valorado en el experimento 6 usando indicador de fenolftaleína. La muestra de carbonato de sodio se titula con la solución de ácido clorhídrico con la adición de 2 moles de hidrógeno por mol de Na₂CO₃.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Fenolftaleína al 0.2% en etanol al 90%; anaranjado de metilo modificado (mezcla de anaranjado de metilo y xileno cilanol FF disponible de Eastman Kodak Co.) o verde de bromocresol al 0.1% en NaOH 0.001 M, y ya sea estándar primario de Na₂CO₃ o NaOH 0.1 M estandarizado.

⁶ Si va a usar esta solución en el experimento 7 para valorar el HCl, su profesor le indicará que guarde la solución sobrante al terminar este experimento. En ese caso, debe preparar y estandarizar la solución de HCl en menos de una semana después de haber estandarizado al NaOH.

2. *Preparados.* HCl 0.1 M. La densidad del ácido clorhídrico concentrado es 1.18 y contiene 37% de HCl en peso. Por consiguiente, se deben diluir unos 4 mL del ácido concentrado en 500 mL para obtener ácido 0.1 M. Mida este volumen más 0.5 mL adicionales en una probeta graduada de 10 mL y vierta sobre agua, en una botella de 500 mL con tapón de vidrio llena hasta sus hombros con agua destilada.⁷ Agite el líquido hasta que la solución sea homogénea.

Antes del experimento

1. *Pida el Na_2CO_3 y séquelo.* Si va a estandarizar su HCl contra Na_2CO_3 , consiga alrededor de 2 g de estándar primario de Na_2CO_3 y colóquelos en un pesafiltros. Coloque el pesafiltros destapado y su tapa en un vaso de 150 mL marcado con su nombre y seque a 160°C durante dos horas o más. Enfríe al menos por 30 min en un desecador antes de pesar.
2. *Obtenga y seque su problema.* Pida su problema en un pesafiltros y séquelo como se describió antes para el Na_2CO_3 .

Procedimiento

Estandarice el HCl con el método 1 o con el método 2, que se describen a continuación.

1. *Estandarización del HCl contra Na_2CO_3 .* Pese exactamente (a 0.1 mg) el pesafiltro con el carbonato de sodio secado. Mientras pesa, mantenga cerrado el pesafiltro. Transfiera de manera cuantitativa (con exactitud de cuatro cifras) alrededor de 0.2 g a un matraz Erlenmeyer limpio, de 250 mL. La diferencia es el peso del carbonato de sodio tomado. Lo que esté entre 0.16 y 0.24 g será satisfactorio (a este procedimiento se le llama “pesado por diferencia”, y es necesario debido a que el Na_2CO_3 es higroscópico). Pese una segunda y una tercera porción en la misma forma. Agregue unos 50 mL de agua destilada y una a dos gotas de solución indicadora de fenolftaleína a cada matraz.

El Na_2CO_3 se titula primero hasta el punto final de la fenolftaleína (de rosa a incoloro; hasta esta etapa se adiciona $1 \text{ H}^+ : \text{CO}_3^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^-$) para aproximarse a donde se encuentra el punto final (entonces úsese naranja de metilo modificado o indicador de verde de bromocresol; en esta etapa se adiciona el segundo $\text{H}^+ : \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$). Lave la bureta tres veces con pequeñas porciones (de unos 5 mL cada una) de ácido aproximadamente 0.1 M, preparado como se indicó antes; después llénela y ajuste a la marca de cero. Anote el volumen con una exactitud de 0.02 mL. Titule la primera muestra del carbonato de sodio, agregando el ácido con una rapidez no mayor a 0.5 mL por segundo, agitando constantemente el matraz hasta que desaparezca el color rosa. En este punto se habrá agregado más o menos la mitad del volumen total del ácido necesario (en realidad, habrá un ligero exceso). Con esta cantidad estime dónde se presentará el punto final, teniendo en cuenta que se debe necesitar un poco menos de ácido que el que ya se agregó. Continúe la titulación con el método a) o el b), que se describen a continuación.

- a) **Indicador anaranjado de metilo modificado.** Antes de comenzar, pregunte al profesor qué indicador debe utilizar. Agregue dos a tres gotas de indicador de anaranjado de metilo modificado y titule hasta que el color cambie de verde a gris. El color correcto se puede distinguir con mayor facilidad comparándolo con el color de dos gotas del indicador en una solución preparada adicionando 0.20 g de ftalato ácido de potasio en 100 mL de agua destilada. El pH de esta solución es 4.0, igual que el pH del punto final en presencia de CO_2 . Use la misma técnica para las titulaciones de estandarización y del problema.

⁷ Si va a hacer el experimento 19, “Titulación potenciométrica de un problema de carbonato de sodio”, prepare el doble de esta cantidad y use esa estandarización para el experimento.

b) Indicador verde de bromocresol (método alternativo). Agregue dos a cuatro gotas de verde de bromocresol. El cambio de color para este indicador es de azul a verde pálido a amarillo. Titule hasta un color azul-verdoso (justo antes del punto final); interrumpa la titulación en ese punto y hierva con cuidado la solución, 2 a 3 min, para expulsar el dióxido de carbono. El color debe regresar a azul. Enfríe la solución a la temperatura ambiente y continúe la titulación hasta llegar al color amarillo pálido. Esto indica el punto final.

Titule las otras dos muestras de la misma manera que la primera y calcule la molaridad del HCl a partir de los pesos tomados de Na₂CO₃, recordando que cada carbonato reaccionó con dos protones. Use el promedio de las tres determinaciones en los cálculos para el problema.

2. *Estandarización del HCl contra NaOH estandarizada 0.1 M (procedimiento alternativo).*⁸ Lave su pipeta de 25 mL con HCl 0.1 M y con ella agregue 25 mL a un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Añada dos a tres gotas de solución indicadora de fenolftaleína. Lave su bureta con tres porciones pequeñas de la solución de NaOH 0.1 M preparada y estandarizada en el experimento 6. Llénela y ajústela al cero. El NaOH se coloca en la bureta y no en el matraz para protegerlo del CO₂ atmosférico. Anote el volumen con una exactitud de 0.02 mL. Titule el ácido hasta llegar a un ligero color rosa, que persista al menos 30 s. Repita la titulación dos veces más usando su pipeta de 50 mL para la segunda y tercera titulación si en la primera necesitó menos de 25 mL de NaOH. Calcule la molaridad del HCl.
3. *Determinación de carbonato de sodio en el problema.* Pese exactamente, por diferencia, tres muestras con aproximadamente 0.25 a 0.35 g cada una; disuelva cada una en unos 60 mL de agua y titule con HCl 0.1 M siguiendo el mismo procedimiento respecto de los indicadores y al punto final que el que se usó en el procedimiento de estandarización contra Na₂CO₃; si no lo usó, utilice el que le indique su profesor.

Cálculos

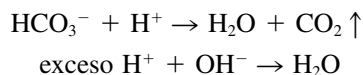
Calcule el porcentaje de Na₂CO₃ o de Na₂O en su problema para cada porción analizada. Su profesor le indicará cuál será la que debe reportar.

EXPERIMENTO 8 DETERMINACIÓN DE BICARBONATO EN LA SANGRE POR RETROTITULACIÓN

Principio

Cerca de 90% del dióxido de carbono total en la sangre humana existe en forma de HCO₃⁻ y el resto en forma de CO₂ disuelto. Para la mayor parte de los fines clínicos, la concentración de HCO₃⁻ se puede usar como ayuda para un diagnóstico. Éste se determina agregando un exceso de HCl 0.01 M para volatilizar el HCO₃⁻ como CO₂ y después retrotitulando el exceso de HCl con NaOH 0.01 M. Las soluciones de HCl y NaOH 0.01 M se preparan diluyendo soluciones estandarizadas 0.1 M.

Ecuaciones



⁸ La solución de hidróxido de sodio es un **estándar secundario**, y cualquier error en su estandarización repercutirá en la estandarización del ácido clorhídrico. El hidróxido de sodio debe usarse dentro de la semana siguiente a su estandarización. Si este experimento se hace antes del experimento 6, se puede usar este procedimiento para estandarizar la solución de hidróxido de sodio para ese experimento.

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministrados.* Rojo de fenol (fenolsulfonftaleína) al 0.1% en NaOH 0.003 *M*; solución salina al 1% (NaCl) en agua libre de CO₂ (vea el experimento 6); antifoam A (Dow Corning Corp.).
2. *Preparados.* Soluciones estándar de HCl 0.1 *M* y 0.01 *M*, y de NaOH 0.01 *M*. Para conocer la molaridad de la solución valorada de HCl y la de NaOH, sólo bastan tres cifras significativas. Si usted preparó HCl o NaOH estandarizado en el experimento 6 o 7, úselo en este experimento. Si no, prepare 250 mL de solución estandarizada de NaOH 0.1 *M* como en el experimento 6. Ya que sólo se requieren tres cifras significativas, podrá usar la décima parte de la cantidad de KHP para la titulación, en cuyo caso el punto final se presentará más o menos de los 4.0 a los 4.5 mL. En estas titulaciones debe usar una bureta de 10 mL. Estandarice una solución de HCl 0.1 *M* titulado 5.00 mL de ésta con estándar de NaOH 0.1 *M*, como en el experimento 7. Se podrá usar el indicador de rojo de fenol. Si sólo tiene una solución estándar de HCl 0.1 *M*, úsela para estandarizar la solución de NaOH 0.1 *M*.

Prepare 500 mL de HCl 0.01 *M* y NaOH 0.01 *M* diluyendo 50 mL de las soluciones 0.1 *M* a 500 mL con la solución salina. Deben prepararse el día que se vayan a usar. La solución salina ayuda a volatilizar el CO₂ de la solución acidulada al disminuir la solubilidad del gas.

Antes del experimento

Prepare y estandarice las soluciones de HCl 0.1 *M* y NaOH 0.1 *M*. Para ello se necesitará secar antes un estándar primario de KHP, si no hay disponible HCl o NaOH estandarizados.

Procedimiento⁹

1. *Preparación de la muestra.* Para la determinación se podrá usar suero o plasma (oxalatado o heparinizado). Puede tratarse de sangre recién tomada de un animal. No lo haga usted; el profesor le dará la muestra. Una muestra de 10 a 15 mL (20 a 30 mL de sangre entera) deben bastar para determinaciones por triplicado en un grupo de 30 estudiantes. Debe agregarse fluoruro para evitar la glucólisis, o descomposición de la glucosa, que puede hacer variar el pH. El fluoruro inhibe la catálisis enzimática que causa la glucólisis y estabiliza el pH durante unas 2 h. El tubo usado para recolectar la muestra se puede lavar con una solución de 100 mg de heparina de sodio más 4 g de fluoruro de sodio por 100 mL. La muestra debe conservarse en medio anaerobio, es decir, con tapón para aislarla del CO₂ atmosférico. Como el análisis debe hacerse el día en que se toma la sangre, las soluciones deben prepararse con el tiempo suficiente.
2. *Preparación de la solución de comparación.* Prepare un estándar para comparar colores en el punto final como sigue. Coloque 6 mL de solución salina al 1% en un matraz Erlenmeyer y añada 0.10 mL de suero o de plasma. Agregue dos gotas de indicador de rojo de fenol, inserte un tapón y agite vigorosamente para mezclar el contenido. El intervalo de pH de transición de este indicador es de 8.4 a 6.7 (amarillo a rojo). Debido a la capacidad amortiguadora de la sangre, el punto final se presenta en este intervalo.
3. *Titulación de la muestra.* La muestra del fondo común de suero o plasma se habrá preparado tocando con el extremo de una varilla de agitación un poco de Antifoam A y girándolo en la muestra. De ese modo se evitará el exceso de producción de

⁹ Esta determinación puede llevarse a cabo a macroescala, usando 5.00 mL de ácido y 1.00 mL de muestra, o usando 2.00 mL de ácido y 0.500 mL de muestra. En el primer caso, en la retrotitulación se necesitarán unos 2.4 mL de NaOH 0.01 *M*, y en el último caso 0.7 mL, aproximadamente.

espuma cuando se agite la muestra. Coloque 0.100 mL de suero o plasma en un matraz Erlenmeyer de 25 mL y agregue 1.00 mL de HCl 0.01 *M* y 4 mL de solución salina al 1%. Agite vigorosamente el matraz durante al menos 1 min para permitir que escape el CO₂. Agregue dos gotas de indicador y entonces titule con NaOH 0.01 *M*, gota a gota pero rápidamente, hasta que un color rosado igual que al del estándar dure al menos 15 s. El NaOH se agregará con cuidado con una pipeta graduada de 1 mL leyendo con una exactitud de 0.01 mL.

El valor normal de bicarbonato en la sangre es de aproximadamente 26 meq/L (25 a 32 meq/L), o 0.026 meq/mL. 1 meq de HCO₃⁻ = 1 mmol de HCO₃⁻. Como se tomó 0.1 mL de sangre para el análisis, debe consumir más o menos 0.0026 mmol de HCl, o 0.26 mL de HCl 0.01 *M*. Por tanto, como se tomó 1 mL de HCl 0.01 *M* deben quedar aproximadamente 0.74 mL sin reaccionar, y en la retrotitulación inversa deben necesitarse unos 0.7 mL de NaOH 0.01 *M*.

Cálculos

Calcule el contenido de bicarbonato en la muestra, en meq/L. (Vea la definición de mili-equivalentes de electrolitos en suero en el capítulo 5.)

Titulación complejométrica

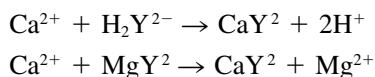
EXPERIMENTO 9 DETERMINACIÓN DE LA DUREZA DEL AGUA CON EDTA

Principio

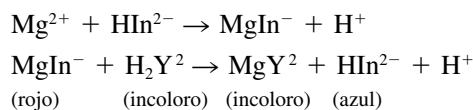
La dureza del agua, causada por Ca²⁺ y Mg²⁺, se expresa como mg/L de CaCO₃ (ppm). El total de Ca²⁺ y Mg²⁺ se titula con EDTA estandarizado usando indicador de eriocromo negro T.¹⁰ Se prepara una solución estándar de EDTA a partir de Na₂H₂Y · 2H₂O seco (pureza 100.0 ± 0.5%, que no exceda los 80°C durante el secado). Si la muestra no contiene magnesio se adiciona Mg-EDTA al matraz de titulación para obtener un punto final nítido con el eriocromo negro T, ya que el calcio no forma un quelato lo suficientemente fuerte con el indicador como para producir un punto final nítido. Vea una discusión más completa en el capítulo 9.

Ecuaciones

Titulación:



Punto final:



El ácido completamente protonado del indicador es H₃In y el del EDTA titulante es H₄Y.

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministrados.* Solución de indicador eriocromo negro T al 0.5% (peso/vol) en etanol, Mg-EDTA 0.005 *M* (preparado adicionando cantidades estequiométricas de

¹⁰ Si se desea titular sólo Ca²⁺ se puede hacer a un pH de 12 (usando NaOH), región donde el Mg(OH)₂ precipita y por tanto no se titula. Se usa azul de hidroxinaftol como indicador.

EDTA 0.01 M y MgCl_2 0.01 M). La solución del indicador debe prepararse fresca, ya que, por ser inestable, dura pocos días. Cuando una porción de la solución de Mg-EDTA se trata con una solución amortiguadora de pH 10 y eriocromo negro T, debe cambiar a un color violeta opaco; una gota de EDTA 0.01 M debe cambiarlo a azul y una gota de MgCl_2 0.01 M debe cambiarlo a rojo.

2. Preparados

- a) **Solución amortiguadora de $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ a pH 10.** Disuelva 3.2 g de NH_4Cl en agua, agregue 29 mL de NH_3 concentrado y diluya a unos 50 mL. La solución amortiguadora se guarda mejor durante largo tiempo en botellas de polietileno para evitar la lixiviación de los iones metálicos del vidrio.
- b) **Solución estándar de EDTA 0.01 M.** Seque aproximadamente 1.5 g de $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ grado reactivo en un pesafiltros a 80°C durante 2 h. Enfríe en un desecador durante 30 min y pese exactamente (con una exactitud de 1 mg) aproximadamente 1.0 g. Transfíralo a un matraz volumétrico de 250 mL (ésta es la sal disódica del EDTA; el ácido libre es insoluble). Agregue casi 2.00 mL de agua destilada *desionizada* y agite periódicamente hasta que se haya disuelto el EDTA. Este compuesto se disuelve lentamente y puede demorar 0.5 h o más para conseguirlo. Si es posible, se deja reposar la solución durante la noche, antes de usarla. Si quedan algunas partículas sin disolver, la adición de tres lentejas de NaOH podría ayudar, pero hay peligro de agregar impurezas metálicas. Después de haberse disuelto el EDTA, diluya a 250.0 mL y agite meticulosamente para que la solución sea homogénea. A continuación, enjuague una botella de polietileno limpia con tres porciones pequeñas de la solución de EDTA y pase el resto de la solución a la botella para guardarla (es preferible guardar en polietileno que en vidrio porque las soluciones de EDTA disuelven gradualmente iones metálicos de los recipientes de vidrio, lo cual origina cambios en la concentración de EDTA libre). Calcule la molaridad de la solución de EDTA.

Antes del experimento

Seque el $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y prepare la solución estándar de EDTA.

Procedimiento

Pida la muestra de agua a su profesor. Adicione con una pipeta o una bureta una alícuota de 50 mL de la muestra y colóquela en un matraz Erlenmeyer de boca ancha de 250 mL; agregue 2 mL de la solución amortiguadora, 0.5 mL de la solución de Mg-EDTA y cinco gotas de la solución indicadora (si la muestra problema contiene magnesio, no es necesario agregar Mg-EDTA; consulte a su profesor). Evite agregar demasiado indicador en las soluciones diluidas, porque el cambio de color en el punto final podría ser demasiado gradual. El indicador no debe ponerse rojo vino sino hasta que se adicione el magnesio. *Debe agregarse la solución amortiguadora antes que el indicador* para que la pequeña cantidad de hierro que contenga el agua no reaccione con el indicador [un cambio de color de rojo vino a violeta en el punto final indica que hay una gran concentración de hierro en el agua. Esta interferencia se puede evitar adicionando unos cuantos cristales de cianuro de potasio. *Debe tener cuidado con esta sustancia. Agréguela sólo si se lo indican y sólo después de haber aplicado el amortiguador alcalino, porque el HCN es volátil y muy tóxico.* Después de la titulación, agregue 1 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ para convertir el CN^- a $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ inocuo]. Si existe la posibilidad de que la muestra de agua contenga cobre, agregue algunos cristales de clorhidrato de hidroxilamina. De este modo, el cobre(II) se reduce a cobre(I), que no interfiere.

Titule con EDTA 0.01 M hasta que cambie el color de rojo vino a azul puro, pasando por el púrpura. La reacción (el cambio de color) es lenta en el punto final, y debe agregar el titulante lentamente, agitando bien la solución en la cercanía del punto final. Puede preparar una solución de comparación para definir el color adecuado en el punto final

agregando 2 mL de solución amortiguadora de pH 10 a 50 mL de agua destilada, cinco gotas del indicador, algunas gotas de Mg-EDTA y unas cuantas gotas de EDTA.

Si el punto final para la primera titulación necesitó menos de 10 mL, aumente al doble el volumen de la muestra en las dos titulaciones restantes.

Cálculos

Calcule e informe la dureza del agua en ppm de CaCO_3 para cada porción analizada.

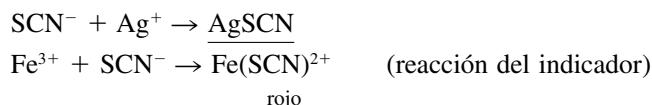
Titulaciones con precipitación

EXPERIMENTO 10 DETERMINACIÓN DE PLATA EN UNA ALEACIÓN: MÉTODO DE VOLHARD

Principio

Se usa AgNO_3 como estándar primario para estandarizar una solución de KSCN 0.1 M, usando indicador de alumbre férrico. El problema de la aleación de plata se analiza titulando con la solución estandarizada de KSCN .

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Estándar primario de AgNO_3 , más un indicador de alumbre férrico [$\text{KFe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, solución saturada], HNO_3 6 M (libre de óxidos de nitrógeno). El ácido nítrico libre de óxidos inferiores de nitrógeno debe ser incoloro y se puede preparar, si es necesario, hirviendo HNO_3 1:1 hasta que se expulse el NO_2 .
2. *Preparados.* KSCN 0.1 M. Pese aproximadamente 5.0 g de KSCN , disuélvalos en agua en una botella de 500 mL o de 1 L y agregue 500 mL de agua destilada. Agite bien para asegurar que la solución sea homogénea. Esta solución es aproximadamente 0.1 M y se estandarizará contra el estándar primario de AgNO_3 .

Antes del experimento

Prepare y estandarice (véase más adelante) la solución de KSCN 0.1 M. Para esto se requerirá secar y dejar enfriar el AgNO_3 .

Procedimiento

1. *Estandarización de la solución de KSCN .* Pida unos 3 g de estándar primario de AgNO_3 y colóquelos en un pesafiltros. Séquelos en la estufa a 110°C durante 1 a 2 h, *pero no más*. Enfríelos en un desecador durante 30 a 40 minutos. Se pesará por el método directo.

Coloque un platito de pesado limpio y seco sobre la balanza y determine su peso con una exactitud de 0.1 mg. Agregue 0.70 a 0.75 g de AgNO_3 al platito de pesado y determine el aumento de peso con una exactitud de 0.1 mg. Transfíralo cuantitativamente a un matraz Erlenmeyer limpio de 250 mL de boca ancha. Apártelo de la luz intensa hasta donde sea posible hasta que esté listo para titularlo. Pese otras dos porciones de 0.70 a 0.75 g de AgNO_3 y transfíralas en otros dos matraces Erlenmeyer de 250 mL separados y numerados.

Agregue 50 mL de agua destilada al matraz que esté listo para titular, con 50 mL de ácido nítrico 6 *M* libre de óxidos de nitrógeno inferiores y 2 mL de indicador de alumbre férrico (los óxidos inferiores del nitrógeno forman complejos con el Fe^{3+} de color rojo que interfieren con el punto final). Llene su bureta de 50 mL con la solución de KSCN, ajuste el volumen inicial con una exactitud de 0.01 mL y titule con agitación constante y vigorosa, hasta que aparezca un color marrón en la solución; ese color se ve con mayor facilidad si se deja asentar el precipitado después de cada adición al acercarse al punto final. Puede ser de ayuda comparar el color con el de una solución preparada agregando 5 mL de ácido nítrico 6 *M* y 2 mL de alumbre férrico a 75 mL de agua. El color debe ser permanente después de agitar con fuerza. Titule las otras dos muestras de AgNO_3 de la misma manera y calcule la molaridad de la solución de KSCN con cada titulación. Use el promedio de las tres determinaciones.

- 2. Determinación de plata en una aleación.**¹¹ Pida al profesor una muestra de aleación de plata.¹² Colóquela en un vaso de 250 mL, agregue 20 mL de HNO_3 diluido 1:1, cubra con un vidrio de reloj y caliente en el baño de vapor, en la campana, hasta que la aleación se haya disuelto por completo. Cuando se termine la solución quite el vidrio de reloj, lávelo con un chorro de agua de su frasco lavador (pizeta), recibiendo los lavados en el vaso, y continúe calentando con el vaso sin tapar hasta que hayan desaparecido todos los humos café y la solución sea incolora. Enfríe a temperatura ambiente y transfiera la solución cuantitativamente a un matraz volumétrico limpio de 250 mL con ayuda de un embudo y un agitador para verter la solución. Lave varias veces el vaso con agua destilada recibiendo los lavados en el matraz. Diluya hasta la marca y agite detenidamente para asegurar que la solución sea homogénea.

Transfiera con una pipeta dos muestras, cada una de 50 mL, a sendos matraces Erlenmeyer de 250 mL, agregue 2 mL de indicador de alumbre férrico y titule con la solución estándar de KSCN 0.1 *M* hasta que aparezca un color marrón que sea permanente aun después de una fuerte agitación. Las dos titulaciones deben ser iguales dentro de 0.05 mL. Si no lo son, pipetee y titule dos más. Cuando termine coloque todas las soluciones con plata en un contenedor destinado para este propósito.

Cálculos

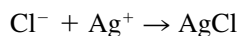
Haga los cálculos e informe la cantidad de gramos de plata en su muestra.

EXPERIMENTO 11 DETERMINACIÓN DE CLORURO EN UN CLORURO SOLUBLE: MÉTODO DE FAJANS

Principio

La muestra se titula con una solución estándar de AgNO_3 usando diclorofluoresceína como indicador de adsorción para el punto final.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos requeridos

- 1. Suministrados.** Solución de indicador de diclorofluoresceína al 0.1%; dextrina.
- 2. Preparados.** Estándar de AgNO_3 0.1 *M*. Pida al profesor unos 4.5 g de nitrato de plata grado estándar primario y colóquelos en un pesafiltros limpio y seco; séquelos en la estufa a 110°C durante 1 a 2 h, *pero no más*. Este material se usará para preparar

¹¹ El problema también puede ser nitrato de plata impuro, y en ese caso puede disolverlo en 50 mL de agua y proceder como en la normalización del KSCN anterior.

¹² Se le podrá indicar que pese 0.3 a 0.4 g de la aleación, para presentar el resultado de porcentaje de plata en la muestra.

una solución estándar por el método directo. Enfríe durante 30 a 40 min en un desecador.

Use un platito de pesado y pese con exactitud (de 0.1 mg) aproximadamente 4.3 g de AgNO_3 . Transfíralos a un vaso de 250 mL y disuélvalos en unos 100 mL de agua destilada. Vierta con cuidado esta solución a un matraz volumétrico de 250 mL, y lave varias veces el vaso con agua destilada recibiendo en el matraz los lavados. Diluya hasta la marca, agite bien y vierta la solución en una botella de vidrio ámbar y con tapón de vidrio de 500 mL. Agite de nuevo para asegurar que la solución sea homogénea. Protéjala de la luz intensa hasta donde sea posible y guárdela en la oscuridad. Calcule la molaridad de la solución.

Antes del experimento

1. Prepare la solución de AgNO_3 0.1 M.
2. Pida una muestra problema de cloruro y séquela en la estufa a 120°C durante 1 h o más. La puede dejar toda la noche secándose. Enfríela en un desecador, cuando menos 30 a 40 min antes de pesarla.

Procedimiento

Pese en platitos de pesado tres muestras, cada una de aproximadamente 0.25 a 0.30 g (varíe los pesos de las muestras, pero pese cada una con exactitud), transfiera a matraces Erlenmeyer de 250 mL y disuelva en unos 50 mL de agua destilada. Agregue 10 mL de suspensión de dextrina al 1% (agítela bien antes de usarla) y 10 gotas de solución indicadora de diclorofluoresceína. La dextrina evita que la coagulación del precipitado sea excesiva en el punto final. De esa manera se conserva una superficie mayor para la adsorción del indicador, lo cual aumenta la agudeza del punto final. En lugar de una suspensión de dextrina puede agregar 0.1 g del sólido.

El pH de la solución debe estar entre 4 y 10. Si es demasiado ácido (por ejemplo, por hidrólisis de otros cloruros en la muestra problema) se puede neutralizar adicionando CaCO_3 sólido hasta que permanezca un exceso en la suspensión. La suspensión no interfiere con el punto final. Los resultados son bajos a valores de pH mayores que 4, porque el indicador tiende a desplazar al cloruro del precipitado (se obtienen resultados más exactos estandarizando la solución de AgNO_3 contra NaCl seco grado reactivo usando las mismas condiciones que para titular el problema).

Titule con AgNO_3 0.1 M. Mezcle por completo con agitación vigorosa del matraz durante la titulación; es esencial para obtener un buen punto final. No deje que la luz solar directa caiga sobre el matraz; si trabaja junto a una ventana en un día muy soleado, se recomienda bajar la persiana. El punto final está indicado por un cambio de amarillo pálido a un color rosa marcadamente distinto. Si se pasa con la titulación, agregue unos cuantos granos de NaCl o KCl y practique la determinación del punto final algunas veces, antes de titular las muestras segunda y tercera. Cuando termine, pase todas las soluciones al contenedor designado para tal fin.

Cálculos

Calcule e informe el porcentaje de Cl en su problema para cada porción titulada.

Mediciones potenciométricas

EXPERIMENTO 12 DETERMINACIÓN DEL pH DE CHAMPÚ PARA PELO

Principio

Para medir el pH de un champú, acondicionadores y enjuagues, y depiladores comerciales, tanto concentrados como diluidos 1:10, se usa un par de electrodos calibrados de pH de

vidrio y calomel. Se puede hacer un estimado acerca de si el pH está controlado principalmente por una solución amortiguadora o por un electrólito fuerte. Se evalúa la importancia relativa de cuál puede ser el mejor pH en un champú y por qué: ¿afecta el pH el poder limpiador del champú o afecta al cabello mismo?

Ecuaciones

Respuesta del electrodo

$$E = k - \frac{2.303RT}{F} \text{ pH}$$

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministrados.* Soluciones amortiguadoras estándar de pH 3, 5, 7, 9 y 11 (valores aproximados; se pueden usar otros valores cercanos a éstos). Cada estudiante debe traer una o más muestras comerciales de champú, acondicionador, enjuague y depilador. Pueden ser champús contra la caspa y removedores de cabello, como Neet o Nair. Todas las muestras se compartirán en la clase. Debe haber suficiente de cada una para que cada estudiante tenga 15 a 20 mL.

Procedimiento

1. *Calibración de los electrodos.* El experimento se llevará a cabo calibrando primero los electrodos a pH 7 y haciendo mediciones aproximadas de pH de las diversas muestras. A continuación se separan las muestras en cinco grupos: las que tienen $\text{pH} < 4$, las de pH 4 a 5.9, de pH 6 a 8, de pH 8.1 a 10 y $\text{pH} > 10$. El electrodo de vidrio ha debido estar sumergido en una solución diluida de KCl 0.1 M, al menos un día antes de usarlo; guarde el electrodo en solución diluida de KCl cuando no lo use. Calibre el medidor de pH para un grupo de muestras cada vez (pH 3 para el primer grupo, pH 11 para el último grupo) usando los procedimientos que señale su profesor (él puede indicar que se usen sólo tres soluciones amortiguadoras para la calibración, por ejemplo, pH 4, 7 y 9). En esencia, la calibración consistirá en ajustar el medidor para que indique el pH del amortiguador estándar a temperatura ambiente con los electrodos sumergidos en la solución amortiguadora. Después de la calibración, lave los electrodos con agua destilada y enjúguelos con papel secante; no los frote, porque puede impartir una carga estática a la membrana de vidrio. Tenga cuidado de poner en reposo (*stand by*) el potenciómetro cuando remueva los electrodos de la solución. Si sólo se usa una cantidad pequeña de amortiguador sería mejor desecharlo para que no haya posibilidad de contaminar todo lo existente.
2. *Mediciones del pH de las muestras.* Prepare una dilución de cada muestra, 1:10, en un vaso de 100 mL, pipeteando 5.00 mL en 45.0 mL de agua destilada medida con una bureta de 50 mL. Mida el pH de la primera muestra diluida y después el de la muestra concentrada. Para esta última, si se usa un vaso pequeño (por ejemplo, de 25 mL), se podrá hacer la medición con una muestra de 5 mL, lo suficiente para cubrir el bulbo del electrodo de vidrio. También se puede usar un electrodo combinado de pH-electrodo de referencia, en cuyo caso la muestra se puede poner en un tubo de ensayo y sumergir en ella el sensor único (un electrodo combinado consiste en un electrodo de referencia y un electrodo de vidrio en la misma sonda. Arriba del bulbo de vidrio para pH se encuentra la “mecha” del puente salino para el electrodo de referencia, por lo que la sonda deberá sumergirse lo suficiente como para hacer contacto con ambos electrodos. Habrá dos terminales de alambre que salgan del sensor, una para cada electrodo).

Sumerja el electrodo en la solución por medir y agítela por algunos segundos. A continuación permita que se equilibre la lectura de pH y anote con una exactitud de

0.01 unidades de pH. Lave bien el electrodo entre las mediciones y remueva el agua. Lo mejor es hacer las mediciones de pH bajo a alto, o al revés. Si la lectura de pH de alguna de las muestras sale del intervalo de 4 a 10, debe volver a calibrar los electrodos con una solución amortiguadora más cercana al pH de la muestra (si mide depiladores, su pH será mayor que 10 y debe usar una solución amortiguadora con pH 11).

Informe

Ordene las muestras en champúes o acondicionadores y enjuagues (los depiladores aparte). Ordene las muestras en cada grupo por pH creciente. Su profesor podrá comparar sus pH anotados con el promedio de la clase. A partir de los cambios en las lecturas al diluir, indique si cree que el pH de cada solución fue determinado por un sistema amortiguador o por un ácido o base fuerte. Consulte la referencia J. J. Griffin, R. F. Corcoran y K. K. Akana, *J. Chem. Ed.*, **54** (1977) 553, e incluya en su informe una descripción de la importancia del pH en la limpieza o acondicionamiento del cabello, y de los daños al cabello. ¿Cómo funcionan los depiladores? ¿Dentro de qué límites de pH deberían estar los champúes para bebé?

EXPERIMENTO 13 DETERMINACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE FLUORURO EN AGUA POTABLE USANDO UN ELECTRODO SELECTIVO DE IONES FLUORURO¹³

Principio

El fluoruro en una muestra de agua se determina midiendo con un electrodo combinado selectivo de iones fluoruro (el mismo contiene incorporado el electrodo de referencia). Primero se determina si la respuesta del electrodo va de acuerdo con la ecuación de Nernst dentro de un amplio intervalo de concentraciones. A continuación se determina el fluoruro en el problema, comparando las mediciones de potencial con estándares dentro de un intervalo más angosto, que comprenda al problema; se preparará una curva de calibración.

Ecuaciones

$$E = k - \frac{2.303RT}{F} \log a_{F^-}$$

$$= k' - \frac{2.303RT}{F} \log [F^-] \text{ (si se mantiene constante la fuerza iónica)}$$

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministrados.* Solución reguladora de ajuste de fuerza iónica total, la cual se prepara con 57 mL de ácido acético glacial, 58 g de cloruro de sodio y 4 g de CDTA (ácido ciclohexilenodinitrilotetraacético) en unos 500 mL de agua, ajustada a pH de 5.0 a 5.5 con NaOH 5 M, y diluida a un volumen total de 1 L. Una dilución 1:1 de *todas* las muestras con esta solución hace lo siguiente:
 - a) Produce un fondo de fuerza iónica total alta, amortiguando variaciones de fuerza iónica de una muestra a otra.
 - b) Amortigua las muestras a un pH de 5 a 6 (en los medios ácidos se forma HF y en los medios alcalinos el ion OH⁻ interfiere en la respuesta del electrodo).
 - c) El ácido ciclohexilenodinitrilotetraacético se compleja preferentemente con los cationes polivalentes presentes en el agua (como Si⁴⁺, Al³⁺, Fe³⁺), que de otra manera se complejarían con el F⁻ y cambiarían su concentración.

¹³ También se puede usar este experimento para determinar el % de NaF o de SnF₂ en un dentífrico preparando una suspensión de este último en agua y pipeteando el líquido sobrenadante, o para determinar el contenido de fluoruro en tabletas o gotas de fluoruro para niños. Véase T. Light y C. Cappucino, *J. Chem. Ed.*, **52** (1975) 247.

2. Preparados.

- a) **Solución stock* estándar de fluoruro 0.1 M.** Seque aproximadamente 1 g de NaF durante 1 h, enfríelo en un desecador durante 30 min. Pese entre 0.45 y 0.50 g del NaF seco (con una exactitud de 1 mg), colóquelo en un matraz volumétrico de 100 mL, disuélvalo y diluya a la marca con agua destilada desionizada. Agite vigorosamente y pase a una botella de polietileno (lavada primero con pequeñas porciones). El fluoruro tiende a adsorberse en el vidrio y debe guardarse en recipientes de plástico. **Precaución:** el fluoruro es venenoso. Manéjelo con cuidado. Se pueden usar las soluciones comerciales preparadas de fluoruro.
- b) **Estándares de linealidad.** Mediante diluciones consecutivas de la solución stock con agua destilada desionizada, prepare una serie de soluciones alrededor de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} M de fluoruro (calcule las concentraciones exactas). (¡No pipetee con la boca!) Diluya, por ejemplo, la solución stock 10:100, 1:100 y 1:1 000 mL para preparar las tres primeras soluciones. Después, diluya la solución 10^{-4} M 10:100 y 1:100 mL para preparar las dos últimas. Transfiera las soluciones a botellas de polietileno. Esas soluciones se deben preparar el mismo día que se vayan a usar.
- c) **Estándares de calibración.** La concentración del problema deberá estar entre 1×10^{-3} y 1×10^{-2} M de fluoruro, y se preparará una curva de calibración usando concentraciones de fluoruro que contengan a la del problema. Usando el procedimiento anterior prepare estándares adicionales de fluoruro de 2×10^{-3} y 4×10^{-3} M de fluoruro (calcule las concentraciones exactas). Prepárelas el mismo día que las vaya a usar.

Antes del experimento

Prepare la solución stock de NaF. Va a ser necesario secar el NaF.

Procedimiento

1. **Determinación del intervalo de respuesta y el intervalo de linealidad.** Conecte las terminales de electrodo a un medidor de pH de escala expandida. Con una pipeta agregue 10 mL de la solución estándar 10^{-6} M y 10 mL de la solución reguladora de ajuste de fuerza iónica total al pequeño vaso que le proporcionen. Coloque el electrodo en el vaso. Agite la solución con una barra magnética pequeña y un agitador magnético durante la medición. Puede anotar las lecturas en unidades de pH. (1 pH = 59.2 mV a 25°C; tome arbitrariamente el pH 0 como 0 mV.) El medidor también debería leer en milivoltios. Cuando se obtenga una lectura estable anote el valor. Lave y limpie el electrodo y repita lo anterior, pasando de soluciones diluidas a concentradas. Prepare una hoja de cálculo con los datos y grafique mV en función de log C. Indique la pendiente en mV/decena, la ordenada al origen y el valor de r^2 . También informe el intervalo de linealidad.
2. **Estandarización del problema.** Anote las lecturas de la solución estándar, desde 1×10^{-3} M hasta 1×10^{-2} M y trace una curva de calibración para este intervalo. Ingrese la fórmula en una celda para calcular una concentración desconocida a partir de los milivoltios leídos, así como la pendiente y la ordenada al origen de la curva de calibración.
3. **Análisis del problema.** Después de preparar la curva de calibración pida una muestra problema con fluoruro. Puede ser una solución sintética, en cuyo caso podrá pedir el problema en un matraz aforado de 250 mL. De inmediato diluya hasta la marca

* N. del R.T. Las soluciones *stock* son soluciones con un grado de concentración apreciable a partir de las cuales, por dilución, se preparan otras, y en general se pueden almacenar para usarlas posteriormente, de allí el nombre. Otro término que a veces se utiliza para describirlas es *solución patrón*. El término *stock* ya aparece dentro del Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española.

con agua destilada desionizada y pásela a una botella de polietileno. Con una pipeta, agregue 10 mL del problema a un vaso pequeño de plástico, y después 10 mL de solución reguladora de fuerza iónica. Anote la lectura de mV, como se hizo anteriormente. Haga al menos tres corridas separadas (adiciones y lecturas de potencial por separado). **Nota:** el problema debe medirse al mismo tiempo en que se prepara la curva de calibración. No debe ajustarse la escala de mV entre la calibración y las mediciones de la muestra. Si esto acontece, tome una nueva lectura de uno de los estándares y vuelva a ajustar a la lectura original.

