

543.078  
P438m

25 1246  
Ma  
54.938

28 1455  
Nu  
58.693

13 660.32  
Al  
26.982

32 938.25  
De  
72.61

3 180.5  
La  
6.941

5 2075  
Bo  
10.811

88 696  
Ra  
226.025

22 1541  
To  
47.88

44 102.906  
Ri  
101.07

8 -218.79  
O  
15.999

# Técnicas instrumentales de análisis

Esteban Pérez López - Wílber Mora Quesada

EDITORIAL  
SO





UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

SEDE DE  
OCCIDENTE  
SO



CI

Coordinación  
de investigación

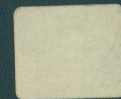
ISBN: 978-9930-9657-0-2



9 789930 965702

**Esteban Pérez López.** Docente en la Universidad de Costa Rica,  
máster en Sistemas Modernos de Manufactura, bachiller en Laboratorista Químico.  
Correo: [esteban.perezlopez@ucr.ac.cr](mailto:esteban.perezlopez@ucr.ac.cr)

**Wilber Mora Quesada.** Funcionario en la Universidad de Costa Rica,  
bachiller en Laboratorista Químico.  
Correo: [wilber.moraquesada@ucr.ac.cr](mailto:wilber.moraquesada@ucr.ac.cr)



# Manual de laboratorio

## Técnicas instrumentales de análisis

Esteban Pérez López - Wílber Mora Quesada



543.078  
P438m

BIBLIOTECA GRECIA- UCR



T76929

## Editorial Sede de Occidente

### Dirección

Mag. Damaris Madrigal López  
Coordinadora de Investigación, Sede de Occidente,  
Universidad de Costa Rica

### Editora

Mag. María Nidia González Araya  
Sede de Occidente, Sede de Occidente, Universidad  
de Costa Rica

### Comisión Editorial

Mag. Damaris Madrigal López  
Directora Editorial Sede de Occidente, Universidad  
de Costa Rica

Mag. María Nidia González Araya  
Editora, Sede de Occidente, Universidad de Costa  
Rica

Dr. Henry Vargas Benavides  
Departamento de Filosofía, Artes y Letras, Sede de  
Occidente, Universidad de Costa Rica

Mag. Esperanza Tasies Castro  
Departamento de Ciencias Sociales, Sede de  
Occidente, Universidad de Costa Rica

Dra. Heveltia Cárdenas Leitón  
Departamento de Educación, Sede de Occidente,  
Universidad de Costa Rica

Mag. Bolívar Ramírez Santamaría  
Departamento de Ciencias Naturales, Sede de  
Occidente, Universidad de Costa Rica

### Diseño, diagramación e ilustraciones

Licda. Midey Valverde Gutiérrez  
Universidad de Costa Rica, Sede de Occidente

### Corrección de estilo

Mag. Tatiana Chinchilla Araya  
Asistente de edición, Sede de Occidente,  
Universidad de Costa Rica  
Srita. Estéfany Herra Chaves  
Asistente de edición Sede de Occidente,  
Universidad de Costa Rica

### Corrección de pruebas

Mag. Tatiana Chinchilla Araya  
Universidad de Costa Rica, Sede de Occidente

### Secretaria

Señora Isabel Chaves Montero

<http://www.so.ucr.ac.cr>

<http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/pensamiento-actual/index>

[investigacion.so@ucr.ac.cr](mailto:investigacion.so@ucr.ac.cr)

Tels. 2511-7094 / 2511-7019 / 2511-7064

Facebook: <http://www.facebook.com/CI.SO.UCR>

Facebook: <http://www.facebook.com/editorialsedeoccidente>

27 AGO 2018

DONACION

# Índice

<b>Práctica 1.</b> HCl por conductimetría ácido-base . . . . .	7
<b>Práctica 2.</b> Densidad en soluciones binarias . . . . .	15
<b>Prácticas 3 y 4.</b> Cianocobalamina por espectrofotometría visible y teofilina por espectrofotometría ultra violeta . . . . .	21
<b>Prácticas 5 y 6.</b> Potasio por absorción atómica y sodio por fotometría de llama (emisión atómica) . . . . .	31
<b>Práctica 7.</b> Análisis de arsénico en jugo de manzana por generación de hidruros acoplado a absorción atómica (gh-aa) . . . . .	43
<b>Práctica 8.</b> Glicerina por refractometría . . . . .	49
<b>Práctica 9.</b> Azúcares por polarimetría . . . . .	55

7	<b>Prácticas 10 y 11.</b> Etanol e isopropanol por cromatografía de gases	61
15	<b>Prácticas 12 y 13.</b> Cafeína y acetaminofén por cromatografía de líquidos de alta resolución	69
21	<b>Prácticas 14 y 15.</b> Cloruros y sodio por cromatografía de iones	79
31	<b>Práctica 16.</b> Ensayo de disolución en tabletas de dimenhidrinato	87
43	<b>Práctica 17.</b> Espectroscopía de absorción infrarroja (IR)	91
49	<b>Apéndice 1.</b> Cálculos típicos de análisis instrumental	101
55		

# Práctica 1

## HCl por conductimetría ácido-base

### Fundamento

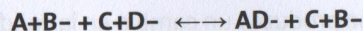
#### » Titulaciones conductimétricas

Para la titulación o valoración de sustancias que contengan carácter ácido o básico se emplean disoluciones con carácter ácido o una base fuerte como el agente titulante, según sea el caso; sin embargo, el punto final de la determinación conductimétrica no se logra con un cambio de color al agregar una sustancia indicadora. Es posible determinar el punto final de la titulación mediante la conductividad de la solución, al agregar poco a poco el reactivo titulante, y medir la conductividad en todo momento (Ottani y Villarreal, 2006).

Para que se produzca un cambio en la conductancia de una disolución debe ocurrir un proceso que altere la concentración electrolítica de esta, como la adición de un electrolito fuerte a uno no tan fuerte o la adición de una sal a otra, de forma que aumenta la cantidad de iones disueltos en el medio (por ejemplo: agregar cloruro de sodio a una disolución de yoduro de sodio). Si por el contrario, se da una reacción química de naturaleza iónica, como reacciones en las cuales se forman precipitados o la adición de una base a un ácido o viceversa, la conductancia puede disminuir o aumentar; por ejemplo, al agregar base

a un ácido fuerte la conductancia disminuirá, pues ocurre una sustitución del ion  $H^+$  o protón (altamente conductivo) por el catión de la base, el cual cuenta con una conductividad menor (Douglas y Alexander, 1994) por lo tanto, el principio de la valoración conductimétrica se basa en el intercambio iónico de ciertos iones con conductividades diferentes.

Para comprender cómo el intercambio iónico afecta la conductividad, se considera cómo cambia la conductancia de una solución ( $C+D^-$ ) a la cual se le agrega un electrolito fuerte ( $A+B^-$ ), suponiendo que  $A^+$  (que es el analito) reacciona con el  $D^-$  del reactivo titulante. Si el producto de la reacción es  $AD$  y es escasamente soluble (precipita) o escasamente ionizado, la reacción se puede escribir de la siguiente manera:



De la ecuación anterior, los iones  $A^+$  son sustituidos por los iones  $C^+$ . Conforme se avanza con la titulación, la conductancia de la solución que se forme aumentará o disminuirá, esto dependerá de si la conductancia del ion  $C^+$  es mayor o menor que la del ion  $A^+$ .

La realización de una titulación conductimétrica implica la constante medida de la conductancia de la disolución, al agregar de forma intermitente

el reactivo titulante a la muestra. Se determina el punto final al graficar la conductancia medida en el momento en función del volumen de titulante agregado. Las curvas de titulación conductimétricas pueden ser de una variedad de formas dependiendo de la naturaleza química de analito por determinar; no obstante, están caracterizadas por porciones de líneas rectas con pendientes diferentes a cada lado del punto de equivalencia (Wilches, Ruiz y Hernández, 2007).

### » Mediciones de conductancia

Para medir la conductancia de una solución se utiliza un puente de Wheatstone (ver figura 1). El paso de una corriente eléctrica a través de una solución electrolítica puede producir cambios en la composición de la solución que está cercana a la zona de los electrodos, se genera por lo tanto potenciales que pueden ser fuente de errores serios en las mediciones conductimétricas, siempre y cuando no se reduzcan los efectos de polarización y proporciones desestimables. La utilización de corrientes alternas es empleada para disminuir de manera considerable los efectos de polarización y el grado de electrolisis (Gennaro, 2003).

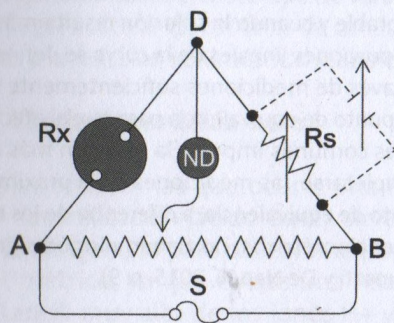
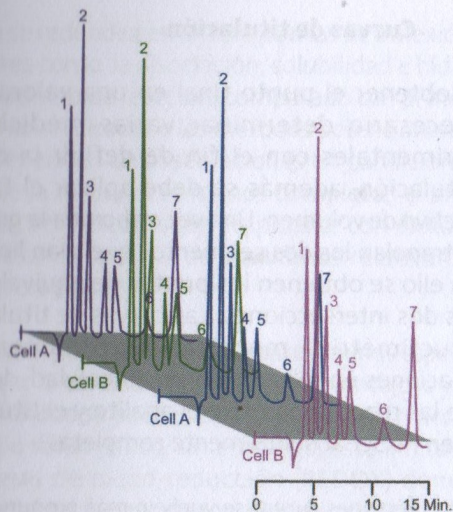


Figura 1. Puente de Wheatstone para mediciones de resistencias.

Puesto que se emplea corriente alterna, la celda tendrá una capacitancia que no se balanceará en la resistencia  $R_s$ , y por eso es necesario incluir un condensador variable en paralelo con la resistencia de manera que la capacitancia en A-D puede contrarrestarse en D-B (Brunatti y De Napoli, 2015, p. 7).

### » Control de temperatura

Con el aumento de la temperatura aumentan los valores correspondientes con la conductividad iónica equivalente. Para iones diferentes de  $H^+$  y  $OH^-$ , este aumento se debe principalmente a la disminución de la viscosidad del medio. En soluciones acuosas, en el intervalo de 0 a  $100^\circ C$ , los cambios en las conductividades de iones diferentes de  $H^+$  y  $OH^-$  tienen un promedio aproximado de 2% por grado. Los valores de conductividad de  $H^+$  y  $OH^-$  tienen coeficientes de temperatura más grandes, alrededor del 14% y 16%, respectivamente (Brunatti y De Napoli, 2015).

Es indispensable durante una titulación conductimétrica contar con algún control de la temperatura; generalmente se opta por temperar el electrodo o celda sumergiéndolo por algún tiempo en un líquido que mantenga la temperatura ambiente

y que no interfiera en la medición. Aunque es necesaria una temperatura constante, no es importante controlarla en todo momento al realizar la titulación, pues sería muy problemático.

### » Cambios de volumen

Durante el proceso de una titulación conductimétrica, el volumen del recipiente donde se agrega el titulante está en constante aumento, lo cual puede afectar los datos de conductancia medidos (efecto de proporciones desestimables) y por tanto, la curva de titulación, al obtenerse como resultado curvas no lineales o poco simétricas.

Se puede emplear un método de corrección que consiste en multiplicar la conductancia observada por el factor  $(V_0+V)/V_0$ , donde  $V_0$  es el volumen inicial de la solución y  $V$  es el volumen total del reactivo titulante agregado. La corrección presupone que la conductividad es una función lineal de la dilución, lo cual es cierto solo en una primera aproximación. Con el objeto de mantener  $V$  pequeño, el reactivo para una titulación conductimétrica es varias veces más concentrado que la solución que se titula, puede usarse en este caso una micro-bureta para agregar el titulante (Brunatti y De Napoli, 2015).

### » Curvas de titulación

Para obtener el punto final en una valoración, es necesario determinar varias mediciones experimentales con el fin de definir la curva de titulación, además se debe aplicar el factor correctivo de volumen. Una vez elaborada la gráfica, se extrapolan los dos segmentos que sean lineales y con ello se obtienen los puntos de equivalencia en las dos intersecciones. Las curvas de titulación conductimétrica muestran gran número de desviaciones en relación con su linealidad, debido a que las reacciones entre el analito y el titulante pueden no ser absolutamente completas.

Las regiones curvas se vuelven más pronunciadas cuando la reacción en cuestión se hace menos favorable y cuando la solución resulta más diluida. Las porciones lineales de la curva se definen mejor a través de mediciones suficientemente alejadas del punto de equivalencia para que el efecto de los iones comunes impulse la reacción más cerca de completarse; las mediciones en la proximidad del punto de equivalencia, a diferencia de los métodos potenciométricos, no tienen ningún significado. (Brunatti y De Napoli, 2015, p. 9).

Las mediciones cercanas al punto equivalente de la titulación son confusas y no tienen sentido en cuanto a la linealidad de la gráfica, dado que la

curva se redondea en ambos puntos de inflexión por factores como la disociación, solubilidad e hidrólisis del producto de reacción; comparado con el método visual con indicador o los métodos potenciométricos, que dependen de observaciones en condiciones en las que la reacción es menos completa, el análisis conductimétrico puede emplearse con éxito para titulaciones basadas en equilibrios relativamente desfavorables.

Aunque el punto de equivalencia es menos específico, el uso de la conductimétrica es más ventajoso ya que este método se puede adaptar a todas las reacciones del tipo volumétrico; sin embargo, está limitado en sistemas de óxido-reducción (REDOX) donde se presenta un exceso de ion hidronio ( $H^+$ ), el cual se muestra generalmente en este tipo de valoraciones y puede llegar a alterar los cambios de conductividad asociados a la reacción volumétrica. (Canales, 1999).

### » Titulaciones ácido-base

Son titulaciones en las que ocurre una reacción del tipo neutralización (ácido-base), sirven como un excelente ejemplo para observar al punto final conductimétrico, ya que existe una relación de conductancia muy alta de los iones  $H^+$  y  $OH^-$  en comparación con la conductancia de una reacción de formación de productos.

### » Titulación de ácido fuerte con base fuerte y con base débil

La figura 2 muestra la curva de titulación conductimétrica de una solución  $10^{-3}$  M de ácido clorhídrico con hidróxido de sodio.

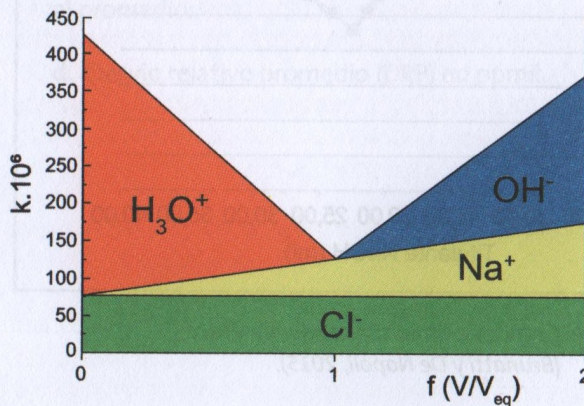


Figura 2. Curva de titulación conductimétrica.

Por su parte, la figura 3 ilustra el gráfico típico de una valoración de un ácido fuerte con una base fuerte por conductimetría.

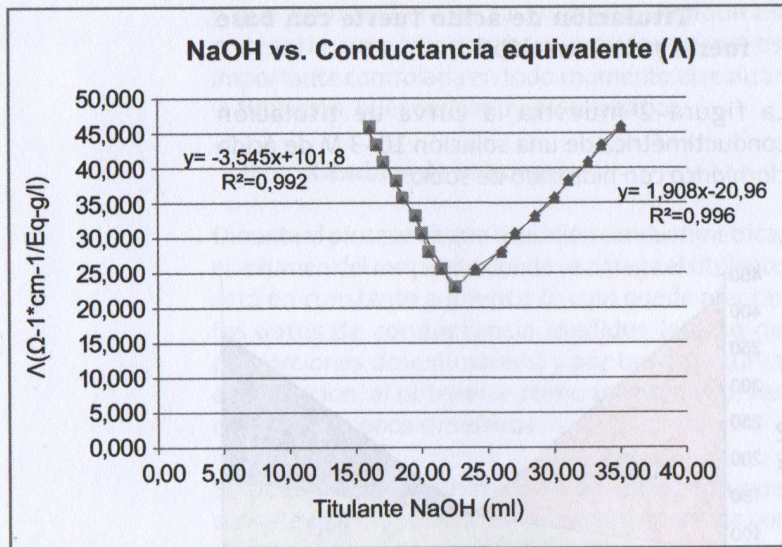


Figura 3. Gráfico de titulación conductimétrica  
(Brunatti y De Napoli, 2015).

### » Cálculos

Por el método de regresión lineal se obtienen las dos ecuaciones para hallar el volumen del punto de equivalencia como son:  $y = -3.5451x + 101.83$ ,  $y = 1.9083x - 20.967$

Al resolver las ecuaciones se obtiene:

$$-3.5451x + 101.83 = 1.9083x - 20.967$$

$$-3.5451x - 1.9083x = -20.967 - 101.83$$

$$-5.4534x = -122.797$$

$$X = -122.797 / -5.4534$$

$$X = 22,51 \text{ mL}$$

Donde 22.51 mL es el volumen del punto de equilibrio.

Al calcular la concentración del ácido clorhídrico:

$$V_{\text{HCl}} \cdot C_{\text{HCl}} = V_{\text{NaOH}} \cdot C_{\text{NaOH}}$$

TITULADO      TITULANTE

$$250 \text{ mL} \cdot C_{\text{HCl}} = 22.51 \text{ mL} \cdot 0.125 \text{ N}$$

$$C_{\text{HCl}} = (0.125 \text{ N}) (22.51 \text{ mL}) \quad (250 \text{ mL})$$

$$C_{\text{HCl}} = 0.0112 \text{ N}$$

## Procedimiento 1

1. Prepare una solución valorada de NaOH 0.1 M.
2. Llene una bureta de 10 mL con valorante y prepare el conductímetro para la valoración.
3. Mida una alícuota de 20 mL del HCl incógnita, y colóquelo en el recipiente destinado para la valoración. Añada agua destilada hasta mantener sumergido el orificio lateral del electrodo de conductividad.
4. Coloque agitación magnética y tome la lectura inicial de conductividad.
5. Agitando constantemente añada valorante cada 0.25 mL y anote las respectivas conductancias. Continúe hasta vaciar la bureta de ser necesario.
6. Si el tiempo lo permite realice una nueva valoración.
7. Grafique, determine el punto final y calcule la concentración del HCl en la incógnita.
8. Tabule sus resultados con los obtenidos por sus compañeros.

## Calcule

- a. La incertidumbre respectiva.
- b. Promedio, mediana, rango.
- c. Desviación estándar (DS), desviación estándar relativa (DSR), desvíos absolutos y el desvío absoluto promedio (DAP) con respecto al promedio.
- d. Desvío relativo promedio (DRP) en ppmil.

## Referencias

- Bottani, E; Odetti, H; Pliego, O. y Villareal, E. (2006). *Química General*. Santa Fe: Universidad Nacional del Litoral.
- Brunatti, C y De Napoli, H. (2015). *Titulaciones conductimétricas*. Facultad de Ingeniería: Universidad de Buenos Aires. Recuperado de: [http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Titulaciones\\_Conductimetricas.pdf](http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Titulaciones_Conductimetricas.pdf)
- Canales, M. (1999). *Fisicoquímica Volumen I: Teoría*. México: UNAM.

Douglas, B y Alexander, J. (1994). *Conceptos y modelos de química inorgánica*. Reverte.

Gennaro, A. (2003). *Remington: Farmacia. Volumen I*. 20ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

Wilches, M; Ruiz, L. y Hernández, M. (2007). *Bioingeniería Tomo VI: Fundamentos de instrumentación para la clínica y las radiaciones ionizantes*. Universidad de Antioquia.

## Práctica 2

### Densidad en soluciones binarias

#### Fundamento

La palabra densidad se utiliza para describir el cociente de la masa de un cuerpo entre su volumen. La densidad de un cuerpo es uniforme e invariable en toda la extensión de su cuerpo, por lo que no depende de la forma de este; es por esa razón una cualidad de magnitud intensiva. Las unidades para la expresión de la densidad son  $\text{Kg}/\text{cm}^3$  en el SI, pero frecuentemente se utiliza  $\text{g}/\text{mL}$ . La fórmula para la expresión de la densidad es  $\rho = m/v$ , donde “ $\rho$ ” es la densidad, “ $m$ ” la masa y “ $v$ ” el volumen (Picado y Álvarez, 2008).

