

Química Microanalítica: Determinación de ácido acetilsalicílico con Microfotocolorímetros de Mínima Instrumentación (MIMC) de bajo costo

Juan Manuel Martínez, Alejandro Baeza

Laboratorio de Electroquímica Analítica, Investigación y Enseñanza Experimental.
Laboratorio 3E- 3F, 3er piso, Edificio A anexo de postgrado. Facultad de Química,
UNAM.

juanma@litio.pquim.unam.mx, baeza@servidor.unam.mx

1. Introducción:

Por más de cuarenta años los métodos ópticos de análisis han desarrollado un gran auge en la disciplina de la Química Analítica. Actualmente las normas ecológicas y los estudios de impacto ambiental están fuertemente orientados a la disminución de residuos, y la Química Analítica se presenta ante el reto de realizar sus actividades a nivel microescala. Por otra parte, el área de enseñanza experimental es un buen ejemplo para inducir al educando y crear conciencia del asunto. Cabe mencionar que además del beneficio ecológico obtenido con la microescala, adicionalmente se obtiene un beneficio económico, por la reducción de costos que implica el uso de cantidades pequeñas de reactivo, y la fabricación de los instrumentos en el propio laboratorio.

En Química General y Química Sintética orgánica e inorgánica se han desarrollado numerosas técnicas y metodologías a microescala total pero no así en Química Analítica. El incipiente desarrollo en éste ámbito en Química analítica es la falta de equipo de medición a microescala de aceptable precisión y sobre todo de bajo costo.

En este trabajo se proponen tres prototipos de Microfotocolorímetros de Mínima Instrumentación construidos con materiales de bajo costo y de alta precisión para la cuantificación de Ácido Acetilsalicílico en tabletas de Aspirina[®]; además se presentan las gráficas de Ringbom para la determinación del intervalo de concentraciones de trabajo, las curvas ponderadas para demostrar la precisión y reproducibilidad de los datos obtenidos y los datos estadísticos para la comparación de los resultados obtenidos entre los tres prototipos de MIMC's y los obtenidos con un espectrofotómetro convencional.

2. Objetivos

Diseñar, construir y caracterizar tres prototipos de microfotocolorímetros de mínima instrumentación (MIMC) para la cuantificación de analitos (AAS en tabletas de aspirina) por medio de curvas de calibración con soluciones estándar. Además realizar las pruebas estadísticas para demostrar que no hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos con los MIMC's y un espectrofotómetro comercial.

3. Materiales, Reactivos, Equipos y Métodos

3.1 Materiales y equipos.

Acrílico comercial, microceldas fotorresistivas, focos de gota de 6 V, cable de bajo calibre, campanas de Durham, tubos capilares de vidrio, microceldas de ensayos enzimáticos, llaves de tres vías, eliminador de voltaje (1.5 V – 12 V), multímetro de bajo costo, ácido salicílico estándar (AS), Cloruro de Hierro III hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), ácido clorhídrico 0.5 M, hidróxido de sodio 0.5 M, tabletas de ácido acetilsalicílico 500 mg (Aspirina), solución de yodo-yodurado ($\text{I}_2\text{-I}$) 0.045 M, Espectrofotómetro (Espectronic 20).

3.2 Diseño y Construcción de los tres prototipos de MIMC.

En los tres modelos las cajas se construyen con acrílico pintado de negro unido con pegamento líquido. Posteriormente se ensambla el foco y la fotorresistencia. En el primer modelo tanto para la microcelda del monocromador como para la de la muestra se usan campanas de Durham; en el segundo modelo la campana de Durham para la muestra se sustituye por un tubo capilar de vidrio en cuya salida se encuentra una llave de tres vías (utilizada en las prácticas médicas de venoclisis) que facilita el desagüe de las muestras y la inyección de la siguiente solución; y en el tercer modelo esta se cambia por una microcelda para ensayos enzimáticos. El foco se conecta a la fuente de luz y la fotorresistencia se conecta al multímetro.