Cálculos

Con la curva de calibración de la hoja de cálculo determine la concentración de fluoruro en la solución problema. Presente los resultados en partes por millón de fluoruro junto con la desviación estándar para las tres muestras medidas.

Titulaciones de reducción-oxidación

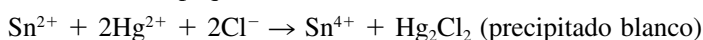
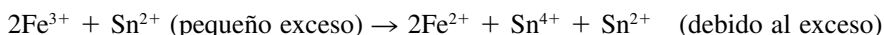
EXPERIMENTO 14 ANÁLISIS DE UNA ALEACIÓN O MINERAL DE HIERRO TITULANDO CON DICROMATO DE POTASIO

Principio

Se disuelve una aleación o mineral de hierro en HCl y a continuación el hierro se reduce de Fe(III) a Fe(II) con cloruro estannoso (SnCl_2). El exceso de SnCl_2 se oxida agregando HgCl_2 . El calomel formado (Hg_2Cl_2 insoluble) no reacciona a una velocidad apreciable con el titulante. A continuación se titula el Fe(II) con una solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ hasta el punto final de sulfonato de difenilamina.

Ecuaciones

Reducción:

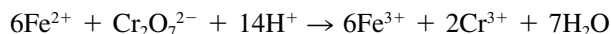


Si se agrega demasiado Sn^{2+} , entonces



(El precipitado negro de Hg^0 imposibilita la determinación del punto final. Debe desecharse la muestra, porque el Hg^0 reacciona con el $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.)

Titulación:



Soluciones y reactivos necesarios

- 1. Suministrados.** Indicador de la sal sódica de sulfonato de *p*-difenilamina, SnCl_2 0.5 M en HCl 3.5 M (agregando una granalla de estaño para estabilizar contra la oxidación por el aire: $\text{Sn}^{4+} + \text{Sn}^0 \rightarrow 2\text{Sn}^{2+}$); solución saturada de HgCl_2 ; HCl conc.; HCl 6 M; mezcla de H_3PO_4 y H_2SO_4 concentrados (15 mL de cada uno adicionados a 600 mL de agua enfriada a temperatura ambiente), FeCl_3 0.1 M en HCl 6 M.
- 2. Preparados.**¹⁴ Solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1/60 M (aproximadamente 0.017 M). Seque unos 3 g de estándar primario de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en un pesafiltros, a 120°C durante

¹⁴ Si también va a usar esta solución para los experimentos 15 y 25, prepare 500 mL, pesando con exactitud unos 2.5 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, disolviéndolos en 200 mL de agua y transfiriéndolos a un matraz aforado de 500 mL. Debe conservar al menos 150 mL para el experimento 15 y 100 mL para el experimento 25. Los 250 mL que prepara para este experimento serán suficientes si cuida de no desperdiciar nada.

al menos 2 h. No importa que seque en la estufa durante más tiempo (por ejemplo, hasta la siguiente sesión de laboratorio). Coloque el $K_2Cr_2O_7$ en el desecador y enfríe 30 a 40 min. Pese, con una exactitud de 1 mg, aproximadamente 1.3 g en un platito de pesado y transfíralo cuantitativamente a un vaso de 200 mL. Disuélvalo en unos 200 mL de agua y transfiera esta solución cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 mL. Diluya hasta la marca y mezcle cuidadosamente. Lave una botella limpia de 1 L con tres pequeñas porciones de la solución y pase el resto de ésta a la botella para guardarla. Calcule la molaridad de la solución. También se puede preparar aproximadamente el $K_2Cr_2O_7$ y estandarizarlo contra alambre de hierro electrolítico (estándar primario) usando el mismo procedimiento que el que se describe más adelante para una muestra de aleación.

Antes del experimento

1. *Seque la cantidad necesaria de $K_2Cr_2O_7$.*
2. *Pida y seque o disuelva su problema, según se requiera.*
 - a) **Muestra de aleación.** Podrá tener la forma de un alambre. Su profesor le dará tres piezas separadas y pesadas del problema, cada una de las cuales se colocará en un matraz Erlenmeyer rotulado de 500 mL, que contenga 10 mL de HCl conc. Cúbralos con vasos de 100 mL invertidos y guarde esas muestras en disolución durante toda la noche o por más tiempo. También se pueden disolver las muestras el día del experimento calentándolas en una parrilla o en un baño de vapor, en matraces de 400 mL cubiertos con vidrios de reloj con costilla, bajo la campana, para acelerar la disolución. (Después de la disolución, lave el vidrio de reloj y las paredes del vaso colectando todos los lavados en el vaso. Use la menor cantidad posible de agua. El volumen final no debe ser mayor de 50 mL.)
 - b) **Muestra de mineral.** Pida al profesor una muestra de mineral de hierro. Séquela en la estufa a 110 a 120°C durante al menos 2 h; un secado más prolongado no la perjudicará.

Procedimiento

1. *Reducción del hierro y titulación de prueba.* Antes de titular su problema se aconseja hacer una o dos titulaciones de prueba. Se pueden llevar mientras se disuelven las muestras (de mineral). Agregue aproximadamente 10 mL de solución de $FeCl_3$ 0.1 M en HCl 6 M, en un vaso de 600 mL, y agregue unos 50 mL de agua (esto diluye lo suficiente la muestra para que cuando todo el Fe^{3+} se reduzca, la solución sea casi incolora. Si el volumen es menor, el color verde pálido del ion Fe^{2+} dificulta más la detección de la reducción completa). Coloque un vidrio de reloj con costilla sobre el vaso y caliente casi hasta ebullición en una parrilla dentro de la campana. Las soluciones deben llegar muy cerca del punto de ebullición permitiendo que burbujeen suavemente pero no que hiervan en forma violenta, debido a que se puede perder $FeCl_3$ por volatilización. Adicione la solución de cloruro estannoso 0.5 M con un gotero, por el labio del vaso, hasta que la solución comience a desteñirse. Primero se volverá amarilla pálida, y después, en forma gradual, más clara. Puede ser que no se vuelva totalmente incolora, sino que termine en un verde pálido debido al ion ferroso (lo cual dependerá de la concentración de hierro). Con la solución que haya obtenido (incolora o verde pálido), detenga la adición y permita que se caliente durante dos minutos más. Si regresa el color amarillo agregue unas pocas gotas más de $SnCl_2$ hasta que nuevamente se torne incolora o verde pálido. Repita la adición gota a gota del $SnCl_2$ hasta que la solución ya no regrese al color amarillo. En ese momento agregue dos gotas de exceso; no más. Si agregan más de dos gotas puede oxidarse al cloruro estannoso con algunas gotas de solución de permanganato de potasio, y se deberá repetir el proceso anterior de reducción. Saque el vaso de la parrilla, lave

el vidrio de reloj y las paredes recibiendo los lavados en el fondo del vaso, y enfríelo rápidamente sumergiendo su fondo en agua fría. Hasta este punto se podrán haber tomado dos a tres muestras juntas; *el resto del procedimiento se debe llevar a cabo sin interrupción para cada muestra hasta la titulación*. Si alguna muestra se vuelve amarilla de nuevo al esperar su turno, debe volver a calentarla y agregar el cloruro estannoso suficiente para que desaparezca el color, más dos gotas de exceso. Llene su bureta de 50 mL con el $K_2Cr_2O_7$ estándar y téngala lista para la titulación.

A una muestra que debe estar a temperatura ambiente agregue 100 mL de agua y después incorpore rápidamente 15 mL medidos previamente de solución saturada de cloruro mercúrico mientras agita y mezcla completamente. Se debe formar un ligero precipitado blanco. Si se forma un precipitado gris o negro pesado (mercurio elemental) o si no se forma precipitado, se habrá agregado demasiado o insuficiente cloruro estannoso (para reducir todo el Fe^{3+}); en cualquiera de estos casos debe desecharse la muestra. Mezcle durante 2 min y entonces agregue 100 mL de la mezcla de H_3PO_4 - H_2SO_4 , y seis a ocho gotas del indicador de sulfonato de difenilamina. Títule de inmediato con la solución de $K_2Cr_2O_7$, agitando constantemente, hasta que el color verde cambie a púrpura o azul violáceo que permanezca al menos durante 1 min (la mezcla de ácidos suministra los protones que consume la titulación y forma un complejo de fosfato, casi incoloro, con el producto de la titulación de Fe^{3+} , con lo cual se puede ver más nítido el punto final).

2. *Muestra de aleación.* Para este momento, la muestra ya debe estar disuelta en los matraces Erlenmeyer (o en los vasos de 600 mL calentados). Ajuste el volumen a 40 a 60 mL con agua destilada. Caliente casi hasta ebullición y siga el mismo procedimiento que se usó en la titulación de prueba, comenzando con la adición de cloruro estannoso. Las tres muestras se pueden preparar hasta el paso anterior a la adición de cloruro de mercurio, y en adelante deben procesarse una por una hasta la titulación.
3. *Muestra de mineral.* Después de enfriar la muestra seque en un desecador durante 30 a 40 min, pese tres muestras por diferencia (puede ser que el mineral sea higroscópico); pregunte al profesor cuál debe ser el peso de las muestras. Páselas a vasos de 600 mL. Agregue 10 mL de agua y agite hasta que las muestras estén totalmente mojadas y en suspensión; entonces cúbralas con vidrios de reloj estriados y añada a cada una 10 mL de HCl concentrado, vertiéndolo a través del labio del vaso. Caliente en una parrilla, bajo la campana, hasta que se haya disuelto el mineral de hierro y quede una solución transparente, color marrón; en algunas muestras puede quedar un residuo arenoso insoluble, que se puede desechar [puede ser que queden sílice o sulfuros insolubles (negros o silicatos)]. La parrilla debe ajustarse para mantener las soluciones apenas en su punto de ebullición; debe evitarse la ebullición vigorosa porque puede causar pérdidas de material y evaporación excesiva del ácido. Si es necesario, agregue HCl 6 M para mantener el volumen en unos 20 mL. Cuando se haya disuelto todo el hierro, el residuo insoluble (si lo hay) será gris o blanco, sin partículas negras o rojizas, después de agregar cloruro estannoso para reducir el hierro. Cuando la solución sea transparente, agregue agua destilada para llevar el volumen más o menos a 50 mL, y siga el mismo procedimiento que para la titulación de prueba, a partir de la adición de cloruro estannoso a la solución caliente. Las tres muestras se pueden procesar juntas hasta este punto, antes de agregar el cloruro mercúrico, y en adelante se deben procesar una por una hasta la titulación.

Cálculos

1. *Muestra de aleación.* Calcule e informe de los miligramos de hierro en cada porción analizada del problema junto con el promedio y la precisión.
2. *Muestra de mineral.* Calcule e informe el porcentaje de hierro en cada porción de problema analizada, junto con el promedio y la precisión.

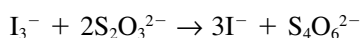
EXPERIMENTO 15 ANÁLISIS DE UNA SOLUCIÓN COMERCIAL DE HIPOCLORITO O DE PERÓXIDO POR TITULACIÓN YODOMÉTRICA

Principio

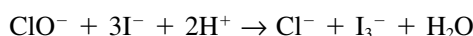
El poder oxidante (porcentaje de NaOCl o de H₂O₂) del problema se determina yodométricamente haciéndolo reaccionar con un exceso de yoduro en solución de ácido acético, y titulando el yodo producido (I₃⁻ en presencia de yoduro en exceso) con solución valorada de tiosulfato de sodio. El tiosulfato de sodio se estandariza contra un estándar primario de yodato de potasio y se usa indicador de almidón.

Ecuaciones

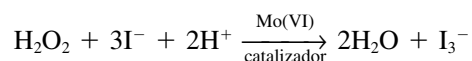
Estandarización del Na₂S₂O₃:



Titulación de la muestra:



o bien



El I₃⁻ se titula con S₂O₃²⁻, como antes.

Solución y reactivos requeridos

1. *Suministrados.* HCl 6 M, KI, KIO₃, estándar primario, ácido acético glacial, solución de molibdato de amonio al 3% (para muestras de peróxido), Na₂CO₃; H₂SO₄ dil. 1:4.

2. *Preparados.*

a) Solución de almidón. Prepare una solución al 1% mezclando 0.5 g de almidón soluble con 2 o 3 mL de agua destilada y agregue una punta de espátula de HgI₂. Vierta esta mezcla en 50 mL de agua destilada a ebullición, agitando, y continúe el calentamiento durante 2 a 3 min hasta que la solución sea transparente o débilmente opalina. Enfríe a temperatura ambiente. El HgI₂ estabiliza al almidón en forma indefinida; si no se agrega, el almidón se debe preparar el día que se va a usar. **Nota:** En vez de la solución preparada de almidón, puede usar el indicador comercial tiodeno.

b) Solución estándar de KIO₃ 0.01 M. Se usará para estandarizar la solución de Na₂S₂O₃ (si preparó una solución estándar de K₂Cr₂O₇ 1/60 M en el experimento 14, podrá titular alícuotas de 50 mL de ella en forma yodométrica para estandarizar el Na₂S₂O₃. En ese caso pida instrucciones a su profesor). Se prepara una solución estándar de KIO₃ y las alícuotas de ésta se titulan con la solución de Na₂S₂O₃. Este procedimiento se usa en lugar de titular porciones de KIO₃ pesadas individualmente. La razón es que el KIO₃ tiene un peso equivalente bajo y sólo se pueden titular porciones de aproximadamente 0.1 g. Por lo anterior, es más exacto preparar una solución estándar. Esto requiere tener especial cuidado en la preparación exacta de la solución, ya que sólo se prepara una.

Seque aproximadamente 1.5 g de estándar primario de KIO₃ a 120°C durante 1 a 2 h, y enfríe en el desecador durante 30 a 40 min. Pese con exactitud (cerca de 0.1 mg) de 1.0 a 1.4 g y disuelva en una pequeña cantidad de agua destilada en un vaso de 200 mL. Pase cuantitativamente la solución con

lavados a un matraz volumétrico de 500 mL, usando un embudo de vidrio y agitador de vidrio para dirigir la solución hacia el matraz. Diluya hasta la marca. Calcule la molaridad de dicha solución.

- c) Solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 M.** Hierva unos 1 200 mL de agua destilada durante 5 a 10 min, para asegurar esterilidad y expulsar el dióxido de carbono disuelto. Enfríe a temperatura ambiente (las soluciones de tiosulfato de sodio son propensas a ataques bacterianos que pueden modificar la molaridad después de cierto tiempo. Por lo anterior, toda el agua y los utensilios de vidrio que use para preparar y guardar la solución deben estar esterilizados. Si aparece cualquier turbiedad o colonias de bacterias o mohos, debe desechar la solución. También ayuda la eliminación del dióxido de carbono, porque el tiosulfato es más estable en solución neutra). Esterilice una botella de 0.5 L con agua destilada caliente; caliente casi hasta ebullición y entonces lávela con el agua destilada hervida fría. Pese, en un vidrio de reloj y con balanza granataria, 12.5 g de cristales de tiosulfato de sodio, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Páselos a la botella esterilizada, agregue 500 mL del agua destilada recién hervida y enfriada, agregue 0.05 g de carbonato de sodio y agite completamente hasta que la solución sea homogénea (se agrega una pequeña cantidad de carbonato de sodio para mantener neutra o ligeramente alcalina la solución, con objeto de estabilizarla contra su descomposición a azufre elemental). Guárdela en el refrigerador, de ser posible, pero deje que se caliente hasta la temperatura ambiente antes de usarla.

Antes del experimento

1. *Seque la cantidad necesaria de estándar primario de KIO_3 .*
2. *Prepare la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 M.* Aunque se puede preparar el día del experimento, es preferible prepararla cuando menos un día antes de estandarizarla. La solución tiende a perder algo de su título inmediatamente después de prepararla.

Procedimiento

1. *Estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.* La solución se debe estandarizar el día del experimento. Pregunte a su profesor si puede usar la solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ del experimento 14 para la estandarización. En caso contrario, proceda como sigue.

Lave varias veces la bureta de 50 mL con pequeñas porciones de la solución de tiosulfato y llénela con esa solución. Ajuste a la marca del cero y anote la lectura del volumen con una exactitud de 0.02 mL. Con una pipeta agregue una alícuota de 50.00 mL de la solución de yodato de potasio en un matraz Erlenmeyer limpio de boca ancha de 250 mL. Agregue unos 2 g de yoduro de potasio sólido y agite para disolverlo. Agregue, mezclando rápidamente, 5 mL de H_2SO_4 diluido. Mezcle por completo.

Titule *de inmediato* con la solución de tiosulfato (en solución fuertemente ácida, el exceso de yoduro se oxida muy rápido en el aire y forma I_3^- , por lo que la titulación debe hacerse pronto). Es esencial mezclar muy bien y continuamente durante la titulación; no debe dejarse acumular al tiosulfato en excesos locales dentro de la solución ácida, porque podría haber algo de descomposición en H_2SO_3 y S. Titule hasta que *casi* desaparezca el color amarillo (debido al I_3^-). Éste se convertirá en amarillo pálido. Después, agregue de 2 a 3 mL de la solución de almidón y titule hasta que justo desaparezca el color azul (si se hace en forma correcta, eso debe suceder antes de que se adicionen 0.5 mL después de haber agregado la solución de almidón).

Debe repetirse la estandarización hasta estar seguro de que el volumen de la titulación se encuentre dentro de una parte en mil (es decir, ± 0.03 mL en un volumen de titulación de 30 mL). Calcule la molaridad de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

2. Determinación del hipoclorito o H_2O_2 en el problema¹⁵

- a) Pesado y dilución del problema.** Calibre aproximadamente un pesafiltros vertiendo en él unos 12 mL de agua y observe el nivel que ocupa. Vacíelo y seque totalmente el pesafiltros, y péselo con una exactitud de 1 mg. Las soluciones de peróxido o de hipoclorito que se le suministrarán estarán en botellas comerciales con tubos de sifón. Limpie toda costra sólida en la punta y deseche algunas gotas para lavarla. Extraiga aproximadamente 12 mL y colóquelos en el pesafiltros calibrado y tarado; es esencial que la parte superior del pesafiltros, en especial la de vidrio esmerilado, permanezca seca. Coloque el tapón y pese con una exactitud de 1 mg. Vacíe el pesafiltros en un matraz aforado de 250 mL que contenga unos 100 mL de agua usando un embudo. Lave el pesafiltros y el embudo con la pizeta captando las aguas de lavado en el matraz aforado. Diluya hasta el aforo y mezcle totalmente. Pase, con una pipeta, tres alícuotas de 50 mL cada una a matraces Erlenmeyer de 250 mL que contengan unos 50 mL de agua. Lave las paredes de los matraces para formar una capa de agua sobre la muestra. En adelante, procese cada muestra individualmente hasta terminar con el procedimiento.
- b) Titulación.** Llene su bureta con solución estándar de tiosulfato de sodio 0.1 M. Mida y tenga listos 10 mL de ácido acético glacial, 2 g de yoduro de potasio y, si la muestra es de peróxido, un frasco gotero con solución de catalizador de molibdato de amonio al 3%. El hipoclorito no requiere catalizador. Cuando esté listo para titular, añada el ácido acético glacial, el yoduro de potasio, y si la muestra es de peróxido, agregue tres gotas de la solución de catalizador. Titule de inmediato, agitando constantemente el matraz. Cuando el color se haya desvanecido hasta un amarillo pálido, agregue unos 2 mL de solución de almidón y continúe la titulación, gota a gota justo hasta que la solución se vuelva incolora. Lleve a cabo lo mismo con las otras muestras de la misma manera.

Cálculos

Calcule el porcentaje de NaClO o de H_2O_2 en peso en la solución y la desviación estándar relativa. (Nota: Los blanqueadores comerciales deben contener al menos 5.25% de NaClO. Si contienen menos, no se les puede llamar “blanqueadores”).

EXPERIMENTO 16 DETERMINACIÓN YODOMÉTRICA DE COBRE

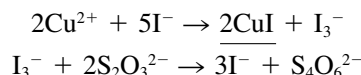
Principio

Una muestra de cobre metálico se disuelve en ácido nítrico y produce Cu(II), y los óxidos de nitrógeno se eliminan agregando H_2SO_4 hirviendo hasta que se produzcan humos de SO_3 . La solución se neutraliza con NH_3 y a continuación se acidula ligeramente con H_3PO_4 [el H_3PO_4 también acompleja todo el hierro (III) que pudiera estar presente, y evita su reacción con I^-]. Por último, la solución se trata con un exceso de KI para producir CuI y una cantidad equivalente de I_3^- , que se titula con una solución estándar de $Na_2S_2O_3$ usando un indicador de almidón. Se agrega KSCN cerca del punto final para desplazar el I_2 absorbido sobre el CuI, al formar una capa de CuSCN. Para tener la mejor exactitud, el

¹⁵ Todos los estudiantes deben terminar el experimento en una sola sesión de laboratorio, incluyendo los cálculos y el informe de los resultados. Las soluciones de peróxido y de hipoclorito son propensas a descomponerse, dando como resultado un cambio en la concentración. El profesor puede tomar el promedio de los resultados en la clase como el valor correcto, o bien él mismo debe hacer un análisis para efectuar comparaciones.

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ se estandariza contra alambre de cobre de gran pureza, porque se produce cierto error en la reducción del cobre(II) por tiocianato.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* HNO_3 6 M, H_2SO_4 conc., H_2SO_4 3 M, H_3PO_4 conc., NH_3 6 M, KSCN.
2. *Preparados.*
 - a) **Solución de almidón.** Prepárela el día del experimento como se describió en el experimento 15, o use indicador de tiodeno.
 - b) **Solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 M.** Prepárela como se describió en el experimento 15.

Antes del experimento

Prepare la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 M. Aunque la puede preparar el día del experimento, es preferible hacerlo al menos un día antes de estandarizarla. La solución tiende a perder algo de su título inmediatamente después de prepararla.

Procedimiento

1. *Estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 M.* Se efectúa el mismo procedimiento que el que se usará para analizar la muestra. Pese tres muestras de 0.20 a 0.25 g de lámina de cobre electrolítico puro y colóquelas en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Dentro de una campana de extracción disuélvalas en 10 mL de HNO_3 6 M, calentando en baño de vapor si es necesario. Agregue 10 mL de H_2SO_4 conc., y evapore hasta que se desprendan humos copiosos de SO_3 . Enfríe y con cuidado agregue 20 mL de agua. Hierva la mezcla 1 a 2 min y enfríela. Agregue, gota a gota, NH_3 6 M, agitando la solución de la muestra hasta que aparezca la primera tonalidad azul oscuro del complejo $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$. Entonces agregue H_2SO_4 3 M hasta que desaparezca justo el color azul, y después 2.0 mL de H_3PO_4 conc. Enfríe a temperatura ambiente.
A partir de este momento, cada muestra debe procesarse por separado. Disuelva unos 2 g de KI en 10 mL de agua y adiciónelos a uno de los matraces. Titule inmediatamente con la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ hasta que *casi* desaparezca el color amarillo del I_3^- . Agregue 2 a 3 mL de la solución de almidón, o unos 0.4 g de indicador de tiodeno, y titule hasta que comience a desvanecerse el color azul (el volumen adicionado debe ser menor que 0.5 mL). Por último, agregue unos 2 g de KSCN y continúe la titulación hasta que desaparezca justo el color azul.
2. *Determinación de cobre en el problema.* Repita lo anterior con las otras dos muestras. Calcule la molaridad del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
Agregue 10 mL de HNO_3 6 M a cada uno de tres matraces Erlenmeyer de 250 mL limpios y llévelos al profesor, quien colocará un problema en cada uno (este problema puede ser lámina de cobre, como la que se usó en la estandarización). Disuelva cada muestra y titule como se describió para la estandarización del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. **Nota:** en lugar del H_3PO_4 puede agregar unos 2 g de difluoruro de amonio, NH_4HF_2 o $\text{NH}_4\text{F} \cdot \text{HF}$, para complejar el hierro que haya, y al mismo tiempo ajustar la solución a la acidez correcta. Este experimento también se presta para determinar cobre en aproximadamente 0.3 g de latón.

Cálculos

Calcule los gramos de cobre en cada problema e informe los valores de cada uno y su desviación estándar relativa (si se analiza una muestra pesada de latón, indique el porcentaje de cobre).

EXPERIMENTO 17 DETERMINACIÓN DE ANTIMONIO POR TITULACIÓN CON YODO

Principio

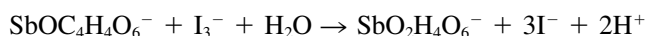
El antimonio(III) se titula a antimonio (V) en solución neutra o ligeramente alcalina con yodo hasta el punto final azul de almidón. El yodo se estandariza contra un estándar primario de óxido de arsénico(III). Para complejar el antimonio y evitar su hidrólisis que formarían sales básicas insolubles como SbOCl y SbO_2Cl (que se forman en solución ligeramente ácida y neutra), se adiciona ácido tartárico.

Ecuaciones

Estandarización:



Titulación de la muestra:



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Estándar primario de As_2O_3 , NaOH 1 M, Na_2CO_3 , KI, ácido tartárico, HCl 1 M. Para el mineral de estibinita: KCl 0.1% (peso/vol), indicador de rojo de metilo en etanol al 60%, HCl conc., HCl 6 M, NaOH 6 M.

2. *Preparados.*

a) **Solución de almidón.** Prepárela como se describió en el experimento 15, o use indicador de tiodeno.

b) **Solución de yodo 0.05 M.** Pese 6.5 g de cristales de yodo y 20 g de yoduro de potasio. Muela el yodo en un mortero con porciones repetidas de los cristales pesados de KI y agua, transfiriendo continuamente la solución a una botella con tapón esmerilado hasta que se hayan disuelto por completo los sólidos [el I_2 es poco soluble en agua, pero forma KI_3 soluble (complejo de I_3^-) en presencia de un exceso de KI].

Evite verter yodo sin disolver a la botella. Diluya la solución hasta unos 500 mL y mezcle completamente. Vea que no haya yodo sin disolver. De preferencia, deje reposar durante la noche antes de estandarizarla para asegurar la disolución completa del yodo; o bien, antes de diluir la solución agregue más KI hasta que se disuelva todo el yodo.

Antes del experimento

1. *Pida su problema.* Reciba la muestra en un pesafiltros y séquela a 110 a 120°C durante 1 o 2 h, cuando menos. Enfríela durante 30 o 40 min cuando menos antes de pesarla.
2. *Seque el As_2O_3 .* Pida y seque, a 110 a 120°C durante 1 a 2 h, alrededor de 1 g de estándar primario de As_2O_3 . Enfríe en un desecador cuando menos por 30 a 40 min antes de pesarlo.
3. *Prepare la solución de I_2 0.05 M.* Si su problema es mineral estibinita, que necesitará algún tiempo para disolverse (lo contrario de una muestra sintética soluble en agua), es preferible también estandarizar la solución de yodo antes del día del experimento a fin de tener tiempo suficiente para completar el experimento (con el procedimiento que se describe adelante).

Procedimiento

1. *Estandarización de la solución de yodo.* Pese directa y exactamente tres porciones de 0.15 a 0.20 g del estándar primario de As_2O_3 seco. Páselas a sendos matraces Er-

lenmeyer de 250 mL y disuélvalas en 10 a 20 mL de NaOH 0.1 M, calentando si es necesario para ayudar a la disolución. No deben quedar partículas sin disolver. Enfríe y añada HCl 1 M hasta que la solución sea apenas ácida al papel tornasol. Agregue de 3 a 4 g de NaHCO_3 sólido. Ya no debe desprenderse CO_2 al agregar la última porción de NaHCO_3 . Si no es así, agregue más NaHCO_3 . El pH de la solución debe ser de 7 a 8. Lave las paredes del matraz y agregue 50 mL de agua y 3 mL de solución de almidón, o aproximadamente 0.4 g de indicador de tiodeno. Titule con la solución de yodo hasta la aparición del primer matiz azul que persista al menos durante 30 s. Con las tres titulaciones calcule la molaridad de la solución de I_2 . Use el promedio de los resultados.

2. Determinación de antimonio en el problema

a) Muestra sintética soluble en agua. Pregunte al profesor cuál será el peso adecuado de la muestra para que contenga unos 2 mmol de antimonio. Pese tres porciones del problema seco y disuélvalas en 50 mL de agua, en matraces Erlenmeyer de 500 mL. Disuelva 4 g de NaHCO_3 y 2 g de ácido tartárico en 100 mL de agua y agregue esta solución a la del problema. La solución debe ser transparente en este punto, sin cloruro de antimonio hidrolizado. Agregue 3 mL de solución de almidón y titule a un color azul que persista durante 30 s cuando menos.

b) Estibinita mineral insoluble. Pregunte a su profesor cuál será el peso adecuado de la muestra para que contenga unos 2 mmol de antimonio. En vasos secos de 250 mL pese exactamente muestras por triplicado del mineral seco. Agregue unos 3 g de cloruro de potasio finamente pulverizado, cubra el vaso casi por completo con vidrio de reloj, y agregue con cuidado 10 mL de ácido clorhídrico concentrado vertiéndolo por la pared del vaso (se necesita tener una alta concentración de cloruro para evitar la hidrólisis durante la disolución antes de que se agregue ácido tartárico. Se forma SbCl_3). Caliente (no hierva) en la campana hasta que el mineral se descomponga; la mezcla ya no debe emitir un olor a sulfuro de hidrógeno, y todo el residuo (sílice) debe ser blanco, o sólo ligeramente gris. El mineral estibinita está formado por sulfuro de antimonio, Sb_2S_3 , sílice y pequeñas cantidades de otras sustancias. Cuando se haya disuelto todo el antimonio no debe desprenderse más sulfuro de hidrógeno. No deje que la solución se evapore a sequedad, porque se podría perder tricloruro de antimonio; agregue más HCl si es necesario. Cuando la descomposición sea completa, agregue 3 g de ácido tartárico finamente pulverizado y continúe el calentamiento durante 10 a 15 min. Agregue agua en porciones de unos 5 mL con buena agitación hasta que la solución quede diluida a unos 100 mL (la solución debe disolverse lentamente, porque se puede hidrolizar algo del antimonio si hay exceso local de agua). Si durante la dilución aparece un precipitado rojo naranja (Sb_2S_3), caliente suavemente hasta que se haya disuelto, antes de continuar con la dilución. Si se forma un precipitado blanco de sales básicas debe desecharse la determinación. Cuando la dilución sea completa, hierva la solución durante 1 min.

Lave el vidrio de reloj en la solución y neutralice cuidadosamente con hidróxido de sodio 6 M usando algunas gotas de indicador de rojo de metilo. Después agregue HCl 6 M gota a gota, hasta que la solución se vuelva apenas ácida; hágalo con cuidado para evitar que haya un exceso.

En vasos de 600 mL o en matraces Erlenmeyer de 500 mL prepare soluciones que contengan 4 g de bicarbonato de sodio en 200 mL de agua. Vierta las muestras en la solución de bicarbonato de sodio evitando pérdidas por efervescencia, y lave varias veces con un chorro de agua usando una pizeta para que la transferencia de la solución sea completa. Agregue 3 mL de indi-

cador de almidón o unos 0.4 g de indicador tiodeno y titule con la solución estandarizada de yodo hasta la aparición del primer color azul permanente. Si se desvanece el punto de vire, o si es indefinido, se debe a que hay insuficiente bicarbonato en la solución que consuma el ácido producido en la titulación. Añada 1 g más de NaHCO_3 y complete la titulación hasta obtener un color azul permanente.

Cálculos

Calcule y presente el porcentaje de Sb_2O_3 en cada porción analizada de su problema. También indique el promedio de los valores y la precisión.

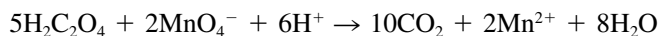
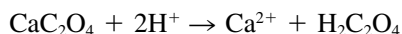
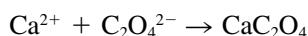
EXPERIMENTO 18 ANÁLISIS CUANTITATIVO, EN MICROESCALA, DE MUESTRAS DE AGUA DURA MEDIANTE TITULACIÓN INDIRECTA REDOX CON PERMANGANATO DE POTASIO¹⁶

Principio

El calcio que haya en una muestra de agua dura se precipita como oxalato de calcio en solución amoniacal, el precipitado se filtra y lava cuantitativamente, y se disuelve en ácido sulfúrico diluido. El ácido oxálico se titula con una solución estandarizada de permanganato de potasio.

Nota: Este experimento puede servir como ejemplo para las versiones de algunos otros en el texto. La comparación estadística de un experimento a microescala es similar a la de un experimento convencional a macroescala, con una bureta de 50 mL, y la precisión es comparable.¹⁶ Pero hay un ligero error negativo determinado en el experimento de microescala, cuyo promedio es unas 50 ppm para muestras con unas 500 ppm, tal vez debido a pérdidas físicas de algo del precipitado cuando se usa un embudo grande. Richardson sugiere usar un microembudo para minimizar este problema. Para encontrar información adicional acerca de titulaciones en microescala, vea M. M. Singh, C. B. McGown, Z. Szafran y R. M. Pike, *J. Chem. Educ.*, **77** (2000) 625.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* H_2SO_4 conc., HCl conc., HNO_3 conc., estándar primario de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (secado a 120°C durante 1 h), $\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ 0.35 M, AgNO_3 0.10 M, NH_3 dil. (1:10), rojo de metilo (0.02% en etanol al 60%: disuelva primero en la porción de etanol). Conserve los ácidos concentrados y el AgNO_3 en frascos gotero.
2. *KMnO_4 aprox. 0.2 M.* Un litro es suficiente para 30 estudiantes. Prepárelo como sigue (véase la sección 14.6). La preparación puede aumentarse proporcionalmente para más estudiantes. Calcule el peso de permanganato de potasio necesario para preparar 1 L de solución 0.02 M. Pese en un platito de pesado unos 0.05 g más que esta cantidad. Páselo a dos vasos de 600 mL, más o menos la mitad del permanganato en cada uno, y agregue 500 mL de agua destilada a cada uno; cubra con vidrios de reloj, caliente a ebullición y hierva *suavemente* durante 1 o 2 min y *no más*. (La

¹⁶ Cortesía del Prof. J. N. Richardson, Shippensburg University. Los detalles del análisis estadístico del experimento aparecen en *J. Chem. Educ.*, 2002.

ebullición prolongada, de 0.5 a 1 h, es preferible, pero evapora la solución y cambia su concentración. La solución se puede calentar durante más tiempo a una temperatura justo por debajo de su punto de ebullición.) Deje reposar durante al menos 24 h antes de proseguir con el siguiente paso. Manténgala cubierta con un vidrio de reloj siempre para impedir la entrada de polvo y vapores y para retardar la evaporación.

Monte un filtro de vidrio sinterizado en un matraz de filtración y filtre la solución de permanganato. No agite ni mueva la solución; se habrá asentado un sedimento en el fondo que podría tapar el filtro y hacer que la filtración sea muy lenta. Por esta razón deseche los últimos mililitros de la solución en el primer vaso. Use una trampa de filtro; si algo de agua se regresa de la bomba de succión, contaminará el permanganato. Vierta la solución filtrada en una botella de vidrio café, con tapón de vidrio, y agítela para homogeneizarla. La solución nunca debe entrar en contacto con algún material orgánico, incluyendo tapones de corcho o de hule.

3. *Solución problema de agua dura.* Se preparan, disolviendo, unos 20 g de CaCO_3 en el volumen mínimo de HCl 1 M. A esta solución se agregan unas gotas de indicador rojo de metilo y después se adiciona NaOH 1 M gota a gota, hasta que se note el punto final (de rojo a amarillo) del rojo de metilo. La solución resultante se transfiere entonces en forma cuantitativa a un matraz aforado de 2.000 L y se diluye hasta el aforo, mezclando posteriormente de manera completa. Los problemas para el estudiante se pueden entonces dispensar con una bureta a matraces volumétricos individuales de 100.00 mL. Las alícuotas comunes van de 10.00 mL a 20.00 mL, y producen problemas diluidos con concentraciones que van de unas 400 a 800 ppm de Ca^{2+} .

Microbureta

Se forma con una pipeta graduada de 2.000 mL, 2 cm de tubo de látex, barril de jeringa de plástico de 10 mL y una punta de pipeta de dosificación automática. Una ilustración detallada de la microbureta, al igual que documentación acerca de su construcción, aparecen en M. M. Singh, C. B. McGown, Z. Szafran y R. M. Pike, *J. Chem. Educ.*, **75** (1998) 371.

Procedimiento

1. *Estandarización del KMnO_4 .* Cada equipo prepara 200 mL de ácido sulfúrico diluido (1:20 v/v) usando H_2SO_4 concentrado. (**¡Precaución!**: El ácido debe agregarse lentamente al agua, con agitación.) Elimine los gases disueltos en esa solución hirviéndola durante 5 a 10 min con un agitador de vidrio en el vaso para evitar que se derrame el contenido. Enfríe la solución a temperatura ambiente en un baño de hielo y guárdela en una botella de polietileno herméticamente tapada y etiquetada en forma adecuada. Todos los estudiantes de un equipo compartirán esta solución (normalmente tres a cuatro estudiantes forman un equipo del laboratorio). *No proceda más allá de este punto, a menos que la titulación de estandarización se intente llevar a cabo el mismo día.*

A un matraz volumétrico de 100.00 mL, cada equipo le agrega 0.5000 g de estándar primario de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ y lo disuelve en el H_2SO_4 diluido previamente preparado, diluyendo hasta la marca y mezclando por completo. Esta solución también se comparte en un equipo. En adelante, cada estudiante trabajará en forma individual. Lave una microbureta de 2 mL con la solución del estándar primario y a continuación llénela con la solución. Transfiera 1.500 a 2.000 mL de la solución a un vaso limpio de 30 mL, anotando exactamente el volumen dosificado. Diluya a un volumen total aproximado de 5 mL usando el H_2SO_4 diluido. Prepare tres muestras más de este modo, usando cada vez un volumen diferente de solución de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$.

Limpie una microbureta de 2 mL, lávela y a continuación llénela con la solución de KMnO_4 0.02 M. Calcule el volumen aproximado de este titulante necesario para alcanzar un punto final para la muestra del estándar primario con el menor volumen. Agregue rápidamente de una vez todo menos 0.2 mL de esta cantidad de la bureta, con agitación constante pero suave mediante un agitador. Deje reposar esta solución hasta que desaparezca el color, lo cual puede tardar uno o dos minutos. Caliente la solución entre 55 y 60°C y termine la titulación a esa temperatura. La temperatura se puede seguir con un termómetro, o bien esperar una formación inicial de vapor). El titulante que resta se agrega gota a gota, dejando que cada gota reaccione antes de agregar la siguiente. El punto final se alcanza con el primer color rosado perceptible que persista durante al menos 30 s. Repita este procedimiento con cada una de las muestras restantes de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$. Calcule la molaridad del KMnO_4 para cada titulación, la molaridad promedio y la desviación estándar.

2. *Análisis del problema de agua dura.* A cada estudiante se le asigna un matraz volumétrico de 100.00 mL que contiene una muestra problema de agua dura. Agregue agua destilada hasta la marca e invierta el matraz para mezclar por completo. Use una microbureta para pasar una alícuota de agua dura, de aproximadamente 1 mL, a un vaso limpio de 30 mL. El volumen transferido debe anotarse con la precisión que permita la bureta. A esta muestra agregue 10 mL de agua destilada, siete gotas de HCl concentrado y una o dos gotas de solución indicadora de rojo de metilo. Caliente casi hasta ebullición la solución resultante y agregue 1 mL de $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0.35 M. (Nota: Los estudiantes pueden obtener esta solución de una macrobureta para todo el grupo o con una probeta pequeña, porque sólo interesa que haya un exceso de ion oxalato en la solución.)