#### » Picnómetro

Para hacer mediciones de la densidad relativa de un líquido se utiliza el instrumento llamado botella de densidad relativa o picnómetro, se pesa el picnómetro vacío y luego se llena con el líquido por analizar y se pesa de nuevo para determinar la masa por diferencia. El volumen del picnómetro se obtiene al determinar la masa de agua que el picnómetro es capaz de contener y multiplicarla por la densidad del agua a una determinada temperatura. Para la obtención de la densidad relativa del líquido por analizar se divide la masa de dicho líquido entre el volumen del picnómetro (Burns, 2003).

### » Método para la utilización

Se mide la masa del picnómetro vacío y después se llena de agua destilada a 20°C (o a otra temperatura de la cual se conozca la densidad del agua) y se mide su masa. La densidad del agua a 20°C es  $0.99823 \pm 1 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$ .

La masa de agua requerida para llenar el picnómetro es la diferencia:

$$35.552 \text{ g} - 25.601 \text{ g} = 9.951 \text{ g}$$

El volumen de agua y por tanto, la capacidad volumétrica del picnómetro es

$$V = (\text{Masa del agua} / \text{densidad del agua}) = m/p$$

$$V = 9.951 \text{ g} / (0.99823 \text{ g/mL}) = 9.9686 \text{ mL}$$

Si el frasco se pesa vacío, lleno de agua, y luego lleno del líquido problema, la densidad de este puede calcularse sencillamente.

Ejemplo: interesa determinar la densidad del metanol a 20°C, se sabe que la masa del picnómetro vacío es de 25.601 g y lleno con metanol a 20 °C es de 33.490 g, de modo que la masa de metanol que se requiere para llenarlo es:

$$33.490 \text{ g} - 25.601 \text{ g} = 7.889 \text{ g}$$

De manera que la densidad del metanol a 20°C será

$$\rho = m / V = 7.889 \text{ g} / (9.969 \text{ mL}) = 0.7914 \text{ g/mL}$$



Figura 4. Picnómetro.

### » Densímetro

Un densímetro es un instrumento utilizado para la determinación de la densidad relativa de forma directa, está compuesto por un vástago graduado en la punta y por un bulbo con una masa determinada ubicado en su extremo. Generalmente son elaborados con vidrio. La técnica de medición con este instrumento se fundamenta en hacer

flotar el densímetro en el líquido problema, para posteriormente realizar la medición mediante la escala que se encuentra en el vástago.

Existen muchos tipos de densímetros. En su elaboración se varía la masa en el bulbo y la escala y se usan dependiendo del líquido por analizar, puesto que existen líquidos más ligeros que otros.

Existen densímetros con aplicaciones específicas, por ejemplo, los uridensímetros utilizados en medicina para medir la densidad de la orina o los alcoholímetros utilizados en la industria para medir la densidad de licores y vinos (Fuentes, 1998).

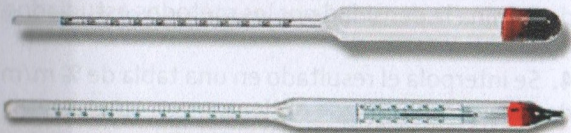


Figura 5. Densímetro.

### » La balanza de Mohr-westphal

Esta balanza aprovecha la fuerza de empuje de los líquidos y el principio de Arquímedes para la determinación de la densidad de un líquido. Este

principio establece que al sumergirse un cuerpo en agua su peso aparente será menor que el aire, fenómeno que se conoce como fuerza de flotación o empuje ( $E$ ), relacionada con la densidad del fluido y la densidad del cuerpo que se sumerja. Se expresa de modo que ( $V$ ) es el volumen del inmersor, ( $E_r$ ) la densidad del líquido y ( $g$ ) la gravedad (Lobo, Castro, Miranda y Mendoza, 2010). La balanza Mohr-Westphal está conformada por una varilla de vidrio de la que pende un hilo fino de platino; el inmersor atado a la varilla experimenta una pérdida de peso al sumergirse en el líquido problema “fuerza de empuje”, que se compensa con reitres o jinetillos que funcionan como contrapesos al colocarse al lado opuesto de la varilla.

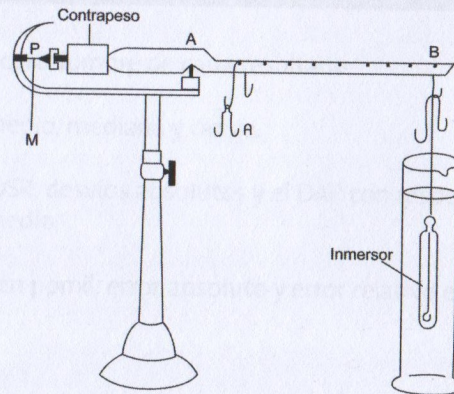
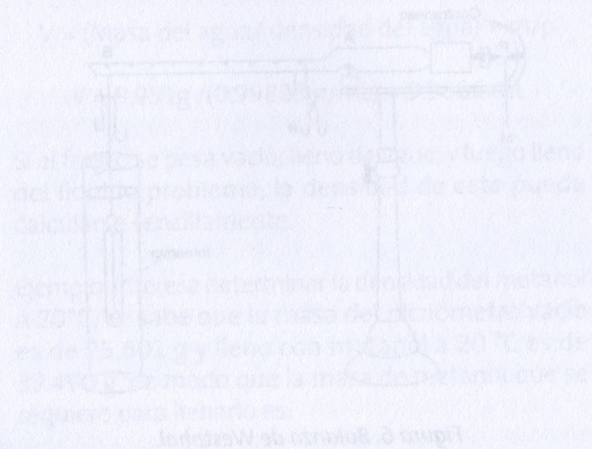


Figura 6. Balanza de Westphal.

Al conocer el peso “en el aire” del inmersor ( $m$ ), se contrarresta la pérdida de peso generada por la fuerza de empuje con diferentes masas conocidas (reifers), esta masa es numéricamente igual que el volumen del inmersor ( $v$ ), puesto que la densidad del agua es de  $1 \text{ g/cm}^3$  (a una temperatura de  $4^\circ\text{C}$ ). Así, con la fórmula de densidad, es posible calcular la densidad del líquido problema  $\rho = m/v$ . Algunos factores que pueden alterar esa medición son la temperatura, ya que la densidad cambia con respecto a esta; la masa y volumen del hilo y su inmersión, la presencia de burbujas de aire en el líquido, la viscosidad y la tensión superficial (Hopp, 1994).



## Procedimiento 2

### a. Densidad en refrescos gaseosos

1. Para analizar la densidad del refresco, que no es una mezcla binaria, primero se le debe eliminar el  $\text{CO}_2$ , para lo cual se coloca la cantidad de muestra necesaria en un beaker y se pone con agitación magnética hasta que no presente formación de burbujas.
2. Si el refresco es coloreado deberá utilizar una punta de espátula de carbón activado para eliminar las impurezas coloreadas y filtrar, para eliminar el carbón.
3. Una vez lista la muestra, se enfría a  $20^\circ\text{C}$  y se determina la densidad por los métodos estudiados.
4. Se interpola el resultado en una tabla de %  $m/m$  de sacarosa ( $^\circ\text{brix}$ ) y se obtiene.

### b. Densidad en licor

1. El licor se considera una solución binaria, por lo tanto, se procede directamente a realizar las determinaciones de densidad con la muestra a  $20^\circ\text{C}$ , con los tres métodos.
2. Con la densidad obtenida se interpola en una tabla de  $^\circ\text{alcohólico}$ .

### Uso del picnómetro

1. Medir la masa del picnómetro limpio y seco y no manipularlo directamente con las manos.
2. Llenar el picnómetro con agua destilada de 20°C - 25°C con la temperatura previamente medida.
3. Colocar la tapa del picnómetro y secar completamente por fuera.
4. Medir la masa del picnómetro más el agua.
5. Homogenizar bien el picnómetro con la muestra y proceder de igual forma que se hizo con el agua, pero ahora con la muestra por triplicado.
6. Calcule la densidad correspondiente.

### Uso del densímetro

1. En una probeta de vidrio de 250 mL limpia y seca, coloque 200 mL de la muestra a 20°C.
2. Con mucho cuidado, asegúrese de que el densímetro esté perfectamente limpio y seco.
3. Sumerja el densímetro con mucho cuidado sin manipularlo directamente con las manos y no lo

suelte bruscamente porque puede irse hasta el fondo de la probeta.

4. Dele un giro al densímetro y asegúrese de que no quede pegando en las paredes de la probeta antes de hacer la lectura.

5. Familiarícese con la escala del densímetro empleado para evitar errores de lectura y determine la densidad correspondiente.

6. Realice dos mediciones más de la muestra a 20°C.

### Calcule

La incertidumbre de cada resultado.

Promedio, mediana y rango.

DS, DSR, desvíos absolutos y el DAP con respecto al promedio.

DRP en ppmil, error absoluto y error relativo en %.

## Referencias

- Burns, R. (2003). *Fundamentos de química*. Pearson Educación.
- Fuentes, X. (1998). *Bioquímica clínica y patología molecular*. Volumen 2. Reverte.
- Hopp, V. (1994). *Fundamentos de tecnología química*. España: Reverte.
- Lobo, R; Castro, D; Miranda, J. y Mendoza, A. (2010). *Manual de laboratorio de física calor ondas*. Colombia: Universidad del Norte.
- Picado, A. y Álvarez, M. (2008). *Química I*. Costa Rica: EUNED.

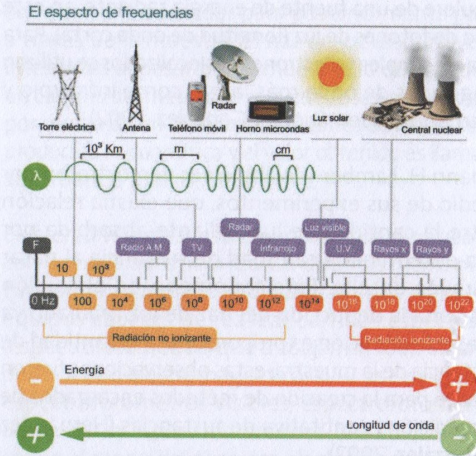
# Prácticas 3 y 4

Cianocobalamina  
por espectrofotometría  
visible y teofilina por  
espectrofotometría  
ultra violeta

## Fundamento

La espectrometría ultravioleta visible (UV-V) fue uno de los primeros métodos físicos utilizados para la determinación de compuestos de manera cuantitativa, se basa en la absorción de energía electromagnética del espectro ultravioleta y visible por parte de las moléculas del analito. El rango del espectro electromagnético para la región ultravioleta es de 190 nm a los 325 nm y el del espectro visible se encuentra en un intervalo entre 325 nm a los 1100 nm, la cual es la región del espectro capaz de ser captada por el ojo humano (Olsen, 1990).

543.078  
P438m



T76929



Figura 7. Espectro electromagnético.

La energía electromagnética del rango ultravioleta visible tiene la característica de que puede ser absorbida por las moléculas de una sustancia, de forma tal que genera un estado de excitación en niveles de energía superior (electrones de valencia) y provoca en estas un aumento en la energía y transiciones electrónicas, donde la energía adquirida es liberada posteriormente de la molécula en forma de calor o luz, al regresar de nuevo a su estado fundamental (no excitado).

Para poder realizar la excitación de electrones que se encuentren fuertemente unidos (enlaces triples) se requiere de una fuente de energía radiante, en este caso de fotones de luz (longitud de onda corta). Para enlaces simples y electrones deslocalizados se utilizan longitudes de onda más largas como infrarrojo y microondas (Hernández y González, 2002).

Johann H. Lambert y Wilhelm Beer demostraron por medio de sus experimentos, que existía relación entre la cantidad de luz radiante absorbida por una determinada cantidad de sustancia al pasar a través de ella. Este fenómeno de absorción ocasiona la deducción del haz de luz irradiado ya que la disminución es proporcional a la cantidad de sustancia de la muestra; estas observaciones fueron la base para la creación de métodos encargados de la medición cuantitativa de sustancias (Hernández y González, 2002).

Se conoce como absorbancia (ABS) a la fracción de luz absorbida por una sustancia: "...es el logaritmo decimal entre la potencia radiante espectral de la luz transmitida a través de la referencia y de la luz transmitida a través de la muestra, ambas observadas en cubetas idénticas" (Bourdelaude, Nonell, Acuña y Sastre, 1999, p. 13). Esta es proporcional al múltiplo de la absorptividad de la sustancia debido a la trayectoria del haz de luz que atraviesa la muestra (paso óptico), por la concentración del analito. El valor de absorbancia no tiene unidades, por tanto, es adimensional (Bourdelaude et al., 1999).

Donde:

ABS = absorbancia.

$a_L$  = constante de absorptividad.

$b_{cm}$  = paso óptico medido en centímetros.

$C_{mg/L}$  = concentración de la sustancia en mg/L.

La fórmula de absorbancia puede de igual manera ser expresada en fracción molar:

Donde:

$ABS_{\text{molar}}$  = absorbancia molar.

$\mathcal{E}_l$  = constante de absortividad molar.

$b_{\text{cm}}$  = paso óptico en medido en centímetros.

$C_{\text{mol/L}}$  = concentración de la sustancia en mol/L.

La transmitancia se define como la relación entre la luz que atraviesa la muestra y la luz incidente sobre ella. Se expresa de la siguiente manera:

Donde:

$T$  = transmitancia.

= intensidad del haz luego de interactuar con la muestra.

= intensidad del haz incidente sobre la muestra.

(Billmeyer, 2004).

**Barrido espectral:** se realiza un barrido espectral cuando se miden todas las longitudes de onda del espectro UV-V, la absorbancia de una muestra. Se destaca cada longitud de onda (eje x) con respecto a su valor de absorbancia (eje y) formando un gráfico representativo del compuesto, que se considera como el espectro. Para sustancias puras este espectro

es invariable, por lo que puede ser almacenado en una biblioteca electrónica y comparado para determinaciones cuantitativas de mezclas y complejos (Villegas, Acerato, y Vargas, 2006).

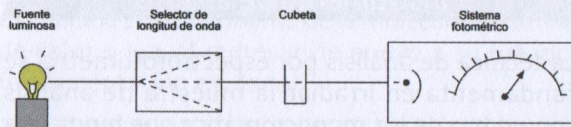
### Instrumento de análisis

La técnica de análisis por espectrofotometría se fundamenta en irradiar la muestra de análisis con un haz de luz monocromática que tenga una determinada longitud de onda, dicha longitud se selecciona por medio de un selector de longitud de onda o monocromador para posteriormente pasar a través de la muestra. El haz de luz disminuye su intensidad al pasar por la muestra, lo que produce un cambio de intensidad que puede ser cuantificado por medio de un detector de fotones de luz; la señal producida se cuantifica y el valor obtenido es llamado absorbancia (Harris, 2006).

Existen diferentes instrumentos utilizados acorde con las cualidades para realizar distintas mediciones, fundamentalmente se dividen en dos tipos: los equipos capaces de realizar barridos espectrales (espectrofotómetros) que trabajan en todo el rango del espectro electromagnético UV-V y se dividen en espectrofotómetros visibles, espectrofotómetros ultravioleta y espectrofotómetros ultravioleta visible, según el rango del espectro electromagnético que

cubran; y los fotómetros, que miden solo la absorción de luz en el rango visible y no pueden realizar barridos espectrales (Aldabe, Aramendia, Bonazzola, y Lacreu, 2004).

Figura 8. Esquema básico de un espectrofotómetro.



El equipo cuenta con un *software* que toma las medidas de absorbancia para realizar una curva de calibración, basada en las mediciones de absorbancia de estándares con concentraciones conocidas para luego realizar la medición de las muestras. Con ayuda de los datos de absorbancia obtenidos es posible alcanzar la concentración de la muestra problema, mediante una interpolación (Aldabe *et al*, 2004).

### Componentes principales del equipo:

**Fuente luminosa o de irradiación:** estas son lámparas semejantes a un foco o bombilla, se fabrican con materiales de calidad específicos para su función; algunas son la lámpara de filamento de tungsteno (usada para rango espectral visible), la lámpara de

deuterio o wolfranio (usada en la región ultravioleta) y la lámpara de xenón (que tiene un rango más amplio, por lo que cubre ambas zonas del espectro UV-V) (Aldabe *et al*, 2004).

**Selector de longitud de onda o monocromador:** su función es convertir la luz policromática proveniente de la fuente, en luz monocromática, para después poder irradiar la muestra con la longitud de onda de interés (Aldabe *et al*, 2004).

**Portamuestra o cubeta:** son reservorios de la muestra durante el análisis. Se fabrican con materiales resistentes según el rango de medición que se vaya a implementar, de modo que se utiliza cuarzo para el rango ultravioleta y plástico o vidrio para el rango visible (Mauri, Llobat y Herráez, 2010).

**Los detectores:** se colocan al final del paso óptico y ninguno es totalmente idóneo pues todos generan ruido. El detector ideal debe tener alta sensibilidad en cualquier rango del espectro, buena relación señal-ruido, respuesta constante, tiempo de respuesta corto, y mínima señal constante en ausencia de luz (luz oscura). Los más utilizados son los fotodiodos, estos están compuestos por una barra semiconductor de silicio o germanio que funciona como superficie sensible para la medición de fotones; también existen los fotomultiplicadores, que a diferencia de los fotodiodos cuentan con varias superficies

fotosensibles, que multiplican factorialmente la señal al interactuar con las diferentes superficies, genera lo conocido como una cascada de electrones, lo que permite aumentar la señal, para una mejor cuantificación (Villegas, Acerato, y Vargas, 2006).

**Tipos de instrumentos de acuerdo con su configuración:** los espectrofotómetros se pueden dividir de acuerdo con su configuración óptica en espectrofotómetros de un solo haz y espectrofotómetros de doble haz.

**Espectrofotómetros de un solo haz:** la luz que proviene de la fuente pasa por el monocromador y directamente hacia la cubeta donde se encuentra la muestra, luego por el detector, por lo que se debe realizar primero un blanco para corregir la absorbancia de fondo, antes de realizar una medición.

**Espectrofotómetros de doble haz:** la luz proveniente de la fuente se divide en dos rayos de luz que toman trayectorias diferentes, el equipo cuenta con dos reservorios equivalentes a dos pasos ópticos, un haz de luz pasa por una de las cubetas con la muestra, mientras de forma consecutiva el otro haz atraviesa la otra cubeta con el blanco; eso permite medir en todo momento la absorción de fondo, a diferencia del equipo de un haz que solo lo realiza una vez. Los dos rayos de luz pasan al monocromador y al detector de manera intermitente, para que realice la medición de

cada uno y pueda corregir la lectura de absorbancia (Hernández y González, 2002).

### Cuidados experimentales e instrumentales

El operador de este tipo de equipo tiene que seguir cuidados experimentales e instrumentales para asegurar la perfecta operación del instrumento y mantener su debida calibración, alineación óptica, estabilidad y trazabilidad en el tiempo. Las pautas por seguir son las siguientes:

- » El instrumento debe ubicarse en un lugar que permanezca cerrado con una temperatura menor a 25 °C y humedad relativa menor al 70%. No se debe permitir la entrada de polvo o animales rastreros que puedan entrar en el equipo y depositarse en la óptica o dañarla.
- » La alimentación eléctrica se debe regular mediante una UPS adecuada para evitar picos de voltaje que puedan afectar las fuentes de poder y tarjetas electrónicas.
- » Mientras el equipo esté fuera de la operación debe permanecer cubierto para impedir la entrada de polvo.

- » Para alcanzar una buena reproducibilidad y exactitud de los datos, el equipo debe encenderse de 30 a 45 minutos antes para lograr estabilidad térmica en la lámpara y la electrónica.
- » Se requiere que toda solución que se desee analizar sea homogénea, no debe poseer sólidos suspendidos pues provocan pérdidas de luz por difracción y dispersión.
- » Deben manipularse las cubetas de forma adecuada (no tomarlas por la parte no esmerilada) y secar bien (con papel que no raye y que no deje residuos) el paso óptico al realizar la lectura en el instrumento.

Para realizar mediciones de absorbancia la cubeta debe homogenizarse con el analito por lo menos en tres ocasiones, se secan y limpian las caras transparentes de la cubeta con una toalla suave antes de la medición y se coloca en su lugar. Esta operación debe efectuarse con mucho cuidado porque las celdas utilizadas para la zona ultravioleta visible son de cuarzo, lo que implica que sean delicadas, costosas y que se puedan rayar por una mala manipulación.