A continuación se muestran los esquemas de los tres prototipos de MIMC:

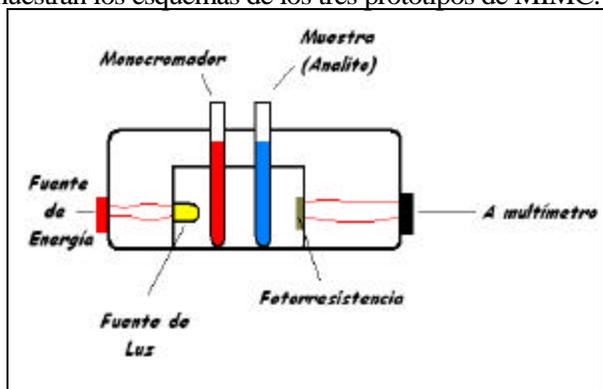


Fig. 1: 1er prototipo de MIMC

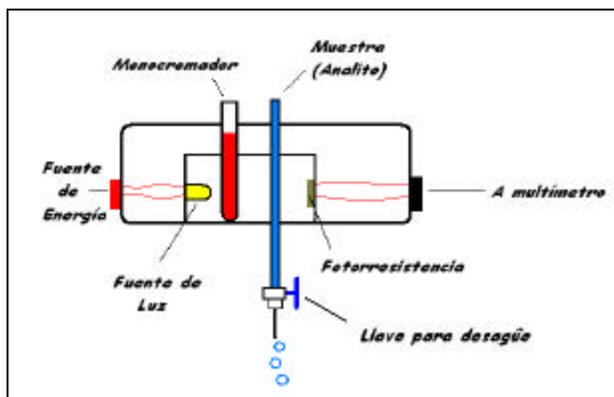


Fig. 2: 2do Prototipo de MIMC

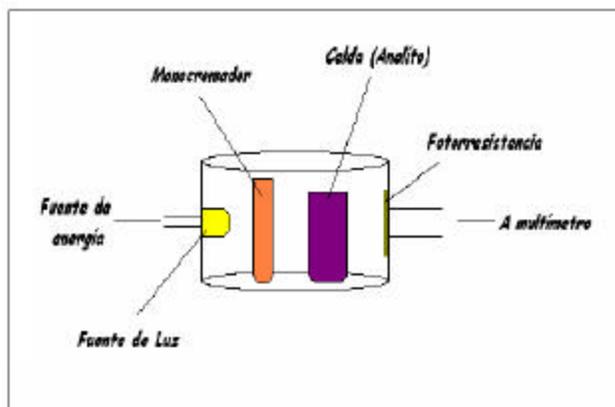


Fig. 3: 3er prototipo de MIMC

3.3 Determinación del intervalo de concentraciones de trabajo (Linearidad) por medio de las gráficas de Ringbom.

En un vaso de precipitados de 50 mL pesar aproximadamente con exactitud 44.0 mg de AS, adicionar 10 mL de NaOH 0.5 M y disolver completamente con calentamiento. Dejar enfriar, adicionar 10 mL de HCl 0.5 M, trasvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con agua destilada. Tomar alícuotas de 0.07, 0.14, 0.28, 0.58, 0.88, 1.2, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 mL y transferir cada una a un matraz volumétrico de 10 mL, adicionar 1 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.15 M y llevar a l aforo con agua destilada.

Por otro lado en vasos de precipitados de 10 mL pesar por separado aproximadamente con exactitud 8.8, 12.4, 16.6, 19.8, y 23.9 mg de AS, adicionar 4 mL de NaOH 0.5 M y disolver completamente con calentamiento. Dejar enfriar, adicionar 4 mL de HCl 0.5 M, trasvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 10 mL, adicionar 1 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.15 M y llevar al aforo con agua destilada.

Medir la resistencia residual (respuesta a la poca luz que se filtra, es decir; con la luz apagada). Conectar a la fuente de energía y dejar el foco prendido durante 15 minutos, posteriormente medir la resistencia de las soluciones estándar incluyendo un blanco (disolución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015 M) en el MIMC utilizado.

3.4 Preparación de las soluciones estándar de AS.

a) Para curva de calibración del espectrofotómetro.