Prepare y llene una microbureta con solución diluida (1:10 v/v) de NH_3 . Agregue esta solución gota a gota a la muestra problema en el vaso teniendo en cuenta que la solución debe volverse opaca al comenzar a formarse el precipitado (CaC_2O_4). Continúe agregando NH_4OH hasta que la solución sea alcalina al rojo de metilo, indicado por un cambio de color de rosa a amarillo pálido. Debe evitarse agregar NH_3 en exceso. Cubra el vaso con Parafilm y deje digerir el precipitado durante la noche. Si regresa el color rosa, agregue más solución de NH_3 para alcanzar el punto final con el rojo de metilo. Repita este procedimiento con otras dos muestras de agua dura usando cada vez una alícuota de tamaño un poco distinto.

Filtre por gravedad el CaC_2O_4 de cada muestra usando papel filtro Whatman #1 de 42.5 mm de diámetro colocado en un embudo de tallo largo.¹⁷ Tenga en cuenta que la transferencia del precipitado debe ser cuantitativa. Lave el precipitado filtrado con agua destilada fría hasta que el filtrado sea transparente al agregar $\text{HNO}_3/\text{AgNO}_3$. Para hacerlo, reciba unas gotas del filtrado en un tubo de ensayo y agregue una o dos gotas del ácido, seguidas por una o dos gotas de la solución de AgNO_3 .

Quite el papel filtro del embudo y colóquelo en un vaso limpio de 30 mL. Agregue unos 3 mL de ácido sulfúrico 1:10 (v/v) previamente hervido como en el paso 1. A continuación agite la mezcla hasta que se haya disuelto el CaC_2O_4 y el papel filtro se haya rasgado. Agregue unos 10 mL de agua destilada a la mezcla y caliente hasta justo antes del punto de ebullición. Titule la mezcla con la solución estandarizada de KMnO_4 como sigue: 1) agregue 0.10 mL de titulante y deje reposar la mezcla hasta que se debilite el color, y 2) continúe la titulación como de costumbre, hasta llegar a un punto final. La temperatura de la solución debe mantenerse por arriba de los 55°C durante la titulación. Repita este procedimiento con cada una de las demás muestras problema.

¹⁷ Se puede mejorar la recuperación usando un embudo más pequeño que ajuste al filtro.

Cálculos

Con los datos obtenidos y con una reacción química balanceada, calcule la concentración de calcio en partes por millón para cada ensayo. Presente el promedio y la desviación estándar.

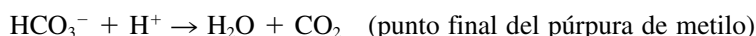
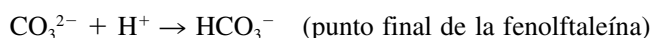
Titulaciones potenciométricas

EXPERIMENTO 19 TITULACIÓN DE pH DE CARBONATO DE SODIO COMERCIAL

Principio

La muestra problema con carbonato de sodio comercial se titula con una solución estándar de HCl usando un punto final potenciométrico (pH) detectado con un medidor de pH, para lo cual se emplea un electrodo combinado consistente en uno de vidrio y uno de referencia de calomel saturado. Las inflexiones de punto de equivalencia se comparan con los cambios de color de indicadores.

Ecuaciones



Observe que entre los puntos finales primero y segundo habrá una disminución gradual de pH debido al sistema amortiguador $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$. Esto produce un punto final visual pobre, a menos que se destruya al par amortiguador. En la práctica, la titulación visual que se usa para la estandarización se lleva a cabo hasta que se llega al punto final del púrpura de metilo; en ese momento la solución se hierve suavemente para expulsar el CO_2 y dejar sólo el HCO_3^- restante, el cual se titula hasta el término (véase una descripción más detallada en el capítulo 8).

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Fenolftaleína al 0.2% en etanol al 95%; púrpura de metilo al 0.1% en agua; estándar primario de Na_2CO_3 , amortiguador estándar de pH 7.
2. *Preparados.* Solución estándar de HCl 0.1 M. Use la solución preparada en el experimento 7. Si no dispone de esa solución, prepare y estandarice 500 mL como se describió en el experimento 7. Alternativamente, puede estandarizar el ácido contra el estándar primario de Na_2CO_3 mediante titulación de pH, como se describe más adelante para el problema de carbonato de sodio comercial.

Antes del experimento

Prepare y estandarice la solución de HCl. Se necesitará secar antes el estándar primario de Na_2CO_3 .

Pida un problema de carbonato de sodio comercial y séquelo durante al menos 2 h a 160°C. Enfríelo al menos 30 min en un desecador antes de pesarlo.

Procedimiento

El electrodo de vidrio que se usa en las mediciones de pH debe haber estado sumergido y conservado en KCl 0.1 M durante al menos un día antes de usarlo. Siempre guarde el electrodo en solución de KCl cuando no lo use. Calibre el medidor de pH como le indique el profesor, usando la solución amortiguadora estándar de pH 7. La calibración consistirá, en esencia, en ajustar el medidor de pH para que indique un valor de 7.00 cuando los electrodos estén sumergidos en la solución amortiguadora. Si sólo se van a usar pequeñas

cantidades del amortiguador, lo mejor será desecharlas, y no correr el riesgo de contaminación de toda la existencia.

1. *Titulación de prueba.* El objeto de esta titulación es ubicar con rapidez y aproximación los dos puntos de equivalencia. Pese con exactitud, por diferencia, una muestra seca del problema de carbonato de sodio (0.2 a 0.3 g) y colóquela en un vaso de 400 mL que tenga una barra magnética agitadora. Agregue unos 50 mL de agua y algunas gotas de indicador de fenolftaleína. Los indicadores tienen por objeto comparar los puntos finales potenciométricos y los puntos finales basados en vires de color de los indicadores. Coloque el vaso sobre un agitador magnético, sumerja los electrodos y haga funcionar el agitador, teniendo cuidado de no tocar los electrodos con la barra agitadora. Titule con HCl estandarizado, anotando las lecturas aproximadamente cada 2 mL. Cuando desaparezca el color de la fenolftaleína, agregue algunas gotas de indicador de púrpura de metilo y titule con incrementos de 2 mL hasta alcanzar el segundo punto final. Agregue unas cuantas gotas después del punto final. El color correcto del segundo punto final se puede determinar comparando con el color de unas pocas gotas del indicador en una solución de 0.20 g de ftalato ácido de potasio en 100 mL de agua. Prepare una hoja de cálculo para graficar su curva de pH de titulación (ordenada) en función del volumen de HCl (abscisas) y también la gráfica de la primera derivada; localice los puntos finales aproximados. Véase en el capítulo 14 la preparación de una hoja de cálculo para derivadas de titulaciones.
2. *Titulación final.* Pese con exactitud otra muestra del problema y titúlela como se indicó antes, pero haga anotaciones de pH cada 5 mL hasta llegar a menos de 3 mL de cada punto final (a ambos lados del punto final). Entonces haga anotaciones a intervalos de 0.50 a 1 mL, hasta llegar a menos de 1 mL del punto final. Cerca del punto final *anote las indicaciones tan rápidamente como pueda, porque el pH tenderá a cambiar cuando el CO_2 escape de la solución.* Anote los puntos en los que el indicador cambia de color. Use la hoja de cálculo que preparó para graficar la curva de titulación y su primera derivada. Imprima la curva de titulación y en ella indique el intervalo dentro del cual los indicadores cambian de color. Determine el punto final con el segundo punto de inflexión de la curva. Repita la titulación con dos porciones más del problema. Asegúrese de lavar los electrodos entre las titulaciones.

Cálculos

Calcule e informe el porcentaje de Na_2CO_3 y Na_2O en su problema para cada porción analizada. Con sus resultados presente las gráficas de las curvas de titulación. También informe el valor porcentual promedio y la precisión.

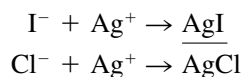
EXPERIMENTO 20 TITULACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE UNA MEZCLA DE CLORURO Y YODURO

Principio

La mezcla se titula con una solución estandarizada de nitrato de plata y los puntos finales potenciométricos se indican con un par de electrodos de alambre de plata-electrodos de vidrio, usando un medidor de pH para las mediciones de potencial. Como el pH durante la titulación permanece esencialmente constante, el potencial del electrodo de vidrio permanece constante, y ése será el electrodo de referencia. Con ello se elimina la necesidad de preparar un puente salino libre de cloruros para el electrodo de referencia. Primero precipita el AgI ($K_{ps} = 1 \times 10^{-16}$) porque es menos soluble que el AgCl ($K_{ps} = 1 \times 10^{-10}$). El AgCl comienza a precipitar cerca del punto de equivalencia de la titulación de yoduro (cuando $[\text{Ag}^+][\text{Cl}^-] = 1 \times 10^{-10}$; la $[\text{Ag}^+]$ en el punto de equivalencia de yoduro es $\sqrt{1 \times 10^{-16}} = 1 \times 10^{-8} \text{ M}$). El aumento de potencial (es decir, pX) de la curva de titula-

ción de yoduro se nivelará en un punto en el que el cloruro comienza a precipitar; es decir, cerca de la inflexión del punto de equivalencia del yoduro. Esto irá seguido por el típico punto final potenciométrico del cloruro en forma de S. El error en la determinación del punto final de yoduro es pequeño si se toma en el punto donde se nivela el potencial (debe observarse que, si bien se pueden titular mezclas de cloruro y yoduro, en general no se pueden titular mezclas de bromuro con cloruro o yoduro debido a la formación de cristales mixtos; vea reemplazo isomorfo en el capítulo 10).

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios

AgNO_3 0.1 M estandarizado. Prepárelo como se describió en el experimento 11.

Antes del experimento

Seque el estándar primario de AgNO_3 por 1 a 2 h a 110 a 120°C (*no más tiempo*). Guárdelo en un desecador hasta que esté listo para pesarlo.

Pida su problema y séquelo a 120°C durante 1 a 2 h. Guárdelo en el desecador hasta que esté listo para pesarlo.

Procedimiento

Pese directamente tres muestras de 0.5 a 0.6 g del problema seco y colóquelas en vasos de 400 mL. Disuélvalos en 150 mL de agua destilada, coloque una barra magnética agitadora y ponga el vaso sobre un agitador magnético (disuelva y titule sólo una porción cada vez, para minimizar la oxidación del yoduro por el aire). Sumerja los electrodos en la solución teniendo cuidado para que no choquen contra el agitador magnético. Conecte el electrodo de alambre de plata a la terminal de referencia del potenciómetro y el electrodo de vidrio a su terminal usual.¹⁸ Agite la solución y titule la muestra con el AgNO_3 estandarizado. Anote las lecturas de “pH” (en realidad de pX) o de milivoltios a incrementos de 2 mL, hasta que el cambio sea de más de 0.4 unidades de pH o de 25 mV. Después agregue incrementos de 0.2 mL. Cuando llegue al primer punto final agregue incrementos de 2 mL hasta que se acerque al segundo punto final, reduciendo entonces los incrementos a 0.2 mL. Use una hoja de cálculo para graficar el potencial en función del volumen de AgNO_3 y determine el punto final del yoduro y el cloruro (punto de inflexión del segundo cambio de potencial). Use esos valores para estimar el punto final de las otras dos muestras y repita con ellas el procedimiento anterior. El titulante podrá agregarse rápidamente hasta llegar a 2 o 3 mL del punto final. Asegúrese de lavar los electrodos entre las titulaciones.

Cálculos

Calcule e informe el porcentaje de yoduro (a partir del volumen requerido para llegar al primer punto final) y de cloruro (con el volumen requerido para ir del primero al segundo punto final) de su problema para cada porción analizada. Presente las gráficas de las curvas de titulación con su informe.

También informe los valores promedio y la precisión.

¹⁸ En realidad, el electrodo de plata es el indicador y el de vidrio es el de referencia, pero la mayor parte de los electrodos de vidrio para pH requieren una clavija especial que no entra en la terminal de referencia. El arreglo descrito es satisfactorio, y sólo significa que el potencial tendrá signo contrario al normal y que cambia en dirección contraria.

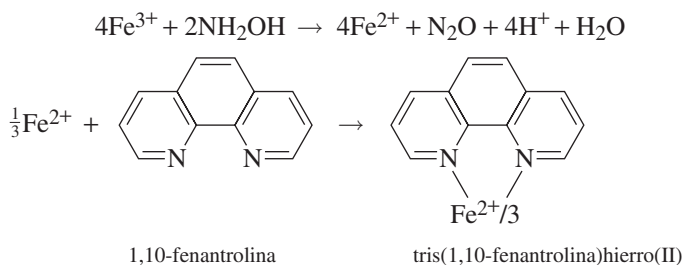
Mediciones espectroquímicas

EXPERIMENTO 21 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE HIERRO

Principio

Se forma un complejo de hierro(II) con 1,10-fenantrolina, $\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3^{2+}$ y se mide la absorbancia de esta solución colorida con un espectrofotómetro. Se grafica el espectro para determinar el máximo de absorción. Se agrega la hidroxilamina (como clorhidrato, para aumentar la solubilidad) para reducir todo el Fe^{3+} a Fe^{2+} y mantenerlo en ese estado.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios

- Solución estándar de hierro(II).** Prepare una solución estándar de hierro pesando 0.0176 g de sulfato de hierro(II) y amonio, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Pase cuantitativamente la muestra pesada a un matraz aforado de 250 mL y agregue agua suficiente para disolver la sal. Agregue 0.7 mL de ácido sulfúrico concentrado, diluya exactamente a la marca con agua destilada y mezcle por completo. Esta solución contiene 10.0 mg de hierro por litro (10 ppm); si pesa otra cantidad distinta de la indicada, calcule la concentración.
- Solución de 1,10-fenantrolina.** Disuelva 25 mg de monohidrato de 1,10-fenantrolina en 25 mL de agua. Guárdela en una botella de plástico.
- Solución de cloruro de hidroxilamonio.** Disuelva 10 g de cloruro de hidroxilamonio en 100 mL de agua.
- Solución de acetato de sodio.** Disuelva 10 g de acetato de sodio en 100 mL de agua.

Procedimiento

En una serie de matraces volumétricos de 100 mL, pipetee 1.00, 2.00, 5.00, 10.00 y 25.00 mL de la solución estandarizada de hierro. En otro matraz aforado coloque 50 mL de agua destilada; éste será el testigo. La muestra problema le será entregada en otro matraz aforado de 100 mL. A cada uno de los matraces (incluso el del problema) agregue 1.0 mL de la solución de cloruro de hidroxilamonio y 5.0 mL de la solución de 1,10-fenantrolina. Regule cada solución agregándole 8.0 mL de la solución de acetato de sodio para producir el color rojo de 1,10-fenantrolina ferrosa [el complejo hierro(II)-fenantrolina se forma a pH de 2 a 9. El acetato de sodio neutraliza el ácido presente y ajusta el pH a un valor en el cual se formará el complejo]. Deje que transcurran unos 15 min después de agregar los reactivos para hacer mediciones de absorbancia para que de esta manera el color del complejo se pueda desarrollar por completo. Una vez desarrollado, el color es estable durante horas. Diluya cada solución exactamente a 100 mL. Los estándares corresponderán a 0.1, 0.2, 0.5, 1 y 2.5 ppm de hierro, respectivamente.

Obtenga el espectro de absorción de la solución de 2.5 ppm midiendo la absorbancia desde 400 hasta 700 nm aproximadamente (o en el intervalo de su instrumento). Anote las lecturas a intervalos de 25 nm, excepto cerca del máximo de absorción, donde debe anotar las lecturas a intervalos de 5 o 10 nm. Siga las instrucciones de su profesor acerca del funcionamiento del espectrofotómetro. Debe usar la solución testigo como solución de referencia. Grafique la absorbancia en función de la longitud de onda y seleccione la longitud de onda del máximo de absorción. Eso lo puede hacer con una hoja de cálculo. A partir de la concentración molar de la solución de hierro y de la longitud de trayectoria en la celda, calcule la absorptividad molar del complejo hierro(II)-fenantrolina en el máximo de absorción.

Prepare una curva de calibración midiendo la absorbancia de cada una de las soluciones estándar en la longitud de onda de absorbancia máxima. Mida de la misma manera el problema. Usando una hoja de cálculo, prepare una curva de calibración graficando la absorbancia de los estándares en función de la concentración en ppm. Con esta gráfica y la absorbancia del problema, determine la concentración final de hierro en la solución problema. Haga los cálculos de la concentración medida tecleando la fórmula en una celda de la hoja de cálculo, usando los valores de pendiente y ordenada al origen, y la absorbancia medida (véase la preparación de la hoja de cálculo en los capítulos 3 y 16). Informe la cantidad de microgramos de hierro en su problema, junto con la absorptividad molar y el espectro del complejo de hierro(II)-fenantrolina.

EXPERIMENTO 22 DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO DE NITRATOS EN AGUA¹⁹

Principio

Se hace reaccionar nitrato, NO_3^- , con ácido fenoldisulfónico para producir un color amarillo con máximo de absorción a 410 nm. La interferencia de cloruros se elimina precipitándolos. El nitrito, NO_2^- , en concentraciones mayores a 0.2 mg/mL, causa interferencia positiva, pero estas concentraciones rara vez se presentan en aguas superficiales.

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Solución de NaOH 1 M; NH_3 conc., reactivo de ácido fenoldisulfónico, que se prepara disolviendo 25 g de fenol en 150 mL de H_2SO_4 , se agregan 75 mL de H_2SO_4 fumante (15% de SO_3 libre), se agita bien y se calienta durante 2 h en baño de agua caliente.
2. *Preparados.*
 - a) **Solución de sulfato de plata.** (No se necesitará si se suministran problemas libres de cloruros.) Disuelva 0.44 g de Ag_2SO_4 libre de nitratos en 100 mL de agua destilada. Un mililitro equivale a 1 mg de cloruro.
 - b) **Solución de EDTA.** Prepare una pasta de 50 g de $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de agua, agregue 60 mL de NH_3 conc., y mezcle bien para disolver la pasta.
 - c) **Solución stock de nitrato con 100 mg/L de N.** Disuelva 0.722 g de KNO_3 anhidro y diluya a 1 L.
 - d) **Solución estándar de 10 $\mu\text{g/mL}$ de N (44 $\mu\text{g/mL}$ de NO_3^-).** Diluya 50 mL de la solución stock a 500 mL de agua destilada.

¹⁹ El nitrato también se puede cuantificar de manera fluorométrica haciéndolo reaccionar con fluoresceína en H_2SO_4 conc. y midiendo la supresión de fluorescencia de la fluoresceína. Vea *J. Chem. Ed.* **51** (1974) 682.

Procedimiento

1. *Eliminación de la interferencia por cloruro.* (Este paso se puede descartar si se trabaja en agua destilada con problemas sintéticos de nitrato libres de cloruros.) Pequeñas cantidades de cloruros causan interferencias negativas. Si el contenido de cloruro es mayor que 10 mg/L debe eliminarse el cloruro (el profesor le comentará acerca de un estimado de la concentración de cloruro). Trate una muestra de 100 mL con una cantidad equivalente de solución de sulfato de plata y elimine el cloruro de plata precipitado, centrifugándolo o filtrándolo. Si es necesario coagule el precipitado calentando la solución, o dejándola reposar durante la noche, alejada de luz intensa (sólo si la muestra no contiene organismos nitrificantes; vea más adelante).
2. *Determinación de nitratos.* La muestra no debe tener color apreciable. Para evitar cualquier cambio en el balance de nitrógeno a causa de actividad biológica, debe analizar las aguas naturales de inmediato después de muestrearlas. Sin embargo, se pueden guardar casi a temperatura de congelación, agregando 0.8 mL de H_2SO_4 por litro, como preservativo. Si la muestra se acidula debe neutralizarse justo antes de iniciar el análisis.

Neutralice la muestra anterior a la que se liberó de cloruros o una muestra fresca de 100 mL, si ya está libre de cloruros, a un pH aproximado de 7, con NaOH diluido. Transfírela a una cápsula y evapórela a sequedad. Mezcle el residuo con 2.0 mL de reactivo de ácido fenoldisulfónico usando una varilla de vidrio para ayudar a disolver los sólidos; caliente en un baño de agua caliente si es necesario para ayudar a la disolución. Diluya con 20 mL de agua destilada y entonces agregue de 6 a 7 mL de amoníaco, hasta que se desarrolle la máxima coloración. Si se forma un hidróxido flocculento, disuélvalo agregando el reactivo de EDTA gota a gota, agitando (también puede filtrar la muestra). Transfiera la solución transparente a un matraz volumétrico de 50 mL y diluya a la marca con agua destilada.

Prepare estándares de la misma manera usando los mismos volúmenes de reactivos, evaporando 10, 25 y 50 mL de la solución estándar de nitrato, respectivamente, los cuales representan 0.10, 0.25 y 0.50 mg de N, respectivamente. Omita el paso de precipitación de cloruros. Prepare un blanco usando los mismos volúmenes de reactivos.

Anote la absorbancia de la solución a 410 nm, corrija de acuerdo con el blanco, prepare una curva de calibración y calcule la concentración de nitrógeno en nitratos en su muestra, en mg/L.

Se pueden detectar cantidades tan pequeñas como 1 μg de nitrógeno de nitratos, lo cual representa 0.01 mg/L en una muestra de 100 mL. La concentración de nitratos en el agua potable suele estar por debajo de 10 mg/L. Si las concentraciones son altas, las mediciones pueden ampliarse seis veces midiendo a 480 nm, o al doble diluyendo las muestras preparadas a 100 mL en lugar de 50 mL.

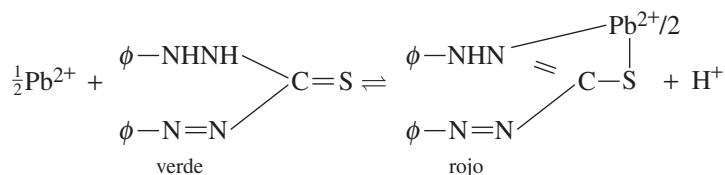
EXPERIMENTO 23 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE PLOMO EN HOJAS, USANDO EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES²⁰

Principio

El plomo sobre la superficie de las hojas se disuelve agitando con una solución de ácido nítrico. El plomo se extrae como complejo con ditizona, pasando a la fase de cloruro de metileno a un pH por arriba de 9. La intensidad del color del complejo se mide espectrofotométricamente y se compara contra una curva de calibración preparada de manera similar, a partir de estándares de plomo para calcular la cantidad de este metal. Se pueden agregar cianuro y sulfito como enmascarantes para eliminar la mayor parte de las interferencias de otros metales.

²⁰ Las instrucciones para este experimento comprenden el uso de una solución que contiene cianuro, que sirve como agente enmascarante de ciertos iones metálicos. *No use esta solución a menos que el profesor se lo indique.* Por motivos de seguridad e ilustración podrá suponer que las mediciones sólo determinan plomo.

Ecuación



Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* HNO_3 1 M, HNO_3 0.1 M, solución indicadora de azul de timol (0.1% en agua), solución de NH_3 2 M, solución de amoníaco, cianuro y sulfito (350 mL de solución concentrada de NH_3 , 30 mL de NaCN 10% y 1.5 g de Na_2SO_3 diluidos a 1 L; el pH es alrededor de 11).
2. *Preparados*
 - a) **Solución stock estándar de 1 000 ppm de plomo.** Disuelva 0.160 g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ y dilúyalos a 100 mL en un matraz aforado.
 - b) **Solución estándar de trabajo de 10 ppm.** El día del experimento diluya 1 mL de la solución de existencia en 100 mL, en un matraz aforado.
 - c) **Solución de ditizona.** Disuelva 7.5 mg de ditizona en 300 mL de cloruro de metileno. Debe prepararla el mismo día del experimento.

Precaución. No tire al drenaje ninguna de las soluciones que se usan en este experimento. Las soluciones acuosas pueden contener cianuro y deben disponerse en un recipiente para confinamiento que contenga FeSO_4 [para convertir CN^- en $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$]. ¡Nunca debe agregar ácido a este recipiente! Todos los artículos de vidrio deben lavarse en una solución alcalina y los lavados deben recibirse en este depósito. También las soluciones de cloruro de metileno deben vaciarse en un recipiente especial.

Antes del experimento

Recolecte muestras de hojas. Pueden ser de árboles cercanos a una carretera y de otros que estén aislados para efectuar una comparación. Colecte cuando menos dos hojas grandes de cada árbol, colóquelas en una bolsa de plástico limpia y séllela. Las hojas seleccionadas deben estar razonablemente libres de tierra u otra contaminación visible. Anote el lugar de donde tomó las hojas. Su profesor le dirá cuántos árboles debe muestrear.

Procedimiento

1. *Preparación de la curva de calibración.* Ésta la debe elaborar al mismo tiempo que analiza las hojas. La formación de quelatos y la extracción con disolventes se deben hacer en frascos limpios de unos 170 mL, con tapas. A cada uno de los seis frascos etiquetados pipetee 0 (blanco), 2, 4, 6 u 8 mL del estándar con 10 ppm de plomo y agua suficiente para llevar el volumen a unos 20 mL. Agregue unos 60 mL de la solución de amoníaco, cianuro y sulfito (*sólo si se le indica*) usando una probeta graduada y 25 mL de la solución de CH_2Cl_2 -ditizona con una pipeta (*no* con la boca). Tape el frasco y agítelo durante casi 1 min. Con una pipeta tome la mayor parte de la capa de cloruro de metileno, más densa, y fíltrela a través de papel filtro seco (Whatman núm. 40) recibiendo en un tubo de medición seco Bausch and Lomb Spectronic 20 o su equivalente, o centrifugue antes de transferir (las muestras deben prepararse para medirlas ahora para que puedan medirse al mismo tiempo que los estándares).

Use uno de los estándares para medir la absorbancia de 400 a 600 nm en incrementos de 20 nm para determinar la longitud de onda de absorción máxima. Con esta longitud de onda mida la absorbancia de cada estándar, usando el blanco para

poner en cero al instrumento. Trace una gráfica de la absorbancia en función de microgramos de plomo usados para preparar la curva de calibración usando una hoja de cálculo (capítulos 3 y 16).

2. *Determinación de plomo en las hojas.* Para cada bolsa de plástico con una muestra de hoja caliente 20 mL de HNO_3 0.1 M hasta unos 70°C. Agregue 20 mL a cada bolsa, ciérrela y agítela durante unos 2 min. Vierta en vasos limpios de 100 mL. Agregue una gota de solución indicadora de azul de timol a cada una y después agregue NH_3 2 M, gota a gota, hasta que el cambio de color sea completo (al azul), y agregue un par de gotas más. *La solución debe oler a amoníaco.* Entonces, agregue (*sólo si se lo indican*) 60 mL de solución de amoníaco, cianuro y sulfito; después agregue 25 mL de la solución de CH_2Cl_2 -ditizona y proceda con la medición del extracto como hizo con los estándares.

Cálculos

Seque cada hoja, colóquela sobre una hoja de papel y trace su contorno. Corte el borde de la hoja y péselo en una balanza analítica, con tres cifras significativas. Corte un cuadrado de 10×10 cm (100 cm^2) del mismo papel y péselo. Calcule el área de la hoja, en cm^2 .

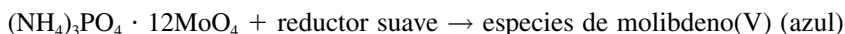
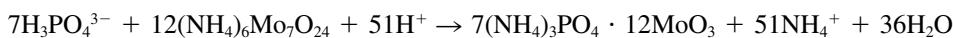
Con la absorbancia medida de cada muestra y la curva de calibración, calcule los microgramos de plomo en la hoja, y presente la cantidad de plomo en μg de Pb/100 cm^2 de hoja. ¿Hay alguna correlación del contenido de plomo y la proximidad del árbol a la carretera?

EXPERIMENTO 24 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FÓSFORO INORGÁNICO EN EL SUERO²¹

Principio

Se hace reaccionar el fósforo inorgánico en un filtrado libre de proteínas con molibdato de amonio [Mo(VI)] para formar fosfomolibdato de amonio. Éste se reduce con un reductor suave para producir “azul de molibdeno”, una heteropoliespecie de molibdeno(V). Bajo estas condiciones no se reducen los molibdatos. El color azul de la solución se mide en forma espectrofotométrica.

Ecuaciones



[Aunque se puede cristalizar el molibdato de amonio normal, $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, la forma cristalina común es $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, o $3(\text{NH}_4)_2\text{O} \cdot 7\text{MoO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.]

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Solución de ácido tricloroacético al 5% (vol/vol); H_2SO_4 5 M; solución reductora de ácido aminonaftolsulfónico, preparada como sigue: agregue 0.50 g de ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico y 5.0 mL de solución de sulfito de sodio (20 g de Na_2SO_3 anhidro/100 mL) a 195 mL de solución de bisulfito de sodio (15 g de NaHSO_3 /100 mL) en una botella de vidrio ámbar con tapón de vidrio. Tápela y agítela hasta que se disuelva el polvo. Si la disolución no es completa, agregue solución de sulfito de sodio en incrementos de 1 mL agitando continuamente hasta que la disolución sea total. Evite agregar exceso de sulfito de sodio. Guárdela en un refrigerador. La solución es estable durante casi un mes.

²¹ Se puede preparar una muestra sintética de suero como se describe en el experimento 30, primera nota al pie, y agregando 60 g de albúmina como fuente de proteína (por ejemplo, albúmina de suero bovino, BSA). El suero contiene aproximadamente 6% (p/p) de proteína. La solución contendrá aproximadamente 0.41 mg P/100 mL, el cual puede variarse de un problema a otro.

2. Preparados.

- a) **Solución stock estándar de fósforo (100 mg de P mg/dl).** Disuelva 0.439 g de KH_2PO_4 en agua y diluya a 100 mL en un matraz aforado.
- b) **Estándares de trabajo de fósforo.** Adicione con una pipeta 1 mL de la solución stock a un matraz aforado de 100 mL y diluya hasta la marca con ácido tricloroacético (TCA) al 5%. (**PRECAUCIÓN:** El ácido tricloroacético es muy corrosivo. Evite su contacto con la piel. Nunca debe pipetarse con la boca.) Éste contiene 1 mg/dl de fósforo, y se usará para preparar la serie de estándares. Con una pipeta transfiera 2 y 5 mL de esta solución a matraces aforados de 10 mL y diluya hasta la marca con ácido tricloroacético al 10%. De esta manera posee ahora estándares de 0.2, 0.5 y 1 mg/dL de P, los cuales corresponden a concentraciones de 2, 5 y 10 mg/dL de suero, respectivamente, en el procedimiento que se describe adelante, puesto que la muestra se diluyó 1:10.
- c) **Solución de molibdato de amonio.** Disuelva 0.62 g de molibdato de amonio, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, en 2.0 mL de agua y agregue 8 mL de H_2SO_4 5 M. La solución debe ser estable indefinidamente. Deséchela si los blancos tienen un color azul.

Procedimiento

1. **Suero.** Haga el análisis por duplicado. Coloque 9.50 mL de ácido tricloroacético al 5% en un tubo de centrífuga de 12 mL. Agregue 0.500 mL de suero, mezcle bien y deje reposar durante 5 min. Centrifugue a 1 500 rpm hasta que el sobrenadante sea transparente (unos 5 min). Si no se dispone de una centrífuga, la muestra debe filtrarse a través de papel filtro Whatman núm. 42 seco y recibirse en un vaso seco. Como el papel filtro puede contener impurezas reductoras, el testigo debe prepararse usando ácido tricloroacético al 5% filtrado.

Transfiera 5.00 mL del sobrenadante claro a un tubo de ensayo de 15×50 mm. Prepare un blanco y los estándares pipeteando 5.00 mL de ácido tricloroacético al 5% y de las soluciones estándar de 0.2, 0.5 y 1.0 mg/dL de P en cuatro tubos de ensayo separados. A todos los tubos de ensayo agregue 1.00 mL del reactivo de molibdato y mezcle bien. Por último, agregue 0.40 mL del reactivo de ácido aminonaftolsulfónico y mezcle bien. Deje reposar durante 5 a 10 min o más, y mida la absorbancia para cada solución en una celda a 690 nm ajustando la absorbancia a cero con agua destilada. Reste cualquier lectura del blanco de todas las lecturas de los estándares y de la muestra.

Trace la gráfica de la absorbancia neta de los estándares en función de la concentración usando una hoja de cálculo (capítulos 3 y 16). Con esta gráfica y la absorbancia neta de la muestra, determine la concentración de fósforo en el filtrado libre de proteína. Multiplique por 20 para obtener la concentración en la muestra original de suero. El intervalo normal de fósforo en suero es de 3.0 a 4.5 mg/dL aproximadamente para los adultos, y de 4.5 a 6.5 mg/dL para los niños.

EXPERIMENTO 25 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE MANGANESO Y CROMO EN UNA MEZCLA

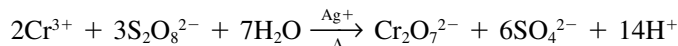
Principio

Se pueden determinar simultáneamente las concentraciones de manganeso y cromo midiendo la absorbancia de la luz a dos longitudes de onda después de haber oxidado los metales a $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y a MnO_4^- . Se ha demostrado que la ley de Beer se cumple con mucha aproximación si las soluciones contienen H_2SO_4 cuando menos 0.5 M. El $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ tiene un máximo de absorción a 440 nm, y el MnO_4^- lo tiene a 545 nm (hay un máximo algo más intenso a 525 nm, pero a 545 nm hay menor interferencia del $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$). Se resuelven ecua-

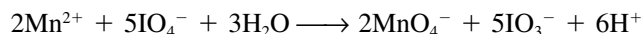
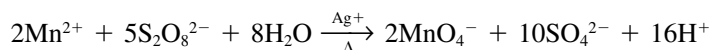
ciones similares a las ecuaciones 16.16 y 16.17 para despejar las concentraciones desconocidas a partir de las absorbancias medidas a las dos longitudes de onda. Las cuatro constantes ($\epsilon b = k$) se determinan midiendo la absorbancia en las dos longitudes de onda usando soluciones puras de concentración conocida; a cada longitud de onda se prepara una curva de calibración para $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y MnO_4^- , y se usan las pendientes de las curvas (A vs C) para obtener el valor promedio de k .

Ecuaciones

El problema contiene Cr^{3+} y Mn^{2+} . El primero se oxida a $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ al calentar con peroxidisulfato (persulfato) en presencia de un catalizador de plata:



El Mn^{2+} se oxida en parte con el peroxidisulfato y también con el peryodato:



Para la mezcla:

$$A_{440} = k_{\text{Cr},440}C_{\text{Cr}} + k_{\text{Mn},440}C_{\text{Mn}}$$

$$A_{545} = k_{\text{Cr},545}C_{\text{Cr}} + k_{\text{Mn},545}C_{\text{Mn}}$$

Los valores de k se determinan a partir de las pendientes de las curvas de calibración de soluciones puras:

$$\begin{aligned} k_{\text{Cr},440} &= A_{440}/C_{\text{Cr}} & k_{\text{Cr},545} &= A_{545}/C_{\text{Cr}} \\ k_{\text{Mn},440} &= A_{440}/C_{\text{Mn}} & k_{\text{Mn},545} &= A_{545}/C_{\text{Mn}} \end{aligned}$$

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministradas.* H_2SO_4 18 M, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, KIO_4 , AgNO_3 .

2. *Preparadas.*

a) Solución estándar de MnSO_4 0.002 M. Seque aproximadamente 1 g de MnSO_4 a 110°C durante 1 h; enfríe durante 30 min y pese aproximadamente 0.08 g (con una exactitud de 0.1 mg). Transfíralo a un matraz volumétrico de 250 mL, disuélvalo y diluya hasta la marca. Calcule la molaridad de la solución y la concentración de Mn en mg/L (ppm).

b) Solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.0178 M. Use la solución preparada en el experimento 14, o prepare 100 mL como se indica allí (pesando con una exactitud de 1 mg). Calcule la molaridad de la solución y la concentración de Cr en mg/L (recuerde que hay dos átomos de Cr por molécula de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

c) AgNO_3 0.1 M. Disuelva unos 0.2 g de AgNO_3 en unos 12 mL de agua.

Antes del experimento

Prepare las soluciones estándar de MnSO_4 y $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Será necesario secar estas sustancias.

Procedimiento

1. *Calibración (determinación de los valores de k).* **Nota:** Debe leerse la absorbancia de las soluciones de calibración y del problema al mismo tiempo. Por consiguiente, tenga todas las soluciones preparadas antes de hacer las lecturas. Todas cuentan con

la estabilidad suficiente para poder dejarlas reposar hasta que haya otra sesión de laboratorio; pero lo mejor es no hacerlo.

- a) **Manganeso.** Agregue con pipeta alícuotas de 10, 15 y 25 mL de la solución estándar de MnSO_4 a tres matraces Erlenmeyer distintos. Agregue agua destilada para que el volumen en cada matraz sea de unos 50 mL. A cada matraz agregue 10 mL de H_2SO_4 conc. (CON CUIDADO, use una probeta graduada) y 0.5 g de KIO_4 sólido (peryodato o metaperyodato de potasio, dependiendo del fabricante). Caliente cada matraz a ebullición durante unos 10 min, enfríe y transfiera cuantitativamente a matraces aforados de 250 mL, y diluya finalmente al aforo con agua destilada. Determine la absorbancia de cada solución a 440 y 545 nm usando como blanco una solución de H_2SO_4 0.5 M. Las soluciones de permanganato que contienen peryodato son estables. La absorbancia a 440 nm será menor que 0.1, por lo que será grande el error (precisión) espectrofotométrico (véase la figura 16.27). Sin embargo, esto se puede aceptar; de hecho es preferible, porque la corrección por absorción de manganeso a esta longitud de onda es pequeña; es decir, un error relativamente grande en la determinación de una corrección pequeña sólo causa un error pequeño.
 - b) **Cromo.** Agregue alícuotas de 10, 15 y 25 mL de la solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a matraces aforados de 250 mL; agregue unos 100 mL de agua destilada y 10 mL de H_2SO_4 conc. Mezcle bien y diluya a 250 mL con agua destilada. Determine la absorbancia de cada solución a 440 y 545 nm, usando H_2SO_4 0.5 M como testigo. La absorbancia en este caso será pequeña (<0.1) a 545 nm.
 - c) **Determinación de los valores de k .** Use una hoja de cálculo y grafique absorbancia en función de concentración, expresada en mg/L para cada solución a cada longitud de onda, y trace la recta de mínimos cuadrados en cada conjunto de puntos. Las líneas se deben cruzar en absorbancia cero y concentración cero. En Opciones de gráfica puede indicar a Excel que grafique la ordenada al origen en cero. Las pendientes de esas líneas son los coeficientes ($k = A/C$) que se van a usar para determinar las concentraciones de cromo y manganeso en el problema. Esas pendientes relacionan absorbancia y concentración para los parámetros del instrumento usado. Por consiguiente, se debe usar el mismo instrumento, las mismas celdas en la misma posición y los mismos volúmenes de soluciones para todas las determinaciones en este experimento.
2. **Análisis del problema.** Obtenga una mezcla de Mn^{2+} y Cr^{3+} o $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ en un matraz volumétrico de 250 mL y diluya hasta la marca. Con una pipeta coloque tres alícuotas de 50 mL en matraces Erlenmeyer de 250 mL. El procedimiento puede detenerse en este punto, pero una vez agregado el peroxidisulfato, la oxidación debe terminarse.
- A cada matraz agregue 5 mL de H_2SO_4 conc. (¡TENGA CUIDADO! y mezcle bien. Agregue 1 o 2 mL de solución de AgNO_3 0.1 M, y 1.0 g de peroxidisulfato de potasio sólido ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). ¡TENGA CUIDADO! EL PEROXIDISULFATO ES UN OXIDANTE ENÉRGICO QUE PUEDE REACCIONAR VIOLENTAMENTE CON SUSTANCIAS REDUCTORAS. ÚSELO SÓLO COMO SE LE INDIQUE. No lo tire. Disuelva el peroxidisulfato y caliente la solución a ebullición; hiérvala suavemente durante unos 5 min. Enfríe la solución y agregue 0.5 g de KIO_4 . De nuevo caliente a ebullición durante 5 min.
- Enfríe cada solución a la temperatura ambiente; transfírela cuantitativamente a matraces aforados de 250 mL y diluya hasta la marca. En este momento (o antes de la dilución) las soluciones son estables y pueden guardarse hasta la siguiente sesión de laboratorio, si es necesario. También guarde la serie de estándares para calibrar al mismo tiempo el instrumento.