### Procedimiento 3

#### Cianocobalamina inyectable por espectrofotometría visible

1. Prepare en grupo, una solución madre de cianocobalamina a 250 mg/L de agua, pese con exactitud 25 mg del estándar puro y llévelo a un balón de 100 mL.
2. Realice por mesa, seis soluciones patrón a partir de la solución madre a 250 mg/L, según el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Diluciones para curva de calibración de cianocobalamina

Solución Madre	Patrón #	Alicuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
250 mg/L	1	3,00	25,00	30,00
	2	3,50	25,00	35,00
	3	4,00	25,00	40,00
	4	4,50	25,00	45,00
	5	5,00	25,00	50,00
	6	6,00	25,00	60,00

1. Consulte el etiquetado de cianocobalamina del producto por analizar y prepare tres diluciones de la muestra inyectable en balones de 25 mL, de tal manera que la concentración teórica esperada quede dentro de la curva de calibración propuesta en el punto anterior. Esta etapa se realiza en parejas o lo que indique su profesor.

2. Después de al menos media hora de haber encendido el espectrofotómetro, inserte la longitud de onda de trabajo (549 nm) y calibre el cero absorbancia con las dos cubetas con el blanco reactivo.

3. Mida en el espectrofotómetro la curva de calibración correspondiente a su mesa y anote los datos de absorbancia. Seguido a ello mida las tres muestras, anote las absorbancias correspondientes y calcule lo solicitado.

4. Determine:

a. Concentración en mg/L de cianocobalamina en la muestra inyectable y su incertidumbre.

b. Porcentaje obtenido con respecto a lo etiquetado en el producto y si cumple o no cumple con la especificación (95-115%)

c. Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP.

## Procedimiento 4

### Teofilina en tabletas por espectrofotometría ultra violeta

1. Prepare por grupo, una solución madre de teofilina a 100 mg/L en agua, pese con exactitud 25 mg del estándar puro y llévelo a un balón de 250 mL.

2. Realice por mesa, seis soluciones patrón a partir de la solución madre a 100 mg/L, según el siguiente cuadro:

Cuadro 2. Diluciones para curva de calibración de teofilina

Solución Madre	Patrón #	Alicuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
100 mg/L	1	1,00	25,00	4,00
	2	1,50	25,00	6,00
	3	2,00	25,00	8,00
	4	2,50	25,00	10,00
	5	3,00	25,00	12,00
	6	3,50	25,00	14,00

1. Pese con exactitud del 0.1 mg diez tabletas de teofilina, calcule el peso promedio de dichas tabletas y morterice hasta hacerlas polvo muy fino.
2. Consulte el etiquetado de teofilina del producto por analizar y prepare tres pesadas de la muestra en balones de 100 mL, al mismo tiempo calcule que la concentración teórica al final de las diluciones, quede dentro de la curva de calibración propuesta.
3. Agregue agua destilada hasta tres cuartas partes del volumen del balón y coloque los balones durante 10 minutos en baño ultrasónico para asegurar la solubilidad total de la teofilina.
4. Retorne a temperatura ambiente el balón (si se calentó en el ultrasónico) y afore a volumen con agua destilada.
5. Filtre con papel de tamaño de poro apropiado, unos cuantos mL de la muestra, tome una alícuota del filtrado y llévela al balón seleccionado según los cálculos hechos.
6. Luego de al menos media hora de haber encendido el espectrofotómetro, inserte la longitud de onda de trabajo (272 nm) y calibre el cero absorbancia con las dos cubetas con el blanco reactivo.

7. Mida en el espectrofotómetro la curva de calibración correspondiente a su mesa, anote los datos de absorbancia y seguidamente mida las tres muestras y anote las absorbancias correspondientes.

### Calcule

- a. Los mg de teofilina en las tabletas y su incertidumbre.
- b. El porcentaje obtenido con respecto a lo etiquetado en el producto y diga si cumple o no cumple con la especificación (90-110%).
- c. Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

## Referencias

- Aldabe, S; Aramendia, P; Bonazzola, C. y Lacreu, L. (2004). *Química 2. Química en acción*. Ediciones Colihue SRL.
- Billmeyer, F. (2004). *Ciencia de los polímeros*. Barcelona: Reverté. Recuperado de: <http://www.worldcat.org/title/ciencia-de-los-polimeros/oclc/629723710/viewport>
- Bourdelande, J; Nonell, S; Acuña, A. y Sastre, R. (1999). *Glosario de términos usados en fotoquímica: recomendaciones de la Comisión de Fotoquímica de la IUPAC, 1996*. 2ª ed. España: Universidad Autónoma de Barcelona.
- Harris, D. (2006). *Análisis químico cuantitativo*. Reverte.
- Hernández, L. y González, C. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Grupo Planeta (GBS).
- Mauri, A; Llobat, M. y Herráez, R. (2010). *Laboratorio de análisis instrumental*. 1ª ed. Valencia, España: JPM Ediciones.
- Olsen, E. (1990). *Métodos ópticos de análisis*. Reverte.
- Villegas, W; Acerato, P. y Vargas, M. (2006). *Análisis ultravioleta-visible. La teoría y la práctica en el ejercicio profesional*. UADY.

El fundamento de la técnica de espectroscopía de resonancia atómica (RAA) y la espectroscopía de emisión atómica (EA) fue estudiado por primera vez por los científicos G. Kirchhoff y R. Bunsen, el objeto de su estudio fue el fenómeno de auto absorción en el espectro de algunos metales, la ley de Kirchhoff establece que "cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá a esa longitud de onda", este fenómeno que ocurre cuando se encuentra en su estado basal o irradiado por una fuente de energía radiante, absorberá una determinada longitud de onda proveniente de esa fuente y por consecuencia experimentará una transición hacia un estado de excitación electrónica de mayor energía, porque este estado es inestable el átomo regresa con el tiempo a su estado electrónico inicial y libera el exceso de energía en forma de radiación, ya sea luz o calor (Brazner, 2006).

De acuerdo con lo anterior un átomo puede alcanzar uno o varios estados de excitación electrónica ( $E_1, E_2, \dots$ ), si la perturbación, cada uno puede emitir una determinada longitud de onda en el espectro ( $\lambda_1, \lambda_2, \dots$ ), sin embargo para la técnica de absorción atómica es importante el primer estado excitado

# Prácticas 5 Y 6

## Potasio por absorción atómica y sodio por fotometría de llama (emisión atómica)

### Fundamento

El fundamento de la técnica de espectroscopía de absorción atómica (EAA) y la espectroscopía de emisión atómica (EEA) fue estudiado por primera vez por los científicos G. Kirchhoff y R. Bunsen, el objeto de su estudio fue el fenómeno de auto absorción en el espectro de algunos metales; la ley de Kirchhoff establece que “cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda”, esto significa que, si un átomo que se encuentra en su estado basal es irradiado por una fuente de energía radiante, absorberá una determinada longitud de onda proveniente de esa fuente y por consecuencia, experimentará una transición hacia un estado de excitación electrónica de mayor energía, porque ese estado es inestable. El átomo regresa con el tiempo a su acomodo electrónico inicial y elimina el exceso de energía en forma de radiación, ya sea luz o calor (Razmilic, 2016).

De acuerdo con lo anterior, un átomo puede alcanzar uno o varios estados de excitación electrónica (E1, E2, E3,...) por consecuente, cada uno puede emitir una determinada longitud de onda en el espectro ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ,  $\lambda_3$ ,...); sin embargo, para la técnica de absorción atómica es importante el primer estado excitado

( $E_1$ ), ya que este determina la transición entre el estado basal o fundamental y el estado excitado (se conoce como longitud de onda de resonancia). Este fenómeno se describe en la ecuación de Plank, donde se establece que la energía radiante emitida por átomo es igual a la diferencia entre el estado excitado ( $E_1$ ) y el estado fundamental ( $E_0$ ) (ACS, 2005).

H	Constante de Planck
V	Frecuencia
C	Velocidad de luz
$\lambda$	Longitud de onda

Puesto que existe una relación entre la cantidad de sustancia y la cantidad de energía que esta pueda absorber, se define lo conocido como la ley de Lambert-Beer, la cual establece que la absorbancia de una sustancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes presentes en ella. Al seguir este fundamento y al saber que el coeficiente de absorción es característico para cada elemento, es posible cuantificar la cantidad de sustancia de una muestra problema mediante la técnica de absorción atómica (Gómez, Sierra, Pérez, y Morante, 2010).

La técnica de absorción atómica consiste fundamentalmente en descomponer la muestra en vapor atómico, mediante la adición de calor a altas temperaturas, luego se irradian los átomos en estado fundamental con una fuente que emite la misma longitud de onda de la sustancia que se busca y por último, se cuantifica la cantidad de radiación emitida por la muestra (espectroscopía de emisión atómica) o la cantidad de energía que absorbió de la fuente (espectroscopía de absorción).

### Instrumento de análisis

Los componentes básicos de un equipo de absorción atómica son

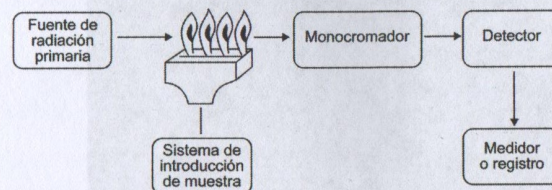


Figura 9. Componentes básicos de la absorción atómica.

**Fuente de radiación:** la fuente utilizada comúnmente en absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, esta se compone por un cilindro sellado al vacío, en su interior se encuentra un cátodo (construido del metal por analizar) y un ánodo, rodeados por una atmósfera de gas inerte. Esta funciona como una bombilla ya que emite luz a la longitud de onda del metal del que está construido el cátodo, al aplicar corriente eléctrica, esta funciona solo para medir este tipo de metal (Walton y Reyes, 1983).

También existe la lámpara de descarga sin electrodos, constituida por un tubo de cuarzo herméticamente cerrado con una atmósfera de gas inerte, en cuyo interior se encuentra un depósito con una pequeña cantidad del elemento de interés. Para generar la luz se aplica radiación por microondas, lo cual hace que se exciten los electrones del elemento al colisionar con las moléculas de gas inerte, este fenómeno produce liberación de energía en forma de fotones de luz (Villegas, Acerato y Vargas, 2006).

**Atomizador:** en absorción atómica se utilizan atomizadores de llama o atomizadores sin llama para generar la temperatura necesaria para producir átomos libres de la sustancia por analizar.

**Atomizador de llama:** se compone de un mechero o quemador alimentado por combustible (aire/propano, aire/óxido nitroso...) además de un

nebulizador para introducir la muestra al mechero. Antes de que la muestra sea atomizada por el mechero esta debe ser convertida en un fino aerosol, lo que ayuda a distribuir de mejor forma la solución, lo cual permite evaporar los solventes y formar con ayuda de la llama un vapor atómico más uniforme (Walton y Reyes, 1983).

**Atomizador sin llama o atomización electro térmico:** consiste en una cavidad u horno construido en un material resistente como el grafito, en su interior se encuentra un tubo hueco del mismo material donde se coloca la muestra. La producción de la temperatura necesaria para convertir la muestra en vapor atómico se genera en el tubo de grafito, que es calentado al hacer pasar una corriente eléctrica a través de él. Estos atomizadores presentan diversas ventajas como una alta eficiencia en generar vapor atómico, permitir el empleo de pequeños volúmenes de muestra y admitir un análisis directo de muestras sólidas (Razmilic, 2016).

**Monocromador:** en absorción atómica se utiliza el monocromador de red con montaje de Littrow o de Czerny-Turner o rejilla. Este monocromador permite aislar una longitud determinada del espectro emitido por la lámpara de cátodo hueco (Potts, 2013).

**Detector:** se emplea un foto-multiplicador que produce una corriente eléctrica proporcional a la

intensidad de fotones emitidos por el monocromador. Además, tiene acoplado un amplificador de señal, con el fin de generar una señal más sensible, por último pasa a un dispositivo de lectura de voltaje, generalmente un voltímetro digital, esta señal es computarizada y es proporcional a la concentración del analito (Razmilic, 2016).

### Diferenciación entre la detección en EEA y EAA

En EAA los átomos que están en la llama absorben radiación, por lo que se genera una disminución en la señal emitida por la fuente, el detector mide esa disminución para compararla luego con el valor de concentración; en EEA no hay una fuente de emisión, lo cuantificado por el detector es la energía irradiada en forma de luz por los átomos al excitarse por las altas temperaturas y regresar a su estado fundamental.

### Importancia de la temperatura de atomización

Los átomos absorben energía en cantidades diferentes de acuerdo con sus características y configuración electrónica, por lo tanto, diferentes sustancias cuentan con varios estados de excitación;

sin embargo, si esta energía excede la necesaria para alcanzar el último estado de excitación se puede “arrancar el electrón” (potencial de ionización), de forma que acaba en ese punto la serie espectral. Puesto que cada elemento cuenta con varias longitudes de onda a las cuales pueden absorber, se puede determinar de forma experimental la temperatura necesaria para alcanzar la longitud de onda adecuada para una buena medición que se adapte mejor a la ley de Lambert–Beer; los equipos modernos cuentan con bibliotecas electrónicas donde se establece la temperatura adecuada para cada elemento (Razmilic, 2016).

### Comportamiento de un elemento al ser expuesto a altas temperaturas

Si se expone un metal a una temperatura entre 2000–3000°C, ese metal pasará a un estado excitado, para posteriormente volver a su estado fundamental de varias formas:

- » Al emitir radiación electromagnética de la misma longitud de onda que la absorbida (fluorescencia de resonancia).
- » Al perder esa energía por colisión con otras partículas en la llama (pérdida de calor).

- » En caso de que exista otro nivel permitido para ese elemento puede haber una emisión (fluorescencia no resonante) de distinta longitud de onda y luego puede darse una emisión en forma de calor.
- » La relación entre los átomos en estado excitado y los átomos en estado fundamental depende de la temperatura y de la naturaleza del átomo considerado (Razmilic, 2016).

### Emisión vs. absorción

Actualmente la absorción resulta ser un método mucho más sensible para la mayoría de elementos que el método por emisión; pues para que un átomo emita luz, debe de alcanzar un estado de energía excitado superior a su estado fundamental; aunque la temperatura de la llama pueda suministrar esta energía, no todos los átomos de la muestra poseen la energía necesaria para emitir suficiente luz, en contraste con la absorción atómica, donde todos los átomos de la muestra logran alcanzar su estado de excitación fundamental al estar en la llama y por tanto, toda la muestra es capaz de absorber luz, lo que resulta más fácil de medir por el detector (Walton y Reyes, 1983).

- » En emisión se puede evitar la interferencia de la llama por medio de un cortador.
- » Las líneas fundamentales para medir en absorción son las que parten de átomos en estado fundamental.
- » A medida que aumenta la temperatura la fracción de átomos excitados se hace mayor. Este aumento de temperatura tiene un efecto marcado en emisión y afecta menos en absorción.
- » La sensibilidad varía mucho de un elemento a otro en emisión, siendo más homogénea en absorción (Razmilic, 2016).

### Sensibilidad y límite de detección para espectroscopía de llama

Se define el límite de detección como la concentración de un elemento emitida por una señal igual a tres veces el nivel de ruido pico a pico de la línea base. El nivel de ruido de la línea base se debe medir mientras se aspira en la llama un blanco. Es la media del blanco más tres veces la sensibilidad del blanco. Al disminuir el ruido del equipo disminuye el límite de detección; sin embargo, la sensibilidad se mantiene constante (Harris, 2006).

### Factores que hacen que se ensanchen las líneas del espectro

- » Ensamblamiento natural: depende del tiempo que los átomos estén excitados. Es para todos los métodos espectroscópicos.
- » Por efecto doppler: movimiento térmico de los átomos en la llama con respecto al observador (detector). Para absorción con llama.
- » Por colisión: colisión de los átomos del analito con los demás gases de la llama. Es natural. Para absorción con llama.
- » El ensanchamiento normal de las líneas es de 10–4 armstrong (Razmilic, 2016).

### Tipos de espectrofotometría de acuerdo a su equipamiento básico

**Espectroscopía de absorción atómica:** cuentan con un quemador u horno de grafito como atomizador, lámpara de cátodo hueco y un nebulizador. Mide absorción.

**Espectroscopía de emisión atómica:** cuentan con un quemador u horno de grafito como atomizador

y un nebulizador, no cuenta con lámpara de cátodo hueco o simplemente se apaga. Mide solo emisión.

**Espectroscopía de fluorescencia atómica:** mismos accesorios, pero tiene la particularidad de que la fuente y el atomizar están en perpendiculares el uno del otro con el fin de que la fuente no vaya directamente al detector. Con el mismo instrumento se puede medir absorción o emisión encendiendo o no la fuente.

Para todos los equipos se debe contar con un monocromador que debe ser de rejilla.

### Tipos de atomizadores

**De tipo continuo:** aquí se ingresa la muestra de manera continua, primero el líquido problema es absorbido por un capilar para luego pasar a la fase de nebulización la cual consiste en convertir la muestra acuosa en una niebla de gotas muy finas, posteriormente este aerosol se envía a la zona de llama caliente para llevar a cabo la atomización.

**De tipo discretos:** se introduce un volumen definido de la muestra medido por una jeringa o un muestreador automático, este pequeño volumen es depositado en la plataforma del tubo del horno de grafito. Se aumenta la temperatura para eliminar

el solvente (desolvatación) y luego se aumenta el potencial eléctrico de golpe, así es posible elevar rápidamente la temperatura para generar la atomización de la muestra (Santiago, 2007).

Los tipos de llamas más utilizados son los siguientes:

Aire–propano 1725°C.

Aire–acetileno 2250°C.

Óxido nitroso–acetileno 2955°C.

Argón–hidrogeno–aire 1577°C.

En espectroscopia de absorción atómica las dos llamas más utilizadas son:

Aire–acetileno. Llama de color azulado.

Óxido nitroso–acetileno. De llama espectacular y peligrosa. Tiene una zona de color rosado en la base de la llama que es donde interesa medir ya que es la zona más reductora.

La llama de aire–hidrogeno–argón trabaja para longitudes de ondas bajas y se combina con hidrógeno para la formación del hidruro correspondiente (Razmilic, 2016).

Variables que afectan la temperatura de la llama:

**Relación oxidante/combustible:** es un factor importante a optimizar puesto que el flujo de oxidante (generalmente aire) es constante, por lo que varía la entrada de combustible.

**Altura del quemador:** se varía mediante el software, la altura es un factor importante ya que altera la temperatura que pueda llegar a la muestra.

### Interferencias en el análisis

**Interferencias espectrales:** son muy difíciles de detectar debido al fenómeno de superposición de líneas de absorción de átomos y moléculas, esta interferencia se puede eliminar por un método de corrección de fondo continuo. Concretamente se tienen:

Interferencias por solapamiento de líneas, absorción y auto-absorción de átomos y moléculas.

Formación de óxidos–refractarios que pueden emitir cerca de las líneas de la muestra o que generan dispersión de la luz.

**Interferencias químicas:** se deben principalmente a la reactividad de la muestra con el disolvente o con el medio de tratamiento, ya que de ser reactivo se pueden formar especies químicas que pueden interferir con la medición.

**Interferencias por ionización:** se dan al sobrecalentar la muestra y sobrepasar el estado de excitación necesario para la absorción, ya que en vez de absorber radiación de la fuente, la muestra puede emitir luz que aumenta la señal y por tanto la medición.

**Interferencias físicas o de matriz:** propiedades de la muestra como la viscosidad, tensión superficial, presión de vapor y temperatura de la disolución.

**Interferencia de transporte:** se debe principalmente a la forma en que se inyecta la muestra en el atomizador, la velocidad y la constancia en la formación del aerosol (Santiago, 2007).

## Procedimiento 5

### Determinación de potasio en una bebida energética (Powerade) por absorción atómica

1. De una solución madre de potasio a 1000 ug/mL, se prepara una a 20 mg/L en agua.
2. De la solución a 20 mg/L de potasio, prepare patrones de 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 y 2.4 mg/L en balones de 50 mL.

Cuadro 3. Diluciones para curva de calibración de potasio

Solución Madre	Patrón #	Alícuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
20 mg/L	1	1,00	50,00	0,40
	2	2,00	50,00	0,80
	3	3,00	50,00	1,20
	4	4,00	50,00	1,60
	5	5,00	50,00	2,00
	6	6,00	50,00	2,40

1. Consulte el etiquetado de potasio en la bebida energética y proponga la dilución pertinente (por triplicado) en balones de 50 o 100 mL, para lograr obtenerla en el ámbito de la curva de calibración propuesta.