En un vaso de precipitados de 25 mL pesar aproximadamente con exactitud 21.3 mg de AS, adicionar 5 mL de NaOH 0.5 M y disolver completamente con calentamiento. Dejar enfriar, adicionar 5 mL de HCl 0.5 M, trasvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 mL y llevar al aforo con agua destilada. Tomar alícuotas de 142, 284, 587, 880 y 1174 μL y transferir cada una a un matraz volumétrico de 10 mL, adicionar 1 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.15 M y llevar al aforo con agua destilada. Medir la Absorbancia de las soluciones en el espectrofotómetro utilizando como blanco una disolución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015 M y una longitud de onda de 520 nm.

b) Para curva de calibración de los MIMC's

En un vaso de precipitados de 25 mL pesar aproximadamente con exactitud 42.6 mg de AS, adicionar 10 mL de NaOH 0.5 M y disolver completamente con calentamiento. Dejar enfriar, agregar 10 mL de HCl 0.5 M, trasvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 mL y llevar al aforo con agua destilada. Tomar alícuotas de 4, 5, 6, 7 y 8 mL y transferir cada una a un matraz volumétrico de 10 mL, adicionar 1 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.15 M y llevar al aforo con agua destilada.

Medir la resistencia residual (respuesta a la poca luz que se filtra, es decir; con la luz apagada). Conectar a la fuente de energía y dejar el foco prendido durante 15 minutos, posteriormente medir la resistencia de las soluciones estándar incluyendo un blanco (disolución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015 M) en el MIMC utilizado.

3.5 Preparación de la muestra

Determinar el peso promedio de no menos de 10 tabletas. Triturar y micronizar las tabletas en un mortero (mezcla compuesta).

a) Muestra para determinar contenido de AAS utilizando el espectrofotómetro.

En un vaso de precipitados de 25 mL pesar el equivalente a 27.8 mg de AAS de la mezcla compuesta, adicionar 5 mL de NaOH 0.5 M y disolver con calentamiento durante 10 minutos teniendo cuidado de que no se pierda mucho volumen de disolvente durante la evaporación. Dejar enfriar, agregar 5 mL de HCl 0.5 M, trasvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 mL y llevar al aforo con agua destilada. Filtrar la disolución anterior por una torunda de algodón. De la solución filtrada tomar una alícuota de 587 μL y transferirla a un matraz volumétrico de 10 mL, adicionar 1 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.15 M y llevar al aforo con agua destilada. Medir la Absorbancia de la solución en el espectrofotómetro utilizando como blanco una disolución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015 M y una longitud de onda de 520 nm.

b) Muestra para determinar contenido de AAS utilizando los MIMC's.

En un vaso de precipitados de 25 mL pesar el equivalente a 27.8 mg de AAS de la mezcla compuesta, adicionar 5 mL de NaOH 0.5 M y disolver con calentamiento durante 10 minutos teniendo cuidado de que no se pierda mucho volumen de disolvente durante la evaporación. Dejar enfriar, agregar 5 mL de HCl 0.5 M, trasvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 mL y llevar al aforo con agua destilada. Filtrar la disolución anterior por una torunda de algodón. De la solución filtrada tomar una alícuota de 6 mL y transferirla a un matraz volumétrico de 10 mL, adicionar 1 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.15 M y llevar al aforo con agua destilada. Medir la resistencia residual (respuesta a la poca luz que se filtra, es decir; con la luz apagada). Conectar a la fuente de energía y dejar el foco prendido durante 15 minutos, posteriormente medir la resistencia de las muestras incluyendo un blanco (disolución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015 M) en el MIMC utilizado.

4. Resultados

Para la elección de la solución monocromadora se trazó primero el espectro de absorción del complejo AAS-Fe. En base a este y al color del complejo (violeta) se eligió una solución de yodo-yodurado 0.045 M como monocromador. Los espectros de absorción muestran que la solución de yodo yodurado aísla la longitud de onda a la cual el complejo AAS-Fe tiene su máximo de absorción (520 nm) (Fig. 4).