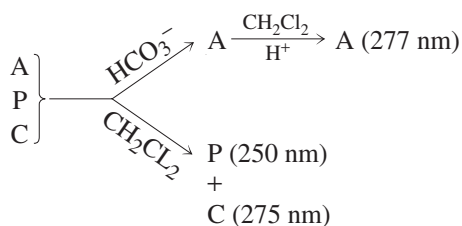
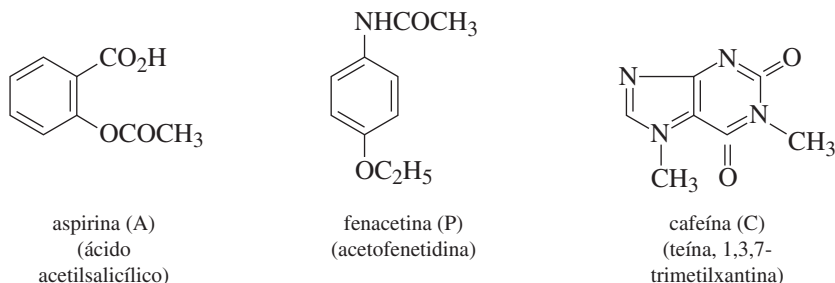
Con las absorbancias del problema a las dos longitudes de onda, calcule las partes por millón de Cr y Mn usando la ley de Beer para la mezcla y las constantes determinadas. Use una hoja de cálculo similar a la que aparece en el capítulo 16 para hacer los cálculos de la mezcla. Los resultados calculados tendrán las mismas unidades que las que se usaron para determinar las constantes. Tenga en cuenta las diluciones hechas. Presente los resultados para cada porción analizada.

EXPERIMENTO 26 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA EN EL ULTRAVIOLETA DE ASPIRINA, FENACETINA Y CAFÉINA EN TABLETAS DE APC, USANDO EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES

Principio

Las tabletas de APC son una mezcla de aspirina, fenacetina y caféina. Cada una de esas sustancias posee una absorción característica en la región del ultravioleta, y los máximos principales están en 277 nm para la aspirina, 275 nm para la caféina y 250 nm para la fenacetina. En el procedimiento se disuelve una tableta pulverizada en cloruro de metileno, y la aspirina se separa de la fenacetina y la caféina extrayéndola en una solución acuosa de bicarbonato de sodio. La aspirina separada se vuelve a extraer en cloruro de metileno acidulando la capa acuosa y a continuación se mide espectrofotométricamente a 277 nm. La fenacetina y la caféina que quedan en la capa original de cloruro de metileno se determinan en la mezcla como se describe en el capítulo 16 (ecuaciones 16.16 y 16.17).

Ecuaciones



Soluciones y reactivos requeridos

- Suministrados.** CH_2Cl_2 , solución (fría) de NaHCO_3 al 4% (peso/vol.), HCl conc., H_2SO_4 1 M.
- Preparados.**²²

Soluciones estándar. Prepare soluciones estándar individuales, de unos 100 mg/L, 20 mg/L y 10 mg/L cada una, de aspirina, fenacetina y caféina en cloruro de metileno, como sigue: pese unos 25 mg (a 0.1 mg) de cada una, páselos a matraces volumétricos de 100 mL, disuélvalos y diluya al volumen con cloruro de metileno. Diluya 2 y 1 mL de esta solución a 25 mL en matraces aforados de 25 mL para preparar las soluciones de 20 y 10 mg/L, respectivamente.

²² La caféina y la fenacetina se encuentran disponibles en Sigma-Aldrich.

Procedimiento²³

Pese con exactitud y anote el peso de una tableta. Debe ser equivalente a unos 220 mg de aspirina, 160 mg de fenacetina y 30 mg de cafeína. Para minimizar las diluciones requeridas y ahorrar disolventes, corte la tableta en cuartos y pese una porción de la cuarta parte para analizarla. Muéla la hasta tener un polvo fino en un vaso. Agregue con agitación 20 mL de cloruro de metileno, y entonces pase cuantitativamente la mezcla a un embudo de separación de 60 mL lavando *todas* las partículas con un poco más de cloruro de metileno. Extraiga la aspirina de la solución de cloruro de metileno con dos porciones de 10 mL de solución helada de bicarbonato de sodio al 4%, a la cual se han añadido dos gotas de ácido clorhídrico, y después con una porción de 5 mL de agua. Lave los extractos acuosos combinados con tres porciones de 10 mL de cloruro de metileno y agregue estas soluciones de lavado a la de cloruro de metileno original. Deje el extracto acuoso en el embudo de separación. Filtre la solución de cloruro de metileno pasándola por papel previamente humedecido con cloruro de metileno (para eliminar las trazas de agua), recibiendo en un matraz volumétrico de 50 mL y aforando con más cloruro de metileno. A continuación diluya una alícuota de 1 mL de esta solución a 50 mL, con cloruro de metileno, en un matraz aforado.

Acidule la solución de bicarbonato (extracto acuoso) que todavía quede en el embudo de separación con 6 mL de ácido sulfúrico 1 *M*. Este paso se debe hacer sin demora para evitar la hidrólisis de la aspirina. El ácido se debe agregar lentamente en pequeñas porciones. Mezcle bien sólo después de que haya cesado la mayor parte del desprendimiento de dióxido de carbono. En este momento el pH debe ser de 1 a 2 (papel indicador). Extraiga la solución acidulada con ocho porciones separadas de 10 mL de cloruro de metileno y filtre por un papel mojado con cloruro de metileno recibiendo en un matraz aforado de 100 mL. Diluya hasta el aforo. Después diluya una porción de 5 mL de esta solución a 25 mL con cloruro de metileno en un matraz volumétrico.

Registre las curvas de absorbancia en función de la longitud de onda para las soluciones estándar y las del problema entre 200 y 300 nm. (Este paso se puede omitir si no se tiene un espectrofotómetro de ultravioleta registrador.) ¿Parece más adecuada la longitud de onda de 277 nm para la determinación de la aspirina? ¿Parecen ser las longitudes de onda de 250 y 275 nm las mejores para medir la absorbancia de la mezcla de fenacetina y cafeína? Explique.

Use las absorbancias de las soluciones estándar y del problema de aspirina a 277 nm y calcule el porcentaje de aspirina en las tabletas APC y de la cantidad de miligramos de aspirina por tableta, teniendo en cuenta las diluciones.

Para calcular las concentraciones de fenacetina y cafeína, deben tomarse las absorbancias de los estándares de fenacetina y cafeína y del extracto de cloruro de metileno de la muestra, a 250 y a 275 nm. Con estas absorbancias calcule el porcentaje de fenacetina y cafeína en las tabletas de APC y los miligramos de cada una por tableta. Vea la determinación espectrofotométrica de mezclas en el capítulo 16. Use una hoja de cálculo parecida a la del capítulo 16 para hacer los cálculos de las mezclas.

EXPERIMENTO 27 DETERMINACIÓN POR INFRARROJO DE UNA MEZCLA DE ISÓMEROS DE XILENO

Principio

El *meta*- y el *para*-xileno se determinan en mezclas usando *orto*-xileno como estándar interno para compensar la variación de longitud de celda entre corridas. Se registra el espectro infrarrojo de la mezcla desconocida y se comparan las alturas de los picos de los dos compuestos con las de mezclas estándar, usando la técnica de la línea de base.

²³ La aspirina tiende a descomponerse en solución y los análisis deben hacerse lo más pronto posible después de preparar las soluciones.

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Orto-, meta y para-xileno.
2. *Preparados.* Estándares de meta-xileno y para-xileno. Prepare una serie de estándares (use las buretas disponibles), todos con 30% (v/v) de *o*-xileno como estándar interno, mezclando los volúmenes adecuados de los tres isómeros para obtener 25, 35 y 45% en volumen de *m*-xileno. Las concentraciones correspondientes de *p*-xileno serán 45, 35 y 25%, respectivamente.

Procedimiento

Consulte con el profesor las instrucciones para el manejo correcto del instrumento. Maneje la celda de infrarrojo con mucho cuidado, evitando su contacto con agua y con los dedos. Llene la celda con *m*-xileno puro y obtenga su espectro de 2 a 15 μm , asegurándose de graficar el último pico justo antes de 15 μm (692 cm^{-1}). Cada vez que corra una muestra, asegúrese de verificar el 0% de *T* colocando una tarjeta en el haz de la muestra, y ajuste la pluma a 0% *T*. Vacíe la celda, lávela y llénela con *p*-xileno y corra su espectro. Repita con *o*-xileno. Corra los espectros de cada una de las mezclas estándar. Con los espectros de las sustancias puras escoja un pico para medir cada isómero. Usando el método de la línea de base (véase la figura 16.11), mida P_0/P para el pico de cada compuesto. Prepare una curva de calibración de la relación de $\log(P_0/P)_{\text{meta}}/\log(P_0/P)_{\text{orto}}$, y de $\log(P_0/P)_{\text{para}}/\log(P_0/P)_{\text{orto}}$ en función de la concentración para los isómeros meta y para, respectivamente. Vea la preparación de la hoja de cálculo usando un estándar interno en el capítulo 20.

Obtenga con su profesor una muestra problema de los isómeros meta y para. Prepare una mezcla de ésta con *o*-xileno adicionando 70 partes del problema a 30 partes de *o*-xileno. Corra el espectro de esta mezcla, y usando el método de la línea de base y los mismos picos como antes, mida P_0/P para los tres compuestos y calcule $\log(P_0/P)/\log(P_0/P)_{\text{orto}}$ para los dos isómeros problema. Compare con la curva de calibración para determinar el porcentaje de concentraciones de los isómeros meta y para; use la hoja de cálculo para sus operaciones matemáticas. Recuerde dividir entre 0.7 para convertir a concentraciones iniciales.

EXPERIMENTO 28 DETERMINACIÓN FLUOROMÉTRICA DE RIBOFLAVINA (VITAMINA B₂)

Principio

La riboflavina fluoresce intensamente en solución de ácido acético al 5%. Los espectros de excitación y fluorescencia se obtienen para determinar las longitudes de onda de excitación y de emisión que se utilizarán, y el problema se analiza por comparación de los estándares.

Soluciones y reactivos necesarios

Estándares de riboflavina. Prepare una solución stock de 100 ppm de riboflavina pesando con exactitud 50 mg de riboflavina, transfiriéndolos a un matraz volumétrico de 500 mL y diluyendo a la marca con ácido acético al 5% (v/v). Debe guardarse en un lugar frío y en la oscuridad. El día del experimento diluya una alícuota de esta solución para obtener una solución estándar de trabajo de 10 ppm. Diluya alícuotas a partir de ésta con ácido acético al 5%, para preparar estándares de 0 (blanco), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 ppm de riboflavina.

Procedimiento

Registre los espectros de excitación y emisión de la solución con 0.6 ppm para determinar la mejor longitud de onda de excitación y la mejor para detección. Si el instrumento es de filtros y no un espectrofluorómetro registrador, tome las lecturas con diferentes combinaciones de filtros para dar la lectura máxima. Usando estas longitudes de onda, ajuste la

adquisición del instrumento para que la lectura sea de 100% con una solución de 1 ppm. Lea la fluorescencia de los otros estándares y prepare una curva de calibración. Obtenga su problema en un matraz volumétrico de 50 mL y diluya hasta la marca con ácido acético al 5%. Registre su fluorescencia, y a partir de la curva de calibración, calcule los microgramos de riboflavina en su problema. Use una hoja de cálculo.

Mediciones de espectrometría atómica

EXPERIMENTO 29 DETERMINACIÓN DE CALCIO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Principio

Se estudian los efectos de los parámetros instrumentales y del fosfato y el aluminio sobre la absorción del calcio [por ejemplo, vea W. Hoskins et al., *J. Chem. Ed.*, **54** (1977) 128]. Se determina calcio en una muestra problema de suero natural o sintético comparando la absorbancia con la de los estándares.

Soluciones y reactivos necesarios

Ca 500 ppm, SrCl_2 al 4%, NaCl 2 000 ppm, fosfato 100 ppm, etanol.

1. *Suministrados.* Etanol, solución de SrCl_2 al 4% (peso/vol.), solución stock de 140 meq/L de Na y 4.1 meq/L de K (véase nota al pie más adelante).
2. *Preparados.*
 - a) **Solución stock de 500 ppm de Ca.** Disuelva 1.834 g (pesados con exactitud) de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en agua y diluya a 1 L en un matraz aforado. Diluya esta solución 1:10 para preparar una solución stock de 50 ppm. Úsela para preparar las soluciones que se requieren más adelante (se pueden usar soluciones comerciales con 1 000 ppm de Ca^{2+}).
 - b) **Solución stock de 2 000 ppm de Na.** Disuelva 0.51 g de NaCl en 100 mL de agua.
 - c) **Solución de fosfato de 100 ppm.** Disuelva 0.15 g de Na_2HPO_4 en 1 L de agua.
 - d) **Solución stock de 100 ppm de Al.** Disuelva 0.18 g de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ en 100 mL de agua (puede usar AlCl_3 , pero tenga cuidado al agregar agua).

Estudio de los parámetros del instrumento

Siga las instrucciones que le indique el profesor para manejar el instrumento; si es de un solo haz, debe dejarse calentar la lámpara de cátodo hueco durante 30 min antes del experimento. Con un instrumento de doble haz deben bastar unos cuantos minutos. Utilice una llama de aire-acetileno con un quemador de premezcla.

1. *Altura del quemador.* Ajuste las presiones del combustible y el gas de soporte hasta que la llama sea casi estequiométrica (con un ligero color amarillo de la flama). A continuación incremente la presión del combustible para que el brillo de la llama sea amarillo intenso (rica en combustible). El resplandor amarillo se debe a partículas de carbono sin quemarse en la flama rica. En una flama pobre hay exceso de oxidante, y la llama aparece azul. Prepare y aspire una solución de 5 ppm de calcio y registre su absorbancia a 422.67 nm. Ajuste la longitud de onda para obtener la máxima absorbancia. Ahora el monocromador se encuentra exactamente ajustado en la línea del

calcio. Una vez ajustada la altura del quemador con la perilla, suba el quemador de tal manera que el rayo de luz pase justo sobre la punta del mismo (la base de la flama). Use agua destilada para poner en cero al instrumento, y a continuación mida la absorbancia de la solución con 5 ppm de calcio. Baje el quemador en incrementos (de seis a ocho pasos) y registre la absorbancia en cada altura.

Trace una gráfica de absorbancia en función de altura de observación de la flama y seleccione la altura óptima.

2. *Relación combustible/aire.* Mantenga constante la presión de aire y ajuste la presión del combustible en incrementos desde una llama muy rica en combustible hasta una llama pobre. Registre la absorbancia de solución de 5 ppm de Ca en cada incremento.

Seleccione la presión óptima de combustible y varíe la presión de aire en forma parecida. Trace la gráfica de absorbancia contra la presión del gas, tanto para el combustible como para el aire, registrando el ajuste de la presión de la que mantenga constante. Seleccione los ajustes óptimos de combustible y aire. ¿Es una llama rica, estequiométrica o pobre?

Estudios de interferencia

1. *Efecto de los fosfatos.* Prepare una solución de 5 ppm de Ca y 10 ppm de fosfato. Registre la absorbancia de esta solución usando las condiciones óptimas determinadas antes y compárela con la de la solución de 5 ppm de Ca. Explique el resultado.
Prepare una solución de 5 ppm de Ca, 10 ppm de fosfato y 1% de SrCl_2 . También prepare una solución de 5 ppm de Ca y 1% de SrCl_2 . Registre la absorbancia de las soluciones. Compare la absorción de la primera solución con la de la solución anterior que contiene fosfato, y con la de la solución que contiene 1% de SrCl_2 . Explique.
2. *Efecto del sodio.* Prepare una solución que contenga 5 ppm de Ca y 1 000 ppm de Na. Registre la absorbancia y compárela con la de la solución de 5 ppm de Ca. Explique cualquier diferencia.
3. *Efecto del aluminio.* Prepare una solución que contenga 5 ppm de Ca y 10 ppm de Al. Registre la absorbancia y compárela con la de la solución de 5 ppm de Ca. Sugiera una reacción posible que explique los resultados.

Determinación del calcio en un problema

(Se podrá usar el método de adiciones de estándar en lugar de lo que se describe a continuación.)

1. *Problema sintético.* Obtenga una solución problema y dilúyala para que la concentración sea de 5 a 15 ppm de Ca. Prepare una serie de estándares con 0, 2.5, 5, 7.5, 10 y 15 ppm de Ca con la solución stock de 50 ppm. Si el problema contiene fosfato, agregue SrCl_2 a los estándares y al problema para que su concentración final sea 1%. Registre la absorbancia (o el porcentaje de absorción y conviértalo en absorbancia) de ellas y prepare una curva de calibración de absorbancia en función de la concentración. Determine la concentración del problema en la forma usual.
2. *Suero.* El calcio en el suero o en el “suero artificial”, como se describe en la nota al pie del experimento 30, se determina diluyendo 1:20 con solución de SrCl_2 al 1%. El contenido normal de calcio en el suero es, aproximadamente, 100 ppm, por lo que la solución analizada contiene más o menos 5 ppm de Ca. A los estándares se les agrega sodio y potasio iguales a los de la muestra.

Agregue 0.5 mL del suero problema o del “suero artificial” a un matraz volumétrico de 10 mL y dilúyalo a la marca con SrCl_2 al 1%. (Si se va a usar también el método de adiciones de estándar para comparar, diluya 2.5 mL del problema a 50

mL con SrCl_2 al 1%.) Prepare estándares de 0, 3, 4, 5, 6 y 8 ppm de Ca, cada uno también conteniendo SrCl_2 al 1%, 6.9 meq/L de Na y 0.21 meq/L de K.²⁴

Prepare una curva de calibración con la absorbancia de los estándares y con ella determine la concentración de calcio en el problema. Use una hoja de cálculo.

Método de adiciones de estándar

Se puede usar este método en lugar del descrito antes para analizar los problemas y demostrar su utilidad para compensar efectos de la matriz. Diluya su problema como se describió antes, usando agua destilada para obtener una concentración aproximada de 5 ppm de Ca (1:20 para suero, por ejemplo, 2.5 mL diluidos a 50 mL con SrCl_2 al 1%). Con una pipeta transfiera alícuotas de 10.0 mL del problema diluido en tres tubos de ensayo o matraces limpios y secos. A ellos agregue 50.0, 100 y 150 μL , respectivamente, de la solución estándar de 500 ppm de calcio (o 25.0, 50.0 y 75.0 μL de una solución de 1 000 ppm, si está disponible). De este modo aumenta la concentración de calcio en el problema diluido en 2.5, 5.0 y 7.5 ppm, respectivamente, dependiendo de la concentración exacta del estándar, con lo que se encuadra el problema. Se puede considerar que los cambios de volumen son intrascendentes. Use una micropipeta adecuada, si la consigue (por ejemplo, una pipeta Eppendorf de 50 μL o una pipeta de Finn), o bien una pipeta graduada de 0.1 mL. Para que la exactitud sea óptima debe calibrar la pipeta (véase el capítulo 2).

Ponga en cero el instrumento con agua destilada y aspire el problema diluido y las muestras con adición de estándar. Los aumentos de absorbancia en estas últimas se deben al calcio adicionado. Use una hoja de cálculo para preparar una gráfica de absorbancia en función de la concentración añadida de calcio (comenzando en añadido = 0, es decir, la muestra). Con la abscisa al origen de la gráfica determine la concentración de calcio en la muestra diluida. Vea la hoja de cálculo en el capítulo 17 para la preparación de una gráfica de adiciones de estándar y el cálculo del problema. Calcule la concentración en la muestra original. ¿Cómo se determina la interferencia de fosfatos en este método?

EXPERIMENTO 30 DETERMINACIÓN ESPECTROMÉTRICA DE SODIO POR EMISIÓN DE FLAMA

Principio

Se compara la intensidad de emisión de sodio en una flama, a 589.0 nm, con la de unos estándares. Si se dispone de un instrumento de estándar interno se mide la relación de la emisión de sodio a litio.

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Solución stock estándar de NaCl (1 000 ppm de Na).* Seque aproximadamente 1 g de NaCl a 120°C durante 1 h y enfríelo durante 30 min. Pese y disuelva 0.254 g de NaCl en agua y diluya a 1 L. Debe tener cuidado para evitar contaminación por sodio, en especial debido al agua y a los utensilios de vidrio. Debe correrse un blanco para corregir el sodio que llegue a estar presente en el agua.
2. *Solución de estándar interno de LiNO_3 de 1 000 ppm de Li.* (No se requiere litio si se utiliza un instrumento de intensidad directa, y no uno de estándar interno.) Disuelva 0.99 g de LiNO_3 en agua y diluya a 100 mL.

²⁴ Se puede preparar una solución para almacenaje de 140 meq/L de Na y 4.1 meq de K (20 veces la concentración de la solución estándar) disolviendo 8.1 g de NaCl y 0.21 g de KCl en 1 L de agua. Esa solución contiene las concentraciones normales de Na y K en el suero, y compensa la interferencia por ionización, debida a esos elementos en el suero. Diluya esa solución 1:20 en los estándares.

3. Soluciones estándar de trabajo.²⁵

- a) **Instrumento de intensidad directa.** Prepare estándares de 0, 10, 20, 30 y 40 ppm de Na diluyendo a 50 mL: 0, 5, 10, 15, 20 y 25 mL de la solución stock de NaCl (sería mejor, con la ayuda de algunos instrumentos, preparar soluciones cinco veces más diluidas que las anteriores agregando 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mL de solución a los matraces. Se obtendría una curva de calibración más lineal. Siga las indicaciones de su profesor).
- b) **Instrumento de estándar interno.** Prepare las mismas soluciones que se usaron para el instrumento de lectura directa, pero agregue 5 mL de la solución stock de litio a cada matraz (con esto la concentración de Li en cada solución será de 100 ppm. La concentración recomendada puede variar de un fabricante a otro, por lo que su profesor le podrá decir que agregue una cantidad diferente).

Antes del experimento

Seque el NaCl a 120°C durante 1 h y enfríelo en un desecador.

Procedimiento

Pida a su profesor el problema en un matraz aforado de 100 mL.

1. *Instrumento de lectura directa.* Diluya su problema con agua hasta la marca. Siga las instrucciones de su profesor para manejar el instrumento. Se pueden usar varios instrumentos de absorción atómica para medir la emisión. Ajuste la lectura a cero aspirando agua destilada (el blanco). Aspire cada estándar y el problema y registre sus intensidades de emisión. Con algunos instrumentos se ajusta la indicación de 100% con el estándar más concentrado.

Use una hoja de cálculo para graficar las lecturas de emisión de los estándares en función de la concentración y determine la concentración de la solución problema a partir de la curva de calibración. Con ella, calcule los microgramos de sodio en su problema si es de agua y las ppm o meq/L si se trata de suero (véase la nota 25 al pie).

2. *Instrumento de estándar interno.* Agregue la misma cantidad de solución de litio a su problema que la que adicionó a sus estándares y diluya con agua hasta el aforo. Siga las instrucciones de su profesor acerca del manejo del instrumento. La línea de emisión del litio está a 670.8 nm. Prepare una curva de calibración como la anterior para el instrumento de lectura directa, pero anote la relación Na/Li de las intensidades. Determine la concentración del sodio en la solución problema y presente los microgramos de sodio en el problema si es agua y las ppm o meq/L si es suero (véase la nota 25 al pie). Use una hoja de cálculo como la que se describió en el capítulo 20 para la gráfica y los cálculos con el estándar interno.

²⁵ Puede ser que el problema sólo sea una solución de cloruro de sodio, o podría tratarse de un suero. Si se analiza suero deben prepararse estándares dentro de un intervalo de concentraciones más estrecho para enmarcar mejor al problema. El sodio en suero (unos 140 meq/L o 3 200 ppm de Na) se puede determinar por dilución simple 1:100 (p. ej., 0.1 mL diluido a 10 mL), o 1:500, si así lo requiere el instrumento. Una muestra problema alternativa es la del “suero artificial”, que se prepara disolviendo las siguientes sales en agua, y diluyendo a 1 L:

NaCl	8.072 g
KCl	0.21 g
KH ₂ PO ₄	0.18 g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.37 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.25 g

Esta solución contiene 138.1 meq/L de Na, que puede variarse de un problema a otro. Se podrá agregar albúmina de suero bovino (60 g/L) como fuente de proteínas. El suero contiene un 6% (peso/peso) de proteínas.

Cromatografía

EXPERIMENTO 31 SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE AMINOÁCIDOS EN CAPA DELGADA

Principio

Los aminoácidos se separan en una placa cromatográfica de capa delgada, por ejemplo de gel de sílice, mediante una selección de dos disolventes para su elución. El reactivo que se usa como revelador es ninhidrina.

Soluciones y reactivos necesarios

Suministrados

- a) Eluyente.** Núm. 1: alcohol butílico-ácido acético-agua (80:20:20, vol/vol);
núm. 2: alcohol propílico-agua (7:3, vol/vol).
- b) Revelador.** Solución de ninhidrina: ninhidrina 3% (1,2,3-tricetohidrindeno, Eastman núm. 2495) al 0.3% en alcohol butílico que contenga 3% de ácido acético glacial.

Equipo de cromatografía

Hoja Fischer Scientific TLC Kit A u hojas equivalentes para cromatografía en capa delgada, aspersor (para aplicar el reactivo), cámara de desarrollo (como el Fischer Scientific TLC Kit A: www.fisheredu.com o equivalente).

Procedimiento

Obtenga su mezcla problema. Las mezclas a separar contendrán aproximadamente 1 mg de cada aminoácido por mililitro de solución alcohólica 0.5 M en ácido clorhídrico (véase la descripción más adelante). Deposite aproximadamente 1 μ l de la solución de la muestra en la placa cromatográfica, a unos 2 cm del borde inferior (no es necesario activar la lámina para esta separación). El problema debe contener ácidos cuyos valores de R_f sean lo suficientemente distintos en el sistema de disolventes utilizados como para ser separados fácilmente. El profesor le asesorará en cuanto a qué soluciones estándar de aminoácidos podrá correr con su problema para distinguir entre dos aminoácidos que pudieran tener un valor de R_f cercano a uno de su mezcla. Deje secar 15 a 20 min para asegurar la evaporación completa del ácido clorhídrico.

Corra la placa de su cromatograma en el disolvente seleccionado para una distancia aproximada de 10 cm o durante unos 90 min (véase la lista de valores de R_f en la tabla de la página 781 y siga las instrucciones del profesor para seleccionar el disolvente adecuado para su mezcla problema). Seque la lámina con el cromatograma desarrollado y rocíela con la solución de ninhidrina. Caliente suavemente durante varios minutos, hasta que aparezcan claramente visibles las zonas separadas.

Resultados

La tabla referida muestra los valores de R_f aproximados obtenidos cuando los dos sistemas de disolventes se utilizan para la separación de 13 aminoácidos diferentes. De esta tabla y de los ácidos estándar que corra, determine qué aminoácidos están presentes en su problema.

Comentario

Debido a la limitada solubilidad de diversos aminoácidos, se debe tener mucho cuidado en la preparación de la muestra antes de aplicar la cromatografía. En el procedimiento se sugiere el uso de HCl 0.5 M alcohólica. Sin embargo, quizá se requiera añadir cantidades suficientes de agua para lograr la solubilidad. Cuando éste sea el caso, es de gran importancia mantener un pequeño punto de aplicación y permitir suficiente tiempo para completar la evaporación de los solventes del punto de aplicación antes de iniciar el desarrollo.

Cuando se requiere un mayor grado de resolución es posible mejorar los resultados haciendo uso de la técnica de elución en dos dimensiones. El punto de aplicación que contiene los componentes por separar se coloca en la esquina inferior izquierda de una placa de 20×20 cm, a 2 cm de cada orilla. La lámina se eluye en la forma normal, se retira y se seca. A continuación se gira 90° en contra del sentido en el que giran las manecillas del reloj y se corre otra vez en un sistema diferente de disolventes para separar componentes que no se resolvieron en la primera migración.

Los valores R_f de los aminoácidos separados dependen de varios factores, como las concentraciones de aminoácidos y otros componentes en la mezcla problema. Por esta razón los estándares que se usan deben ser lo más parecidos posible a las muestras reales.

El revelado con ninhidrina tiene límites de detección que pueden variar de 0.01 a 0.5 μg , dependiendo de los aminoácidos en particular y del método de separación empleado. Se puede lograr cierto grado de estabilización del color de la ninhidrina rociando la placa cromatográfica con la siguiente solución: 1 mL de solución acuosa saturada de nitrato de cobre disuelto en 0.2 mL de ácido nítrico al 10% en 100 mL de etanol (al 95%). A continuación la placa se expone a vapores de amoníaco y se obtiene un complejo rojo de cobre. El color es estable sólo en ausencia de ácidos.

<i>Aminoácido</i>	<i>Valor de R_f aproximado, disolvente de elución núm. 1</i>	<i>Valor de R_f aproximado disolvente de elución núm. 2</i>
Alanina	0.29	0.50
Arginina (monoclorhidrato)	0.15	0.15
Asparagina	0.20	0.43
Cistina	0.12	0.22
Ácido glutámico	0.33	0.40
Glicina	0.22	0.39
Leucina	0.57	0.69
Lisina	0.10	0.20
Metionina	0.47	0.63
Serina	0.25	0.45
Triptófano	0.55	0.71
Tirosina	0.52	0.69
Valina	0.40	0.60

EXPERIMENTO 32 ANÁLISIS DE UNA MEZCLA TERCIARIA CON CROMATOGRAFÍA DE GASES

Principio

Se separa una mezcla de pentano, hexano y heptano por cromatografía de gases. Se pueden usar varios tipos distintos de columna y se obtendrán resultados satisfactorios si se usa un detector simple de conductividad térmica o de alambre caliente. Se calibra la respuesta del instrumento para cada compuesto corriendo el análisis de una mezcla estándar de los compuestos. El orden de separación se determina corriendo los compuestos individuales.

Un experimento alternativo es analizar una mezcla de dos componentes, por ejemplo *n*-hexano y *n*-heptano, y usar *n*-pentano como estándar interno.*

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministrados.* Acetona
2. *Preparados.* Mezcla estándar. Prepare la siguiente mezcla estándar: *n*-pentano (5.00 mL), *n*-hexano (10.0 mL) y *n*-heptano (15.00 mL). Todas las mezclas deben prepa-

* *N. del R. T.* La “*n*” para indicar la linealidad de una molécula hidrocarbonada en realidad no se necesita. Véase R. B. Fox, W. H. Powell. *Nomenclature of organic compounds, principles and practice*. Oxford University Press y American Chemical Society. E. U. A., 2001, capítulo 2.

rarse el día en que se van a usar y guardarse en frascos con tapón de plástico. También se pueden pesar los estándares y presentar los resultados como peso/peso (o usar las densidades para calcular los pesos con los volúmenes).*

Precaución. Tenga mucho cuidado para no dañar las jeringas Hamilton. Estas jeringas requieren limpieza y manejo adecuados para producir resultados consistentes. Después de cada uso saque el émbolo, lávelo cuidadosamente con acetona y déjelo secar. Inserte la jeringa a través de un tapón septum colocado en uno de los extremos de un tubo de vidrio y en el otro extremo inserte una jeringa limpia que contenga acetona. Fuerce la acetona a través del tubo y la jeringa sucia hasta que la limpie. Séquela succionando aire por el barril de la jeringa con un aspirador de agua. El vidrio parecerá opaco cuando esté completamente seco.

Procedimiento

Pida al profesor una mezcla problema. Repase las instrucciones del instrumento y del profesor acerca del funcionamiento del cromatógrafo. No haga ajustes por temperatura. Use la jeringa adecuada para el instrumento, obtenga cromatogramas de cada componente por separado de la mezcla: tres cromatogramas de su mezcla estándar y tres cromatogramas de su problema.

Al obtener los datos necesarios, deje el instrumento en las condiciones que le indique su profesor. Es de gran importancia disminuir el flujo de gas y el ajuste de las condiciones del filamento en un estado de reposo (*stand-by*). También limpie, enjuague y seque con acetona todas las jeringas y viales.

Análisis de los datos

Las áreas de los máximos en las curvas cromatográficas son iguales a la altura por el ancho a la mitad de la altura.²⁶ Haga las mediciones con una regla en milímetros. Es posible que su instrumento imprima las áreas de los máximos para cada compuesto, en cuyo caso utilícelas.

Los componentes individuales se reconocen por las posiciones de sus máximos con respecto al origen (el tiempo de retención).

La mezcla estándar se usa para la calibración cuantitativa. Como el detector no tiene respuestas iguales para todos los compuestos, se debe determinar un factor de calibración para cada uno usando la mezcla estándar. Una forma sencilla de calibrar consiste sólo en comparar directamente el área absoluta del máximo para cada compuesto y su porcentaje en la mezcla. Así, si con 25% del compuesto A se obtiene un área del máximo de 40, entonces para ese compuesto, un área del máximo de 80 correspondería a 50%. Es obvio que la máxima exactitud se obtendría preparando una curva de calibración del área en función de porcentaje del compuesto dentro de un intervalo de porcentajes para cada compuesto. Esto compensaría el hecho de que el volumen neto de un volumen total determinado de los componentes individuales pueda variar con la composición.

A partir del promedio de las áreas cromatográficas medidas para cada compuesto en el problema, calcule el porcentaje de volumen promedio de cada compuesto.

* N. del R. T. Quizá la idea de pesar las muestras no sea la mejor debido a que, si se necesita trasvasar o si es un día muy caluroso, los hidrocarburos podrían registrar pérdidas por evaporación, en especial el pentano debido a su muy alta volatilidad.

²⁶ En vez de determinar las áreas bajo los máximos y usarlas en los cálculos, un método algo más exacto consiste en fotocopiar primero los cromatogramas y a continuación recortar cuidadosamente con tijeras el área de los máximos. A continuación se pesan estas piezas en una balanza analítica y estos pesos son los que se usan en los cálculos. Si usa estos métodos, presente los recortes en su informe. No obstante, el método preferido seguirá siendo el de integración electrónica.

Calibración con estándar interno

El profesor podrá darle un problema de dos componentes, *n*-hexano y *n*-heptano, e indicarle que agregue *n*-pentano a todas las soluciones como estándar interno. En este caso, prepare los estándares como lo hizo anteriormente, pero para el problema tome 25.00 mL y agregue 5.00 mL de *n*-pentano. Calcule las relaciones de área del analito/área del *n*-pentano para la calibración. Vea una descripción del uso de estándares internos en el capítulo 20.

EXPERIMENTO 33 ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE VITAMINA C EN JUGOS DE FRUTAS, USANDO CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICIENCIA²⁷

Principio

Se someten a cromatografía directamente muestras de diversos jugos en una columna de intercambio aniónico de bases fuertes usando un detector de UV a 254 nm. Por comparación de los tiempos de retención con el de un estándar de vitamina C (ácido *l*-ascórbico) se determina la presencia o ausencia de vitamina C. Para la determinación cuantitativa de la concentración de vitamina C en los jugos que la contienen se usan las mediciones de las áreas de los máximos.

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Solución de la fase móvil (1.36 g de KH_2PO_4 /L de agua destilada desionizada), ácido *l*-ascórbico.
2. *Preparados.* Estándar de vitamina C. Pese 50 mg de ácido *l*-ascórbico con una exactitud de 0.1 mg, páselos a un matraz aforado de 50 mL y disuélvalos, y afore con agua destilada desionizada. Prepare esto el día en que se va a usar. Se trata de una solución al 0.1%. Prepare una serie de diluciones con ella para obtener estándares de 0.05 y 0.02%.

Procedimiento

1. *Calibración.* Pida a su profesor las instrucciones para manejar el instrumento, incluyendo la atenuación adecuada. Tendrá una columna con una resina intercambiadora de aniones fuertemente básica. A una presión típica de 1 000 psi, la rapidez de flujo aproximada será de 0.5 mL/min.
Use una jeringa de 10 o de 25 μL e inyecte una alícuota de 10 μL del estándar de vitamina C al 0.02% y registre el cromatograma. Repita con los estándares de 0.05 y 0.1%. Mida los tiempos de retención y las áreas. Las áreas de los máximos se pueden obtener multiplicando su altura por el ancho a la mitad de su altura. También se pueden recortar y pesar los máximos, o bien el instrumento podrá imprimir las áreas integradas. Use una hoja de cálculo y trace una curva de calibración del área de los máximos en función de la concentración.
2. *Problema.* Se le darán tres o más jugos problema. Pueden ser bebidas comerciales, jugo de naranja, etc. Inyecte porciones de 10 μL y registre los cromatogramas. Se podrán obtener varios picos. Si tiene tiempo, corra al menos dos cromatogramas de cada uno. Comparando los tiempos de retención, identifique los jugos que contienen vitamina C. Mida las áreas de los máximos de vitamina C, y con la curva de calibración, determine e informe las concentraciones de los problemas. Si se corrieron dos o más cromatogramas de los problemas, dé a conocer la concentración promedio y la desviación estándar si fueron más de dos. El máximo de la vitamina C podrá estar parcialmente encimado con otro. En ese caso, extrapole hasta la línea de base y mida el área a partir de la línea de base.

²⁷ La forma oxidada del ácido ascórbico, el ácido desoxiascórbico, no absorbe en la región UV, y no se detecta con este método. Para obtener resultados más cuantitativos, las muestras se deben tratar con un reductor, como H_2S [vea Roe et al., *J. Biol. Chem.*, **174** (1984) 201] para reducir todo el ácido desoxiascórbico que haya.

EXPERIMENTO 34 ANÁLISIS DE ANALGÉSICOS USANDO CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICIENCIA

Principio

Se determinan las composiciones de analgésicos comerciales como Bufferin, Anacin, Empirin y otras marcas de tabletas de aspirina comparando sus cromatogramas con los de muestras estándar de aspirina, fenacetina y cafeína. El contenido de aspirina en cada marca se determina cuantitativamente comparando las áreas de sus máximos con las de los estándares. Las separaciones se hacen en una columna intercambiadora de aniones fuertes usando un detector de UV.

Soluciones y reactivos requeridos

1. *Suministradas.*²⁸ Aspirina (ácido acetilsalicílico), fenacetina (acetofenetidina), cafeína (teína; 1,3,7-trimetilxantina), metanol, solución de la fase móvil (borato de sodio 0.01 M + nitrato de amonio 0.005 M). Vea las estructuras de la aspirina, la fenacetina y la cafeína en el experimento 26.
2. *Preparadas.*²⁹
 - a) **Soluciones stock de aspirina, fenacetina y cafeína.** Pese 50 mg de fenacetina y de cafeína con una exactitud de 1 mg y transfíralas a matraces aforados de 50 mL etiquetados. Disuelva en metanol y diluya hasta el aforo. Pese unos 150 mg de aspirina con una exactitud de 0.1 mg, transfíralos a un matraz aforado de 50 mL, disuelva en metanol y diluya hasta el aforo con metanol. Prepárelas el día en que la va a usar.
 - b) **Estándares de trabajo de aspirina.** Prepare una serie de diluciones con la solución stock de 300 mg/dL, para obtener estándares de aproximadamente 200, 100 y 50 mg/dL en metanol.