2. Efectúe la determinación por espectrofotometría de absorción atómica con las siguientes condiciones:

Cuadro 4. Condiciones para potasio por absorción atómica

Modo de medida	Absorción
Lámpara específica	Cátodo hueco, Potasio
Altura quemador	Automático
Combustible	Acetileno
Oxidante	Aire
Flujo	1.2
Longitud de onda	766.5 nm
Rendija	0.5 nm

### Calcule

- La concentración en mg/L de potasio en la bebida y su incertidumbre.
- Porcentaje de lo etiquetado.
- Error absoluto y error relativo.
- Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

### Procedimiento 6

#### Determinación de sodio en sal de mesa por emisión atómica

- De una solución madre de sodio a 1000  $\mu\text{g/mL}$ , se prepara una a 50 mg/L en agua.
- De la solución a 50 mg/L de sodio, prepare patrones de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mg/L en balones de 50 mL.

Cuadro 5. Diluciones para curva de calibración de sodio

Solución Madre	Patrón #	Alícuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
50 mg/L	1	1,00	50,00	1,00
	2	2,00	50,00	2,00
	3	3,00	50,00	3,00
	4	4,00	50,00	4,00
	5	5,00	50,00	5,00
	6	6,00	50,00	6,00

- Al asumir al 100 % el contenido de cloruro de sodio (58.4 g/mol) en la sal de mesa, proponga la pesada y dilución pertinentes (por triplicado en balones de 50 o 100 mL), para lograr obtener la concentración de sodio (23.0 g/mol) en el ámbito de la curva de calibración propuesta.
- Efectúe la determinación de sodio por fotometría de emisión atómica con las siguientes condiciones:

Cuadro 6. Condiciones para sodio por emisión atómica

Modo de medida	Absorción
Lámpara específica	---
Altura quemador	Automático
Combustible	Acetileno
Oxidante	Aire
Flujo	1.1
Longitud de onda	589.0 nm
Rendija	0.5 nm

### Calcule

- El contenido en g de sodio por paquete y su incertidumbre.
- El contenido en g de cloruro de sodio por paquete.
- Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

## Referencias

- ACS. (2005). *Química: un proyecto de la American Chemical Society*. Reverte.
- Dosal, M. y Villanueva, M. (2008). *Introducción a la metrología química: curvas de calibración en los métodos analíticos*. México: UNAM. Recuperado de: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION\\_23498.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION_23498.pdf)
- Gómez, S; Sierra, M; Pérez, D. y Morante, S. (2010). *Análisis Instrumental*. España: Netbiblo.
- Harris, D. (2006). *Análisis químico cuantitativo*. Reverte.
- Potts, P. (2013). *A Handbook of Silicate Rock Analysis*. Springer Science and Business Media.
- Razmilic, B. (2016). *Espectroscopía de absorción atómica*. FAO, Merck Química Chilena Soc. Ltda. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482so4.htm>
- Santiago, S. (2007). *Contribución a la determinación de la fracción de metales traza ligados a las proteínas similares a las metalotioneínas en muestra de mejillón*. Universidad Santiago de Compostela.
- Villegas, W; Acerato, P. y Vargas, M. (2006). *Análisis ultravioleta-visible. La teoría y la práctica en el ejercicio profesional*. UADY.
- Walton, H. y Reyes, J. (1983). *Análisis químico e instrumental moderno*. España: Reverte.

## Práctica 7

### Análisis de arsénico en jugo de manzana por generación de hidruros acoplado a absorción atómica (gh-aa)

#### Fundamento

Existe el caso particular de algunos elementos que poseen sus líneas de resonancia cercanas a los 200 nm y en esta zona, las interferencias espectrales causadas por los gases, presentes en la llama del quemador de un espectrómetro de absorción atómica, son muy significativas, por lo que es necesario el uso de una línea de resonancia secundaria; sin embargo, esto conlleva a la pérdida de sensibilidad en la técnica de análisis elemental por absorción atómica. Algunos de los elementos que sufren este fenómeno son el arsénico (193,7 nm), el mercurio (184,9 nm) y el estroncio (217,6 nm). Por ese motivo se han desarrollado sistemas alternativos como la generación de hidruros (GH), donde se interpone una celda de cuarzo en el camino óptico, a la cual se hace llegar el analito en forma de vapor, lo que permite evitar el paso por el nebulizador y el contacto directo con los gases de la llama, pues se encuentra protegida por la celda de cuarzo (Mauri *et al.* 2010).

La GH acoplada con la espectroscopía de absorción atómica, es una técnica instrumental cuya metodología permite la cuantificación de elementos como As, Se, Hg, Sn, Pb, Sb, Ge, Bi y Te; en el orden de los ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), debido a la capacidad

que tienen dichos elementos para formar hidruros covalentes volátiles. Los métodos de GH se basan en una reacción capaz de generar hidrógeno en el seno de la disolución de la muestra, que reacciona con el elemento de interés para obtener el hidruro respectivo.

Para la generación de los hidruros volátiles covalentes es necesario una reducción de las especies en un medio ácido, lo cual se realiza mediante la intervención de un agente reductor como el zinc o el tetrahidruroborato (III) de sodio, también conocido como borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ); o el cloruro de estaño. El borohidruro de sodio constituye el agente reductor más utilizado en la GH ya que genera exitosamente todos los hidruros volátiles conocidos de forma casi instantánea, sin embargo, su estabilidad es muy baja, por lo que se debe preparar al momento de usarse; mientras que el cloruro de estaño es más estable, pero sus aplicaciones son más limitadas. Por otra parte, en la GH se utilizan principalmente ácidos minerales para el acondicionamiento del medio, el más utilizado es el ácido clorhídrico debido a su facilidad de manejo y a la ausencia de reacciones secundarias (Gallarta y Galbán, 1992).

En la generación de hidruros la aspiración directa de la muestra hacia la llama se sustituye por una celda de cuarzo en la trayectoria de la radiación

y luego se calienta adecuadamente; lo cual se hacía anteriormente mediante la técnica "of line", donde primero se forma el hidruro en un recipiente adecuado y después una corriente de gas inerte lo transporta hasta la celda. Actualmente se utiliza la técnica "on line" donde la formación del gas, su transporte hasta la celda y su cuantificación, se dan en un mismo sistema integrado en línea y con un flujo continuo (Valcárcel y Gómez, 1998).

#### » Instrumento

A continuación, se presenta un esquema de un equipo de generación de hidruros acoplado en línea con un espectrómetro de absorción atómica:

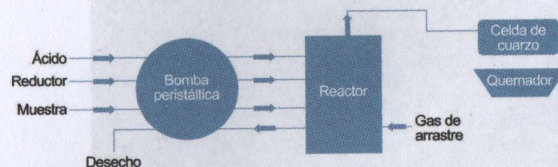


Figura 10. Esquema de un generador de hidruros.

En el diagrama se muestra un sistema de inyección en línea donde por medio de una bomba peristáltica son succionados simultáneamente el ácido, el agente reductor y la muestra; lo cual, genera un flujo continuo que es llevado hasta el frasco reactor o cámara de reacción, donde se mezclan para formar

el consecuente hidruro volátil. Por medio del gas de arrastre, el hidruro generado es forzado a pasar por una membrana porosa que lo separa de la fase líquida y después es arrastrado por el mismo gas hasta la celda de cuarzo colocada directamente sobre el quemador del espectrómetro de absorción atómica. Luego una lámpara de cátodo hueco del elemento por analizar, genera la radiación que es absorbida por los átomos dentro de la celda y este cambio es detectado por el instrumento, que además, lo amplifica y lo registra. Por otra parte, los subproductos y el exceso de reactivos que son separados de las formas gaseosas, son llevados en un flujo contrario a través de la bomba y hasta un sistema de recolección de desechos.

## Procedimiento 7

### Determinación de arsénico en jugo de manzana

1. Prepare 400 mL de una disolución de ácido clorhídrico al 50 % v/v. Utilice agua Tipo 1 (18 mega Ohm).
2. Prepare 400 mL de una disolución de borohidruro de sodio al 0,5 % m/v, disuelto en hidróxido de sodio al 0,5 % m/v. Utilice agua Tipo 1.
3. A partir de una disolución patrón de arsénico (As) de 1 000 000 ug/L (ppb), prepare una disolución estándar de 20 000 ug/L; luego, realice una segunda dilución hasta obtener una disolución estándar de 200 ug/L. Para ambas diluciones utilice agua Tipo 1.
4. De la disolución estándar 200 ug/L, prepare patrones con una concentración en arsénico de 2, 4, 8, 12, 14, 16 y 20 ug/L, diluyendo con agua Tipo 1, en balones de 100 mL.
5. Tome aproximadamente 100 mL de la muestra de jugo y filtre con ayuda de vacío, para eliminar sólidos suspendidos. Luego, coloque la muestra en un recipiente donde obtenga un volumen de aproximadamente 50 mL, para efectuar la medición

directa<sup>1</sup> en el generador de hidruros acoplado al espectrómetro de absorción atómica.

6. Realice la determinación de arsénico, con las siguientes características:

*Cuadro 7. Parámetros espectrométricos para la determinación de arsénico por generación de hidruros, acoplado a absorción atómica*

Condiciones del Espectrómetro de Absorción Atómica	
Técnica	Vapor
Lámpara específica	Cátodo hueco, Arsénico
Corriente de lámpara	75%
Longitud de onda	193.7 nm
Modo Vapor	Calent. Llama
Flujo	1,0 L/min
Combustible	Acetileno
Oxidante	Aire
Kit Vapor	VP100
Espera medida	50 s

1. El jugo de manzana no reporta su contenido en arsénico; sin embargo, la norma que establece la U.S. Food and Drug Administration (FDA, por sus siglas en inglés), refiere que el límite máximo permitido debe ser 10 partes por billón, por lo que se asume que no debe realizarse ninguna dilución en el tratamiento de la muestra.

#### Condiciones del Generador de Hidruros VP100

Flujo gas transporte	200 mL/min
Velocidad bomba	40 rpm (revoluciones por minuto)
Gas de Arrastre	Nitrógeno

#### Calcule

La concentración en ppb de As, en el jugo de manzana, con su respectiva incertidumbre.

El promedio, la desviación estándar, el desvío estándar relativo y el desvío relativo promedio en partes por mil.

## Referencias

- FDA. (12 de Julio de 2013). *La FDA propone "nivel de acción" para el arsénico en el jugo de manzana*. Recuperado de: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/ComunicadosdePrensa/ucm360498.htm>  
Visitado: [29 de setiembre del 2015]
- Gallarta, F; Sanz, J. y Galbán, J. (1992). *Generación de Hidruros-Espectrometría de Absorción Atómica Molecular UV-Vis en fase gas. Determinación de Arsénico, Antimonio y Selenio*. Logroño. 10, 53-85.
- Mauri, A; Llobat, M. y Herráez, R. (2010). *Laboratorio de Análisis Instrumental*. 1ª Ed. Valencia, España: JPM Ediciones.
- Valcárcel, M. y Gómez, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. España: Reverte.

## Práctica 8

### Glicerina por refractometría

#### Fundamento

La refractometría es una de las técnicas ópticas más sencillas, consiste en medir de manera directa el índice de refracción (propiedad física) de la sustancia por analizar, para ello se utiliza el instrumento de análisis denominado refractómetro Abbé, estas son máquinas empleadas para la medición del índice de refracción de los líquidos, sin embargo, también existen refractómetros que se pueden utilizar para medir sólidos translúcidos, gases, cristales, geles y gemas (Olsen, 1990).

**El índice de refracción:** es una propiedad física de la materia, se conoce el índice de refracción como la reducción de la velocidad de un haz de luz al propagarse por un medio que sea homogéneo.

"Cuando la luz pasa de un medio transparente a otro, se refracta porque la rapidez de la luz es diferente en los dos medios" (Serway y Faughn, 2001, p. 730).

Cuando la luz pasa de un medio menos denso a otro más denso, cambia de dirección al pasar entre las superficies, este cambio de dirección se llama refracción. La alteración en el ángulo del rayo se debe a la disminución de la velocidad de la luz, que

interacciona con las moléculas del componente más denso ocasionando que esta se desvíe.

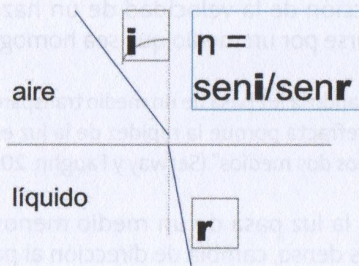
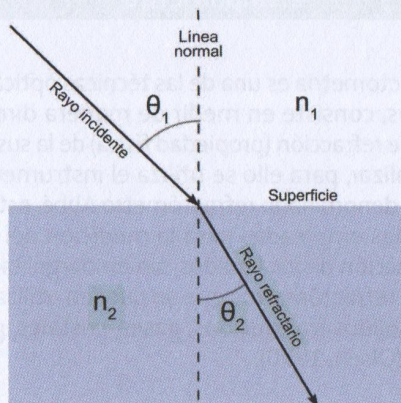


Figura 11. Principio de medida del índice de refracción.

La luz amarilla de la lámpara de sodio disminuye su velocidad desde  $3 \times 10^{10}$  cm/s en el vacío hasta  $2,25 \times 10^{10}$  cm/s al atravesar el agua.

El ángulo que se forma entre el rayo en el primer medio y la línea normal (perpendicular) se llama “ángulo de incidencia” (**i**) y el que corresponde al ángulo que cambió su dirección en el segundo medio se denomina “ángulo de refracción” (**r**).

El índice de refracción (**n**) es la razón entre la velocidad del primer medio junto con la velocidad del segundo medio. Según la ley de Snell, se puede representar este índice como la razón entre el seno del ángulo incidente y el seno del ángulo de refracción (Cheng, 1998).

Para la medición del índice de refracción se utiliza como medida de referencia la velocidad de la luz en el vacío ( $n=1$ ), pero, dado que las mediciones se dan en atmósfera normal, se usa como referente la velocidad de la luz en el aire, que es casi igual a la del vacío y se toma también como  $n=1$ . La constante de “**n**” es adimensional ya que su valor para una luz de determinada longitud de onda, se da por las características de los medios, líquido o sólido y el aire como medio de referencia. Para determinar el índice de refracción entre dos sustancias, se debe de indicar el medio de referencia, así como las variables que pudieran alterar este valor, tal es el caso de la temperatura, que altera la densidad de los medios.

Para la medición en el refractómetro se utiliza luz de una lámpara de referencia llamada línea D de sodio a una temperatura de 20°C (nD20). Este es el referente para la mayoría de los valores estándares que existen para los diferentes compuestos. Por ejemplo: para el Agua  $n=1,33$ ; vidrio flint  $n=1,75$ , diamante  $n=2,42$ , entre otros (Fernández, 2003).

### Tipos de refractómetros

Los aparatos más importantes se basan en dos principios: refractómetros de ángulo límite o crítico y los refractómetros de desplazamiento de imagen.

**Refractómetros de ángulo límite:** en este tipo de instrumento se observa en el campo de visión ocular dos partes, donde una de ellas se encuentra iluminada y la otra oscura, la franja que separa a ambas partes se llama rayo límite (ver figura 12). La luz proveniente de la lámpara atraviesa una pequeña capa de la muestra, la luz refractada entra al prisma P2; la función del prisma P1 es difundir todos los rayos de luz y que estos atraviesen la muestra, la luz que únicamente roza la superficie de P2, penetra formando un ángulo  $\varnothing_c$  (ángulo crítico), el valor de este ángulo dependerá de la longitud de onda de la luz y del índice de refracción del prisma y del líquido problema (ver figura 12).

Ningún rayo puede formar un ángulo superior al ángulo límite  $\varnothing$ , ya que la fuente de tales rayos es incapaz de penetrar en el prisma (el rayo límite corresponde al rayo más tangencial que puede penetrar en el prisma). Por lo tanto, todos los rayos que penetran en el prisma P2 son más perpendiculares a la superficie que el rayo límite y por lo tanto se refractarán a la derecha del rayo límite e iluminarán la zona de la derecha en el ocular. La zona de la izquierda permanece oscura ya que no existen rayos que se refracten con un ángulo superior a  $\varnothing$  (Olsen, 1990, p. 446).

La medida del ángulo crítico permite medir el índice de refracción de la sustancia problema. En los refractómetros de Abbé, el valor que se mide es  $\alpha$  que es el ángulo complementario de  $\varnothing_c$  y es el que se forma de los rayos provenientes del prisma P2. La mayoría de los refractómetros utilizan este principio y los más importantes son los de Abbé, Pulfrich y los de inmersión (Olsen, 1990).

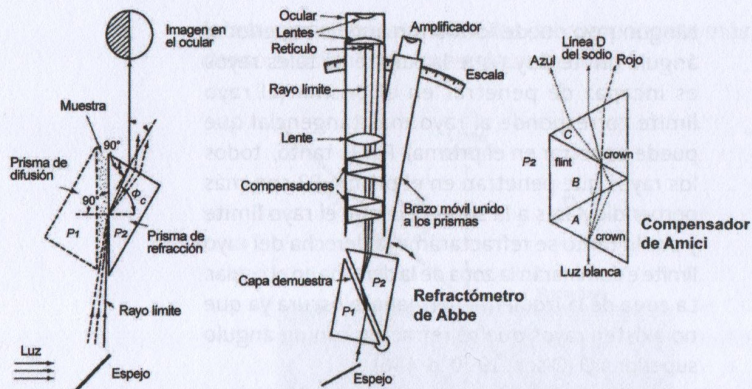


Figura 12. Conformación del refractómetro.

### Refractómetro de Abbe

Este instrumento consta de dos prismas (prismas de Amici) en los cuales se coloca la muestra que se quiere analizar (unas dos gotas de muestra), además utiliza una lámpara de luz blanca que genera diferentes longitudes de onda, que al pasar por los prismas produce una interface crítica con la apariencia de un arcoíris; estos prismas funcionan como un filtro (monocromador) ya que permiten el paso de solo luz amarilla que es la que atraviesa el prisma y la muestra.

Por el centro de los prismas se halla un eje que permite mover el prisma de refracción (P2), para así

medir el índice de refracción en una escala graduada en unidades de  $n_D$  hasta 0,001 (longitud de la línea D de sodio) proyectado en el ocular. El amplificador permite determinar la siguiente cifra 0,0001. Se miden índices entre 1,3 y 1,7 (Olsen, 1990).

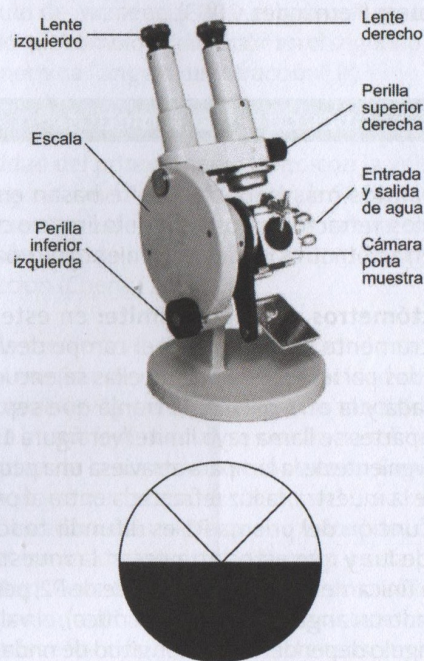


Figura 13. Refractómetro de Abbe.

## Procedimiento 8

**Determinación de glicerina en una mezcla incógnita agua-glicerina**

1. Calcule y pese las cantidades requeridas para preparar soluciones patrón de glicerina a 4, 8, 12, 16, 20 y 24 % m/v en agua, directamente en balones de 25 mL. Cada patrón se debe pesar por separado.
2. Prepare la incógnita pesando la cantidad indicada (según su número de incógnita) y diluyendo en 25 mL con agua destilada.

Cuadro 8. Masa en gramos de glicerina según incógnita

Incógnita	Masa (g)
1	2,25
2	3,50
3	4,50
4	2,40
5	3,75
6	4,75
7	2,75
8	4,25
9	5,25
10	3,25

1. Mida el índice de refracción del agua para la verificación del refractómetro.
2. Determine el índice de refracción de los patrones y la incógnita.
3. Elabore la curva de calibración  $n_{D20}$  vrs % m/v de glicerina.
4. Tabule sus datos con los compañeros que tienen la misma incógnita.

Cuadro 9. Datos experimentales de glicerina por refractometría

Patrón	Masa glicerina (g)	Balón aforado (mL)	Concentración	$n_{D20}$
1		25		
2		25		
3		25		
4		25		
5		25		
6		25		

Cuadro 10. Datos experimentales de glicerina por refractometría

Incógnita	Masa (g)	Balón aforado (mL)	nD20	Concentración (% m/v)
1		25		
2		25		
3		25		

### Determinación de glicerina en una muestra comercial

1. Consulte el etiquetado de glicerina en el producto comercial que va analizar.
2. Analice esa muestra y utilice la misma curva de calibración de la etapa anterior. Proponga la forma correcta de hacerlo y verifíquela con su profesor.
3. Realice el análisis de una muestra única en forma individual.