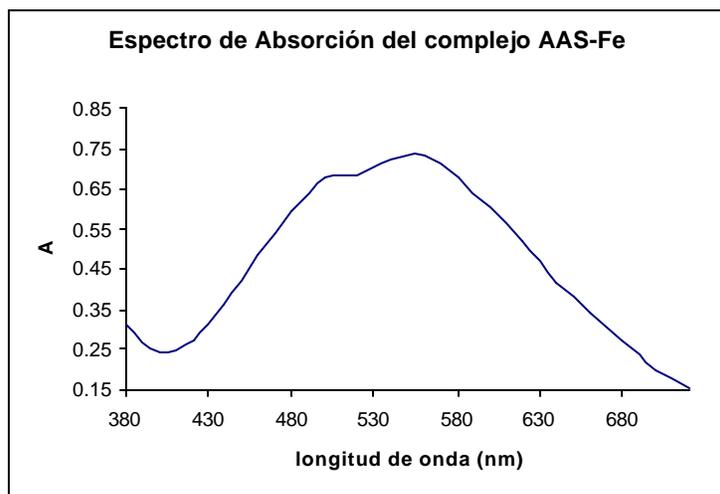


Fig. 4. Espectro de absorción del complejo AAS -Fe

Utilizando las gráficas de Ringbom se determinó que el intervalo de concentraciones de trabajo en el cual la respuesta del detector se comporta linealmente va de 2 mM a 6 mM (Fig. 5). Es bajo este intervalo de trabajo que se trazarán las curvas de calibración y se determinará el contenido de AAS en las tabletas de aspirina[®]. Estas condiciones son válidas para los tres microfotocolorímetros.

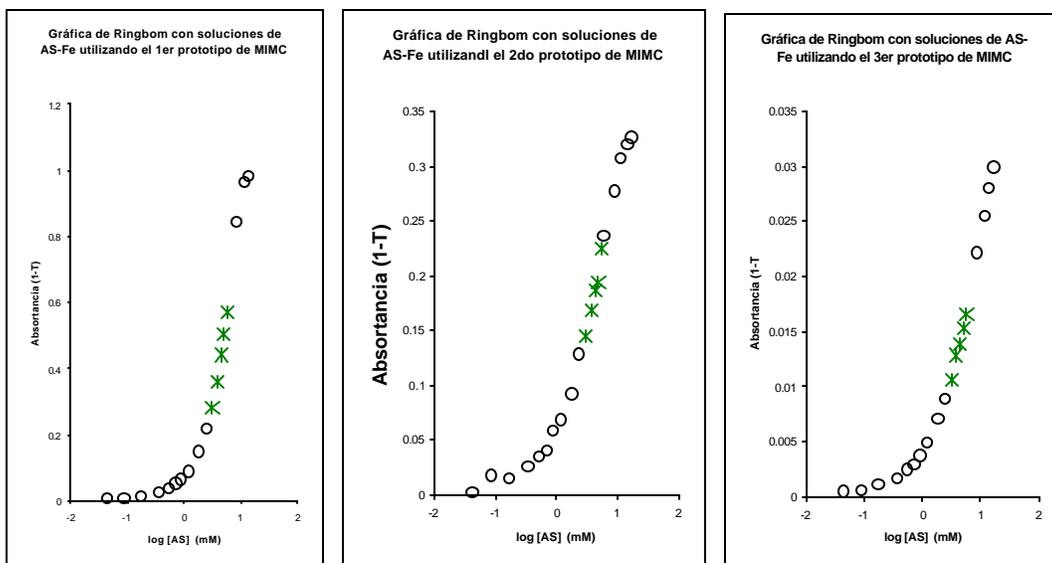


Fig. 5. Gráficos de Ringbom para la determinación del intervalo de concentraciones de trabajo. Los puntos marcados con æ corresponden a los puntos elegidos como intervalo de trabajo.

Una vez determinadas las concentraciones de AS de trabajo se procedió a realizar las curvas de calibración ponderadas para demostrar la precisión de la respuesta del detector a las diferentes concentraciones de las disoluciones estándar, obteniéndose coeficientes de correlación lineal de 0.98 y 0.99, y coeficientes de variación de 3-7 % para réplicas (n = 10) de 5 estándares (Fig. 6).