Procedimiento

1. *Calibración.* Pida a su profesor instrucciones para manejar el instrumento, incluyendo la atenuación adecuada para cada muestra. El aparato tendrá una columna con resina intercambiadora fuertemente aniónica. A una presión habitual de operación de 1 000 psi, la rapidez de flujo será alrededor de 0.5 mL/min.
Use una jeringa de 5 o 10 μ L para inyectar una alícuota de 5 μ L de cada solución estándar de 100 mg/dL para obtener cromatogramas de aspirina, fenacetina y cafeína. De igual modo, obtenga los cromatogramas de la serie de estándares de aspirina (un cromatograma para cada uno, a menos que tenga tiempo para más).
Mida los tiempos de retención. Para los cromatogramas de aspirina también mida las áreas. Las áreas de los máximos se podrán obtener multiplicando la altura por el ancho a la mitad de la altura. De la misma manera, los picos se pueden recortar y pesar, o bien el instrumento podrá imprimir las áreas integradas. Use una hoja de cálculo para graficar una curva de calibración del área de los máximos en función de concentración.
2. *Problemas.* Se le darán unas seis o siete tabletas de aspirina de diversas marcas, entre ellas de la marca Bayer y Bufferin, por ejemplo. Prepare las soluciones de cada una en metanol moliendo las tabletas con mortero y pistilo y pesando unos 175 mg con una exactitud de décimas de miligramo. Transfíralas a matraces volumétricos de 50 mL y disuélvalas en metanol diluyendo hasta la marca del aforo. Mezcle bien y deje que se sedimente el residuo durante unos 10 minutos. A continuación obtenga los cromatogramas como se describió antes. Cada cromatograma tardará 10 a 15 min.

²⁸ La cafeína y la fenacetina se consiguen con Sigma-Aldrich.

²⁹ La aspirina tiende a descomponerse en solución, por lo que las mediciones deben hacerse tan pronto como sea posible después de preparar las soluciones.

Por comparación de los tiempos de retención, identifique los componentes de cada analgésico. Mida las áreas de los picos de aspirina y con la curva de calibración calcule e informe las concentraciones en las diversas tabletas. Si hay algún traslapo del pico de la aspirina con otro, extrapole a la línea de base y mida el área desde la línea de base. Si corrió dos cromatogramas, señale la concentración promedio.

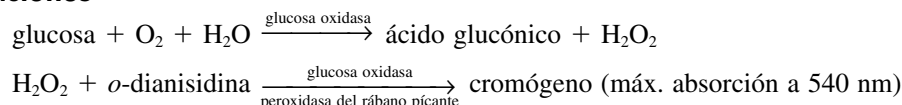
Análisis cinético

EXPERIMENTO 35 DETERMINACIÓN ENZIMÁTICA DE GLUCOSA EN SANGRE³⁰

Principios

Se prepara un filtrado libre de proteínas obtenido con una muestra de 0.5 mL de sangre entera, suero o plasma precipitando las proteínas con hidróxido de zinc. La glucosa en una alícuota de ese filtrado se hace reaccionar con una mezcla de las enzimas glucosa oxidasa y peroxidasa de rábano picante, y el peróxido de hidrógeno producido se acopla con *o*-dianisidina, un donador cromogénico de hidrógeno, con objeto de que se genere una coloración cuyo máximo de absorción está en 540 nm.

Ecuaciones



Soluciones y reactivos necesarios³¹

1. Suministrados.

- Solución de sulfato de zinc al 2.2% (a partir de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); H_2SO_4 3 M.**
- Solución saturada de hidróxido de bario.** Agregue unos 80 g de $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ a 1 L de agua hirviendo. Interrumpa el calentamiento, coloque un tapón con una trampa de cal sodada, mezcle muy bien y *deje reposar durante varios días para que se sedimente*. A 25°C, la solución será aproximadamente 0.22 M.
- Solución de hidróxido de bario 0.06 M.** Diluya 270 mL de la solución saturada de hidróxido de bario a 1 L con agua libre de CO_2 (hervida y enfriada). De esta solución se necesitará un volumen de 9.00 ± 0.10 mL para neutralizar 10.00 mL de la solución de sulfato de zinc. Haga la prueba agregando 10.00 mL de sulfato de zinc y 25 mL de agua a un matraz Erlenmeyer de 100 mL, agregue dos gotas de solución de fenolftaleína al 0.2% en alcohol y titule con la solución de hidróxido de bario hasta llegar a un color rosa débil pero permanente. Diluya una de las dos soluciones hasta la equivalencia adecuada.

2. Preparados.

- Solución amortiguadora de glicerina, pH 7.0.** Disuelva 0.35 g de Na_2HPO_4 y 0.21 g de KH_2PO_4 en 60 mL de agua y agregue 40 mL de glicerina grado reactivo.
- Reactivo de enzima.** Muela 250 mg de glucosa oxidasa, 5 mg de peroxidasa de rábano picante y 1 mL de la solución amortiguadora con glicerina, en un mortero limpio y seco. Páselos a una probeta graduada de 100 mL lavando con la solución amortiguadora con glicerina y afore a 100 mL con esta misma solución. Filtre recibiendo en un matraz limpio y seco. La filtración se facilita si se usa un embudo Büchner con una ligera succión.

³⁰ Vea la nota 32 al pie, en la siguiente página, acerca de los problemas acuosos.

³¹ Hay reactivos disponibles en el comercio, lo cual elimina gran parte de la preparación de soluciones.

Disuelva 10 mg de *o*-dianisidina en 1.0 mL de metanol absoluto agitando en forma intermitente. Vierta en una botella ámbar y agregue la solución enzimática filtrada. Vierta rápidamente la porción inicial para evitar la precipitación del cromógeno. Este reactivo es estable durante tres semanas, cuando se guarda en refrigeración.

- c) Estándares de glucosa.** Prepare una solución stock al 1% disolviendo 1 g (pesado con exactitud) de glucosa grado reactivo secada en la estufa (a 110°C durante 1 h) en agua, y diluyéndola con una solución de ácido benzoico al 0.25% en un matraz aforado. El ácido benzoico funciona como preservativo.

Prepare estándares de trabajo que contengan 100, 200, 300 y 400 mg de glucosa por 100 mL diluyendo la solución stock con ácido benzoico a 0.25% (esto es, 5.0, 10.0, 15.0 y 20.0 mL diluidos a 50 mL).

Antes del experimento

Seque la glucosa a 100°C durante 1 h y enfríela en un desecador.

Procedimiento

Con una pipeta agregue 0.5 mL de la muestra de sangre, suero o plasma³² a un matraz Erlenmeyer de 50 mL y agregue 4.5 mL de solución de hidróxido de bario 0.06 M. Agite para mezclar y a continuación agregue lentamente 5.00 mL de solución de sulfato de zinc al 2.2%. Mezcle cuidadosamente y deje reposar 5 min. Filtre recibiendo en un matraz seco, o centrifugue en un tubo seco.

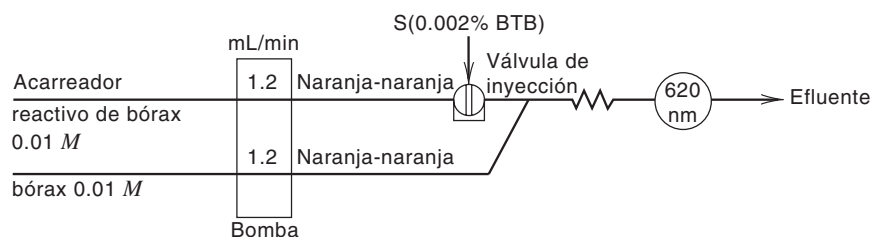
Prepare un filtrado en blanco y filtrados estándar de la misma manera usando 0.5 mL de agua para el blanco y alícuotas de 0.5 mL de los estándares de trabajo.

Adicione con una pipeta una alícuota de 0.2 mL de cada uno de los filtrados en tubos de ensayo limpios y secos, y a intervalos de 30 s agregue 1.00 mL del reactivo de la enzima. De inmediato coloque los tubos en un baño de agua a 37°C (las reacciones pueden durar 45 min a temperatura ambiente, con cierta pérdida de sensibilidad). Corra alícuotas del filtrado problema por duplicado. Después de exactamente 30 min, saque los tubos uno por uno (a intervalos de 30 s) y agregue a cada uno 50 mL de H₂SO₄ 3 M.³³ El ácido sulfúrico detiene completamente la reacción enzimática.

Después de 5 min, *pero* antes de 1 h, determine la absorbancia de las soluciones a 540 nm usando el blanco como referencia. Use una hoja de cálculo para trazar una curva de calibración, e informe los miligramos de glucosa/dL de su muestra.

Análisis por inyección de flujo

EXPERIMENTO 36 CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DE UN SISTEMA DE INYECCIÓN AL FLUJO



³² Se pueden usar preparaciones comerciales estándar séricas de control (como Versatol). Se pueden conseguir preparaciones con concentraciones “anormales” de glucosa, por lo que se puede cubrir el intervalo entre las concentraciones normales (90 mg/dL) a anormales (300 mg/dL).

Alternativamente, se pueden usar problemas con glucosa acuosa, en cuyo caso se elimina el paso de la precipitación de las proteínas y se adicionan 9.5 mL de agua en lugar del hidróxido de bario y la solución de sulfato de zinc.

³³ La reacción es de pseudoprimer orden a bajas concentraciones de glucosa, pero se observa menor rapidez a altas concentraciones de glucosa. Así, la absorbancia puede no ser una función lineal del tiempo de incubación en altas concentraciones.

Principios

El objetivo de este experimento es aprender el funcionamiento del aparato de inyección de flujo y estimar: a) la rapidez de flujo de las corrientes acarreadoras y del reactivo; b) los volúmenes del circuito de inyección de la muestra y de los canales de flujo; c) la dispersión $D^{\text{máx}}$ del tapón de la muestra en el máximo del pico (de dos líneas y de una sola línea), y d) la frecuencia máxima de muestreo. En todos los experimentos se usa el sistema de dos líneas, excepto para un experimento de una sola línea de dispersión.

Ecuaciones

$$D = C^0/C = H^0/H$$
$$D^{\text{máx}} = C^0/C^{\text{máx}} = H^0/H^{\text{máx}}$$

H^0 es la señal registrada de estado estacionario para la muestra pura, y $H^{\text{máx}}$ es el máximo del pico registrado para la muestra inyectada.

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Suministrados.* Solución stock de bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 0.1 M, solución stock de azul de bromotimol (BTB) al 0.4% (peso/vol) (0.4 g disueltos en 25 mL de etanol al 96% y llevados a 100 mL con bórax 0.01 M). **NOTA:** No debe inyectarse el azul de bromotimol en solución ácida porque la forma ácida del indicador se adsorbe sobre el tubo de plástico.
2. *Preparados.* Diluya 100 mL de solución de bórax 0.1 M a 1 L para preparar la solución de trabajo 0.01 M. Diluya 1 mL de la solución de azul de bromotimol a 10.4% a 200 mL con la solución de bórax 0.01 M. Esta solución de azul de bromotimol al 0.002% será la solución de trabajo. La absorbancia de esta solución en una celda de 1 cm de longitud es 1.2, aproximadamente.

Ensamble de los aparatos

Ensamble los tubos de la bomba peristáltica, el inyector, el reactor y el detector según se describa en el manual de operación del instrumento o como le indique su profesor. Habrá tres tubos de bomba peristáltica: uno para el acarreador (0.89 mm d.i., topes con código de colores naranja-naranja), uno para el reactivo (0.89 mm d.i., naranja-naranja) y uno para la muestra (0.89 mm d.i., naranja-naranja).

Conecte el tubo de muestreo a la entrada del circuito de inyección y el tubo de la bomba de muestra a la salida del circuito (la muestra será succionada al circuito mediante la bomba).

Procedimiento

1. *Verificación del sistema de flujo.* Encienda el detector y el registrador y deje que se calienten. Llene la botella del acarreador y la del reactivo con la solución de borato de sodio 0.01 M. Llene un vaso pequeño hasta aproximadamente la mitad con la solución de azul de bromotimol al 0.002%. Coloque los tubos en las botellas que les corresponden. Coloque el inyector en la posición de carga y encienda la bomba peristáltica. Los canales se llenarán y la solución saldrá a la botella de los desechos (efluente). La solución azul con la muestra llenará el circuito inyector de la muestra. Deje correr el flujo hasta que todas las burbujas de aire hayan salido. **NOTA:** En ocasiones podrá quedarse atorada una burbuja de aire en el detector, que se indica por una deflexión en el registrador. Ésta puede removerse en forma conveniente si se introduce una burbuja de aire grande en la corriente de arrastre, sacando momentáneamente de la solución el tubo del acarreador.

Ajuste el detector a 620 nm. La muestra inyectada debe producir un máximo de aproximadamente 0.15 de absorbancia con una celda de 1 cm de longitud de trayectoria de flujo. Ajuste su registrador (de papel de gráfica o de computadora; use una velocidad de carta de 0.5 cm/s en el registrador) para adaptarse a este intervalo. Al tiempo que bombea el acarreador gire la válvula de inyección a la posición de inyectar. Ob-

serve el tapón azul de la muestra conforme pasa a través de los canales. Si la muestra se continúa aspirando (hacia los efluentes) en la posición inyectar de la válvula, para ahorrar muestra se puede sacar el tubo de muestreo de la solución de la muestra para aspirar aire. Cuando el aire llegue al detector habrá una deflexión seguida por un retorno a la línea de base. Si es necesario, ajuste la sensibilidad de registro para que la deflexión ocupe más o menos las dos terceras partes de la escala completa. Después de que la muestra ha pasado por el detector, gire la válvula a la posición carga para volver a llenar el circuito de la muestra. Continúe el flujo hasta que la muestra llegue al extremo del tubo de los efluentes del inyector (esto asegura el lavado correcto del circuito de muestra con la nueva muestra) y entonces inyecte la muestra y registre el pico. Continúe con varias inyecciones en esta forma hasta verificar que el sistema esté funcionando de manera correcta, que el detector no se vaya a la deriva y que se obtengan picos reproducibles. Entonces todo estará listo para efectuar el experimento.

2. *Determinación de la rapidez de flujo.* Llene una probeta graduada de 10 mL con agua destilada, anote el volumen e introduzca en ella el tubo del acarreador. Encienda la bomba y al mismo tiempo ponga en marcha un cronómetro (o comience a tomar el tiempo con un reloj). Bombee durante 5 min, saque el tubo y apague la bomba. Anote el volumen de agua que queda en la probeta. Calcule la rapidez del flujo en mililitros por minuto.

Haga una determinación similar para el flujo de reactivo y después para el flujo de la muestra (inyector en la posición de carga).

Por último, mida la rapidez de flujo de la corriente del efluente proveniente del detector, colectando el efluente durante 5 min.

Si en todos los canales se usa tubo de bombeo de diámetro interno igual, la rapidez de flujo será similar. Asimismo, la rapidez de flujo de la corriente de efluente debe ser la suma de la rapidez de flujo combinada de las corrientes del acarreador y del reactivo.

Tenga en cuenta que la rapidez de flujo es directamente proporcional al cuadrado del radio interno de un tubo de bombeo, y entonces los flujos se pueden ajustar adecuadamente cambiando los tubos de bombeo (es decir, el flujo es proporcional al área de la sección transversal, πR^2).

3. *Estimación del volumen del circuito de bombeo.* Con la bomba trabajando, ponga la válvula en la posición de carga y remueva de la muestra el tubo de muestreo. De este modo se permitirá que el circuito de bombeo se llene de aire. A continuación inserte el tubo en la solución de la muestra, y con un cronómetro mida el tiempo que pasa desde que la muestra comienza a entrar en el circuito hasta que sale del mismo. Haga varias veces esta determinación y calcule el promedio. Conociendo la rapidez del flujo de la muestra, determinado antes, y el tiempo medido para llenar el circuito, calcule el volumen de la muestra en el circuito, en microlitros. **NOTA:** El resultado será una estimación, y no comprenderá el volumen muerto de los huecos en el rotor del inyector, con los que está conectado el circuito.
4. *Estimación del volumen del sistema de flujo.* Llene el circuito de muestra con aire e inyecte el aire al acarreador. Mida el tiempo que se tarda en llegar al punto de unión de las corrientes de portador y de reactivo. Conociendo la rapidez de flujo del acarreador, que se determinó antes, y el tiempo medido, calcule el volumen desde la válvula de inyección hasta el punto de unión, en microlitros. Haga una determinación similar, pero mida el tiempo en que el aire va desde el punto de unión hasta el detector. Conociendo el flujo combinado de las corrientes de acarreador y reactivo en el módulo del reactor, determinados antes, y el tiempo medido, calcule el volumen desde la entrada al módulo del reactor hasta el detector, en microlitros.
5. *Determinación del tiempo muerto total.* Con el registrador en funcionamiento, inyecte una muestra y al mismo tiempo ponga en marcha el cronómetro. Mida el tiempo que tarda la muestra en llegar al detector, es decir, el tiempo para que el registrador comience a moverse. Esto representa el tiempo muerto desde la inyección hasta la medición inicial.

6. *Tiempo para lavar el tubo de muestreo y el circuito de la muestra.* Al inyectar muestras diferentes será necesario lavar por completo la muestra anterior del tubo de muestreo y del circuito de inyección. Determine el tiempo necesario para que justo se lave la muestra anterior, introduciendo aire al tubo y volviendo a conectar el tubo a la solución de muestra con la bomba funcionando. Mida el tiempo que tarda la solución de la muestra en alcanzar y llenar el circuito de la muestra. Use cuando menos tres veces ese tiempo para inyectar cada muestra en todos los experimentos en un futuro para permitir un lavado adecuado del circuito con la nueva muestra.

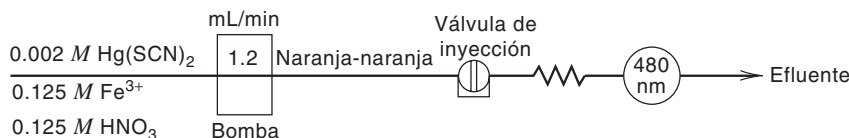
Conociendo la rapidez del flujo de la muestra, calcule también el volumen de solución necesario para lavar la línea.

7. *Determinación de la dispersión: sistema de dos líneas.* Ajuste la sensibilidad de registro para que el pico de una muestra inyectada ocupe más o menos la quinta parte de la escala total. Haga varias inyecciones de la muestra y determine la altura promedio del máximo. Ésta representa $H^{\text{máx}}$. Apague la bomba e inserte el tubo del acarreador y el tubo del reactivo en la solución de la muestra. Encienda la bomba y registre la señal hasta que se alcance un estado estacionario para ésta. Esto representa H^0 . **NOTA:** También se puede determinar H^0 insertando el tubo de salida del efluente en la solución de muestra e invirtiendo el flujo de la bomba para llenar la celda con solución de muestra. Calcule la dispersión a la altura del máximo, $D^{\text{máx}}$. **NOTA:** Si se registra la transmitancia en lugar de la absorbancia, convierta las lecturas a absorbancia para calcular $D^{\text{máx}}$.
8. *Determinación de la dispersión: sistema de una sola línea.* Determine también la dispersión clausurando el tubo de reactivo para convertirlo en un sistema de una sola línea; remueva el tubo de la bomba. Determine la dispersión como se mencionó antes y compárela con la del sistema de dos líneas.
9. *Determinación de la frecuencia máxima de muestreo.* Amplíe 10 veces el eje de tiempo de registro. Inyecte una muestra y registre la subida y bajada del máximo. Mida la distancia de línea de base a línea de base en el máximo y convierta ésta a segundos. Esto representará el tiempo mínimo entre inyecciones. Informe de la frecuencia máxima de muestreo en muestras por hora.

Al final del experimento lave cuidadosamente el sistema bombeando agua destilada durante algunos minutos, incluyendo el lavado del tubo de muestreo y la válvula del circuito. A continuación libere los casetes y los tubos de la bomba. Si el sistema no se va a usar durante largo tiempo, el profesor le indicará que lo vacíe.

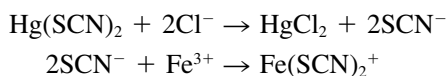
En su informe elabore una lista de todos los parámetros del instrumento y de las soluciones empleadas.

EXPERIMENTO 37 ANÁLISIS POR INYECCIÓN AL FLUJO (FIA) CON UNA SOLA LÍNEA: DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CLORUROS



Principio

El procedimiento analítico se basa en las siguientes reacciones:



La corriente acarreadora contiene $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ y $\text{Fe}(\text{III})$. El cloruro de la muestra inyectada reacciona con el $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ liberando SCN^- , que a su vez forma el ion complejo $\text{Fe}(\text{SCN})_2^+$ de color rojo con el $\text{Fe}(\text{III})$; este complejo se mide espectrofotométricamente a 480 nm. La altura del máximo de absorbancia registrado es, entonces, proporcional a la concentración de cloruro en la muestra. Además del $\text{Fe}(\text{SCN})_2^+$ se podrían formar otros iones com-

plejos (superiores) entre el Fe(III) y el SCN^- , causando desviaciones de la linealidad en la curva de calibración a concentraciones altas.

Efectúe primero el experimento 36 para caracterizar el sistema y aprender cómo usarlo, o cuando menos léalo.

Soluciones y reactivos necesarios

1. *Reactivo.* El medio de arrastre se prepara disolviendo 0.157 g de tiocianato de mercurio(II), 7.6 g de nitrato de hierro(III), 0.8 mL de ácido nítrico concentrado y 40 mL de metanol en agua, llevando el volumen final a 250 mL.
2. *Soluciones estándar.* Se preparan adecuadamente soluciones estándar en el intervalo de 5 a 75 ppm de Cl diluyendo una solución stock de 1 000 ppm de Cl (0.165 g de cloruro de sodio en 100 mL).

Procedimiento

Arme el aparato de inyección al flujo en el modo de una sola línea como indique el fabricante o el profesor. Use tubos de bombeo de 0.89 mm d.i. para el acarreador y para los tubos de la muestra (topes de código de color naranja-naranja en los tubos de bomba peristáltica). Eso le permitirá que la tasa de flujo aproximada sea 1.5 mL/min, usando 25 rpm en la bomba peristáltica.

Encienda el detector y déjelo calentar varios minutos para que se estabilice. Si usa monocromador, ajústelo en 480 nm (como el color producido es específico para el analito, se puede usar un sistema simple de fuente de luz visible-detector sin monocromador). Emplee inyecciones con la mayor concentración del estándar en el acarreador del reactivo bombeado para ajustar la sensibilidad del registro en aproximadamente 75% de deflexión. Use una velocidad de registro aproximada de 0.5 cm/s, si su instrumento registra sobre una carta de papel. Cada vez que se llene el circuito de inyección con una nueva solución, debe lavarlo cuando menos con tres volúmenes de circuito de la solución antes de llenarlo con la alícuota que se va a inyectar. Es decir, corra 100 μL a través de un circuito de 25 μL y pare.

La solución acarreadora del reactivo se bombea a través del sistema y los estándares individuales de cloruro se inyectan sucesivamente por triplicado, obteniéndose una serie de máximos para cada uno. Determine la precisión del procedimiento inyectando 10 veces un estándar sencillo (a la mitad del intervalo de concentraciones). Informe la desviación estándar relativa porcentual.

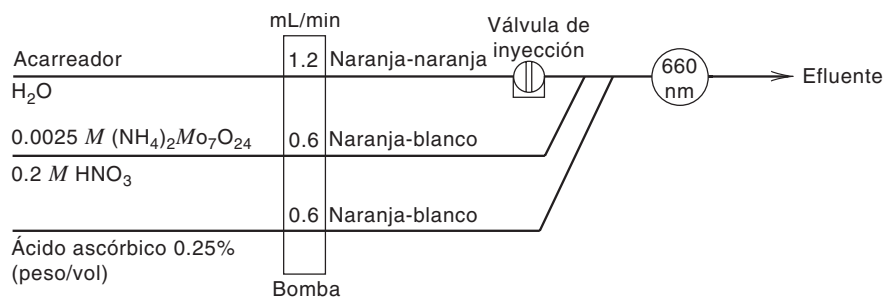
Pida una solución problema al profesor e inyéctela tres veces, cuando menos, para obtener una altura promedio de máximo.

Prepare una curva de calibración con los máximos registrados para las soluciones estándar, y con ella calcule la concentración de cloruro en la solución problema.

Al final del experimento lave cuidadosamente el sistema bombeando agua destilada durante algunos minutos. Incluya en el lavado el tubo de muestreo y la válvula del circuito. Después libere los casetes y los tubos de la bomba. Si no se va a usar el sistema durante largo tiempo se le pedirá vaciarlo.

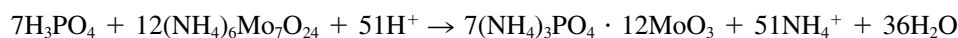
En su informe mencione todos los parámetros del instrumento y las soluciones empleadas.

EXPERIMENTO 38 ANÁLISIS POR INYECCIÓN AL FLUJO (FIA) CON TRES LÍNEAS: DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FOSFATO



Principio

El procedimiento analítico se basa en las siguientes reacciones:



Mo(VI) COMPLEJO AMARILLO + ácido ascórbico $\rightarrow$ Mo(V) – COMPLEJO AZUL

Se basa en el mismo procedimiento que el experimento 24. El acarreador es agua destilada. El reactivo 1 es una solución de heptamolibdato 0.0025 M. El reactivo 2 es una solución de ácido ascórbico al 5% (peso/vol) en una solución acuosa de glicerina al 10%. La glicerina ayuda a evitar que el complejo colorido se adhiera a las paredes de la celda de paso de flujo al inyectar la muestra en la corriente de acarreador. La muestra se mezcla sucesivamente con los reactivos y pasa por los serpentines de reacción. El fosfato de la muestra se combina con el heptamolibdato formando un complejo amarillo. Este complejo amarillo reacciona entonces con el ácido ascórbico, que reduce al molibdeno del estado +6 al estado +5, formando un complejo azul con una absorptividad extremadamente alta, el cual se mide espectrofotométricamente a 660 nm. La altura del máximo registrado es proporcional a la concentración del fosfato. La linealidad y pendiente de la curva de calibración dependen del grado en el que la reacción culmina, es decir, de cuánto complejo azul se haya formado. Esto es una función de la naturaleza cinética del procedimiento del análisis por inyección de flujo en el que puede ser que la reacción no llegue a su estado estacionario, sino sólo hasta cierta fracción del mismo debido a que se trata de una reacción lenta. El grado de avance de la reacción depende del sistema de reacción en particular. La adición de antimonio(III) cataliza la reducción por el ácido ascórbico.

Haga primero el experimento 36 para caracterizar y aprender cómo usar el sistema, o cuando menos léalo.

Soluciones y reactivos necesarios

Reactivo 1. En un matraz aforado de 100 mL coloque unos 50 mL de agua destilada y añada con cuidado 1.3 mL de ácido nítrico concentrado. A la mezcla agregue 0.39 g de heptamolibdato de amonio, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, y afore con agua destilada. Se obtiene así una solución de ácido nítrico 0.2 M y heptamolibdato 0.0025 M.

Reactivo 2. En un matraz aforado de 100 mL coloque 5 g de ácido ascórbico, unos 50 mL de agua destilada y 10 mL de glicerina. Mezcle con cuidado antes de aforar con agua destilada. De este modo se obtiene una solución de ácido ascórbico al 5% (peso/vol).

Soluciones estándar. Se preparan soluciones estándar de fosfato (como P) en el intervalo de 10 a 100 ppm de P mediante diluciones adecuadas de una solución stock de 100 ppm de P (0.440 g de KH_2PO_4 anhidro por litro).

Procedimiento

Ensamble el inyector, reactor y detector como indique el fabricante del instrumento o su profesor. Para los reactivos 1 y 2 debe usar tubos de bomba peristáltica con código de colores naranja-blanco (0.64 mm d.i.) y tubos naranja-naranja (0.89 mm d.i.) para el acarreador de H_2O y la muestra. La cantidad inyectada debe ser de unos 25 μl , que corresponde a una longitud aproximada de circuito de la muestra de 13 cm, usando tubo Micro-line de 0.5 mm de diámetro interno. Cada vez que se llene el circuito de inyección con una nueva solución se debe lavar al menos con tres volúmenes de circuito antes de llenarlo con la alícuota que se va a inyectar. Es decir, corra 100 μl a través de un circuito de 25 μl y después deténgase.

Encienda el detector y deje que se caliente durante varios minutos para estabilizarse. Si se usa un monocromador, ajústelo a 660 nm (ya que el color producido es específico

para el producto, que es el analito, se puede usar un detector de fuente de luz blanca visible sin monocromador). Use una velocidad de carta aproximada de 0.5 cm/s si el instrumento registra sobre una carta. Con el agua acarreadora y los dos reactivos bombeados, inyecte la solución estándar de mayor concentración. Ajuste la sensibilidad de registro para que con ese estándar la deflexión sea de 75%.

Injecte los estándares individuales de fosfato, uno tras otro y por triplicado, obteniendo así una serie de máximos para cada estándar. La precisión del procedimiento se determina inyectando 10 veces el estándar con 50 ppm. Informe la desviación estándar porcentual relativa.

Pida un problema a su profesor e inyéctelo cuando menos tres veces para obtener una altura promedio del máximo. Use una hoja de cálculo para preparar una curva de calibración con los máximos registrados para las soluciones estándar. De esta curva de calibración, calcule la concentración de fosfato en su solución problema.

Su informe debe incluir todos los parámetros de operación del instrumento, así como los reactivos y soluciones que usó para hacer el experimento.

Reacción catalizada

Puede aumentarse la sensibilidad de esta reacción usando un catalizador o aplicando técnicas de detención de flujo. El antimonio(III) cataliza la reacción, y se pueden analizar concentraciones de fósforo entre 1 y 10 ppm con este sistema sin necesidad de elevar la temperatura para aumentar la rapidez de la reacción (en realidad, la reacción no catalizada es bastante lenta y requiere hasta 10 min para completarse). Para llevar a cabo la reacción catalizada se prepara una solución stock de antimonio(III), colocando 1.10 g de tartrato de antimonio(III) y potasio, $\text{KSbOC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ en un matraz aforado de 100 mL y diluyendo hasta el aforo con agua destilada. De este modo se prepara una solución 0.033 M, o de 4 000 ppm de antimonio(III). De esta solución se agrega entonces una alícuota de 2.5 mL durante la preparación del reactivo 2 antes de diluir hasta la marca y con ello se obtiene una solución de ácido ascórbico al 5% que también posee 100 ppm de antimonio(III). Con diluciones adecuadas de la solución estándar de 100 ppm de fosfato se obtienen entonces concentraciones de 1 a 10 ppm. A continuación se corre el experimento del mismo modo que antes, sustituyendo la nueva solución de ácido ascórbico con antimonio y los nuevos estándares de fosfato. Se ajusta la sensibilidad del registrador usando el estándar con 10 ppm de P.

Procedimiento de apagado

Al final del experimento lave el sistema cuidadosamente bombeando agua destilada por *todos los tubos de la bomba* durante varios minutos. Después, libere las abrazaderas de los tubos de la bomba y libere los tubos de la bomba de alrededor de los rodillos de ésta. Si el sistema no se va a usar durante largo tiempo, el profesor le podrá indicar el procedimiento adecuado para vaciarlo.

Comparación con la espectrofotometría manual

En este experimento se corrieron mediciones, por triplicado, de cada estándar y del problema. ¿Cuánto tiempo tardó en hacer las mediciones (una vez preparados los reactivos)? Es probable que haya hecho algunos experimentos de fotometría. ¿Cuánto tiempo cree usted que pasaría para hacer la misma cantidad de determinaciones usando espectrofotometría convencional, teniendo en cuenta que la celda se debe lavar para hacer cada medición? ¿Cuánto reactivo se consumiría en cada determinación, en comparación con la cantidad que se usó en este experimento?

Experimentos en equipo

EXPERIMENTO 39 ESTUDIO DE VALIDACIÓN DE MÉTODO Y DE CONTROL DE LA CALIDAD

Objetivo

El profesor seleccionará un experimento para que los equipos hagan estudios de validación. Por ejemplo, el experimento puede ser uno de cromatografía de gases, como el experimento 32, pero para un analito. También una buena opción sería un experimento de análisis por inyección al flujo (FIA) como el experimento 37, porque se pueden hacer rápidamente varias mediciones. El equipo determinará *linealidad*, *exactitud*, *precisión*, *sensibilidad*, *intervalo*, *límite de detección*, *límite de cuantificación* y *robustez* (reproducibilidad) del método. Además se preparará una *gráfica* de control durante cuando menos una sesión de laboratorio. El profesor dará un estándar de referencia para usarlo en estudios de exactitud. Haga planes para terminar el estudio en dos sesiones de laboratorio. Se preparará y documentará un informe del método. Antes de comenzar el experimento se debe repasar “Validación del método”, en el capítulo 4.

Ecuación

Factor de respuesta (RF) = (señal – ordenada al origen)/concentración

Antes del experimento

Prepare las soluciones necesarias para efectuar el experimento seleccionado que no sean suministradas. Necesitará preparar varias concentraciones de estándares. Algunas de ellas podrán prepararse a medida que se hacen las diferentes etapas del experimento.

Procedimiento

Trabaje en equipos de cuatro personas. En el equipo trabajarán por parejas en las diferentes tareas para completar el proyecto. El *Equipo A* preparará la *curva de calibración* y determinará *linealidad*, *exactitud* y *reproducibilidad*. También prepararán la *gráfica de control*. El *Equipo B* determinará *precisión*, *sensibilidad*, *intervalo*, *límite de detección* y *límite de cuantificación* (las responsabilidades se pueden ajustar si convienen en ello los equipos y el profesor, haciendo un plan para terminar a tiempo). Todo el equipo preparará el informe, lo firmará y fechará. La calificación será colectiva para el equipo, teniendo en cuenta lo detallado y cuidadoso que haya sido, así como el informe. Es un buen ejercicio de trabajo en equipo.

Equipo A

Preparación de la curva de calibración. Es preferible medir tres veces cada estándar y graficar el promedio. Se puede calcular la desviación estándar de cada punto, y en la curva de calibración se puede marcar el intervalo de una desviación estándar o el intervalo de los datos para cada punto. Usando Excel, grafique la línea de tendencia y anote su ecuación (pendiente y ordenada al origen).

Linealidad. Calcule r^2 y la ordenada al origen y como un porcentaje de la respuesta a la mitad del intervalo. Calcule el factor de respuesta (RF, *response factor*) para cada punto experimental sobre la línea, y usando Excel grafique RF en función de la concentración. Con la pendiente (RF/concentración unitaria) calcule el cambio de factor de respuesta sobre el intervalo de los puntos experimentales y calcule éste como un porcentaje del valor promedio de RF.

Exactitud. Pida a su profesor el estándar de referencia. No conocerá su concentración sino hasta después de que haga mediciones y presente los resultados. Médala siete veces y calcule la desviación estándar. Presente los resultados a su profesor y obtenga el valor “verdadero” y la desviación estándar, si se conoce.

Reproducibilidad. Haga pequeñas variaciones en uno o más parámetros en el experimento que no debieran influir directa o proporcionalmente en la medición. Podrían ser concentraciones de reactivo, pH, tiempo de reacción, tamaño de la muestra analizada (por ejemplo, puede aumentar el volumen inyectado de un estándar en una determinación cromatográfica, ajustando la cantidad inyectada al calcular la respuesta esperada).

Gráfica de control. Es probable que la prepare en el segundo día, después de haber desarrollado el método. Se le proporcionará una muestra desconocida (a ciegas). Haga una determinación de ella cada 20 min durante una sesión de laboratorio, en forma intermitente, entre otras mediciones que haga con su equipo. Debe hacer cuando menos ocho mediciones. Trace la gráfica de la concentración determinada en función de la hora del día. Después de haberlo hecho y mostrado ésta al profesor, pida el valor “conocido” al profesor y trace una línea horizontal sobre la gráfica a esa concentración. A partir de la precisión que haya determinado el Equipo B para el método (a la mitad del intervalo), trace líneas para los límites interno y externo de control a 2 y 2.5 desviaciones estándar, respectivamente. ¿Están sus valores dentro de las líneas de control? ¿Tienen una tendencia en alguna dirección?

Equipo B

Precisión. Tome un estándar en el límite inferior, a la mitad y en el extremo superior de la curva de calibración. Mida cada uno siete veces y calcule las desviaciones estándar.

Sensibilidad. Tome dos estándares que estén más o menos separados por dos desviaciones estándar, a la mitad de la curva de calibración, midiendo tres veces cada uno. Informe el promedio y las desviaciones estándar. ¿Los puede distinguir? ¿Con cuántas cifras significativas debe informar sus resultados?

Intervalo. Seleccione una precisión aceptable dentro del intervalo de la medición. Esto dependerá de cuál es la precisión a la mitad del intervalo. Se considerará que la precisión aceptable es el doble de esta precisión. De acuerdo con la precisión determinada en los extremos inferior y superior de la curva de calibración, ¿está la curva dentro del intervalo aceptable? En caso afirmativo, haga más experimentos en el extremo inferior, tomando concentraciones más pequeñas y determinando la desviación estándar para establecer cuál es el intervalo más bajo.

Límite de detección. Haga siete lecturas con blancos. Calcule la desviación estándar (absoluta). Mida un estándar siete veces que deba producir una respuesta de cinco a 10 veces la desviación estándar por arriba de la señal del blanco. Calcule el límite de detección como la concentración que produce una respuesta neta de tres desviaciones estándar por arriba del blanco.

Límite de cuantificación. Calcule el límite de cuantificación de dos maneras. Primero, calcule la concentración que produzca una respuesta de 10 desviaciones estándar del blanco por arriba de la señal del blanco. También determine la concentración que produzca una desviación estándar relativa del 15% (puede tener esta información en el intervalo de estudio anterior).

Informe

Prepare un informe sobre la validación del método y del control de la calidad (la carta de control). Documentelo con los datos originales, como copias de registros, impresiones de material en Excel, etc. Realice algunas conclusiones acerca de la validez del método.

EXPERIMENTO 40 PRUEBA DE APTITUD: DETERMINACIÓN DE VALORES DE Z DE LOS EXPERIMENTOS EN CLASE

Objetivo

Calcular los valores z para todos los resultados obtenidos en clase, en uno o más experimentos, y comparar el valor z de sus resultados con los del resto del grupo. Revise la prueba de aptitud del capítulo 4, antes de comenzar el experimento.

Ecuación

$$z = \frac{\bar{X}_i - \hat{X}}{s}$$

Donde $\bar{X}_i$ = promedio de sus propios resultados
 $\hat{X}$ = “valor verdadero”, o promedio de la clase
 s = desviación estándar del valor verdadero

o del promedio de la clase (si es necesario, se puede usar la desviación estándar de la clase para calcular el valor verdadero. Usted calculará la desviación estándar de la clase).

Procedimiento

Su profesor le proporcionará resultados codificados de toda la clase. Conocerá la identidad sólo para el código de su experimento. El profesor podrá proporcionar el valor verdadero (que se usó para calificar el experimento) o le pedirá usar el promedio de la clase (que se calculará) para determinar el valor z .