### Calcule

- a. El % m/v de glicerina en la incógnita y en la muestra comercial y su incertidumbre.
- b. Porcentaje de lo etiquetado en la muestra comercial.
- c. Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

### Referencias

- Cheng, D. (1998). *Fundamentos de electromagnetismo para ingeniería*. México: Pearson Educación.
- Fernández, J. (2003). *El vidrio*. 3ª ed. España: Editorial CSIC - CSIC Press.
- Olsen, E. (1990). *Métodos ópticos de análisis*. España: Reverte.
- Serway, R. y Faughn, J. (2001). *Física*. Pearson Educación.

## Práctica 9

### Azúcares por polarimetría

#### Fundamento

La polarimetría es una técnica basada en la interacción de los centros quirales de los compuestos con la luz polarizada unidireccional. Dicha técnica determina la rotación óptica producida sobre el haz de luz polarizada al pasar por una sustancia ópticamente activa, esta es una propiedad física de algunos compuestos y puede ser utilizada para la identificación cualitativa de un compuesto y su grado de pureza (como azúcares y compuestos orgánicos complejos); además de manera cuantitativa, mediante la realización de una curva de calibración, es posible determinar la concentración de una muestra problema (Koolman y Röhm, 2004).

El polarímetro es un instrumento mediante el cual se puede determinar la desviación de la luz polarizada por un compuesto con características enantiomeras u ópticamente activas.

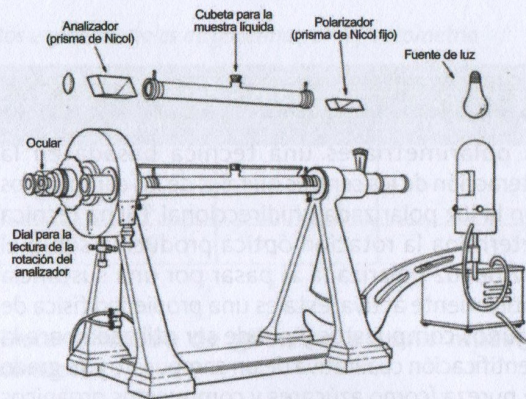


Figura 14. Partes de un polarímetro.

La función de dicho instrumento se logra gracias a un haz de luz (fuente) que pasa a través de un filtro (prisma polarizador) generador de un rayo de luz plana (luz polarizada) y al pasar por la cubeta que contiene un enantiómero en disolución, cambia la trayectoria del haz de luz, al interaccionar con las partículas del medio. Según estén orientados los dos prismas polarizantes, la luz polarizada pasará o no hacia el detector, el cual mide el ángulo de desviación de la luz causado por el compuesto; para compuestos puros este valor es constante (Geissman, 1973).

Luz polarizada: se define luz polarizada al conjunto de longitudes de onda que vibran en una misma dirección o en un solo plano, mientras que en

la luz no polarizada el plano de vibración varía constantemente y de forma rápida e irregular. Un ejemplo de un polarizador son las gafas contra el sol, que solo permiten el paso de luz que se encuentra alineado en dirección perpendicular al cristal del lente y reflejan las longitudes de onda dañinas UV, de manera que dejan pasar la luz visible.

Los prismas polarizadores siguen el mismo principio y desempeñan un papel importante al realizar la medición del ángulo de rotación. Al estar alineados en un mismo eje, se pueda o no observar el rayo de luz luminoso atravesar las muestras, es decir, es posible medir el cambio de dirección ocasionado por la muestra si estos se encuentran en una posición adecuada uno respecto del otro (ACS, 2005).

Al hacer pasar luz blanca por un filtro es posible obtener luz polarizada; si esta luz es irradiada en una muestra con una sustancia determinada y este haz de luz sufre un cambio de dirección y rota en un ángulo determinado, entonces la sustancia analizada es ópticamente activa, si la dirección del nuevo plano se dirige hacia la izquierda, el compuesto se designa levorrotatorio (-), por el contrario, si el plano rota a la derecha, entonces se designa dextrorrotatorio (+) (Weininger y Stermitz, 1988).

El valor del ángulo ( $\alpha$ ) obtenido de la medición de la escala del polarímetro dependerá de la condición del

compuesto y la concentración en que se encuentre, además, de la longitud del paso óptico de la luz. Se define la rotación específica ( $[\alpha]_D^{25}$ ) para la caracterización de un compuesto como:

$$[\alpha]_D^{25} = \alpha / l \cdot c$$

$l$  = longitud (dm)

$c$  = concentración (g/100mL)

$\alpha$  = medida obtenida del polarímetro



Figura 15. Polarímetros (electrónico y de detección visual).

### Poder rotatorio específico de algunas sustancias

Cuadro 11. Poder rotatorio de algunas sustancias

Sustancia	$[\alpha]_D^{25}$
Maltosa	+136.9
Sacarosa	+66.5
Lactosa	+56.0
Glucosa	+52.5
Tartrato de sodio y potasio	+29.8
Ácido Tartárico	+13.4
Fructosa	-92.5
Galactosa	+79 o +82.5
L-alanina	+1.8
D-alanina	-1.8
L-arginina	+12.5
L-histidina	-38.5
L-prolina	-86.2

### Uso del polarímetro

1. Encienda el equipo y espere al menos 30 minutos para que el sistema de lámparas se caliente adecuadamente.
2. Proceda a calibrar el equipo haciendo uso de la cubeta respectiva, bien lavada. Homogenice con agua destilada y seque bien con papel absorbente, que no deje residuos.
3. Coloque el tubo con agua destilada en el paso óptico del polarímetro, baje el cobertor o tapa y espere a que la lectura sea estable.
4. Enjuague dos o tres veces el tubo del polarímetro con la muestra por analizar y llénelo evitando que dentro del tubo queden burbujas, o que los vidrios ópticos de los extremos queden con gotas por fuera.
5. Introduzca el tubo, baje la tapa y mida el ángulo de rotación.

### Procedimiento 9

#### Determinación de la rotación específica de una muestra de azúcar puro

1. Mida el ángulo de rotación de una solución patrón de sacarosa y determine su rotación específica como prueba confirmatoria para la sacarosa.

#### Determinación cuantitativa de sacarosa en un refresco gaseoso

1. Prepare una curva de calibración de sacarosa con patrones de 2, 4, 6, 8, 10 y 12 %m/v, y pese por separado los gramos requeridos en 50 mL con agua destilada.
2. Tome unos 300 mL del refresco gaseoso (del cual conoce su etiquetado de sacarosa) y elimine el gas con agitación magnética.
3. Manteniendo la agitación, añada unas cuantas puntas de espátula de carbón activado para eliminar impurezas coloreadas.
4. Deje en reposo la muestra por unos minutos para que se asiente el carbón y filtre con papel número dos doblado en forma de abanico, con el cuidado

de que se vaya la menor cantidad de carbón posible para evitar la saturación del filtro.

5. Consulte el etiquetado de sacarosa en el refresco, calcule la concentración teórica esperada y defina si debe efectuar dilución para coincidir con la curva de calibración.

6. Determine el ángulo de rotación de los patrones y grafique a vrs g/100 mL.

7. Mida por triplicado la muestra de refresco y calcule la concentración.

### Calcule

- El % de sacarosa en el refresco y su incertidumbre.
- Gramos de sacarosa obtenidos por dosis de refresco.
- Error absoluto y error relativo.
- Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

### Referencias

ACS. (2005). *Química: un proyecto de la American Chemical Society*. Reverte.

Geissman, T. (1973). *Principios de química orgánica*. 2ª ed. California: Reverte.

Koolman, J. y Röhm, K.-H. (2004). *Bioquímica: texto y atlas*. 3ª ed. Ed. Médica Panamericana.

Weininger, S. y Stermitz, F. (1988). *Química orgánica*. Barcelona: Reverte.

## Prácticas 10 y 11

### Etanol e isopropanol por cromatografía de gases

#### Fundamento

La cromatografía de gases (GC) es una técnica que se basa en las diferencias de volatilidad de un compuesto en una mezcla y de su capacidad para poder ser adsorbido (retenido) por un sólido activo inerte (solubilidad en la fase estacionaria), este tipo de cromatografía ofrece una mejor resolución para compuestos con puntos de ebullición bajos, como compuestos orgánicos volátiles (alcoholes, fenoles, aromáticos...). En GC la fase móvil utilizada no interacciona con los componentes de la muestra; su función será la de transportar el analito a través de la fase estacionaria (columna) (Valcárcel y Gómez, 1988).

La fase móvil es un gas inerte, mientras que la fase estacionaria puede ser un sólido absorbente (cromatografía gas-sólido) o un líquido fijado a un soporte empacado (cromatografía gas-líquido), en GC la temperatura es un factor determinante para la volatilización de los diferentes compuestos de la muestra y para la correcta retención de estos compuestos en la columna.

La cromatografía de gases consiste en inyectar la muestra en la columna en forma gaseosa con el fin de separar los componentes de la mezcla, con base en sus diferentes puntos de volatilización, se fracciona esta en las cantidades relativas para cada sustancia de la muestra; estas partes son distribuidas por la fase móvil y retenidas a través de la fase estacionaria de acuerdo con sus características moleculares. Dentro de las fases móviles están la utilización de un gas inerte (más usada) o un fluido supercrítico, mientras que para la fase estacionaria se puede utilizar un líquido adherido a un soporte o un sólido poroso.

Dentro de la columna se da un movimiento cinético molecular; de manera continua se intercambian las moléculas de la muestra entre las dos fases (móvil y estacionaria). La velocidad con que se dé la interacción, dependerá de si la distribución favorece a la fase móvil, de ser así las moléculas viajarán la mayor parte de su tiempo por la fase móvil, se separarán por tanto de otros compuestos no tan afines a la fase móvil. El tiempo que tarda un componente en atravesar toda la interface se llama tiempo de retención y es característico para cada compuesto (Brown y Sallee, 1967).

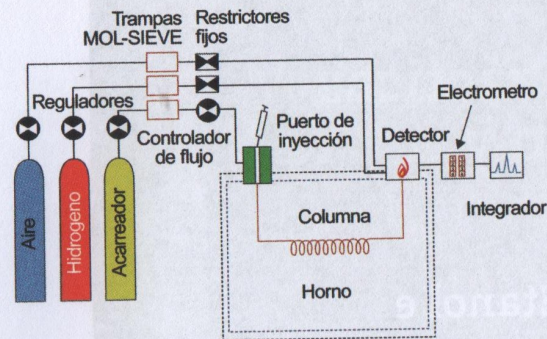


Figura 16. Diagrama cromatógrafo de gases.

Dentro de las variables del equipo que influyen en el resultado del análisis y que deben ser monitoreadas constantemente para la obtención del resultado deseado se encuentran:

### » Gas portador

Este debe ser inerte para evitar que interaccione con la muestra, por tanto, la velocidad de residencia en la fase estacionaria dependerá en gran parte de la fase estacionaria. Este gas tiene como función eluir los componentes de la mezcla por la columna, los gases más usados son: helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, la elección del gas dependerá del tipo de detector utilizado por el equipo (Skoog, West, y Holle, 1997).

### » Flujo (presión)

El equipo cuenta con un sistema de regulación de presión gracias a diferentes manómetros instalados, con el fin de garantizar la estabilidad del flujo.

### » Sistema de inyección de la muestra

La inyección en la columna es la variable de mayor cuidado, es donde se puede producir la mayor incertidumbre pues la cantidad ingresada debe ser exacta, además debe ser suministrada rápidamente y de manera hermética, para que no existan fugas de la muestra. Por esta razón se utilizan métodos automatizados de inyección y un septum (tapón de goma), en la cámara de vaporización (Barquero, 2006).

### » Temperatura

La temperatura es una variable importante que debe ser controlada de manera exacta. Los niveles dependerán de la temperatura necesaria para volatilizar la muestra y por tanto, del grado de separación de los diferentes componentes de la mezcla. La temperatura debe ser de 50°C por encima del punto de ebullición del analito, para poderlo separar de manera eficiente del solvente. Si la mezcla cuenta con diferentes componentes y estos con diferentes puntos de ebullición, entonces se programa una vaporización controlada, llamada

rampa de vaporización, donde la temperatura se aumenta en intervalos de manera continua. Estas micro-distilaciones permiten una mejor separación de la mezcla, y por tanto una mejor partición en la columna (Walton y Reyes, 1983).

### » Columnas

En GC se emplean dos tipos de columnas: las empaquetadas o de relleno y las capilares. Las columnas empaquetadas están constituidas por un tubo y en su interior se encuentra un relleno (soporte granular) el cual está recubierto por una fina película de fase estacionaria. Se utilizan para cantidades de muestra grande, tienen una longitud entre 1 y 10 m y su diámetro interno oscila entre 2 y 4 mm para análisis de laboratorio, algunas columnas preparativas miden hasta 5 cm.

Las columnas capilares están constituidas por un tubo muy delgado enrollado, la fase estacionaria está depositada en la pared del capilar, que cumple también la función de soporte. Estas tienen una mayor resolución, por lo que se utilizan para mezclas con matrices complejas. Dichas columnas cuentan con longitudes entre los 50 y 200 m y un diámetro interior entre los 0.1 y 0.5 mm. Se utilizan para cantidad de muestra pequeña (Fuentes, Castiñeras, y Queraltó, 1997).

**Detector:** es la parte del instrumento encargada de detectar las sustancias eluidas al final de la columna. Detector FID (detector de ionización de llama): es uno de los más usados en el cual los componentes orgánicos de la muestra se queman en una llama compuesta por hidrógeno/aire para formar iones  $\text{CHO}^+$ ; la corriente generada en la llama es proporcional a la concentración de las especies en el eluyente. Este detector es muy sensible por lo que se adapta bien a las columnas capilares (Harris, 2006).

### Uso del estándar interno en cuantificaciones por CG

“En este método, una sustancia pura, ausente en la muestra, se añade en una concentración fija y conocida a los patrones y a la muestra. Se miden luego las respuestas del analito y del patrón interno, se calculan luego los cocientes entre ambas respuestas y se representan en frente a las concentraciones de los patrones.” (Hernández y González, 2002, p. 23).

El estándar interno es un método de cuantificación que provee condiciones de mayor precisión y exactitud en métodos en los que no es posible controlar algunas variables críticas del método, la matriz o la técnica analítica como tal. Se recomienda

el uso de un estándar interno con el fin de controlar el efecto de la variabilidad causada al momento de la inyección. A la hora de cuantificar no utilizo en las fórmulas las áreas del pico cromatográfico, sino las relaciones de área del pico del analito entre el área del pico del estándar interno. **Relación de áreas = área analito / área estándar interno.**

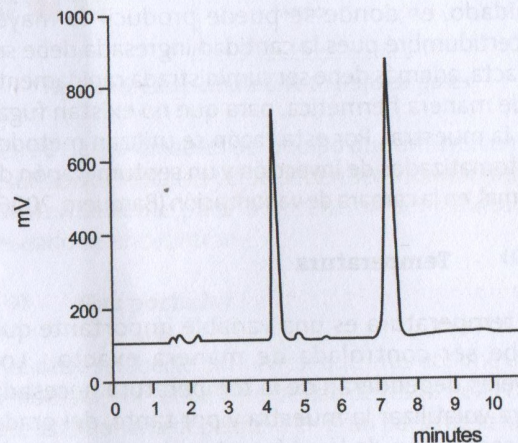


Figura 17. Cromatograma de un CG con estándar interno.

Un estándar interno debe reunir algunas características básicas como:

Ser de propiedades físico-químicas similares a la del analito en estudio.

Ser compatible con la columna.

Ser soluble en el mismo medio del analito.

Estar bien resuelto del pico del analito en el cromatograma.

Mantener la misma concentración en los patrones y las muestras.

### Procedimiento 10

#### Análisis de etanol en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases con estándar interno de n-butanol

1. Prepare una solución madre de etanol al 10 %v/v en agua, a partir de etanol al 95% v/v.
2. Prepare una solución madre de n-butanol al 2 %v/v a partir de n-butanol al 100%.
3. Prepare la curva de calibración de etanol con la respectiva adición del estándar interno de n-butanol (concentración final 0.2%), según el siguiente cuadro:

Cuadro 12. Diluciones para curva de calibración de etanol

Solución Madre 1	Solución Madre 2	Patrón #	Alícuota (mL)	Estándar Interno (mL)	Balón (mL)	Concentración (% v/v)
95% v/v	9,5% v/v	1	0,50	1,00	10,00	0,50
		2	1,00	1,00	10,00	1,00
		3	1,50	1,00	10,00	1,40
		4	2,00	1,00	10,00	1,90
		5	2,50	1,00	10,00	2,40
		6	3,00	1,00	10,00	2,90

1. Consulte el etiquetado de etanol en la muestra de guaro (o vino) por analizar y proponga la dilución correspondiente en un balón aforado de 10 mL, con el fin de hacer coincidir la concentración teórica esperada con la curva de calibración propuesta. Recuerde adicionar 1 mL de n-butanol antes de aforar con agua destilada.

2. Inyecte en el cromatógrafo de gases tanto los patrones como las muestras, con las siguientes condiciones de trabajo:

Cuadro 13. Condiciones CG para análisis de etanol.

Columna:	HP Innowax polietilenglicol 30 m x 0.53 mm x 1.0 $\mu$ m
Temp. inyector:	175 °C
Temp. columna:	110 °C
Temp. detector:	200 °C
Gas de arrastre:	Nitrógeno
Flujo:	2.0
Tipo detector:	FID
Combustible:	Hidrógeno
Oxidante:	Aire cero
Inyección:	1 $\mu$ L
Split:	5.0%
Estándar interno (SI):	n-butanol
Concentración SI:	0.2 %v/v
Analito:	Etanol
Concentración analito:	0.5 - 3 %v/v
Inyector:	Automático

1. Grafique relaciones de áreas vrs %v/v de alcohol y cuantifique con la línea de mejor ajuste.

### Calcule

- a. El %v/v de alcohol en el producto y su incertidumbre.
- b. Porcentaje de lo etiquetado (% experimental / % etiquetado x 100).
- c. Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

### Procedimiento 11

#### Análisis de isopropanol en desinfectantes por cromatografía de gases con estándar interno de n-butanol

1. Prepare una solución madre de isopropanol al 5 %v/v en agua, a partir de isopropanol al 100% v/v.
2. Prepare una solución madre de n-butanol al 2 %v/v a partir de n-butanol al 100%.
3. Prepare la curva de calibración de isopropanol con la respectiva adición del estándar interno de n-butanol (concentración final 0.2%), según el siguiente cuadro:

Cuadro 14. Diluciones para curva de calibración de isopropanol

Solución Madre 1	Solución Madre 2	Patrón #	Alícuota (mL)	Estándar Interno (mL)	Balón (mL)	Concentración (% v/v)
100% v/v	5% v/v	1	1,00	1,00	10,00	0,50
		2	2,00	1,00	10,00	1,00
		3	3,00	1,00	10,00	1,50
		4	4,00	1,00	10,00	2,00
		5	5,00	1,00	10,00	2,50
		6	6,00	1,00	10,00	3,00

1. Consulte el etiquetado de isopropanol en el desinfectante que va analizar y proponga la dilución correspondiente en un balón aforado de 10 mL, con el fin de hacer coincidir la concentración teórica esperada con la curva de calibración propuesta. Recuerde adicionar 1,00 mL de n-butanol antes de aforar con agua destilada.

2. Inyecte en el cromatógrafo de gases tanto los patrones como las muestras, con las siguientes condiciones de trabajo:

Cuadro 15. Condiciones CG para análisis de isopropanol

Columna	HP Innowax polietilenglicol 30 m x 0.53 mm x 1.0 um
Temp. inyector	180 °C
Temp. columna	105 °C
Temp. detector	200 °C
Gas de arrastre	Nitrógeno
Flujo	2.0
Tipo detector	FID
Combustible	Hidrógeno
Oxidante	Aire cero
Inyección	1 µL
Split	5.0%
Estándar interno (SI)	n-butanol
Concentración SI	0.2 %v/v
Analito	Isopropanol
Concentración analito	0.5 - 3 %v/v
Inyector	Automático

1. Grafique relaciones de áreas vrs %v/v de alcohol y cuantifique con la línea de mejor ajuste.

## Calcule

- El %v/v de isopropanol en el producto y su incertidumbre.
- Porcentaje de lo etiquetado (% experimental / % etiquetado x 100).
- Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

## Referencias

- Barquero, M. (2006). *Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases*. San José, Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica.
- Brown, G. y Sallee, E. (1967). *Química cuantitativa*. Reverte.
- Fuentes, X; Castiñeras, M. y Queraltó, J. (1997). *Bioquímica clínica y patología molecular, Volumen 1*. 2ª ed. España: Reverte.
- Harris, D. (2006). *Análisis químico cuantitativo*. Reverte.
- Hernández, L. y González, C. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Grupo Planeta (GBS).
- Skoog, D; West, D. y Holle, J. (1997). *Fundamentos de química analítica*. España: Reverte.
- Valcárcel, M. y Gómez, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. España: Reverte.
- Walton, H. y Reyes, J. (1983). *Análisis químico e instrumental moderno*. España: Reverte.