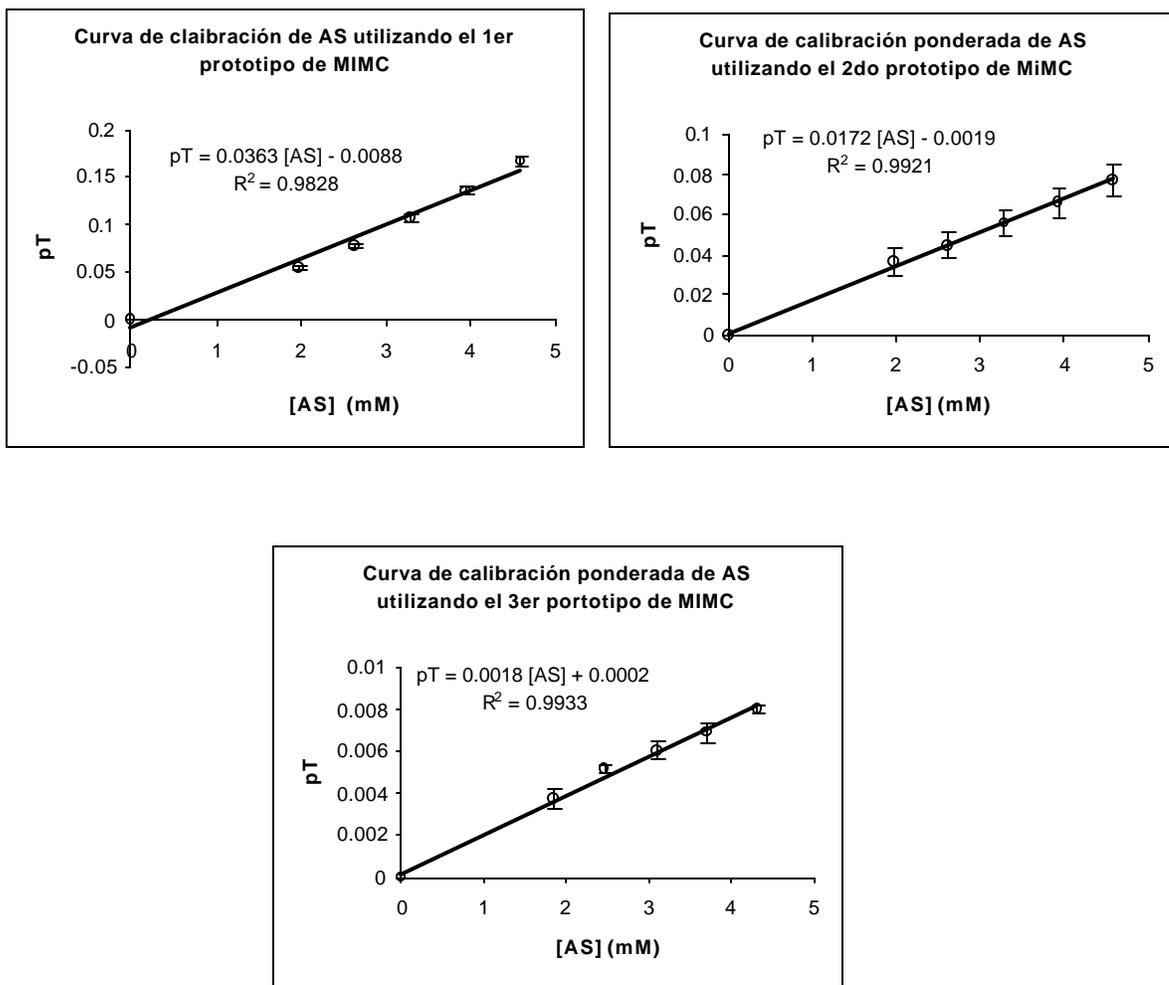


Fig. 6. Curvas de calibración ponderadas con disoluciones de AS estándar en concentraciones de 2 a 5 mM. Se muestran las barras de error de las 5 disoluciones estándar que indican la dispersión de la absorbancia obtenida en cada réplica.

Para demostrar que con los MIMC's se obtienen curvas de calibración comparables con las obtenidas con un espectrofotómetro comercial, se trazó en este último una curva de calibración con disoluciones estándar de AS de concentraciones entre 0.1 mM y 0.9 mM. El coeficiente de correlación lineal obtenido ($r^2 = 0.9996$) es comparable con los obtenidos con los MIMC's (Fig. 7).