Cálculos

Calcule los valores z para cada experimento codificado. Ordénelos del mayor (+) al menor (−). Grafíquelos con Excel, en un diagrama de barras (como la figura 4.4). Identifique su valor y presente la gráfica a su profesor. ¿Acepta que sus resultados son exactos?



Apéndice A

LITERATURA DE QUÍMICA ANALÍTICA

“Reinventar la rueda es un desperdicio de tiempo y talento.”

—Anónimo

Cuando se define un problema, lo primero que hace el analista es consultar las publicaciones científicas y ver si su problema en particular ya fue resuelto en alguna forma que se pueda emplear. Hay muchos libros de referencia sobre áreas selectas de la química analítica que describen los procedimientos analíticos de uso común en determinada disciplina y también algunos de los no tan comunes. Éstos por lo regular refieren al analista a las revistas de química donde se encuentran los trabajos originales. Para muchos análisis rutinarios o específicos, las diversas sociedades profesionales han establecido procedimientos estandarizados.

Si no se encuentra una solución del problema en los libros de referencia se debe recurrir a las revistas científicas. El lugar lógico para iniciar una búsqueda bibliográfica es la revista *Chemical Abstracts*, que contiene resúmenes de todos los trabajos publicados en las principales revistas de química en el mundo. Para ayudar en la búsqueda bibliográfica existen índices anuales y acumulados. Se puede buscar el elemento o el compuesto por determinar, así como el tipo de muestra que se debe analizar, para obtener un panorama de los métodos disponibles. También hay disponibles índices de autores. Cualquier biblioteca puede estar suscrita a *SciFinder Scholar*, el acceso a *Chemical Abstracts* en línea. Se puede buscar por sustancia química, tema, autor, nombre de la compañía y tener acceso a las reseñas (los *abstracts*) de las revistas. Una vez que se tiene un artículo en línea es posible vincularse a los artículos referenciados en el trabajo.

También se pueden encontrar muchas referencias relevantes para un problema específico haciendo uso de los buscadores existentes en la red. La siguiente es una lista selecta de algunas referencias en química analítica. Las referencias de los diversos métodos de medición que se estudian en este libro se encuentran al final de cada uno de los capítulos que los cubren.

A.1 Revistas¹

1. *American Laboratory*
2. *Analytical Biochemistry*

3. *Analytical Chimica Acta*
4. *Analytical Abstracts*
5. *Analytical Chemistry*²
6. *Analytical Instrumentation*
7. *Analytical Letters*
8. *Analyst*, The
9. *Applied Spectroscopy*
10. *Clinica Chimica Acta*
11. *Clinical Chemistry*
12. *Electroanalysis*
13. *Journal of AOAC International*
14. *Journal of Chromatographic Science*
15. *Journal of Chromatography*
16. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*
17. *Microchemical Journal*
18. *Spectrochimica Acta*
19. *Talanta* (G. D. Christian, editor adjunto en jefe, ¡véala!)
20. *Zeitschrift für analytische Chemie*

A.2 Referencias generales

Algunas referencias generales se mencionan en el capítulo 1, incluyendo enciclopedias, y en los capítulos del libro se mencionan referencias más específicas y sitios Web útiles. A continuación se mencionan algunas referencias clásicas, generales y de temas específicos que pueden contener mucha información útil para el analista. Éstas se encuentran disponibles en muchas bibliotecas.

1. *Annual Book of ASTM Book of Standards*, 75 Vols. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
2. R. Belcher y L. Gordon, eds., *International Series of Monographs on Analytical Chemistry*. Nueva York: Pergamon. Una serie de varios volúmenes.
3. N. H. Furman y F. J. Welcher, eds., *Scott's Standard Methods of Chemical Analysis*, 6a. ed., 5 volúmenes. Nueva York: Van Nostrand, 1962-1966.
4. I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds., *Treatise on Analytical Chemistry*. Nueva York: Interscience. Una serie de varios volúmenes.
5. I. M. Kolthoff, E. B. Sandell, E. J. Meehan y S. Bruckenstein, *Quantitative Chemical Analysis*, 4a. ed., Londres: Macmillan, 1969.
6. L. Meites, ed., *Handbook of Analytical Chemistry*. Nueva York: McGraw-Hill, 1963.
7. C. N. Reilly, ed., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*. Nueva York: Interscience. Serie de varios volúmenes.
8. A. I. Vogel, *A Textbook of Quantitative Inorganic Analysis, Including Elementary Instrumental Analysis*, 3a. ed. Londres: Longman, 1972.

² Esta revista tiene un volumen bianual cada abril, que reseña en años alternados las publicaciones de varias técnicas analíticas y sus aplicaciones en diferentes áreas del análisis.

9. C. L. Wilson y D. W. Wilson, *Comprehensive Analytical Chemistry*, G. Svehla, ed., Nueva York: Elsevier. Serie de varios volúmenes.
10. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17a. ed., W. Horwitz, ed., Gaithersburg, MD: AOAC International, 2000. Disponible en CD-ROM.

A.3 Sustancias inorgánicas

1. *ASTM Methods for Chemical Analysis of Metals*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1956.
2. F. E. Beamish y J. C. Van Loon, *Analysis of Noble Metals*. Nueva York: Academic, 1977.
3. T. R. Crompton, *Determination of Anions: A Guide for the Analytical Chemist*. Berlin: Springer, 1996.

A.4 Sustancias orgánicas

1. J. S. Fritz y G. S. Hammond, *Quantitative Organic Analysis*. Nueva York: Wiley, 1957.
2. T. S. Ma y R. C. Rittner, *Modern Organic Elemental Analysis*. Nueva York: Marcel Dekker, 1979.
3. J. Mitchell, Jr., I. M. Kolthoff, E. S. Proskauer y A. W. Weissberger, eds., *Organic Analysis*, 4 vols. Nueva York: Interscience, 1953-1960.
4. S. Siggia, Jr., y J. G. Hanna, *Quantitative Organic Analysis via Functional Group Analysis*, 4a. ed. Nueva York: Wiley, 1979.
5. A. Steyermark, *Quantitative Organic Microanalysis*, 2a. ed. Nueva York: Academic, 1961.

A.5 Sustancias biológicas y clínicas

1. J. S. Annino, *Clinical Chemistry. Principles and Procedures*, 2a. ed. Boston: Little, Brown, 1960.
2. G. D. Christian y F. J. Feldman, *Atomic Absorption Spectroscopy. Applications in Agriculture, Biology, and Medicine*. Nueva York: Wiley-Interscience, 1970.
3. D. Glick, ed., *Methods of Biochemical Analysis*. Nueva York: Interscience. Serie de varios volúmenes.
4. R. J. Henry, D. C. Cannon y J. W. Winkelman, eds., *Clinical Chemistry. Principles and Techniques*, 2a. ed. Hagerstown, MD: Harper & Row, 1974.
5. M. Reiner y D. Seligson, eds., *Standard Methods of Clinical Chemistry*. Nueva York: Academic. Serie de varios volúmenes desde 1953.
6. N. W. Tietz, ed., *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 2a. ed., Philadelphia: W. B. Saunders, 1976.

A.6 Gases

1. C. J. Cooper y A. J. DeRose, *The Analysis of Gases by Gas Chromatography*. Nueva York: Pergamon, 1983.

A.7 Contaminantes de agua y aire

1. *Quality Assurance Handbook of Air Pollution Measurement Systems*, U.S.E.P.A., Oficina de Investigación y Desarrollo, Laboratorio de monitoreo ambiental y soporte, Research Triangle, NC 27711. Vol. I, *Principles*. Vol. II, *Ambient Air Specific Methods*.
2. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Nueva York: American Public Health Association.

A.8. Salud y seguridad ocupacional

1. National Institute of Occupational Health and Safety (NIOSH), P. F. O'Connor, ed., *Manual of Analytical Methods*, 4a. ed. Washington, DC: DHHS (NIOSH). Publicación núm. 94-113 (agosto de 1994).



Apéndice B

REPASO DE OPERACIONES MATEMÁTICAS: EXPONENTES, LOGARITMOS Y LA FÓRMULA CUADRÁTICA

B.1 Exponentes

En las operaciones matemáticas, aun cuando se trabaje con logaritmos, conviene expresar los números en forma semiexponencial. A continuación se resumen las operaciones matemáticas con exponentes:

$$\begin{aligned}
 N^a N^b &= N^{a+b} & \text{p. ej., } 10^2 \times 10^5 &= 10^7 \\
 \frac{N^a}{N^b} &= N^{a-b} & \text{p. ej., } \frac{10^5}{10^2} &= 10^3 \\
 (N^a)^b &= N^{ab} & \text{p. ej., } (10^2)^5 &= 10^{10} \\
 \sqrt[a]{N^b} &= N^{b/a} & \text{p. ej., } \sqrt{10^6} &= 10^{6/2} = 10^3 \\
 & & \sqrt[3]{10^9} &= 10^{9/3} = 10^3
 \end{aligned}$$

El punto decimal de un número se sitúa de manera conveniente usando la **forma semiexponencial**. Se escribe el número con el punto en la posición de las unidades y se multiplica por 10 elevado a un exponente entero igual a la cantidad de lugares que se movió para llevarlo a la posición de las unidades. El exponente es negativo si el decimal se movió hacia la derecha (el número es menor que 1) y es positivo si el punto se movió hacia la izquierda (cuando el número es 10 o mayor). Los siguientes son algunos ejemplos:

Número	Forma semiexponencial
0.00267	2.67×10^{-3}
0.48	4.8×10^{-1}
52	5.2×10^1
6 027	6.027×10^3

Todo número elevado a la potencia cero es igual a la unidad. Así, $10^0 = 1$, y 2.3 en forma semiexponencial es 2.3×10^0 . No se requiere la forma semiexponencial para expresar números entre 1 y 10.

8.2 Logaritmos de los números

Conviene expresar los números en forma semiexponencial para tomar sus logaritmos, o para determinar un número a partir de su logaritmo. Se aplican las siguientes reglas:

$$N = b^a$$

$$\log_b N = a$$

o sea

$$N = 10^a$$

$$\log_{10} N = a$$

Por ejemplo

$$\log 10^2 = 2$$

$$\log 10^{-3} = -3$$

También,

$$\log ab = \log a + \log b$$

por ejemplo

$$\begin{aligned} \log 2.3 \times 10^{-3} &= \log 2.3 + \log 10^{-3} \\ &= 0.36 - 3 \\ &= -2.64 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \log 5.67 \times 10^7 &= \log 5.67 + \log 10^7 \\ &= 0.754 + 7 \\ &= 7.754 \end{aligned}$$

En realidad, el exponente es la **característica** del logaritmo de un número, y el logaritmo del número entre 1 y 10 es la **mantisa**. Entonces, en el ejemplo $\log 2.3 \times 10^{-3}$, -3 es la característica y 0.36 la mantisa.

8.3 Determinación de números a partir de sus logaritmos

Las siguientes relaciones son las que se obedecen

$$\log_{10} N = a$$

$$N = 10^a = \text{antilog } a$$

Por ejemplo,

$$\begin{aligned}\log N &= 0.371 \\ N &= 10^{0.371} = \text{antilog } 0.371 = 2.35\end{aligned}$$

En general, para hallar un número a partir de su logaritmo se escribe el número en forma de exponente y entonces se divide el exponente en la mantisa (m) y la característica (c). A continuación se toma el antilogaritmo de la mantisa y se multiplica por la forma exponencial de la característica:

$$\begin{aligned}\log_{10} N &= mc \\ N &= 10^{mc} = 10^m \times 10^c \\ N &= (\text{antilog } m) \times 10^c\end{aligned}$$

Por ejemplo,

$$\begin{aligned}\log N &= 2.671 \\ N &= 10^{2.671} = 10^{.671} \times 10^2 \\ &= 4.69 \times 10^2 = 469 \\ \log N &= 0.326 \\ N &= 10^{0.326} = 2.12 \\ \log N &= -0.326 \\ N &= 10^{-0.326} = 10^{0.674} \times 10^{-1} \\ &= 4.72 \times 10^{-1} = 0.472\end{aligned}$$

Siempre que el logaritmo sea un número negativo, el exponente se divide en un entero negativo (la característica) y un no entero positivo menor que 1 (la mantisa), como en el último ejemplo. Obsérvese que en el ejemplo la suma de los dos exponentes es igual al exponente original (-0.326). Otro ejemplo es

$$\begin{aligned}\log N &= -4.723 \\ N &= 10^{-4.723} = 10^{0.277} \times 10^{-5} \\ &= 1.89 \times 10^{-5} = 0.0000189\end{aligned}$$

B.4 Determinación de raíces con logaritmos

Es sencillo calcular una raíz dada de un número usando logaritmos. Supóngase, por ejemplo que se desea calcular la raíz cúbica de 325. Sea N la raíz cúbica:

$$N = 325^{1/3}$$

Tomando logaritmos de ambos lados:

$$\log N = \log 325^{1/3}$$

El $\frac{1}{3}$ se puede traer al frente:

$$\begin{aligned}\log N &= \frac{1}{3} \log 325 = \frac{1}{3} (2.512) = 0.837 \\ N &= 10^{0.837} = \text{antilog } 0.837 = 6.87\end{aligned}$$

B.5 La fórmula cuadrática

Una ecuación cuadrática con la forma general

$$ax^2 + bx + c = 0$$

se resuelve usando la fórmula cuadrática:

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

Las ecuaciones cuadráticas se encuentran con frecuencia en los cálculos de concentraciones al equilibrio de especies ionizadas cuando se usan expresiones de constantes de equilibrio. Por consiguiente, se podría necesitar resolver una ecuación del siguiente tipo:

$$\frac{x^2}{1.0 \times 10^{-3} - x} = 8.0 \times 10^{-4}$$

que equivale a

$$x^2 = 8.0 \times 10^{-7} - 8.0 \times 10^{-4}x$$

disponiendo esta expresión en la forma de la ecuación cuadrática antes mencionada:

$$x^2 + 8.0 \times 10^{-4}x - 8.0 \times 10^{-7} = 0$$

o

$$a = 1 \quad b = 8.0 \times 10^{-4} \quad c = -8.0 \times 10^{-7}$$

Así,

$$\begin{aligned} x &= \frac{-8.0 \times 10^{-4} \pm \sqrt{(8.0 \times 10^{-4})^2 - 4(1)(-8.0 \times 10^{-7})}}{2(1)} \\ &= \frac{-8.0 \times 10^{-4} \pm \sqrt{0.64 \times 10^{-6} + 3.2_0 \times 10^{-6}}}{2} \\ &= \frac{-8.0 \times 10^{-4} \pm \sqrt{3.8_4 \times 10^{-6}}}{2} \\ &= \frac{-8.0 \times 10^{-4} \pm 1.9_6 \times 10^{-3}}{2} = \frac{1.1_6 \times 10^{-3}}{2} \\ x &= 5.8_0 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

Una concentración sólo puede ser positiva, por lo que el valor negativo de x no es una solución.

Para resolver ecuaciones cuadráticas se puede usar Excel Solver. Ver el capítulo 6.



Apéndice C

TABLAS DE CONSTANTES

Tabla C.1

Constantes de disociación de ácidos

Ácido	Fórmula	Constante de disociación a 25°C			
		K_{a1}	K_{a2}	K_{a3}	K_{a4}
Acético	CH_3COOH	1.75×10^{-5}			
Alanina	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}^a$	4.5×10^{-3}	1.3×10^{-10}		
Arsénico	H_3AsO_4	6.0×10^{-3}	1.0×10^{-7}	3.0×10^{-12}	
Arsenioso	H_3AsO_3	6.0×10^{-10}	3.0×10^{-14}		
Benzoico	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$	6.3×10^{-5}			
Bórico	H_3BO_3	6.4×10^{-10}			
Carbónico	H_2CO_3	4.3×10^{-7}	4.8×10^{-11}		
Cianhídrico	HCN	7.2×10^{-10}			
Cloroacético	ClCH_2COOH	1.51×10^{-3}			
Cítrico	$\text{HOOC}(\text{OH})\text{C}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$	7.4×10^{-4}	1.7×10^{-5}	4.0×10^{-7}	
Etilendiaminotetraacético	$(\text{CO}_2^-)_2\text{NH}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}^+(\text{CO}_2^-)_2^a$	1.0×10^{-2}	2.2×10^{-3}	6.9×10^{-7}	5.5×10^{-11}
Fenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	1.1×10^{-10}			
Fluorhídrico	HF	6.7×10^{-4}			
Fosfórico	H_3PO_4	1.1×10^{-2}	7.5×10^{-8}	4.8×10^{-13}	
Fosforoso	H_3PO_3	5×10^{-2}	2.6×10^{-7}		
Fórmico	HCOOH	1.76×10^{-4}			
Glicina	$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}^b$	4.5×10^{-3}	1.7×10^{-10}		
Hipocloroso	HOCl	1.1×10^{-8}			
Láctico	$\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$	1.4×10^{-4}			
Leucina	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}^b$	4.7×10^{-3}	1.8×10^{-10}		
Maleico	$\text{cis-HOOCCH} : \text{CHCOOH}$	1.5×10^{-2}	2.6×10^{-7}		
Málico	$\text{HOOCCHOHCH}_2\text{COOH}$	4.0×10^{-4}	8.9×10^{-6}		
Nitroso	HNO_2	5.1×10^{-4}			
Oxálico	HOCCOOH	6.5×10^{-2}	6.1×10^{-5}		
<i>o</i> -Ftálico	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})_2$	1.2×10^{-3}	3.9×10^{-6}		
Pícrico	$(\text{NO}_2)_3\text{C}_6\text{H}_3\text{OH}$	4.2×10^{-1}			
Propanoico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$	1.3×10^{-5}			
Salicílico	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COOH}$	1.0×10^{-3}			

Tabla C.1 (continuación)
Constantes de disociación de ácidos

Ácido	Fórmula	Constante de disociación a 25°C			
		K_{a1}	K_{a2}	K_{a3}	K_{a4}
Sulfámico	NH ₂ SO ₃ H	1.0×10^{-1}			
Sulfúrico	H ₂ SO ₄	$>>1$	1.2×10^{-2}		
Sulfuro de hidrógeno	H ₂ S	9.1×10^{-8}	1.2×10^{-15}		
Sulfuroso	H ₂ SO ₃	1.3×10^{-2}	5×10^{-6}		
Tricloroacético	Cl ₃ COOH	1.29×10^{-1}			
Yódico	HIO ₃	2×10^{-1}			

^a Los protones de los dos primeros grupos carboxilo son los que se disocian con mayor facilidad, con valores de K_a de 1.0 y 0.032, respectivamente. Los protones unidos a los nitrógenos, más básicos, son los que se retienen con mayor fuerza (K_{a3} y K_{a4}).

^b K_{a1} y K_{a2} para la disociación por etapas de la forma protonada R—CH—CO₂H.



Tabla C.2
Constantes de disociación de bases

Base	Fórmula	Constante de disociación a 25°C	
		K_{b1}	K_{b2}
Amoniacó	NH ₃	1.75×10^{-5}	
Anilina	C ₆ H ₅ NH ₂	4.0×10^{-10}	
1-Butilamina	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ NH ₂	4.1×10^{-4}	
Dietilamina	(CH ₃ CH ₂) ₂ NH	8.5×10^{-4}	
Dimetilamina	(CH ₃) ₂ NH	5.9×10^{-4}	
Etanolamina	HOC ₂ H ₄ NH ₂	3.2×10^{-5}	
Etilamina	CH ₃ CH ₂ NH ₂	4.3×10^{-4}	
Etilendiamina	NH ₂ C ₂ H ₄ NH ₂	8.5×10^{-5}	7.1×10^{-8}
Glicina	HOOCCH ₂ NH ₂	2.3×10^{-12}	
Hidrazina	H ₂ NNH ₂	1.3×10^{-6}	
Hidróxido de zinc	Zn(OH) ₂		4.4×10^{-5}
Hidroxilamina	HONH ₂	9.1×10^{-9}	
Metilamina	CH ₃ NH ₂	4.8×10^{-4}	
Piperidina	C ₅ H ₁₁ N	1.3×10^{-3}	
Piridina	C ₅ H ₅ N	1.7×10^{-9}	
Trietilamina	(CH ₃ CH ₂) ₃ N	5.3×10^{-4}	
Trimetilamina	(CH ₃) ₃ N	6.3×10^{-5}	
Tris(hidroximetil)aminometano	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂	1.2×10^{-6}	

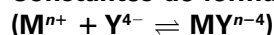
Tabla C.3

Constantes de producto de solubilidad

<i>Sustancia</i>	<i>Fórmula</i>	<i>K_{sp}</i>
Arseniato de plata	Ag ₃ AsO ₄	1.0×10^{-22}
Bromuro de cobre(I)	CuBr	5.2×10^{-9}
Bromuro de mercurio(I)	Hg ₂ Br ₂	5.8×10^{-23}
Bromuro de plata	AgBr	4×10^{-13}
Carbonato de bario	BaCO ₃	8.1×10^{-9}
Carbonato de cadmio	CdCO ₃	2.5×10^{-14}
Carbonato de calcio	CaCO ₃	8.7×10^{-9}
Carbonato de magnesio	MgCO ₃	1×10^{-5}
Carbonato de plata	Ag ₂ CO ₃	8.2×10^{-12}
Cianuro de plata	Ag[Ag(CN) ₂]	5.0×10^{-12}
Cloruro de cobre(I)	CuCl	1.2×10^{-6}
Cloruro de mercurio(I)	Hg ₂ Cl ₂	1.3×10^{-18}
Cloruro de plata	AgCl	1.0×10^{-10}
Cloruro de plomo	PbCl ₂	1.6×10^{-5}
Cloruro de talio(I)	TlCl	2×10^{-4}
Cromato de bario	BaCrO ₄	2.4×10^{-10}
Cromato de plata	Ag ₂ CrO ₄	1.1×10^{-12}
Cromato de plomo	PbCrO ₄	1.8×10^{-14}
Ferrocianuro de zinc	Zn ₂ Fe(CN) ₆	4.1×10^{-16}
Fosfato de amonio y magnesio	MgNH ₂ PO ₄	2.5×10^{-13}
Fosfato de plata	Ag ₃ PO ₄	1.3×10^{-20}
Fluoruro de bario	BaF ₂	1.7×10^{-6}
Fluoruro de calcio	CaF ₂	4.0×10^{-11}
Hidróxido de aluminio	Al(OH) ₃	2×10^{-32}
Hidróxido de berilio	Be(OH) ₂	7×10^{-22}
Hidróxido de calcio	Ca(OH) ₂	5.5×10^{-6}
Hidróxido de cobre(II)	Cu(OH) ₂	1.6×10^{-19}
Hidróxido de hierro(II)	Fe(OH) ₂	8×10^{-16}
Hidróxido de hierro(III)	Fe(OH) ₃	4×10^{-38}
Hidróxido de manganeso(II)	Mn(OH) ₂	4×10^{-14}
Hidróxido de magnesio	Mg(OH) ₂	1.2×10^{-11}
Manganato de bario	BaMnO ₄	2.5×10^{-10}
Oxalato de bario	BaC ₂ O ₄	2.3×10^{-8}
Oxalato de cadmio	CdC ₂ O ₄	1.5×10^{-8}
Oxalato de calcio	CaC ₂ O ₄	2.6×10^{-9}
Oxalato de estroncio	SrC ₂ O ₄	1.6×10^{-7}
Oxalato de magnesio	MgC ₂ O ₄	9×10^{-5}
Oxalato de plomo	PbC ₂ O ₄	4.8×10^{-10}
Oxalato de zinc	ZnC ₂ O ₄	2.8×10^{-8}
Oxícloruro de bismuto	BiOCl	7×10^{-9}
Óxido hidróxido de bismuto	BiOOH	4×10^{-10}
Sulfato de bario	BaSO ₄	1.0×10^{-10}
Sulfato de calcio	CaSO ₄	1.9×10^{-4}
Sulfato de estroncio	SrSO ₄	3.8×10^{-7}
Sulfato de plomo	PbSO ₄	1.6×10^{-8}
Sulfuro de bismuto	Bi ₂ S ₃	1×10^{-97}
Sulfuro de cadmio	CdS	1×10^{-28}
Sulfuro de cobre(II)	CuS	9×10^{-36}
Sulfuro de manganeso(II)	MnS	1.4×10^{-15}
Sulfuro de mercurio(II)	HgS	4×10^{-53}
Sulfuro de plata	Ag ₂ S	2×10^{-49}

Tabla C.3 (continuación)**Constantes de producto de solubilidad**

<i>Sustancia</i>	<i>Fórmula</i>	<i>K_{sp}</i>
Sulfuro de plomo	PbS	8×10^{-28}
Sulfuro de talio(I)	Tl ₂ S	5×10^{-22}
Sulfuro de zinc	ZnS	1×10^{-21}
Tiocianato de cobre(I)	CuSCN	4.8×10^{-15}
Tiocianato de plata	AgSCN	1.0×10^{-12}
Yodato de bario	Ba(IO ₃) ₂	1.5×10^{-9}
Yodato de lantano	La(IO ₃) ₃	6×10^{-10}
Yodato de plata	AgIO ₃	3.1×10^{-8}
Yoduro de cobre(I)	CuI	5.1×10^{-12}
Yoduro de mercurio(I)	Hg ₂ I ₂	4.5×10^{-29}
Yoduro de plata	AgI	1×10^{-16}
Yoduro de plomo	PbI ₂	7.1×10^{-9}

Tabla C.4**Constantes de formación de algunos quelatos metálicos con EDTA**

<i>Elemento</i>	<i>Fórmula</i>	<i>K_f</i>
Aluminio	AlY ⁻	1.35×10^{16}
Bario	BaY ²⁻	5.75×10^7
Bismuto	BiY ⁻	1×10^{23}
Cadmio	CdY ²⁻	2.88×10^{16}
Calcio	CaY ²⁻	5.01×10^{10}
Cobalto (Co ²⁺)	CoY ²⁻	2.04×10^{16}
(Co ³⁺)	CoY ⁻	1×10^{36}
Cobre	CuY ²⁻	6.30×10^{18}
Escandio	ScY ⁻	1.3×10^{23}
Estroncio	SrY ²⁻	4.26×10^8
Galio	GaY ⁻	1.86×10^{20}
Hierro (Fe ²⁺)	FeY ²⁻	2.14×10^{14}
(Fe ³⁺)	FeY ⁻	1.3×10^{25}
Indio	InY ⁻	8.91×10^{24}
Itrio	Y ⁻	1.23×10^{18}
Magnesio	MgY ²⁻	4.90×10^8
Manganeso	MnY ²⁻	1.10×10^{14}
Mercurio	HgY ²⁻	6.30×10^{21}
Níquel	NiY ²⁻	4.16×10^{18}
Plata	AgY ³⁻	2.09×10^7
Plomo	PbY ²⁻	1.10×10^{18}
Titanio (Ti ³⁺)	TiY ⁻	2.0×10^{21}
(TiO ²⁺)	TiOY ²⁻	2.0×10^{17}
Torio	ThY	1.6×10^{23}
Vanadio (V ²⁺)	VY ²⁻	5.01×10^{12}
(V ³⁺)	VY ⁻	8.0×10^{25}
(VO ²⁺)	VOY ²⁻	1.23×10^{18}
Zinc	ZnY ²⁻	3.16×10^{16}

Tabla C.5

Algunos potenciales de electrodo estándar y formales de reducción

Semirreacción	E^0 (V)	Potencial formal (V)
$F_2 + 2H^+ + 2e^- = 2HF$	3.06	
$O_3 + 2H^+ + 2e^- = O_2 + H_2O$	2.07	
$S_2O_8^{2-} + 2e^- = 2SO_4^{2-}$	2.01	
$Co^{3+} + e^- = Co^{2+}$	1.842	
$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- = 2H_2O$	1.77	
$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- = MnO_2 + 2H_2O$	1.695	
$Ce^{4+} + e^- = Ce^{3+}$		1.70 (HClO ₄ 1 M); 1.61 (HNO ₃ 1 M); 1.44 (H ₂ SO ₄ 1 M)
$HClO + H^+ + e^- = \frac{1}{2}Cl_2 + H_2O$	1.63	
$H_5IO_6 + H^+ + 2e^- = IO_3^- + 3H_2O$	1.6	
$BrO_3^- + 6H^+ + 5e^- = \frac{1}{2}Br_2 + 3H_2O$	1.52	
$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- = Mn^{2+} + 4H_2O$	1.51	
$Mn^{3+} + e^- = Mn^{2+}$		1.51 (H ₂ SO ₄ 8 M)
$ClO_3^- + 6H^+ + 5e^- = \frac{1}{2}Cl_2 + 3H_2O$	1.47	
$PbO_2 + 4H^+ + 2e^- = Pb^{2+} + 2H_2O$	1.455	
$Cl_2 + 2e^- = 2Cl^-$	1.359	
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$	1.33	
$Tl^{3+} + 2e^- = Tl^+$	1.25	0.77 (HCl 1 M)
$IO_3^- + 2Cl^- + 6H^+ + 4e^- = ICl_2^- + 3H_2O$	1.24	
$MnO_2 + 4H^+ + 2e^- = Mn^{2+} + 2H_2O$	1.23	
$O_2 + 4H^+ + 4e^- = 2H_2O$	1.229	
$2IO_3^- + 12H^+ + 10e^- = I_2 + 6H_2O$	1.20	
$SeO_4^{2-} + 4H^+ + 2e^- = H_2SeO_3 + H_2O$	1.15	
$Br_2(aq) + 2e^- = 2Br^-$	1.087 ^a	
$Br_2(l) + 2e^- = 2Br^-$	1.065 ^a	
$ICl_2^- + e^- = \frac{1}{2}I_2 + 2Cl^-$	1.06	
$VO_2^+ + 2H^+ + e^- = VO^{2+} + H_2O$	1.000	
$HNO_2 + H^+ + e^- = NO + H_2O$	1.00	
$Pd^{2+} + 2e^- = Pd$	0.987	
$NO_3^- + 3H^+ + 2e^- = HNO_2 + H_2O$	0.94	
$2Hg^{2+} + 2e^- = Hg_2^{2+}$	0.920	
$H_2O_2 + 2e^- = 2OH^-$	0.88	
$Cu^{2+} + I^- + e^- = CuI$	0.86	
$Hg^{2+} + 2e^- = Hg$	0.854	
$Ag^+ + e^- = Ag$	0.799	0.228 (HCl 1 M); 0.792 (HClO ₄ 1 M)
$Hg_2^{2+} + 2e^- = 2Hg$	0.789	0.274 (HCl 1 M)
$Fe^{3+} + e^- = Fe^{2+}$	0.771	
$H_2SeO_3 + 4H^+ + 4e^- = Se + 3H_2O$	0.740	
$PtCl_4^{2-} + 2e^- = Pt + 4Cl^-$	0.73	
$C_6H_4O_2$ (quinona) + $2H^+ + 2e^- = C_6H_4(OH)_2$	0.699	0.696 (HCl, H ₂ SO ₄ , HClO ₄ 1 M)
$O_2 + 2H^+ + 2e^- = H_2O_2$	0.682	
$PtCl_6^{2-} + 2e^- = PtCl_4^{2-} + 2Cl^-$	0.68	
$I_2(aq) + 2e^- = 2I^-$	0.6197 ^b	
$Hg_2SO_4 + 2e^- = 2Hg + SO_4^{2-}$	0.615	
$Sb_2O_5 + 6H^+ + 4e^- = 2SbO^+ + 3H_2O$	0.581	
$MnO_4^- + e^- = MnO_4^{2-}$	0.564	
$H_3AsO_4 + 2H^+ + 2e^- = H_3AsO_3 + H_2O$	0.559	0.577 (HCl, HClO ₄ 1 M)
$I_3^- + 2e^- = 3I^-$	0.5355	
$I_2(s) + 2e^- = 2I^-$	0.5345 ^b	

Tabla C.5 (continuación)

Algunos potenciales estándar y formales de electrodo de reducción

Semirreacción	E^0 (V)	Potencial formal (V)
$\text{Mo}^{6+} + \text{e}^- = \text{Mo}^{5+}$		0.53 (HCl 2 M)
$\text{Cu}^+ + \text{e}^- = \text{Cu}$	0.521	
$\text{H}_2\text{SO}_3 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- = \text{S} + 3\text{H}_2\text{O}$	0.45	
$\text{Ag}_2\text{CrO}_4 + 2\text{e}^- = 2\text{Ag} + \text{CrO}_4^{2-}$	0.446	
$\text{VO}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{e}^- = \text{V}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	0.361	
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + \text{e}^- = \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0.36	0.72 (HClO_4 , H_2SO_4 1 M)
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Cu}$	0.337	
$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	0.334	
$\text{BiO}^+ + 2\text{H}^+ + 3\text{e}^- = \text{Bi} + \text{H}_2\text{O}$	0.32	
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{s}) + 2\text{e}^- = 2\text{Hg} + 2\text{Cl}^-$	0.268	0.242 (KCl Sat.-Elec. Calom.); 0.282 (KCl 1 M)
$\text{AgCl} + \text{e}^- = \text{Ag} + \text{Cl}^-$	0.222	0.228 (KCl 1 M)
$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	0.17	
$\text{BiCl}_4^- + 3\text{e}^- = \text{Bi} + 4\text{Cl}^-$	0.16	
$\text{Sn}^{4+} + 2\text{e}^- = \text{Sn}^{2+}$	0.154	0.14 (HCl 1 M)
$\text{Cu}^{2+} + \text{e}^- = \text{Cu}^+$	0.153	
$\text{S} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2\text{S}$	0.141	
$\text{TiO}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{e}^- = \text{Ti}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	0.1	
$\text{Mo}^{4+} + \text{e}^- = \text{Mo}^{3+}$		0.1 (H_2SO_4 4M)
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2\text{e}^- = 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	0.08	
$\text{AgBr} + \text{e}^- = \text{Ag} + \text{Br}^-$	0.071	
$\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + \text{e}^- = \text{Ag} + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	0.01	
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2$	0.000	
$\text{Pb}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Pb}$	-0.126	
$\text{CrO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} + 3\text{e}^- = \text{Cr}(\text{OH})_3 + 5\text{OH}^-$	-0.13	
$\text{Sn}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Sn}$	-0.136	
$\text{AgI} + \text{e}^- = \text{Ag} + \text{I}^-$	-0.151	
$\text{CuI} + \text{e}^- = \text{Cu} + \text{I}^-$	-0.185	
$\text{N}_2 + 5\text{H}^+ + 4\text{e}^- = \text{N}_2\text{H}_5^+$	-0.23	
$\text{Ni}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Ni}$	-0.250	
$\text{V}^{3+} + \text{e}^- = \text{V}^{2+}$	-0.255	
$\text{Co}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Co}$	-0.277	
$\text{Ag}(\text{CN})_2^- + \text{e}^- = \text{Ag} + 2\text{CN}^-$	-0.31	
$\text{Tl}^+ + \text{e}^- = \text{Tl}$	-0.336	-0.551 (HCl 1 M)
$\text{PbSO}_4 + 2\text{e}^- = \text{Pb} + \text{SO}_4^{2-}$	-0.356	
$\text{Ti}^{3+} + \text{e}^- = \text{Ti}^{2+}$	-0.37	
$\text{Cd}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Cd}$	-0.403	
$\text{Cr}^{3+} + \text{e}^- = \text{Cr}^{2+}$	-0.41	
$\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Fe}$	-0.440	
$2\text{CO}_2(\text{g}) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	-0.49	
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{e}^- = \text{Cr}$	-0.74	
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Zn}$	-0.763	
$2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- = \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$	-0.828	
$\text{Mn}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Mn}$	-1.18	
$\text{Al}^{3+} + 3\text{e}^- = \text{Al}$	-1.66	
$\text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Mg}$	-2.37	
$\text{Na}^+ + \text{e}^- = \text{Na}$	-2.714	
$\text{Ca}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Ca}$	-2.87	
$\text{Ba}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Ba}$	-2.90	
$\text{K}^+ + \text{e}^- = \text{K}$	-2.925	
$\text{Li}^+ + \text{e}^- = \text{Li}$	-3.045	

^a E^0 para $\text{Br}_2(\text{l})$ se usa para soluciones saturadas de Br_2 , en tanto que E^0 para $\text{Br}_2(\text{aq})$ se usa para soluciones no saturadas.^b E^0 para $\text{I}_2(\text{s})$ se usa para soluciones saturadas de I_2 , en tanto que E^0 para $\text{I}_2(\text{aq})$ se usa para soluciones no saturadas.



Apéndice D

SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Reglas generales de seguridad

Las buenas prácticas de orden y limpieza asegurarán que las condiciones de trabajo en el laboratorio sean las más seguras. Siempre limpiar las sustancias derramadas; no dejar tirados los utensilios de vidrio rotos o rajados y colocar en su lugar todos los envases de sustancias y todos los aparatos cuando se termine de usarlos. Neutralizar los derrames de ácido con bicarbonato de sodio y los derrames de álcalis con ácido bórico. Los derrames de mercurio deben aspirarse con un matraz de succión o cubrirse con polvo de azufre. Limpiar bien el mercurio, porque los vapores que desprenden las gotas finas son muy tóxicos.

En la mayor parte de las instalaciones se obliga a las personas que trabajen en un laboratorio químico a que usen gafas de protección. En cualquier caso es bueno, así que hay que usarlas. Se debe saber dónde están los extintores de incendios, las salidas, las regaderas de seguridad, los lavaojos y las mantas contra incendio en el laboratorio. Toda situación peligrosa o potencialmente peligrosa debe ponerse en conocimiento de inmediato del supervisor del laboratorio.

Sólo se llevarán a cabo los experimentos autorizados y nunca trabajar solo. Nunca comer ni beber en el laboratorio. Cuando se trabaje con sustancias volátiles y cuando se calienten ácidos o se usen disolventes orgánicos, utilizar la campana. Usar un escudo de seguridad cuando se trabaje con reacciones potencialmente peligrosas. Se debe tener cuidado especial cuando se trabaje con disolventes orgánicos. Muchos son inflamables, y otros se han identificado como sustancias tóxicas crónicas y con frecuencia cancerígenas. Usar guantes de hule cuando sea posible y evitar respirar humos.

Apéndice E

TABLAS PERIÓDICAS EN LA RED



Al inicio de este libro se presentan los pesos atómicos y números atómicos de los elementos en orden alfabético. Los valores son una combinación de los mejores valores extraídos de tablas en los sitios Web mencionados más adelante. Se puede encontrar información adicional de cada elemento en las diversas versiones de la tabla periódica. En la Web aparecen muchas tablas. A continuación se presentan algunas, que se recomiendan. En la mayor parte de ellas se puede dar clic en un elemento y obtener el peso y el número atómico, así como otras propiedades, como los isótopos, propiedades físicas e historia del elemento.

1. <http://chemLab.pc.maricopa.edu/periodic/periodic.html>. Una tabla periódica ilustrada. Se pueden buscar los elementos de acuerdo con varios parámetros, como peso atómico, radio atómico, punto de ebullición, etc. Hay vínculos a otros tipos de tablas periódicas, como la de Mendeleiev, y una tabla en espiral. También hay poemas de *The Elements*, de Tom Leher.
2. <http://periodic.lanl.gov/default.html>. Es de la División Química de Los Alamos National Laboratory. En 2001 fue reconocida como una de las mejores en la Red, por ScientificAmerican.com, parte de la revista *Scientific American*.
3. www.chem.qmul.ac.uk/iupac/AtWt/table.html. Esta versión de la tabla periódica se basa en la recomendada por la Comisión de Nomenclatura de Química Inorgánica, publicada en *IUPAC Nomenclature of Inorganic Chemistry, Recommendations 1990*. Se presentan los pesos atómicos con cinco cifras significativas, y referencias de IUPAC, para conocer valores más precisos.
4. www.chemsoc.org. Esta red de sociedades químicas se vincula a una tabla periódica de elementos virtuales. Se puede descargar como protector de pantalla para la computadora.
5. www.stanford.edu/~glassman/chem/index.html. Además de ser una tabla periódica interactiva, este sitio tiene varias páginas útiles, como conversiones molares, conversiones de unidades, un balanceador de ecuaciones y vínculos relacionados con la química.