# Prácticas 12 y 13

## Cafeína y acetaminofén por cromatografía de líquidos de alta resolución

### Fundamento

La cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC, por sus siglas en inglés), también llamada cromatografía de líquidos de alta resolución, es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. Las separaciones se logran por procesos de partición, adsorción o intercambio iónico, según el tipo de fase estacionaria empleada.

La cromatografía de líquidos permite analizar compuestos orgánicos, aun, siendo compuestos no volátiles o térmicamente inestables. Los compuestos por analizar se disuelven en un disolvente adecuado y la mayoría de las separaciones tienen lugar a temperatura ambiente (Farmacopea, 2016).

Cada compuesto tiene diferentes tiempos de retención, que van de acuerdo con su afinidad hacia ambas fases (estacionaria y móvil). Además, depende de la naturaleza química del analito, la composición y la velocidad de flujo de la fase móvil, así como de la composición y el área de la fase estacionaria. La longitud de la columna es un parámetro determinante de la resolución, solo los compuestos que tienen diferentes factores de capacidad pueden ser separados por HPLC (Valcárcel y Gómez, 1988).

En cuanto a la instrumentación utilizada en la cromatografía líquida de alta presión, el equipo tiende a ser más caro y sofisticado que otros equipos empleados en otros tipos de cromatografía, debido a que requiere altas presiones para obtener buenos resultados en los análisis efectuados, además de contar con partículas muy finas como fase estacionaria para lograr una separación eficiente de los compuestos por analizar.

Un cromatógrafo de líquidos consta de:

Uno o más recipientes que contienen la fase móvil.

Un sistema de desgasificación de la fase móvil.

Una bomba para forzar el paso de la fase móvil a través del sistema de alta presión.

Un inyector para introducir la muestra en la fase móvil (ya sea manual o automático).

Una columna cromatográfica en la cual se realiza la separación de los componentes.

Un detector para censar los solutos.

Un dispositivo de recolección de datos como por ejemplo una computadora, un integrador o un registrador.

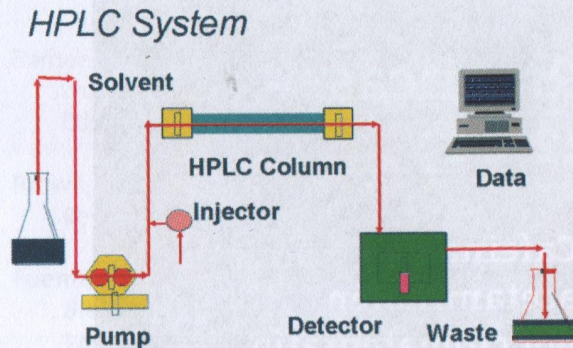


Figura 18. Esquema básico de un HPLC.

Un aparato moderno de HPLC está equipado con uno o más recipientes de vidrio o de acero inoxidable, cada uno de los cuales contiene de 200 a 1000 mL de un disolvente. Los recipientes a menudo se equipan con un sistema para eliminar los gases disueltos (en general oxígeno y nitrógeno), los cuales interfieren al formar burbujas en la columna y en los sistemas de detección; un desgasificador puede consistir en un sistema de bombeo por vacío o sistemas de purga que permiten arrastrar los gases disueltos fuera de la solución mediante finas burbujas de un gas inerte de baja solubilidad.

Además, es necesaria la filtración de los disolventes y las muestras para eliminar partículas en suspensión y así evitar que se dañen componentes

importantes del equipo, tales como la bomba, los sistemas de inyección o que se obstruya la columna (Skoog *et al*, 2001).

Los sistemas de bombeo de HPLC administran cantidades exactas de fase móvil desde los recipientes hasta la columna mediante una tubería y uniones adecuadas para altas presiones. Los sistemas modernos constan de una o varias bombas reguladoras controladas por computadora, que pueden programarse para variar la relación entre los componentes de la fase móvil según se requiera, para la cromatografía en gradiente o para mezclar la fase móvil en corridas isocráticas (fases móviles que tienen una composición fija de disolventes).

Las presiones operativas son típicamente de hasta 5000 psi o más, con velocidades de flujo de hasta 10 mililitros por minuto (mL/min). Las bombas empleadas para el análisis cuantitativo deben construirse con materiales inertes a los componentes corrosivos de la fase móvil y ser capaces de bombear la fase móvil a una velocidad constante, con fluctuaciones mínimas, durante periodos prolongados (Farmacopea, 2007, p. 272).

Después de ser disueltos en la fase móvil u otro disolvente apropiado, los compuestos por analizar por cromatografía de HPLC, se inyectan en la fase móvil, ya sea manualmente usando jeringas o

inyectores de espiral, o bien, de forma automática mediante el uso de inyectores automáticos:

Se puede emplear una jeringa para la inyección manual de muestras a través de un septo, cuando las presiones en la parte superior de la columna sean menores de 70 atmósferas (aproximadamente 1000 psi), con presiones mayores es indispensable utilizar una válvula de inyección. Algunos sistemas de válvula poseen un espiral calibrado que se llena con solución de muestra para transferirla a la columna en la fase móvil. En otros sistemas, la solución de muestra se transfiere a una cavidad por medio de una jeringa y luego se transfiere a la fase móvil (Farmacopea, 2011, p. 272).

La utilización de las columnas en HPLC se emplea de la siguiente manera: para la mayoría de los análisis farmacéuticos la separación se logra por la partición de los compuestos presentes en la solución de prueba entre la fase móvil y la estacionaria; los sistemas que constan de fases estacionarias polares y fases móviles no polares se describen como de fase normal, por el contrario, cuando se emplean fases móviles polares y fases estacionarias no polares se denomina cromatografía en fase reversa.

La afinidad de un compuesto por la fase estacionaria y, por consiguiente, su tiempo de retención en la columna se controla mediante la polaridad de la fase móvil, la cual se puede variar al utilizar uno o más disolventes (Skoog, 2001).

Las fases estacionarias para la moderna cromatografía de líquidos en fase reversa constan normalmente de una fase orgánica químicamente unida a sílice u otros materiales, las partículas son generalmente de 3  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Las partículas pequeñas recubiertas con una capa delgada de fase orgánica proporcionan una baja resistencia a la transferencia de masa y, por lo tanto, se obtiene una transferencia rápida de los compuestos entre la fase estacionaria y la móvil. La polaridad de la columna depende de la polaridad de los grupos funcionales unidos, que varía desde el octadecilsilano relativamente no polar a grupos nitrilo muy polares (Farmacopea, 2007, p. 272).

Por lo general, las columnas empleadas para las separaciones analíticas tienen diámetros internos de 2 mm a 5 mm; las columnas cortas de diámetro interior pequeño que contienen un relleno denso de partículas de fase estacionaria permiten un intercambio rápido de compuestos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Las columnas pueden calentarse para proporcionar separaciones más

eficaces pero rara vez se utilizan a temperaturas mayores a 60 °C, debido a la potencial degradación de la fase estacionaria o a la volatilidad de la fase móvil, por tal motivo, generalmente las columnas se utilizan a temperatura ambiente.

En muchas ocasiones para aumentar la vida de la columna analítica, se coloca delante una precolumna que elimina no solo la materia en suspensión y los contaminantes de los disolventes, sino también componentes de la muestra que se unen irreversiblemente a la fase estacionaria:

Además, en cromatografía líquido-líquido, la precolumna sirve para saturar la fase móvil con la fase estacionaria y así minimizar las pérdidas de esta en la columna analítica. La composición del relleno de la precolumna debería ser semejante al de la columna analítica; sin embargo, el tamaño de partícula es por lo común mayor para minimizar la caída de presión. Cuando la precolumna se contamina se vacía y se rellena de nuevo o se reemplaza por otra nueva del mismo tipo. Así, la precolumna se sacrifica para proteger a la columna analítica, la cual es de mayor valor económico (Skoog et al, 2001, p. 793).

La técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución emplea distintos tipos de detectores entre los que se encuentran los detectores espectrofotométricos:

Este tipo consta de una celda de flujo colocada en el extremo de la columna; un haz de radiación UV pasa a través de la celda de flujo y se introduce en el detector, a medida que los compuestos eluyen de la columna, pasan a través de la celda y absorben la radiación, lo que da lugar a cambios cuantificables en el nivel de energía (Farmacoepa, 2011, p. 273).

Puede obtenerse con facilidad detectores de longitud de onda fija, variable y múltiple, los primeros operan a una sola longitud de onda, habitualmente a 254 nm, emitida por una lámpara de mercurio de baja presión.

Los detectores de longitud de onda variable contienen una fuente de luz continua, como una lámpara de deuterio o de xenón de alta presión y un monocromador o un filtro de interferencia para generar radiación monocromática a una longitud de onda seleccionada por el operador. Los detectores modernos de longitud de onda variable pueden programarse para cambiar la longitud de onda mientras un análisis está en curso (Skoog et al, 2001).

Los detectores de longitudes de onda múltiple miden la absorbancia a dos o más longitudes de onda simultáneamente. En los detectores múltiples de conjunto de diodos, la radiación continua pasa a través de la celda, luego la radiación se resuelve en las longitudes de onda que la constituyen, dichas

longitudes son detectadas una por una mediante el conjunto de fotodiodos:

Estos detectores adquieren los datos de absorbancia a lo largo del intervalo total UV-Visible, proporcionan cromatogramas a múltiples longitudes de onda seleccionadas y espectros de los picos eluidos. Los detectores de conjunto de diodos tienen, generalmente, menor relación señal-ruido que los detectores de longitud de onda fija o variable y por lo tanto, son menos aptos para el análisis de compuestos presentes a bajas concentraciones (Farmacoepa, 2007).

Existen además otros detectores, como los de refractometría diferencial, que miden la diferencia entre el índice de refracción de la fase móvil sola y el de la fase móvil que contiene los compuestos analizados por cromatografía a medida que salen de la columna, estos detectores son empleados en análisis de compuestos que no absorben radiación UV, pero son menos sensibles que los detectores UV.

Los detectores fluorométricos son sensibles a los compuestos que son inherentemente fluorescentes o que pueden convertirse en derivados fluorescentes mediante la transformación química del compuesto o mediante el acoplamiento de reactivos fluorescentes con grupos funcionales específicos. Por último, los detectores electroquímicos, potenciométricos,

voltamétricos o polarográficos son útiles para la cuantificación de las especies que pueden oxidarse o reducirse en un electrodo de trabajo. Tales detectores son selectivos, sensibles y confiables, pero requieren que las fases móviles estén libres de oxígeno disuelto y de iones metálicos reducibles (Skoog, West y Holle, 1997).

En cuanto a los dispositivos de recolección de datos empleados, las estaciones de datos modernas reciben y almacenan la señal de los detectores e imprimen el cromatograma completo con las alturas y las áreas de los picos, la identificación de la muestra y las variables del método. Se emplean también para programar la cromatografía de líquidos, al controlar la mayoría de las variables y proporcionar periodos largos de operación sin necesidad de supervisión.

Como factores por considerar en la técnica de cromatografía líquida de alta presión están que la composición de la fase móvil influye significativamente en el desempeño cromatográfico y en la resolución de los compuestos de la mezcla que se está analizando. Para el trabajo cuantitativo exacto deben emplearse reactivos de alta pureza y disolventes orgánicos de "grado HPLC", el agua debe ser de alta calidad, con una conductividad baja y una absorción UV baja, adecuadas para el uso previsto (Skoog, West y Holler, 1997).

## Procedimiento 12

### Análisis de cafeína en bebidas energéticas por HPLC

1. Prepare una solución madre de cafeína a 100 mg/L en agua, a partir de cafeína pura.
2. Prepare la curva de calibración de cafeína, según el siguiente cuadro:

Cuadro 16. Diluciones para curva de calibración de cafeína

Solución Madre	Patrón #	Alicuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
100 mg/L	1	0,50	25,00	2,00
	2	1,00	25,00	4,00
	3	1,50	25,00	6,00
	4	2,00	25,00	8,00
	5	2,50	25,00	10,00
	6	3,00	25,00	12,00

1. Consulte el etiquetado de cafeína en el refresco por analizar y proponga la dilución correspondiente en balones aforados de 10 mL o 25 mL, con el fin de

hacer coincidir la concentración teórica esperada con la curva de calibración propuesta. Recuerde eliminar el gas del refresco antes de tomar la alícuota.

2. Filtre las muestras con filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  e inyecte en el HPLC tanto los patrones como las muestras, con las siguientes condiciones de trabajo:

Cuadro 17. Condiciones HPLC para análisis de cafeína

Tipo Cromatografía	Fase Reversa
Columna	C-18, 250 x 4.6 mm, 5 $\mu$ .
Temperatura	Ambiente
Detector	UV-Vis
Longitud de onda	275 nm
Bomba	Cuaternaria
Fase móvil	H <sub>2</sub> O/MeOH (60:40)
Desgasificador	De Vacío
Flujo	1 mL/min
Inyector	Manual
Inyección	20 $\mu\text{L}$

Nota: Realice ajustes si es necesario.

1. Grafique y cuantifique con la línea de mejor ajuste.

### Calcule

- El contenido en mg de cafeína en el refresco y su incertidumbre.
- Porcentaje de lo etiquetado (% experimental / % etiquetado x 100).
- Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

### Procedimiento 13

#### Análisis de acetaminofén por HPLC

- Prepare una solución madre de acetaminofén a 100 mg/L en agua, a partir del patrón de pureza conocida.
- Prepare la curva de calibración de acetaminofén, según el siguiente cuadro:

Cuadro 18. Diluciones para curva de calibración de acetaminofén

Solución Madre	Patrón #	Alícuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
100 mg/L	1	1,00	25,00	2,00
	2	2,00	25,00	8,00
	3	3,00	25,00	12,00
	4	4,00	25,00	16,00
	5	5,00	25,00	20,00
	6	6,00	25,00	24,00

1. Consulte el etiquetado de acetaminofén en el producto por analizar y proponga el procedimiento correspondiente. Utilice para la dilución final, balones aforados de 10 mL o 25 mL con el fin de hacer coincidir la concentración teórica esperada con la curva de calibración propuesta.

2. Filtre las muestras con filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  e inyecte en el HPLC tanto los patrones como las muestras bajo las siguientes condiciones de trabajo:

Cuadro 19. Condiciones HPLC para análisis de acetaminofén

Tipo Cromatografía	Fase Reversa
Columna	C-18, 150 x 4.6 mm, 5 $\mu$ .
Temperatura	Ambiente
Detector	UV-Vis
Longitud de onda	242 nm
Bomba	Cuaternaria
Fase móvil	H <sub>2</sub> O/ACN (85:15)
Desgasificador	De Vacío
Flujo	1 mL/min
Inyector	Manual
Inyección	20 $\mu\text{L}$

Nota: Realice ajustes si es necesario.

1. Grafique y cuantifique con la línea de mejor ajuste.

### Calcule

- El contenido en mg de acetaminofén en el medicamento y su incertidumbre.
- Porcentaje de lo etiquetado (% experimental / % etiquetado x 100).
- Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

## Referencias

- The United States Pharmacopeia Convention. USP 30 - NF 25 (2007). *Farmacopea de los Estados Unidos de América*. Rockville, Maryland: The United States Pharmacopeial Convention.
- The United States Pharmacopeia Convention. USP 38 - NF 33 (2016). *Farmacopea de los Estados Unidos de América*. Rockville, Maryland: The United States Pharmacopeial Convention.
- Harris, D. (1992). *Análisis químico cuantitativo*. México: Editorial Iberoamericana.
- Rubinson, K. y Rubinson, J. (2001). *Análisis instrumental*. Madrid: Editorial Pearson Education S.A.
- Schenk, G; Hahn, R. y Hartkopf, A. (1984). *Química analítica cuantitativa*. México: Editorial Continental.
- Skoog, D; Holler, F. y Nieman, T. (2001). *Principios de análisis instrumental*. 5ª ed. Madrid: Editorial Mc Graw-Hill.
- Skoog, D., West, D. y Holler, F. (1997). *Fundamentos de Química Analítica*. Barcelona: Editorial Reverté.
- Valcárcel, M. y Gómez, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. España: Reverte.
- Willard, H; Meritt, L; Dean, J. y Settle, F. (1991). *Métodos instrumentales de análisis*. México: Editorial Iberoamericana.

# Prácticas 14 y 15

## Cloruros y sodio por cromatografía de iones

### Fundamento

La cromatografía de iones o de intercambio iónico, es una variante de la técnica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), esta a diferencia de las demás cromatografías, proporciona un mayor grado de selectividad, debido a que se pueden utilizar una mayor cantidad de combinaciones de fase móvil, al cambiar la relación de flujos y su presión, además de varios tipos de resina en la fase estacionaria. Por ese motivo es muy utilizada para la determinación de aniones y cationes inorgánicos y de sustancias orgánicas que contengan estos, como grupos funcionales como por ejemplo algunos aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos (Gennaro, 2003).

Esta técnica se basa en la interacción de los iones de la muestra, con una columna de intercambio iónico, dicha columna está constituida por un sólido o soporte en el cual están enlazados químicamente grupos funcionales cargados electrostáticamente, los cuales pueden ser sustituidos por los iones de la muestra problema. Las moléculas de la muestra son “adsorbidas” de forma reversible, por la columna de intercambio iónico, lo cual genera una retención y por tanto, separación de los diferentes componentes (Freifelder, 1981).

Una vez que se da la partición de los compuestos de la muestra, estos pasan por un detector que puede ser un conductimétrico, amperométrico, detector UV... donde se registra y se cuantifica la señal obtenida respecto al tiempo de retención del analito. El *software* muestra los resultados en forma de cromatogramas, donde la posición máxima del pico indica el ion presente (carácter cualitativo) y su área o altura, indican la cantidad de dicho ion que se encuentra presente en la muestra (carácter cuantitativo) (Voet y Voet, 2006).

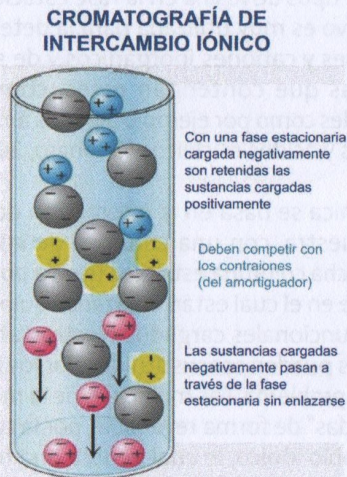


Figura 19. Principio fisicoquímico de la técnica cromatografía de iones.

La cromatografía de iones se subdivide a su vez en la cromatografía de intercambio catiónico y cromatografía de intercambio aniónico.

En la cromatografía de intercambio catiónico, la columna cuenta con grupos funcionales cargados negativamente (ver figura 19), por lo que se da la retención de los iones con cargas positiva o cationes (García, Quintero y López, 1993).

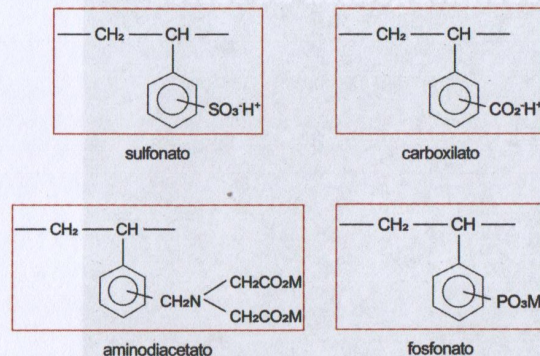


Figura 20. Resinas aniónicas (intercambio catiónico).

En la cromatografía de intercambio aniónico, la columna cuenta con grupos funcionales cargados positivamente (ver figura 20), por lo que se da la retención de los iones con cargas negativas o aniones (García, Quintero, y López, 1993).