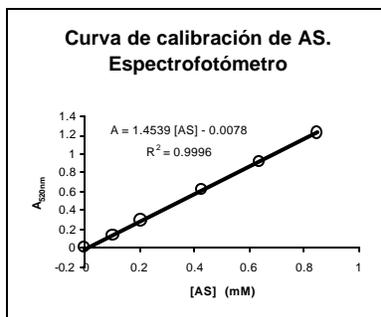


Fig. 7. Curva de calibración con soluciones de AS (0.1 mM – 0.9 mM) en un Espectrofotómetro (Spectronic 20).

Por último se realizó la cuantificación de AAS en tabletas de Aspirina[®] utilizando el espectrofotómetro y los tres prototipos de MIMC's. Para ello se trazó la curva de calibración correspondiente y se midió la respuesta de las muestras de AAS, haciendo 5 réplicas por cada método.

Se muestran las curvas de calibración típicas obtenidas en cada uno de los métodos (con coeficientes de correlación lineal aceptables) que sirvieron para la determinación de la concentración de AAS en la muestra y en consecuencia del % con respecto al marbete de fármaco recuperado (Fig. 8).

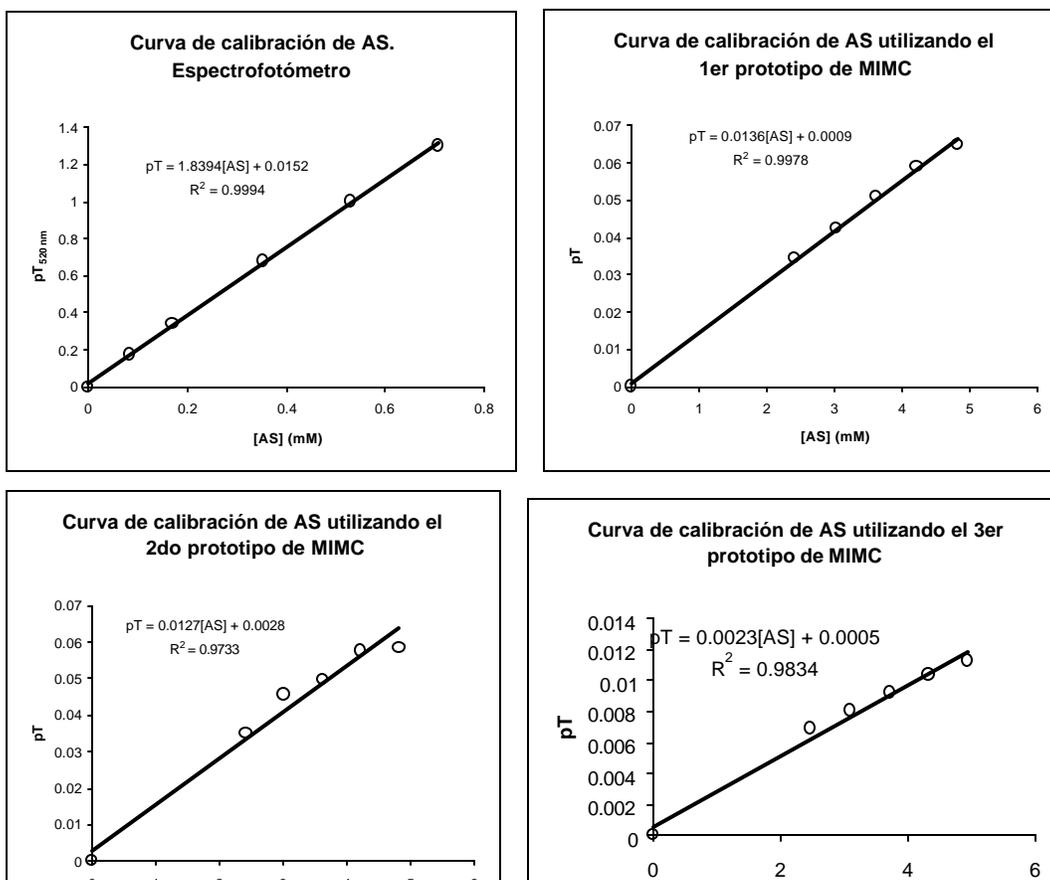


Fig. 8. Curvas de calibración obtenidas por cada método utilizado para auxiliar en la determinación de la cantidad de AAS en las tabletas de Aspirina[®].