Apéndice F

RESPUESTAS PARA LOS PROBLEMAS DE NÚMERO PAR

CAPÍTULO 2

16. $V_{25^\circ} = 25.071 \text{ mL}$; $V_{20^\circ} = 24.041 \text{ mL}$

18. 0.05138 M

CAPÍTULO 3

4. (a) 5 (b) 4 (c) 3

6. 68.9466

8. 162.2

10. A la centésima de gramo más cercana, para tres cifras significativas

12. (a) 128.0 g (b) 128.1 g (c) 1.9 g

14. (a) Desv. Est. 0.052%, c.v. 0.16%. (b) Desv. Est. 0.0021%, c. v. 8.8%

16. (a) 0.052% (b) 0.026% (c) 0.027%

18. (a) 0.014 ± 0.0003 (b) 1.34 ± 0.03 (c) $11,990 \pm 40$

20. $0.5024\text{--}0.5030 \text{ M}$

22. $\pm 3.9 \text{ ppm}$

24. $0.1064\text{--}0.1072 \text{ M}$

26. $t = 0.87$, $t_{\text{tabla}} = 2.365$. Por consiguiente, ambos métodos dan el mismo resultado, con gran probabilidad.

28. $F = 2.79$, $F_{\text{tabla}} = 4.88$. No hay diferencia significativa.

30. $t = 3.6$ ($> T_{\text{tabla}}$), diferencia significativa con 95% de probabilidad.

32. Zn: $Q = 0.70$, $Q_{\text{tabla}} = 0.970$. Por tanto, todos válidos. Sn: $Q = 0.75$, $Q_{\text{tabla}} = 0.970$. Por tanto, todos válidos.

34. 0.44 ppm

36. 139.0–140.2; 138.4–140.8
38. 3.05 ppm
40. 0.915
42. $t = 1.8_6$, $t_{\text{tabla}} = 2.262$ a Lím. Conf. 95%. No hay diferencia significativa. $R = 0.999$, $r^2 = 0.998$, entonces la correlación es muy alta.
44. 1.6 g

CAPÍTULO 4

20. 16%

CAPÍTULO 5

10. (a) 5.23% (b) 55.0% (c) 1.82%
12. (a) 1.98 (b) 4.20 (c) 1.28 (d) 3.65 (e) 2.24 (f) 1.31
14. (a) 5.84×10^4 mg (b) 3.42×10^4 mg (c) 1.71×10^3 mg (d) 284 mg (e) 7.01×10^3 mg (f) 2.25×10^3 mg
16. 0.0333, 0.100, 0.001, 0.0333 mmol/mL de Mn^{2+} , NO_3^- , K^+ , SO_4^{2-}
18. (a) 0.408 M (b) 0.300 M (c) 0.147 M
20. (a) 1.40 g (b) 8.08 g (c) 4.00 g
22. (a) 11.6 M (b) 15.4 M (c) 14.6 M (d) 17.4 M (e) 14.8 M
24. 1.06×10^3 mg/L
26. (a) 10.0 ppm (b) 27.8 ppm (c) 15.8 ppm (d) 16.3 ppm (e) 13.7 ppm (f) 29.8 ppm
28. (a) 0.123% (b) 1.23‰ (c) 1.23×10^3 ppm
30. 156 mL
32. 5.00 M
34. 100 mL
36. 0.172%
38. 390 mg
40. 9.25 mg/dL
42. 15.3%
44. 7.53 mL
46. 22.7 mL
48. 84.4%
50. 47.1%
52. 1.52 mg
54. 20.0 mg Fe_2O_3 /mL KMnO_4
56. (a) 36.46 g/eq (b) 85.67 g/eq (c) 389.91 g/eq (d) 41.04 g/eq (e) 60.05 g/eq
58. (a) 128.1 g/eq (b) 64.05 g/eq
60. (a) 151.91 g/eq (b) 17.04 g/eq (c) 17.00 g/eq (d) 17.00 g/eq
62. 0.608 eq/L
64. 0.180 eq/L
66. 0.474 g $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ /g $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$
68. 84.5 meq/L
70. 8.76 g/L
72. (a) 0.132₈ g (b) 1.31₀ g

CAPÍTULO 6

2. $[A] = 4.3 \times 10^{-7} M$, $[B] = 0.30 M$, $[C] = 0.80 M$
4. 0.085%
5. 1.1×10^{-22}
8. (a) $3[\text{Bi}^{3+}] + [\text{H}^+] = 2[\text{S}^{2-}] + [\text{HS}^-] + [\text{OH}^-]$ (b) $[\text{Na}^+] + [\text{H}^+] = 2[\text{S}^{2-}] + [\text{HS}^-] + [\text{OH}^-]$
12. $2[\text{Ba}^{2+}] = 3([\text{PO}_4^{3-}] + [\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{H}_2\text{PO}_4^-] + [\text{H}_3\text{PO}_4])$
14. (a) 0.30 (b) 0.90 (c) 0.90 (d) 3.3
16. 0.96₅
18. 0.0019 *M*
20. (a) $K_a f_{\text{H}^+} f_{\text{CN}^-}$ (b) $K_b f_{\text{NH}_4^+} f_{\text{OH}^-}$

CAPÍTULO 7

6. (a) pH = 1.70, pOH = 12.30 (b) pH = 3.89, pOH = 10.11 (c) pH = -0.08, pOH = 14.08 (d) pH = pOH = 7.00 (e) pH = 6.55, pOH = 7.45
8. (a) $3.8 \times 10^{-10} M$ (b) $5.0 \times 10^{-14} M$ (c) $1.0 \times 10^{-7} M$ (d) $5.3 \times 10^{-15} M$
10. pH = 12.70, pOH = 1.30
12. $2.3 \times 10^{-7} M$; 6.64 pH
14. 3.2%
16. 18₂ g/mol
18. 8.80
20. 0.014₅ *M*
22. 11.54
24. Cuatro veces
26. 10.57
28. 2.92
30. 8.72
32. 7.00
34. 2.54
36. 4.16
38. 12.96
40. 10.98
42. 4.05
44. 5.12
46. 9.24
48. 7.3 g
50. 2.62
52. $2.0 \times 10^{-3} M \text{HPO}_4^{2-}$, $9.6 \times 10^{-4} M \text{H}_2\text{PO}_4^-$
54. 0.868 *M* HOAc y OAc⁻
56. 0.24 mL H₃PO₄, 5.4 g KH₂PO₄
60. $K_b = K_b^\circ / f_{\text{BH}^+} f_{\text{OH}^-}$
62. pH = 3.88, $[\text{OAc}^-] = 10^{-3.88} M$
66. $[\text{H}_2\text{A}] \approx C_{\text{H}_2\text{A}} = 10^{-3} M$ en solución muy ácida; $\log [\text{HA}^-] = -6.40 + \text{pH}$; pendiente = +1 para pH < p*K*_{a1}; $[\text{A}^{2-}] \approx C_{\text{A}^{2-}} = 10^{-3} M$ en solución muy básica; $\log [\text{HA}^-] = 2.05 - \text{pH}$, pendiente = -1 para pH > p*K*_{a2}

CAPÍTULO 8

- 14. 0.1025 *M*
- 16. 0.1174 *M*
- 18. 0 mL: 13.00, 10.0 mL: 12.70, 25.0 mL: 7.00, 30.0 mL: 1.90
- 20. 0 mL: 11.12, 10.0 mL: 9.84, 25.0 mL: 9.24, 50.0 mL: 5.27, 60.0 mL: 2.04
- 22. 0%: 9.72, 25%: 7.60, 50%: 7.12, 75%: 6.64, 100%: 4.54, 150%: 1.96
- 24. 35.5 mL
- 26. 62.8%
- 28. H_3PO_4 0.0200 *M*, HCl 0.0300 *M*
- 30. 403 mg Na_2CO_3 , 110 mg NaOH
- 32. 3.00 mmol Na_2CO_3 , 1.5₀ mmol NaOH
- 34. 25.2%

CAPÍTULO 9

- 4. 0.0033 *M*
- 6. 2.0×10^{-5} *M*
- 8. (a) $2.7_8 \times 10^7$ (b) $3.9_0 \times 10^{17}$
- 10. 1.2₆. Sí
- 12. 0.1039₈ *M*
- 14. 10.01 (mg $\text{CaCO}_3/\text{L H}_2\text{O}$)/mL EDTA
- 16. 9.93 mg/dL; 4.95 meq/L
- 18. 3.04 ppm

CAPÍTULO 10

- 10. 16.2 g
- 12. 0.2138, 1.902, 0.1314, 0.6474
- 14. 98.68%
- 16. 1.071%
- 18. 26 mL
- 20. 24.74 g
- 22. 42.5% Ba, 37.5% Ca
- 24. 0.846 g AgCl , 1.154 g AgBr
- 26. 8.20×10^{-19}
- 28. 1.9×10^{-8} *M*
- 30. 5.1×10^{-7} *M*; 1.0×10^{-9} *M*
- 32. 1.6×10^{-4} g
- 34. AB: $s = 2 \times 10^{-9}$ *M*, AC_2 : $s = 1 \times 10^{-6}$ *M*
- 36. Es necesario un exceso de 0.33 *M* de F^- . Sí es posible.
- 38. 2.0×10^{-5} *M*

CAPÍTULO 11

- 4. CaF_2 6.1×10^{-3} *M*, HF 1.20×10^{-2} *M*, F^- $8.0_1 \times 10^{-5}$ *M*

6. $\text{AgCl } 8.4 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{Ag}^+ 1.2_0 \times 10^{-8} \text{ M}$, $\text{Ag(en)}^+ 5.9_6 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\text{Ag(en)}_2^+ 8.4 \times 10^{-3} \text{ M}$
8. $2.7 \times 10^{-5} \text{ M}$
10. 5.434 g/L

CAPÍTULO 12

10. Ni , H_2S , Sn^{2+} , V^{3+} , I^- , Ag , Cl^- , Co^{2+} , HF
12. (a) Pt/Fe^{2+} , $\text{Fe}^{3+}/\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, Cr^{3+} , H^+/Pt (b) Pt/I^- , I_2/IO_3^- , I_2 , H^+/Pt (c) $\text{Zn/Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}$ (d) $\text{Pt/H}_2\text{SeO}_3$, SeO_4^{2-} , H^+/Cl_2 , Cl^-/Pt
14. 1.34 V
16. 0.65 V
18. $\text{PtCl}_6^{2-} + 2\text{V}^{2+} = \text{PtCl}_4^{2-} + 2\text{V}^{3+} + 2\text{Cl}^-$, 0.94 V
20. $2\text{VO}_2^+ + \text{U}^{4+} = 2\text{VO}^{2+} + \text{UO}_2^{2+}$, 0.67 V

CAPÍTULO 13

8. 5.4×10^{-13}
10. (a) -0.028 V (b) 0.639 V (c) 0.84 V
12. (a) 0.845 V (b) -0.020 V (c) -0.497 V
14. (a) $1 \times 10^{-4}\%$ (b) 0.08_4 V (c) 0.261 V
16. -0.505 V
18. (a) 5.78 (b) 10.14 (c) 12.32 (D) 13.89
20. 11.2
22. 0.015 M
24. $4.8 \times 10^{-4} \text{ M}$
26. 0.020
28. $1.0_7 \times 10^4$

CAPÍTULO 14

6. (a) $\text{IO}_3^- + 5\text{I}^- + 6\text{H}^+ = 3\text{I}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$ (b) $2\text{Se}_2\text{Cl}_2 + 3\text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{SeO}_3 + 3\text{Se} + 4\text{Cl}^- + 4\text{H}^+$ (c) $\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{HgCl}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{Hg}_2\text{Cl}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{Cl}^-$
8. 1.12_7 V
10. 10.0 mL : 0.715 V , 50.0 mL : 0.771 V , 100 mL : 1.36 V , 200 mL : 1.46 V
12. $E = [(1) E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}^0 + (2) E_{\text{Sn}^{4+}/\text{Sn}^{2+}}^0]/[(1) + (2)]$
14. (a) 0.319 V , -0.780 V , 1.6×10^{12} (b) 0.691 V , -0.154 V , 2.6×10^{22}
16. 4.96 meq/L
18. 1.47 mL

CAPÍTULO 15

10. $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}] = 5:1$

CAPÍTULO 16

30. $0.25 \mu\text{m}$, 250 nm
32. $20\,000 - 150\,000 \text{ Å}$; $5\,000 - 670 \text{ cm}^{-1}$

34. 0.70 A, 0.10 A, 0.56 T, 0.10 T
36. $4.25 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$
38. $5.15 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$
40. 0.528 g
42. (a) 0.193 g/día (b) 4.91 mmol/L (c) 0.25
44. 0.405 ppm
46. 2.61 mg/L

CAPÍTULO 17

20. 13%
22. 190 ppm
24. 84 ppm

CAPÍTULO 18

12. $D = K_D(1 + 2K_P K_D [\text{HB}_z])_a / (1 + K_a [\text{H}^+]_a)$
14. 48%
16. Se extrae 96.2% con 10 mL; se extrae 99.45% con $2 \times 5 \text{ mL}$

CAPÍTULO 19

8. $1.0_6 \times 10^3 \text{ cm}$
10. $R_s = 0.96$. No se resuelve bien.

CAPÍTULO 20

16. $\Delta m = 0.12$
18. 20.9 ppm

CAPÍTULO 21

26. 270 mmol/L
28. (a) HCl (b) H_2SO_4 (c) HClO_4 (d) H_2SO_4

CAPÍTULO 22

12. 48.5 s
14. 12.7 h
16. 3.82%

CAPÍTULO 23

10. 133 μL

CAPÍTULO 25

16. ATTCGATTCCGTA

CAPÍTULO 26

6. $3.3 \times 10^{-6} \text{ g/L}_{\text{aire}}$

Índice

A

- APC, tabletas,
 - análisis UV, 773
- Absorbancia, 475
 - calibración de absorbancia, 494
 - rango óptimo, 502
- Absorción atómica,
 - atomizador electrotérmico, 532
 - corrección de fondo, 529
 - espectrometría, 525
 - fuentes, 526
 - quemadores, 527
- Absorción de sobretonos, 471
- Absortividad molar, 476
- Ácido clorhídrico,
 - estandarización, 739
 - solución estándar, 44
- Ácido desoxi-ribonucleico, 695
 - (*ver también* ADN)
- Ácido estándar, 272
 - preparación de solución, 44
- Ácido etilendiaminotetra-acético,
 - ver* EDTA
- Ácido fenoldisulfónico, solución, 766
- Ácido fosfórico,
 - ionización, 241
 - pH, 242
 - valores alfa, 243
- Ácido nítrico, libre de NO₂, 744
- Ácido perclórico,
 - precauciones, 56
- Ácido ribonucleico mensajero (mRNA), 705
- Ácido úrico,
 - determinación, 655, 681
- Ácidos polipróticos,
 - cálculos de buffer, 241
 - distribución de especies, 243
 - sales, 248
 - titulación, 281
- Acidosis, 251
- Actividad, 210
- Actividad enzimática, 648
- Actividad específica, 147, 648
- Actividad molecular, 648
- Adenina, 695
- Añición de estándar, 13, 440
- ADN, 695 (*ver también* Ácido desoxi-ribonucleico),
 - cálculos, 535
 - chips de ADN, 704
 - con volumen variable, 536
 - en absorción atómica, 778
 - en cromatografía de gases, 589
 - en espectrometría atómica, 533
 - hibridización, 698
 - microcircuitos de ADN, 704
 - oligonucleótido, 695
 - polimerasa de ADN, 698
 - recocido, 698
 - réplica, 697
 - secuenciamiento, 700
- Adsorción superficial en precipitados, 319
- Adyuvante de Freund, 688
- Agente enmascarante, 294
- Agente oxidante, 354
- Agente quelante, 160, 297
 - precipitado gravimétrico, 325
- Agente reductor, 354
- Agentes desecantes, 45
- Agua de pozo, muestreo, 721
- Agua,
 - análisis de muestra, 722
 - determinación con EDTA, 742
 - dureza, 157, 305
 - estado estándar, 210
 - muestreo, 720
 - titulación microescala, 759
- Aire,
 - análisis de muestra, 718
 - bolsas para muestras, 717
 - bombas de muestreo, 716
 - constituyentes de aerosol, 717
 - dispositivos para muestra, 716
 - monitoreo, 592
 - recolección de muestras, 713
 - tamaño de muestra, 714
 - tren de muestreo para análisis, 715
- Albumina, determinación, 683
- Álcali, reserva de, 251
- Alcoholímetro Breathalyzer, 470
- Alícuotas, 32
- Altura de placa, 560
 - efectiva, 562
- para columna HPLC, 566
- para columna normal empacada, 564
- reducida, 565
- Alumbre férrico, solución indicadora de, 744
- Aminoácidos,
 - analizador, 625
 - separación por cromatografía de capa delgada, 780
 - separación por intercambio iónico, 624
 - titulación, 286
- Amplitud de rendija espectral, 494
- Amplitud de rendija,
 - espectral, 494
 - mecánica, 494
- Analgésicos, determinación por HPLC, 783
- Análisis cualitativo, 2
- Análisis cuantitativo, 2
- Análisis de espectro completo, 498
- Análisis de inyección de flujo, 665
 - caracterización del sistema, 786
 - caudal, 670
 - coeficiente de dispersión, 668
 - geometría de canal, 671
 - longitud de canal, 670
 - mediciones con flujo detenido, 672
 - principios, 665
 - volumen de muestra, 669
- Análisis de inyección secuencial, 673
- Análisis de proceso, 661
 - requisitos de instrumentos, 663
- Análisis de vapor en equilibrio, 590
- Análisis dimensional, 145
- Análisis en punto de atención médica, 683
- Análisis enzimáticos,
 - ejemplos, 653
 - FIA, 672
- Análisis EPA basado en desempeño, 723
- Análisis gravimétrico, 11
 - condiciones de precipitación, 316
 - ejemplos, 324
 - pasos, 314
 - proceso de precipitación, 315
 - relaciones de peso, 180
- Análisis instrumental, 11
- Análisis SNP, 704
- Análisis titulométrico, 11
- Análisis volumétrico, 11

- Analito, 7, 15
 Analizador de masa de tiempo de vuelo, 598
 Analizadores continuos, 662
 Analizadores de masa, 597
 de tiempo de vuelo, 598
 filtro de masa cuadrupolar, 597
 Analizadores discretos, 663
 Analizadores multicanales, 665
 Analizar vs. determinar, 15
 Anaranjado de metilo modificado, 281, 338
 Angstrom, 212
 Ánodo, 355
 Anticoagulante, 8, 680
 Anticuerpo monoclonal, 688
 Anticuerpo, 685
 monoclonal, 688
 preparación, 688
 título, 688
 Antígeno, 685, 686
 Antimonio,
 titulación con yodo, 757
 Antisuero, 686
 Apertura numérica, 511
 Aproximaciones sucesivas, 197
 Arquímedes, principio de, 28
 ácido, 219
 Arrhenius, teoría, 219
 base, 219
 Ascarita, 43, 55
 Aseguramiento de calidad, 124, 133
 Aspirina,
 atomizador electrotérmico, 532
 determinación por HPLC, 784
 determinación por UV, 773
 límites de detección, 533
 solución estándar, 784
 unidad de aseguramiento de calidad, 126
 ATR, 501
 Automatización, 660
 Autoprotólisis, 222
 constante de, 222
 Auxocromo, 465
 Azul de bromotimol, 271
 Azul de molibdeno, 769
- B**
- BAC, 699
 Balance de masas,
 ecuaciones, 203
 equilibrios múltiples, 341
 Balanceo de reacciones redox, 414
 Balanza analítica, 24
 de un solo platillo, 26
 electrónica, 24
 micro, 28
 semimicro, 28
 uso, 727
 Balanza de un solo platillo, 26
 uso, 727
 Balanza electrónica, 24
 uso, 727
 Balanza semimicro, 28
 Balómetro, 493
 Banda,
 ampliación de, 560
 amplitud de, 494
 paso de, 494
 Bandas de absorción de combinación, 471
 Base estándar, 272
 preparación de solución, 43
 Base peso/volumen, 154
 Base volumen/volumen, 156
 Bases de datos espectrales, 472
 Beer, ley de, 474
 instrumental, 504
 mezclas, 478
 química, 503
 Biblioteca de espectros de masas, 601
 Biblioteca genómica, 695, 699
 Bicarbonato en sangre,
 titulación, 740
 Bio-gel, 622
 Biuret, reacción de, 468
 Blancos, 10
 Brønsted, ácido de
 sal de base débil, 232
 Brønsted, base de
 sal de ácido débil, 230, 231
 Brønsted-Lowry, teoría,
 ácido, 220
 base, 220
 Buena práctica de laboratorio, 124, 125
 Buena práctica de manufactura, 135
 Búffer de amoníaco, solución
 pH10, 743
 Buffer de fortaleza iónica total, 396
 (ver también TISAB)
 Búffer,
 ácidos polipróticos, 241
 cálculos, 234
 calculadora para, 609
 capacidad de amortiguación, 237
 máxima, 237, 239
 total, 275
 composición, 234
 definición, 234
 índice de búffer, 237
 intensidad de búffer, 237
 mecanismo de amortiguación, 236
 región del búffer, 237
 Buffers de fosfato, 242, 253
 Buffers de ortofosfato, 242
 Buffers estándar, 389
 dependencia de la temperatura, 390
 exactitud, 389
 Buffers fisiológicos, 251
 Buffers Tris, 254
 Buffers,
 biológicos, 253
 calculadora de preparación, 609
 clínicos, 253
 de fosfato, 242, 253
 Bureta, 35
 calibración, 41, 730
 uso, 729
- C**
- Cadena de polimerasa, reacción, 697, 698
 Ca-EDTA, 299
 condicional, 301
 Cafeína,
 determinación por UV, 773
 Caída de iR , 381, 447
 Caída de voltaje, 381, 447
 Calcio,
 determinación por absorción atómica, 776
 Cálculos de dilución, 149
 Cálculos de normalidad, 179
 Cálculos gravimétricos, 320
 mezclas, 324
 Cálculos volumétricos,
 molaridad, 160
 normalidad, 172
 Calibración de analizador de gases, 720
 Calibración de equipo de vidrio, 39, 730
 Calibración de equipo de vidrio, 39, 730
 Calificación z, 133
 experimento, 795
 Campana de flujo laminar, 46
 Campana de gases, 46
 Capacidad de compensación, 383
 Capacidad de intercambio, 623
 Características de logaritmo, 73, 801
 Carbonato de sodio industrial, ver Carbonato de sodio
 Carbonato de sodio,
 titulación, 249, 738
 titulación potenciométrica, 762
 Carbowax, 581
 índices de retención, 583
 selección, 583
 Catalizadores, 193
 Cátodo, 355
 CCD, ver Dispositivo acoplado por carga
 Celda de medición de potencial, 381
 Celda electrolítica, 355
 Celda electroquímica, 355 (ver también Celda voltaica)
 Celda galvánica, ver Celda voltaica
 Celda sin transferencia, 375
 Celda sin unión líquida, 375
 Celda voltaica, 355 (ver también Celda electroquímica)
 con unión líquida, 375
 convención de celda, 359
 sin unión líquida, 375
 CFR, parte II, 135
 Champú, determinación de pH, 746
 Chemical Abstracts, 796
 Chromosorb P, W, 574, 578
 Ciencia analítica,
 definición, 1
 Cifras significativas, 68
 línea de cuadrados mínimos, 111
 logaritmos, 72
 multiplicación y división, 69
 propagación de errores, 88
 suma y resta, 71
 Cinética, 643
 Citosina, 695
 Clorofluorocarburos,
 determinación, 719
 Cloruro,
 determinación Fajan, 745
 determinación FIA, 789

- determinación gravimétrica, 730
 titulación potenciométrica, 789
 solución estándar, 790
- CME, 452
- Cobre,
 determinación yodométrica, 755
- Código genético, 706
- Codón, 706
- Coefficiente de actividad, 210
 cálculo, 212
 en solución diluida, 210
 especies neutras, 215
 no-electrólitos, 214
 propiedades, 214
- Coefficiente de correlación, 106
- Coefficiente de determinación, 107
 cálculo con hoja de trabajo, 109
- Coefficiente de dispersión, 668
- Coefficiente de distribución, 541
 en cromatografía, 557
- Coefficiente de partición, 557
- Coefficiente de selectividad del ISE, 401 (*ver también* Electroodos ion-selectivos)
 método de potencial igualado, 404
 método de solución mixta, 403
 método de solución separada, 403
- Coefficiente de variación, 76
- Coenzima, 649
- Color complementario, 458, 460
- Color,
 complementario, 460
- Columna,
 eficiencia y tamaño de partícula, 567
 prevención del sangrado, 599
 sangrado y GC-MS, 599
- Columna supresora, 625
 eliminación, 626
- Columnas capilares,
 fabricantes, 581
- Columnas de alma estrecha, 616
- Columnas monolíticas, 608
- Columnas PLOT, 580
- Columnas SCOT, 580
- Columnas WCOT, 579
- Complejo activado, 646
- Complejo antígeno-anticuerpo, 686
 afinidad, 686
 avidéz, 686
- Complejo, 194
- Compuestos orgánicos volátiles (VOC),
 muestreo, 717
- Concentración
 analítica, 149, 196, 243
 de cargas, 205
 de equilibrio, 149, 196, 243
 del potencial de electrodo, 382
 efectiva, 210
 volumen/volumen para gases, 713
- Concentración analítica, 149, 196, 243
- Concentración crítica de micelas, 639
- Concentración de carga, 205
- Concentración efectiva, 210
- Concentración molar, 142
- Concentraciones de ácido (*ver* tabla al final del libro)
- Concentraciones de bases (*ver* tabla al final del libro)
- Concentraciones de gas volumen/volumen, 713
- Confiabilidad, 132
- Confianza,
 intervalo de, 90
 límite, 77, 90
 nivel, 90
 del rango, 101
- Constante de disociación, 296
- Constante de disociación para ácidos, 804
- Constante de equilibrio,
 ácido, 222
 cálculo de reacción, redox, 415
 concentración, 214
 energía libre, Gibbs, 192
 efectos de la temperatura, 193
 molar, 190, 223
 termodinámica, 214
- Constante de estabilidad, 295
- Constante de formación, 295
- Constante de hidrólisis,
 sal de ácido débil, 230
 sal de base débil, 233
- Constante de inestabilidad, 296
- Constante de los gases, 192
- Constante de rapidez de reacción, 644
- Constante de rapidez específica, 644
- Constantes de disociación para bases, 805
- Constantes de equilibrio,
 electrolitos débiles, 194
 electrolitos fuertes, 194
 por pasos, 194
 precipitados, 194
- Constantes de formación de complejos EDTA, 807
- Contrapresión en HPLC, 608
- Contra-titulación, 170
- Control de calidad, 133, 661
 gráfica de control de calidad, 14, 89
 gráfica de control de calidad para
 aseguramiento de calidad, 133
 experimento de control de calidad, 793
- Convención Gibbs-Estocolmo, 357
- Conversión interna, 506
- Corriente anódica, 449
- Corriente catódica, 449
- Corriente de migración, 450
- Corriente limitante, 448
- Corriente oscura, 496
- Corriente-voltaje, curva, 448
- Corrimiento betocrómico, 465
- Corrimiento hipercrómico, 465
- Corrimiento hipsocrómico, 465
- Criba molecular, 580, 620
- Crisol,
 de filtro de porcelana, 48
 de Gooch, 47
 de vidrio sinterizado, 48
 porta-crisol, 48
- Crisol Gooch, *ver* Crisol
- Cromatografía,
 adsorción, 558
 coeficiente de distribución, 557
 definición IUPAC, 555
- ecuación de resolución, 569
- eficiencia de columna, 560 (*ver también* Columna, eficiencia)
- intercambio iónico, 558
- nomenclatura cromatográfica, 559
- partición, 558
- principios de separación cromatográfica, 556
- resolución cromatográfica, 568
- software de simulación, 570
- términos de cromatografía, 559
- tipos, 555
- tipos de técnicas cromatográficas, 558
- Cromatografía de capa delgada de alto
 desempeño, 630
- Cromatografía de capa delgada, 627
 bidimensional, 629
 cuantitativa, 630
 de alto desempeño, 630
 detección puntual, 629
 fases estacionarias, 629
- Cromatografía de exclusión por tamaño, 558, 620
 en cromatografía de capa delgada, 630
- Cromatografía de fase invertida, 613
 fases con enlaces no polares, 607
- Cromatografía de fase normal, 613
- Cromatografía de filtración de gel, 621
- Cromatografía de gases de fases estacionarias, 581
- Cromatografía de gases, 574
 adsorción, 574
 alta velocidad, 592
 compuestos determinados, 577
 mediciones cuantitativas, 589
 partición, 574
 programación de temperatura, 588
 selección de temperatura, 587
- Cromatografía de gases, columnas de
 capilares, 578
 cubiertas de soporte, abiertas tubulares (SCOT), 580
 de pared recubierta, abiertas tubulares(WCOT), 579
 de capa porosa, abiertas tubulares (PLOT), 580
 empacadas, 578
 fabricantes, 581
- Cromatografía de gases, detectores de, 584
 de azufre, 586
 de captura de electrones, 586
 de conductividad térmica, 584
 de emisión atómica, 587
 de fósforo, 586
 de ionización de argón (rayos β), 586
 de ionización de flama, 584
 de nitrógeno-fósforo, 586
 sensibles a concentración vs. caudal másico, 587
 termiónicos de flama, 586
- Cromatografía de gases-espectrometría de masas, 577, 593 (*ver también* GC-MS)
- interfaz, 599
- modo de ion selectivo, 601
- modo de iones totales, 599

- Cromatografía de intercambio iónico, 558, 622
 separación de iones metálicos, 625
 Cromatografía de iones, 625
 columna de supresión, 625
 supresión electrónica, 626
 Cromatografía de partición, 558
 Cromatografía de permeación de gel, 621
 Cromatografía líquida de alto desempeño, 604
 (*ver también* HPLC)
 elución de gradiente, 615
 alta velocidad, 616
 alta temperatura, 618
 columnas de alma angosta, 616
 fases estacionarias, 606 (*ver también* HPLC
 de fases estacionarias)
 principios, 605
 Cromatografía líquida-espectrometría de masas,
 ver HPLC-MS
 Cromatografía micelar electrocinética capilar,
 639
 Cromatograma,
 bases de datos, 571
 CROMERRR, 136
 Cromo,
 determinación espectrofotométrica, 770
 solución estándar, 771
 Cromóforo, 465
 conjugado, 220, 466
 Cromógeno, 465
 Cromolito, 609
 Cromosoma bacterial artificial, 699
 Cromosomas, 693
 Cruce intersistémico, 507
 Cuaderno de laboratorio, 20
 documentación, 22
 Cuadrados mínimos lineares, 102
 Curva de calibración, 13
 cálculo de incógnita con hoja de trabajo, 481
 graficación de hoja de trabajo, 107
 Curva de Gauss, 67
 del analito en material a granel, 116
- D**
- Dalton, 142
 Davies, ecuación, 213
 Davies, modificación, 213
 Debye-Hückel, ecuación, 212
 Definición del problema analítico, 5
 Densidad, 147
 del aire, 28
 Desaireación, 4515
 Descomposición autocatalítica, 429
 Desecador, 45
 al vacío, 45
 Deshidrito, 55
 Deshidrogenasa de ácido láctico, 654
 Deshidrogenasa, reacciones, 654
 Desorción térmica, 591
 Desviación del electrodo de pH, 392
 Desviación estándar, 74
 agrupada, 95
 alrededor de la regresión, 482
 de adiciones desconocidas de estándar, 535
 de concentración desconocida, 104, 482
 de intersecciones con ejes, 104
 de la incógnita, 535
 de la pendiente, 104
 de regresión, 105, 111
 estimada, 75
 relativa, 76
 Detector de azufre en GC, 586
 Detector de captura de electrones, 586
 Detector de conductividad térmica, 584
 Detector de fotones, 493
 Detector de ionización de flama, 584
 Detector GC de nitrógeno-fósforo, 586
 Detector para HPLC, 612
 Detector termoiónico de flama, 586
 Detectores sensibles a la concentración, 587
 Detectores sensibles al flujo másico, 587
 Determinación, 15
 Determinaciones enzimáticas, 656
 Diagrama logarítmico de concentración, 255
 ácido acético, 255, 259
 construcción de hoja de trabajo, 259
 de valores alfa, 260
 punto de sistema, 257
 Diclorofluoresceína,
 solución, 745
 Dicromato de potasio,
 estándar primario, 429
 solución estándar, 750
 Di-desoxinucleótidos, 700
 Difracción,
 dispersión, 487
 ecuación de rejilla, 487
 holográfica, 488
 orden de, 487
 poder de resolución, 487
 rejilla de, 486
 Difusión, capa de, 448
 Difusión longitudinal, 563
 Difusión molecular, 563
 Difusión turbulenta, 563
 Difusión, potencial de, 387
 Digestión de precipitados, 317
 Digestión húmeda, 10, 55, 56
 Digestiones con ácido, 59
 Dióxido de azufre,
 determinación, 719
 Dióxido de nitrógeno,
 determinación, 718
 Disolución de muestras, 54
 sólidos inorgánicos, 54
 Dispositivo acoplado por carga, 492
 Dispositivos automáticos, 660
 Dispositivos automatizados, 660
 Distribución normal, 67
 Ditzona, 545
 DME, 451
- E**
- Ecuación cuadrática,
 solución Solver, 198
 fórmula cuadrática, 803
 Ecuaciones de balance de cargas, 204
 EDTA,
 complejos de EDTA, 807
 constantes de formación de, 807
 curvas de titulación, 303
 efecto del pH, 299
 equilibrios de EDTA, 298
 estándar primario, 306
 pH, 250
 solución estándar, 743, 776
 titulación en agua dura, 742
 titulación en sangre, 307
 Efecto de filtro interno, 509
 Efecto de ion diverso, 214
 en ácidos y bases, 254
 Efecto de quelado, 298
 extracción por solvente, 307
 mecanismo de absorción de luz, 468
 Efecto de sal diversa, 210
 EGTA, 307
 Electrocatalizador, 453
 Electrochromatografía capilar, 639
 Electrodo amperométrico,
 de oxígeno, 451
 detector HPLC, 612
 enzimático, 453
 Electrodo auxiliar, 447
 Electrodo catalítico, 453
 Electrodo de calomel, 372
 Electrodo de calomel saturado, 378
 Electrodo de carbono, 451
 Electrodo de glucosa, 453
 Electrodo de gota de mercurio, 451
 Electrodo de hidrógeno, 373 (*ver también* NHE)
 Electrodo de oxígeno, 451
 Electrodo de pH de combinación, 386
 Electrodo de referencia, 370, 374
 doble unión, 378
 Electrodo de trabajo, 447
 potencial mínimo para la reducción, 448
 Electrodo de vidrio para pH, 389
 alto pH (rango completo), 389
 calibración, 385, 747
 error ácido, 389
 error alcalino, 388
 mecanismo, 386
 principio, 384
 Electrodo despolarizado, 449
 Electrodo enzimático, 399
 amperométrico, 453
 Electrodo estándar de hidrógeno, 357
 Electrodo indicador, 370, 374
 Electrodo modificado químicamente, 452
 Electrodo normal de hidrógeno, 357
 Electrodo selectivo al calcio, 397
 Electrodo selectivo al potasio, 398
 Electrodo,
 desviación, 392
 limitaciones de potencial, 366
 medición de potencial, 366
 potencial, 356
 ultramicro, 454
 Electroodos ion-selectivos,
 alambre cubierto, 399
 coeficiente de selectividad, 401 (*ver también*
 Selectividad)
 determinación del coeficiente de selectividad,
 402
 en titulaciones, 434
 estado sólido, 396

- factor de selectividad, 405
- líquido-líquido, 397
- mecanismo de respuesta, 399
- mediciones, 406
- membrana de plástico-ionóforo, 397
- membrana de vidrio, 395
- potencial, 400
- sensibilidad, 406
- ventajas y desventajas, 407
- Electrodos ISFET, 408
- Electrodos potenciométricos, 369
 - catión metal-metal, 369
 - metal inerte, 373
 - sal metal-metal, 371
- Electroforesis capilar de gel, 639
- Electroforesis capilar de zona, 639
- Electroforesis capilar, 632
 - detectores, 635
 - de iones pequeños, 637
 - eficiencia de separación, 636
 - introducción de muestra, 634
 - mecanismo, 634
 - número de placas, 636
 - poder de resolución, 633
 - separaciones de moléculas neutras, 638
 - tasa de migración, 637
 - teoría, 636
- Electroforesis capilar-espectrometría de masas, 635
- Electroforesis de gel de poliacrilamida (*ver* PAGE bidimensional)
- Electroforesis de zona, 630
- Electroforesis, 631 (*ver también* Electroforesis capilar)
- Electrólito de soporte, 450
- Electrómetro, 380
- Electro-ósmosis,
 - flujo electro-osmótico, 632
 - inyección, 634
 - movilidad electro-osmótica, 633
- ELISA, 689
- Embudo separador, 542
- End-capping, sellado de enlaces químicos, 607
- Endonucleasa, 697
- Energía de fotones, 459
- Energía libre de Gibbs, 192 (*ver también* Energía libre)
 - y la constante de equilibrio, 192
- Energía libre,
 - estándar, 192
- Enfoque isoelectrónico, 707
- Enlace cruzado de resinas, 624
- Entalpía, 191, 298
 - estándar, 192
- Entropía, 191, 298
 - estándar, 192
- Enzima nucleasa, 697
- Enzimas, 646
 - actividad específica, 648
 - actividad molecular, 648
 - cinética de enzimas, 648
 - determinación de enzimas, 652
 - determinación de inhibidor de, 657
 - determinación de sustrato, 652
- ejemplos de análisis enzimático, 653
- electrodo enzimático, 399
- electrodo enzimático amperométrico, 453
- enzimas, 657
 - especificidad, 650
 - FIA, 672
 - inhibidores competidores, 648
 - inhibidores de enzimas, 648
 - inhibición de sustrato, 649
 - inhibición no-competitiva, 648
 - inmunoensayo, 689
 - nomenclatura, 651
 - propiedades, 647
 - pseudo-primer orden, 647
 - ensayo inmunosorbente con enlace enzimático, 689
- Equilibrio, cálculos, pasos del método de
 - aproximación, 206
 - especies disociantes, 201
 - concentración de equilibrio, 149, 196, 243
 - reacciones químicas, 195
 - pasos del método sistemático, 206
 - suposiciones simplificadoras, 200
- Equilibrio termodinámico
 - ácido, 222, 254
 - autoprotólisis, 222
 - constante de, 214
 - producto de solubilidad, 332
- Equilibrios ácido-base
 - en agua, 221
- Equilibrios heterogéneos, 209
- Equilibrios,
 - efectos de la concentración, 193
 - efectos de la presión, 193
 - heterogéneos, 209
 - tipos, 191
- Equipo volumétrico de vidrio,
 - calibración, 39, 730
 - cuidado, 36
 - marca TC, 32
 - marca TD, 33
 - precisión, 38
 - selección, 42
 - tolerancias NIST (*ver* tabla al final del libro)
- Eriochrome Black T, 305
 - solución, 742
- Eritrocitos, 671
- Error, 82 (*ver también* Propagación de errores)
 - absoluto, 73
 - medio, 73
 - relativo, 74
 - tipos de error, 14
- Error absoluto, 73
- Error aleatorio, 14, 77 (*ver también* Error indeterminado)
- Error de paralaje, 37
- Error determinado, 66, 77 (*ver también* Error sistemático)
- Error espectrométrico, 501
- Error estándar de estimado, 111, 482
- Error estándar, 76, 535
- Error indeterminado, 67 (*ver también* Error aleatorio)
- Error medio, 73
- Error relativo, 74
- Error sistemático, 14, 66, 77 (*ver también* Error determinado)
- Específica, 4
- Espectro de absorción,
 - mecanismo, 506
- Espectro de dominio de frecuencia, 500
- Espectro electromagnético, 458
- Espectro en dominio cronológico, 499
- Espectrofluorómetro, 510, 511
- Espectrofotometría, 492
 - determinación de mezclas, 770
- Espectrofotómetro, 483
 - definición, 492
- Espectrometría atómica, 522
 - flamas, 528
 - interferencia de ionización, 529
 - interferencias espectrales, 528
 - preparación de muestra, 530
- Espectrometría de emisión de flama, 522
- Espectrometría de infrarrojo cercano, 471
 - calibración, 471
 - espectrómetro, 501
 - pruebas no destructivas, 470
 - región, 460
 - usos, 472
- Espectrometría de masas,
 - fuentes de ionización, 594 (*ver también* fuentes específicas)
 - ion molecular, 595
 - ion padre, 595
 - pico base, 595
 - principios, 593
 - resolución unitaria, 594
 - resolución, 594
- Espectrometría,
 - cálculos cuantitativos, 474
 - de mezclas, 478
 - solventes para, 473
- Espectrómetro, 483
 - calibración de absorbancia, 494
 - calibración de longitud de onda, 494
 - celdas para luz visible/UV/IR, 489
 - doble haz, 497
 - fuentes, 484
 - haz simple
 - IR, 499
 - IR cercano, 501
 - red de diodos, 498
- Espectrómetro, componentes,
 - prisma, 486
 - rejilla de difracción, 486
- Espectrómetro, detectores
 - IR, 492
 - UV, visible, 490
- Espectrómetro, fuentes
 - infrarrojo, 484
 - ultravioleta, 484
 - visible, 484
- Espectrómetro de red de diodos, 498
- Espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier, 499
- Espectros infrarrojos, 469
 - mediciones cuantitativas, 483
- Esquema del genoma humano, 705