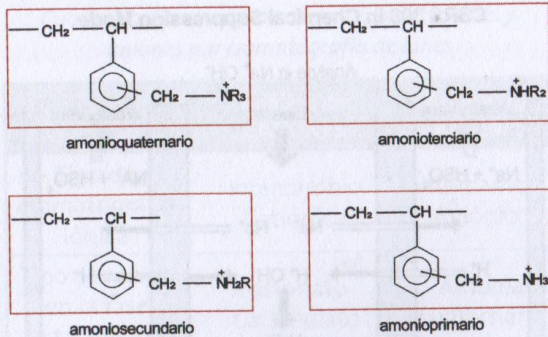


Figura 21. Resinas catiónicas (intercambio aniónico).

## » Parámetros de análisis de cationes

**Fase móvil:** ácido metanosulfónico.

**Columna:** resina constituida por una estructura de divinilbenceno (DVB) y una mezcla de grupos funcionales, fosfonato y carboxilo (grupos de carga negativa), que son los precursores de la adsorción de los cationes de la muestra, para generar una detección por conductividad suprimida.

**Supresor:** ayuda a que se dé la detección sin interferencia de los iones que efluyen y llegan al detector ya que los detectores conductimétricos son muy sensibles. En la detección por conductividad suprimida se da la disminución de la conductividad

en la fase móvil, aumentando por tanto, la conductividad del ion que se quiere analizar. Esto se logra gracias al sistema de supresión en modo de auto-supresión por reciclaje. Dicho sistema está constituido por dos cámaras de regeneración, por las que pasa un flujo de hidróxido de tertbutilamonio, que al entrar en contacto con la fase móvil (gracias a una membrana de intercambio iónico), hace que se produzca la hidrólisis del hidróxido, intercambiando sus grupos (OH<sup>-</sup>), por los grupos metanosulfonatos de la fase móvil, lo que induce a la formación de agua y la disminución de la conductividad de la fase móvil; el agua formada arrastra el analito hacia el detector, el efluente pasa a través del detector y retorna al supresor para propiciar un nuevo intercambio de forma inversa y así, lograr la regeneración en las cámaras del supresor (Cruces, 1998).

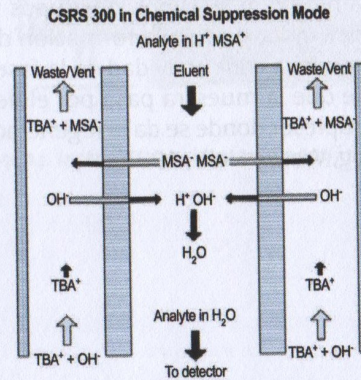


Figura 22. Supresor para análisis de cationes.

» **Análisis de aniones**

**Fase móvil:** carbonato de sodio / bicarbonato de sodio.

**Columna:** resina constituida por una estructura de divinilbenceno (DVB) y fijada a esta, grupos funcionales de amonio cuaternario (grupos de carga positivo), que son los precursores de la adsorción de los aniones de la muestra para generar una detección por conductividad suprimida.

**Supresor:** de igual manera, se da gracias al sistema de supresión por modo de auto-supresión por reciclaje. El supresor está formado por dos cámaras de regeneración por las cuales pasa ácido sulfúrico, que genera la hidrólisis del ácido, para intercambiar sus grupos hidronios ( $H^+$ ) por los grupos  $Na^+$  de la fase móvil, induciendo a la formación de agua y disminuyendo la conductividad de la fase móvil. Después de que la muestra pasa por el detector, retorna al supresor donde se da la regeneración del ácido (Skoog, West y Holle, 1997).

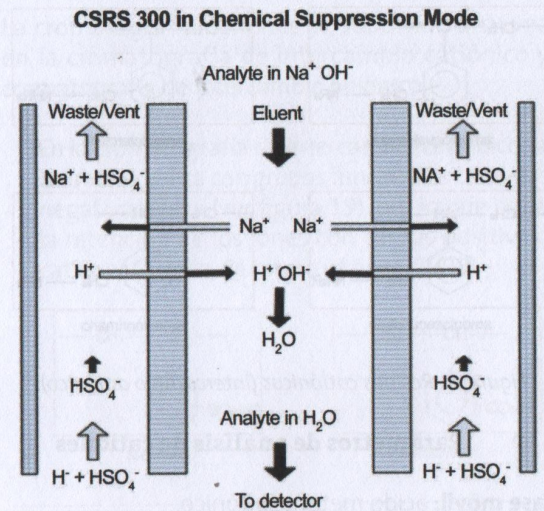


Figura 23. Supresor para análisis de aniones.

Cuadro 20. Comparación de análisis de cationes y aniones por cromatografía de iones

	Análisis de CATIONES	Análisis de ANIONES
Tipo de cromatografía iónica	Intercambio Catiónico	Intercambio Aniónico
Tipo de resina en la fase estacionaria	Fosfonato-Carboxilato	Amonia cuaternaria
Fase móvil utilizada	Ácido metanosulfónico 20 mM	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ 4.5mM / $\text{NaHCO}_3$ 0.8mM
Supresor utilizado	TBAOH	$\text{H}_2\text{SO}_4$
Corriente aplicada	59 mA	25 mA

### » Potencial analítico de la cromatografía iónica

**Aniones inorgánicos y orgánicos:** fluoruros, cloruros, nitritos, bromuros, nitratos, fosfatos, sulfatos, bromatos, cloritos, cloratos, acético, cítrico, tartárico, láctico, sórbico, benzoico.

**Cationes:** sodio, amonio, potasio, calcio, magnesio, litio, carbonato, etc.

**Azúcares y polialcoholes:** monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, polisacáridos.

### » Aplicaciones

Agua de consumo, sueros, bebidas, productos cárnicos, productos vegetales, alimentos.

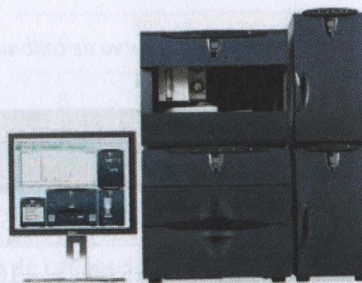


Figura 24. Instrumento de cromatografía de iones.

## Procedimiento 14

**Análisis de cloruros en sal de mesa por cromatografía de iones**

1. Prepare una solución madre de cloruros a 125 mg/L en agua ultra pura, a partir de cloruro de sodio puro.
2. Prepare la curva de calibración de cloruros y disuelva en agua ultra pura, según el siguiente cuadro:

Cuadro 21. Diluciones para curva de calibración de cloruros

Solución Madre	Patrón #	Alicuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
125 mg/L	1	1,00	25,00	5,00
	2	2,00	25,00	10,00
	3	3,00	25,00	15,00
	4	4,00	25,00	20,00
	5	5,00	25,00	25,00
	6	6,00	25,00	30,00

1. Prepare por triplicado las muestras del producto comercial en estudio, de manera que obtenga una concentración teórica de cloruros dentro del rango de la curva de calibración.

2. Filtre las muestras con filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ , coloque en los viales del equipo e inyecte en el ICS tanto patrones como muestras, con las siguientes condiciones de trabajo:

Cuadro 22. Condiciones ICS para análisis de cloruros

Tipo Cromatografía	Intercambio iónico
Columna	Dionex IonPac™ AS23, 4x250 mm
Temperatura	30°C
Detector	Conductimétrico
Corriente y supresor	25 mA, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Bomba	Cuaternaria
Fase móvil	4.5 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /0.8 mM NaHCO <sub>3</sub>
Desgasificador	De Vacío
Flujo	1 mL/min
Inyector	Automático
Inyección	25 $\mu\text{L}$

**Calcule**

- a. Miligramos de cloruros por paquete de sal y su incertidumbre.
- b. Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

**Procedimiento 15****Análisis de sodio en sal de mesa por cromatografía de iones**

1. Prepare una solución madre de sodio a 81 mg/L en agua ultra pura, a partir de cloruro de sodio puro.
2. Prepare la curva de calibración de sodio y disuelva en agua ultra pura, según el siguiente cuadro:

Cuadro 23. Diluciones para curva de calibración de sodio

Solución Madre	Patrón #	Alícuota (mL)	Balón (mL)	Concentración (mg/L)
	1	1,00	25,00	3,24
	2	2,00	25,00	6,48
81 mg/L	3	3,00	25,00	9,72
	4	4,00	25,00	12,96
	5	5,00	25,00	16,20
	6	6,00	25,00	19,44

1. Prepare por triplicado, las muestras del producto comercial en estudio, de manera que obtenga una concentración teórica de sodio dentro del rango de la curva de calibración.
2. Filtre las muestras con filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ , coloque en los viales del equipo e inyecte en el ICS tanto patrones como muestras, con las siguientes condiciones de trabajo:

Cuadro 24. Condiciones ICS para análisis de sodio

Tipo Cromatografía:	Intercambio iónico
Columna:	Dionex IonPac™ CS12A, 4x250 mm
Temperatura:	Ambiente
Detector:	Conductimétrico
Corriente y supresor:	59 mA, TBAOH
Bomba:	Isocrática
Fase móvil:	Ácido metanosulfónico 20 mM
Desgasificador:	De Vacío
Flujo:	1 mL/min
Inyector:	Automático
Inyección:	25 µL

Nota: Realice ajustes si es necesario.

1. Grafique y cuantifique con la línea de mejor ajuste.

### Calcule

- a. Miligramos de sodio por paquete de sal y su incertidumbre.
- b. Promedio, DS, DSR%, DAP y DRP en ppmil.

### Referencias

- Cruces, C. (1998). *Electroforesis capilar*. Almería: Universidad Almería.
- Freifelder, D. (1981). *Técnicas de bioquímica y biología molecular*. San Francisco, U.S.A: Reverte.
- García, M; Quintero, R. y López, A. (1993). *Biología alimentaria*. México: Editorial Limusa.
- Gennaro, A. (2003). *Remington: Farmacia*. 20ª ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana.
- Skoog, D; West, D. y Holle, J. (1997). *Fundamentos de química analítica II*. 4ª ed. 720-723. Reverte
- Voet, D y Voet, J. (2006). *Bioquímica*. 3ª ed. Uruguay: Ed. Médica Panamericana.

## Práctica 16

### Ensayo de disolución en tabletas de dimenhidrinato

#### Fundamento

La disolución es el proceso mediante el cual una sustancia sólida entra en contacto con un solvente, para alcanzar un grado de dispersión que le permita mezclarse y formar una disolución. El ensayo de disolución está diseñado para evaluar la disolución de fármacos sólidos presentes en formas dosificadas sólidas que usualmente se presentan como dosis unitarias, pero que en los últimos años, su uso se ha ampliado a otras formas farmacéuticas (Baudrit, 2010).

El proceso de disolución de un fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida, principalmente de administración oral, está compuesto por varios subprocesos, entre los que se pueden mencionar: la disgregación de la forma agregada, la disolución del fármaco en el medio y también, si el medicamento se le ha administrado a un organismo vivo, asimismo, se debe considerar la difusión del principio activo en disolución hacia el lugar de absorción. De todos los procesos mencionados, la velocidad de disolución del fármaco es el que se considera como el más importante de todos, debido a que define la liberación del principio activo y por ende, la absorción del fármaco por las células del cuerpo (Doménech, Lauroba, Berrozpe, Calpena, Colom, Escribano, Peraire, Boix, Díez, 2005).

Por otra parte, el registro de nuevas formulaciones o reformulaciones de productos establecidos, de conformidad con las autoridades pertinentes, requiere estudios de velocidad de disolución del fármaco que contiene la forma de dosificación problema, tanto en formas farmacéuticas sólidas como en las suspensiones. Dichos estudios son importantes, especialmente cuando se trata de fármacos poco solubles en agua, con la finalidad de que se pueda comprobar que, bajo las condiciones establecidas para el ensayo, los productos cumplen las especificaciones establecidas. No obstante, los ensayos de velocidad de disolución no solo son importantes para que la disolución del fármaco se produzca dentro de los límites establecidos, sino que, también ayudan a estudiar la cinética asociada a la liberación del principio activo o permiten realizar estudios de bioequivalencia de fármacos (Hernández, Moreno, Zaragoza y Porras, 2010).

De esta forma, los ensayos de disolución constituyen una estimación previa sobre si la biodisponibilidad del fármaco, es decir, la magnitud y la velocidad de absorción, es la adecuada para el paciente, ya que la absorción del fármaco por las células está limitada por la fracción de la dosis que se haya liberado en el medio donde tiene lugar dicho proceso de absorción.

Es por ello que, la mayor parte de las farmacopeas exigen realizar estudios de velocidad de disolución

de diferentes lotes de formas farmacéuticas, que se presentarán como formas sólidas de administración oral (Doménech et al, 2005).

Para realizar el ensayo de disolución, la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) define diferentes configuraciones para los equipos utilizados en el ensayo y los cataloga según la configuración con la que trabajan, de la siguiente forma:

- » Aparato 1: con canastas rotatorias.
- » Aparato 2: con paletas.
- » Aparato 3: con paletas sobre discos.
- » Aparato 4: con cilindros.
- » Aparato 5: con discos recíprocos.
- » Aparato 6: con flujo de celda.
- » Aparato 7: con cilindros recíprocos.

Es esta práctica se utilizará el Aparato 2, cuya configuración consta de un vaso, el cual puede estar recubierto o hecho de vidrio o algún otro material transparente e inerte, un motor y un eje metálico unido a una paleta que funciona como elemento de agitación. El vaso debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua de tamaño adecuado o cubierto por un dispositivo térmico como una manta de calentamiento. Tanto el baño de agua o el dispositivo térmico permiten que la temperatura del vaso se

mantenga a  $37 \pm 0.5$  °C, para ello, en caso del baño, se mantiene un flujo suave y constante del agua, mediante recirculación. El vaso debe ser cilíndrico, con el fondo redondeado y con capacidades que pueden ser de: 1 L, de 2 L y de 4 L, además, a los vasos se les suele colocar una tapa, para retardar la evaporación. El vaso utiliza un dispositivo de regulación de velocidad, el cual permite que la velocidad de rotación del eje y por ende, de la paleta, se pueda seleccionar y mantener constante; el valor está definido en cada monografía. La paleta se debe colocar de forma tal que se mantenga centrado y sin tambalearse significativamente, además, se debe ajustar su altura a  $25 \pm 2$  mm desde el fondo del vaso (USP 39, 2016).

## Procedimiento 16

### Ensayo de disolución de tabletas de dimenhidrinato

Para las tabletas de dimenhidrinato corresponde un valor Q (principio activo disuelto) de un 75%. Para la prueba, aplique el criterio de aceptación a este valor Q.

**1.** Prepare el equipo de disolución con las siguientes condiciones:

- » Medio de disolución: agua.
- » Temperatura del medio: 37 °C.
- » Volumen de disolución: 900 mL.
- » Configuración del aparato: 2.
- » Velocidad de agitación: 50 rpm.
- » Tiempo de agitación: 45 minutos.

**2.** Mida el volumen del medio de disolución indicado y deposítelo en cada cubeta del disolutor. Para medir el volumen con mayor exactitud, utilice un balón aforado de 1000 mL y retire 100 mL con pipeta, de no ser que se indique una forma alternativa.

**3.** Deje que el equipo se estabilice a las condiciones del ensayo, hasta que se alcance la temperatura programada (aproximadamente una hora). Monitoree que la temperatura del medio en cada vaso de disolución sea la indicada.

4. Cuando se alcance la temperatura, coloque las tabletas en los vasos de manera simultánea e inicie la agitación.

5. Mientras las muestras se están ensayando, consulte el etiquetado de su muestra y realice los cálculos necesarios para preparar una disolución estándar con una concentración de dimenhidrinato conocida y que sea similar a la de su muestra al terminar el ensayo. Para ello utilice el mismo medio de disolución.

6. Después de 45 minutos, al detenerse las paletas y con la ayuda de una jeringa, tome una muestra desde el puerto de muestreo correspondiente al primer vaso y coloque la disolución en un recipiente adecuado, posterior a homogenizar con unos 10 mL de muestra. Repita este procedimiento en cada uno de los canales de succión de muestra.

7. Determine la cantidad de dimenhidrinato disuelto, al utilizar absorción ultravioleta (UV) sobre porciones filtradas de la disolución ensayada y compare con el estándar la longitud de onda de máxima absorbancia para la molécula, que es de aproximadamente 276 nm.

8. El criterio de aceptación para la prueba indica que la cantidad disuelta al término de los 45 minutos no puede ser menor que  $Q + 5\%$ , para cada tableta (USP 39, 2016).

## Calcule

- Miligramos de dimenhidrinato disueltos y su incertidumbre.
- Porcentaje de lo etiquetado disuelto por tableta.
- Promedio, DS, DSR%.

## Referencias

- Baudrit, O. (2010). *Análisis de medicamentos II*. Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Doménech, J; Lauroba, J; Calpena, A; Colom, H; Escribano, E; Peraire, C; Boix, A. y Díez, I. (2005). *Prácticas de Biofarmacia I Farmacocinética*. Universidad de Barcelona. Barcelona, España.
- Hernández, G; Moreno, A; Zaragoza, F. y Porras, A. (2010). *Tratado de Medicina Farmacéutica*. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
- US Pharmacopoeia. (2016). *The Official Compendia of Standards. USP39/NF34*. The United States Pharmacopoeial Convention. USA.

## Práctica 17

### Espectroscopía de absorción infrarroja (IR)

Cozzolino (2002) indica que la aplicación de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) se emplea desde la década del 70 en la industria de alimentos, farmacia y petroquímica. Es una técnica rápida, no destructiva ni contaminante, de gran exactitud siempre que se sigan los procedimientos adecuados.

Por su parte Castellanos (2012) se refiere a que la espectroscopía de absorción infrarroja (IR) estudia la interacción de la materia con la luz infrarroja del espectro electromagnético. Esta región está comprendida entre los 780 nm y los  $1 \times 10^6$  nm y se divide en tres: IR cercano (780 - 2500 nm), IR medio (2500 -  $50 \times 10^3$  nm) y el IR lejano ( $50 \times 10^3$  -  $1 \times 10^6$  nm), cada una de las tres regiones se utilizan de manera distinta. Los espectrofotómetros que se construyen para trabajar en la región del IR cercano son similares a los equipos diseñados para la absorción en la región del ultravioleta visible en cuanto a diseño y componentes.

La interacción produce una serie de vibraciones a escala molecular, desde el estado basal vibracional hasta estados excitados vibracionales. Las moléculas siempre presentarán vibraciones e incluso a temperaturas cercanas a los 0 K, por lo cual su energía vibratoria nunca llegará a ser nula, a diferencia de

la energía electrónica del estado basal cuya energía sí puede tomar el valor de cero (Castellanos, 2012).

El espectro de vibración de una molécula se considera como una característica física única en cada molécula. El espectro infrarrojo se puede utilizar como una huella digital para su identificación, por comparación del espectro de una sustancia desconocida con espectros de referencia previamente almacenados en una base de datos de un ordenador. En la ausencia de una base de datos de referencia adecuada, es posible efectuar una interpretación básica del espectro de los primeros principios, que conduzcan a la caracterización y una posible identificación de una muestra desconocida (Castellanos, 2012).

Según Jiménez y López (2011) la espectroscopía en el infrarrojo cercano se ha convertido en una técnica importante para determinaciones rutinarias, debido a que es uno de los métodos más rápidos para el análisis químico de muestras, siendo el rango de aplicación la industria petroquímica en el control de calidad del bioetanol y del biodiesel; la industria farmacéutica, tanto para la verificación de la materia prima como para la determinación de ingredientes activos en el producto final, y la industria de alimentos. En la espectroscopía de reflectancia el infrarrojo cercano (NIRS) se trabaja en una región del espectro en la cual las muestras observan una baja absorción, esta permite que la radiación infrarroja

penetre muestras sin preparación, modificación o dilución; por ello esta técnica se caracteriza por ser no destructiva, no contaminante, rápida y por permitir la determinación simultánea de varios compuestos. El desarrollo de esta técnica para análisis cuantitativo estuvo limitado debido a la complejidad de los espectros obtenidos y a las interferencias espectrales que se presentan, este inconveniente fue superado. Con el desarrollo de la quimiometría emplearon mínimos cuadrados parciales (PLS) para determinar benzoato de sodio, 2-propanol, 1,2-propanodiol, glicol de polipropileno, y glicerol en detergente comercial. El modelo PLS creado en la calibración les dio excelentes resultados. También se ha aplicado NIRS para determinación de lauril sulfato de sodio y triclosan en crema dental comercial, obteniendo buenos resultados.