Resultados de las Muestras

Se determinó el peso promedio de las tabletas utilizadas para preparar la mezcla compuesta:

Peso promedio de las tabletas utilizadas en los microfotocolorímetros:

$$0.59773 \text{ g (n = 10)}$$

Peso promedio de las tabletas utilizadas en el espectrofotómetro:

$$0.59629 \text{ g (n = 10)}$$

Los resultados de la cuantificación de AAS en las tabletas de Aspirina por el método espectrofotométrico y el método microfotocolorimétrico se resumen en las siguientes tablas:

Tabla 1. Respuestas de las muestras (kU) obtenidas en cada uno de los prototipos de MIMC.

No. de muestra	Peso de muestra (g)	1er prototipo de MIMC	2do prototipo de MIMC	3er prototipo de MIMC
Rr		99.6	98.2	309
Ro		6.5	41	4.3
1	0.0342	18.6	48.2	10.6
2	0.0336	18.5	47.7	10.4
3	0.0331	18.3	47.8	10.1
4	0.0328	18.3	47.9	10.9
5	0.0321	18.1	48.2	11

Las respuestas de las muestras (kU) fueron transformadas a absorbancia (pT) con la ecuación

$$pT = -\text{Log} \frac{(Ri - Rr)}{(Ro - Rr)}$$

donde:

pT: Absorbancia.

Ri: Respuesta de la *i*ésima especie, en este caso las respuestas de las muestras y el blanco.

Rr: Respuesta residual, es decir, la respuesta a la poca luz que se filtra la cual se mide con la luz apagada.

Ro: La respuesta del blanco.

Posteriormente, utilizando la ecuación de regresión lineal obtenida en la curva de calibración en cada uno de los MIMC's, se determinó la concentración de cada una de las muestras con la cual se determinó porcentaje de AAS con respecto al marbete presente en las tabletas de Aspirina. La ecuación utilizada es la siguiente:

$$\% \text{AAS} = \frac{C}{1000} * \frac{138.125}{1000} * \frac{10}{6} * \frac{25}{138.125} * \frac{180.16}{pm} * \frac{pp}{pe} * 100$$

Donde:

C: es la concentración de AAS de la muestra determinada con la curva de calibración correspondiente.

pm: Es el peso de la muestra.

pp: es el peso promedio de las tabletas.

pe: es el contenido de AAS especificado en el marbete (0.5 g de AAS por tableta)

A continuación se muestra la tabla con los resultados obtenidos.

Tabla 2: Porcentaje de AAS cuantificado en las tabletas de aspirina. Estos resultados están referidos a la cantidad especificada en el marbete.

No. de muestra	1er prototipo de MIMC	2do prototipo de MIMC	3er prototipo de MIMC
1	114.65	115.11	103.06
2	115.64	108.07	103.74
3	115.26	111.54	100.21
4	116.32	114.42	100.24
5	116.67	122.64	101.00
Media	115.71	114.36	101.65
S ²	0.8091	5.4027	1.6444
CV %	0.6992	4.7245	1.6177
S	0.6546	29.1892	2.7040

De igual manera, se midió la absorbancia (pT) de cada una de las muestras utilizando el espectrofotómetro y posteriormente se calculó el porcentaje de AAS con respecto al marbete presente en las tabletas de Aspirina. La ecuación utilizada es la siguiente:

$$\% \text{ AAS} = \frac{C}{1000} * \frac{138.125}{1000} * \frac{10}{0.587} * \frac{25}{138.125} * \frac{180.16}{pm} * \frac{pp}{pe} * 100$$

Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 3. Absorbancia y % de AAS determinado en cada una de las muestras por el método Espectrofotométrico.