- Estadísticas de muestreo, 113
Estadísticas para pequeños conjuntos de datos, 100
Estado electrónico de tierra, 462
Estado estándar del agua, 210
Estado excitado, 462
Estado triple, 506
Estándar interno,
 en espectrometría atómica, 533
 en cromatografía de gases, 589
Estándar primario de cerio (IV), 430
Estándar primario, 159
 requisitos, 159
Estándar secundario, 44, 159, 740
Estándares certificados, 14
Estandarización, 159, 165
 cálculos, 165
Estequiometría, 141
 cálculos estequiométricos, 158
Estequiométrico, 158
Éter corona, 398
Exactitud relativa, 74
Exactitud, 65
 en la validación, 129
 relativa, 74
Excel Solver, *ver* Solver
Excel, *ver* Hojas de cálculo
Exonucleasa, 697
Experimento de curva de error normal, 730
Experimento de validación de método, 793
Exponentes, 800
Expresión de genes, 693
Expresión de rapidez de reacción, 644
Extracción acelerada por solvente, 546
Extracción en fase sólida, 546 (*ver también* SPE)
 basada en polímero, 550
 basada en sílice, 547
 de dos fases, 551
 de trazas orgánicas en agua, 723
 microextracción en fase sólida, 551
 optimización de procedimiento, 550
 sorbentes para, 550
 sorbente universal, 550
Extracción por solvente,
 acelerada, 546
 asistida por microondas, 546
 de complejos de asociación iónica, 545
 de complejos metálicos, 545
 de metales, 544
 de quelatos metálicos, 307
 eficiencia, 543
- F**
Factor de desviación, 101
Factor de respuesta, 129
Factor de retención, 568
 y eficiencia de HPLC, 614
Factor de selectividad del ISE, 405
Factor de separación, 569
 y eficiencia de HPLC, 614
Factor gravimétrico, 181, 320
 ejemplos, 183
Fajan, determinación, 745
Fajan, método de, 351
- Fases estacionarias, *ver* GC; HPLC
Fellget, ventaja de, 500
Femto, 149
Fenacetina,
 determinación por UV, 773
Fenoltaleína, 271
 solución, 736, 762
Fenolsulfonftaleína,
 solución, 741
FIA, *ver* Análisis de inyección de flujo
Fibra óptica, 511
 apertura numérica, 511
 espectrómetro, 513
 sensores, 513
Fibrina, 8
Fibrinógeno, 8, 671
Filtración,
 de precipitados, 319
 técnicas, 48
Filtrado libre de proteínas, 10, 59
 ácido tricloroacético, 681
 Ba(OH)₂-ZnSO₄, 681
 Folin-Wu, 681
Filtro de masa cuadrupolar, 597
 para HPLC-MS, 620
Filtro óptico, 488
Filtro primario, 510
Filtro secundario, 510
Firmas electrónicas, 135
Firmeza, 131
Flujo laminar, 633, 671
Fluoresceína, indicador de, 351
Fluorescencia,
 espectrometría, 485
 espectros corregidos, 511
 extinción, 508
 inhibición, 508
 inmunoensayo, 689
 instrumentación, 510
 mecanismo, 506
 rango dinámico, 510
 sensibilidad, 510
 y concentración, 509
 y estructura química, 508
Fluorometría, 505
Fluorómetro, 510
Fluoruro,
 determinación con electrodo ion-selectivo, 748
 electrodo fluoruro-selectivo, 396
 solución estándar, 749
Foley-Dorsey, ecuación, 562
Formación de vapor atómico, 523
Formalidad, 147
Fortaleza iónica, 211
 de ácidos débiles, 211
Fosfato,
 determinación espectrofotométrica, 790
 determinación por FIA, 790
Fosfato monohidrogenado, pH, 249
Fosforescencia, 507
Fósforo,
 detector GC, 586
 solución estándar, 770
Fósforo en suero,
 determinación espectrofotométrica, 769
- Fotomultiplicador ciego al sol, 492
Fototubo, 490
Fragmento Fab, 685
Fragmento FC, 685
Frasco de lavado, 47
Frecuencia, 458
FTIR, *ver* Espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier
Fuente de impacto de electrones, 594
Fuente de ionización química, 595
Fuentes de láser, 485
Fuerza del solvente, 614
Fusión, 54
- G**
Gas portador, 574, 576
GC, *ver* Cromatografía de gases
GC-MS, 577 (*ver también* Cromatografía de gases-espectrometría de masas)
GC portátiles, 592
Genómica, 706
GF, *ver* Factor gravimétrico
gfw, 142
Glicólisis, 680
 prevención, 741
Global, 485
Globulinas, determinación, 683
GLP, *ver* Buena práctica de laboratorio
Glucosa, determinación enzimática, 785
 determinación espectrofotométrica, 655
 solución estándar, 786
GMP, *ver* Buena práctica de manufactura
gmw, 142
Golay, ecuación de, 565
Gradiente de elución, 615
 tiempo de re-equilibrio, 615
Grados de libertad, 75
 desviación estándar compartida, 95
Grados de productos químicos (*ver* tabla al final del libro)
Gráfica de Gran, 437
 corrección de volumen
 de primera derivada, 439
 ventaja, 439
Graficado, usando hojas de trabajo, 78
Gráficas de control, 14, 89
 en aseguramiento de calidad, 133
Gráficas de cuadrados mínimos, 102
Guanina, 695
Guía de ondas, 511
- H**
Haptenos, 688
Hemólisis, 680
Henderson-Hasselbach, ecuación, 235
 constante de equilibrio termodinámico, 255
Heparina, 680
Heptano, determinación por GC, 781
Hexano, determinación por GC, 781
Hibridación, 698
Hidrocarburos totales,
 determinación, 719
Hidrofílicos, 318
Hidrofóbicos, 318
Hidrólisis, 230

- Hidróxido de sodio,
estandarización, 738
preparación de solución, 736
solución estándar, 43
- 8-Hidroxiquinolina, *ver* Oxina
- Hierro,
determinación espectrofotométrica, 750
solución estándar, 765
titulación con dicromato, 750
- Hipercromismo, 465
- Hipoclorito, titulación yodométrica, 753
- Hipocromismo, 465
- Historia de la química analítica, 3
- Hoja de trabajo,
adiciones múltiples de estándar, 534
cálculo de incógnita en curva de calibración, 481
cálculo de mezclas, 480
cálculo de rapidez de reacción, 653
cálculo de coeficiente de determinación, 109
calibración de estándar interno, 589
diagrama logarítmico de concentración, 534
ecuación cuadrática, 198
graficación de curvas de calibración, 107
Solver
 curva de titulación de ácido fuerte, 269
 curva de titulación de ácido débil, 277
- Hojas de datos de seguridad de materiales, 60
- Hojas de trabajo, 78
 delineador, 246
 impresión, 80
 llenado del contenido de las celdas, 78
 para graficado, 78
 memorización, 80
 referencias de celdas absolutas, 78
 referencias de celdas relativas, 80
 sintaxis, 81
 sintaxis útiles, 82
 tutorial en Internet en uso, 78
- Horno de mufla, 46
- Horno de secado, 46
- HPLC de fases estacionarias,
empaques de perfusión, 608
empaques no porosos, 608
enlaces no polares, 607
híbrido sílice/polímero, 609
monolítica, 608
partículas microporosas, 607
sílice de alta pureza, 606
- HPLC, 604 (*ver también* Cromatografía líquida de alto desempeño)
 contrapresión, 608
 desarrollo de métodos, 613
 detectores, 612
 diseños de columnas, 609
 equipo, 609
- HPLC-MS, 618
 interfaz de ionización química a presión atmosférica, 620
 inyectores, 610
 selección de columnas, 615
 selección de solventes, 614
 sistema de fases móviles, 609
 solventes, 610
- Huber, ecuación, 566
- I**
- Impactador, 717
- Impactor, 717
- Impedancia, alta entrada, 380
- Imperturbabilidad, 132
- Incertidumbre de incógnita, 104, 482, 535
- Incineración a baja temperatura, 55
- Incinerado en seco, 10, 55
- Inclusión en precipitados, 318
- Indicador de almidón, 422
- Indicador de calgamita, 306
- Indicador, 159, 270 (*ver también* pH, indicadores)
 de adsorción, 349, 350
 de precipitación, 349
 de transición de pH, 271
 quelométrico, 305
 rango de transición, 423
- Infrarrojo cercano (*ver también* NIR), 417
- Ingamell, constante de muestreo, 114
- Iniciador, 698
- Inmunoensayo,
 especificidad, 688
 heterogéneo, 689
 homogéneo, 689
 principios, 685
- Inmunoglobulina, 685
- Inmunología, 685
- Instrumentos automáticos, 664
- Instrumentos automatizados, 661
- Instrumentos controlados por microprocesador, 675
- Instrumentos discontinuos, 664
- Instrumentos semiautomáticos, 664
- Interfaz HPLC-MS de haz de partículas, 619
- Interfaz HPLC-MS de ionización por electroaspersión, 619
- Interferograma, 499
- Interferómetro, 485
 operación, 499
- Intersecciones con ejes,
 cálculos con hoja de trabajo, 109
 desviación estándar, 104
- Inyección de electromigración, 634
- Inyección hidrostática, 634
- Ion común, efecto, 202
- Ion hidronio, 222
- Ion molecular, 595
- Ion padre, 595
- Ion potasio,
 soluciones de actividad estándar, 406
- Ion sodio,
 coeficiente de actividad en sangre, 406
 soluciones de actividad estándar, 406
- Ionización de argón,
 detector de rayos β , 586
- Ionización de resorción láser asistida por matriz (MALDI), 708
- Ionización química a presión atmosférica, 620
- Ionóforo, 397
- IR,
 absorción y estructura molecular, 469
 requisito de absorción, 469
 región IR, 460
- IR lejano, región de, 460, 461
- Isodispersión, punto de, 674
- Isoenzima, 656
- Isótopos
 abundancias relativas, 595, 596
- J**
- Jacquino, ventaja de, 500
- Jeringa de Hamilton, limpieza, 782
- Johnson, ruido de, 502
- Joule, calentamiento de, 634
- K**
- Kjeldahl, análisis, 287
 digestión, 57
 matraz, 60
 micro, 289
- Knox, ecuación, 567
- Kovats, índice de retención, 583
- L**
- Ladrillo refractario, 574
- Lámpara de cátodo hueco, 526
- Le Châtelier, principio, 192, 193, 202
- Leucocitos, 671
- Lewis, teoría,
 ácidos, 221
 bases, 221
- Ley de rapidez de reacción, 644
- Ley de acción de masas, 189
- Licor madre, 317
- Ligando, 295
 bidentado, 297
- Límite de cuantificación, 113
 en la validación, 131
- Límite de detección, 111
 en la validación, 131
- Límite de exclusión, 621
- Límites de control, 89
- Limpieza de equipo de vidrio, 729
- Línea de cuadrados mínimos,
 cifras significativas, 111
- Línea de resonancia, 526
- Linealidad,
 en la validación, 128
- LINEST Excel, programas estadísticos, 110
- Lineweaver-Burk, ecuación, 649
- Literatura de química analítica, 796
- Literatura química, 7
- Llama de óxido nitroso-acetileno, 530
- Logaritmos, 801
 característica, 73, 801
 cifras significativas, 72
 mantisa, 73, 801
- Longitud de onda, 458
 calibración, 494
 nominal, 493
- Luz parásita, 505
- M**
- MALDI-TOF, 707
- Manganeso,
 determinación espectrofotométrica, 770
 solución estándar, 771
- Mantisa de logaritmo, 73, 801

- Masa molar, 142
Masa, 24
Materiales de laboratorio,
 propiedades, 23
Materiales de referencia estándar, 14
 en la validación, 130
Matraces volumétricos, 32
 calibración, 41
Maxwell-Boltzmann, distribución de, 524
Mc Reynolds, constantes, 583
Media reacción, 414
 potencial de, 356, 415
Mediana, 99
 eficiencia, 100
Media-vida,
 reacción de primer orden, 644
 reacción de segundo orden, 645
Medición potenciométrica,
 exactitud, 383
Mediciones FIA, 672
 de reacciones enzimáticas, 646
Medidor de prueba húmeda, 715
Medidor de prueba seca, 715
Menisco, 32
Método absoluto, 11
Método de aproximaciones sucesivas, 197
Método de la línea base, 483
Método de referencia, 127
Método de sumas estándar, *ver* Adición de
 estándar
Método relativo, 11
Método sistemático para cálculos de equilibrio,
 203
 equilibrios múltiples, 341
 pasos, 206
Metodología analítica,
 jerarquía, 126
Métodos analíticos,
 clasificación, 15
 comparación, 12
Métodos volumétricos,
 clasificación, 160
Mezcla sin diluir, 471, 490
Michaelis, constante de, 649
Microbalanza, 28
Microbureta,
 construcción, 760
Microlitro, 149
Microondas,
 digestión, 57
 extracción asistida por microondas, 546
 hornos de laboratorio, 58
 región de microondas, 461
Microprocesador, 675
Microsoft Excel Solver, *ver* Solver
Microsoft Excel, *ver* Hojas de trabajo
Microtitulación,
 placas para extracción fase sólida (SPE), 549
Miliequivalentes, 172
 en química clínica, 156
Miligramos por ciento, 154
Miligramos por decilitro (mg/dL), 154
Milimol, 143
Mohr, método, 349
Mol, 142
Molal, 147
Molalidad, 147
Molar, 144
Molaridad, 144
 cálculos, reglas útiles, 162
Momento de dipolo, 469
Monocromador, 483
MSDS, *ver* Hojas de datos de seguridad de
 materiales
Muestra, 52
 análisis, 8, 52
 aleatoria, 8, 52
 bruta, 8, 52
 de laboratorio, 8
 disolución, 54
 extracción por solvente, 541
 preparación para el análisis, 9
 preparación, extracción en fase sólida, 541
 representativa, 8
 secado,
 tamaño mínimo, 114
Muestra a granel, 8
Muestra bruta, 8
Muestra de análisis, 8
Muestra de control, 14
Muestra de laboratorio, 8
Muestra representativa, 8
 en análisis ambiental, 712
Muestras,
 manejo y almacenamiento, 8
 número mínimo, 115
Muestreo ambiental de trazas orgánicas, 722
Muestreo de sedimento, 722
Muestreo de suelos, 722
Muestreo,
 de gases, 53
 de líquidos, 53
 de sólidos, 52
 estadísticas, 113
Mull, técnica de, 490
Multiplicidad, 506
Mutarrotación, 652
- N**
Nanograma, 149
Nanolitro, 149
Nebulización, 527
Negro de platino, 357, 373
Nernst, barra fluorescente de, 485
Nernst, ecuación, 485
NHE, 357
Nicolsky, ecuación, 401
 validez, 405
Níquel,
 determinación gravimétrica, 735
NIR (*ver también* Infrarrojo cercano), 471
NIR, región, 471
NIST,
 Programa de datos de referencias estándar,
 601
Nitrato de plata,
 solución estándar, 745
Nitrato,
 determinación espectrofotométrica, 766
 solución estándar, 766
- Nitrógeno de urea en sangre,
 determinación, 681
Normal, 146, 172
Normalidad, 146, 172
Nucleación, 315
Nucleótido simple,
 polimorfismo, 703 (*ver también* SNP)
Nucleótido, 695
Nujol, 490
Número clave, 69
 y propagación de errores, 88
Número de ondas, 458
Número de placas, 560 (*ver también* Placa
 teórica)
 efectivo, 561, 568
 en columnas de GC capilares, 565
 en columnas HPLC, 565, 611
 en electroforesis capilar, 636
 para picos asimétricos, 562
- O**
Oclusión en precipitados, 318
Ohm, ley de, 447, 448
Oligonucleótido, 695
Orbital anti-enlace, 464
Ostwald, maduración de, 317
Oxidación, 354
Oxidasa de glucosa, 651
Oxina, 314
Ozono, determinación, 719
- P**
PAGE bidimensional, 707
Papeles filtro,
 sin ceniza, 48
 tipos de, 49
Par conjugado, 220
Parámetro de tamaño iónico, 212
Partes por billón U.S. (por mil millones), 153
Partes por millar, 74, 153
Partes por millón, 153
Partes por trillón U.S. (partes por billón), 153
Partículas coloidales, 317
PBMS, 723
PCR, *ver* Cadena de polimerasa, reacción de
 solución de sulfonato de p-difenilamina, 750
Pearson, coeficiente de correlación, 106
Pendiente,
 cálculo en hoja de trabajo, 109
 desviación estándar, 1041
Pentano,
 determinación por GC, 781
Péptido, 706
Peptización, 318, 319
Perfilado de expresiones, 705
Perfilado de la expresión de genes, 705
Permanganato de potasio,
 solución, 759
 estandarización, 760
Peroxidasa de rábano picante, 655
Peróxido,
 titulación yodométrica, 753
Pesado,
 aproximado, 31
 de líquidos, 31

- de sólidos, 30
 - directo, 31
 - navecilla de pesar, 31
 - pesado por diferencia, 728, 738
 - plato de pesar, 31
 - por diferencia, 30
 - reglas para el pesado, 30
 - Peso atómico en gramos, 141
 - Peso de fórmula, 142
 - Peso de fórmula en gramos, 142
 - Peso equivalente, 146, 172
 - en química clínica, 147
 - Peso molecular en gramos, 142 (*ver también* Peso de fórmula)
 - Peso, 24
 - Pesos atómicos (*ver* tabla al inicio del libro)
 - Pesos de fórmula (*ver* tabla al inicio del libro)
 - Pesos estadísticos, 524
 - Pesticidas,
 - determinación, 723
 - PFF, *ver* Filtrado libre de proteínas
 - pH de fosfato dihidrogenado, 249
 - pH de fosfatos, 250
 - “pH-estado”, 660
 - pH negativo, 226
 - pH,
 - a temperaturas elevadas, 227
 - ácidos débiles, 228
 - bases débiles, 228
 - compensación de temperatura, 393
 - de sangre, 227
 - de soluciones sin buffer, 393
 - definición, 223
 - determinación en champú, 746
 - electrodo, *ver* Electrodo de vidrio para pH
 - escala de pH, 224
 - indicadores (*ver* tabla al final del libro)
 - medición en sangre, 393
 - medición en solventes no acuosos, 394
 - medidor de escala expandida, 381, 393
 - medidor de pH, 380
 - medidor digital de pH, 392
 - negativo, 226
 - operación del medidor, 391
 - precisión de la medición, 391
 - sales de ácidos y bases débiles, 230
 - titulación de, 433
 - Phrap, 702
 - Phred, 702
 - Pico de base, 595
 - Pico, 149
 - Pipeta, 32
 - calibración, 41, 730
 - graduada, 33
 - jeringa, 33
 - medición, 33
 - transferencia, 32
 - uso, 729
 - volumétrica, 32
 - Pipetas de jeringa, 33
 - Placa teórica, 560 (*ver también* Número de placas)
 - base, 220
 - Planck, constante de, 459
 - Plaquetas, 671
 - Plasma, 8
 - Plasma de sangre, 8, 678
 - Plásmidos, 699
 - Plata,
 - determinación de Volhard, 744
 - Plomo,
 - determinación espectrofotométrica, 767
 - solución estándar, 768
 - tratamiento de envenenamiento de plomo con EDTA, 307
 - pOH, 224
 - Poisson, distribución de, 116
 - Polarografía, 451
 - Posprecipitación, 319
 - Potencial de asimetría, 384, 387
 - Potencial de celda, 355
 - Potencial de descomposición, 448
 - Potencial de equilibrio, 362
 - Potencial de media onda, 449
 - Potencial de punto de equivalencia, 417
 - Potencial de reducción, 357
 - Potencial de unión líquida, 376
 - efecto del pH, 378
 - efecto de la temperatura, 391
 - minimización, 377
 - residual, 382
 - Potencial estándar, 361
 - Potencial formal, 365
 - Potencial limítrofe, 387
 - Potencial mixto, 383
 - Potencial residual de unión líquida, 382
 - Potencial zeta, 631
 - Potencial, estandarización, 760
 - dependencia de complejación, 366
 - dependencia del pH, 366
 - en punto de equivalencia, 417
 - medición, 380
 - mixto, 383
 - Potenciales de electrodo estándar, 808
 - Potenciales formales de electrodo, 808
 - Potenciometría, 369
 - Potenciómetro, 380
 - Potenciostato, 447
 - Precipitación
 - solubilidad mínima, 328
 - Precipitador electrostático, 717
 - Precipitador térmico, 717
 - Precipitados,
 - filtrado, 319
 - ignición, 51, 320
 - impurezas, 318
 - lavado, 319
 - orgánicos, 325
 - secado, 320
 - Precisión de la media, 76
 - Precisión, 66, 74
 - en validación, 130
 - Precolumna, 611
 - Precolumnas, 612
 - Preparación de la solución, 10
 - para titulaciones redox, 431
 - Principio de electroneutralidad, 204
 - Prisma, 486
 - Probabilidad, 90
 - Procedimiento de pipeteo, 729
 - Procedimientos operativos estándar, 126
 - Proceso analítico, 5
 - definición del problema, 5
 - Proceso espontáneo, 192
 - Productividad de una enzima, 647
 - Productos químicos estándares primarios, 24
 - Productos químicos grado reactivo, 24
 - Programación de temperatura, 588
 - y volatilidad del analito, 584
 - Programas estadísticos,
 - Excel LINEST, 110
 - Propagación de errores, 82
 - multiplicación y división, 84
 - suma y resta, 83
 - y cifras significativas, 88
 - Proteína desnaturalizada, 647
 - Proteínas, 693
 - desalinización, 622
 - determinación Kjeldahl, 287
 - identificación, 708
 - porcentaje de nitrógeno, 288
 - Proteoma, 706
 - Proteómica, 705
 - Proyecto del genoma humano, 695
 - Prueba F, 92
 - Prueba t del estudiante, 93
 - Prueba T pareada, 97
 - Prueba t, 93
 - pareada, 97
 - Pruebas de competencia, 133
 - experimento, 795
 - Pruebas no destructivas por NIR, 470
 - Pseudo primer orden, reacción de, 645
 - enzimática, 647
 - Puente salino, 355
 - de agar-KCl, 378
 - Punto cero, 27
 - determinación, 728
 - desviación, 28
 - Punto de equivalencia, 159, 268
 - Punto de reposo, 27
 - Punto del sistema, 257
 - Punto final, 35, 159, 266, 270
 - Punto isoelectrico, 624, 631
 - Punto isopotencial, 392
 - Punto isosbético, 503
 - Purga y trampa, 591
 - para monitoreo de aire interior y exterior, 592
 - Purnell, ecuación, 569
- Q**
- Q, prueba, 98
 - tabla de valores Q, 99
 - QA, *ver* Aseguramiento de calidad
 - Quemador Belling, 527
 - Quemador con cámara de premezcla, 527
 - Quemador de flujo laminar, 527
 - Química clínica, 678
 - determinaciones comunes, 681
- R**
- Radiación electromagnética, 458
 - absorción de, 460
 - Radiación infrarroja,
 - absorción, 469

- Radiación,
 absorción, 460
Radioinmunoensayo, 683, 686
Rango
 eficiencia de, 101
 en la validación, 131
Reacción de neutralización, 266
Reacción de primer orden, 643
 pseudo-primer orden, 645
Reacción de segundo orden, 644
Reacción irreversible, 366, 423
Reacción,
 mecanismo, 643
 orden de la reacción, 643, 644
 rapidez, 643
 tiempo, 646
 tiempo de terminación, 644, 646
Reacciones ácido-base en diferentes solventes, 220
Reacciones de reducción-oxidación, *ver* Redox
Reactivo en blanco, 67 (*ver también* Blancos)
Rechazo de un resultado, 98
Red de diodos, 492
Redondeo, 73
Redox,
 especies reactantes, 358
 mediador, 453
 reacciones y balanceo, 414
 titulación
 cambio de potencial necesario, 419, 422
 curva de titulación, cálculo y
 punto de equivalencia, 418
 detección potenciométrica de punto final, 433
 detección visual de punto final, 422
 preparación de muestra, 431
 titulantes redox
 cerio(IV), 430
 dicromato de potasio, 429
 permanganato de potasio, 429
 tiosulfato de sodio, 426
 yodo, 424
Reducción, 354
Reducción/oxidación irreversible, 450
Reductores metálicos, 432
Reemplazo isomorfo, 319
Reflectancia total atenuada, 501
Refractarios,
 elementos, 528
 formación de compuestos, 530
Regatón de caucho, 49
Región de UV cercano, 460
Región identificadora de IR, 469
Región UV en vacío, 460
Región visible, 460
Registros electrónicos, 135
Regla del nitrógeno, 594
Reglas de seguridad, 810
Rejilla holográfica, 488
Rejilla, *ver* Difracción, rejilla de
Relación de distribución, 542
Relaciones de peso, 180
Relajación de vibración, 506
Remoción de oxígeno, 451
Rendimiento cuántico, 509
Repetibilidad, 131
Reproducibilidad, 132
Resina de intercambio catiónico, 352
Resinas de intercambio aniónico, 624
Resinas de intercambio catiónico, 622
Resinas de intercambio iónico,
 aniónicas, 624
 catiónicas, 622
 para cromatografía de capa delgada, 630
Resultados analíticos,
 expresiones de, 152
Retroalimentación, mecanismo de, 662
Revestimiento, 51
Revistas de química analítica, 796
RF, *ver* Factor de respuesta
Riboflavina, determinación por fluorescencia, 775
Rizo de control, 662
Rojo de fenol, solución, 741
Roohrschneider, constante de, 583
Rotámetro, 715
Ruido de disparo electrónico, 502
Ruido térmico, 502
S
Sales anfotéricas, 248
Sangre,
 búffer estándar, 390
 composición, 678
 determinación de glucosa, 681
 recolección, 680
 medición de pH, 393
 pH, 227
 rangos de constituyentes normales, 679
SCE, 378
SciFinder Scholar, 796
SDS-PAGE, 707
Secado de muestras, 54
Secuenciación de genes, 695
Secuenciación del genoma completo, 703
Secuenciación genómico por la técnica de escopeta, 699, 702
Seguridad en el laboratorio, 60, 810
Selectiva, 4
Selectividad,
 en la validación, 128
Sensibilidad,
 en la validación, 131
Sensor electroquímico, 452
Sephadex, 621
SHE, electrodo estándar de hidrógeno, 357
SIA, *ver* Análisis de inyección secuencial
Syntaxis, 81
 syntaxis útiles, 82
Sistema de medición basado en desempeño (PBMS), 723
SNP, 704
Sobrepotencial de activación, 450
Sobresaturación, 315
Sobretono de vibración, 471
Sodio,
 determinación por emisión de flama, 778
 solución estándar, 778
Sol, 318
Solubilidad,
 cálculo, 327
 condicional, 340, 345
 constantes, 806
 efecto de la acidez, 339
 efecto de la complejación, 345
 efecto del ion común, 328
 efecto del ion diverso, 328
 efecto de la estequiometría, 328
 producto de solubilidad, 326
Solución ácida, 226
Solución alcalina, 226
Solución básica, 226
Solución de almidón, 753
Solución de azul de timol, 768
Solución de púrpura de metilo, 762
Solución de rojo de metilo, 759
Solución de yodo,
 estandarización, 757
Solución en blanco, 496
Solución estándar, 158, 159
Solución neutra, 226
 a temperaturas elevadas, 227
Solución saturada, 327
Solventes, HPLC, 610
Solver,
 ajuste de casilla de precisión, 199
 para mezcla espectrofotométrica, 199
 solución de ecuación cuadrática, 198
SOP, *ver* Procedimientos operativos estándar
 Soxhlet, extractor, 723
SPE (*ver también* Extracción de fase sólida), 547
 cartuchos, 548
 discos, 549
 placas de microtitulación, 549
 puntas de pipeta, 548
Spectronic 20,
 espectrofotómetro, 495
SPME, 551
SRM, 14
Styragel, 622
Suero, 8
 electrolitos del, 681
Suero de sangre, 8, 678
Sulfato,
 determinación gravimétrica, 733
 titulación con bario, 352
Sustancias ligeramente solubles, 194
T
Tabla de valores F, 92
Tabla de valores t, 90
Tablas periódicas en Internet, 811
TC, 32
TD, 33
Técnica de doble anticuerpo, 689
Tenax A, 591
Teoría de Franklin, 219
Teoría de sistemas de solventes, ácidos, 220
Teorías ácido-base, 219
Término de transferencia de masa, 564
Termistor, 493

- Termoaspersión,
 interfaz HPLC-MS, 619
 Termopar, 492
 Termopila, 493
 Tiempo de retención, 560, 568, 576
 ajustado, 562
 Tiempo muerto, 663
 Timina, 695
 Tiocianato de potasio,
 estandarización, 744
 Tiocianato,
 estandarización, 744
 Tiosulfato de sodio,
 estandarización, 427, 754, 756
 solución, 754
 TISAB, 396
 preparación de solución TISAB, 478
 Titulación de microescala, 759
 Titulación de primera derivada, 435
 para gráfica de Gran, 439
 Titulación de segunda derivada, 436
 Titulación por derivada, 435
 Titulación potenciométrica, 433
 características, 435
 pH, 434
 precipitación, 434
 Titulación quelométrica, 297
 Titulación, 11
 ácido débil, 272
 base débil, 278
 cálculos, 165
 consejos para titular, 37
 construcción de hoja de trabajo para ácido débil, 266
 construcción de hoja de trabajo para HCl, 269
 curva, 266
 precipitación, 347
 requisitos, 158
 Titulaciones ácido-base,
 ácidos débiles, 272
 ácidos fuertes, 266
 ácidos polipróticos, 281
 aminoácidos, 286
 bases débiles, 278
 experimento, 736
 mezclas, 284

 Titulaciones de precipitación, 346
 potenciométricas, 434
 Titulador automático, 442, 660
 Titulante, 158
 Título, 179
 de anticuerpo, 688
 Transcripción, 707
 Transductor, 452
 Transferibilidad, 132
 Transformada de Fourier, 500
 Transición 0-0, 508
 Transición de transferencia de cargas, 468
 Transición de vibración, 461, 463
 Transición electrónica, 461, 462
 clases de, 464
 Transición prohibida, 471, 507
 Transición rotacional, 461
 Transmitancia, 474
 Tubo de permeación, 720
 Tubo fotomultiplicador, 491
 Tubos de adsorción de gases, 717

U
 Ultramicroelectrodo, 454
 Unidad internacional, 648
 Unidades reactantes, 172
 ácido-base, 177
 reducción-oxidación, 178
 Unión líquida, 376
 Urea,
 determinación, 287, 655

V
 Vacutainer, 44
 Validación de método analítico, 14, 126
 número mínimo de mediciones, 130
 proceso de validación, 127
 Validación de métodos, 124, 126
 Valinomicina, 398
 Valor Rf, 628
 Valor t, 90
 Valores alfa (α), 243
 diagramas logarítmicos de concentración, 260
 Valores beta (β), 308
 Van Deemter, ecuación, 562
 forma reducida, 565

 Varianza, 78, 92
 de un análisis, 113
 Vectores, 699
 Velocidad reducida, 565
 Ventaja múltiple, 500
 Venturi, efecto, 527
 Verde de bromocresol, solución, 738
 Vitamina B₂, determinación por fluorescencia, 775
 Vitamina C, determinación por HPLC, 783
 Volhard, determinación de, 744
 titulación, 350
 Voltaje de celda, 359
 y tendencia de la reacción, 363
 Voltametría, 446
 electrodo sólido, 451
 potencial necesario, 448
 rango de potencial, 451
 Voltamograma, 446
 Volumen de retención, 561
 Volumen hueco, 561, 568
 Von Weimarn, relación de, 315

W
 Wheatstone, circuito de puente de, 584

X
 Xileno,
 determinación de isómeros por IR, 774
 Xterra, 609

Y
 Yodato de potasio,
 solución estándar, 753
 Yodimetría, 424
 Yodometría, 426
 cálculos yodométricos, 426
 detección de punto final, 427
 Yoduro,
 titulación potenciométrica, 763

Z
 Zimmermann-Reinhardt,
 reactivo, 429
 Zwitterión, 286, 624, 631

INDICADORES DE pH^a

Indicadores de pH				Intervalos de transición de pH																	
Rojo de cresol	rosa	0.2																		1.8	amarillo
Púrpura de <i>m</i> -cresol	rojo	1.2																		2.8	amarillo
Azul de timol	rojo	1.2																		2.8	amarillo
Azul de <i>p</i> -xilenol	rojo	1.2																		2.8	amarillo
2,2',2'',4,4'-pentametoxitri-fenilcarbinol	rojo	1.2																		3.2	incoloro
2,4-Dinitrofenol	incoloro	2.8																		4.7	amarillo
4-Dimetilaminoazobenceno	rojo	2.9																		4.0	amarillo naranja
Azul de bromoclorofenol	amarillo	3.0																		4.6	púrpura
Azul de bromofenol	amarillo	3.0																		4.6	púrpura
Naranja de metilo	rojo	3.1																		4.4	amarillo naranja
Verde de bromocresol	amarillo	3.8																		5.4	azul
2,5-Dinitrofenol	incoloro	4.0																		5.8	amarillo
Alizarinsulfonato de sodio	amarillo	4.3																		6.3	violeta
Rojo de metilo	rojo	4.4																		6.2	amarillo naranja
Sal sódica del rojo de metilo	rojo	4.4																		6.2	amarillo naranja
Rojo de clorofenol	amarillo	4.8																		6.4	púrpura
Hematoxilina	amarillo	5.0																		7.2	violeta
Tornasol extrapuro	rojo	5.0																		8.0	azul
Rojo de bromofenol	naranja amarillento	5.2																		6.8	púrpura
Púrpura de bromocresol	amarillo	5.2																		6.8	púrpura
4-Nitrofenol	incoloro	5.4																		7.5	amarillo
Azul de bromoxilenol	amarillo	5.7																		7.4	azul
Alizarina	amarillo	5.8																		7.2	rojo
Azul de bromotimol	amarillo	6.0																		7.6	azul
Rojo de fenol	amarillo	6.4																		8.2	rojo
3-Nitrofenol	incoloro	6.6																		8.6	amarillo naranja
Rojo neutro	rojo azulado	6.8																		8.0	naranja amarillento
4,5,6,7-Tetrabromofenoltaleína	incoloro	7.0																		8.0	púrpura
Rojo de cresol	naranja	7.0																		8.8	púrpura
1-Naftoltaleína	café	7.1																		8.3	azul verdoso
Púrpura de <i>m</i> -cresol	amarillo	7.4																		9.0	púrpura
Azul de timol	amarillo	8.0																		9.6	azul
Azul de <i>p</i> -xilenol	amarillo	8.0																		9.6	azul
Fenoltaleína	incoloro	8.2																		9.8	rojo violáceo
Timoltaleína	incoloro	9.3																		10.5	azul
Amarillo de alizarina GG	amarillo claro	10.2																		12.1	café amarillento
Azul épsilon	naranja	11.6																		13.0	violeta

^a Adaptado de *pH Indicators*, E. Merck and Co.

Grados de los reactivos químicos

<i>Grado</i>	<i>Pureza</i>	<i>Notas</i>
Técnico o comercial	Calidad indeterminada	Puede usarse en la preparación de soluciones limpiadoras únicamente
Q. P. (químicamente puro)	Con mayor refinamiento, aunque aún de calidad desconocida	
U. S. P.	Cumple con los estándares de pureza mínima	Conforme a las disposiciones de tolerancia de la farmacopea de Estados Unidos para contaminantes peligrosos para la salud
Reactivo A. C. S.	Alta pureza	Conforme a las especificaciones mínimas del Comité de Reactivos Químicos de la <i>American Chemical Society</i>
Estándar primario	La más alta pureza	Requerido para análisis volumétricos exactos (para soluciones estándar)

Concentraciones de ácidos y bases comerciales grado reactivo^a

<i>Reactivo</i>	<i>P. Fór.^b</i>	<i>M^c</i>	<i>% en peso</i>	<i>Densidad (20°) (g/cm³)</i>
H ₂ SO ₄	98.08	17.6	94.0	1.831
HClO ₄	100.5	11.6	70.0	1.668
HCl	36.46	12.4	38.0	1.188
HNO ₃	63.01	15.4	69.0	1.409
H ₃ PO ₄	98.00	14.7	85.0	1.689
HC ₂ H ₃ O ₂	60.05	17.4	99.5	1.051
NH ₃	17.03	14.8	28.0	0.898

^a Éstas son concentraciones aproximadas y no pueden utilizarse para preparar soluciones estándar.

^b Peso fórmula.

^c Molaridad.

Tolerancias NIST para material de cristalería volumétrico, clase A^a

<i>Capacidad (mL)</i> <i>(menor que e incluyente)</i>	<i>Tolerancias (mL)</i>		
	<i>Matraces volumétricos</i>	<i>Pipetas de transferencia</i>	<i>Buretas</i>
1 000	±0.30		
500	±0.15		
100	±0.08	±0.08	±0.10
50	±0.05	±0.05	±0.05
25	±0.03	±0.03	±0.03
10	±0.02	±0.02	±0.02
5	±0.02	±0.01	±0.01
2		±0.006	

^a Material de vidrio Corning Pyrex y Kimball KIMAX, clase A, conforme a estas tolerancias.