No. de muestra	Peso de muestra (g)	T (%)	pT	% de AAS cuantificado respecto al marbete
1	0.0371	18	0.7447	97.82
2	0.0326	22	0.6576	98.03
3	0.0329	22	0.6576	97.13
4	0.0327	22	0.6576	97.73
5	0.0305	25	0.6021	95.72
			Media	97.29
			S ²	0.9360
			CV %	0.9621
			S	0.8761

Para comparar los resultados obtenidos con el espectrofotómetro y los obtenidos con los microfotocolorímetros se recurrió a una prueba de F, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Varianza (S)	F_{exp}	$F_{0.05}$	¿Diferencia Significa?
MIMC 1	0.65457382	0.7471772	6.39	NO
MIMC 2	29.1891998	33.3186325	6.39	SI
MIMC 3	2.70404138	3.0865855	6.39	NO
Espectrofotómetro	0.87606236			

5. Discusión

En el presente trabajo se demostró que con materiales de bajo costo y de fácil acceso se pueden construir instrumentos para análisis óptico en el propio laboratorio con los que se obtienen curvas de calibración típicas con excelentes coeficientes de correlación lineal.

En las curvas de calibración ponderadas se puede observar que se obtiene una buenísima precisión y reproducibilidad de la respuesta obtenida en cada una de las concentraciones de las disoluciones ensayadas, lo que asegura una adecuada respuesta de la muestra y en consecuencia la cuantificación del contenido de fármaco en las tabletas.

Por otro lado, el porcentaje de AAS recuperado en cada uno de los métodos, según los resultados obtenidos por la prueba de hipótesis nula o de F, el 1er y 3er prototipo de MIMC no muestra una diferencia significativa al compararlo con los resultados obtenidos con el espectrofotómetro, pero el 2do prototipo de MIMC difiere mucho en resultados con el método convencional.

De los tres prototipos de MIMC el único que presenta problemas en cuanto a la precisión es el 2do modelo, el problema radica en el diámetro del capilar utilizado como microcelda para la muestra, la solución entonces es aumentar el diámetro del capilar. Sin embargo este modelo presenta algunas ventajas técnicas sobre los demás ya que posee una llave de desagüe que facilita la eliminación de la muestra, la inyección de la muestra siguiente y el lavado de la microcelda entre cada solución inyectada.

El MIMC-III presenta la ventaja de que el detector (foto-resistencia) no se satura en presencia de disoluciones de elevada concentración.

Los tres microfotocolorímetros utilizan volúmenes muy pequeños, de apenas 200 μ L.

6. Conclusiones

- Se construyeron equipos para el análisis óptico con materiales de fácil acceso y bajo precio con los que se obtuvieron resultados con linealidad, precisión, exactitud y reproducibilidad aceptables y comparables con los obtenidos con un espectrofotómetro comercial.
- El % de recuperación de AAS con respecto al marbete obtenido espectrofotométricamente y microfotocolorimétricamente no muestra diferencia significativa.
- La aplicación de los microfotocolorímetros es múltiple, especialmente dentro de las prácticas de campo, ya que debido a su tamaño pueden llevarse a cualquier parte en donde se requiera hacer un análisis, además ofrecen una gran ventaja cuando las muestras son susceptibles a cambios y degradación durante el traslado de la misma desde el sitio de recolección hasta el laboratorio, porque el análisis se puede hacer en el mismo sitio.
- El volumen utilizado de disolución estándar o muestra (apenas de 200 μL) es muy pequeño comparado con los 3 o 5 mL utilizados en los espectrofotómetros. Esto implica entonces una disminución significativa de los reactivos utilizados, una reducción de los costos en cada análisis y una reducción de residuos y contaminantes.
- Es además, desde el punto de vista docente, una alternativa para las prácticas de laboratorio de análisis porque permite conocer al educando el fundamento de los métodos ópticos de análisis, ya que el alumno puede construir su propio equipo. Por otro lado se crea una conciencia ecológica y de ahorro en los alumnos.

7. Bibliografía.

- A. Baeza. Microbureta a Microescala Total para Titulometría. *Revista Chilena de Educación Científica*. **I-2(2003)4-7**.
- A. Baeza. Titulaciones Ácido-base Potenciométricas a Microescala Total con Microsensores de pH y de Referencia de Bajo Costo. *Revista Chilena de Educación Científica*. **I-2(2003)16-19**.
- A. Baeza. Análisis Instrumental a Microescala para la Docencia. Memorias de la II Conferencia Internacional de Química. UCLV, Cuba. 2003.