Pesez y Bartos (1974) se refieren a la importancia de la espectroscopía infrarroja como técnica complementaria de la difracción por Rayos X en la identificación de minerales y a cómo ha crecido notablemente en los últimos diez años. Esta técnica puede dar una "huella dactilar" de un mineral al detectar sus características únicas, sin embargo, la mayor dificultad que se encuentra en la técnica de la espectroscopía de infrarrojo es la localización de espectros de referencia acreditados, de diferentes minerales en la bibliografía. Han aparecido algunos muy buenos espectros a través de publicaciones

internacionales, pero a veces son difíciles de localizar o se requiere emplear mucho tiempo para ello.

## Fundamento

### » Espectroscopia del infrarrojo cercano (NIR)

La región del infrarrojo cercano comprende aproximadamente las longitudes de onda entre 750 y 2500 nm (Conley, 1972). Dentro de sus beneficios se destaca que es una técnica no destructiva, rápida, que requiere poco tiempo de preparación de muestra, no es invasiva y su aplicación es muy amplia (Alcalá, 2006).

### » Teoría de la espectrometría de absorción en el infrarrojo

A diferencia de la radiación ultravioleta visible, la radiación infrarroja no tiene la suficiente energía para ocasionar transiciones electrónicas, por esta razón, la radiación infrarroja de acuerdo con Skoog, Holler y Crouch (2008), “se limita en gran parte a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales” (p. 431). Para absorber la radiación, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar cuando vibra o gira. Bajo estas circunstancias, la molécula puede interactuar con el campo eléctrico alternante de la radiación y como es de esperarse, modificar la amplitud de algunos de sus movimientos. Según los autores ya mencionados,

Cuadro 25. Regiones del espectro infrarrojo

Región	Longitud de onda ( $\mu\text{m}$ )	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Frecuencias (Hz)
Cercano	0.78 a 2.5	12800 a 4000	$3.8 \times 10^{14}$ a $1.2 \times 10^{14}$
Medio	2.5 a 50	4000 a 200	$1.2 \times 10^{14}$ a $6.0 \times 10^{12}$
Lejano	50 a 1000	200 a 10	$6.0 \times 10^{12}$ a $3.0 \times 10^{11}$
La más utilizada	2.5 a 15	4000 a 670	$1.2 \times 10^{14}$ a $2.0 \times 10^{13}$

Fuente: Skoog, Holler y Crouch (2008).

“si la frecuencia de la radiación coincide exactamente con la frecuencia de vibración natural de la molécula, tiene lugar la absorción de la radiación, lo cual origina un cambio en la amplitud de la vibración molecular” (Skoog, Holler y Crouch, 2008, p. 342).

Por lo anterior, para que las especies moleculares absorban radiación del infrarrojo, estas deben 1) tener un momento dipolar, 2) ser asimétricas, y 3) tener una frecuencia de vibración natural igual a la frecuencia de la radiación.

### » Espectroscopía en el infrarrojo cercano

Rango, alrededor de 770 nm a 2500 nm (de 13000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) (Skoog, Holler y Crouch, 2008).

Los enlaces afectados en este rango del espectro son C – H, N – O y N – H.

Absortividades molares pequeñas y límites de detección de orden de 0.1%.

Se emplea para determinaciones cuantitativas de especies y no de pruebas cualitativas de identificación (Skoog, Holler y Crouch, 2008).

### » Instrumentación

Existen tres tipos de instrumentos para medir la absorción en el espectro infrarrojo:

- » Espectrofotómetros dispersivos con monocromador de red.
- » Espectrómetros de transformada de Fourier con interferómetro.
- » Fotómetros no dispersivos equipados con un filtro o un gas absorbente.

### Partes principales:

**Fuente de radiación:** encargada de emitir energía radiante entre 320–2500 nm. La más empleada es la lámpara halógena de filamento de tungsteno (Alcalá, 2006).

**Selector de longitudes de onda:** encargado de seleccionar la longitud de onda de trabajo. En él se da la descomposición del haz policromático (Conley, 1972).

**Compartimiento de muestra:** depende del tipo de muestra con la que se esté trabajando (sólida, líquida y gaseosa), existe una gran cantidad de accesorios, usualmente, la forma más empleada es la de celdas (muestra y referencia).

**Detectores:** se utilizan comúnmente los que son construidos con semiconductores, ejemplo el fotodetector de sulfuro de plomo, debido a que la sensibilidad que presenta es la adecuada para trabajar entre 900–2600 nm (Alcalá, 2006). La selección del detector está relacionada con el tipo de muestra por analizar.

Dos equipos de infrarrojo cercano dispersivos son el de prisma y combinado prisma-red. A diferencia del primero, el combinado solamente utiliza un prisma, de cristal de cuarzo (Conley, 1972). El sistema de prisma difiere del sistema combinado debido a que en el primero de estos la muestra no se irradia con toda la energía proveniente de la fuente. Otro de los aspectos importantes es que el prisma de cuarzo puede provocar problemas en la resolución, específicamente en la región de 1,2 a 1,8  $\mu\text{m}$  debido a que la resolución del prisma en ese rango es muy poca. Además, durante el análisis es recomendable utilizar una anchura de rendija lo más estrecha posible, ya que las bandas de absorción en NIR son agudas, es recomendable trabajar con temperatura y humedad constantes pues la cantidad de energía y el detector de sulfuro de plomo se pueden ver influidos (Conley, 1972).

### » Espectrómetros de transformada de Fourier

Estos equipos se basan en el fenómeno de la interferencia. Son los que más se emplean en la actualidad debido a las características que presentan: buena relación entre señal y ruido, alto nivel de sensibilidad y rapidez en los análisis. Su parte principal es el interferómetro de Michelson (Skoog, Holler y Crouch, 2008).

El proceso de análisis inicia al emitir radiación la fuente, luego el beamsplitter divide el haz principal en dos haces que son reflejados en dos espejos: uno móvil y otro fijo. Posteriormente, vuelven al beamsplitter y se unen en interferencia, es decir, es constructiva (los caminos de cada haz son idénticos en ambos espejos: señal coseno). Contrariamente cuando el espejo móvil cambia el camino genera una diferencia de fases de los dos haces, por lo tanto, se da una interferencia destructiva (Skoog, Holler y Crouch, 2008).

El proceso anterior genera un interferograma, es decir, una intensidad en la señal de la diferencia de cada una de las trayectorias. Finalmente, el interferograma es convertido en un espectro por medio de la transformación integral de Fourier (Skoog, Holler y Crouch, 2008).

La mayoría de equipos utilizan la transformada de Fourier, debido a que el objetivo de esta técnica es principalmente identificar sustancias, lo cual se logra mediante comparaciones o similitudes de espectros con patrones o curvas de calibración, que además, poseen un costo muy elevado.

### » Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo

#### » Aplicaciones del infrarrojo cercano

En relación con la aplicación del infrarrojo cercano, Skoog, Holler y Crouch (2008) apuntan que “es muy útil en la determinación cuantitativa rutinaria de ciertas especies como dióxido de carbono, agua, azufre, hidrocarburos de bajo peso molecular, nitrógeno de las aminas, y muchos otros compuestos sencillos que tiene interés en la agricultura y la industria” (p. 455).

Cuadro 26. Principales aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo

Regiones espectrales	Tipo de medición	Tipo de análisis	Tipo de muestras)
Infrarrojo cercano	Reflectancia difusa (ORIFTS)	Cuantitativo	Materiales comerciales sólidos o líquidos
	Absorción	Cuantitativo	Mezclas gaseosas
Infrarrojo medio	Absorción	Cualitativo	Sólidos, líquidos o gaseosos puros
		Cuantitativo	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
		Cromatográfico	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
	Reflectancia	Cualitativo	Sólidos o líquidos puros
	Emisión	Cuantitativo	Muestras atmosféricas
Infrarrojo lejano	Absorción	Cualitativo	Especies inorgánicas puras u organometálicas

Fuente: Skoog, Holler y Crouch (2008).

Según Davies y Giangiaco (2000), es también aplicable en la determinación del contenido de agua en etanol, así como en la determinación de la estructura morfológica de cereales, condiciones de humedad en madera, estructura de proteínas, monitoreo de la coagulación de la leche, composición de la carne, análisis del contenido de azúcar en frutas intactas y carbohidratos en jugos de frutas.

## Procedimiento 17

Identificación de una muestra incógnita por IR.

1. Encienda el equipo de infrarrojo unos 10 minutos antes de su uso, para mayor estabilidad en su funcionamiento.
2. Tome la muestra por analizar y coloque una punta de espátula (o una gota) en el porta muestras. Prepare la muestra previamente para tenerla en polvo fino o en disolución.
3. Identifique la muestra en el instrumento según corresponda y determine la pureza aproximada del analito.

## Calcule

- a. La pureza del analito en la muestra incógnita.

## Referencias

- Alcalá, M. (2006). *Utilización de la espectroscopía NIR en el control analítico de la industria farmacéutica*. Tesis doctoral Universidad Autónoma de Barcelona. Recuperado de <http://goo.gl/5gAiXM> [Consulta 16 abril 2016].
- Bhargava, R; Wang, S y Koenig, J. (2003). FTIR microspectroscopy of polymeric systems. *Advances in Polymer Science*. 163: 137-191
- Castellanos, N. (2012). *Espectroscopía*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia. Recuperado de [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401539/exe%20de%20agosto/capitulo\\_2\\_espectroscopa\\_de\\_absorcin\\_infrarroja\\_ir.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401539/exe%20de%20agosto/capitulo_2_espectroscopa_de_absorcin_infrarroja_ir.html)
- Conley, R. (1972). *Espectroscopía infrarroja*. España: Editorial Alhambra.
- Cozzolino, D. (2002). "Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimentos para animales". *Agrociencia*, 6 (2), 25-32.
- Davies, A y Giangiacomo, R. (2000). *Near infrared spectroscopy: proceedings of the 9th International Conference*. Inglaterra: NIR Publications.
- Jiménez, Y y López, M. (2011). "Aplicabilidad de la técnica de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano para determinar dodecilbenceno sulfonato de sodio en limpiadores líquidos". *Avances en Química*, 6 (2), 38-46.
- Pavia, D; Lampman, G; Kriz, G y Vyvyan, J. (2009). *Introduction to spectroscopy*. California: Cengage Learning.
- Perkin Elmer. (2005). FT-IR Spectroscopy. Attenuated total reflectance (ATR). [pdf]. Recuperado de <http://goo.gl/JhBWV5/> [Consulta 07 de mayo 2016].
- PerkinElmer Inc (1998). *Lab Products and Services*. Recuperado de <http://goo.gl/terXks> [Consulta 23 abril 2016].
- Pesez, M. y Bartos, J. (1974). *Colorimetric and fluorimetric analysis of organic compounds*. Analysis of Organic Compounds and Drugs, Dekker.

Skoog, D; Holler, F y Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental*. 6ª ed. México: Cengage Learning.

StellarNetInc (1991). *Spectrometers*. Recuperado de <http://goo.gl/p4Eyvv> [Consulta 27 abril 2016].

Thermo Fisher Scientific Inc (2016). *Applications and Techniques*. Recuperado de <https://goo.gl/tFxUqv> [Consulta 22 abril 2016].

Thermo Fisher ScientificInc (2016). *Spectroscopy and Elemental Analysis Instruments and Equipment*. Recuperado de <https://goo.gl/bLioZW> [Consulta 22 abril 2016].

ViaviSolutionsInc (2016). *Products*. Recuperado de <http://goo.gl/JNBIJp> [Consulta 02 mayo 2016].

## Apéndice 1

### Cálculos típicos de análisis instrumental

- » Calcule el volumen del punto de equilibrio de una titulación conductimétrica (ácido-base), si se obtuvieron las siguientes ecuaciones:

$$y = -9.5451x + 220.83 \quad y = 5.9083x - 42.967$$

$$-9.5451x + 220.83 = 5.9083x - 42.967$$

$$-9.5451x - 5.9083x = -42.967 - 220.83$$

$$-15.4534x = -263.797$$

$$X = -263.797 / -15.4534$$

$$X = 17,07 \text{ mL}$$

- » Calcule la molaridad de los 50 mL del ácido titulado, si la base empleada como titulante es 0.5124 M.

$$50 \text{ mL} * C_{\text{N HCl}} = 17.07 \text{ mL} * 0.5124 \text{ M}$$

$$C_{\text{N HCl}} = (0.5124 \text{ M}) (17.07 \text{ mL}) / (50 \text{ mL})$$

$$C_{\text{N HCl}} = 0.1749 \text{ M}$$

- » Calcule la capacidad volumétrica de un picnómetro a 20°C, si la densidad del agua a esa temperatura es 0.99823 g/mL, la masa del picnómetro vacío es 14.4740 g y la masa del picnómetro con el agua es 39.4420 g.

$$39.4420 \text{ g} - 14.4740 \text{ g} = 24.9680 \text{ g}$$

$$V = (\text{Masa del agua} / \text{densidad del agua}) = m/\rho = \text{mL}$$

$$V = 24.9680 \text{ g} / (0.99823 \text{ g/mL}) = 25.0123 \text{ mL}$$

- » Calcule la densidad de una muestra y considere densidad de 1,0000 g/mL para el agua a la temperatura de trabajo, además de los siguientes datos: masa picnómetro vacío: 28,3225 g, masa picnómetro más H<sub>2</sub>O: 38,3341 g y masa picnómetro más muestra: 38,1294 g.

$$\text{Densidad} = (38,1294 \text{ g} - 28,3225 \text{ g}) / (38,3341 \text{ g} - 28,3225 \text{ g}) \\ = 0,97885 \text{ g/mL}$$

- » Calcule la concentración (mg/L) de una muestra de sulindaco (tabletas de 200 mg, peso promedio 0.7423 g), cuantificada por espectrofotometría visible a 462 nm, si se obtuvo una absorbancia de 0.248 para dicha muestra y una absorbancia de 0.254 para el patrón a 40.32 mg/L.

$$40.32 \text{ mg/L} \times 0.248 \text{ abs} / 0.254 \text{ abs} = 39.37 \text{ mg/L}$$

- » Determine la concentración (mg/L) en la ampolla de 10 mL, de una muestra de cianocobalamina diluida 2 mL en 50 mL y de ahí, 4 mL en 25 mL; cuantificada por Vis. con curva de calibración, para la cual se obtuvo una ecuación de la recta  $y = 0.0492x + 0.034$  y la absorbancia de la muestra fue de 0.384.

$$y = 0.0492x + 0.034$$

$$x = (y - 0.034) / 0.0492$$

$$x = (0.384 - 0.034) / 0.0492$$

$$x = 7.11 \text{ mg/L} * 50/2 * 25/4 = 1110.9 \text{ mg/L}$$

- » Calcule el porcentaje de lo etiquetado de una solución inyectable de diclofenaco sódico 15 mg/5 mL en ampollas de 10 mL, si se determinó por triplicado y por espectrofotometría UV a 272 nm y se obtuvo una absorbancia idéntica de 0.318 para las tres muestras que se diluyeron 1 mL en 100 mL de agua destilada. Para el patrón se pesó 25.2 mg de diclofenaco sódico al 89.2% de pureza en 25 mL y de ahí se tomaron 2 mL y se llevaron a 50 mL con agua destilada y se obtuvo una absorbancia de 0.386.

$$\text{Cn St} = 25.2 \text{ mg} \times 89.2/100 / 0.025 \text{ L} \times 2 \text{ mL} / 50 \text{ mL} = \\ 35.97 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Cn muestra} &= 35.97 \text{ mg/L} \times 0.318 / 0.386 \times 100 \text{ mL/1 mL} \\ &= 2963,3 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$2963.3 \text{ mg/L} = 14.82 \text{ mg/5 mL}$$

$$\% \text{ de lo etiquetado} = 14.82/15 \times 100 = 98.78\%$$

- » Indique ¿cuánto debe pesar de azúcar puro, para obtener una concentración de 15 %m/v en un balón de 250 mL?

$$15 \text{ g/100 mL} \times 250 \text{ mL} = 37.5000 \text{ g/250 mL}$$

- » ¿Qué dilución debe hacer de una solución madre de sacarosa a 1000 mg/L, para llegar a una a 0.10 %m/v?

$$1000 \text{ mg/L} = 1 \text{ g/L} = 0.1 \text{ g/100 mL (ninguna dilución).}$$

- » Calcule ¿cuál sería el ángulo de rotación observado de una muestra de maltosa a 25% m/v determinado en una cubeta de 2 dm, si su rotación específica es  $[\alpha]_{\text{D}25} = 136.9$ ?

$$[\alpha]_{\text{D}25} = 100 \times \alpha / l \times c$$

$$\alpha = [\alpha]_{\text{D}25} \times l \times c / 100$$

$$\alpha = 136.9 \times 2 \times 25 / 100$$

$$\alpha = 68,45^\circ$$

- » Al considerar que trabajará con una Fanta Naranja de 600 mL, para la determinación del %m/v de azúcar que presenta, y que dicho refresco etiqueta 34 g de azúcar por cada 250 mL. Estime la alícuota que deberá llevar un balón de 50 mL, para obtener una concentración de 6.8 %m/v, que quede comprendida en la curva de calibración por utilizar.

$$34 \text{ g/250 mL} \times 100 \text{ mL} = 13.6 \text{ g/100 mL (\%m/v)}$$

$$V1 \times 13.6 \text{ \%m/v} = 50 \text{ mL} \times 6.8 \text{ \%m/v} = 25 \text{ mL}$$

- » Suponga que va a preparar 200 mL de una solución madre de potasio a 1000 mg/L a partir de KCl (74.55 g/mol) al 79.2% de pureza. ¿Cuánto debe pesar de KCl (en balanza analítica) para obtener esa concentración de K (39.1 g/mol)?

$$1000 \text{ mg/L} \times 0.200 \text{ L} = 200 \text{ mg}$$

$$200 \text{ mg K} \times 100/79.2 \times 74.55 \text{ g/mol KCl} / 39.1 \text{ g/mol K} =$$

$$481.5 \text{ mg KCl} = 0.4815 \text{ g}$$

- » Determine la cantidad (en mg) de potasio presente en una bebida hidratante de 600 mL, que etiqueta 90 mg de potasio por cada 250 mL de la bebida, que experimentalmente se diluyó 6 mL en 100 mL y 5 mL en 50 mL, y al ser determinada en el AA, se obtuvo una concentración de 1.80 mg/L de potasio en el balón en que se efectuó la medición.

$$1.80 \text{ mg/L} \cdot 50 \text{ mL} / 5 \text{ mL} \cdot 100 \text{ mL} / 6 \text{ mL} = 300 \text{ mg/L}$$

$$300 \text{ mg/L} \cdot 0.6 \text{ L} = 180 \text{ mg de potasio en la botella de 600 mL}$$

- » Al preparar una solución madre de sodio para un análisis por emisión atómica, ¿cuánto debe pesar de cloruro de sodio (58.4 g/mol) al 95.2 % de pureza para obtener una concentración de sodio (23.0 g/mol) a 750 mg/L en un balón de 250 mL?

$$750 \text{ mg/L} \cdot 0.25 \text{ L} \cdot 100/95.2 \cdot 58.4 \text{ g/mol} / 23.0 \text{ g/mol} = \text{mg} \Rightarrow 0.5001 \text{ g}$$

- » En un análisis de calcio (40.08 g/mol) en tabletas de carbonato de calcio (100.09 g/mol) por emisión atómica, se pesaron 10 tabletas y se obtuvieron 7.4852 g, se morterizaron hasta llegar a ser polvo fino las diez tabletas y se pesó exactamente una muestra de

0.0829 g, se diluyó en 100 mL y después 2 mL en 50 mL con agua destilada. Se determinó la concentración interpolando en una curva de calibración de intensidad vrs concentración (mg/L) y se obtuvo una concentración experimental de 9.01 mg/L de calcio. De acuerdo con la información dada ¿cuántos mg de carbonato de calcio tienen las tabletas, si etiquetan 250 mg de calcio por tableta?

$$9.01 \text{ mg/L} \cdot 50 \text{ mL} / 2 \text{ mL} \cdot 0.1 \text{ L} \cdot 0.7485 \text{ g} / 0.0829 \text{ g} = 203.4 \text{ mg Ca}$$

$$203.4 \text{ mg Calcio} \times 100.09 \text{ g/mol} / 40.08 \text{ g/mol} = 508 \text{ mg CaCO}_3$$

- » Si el guaro etiqueta 30 %v/v de etanol (densidad 0.789 g/mL), ¿qué concentración en g/L de etanol contiene una botella de 375 mL?

$$30 \text{ mL} / 100 \text{ mL} \cdot 0.789 \text{ g/mL} \cdot 1000 \text{ mL} / 1 \text{ L} = 236.7 \text{ g/L de etanol}$$

- » En un análisis de etanol en guaro Cacique por cromatografía de gases con inyección manual, se utilizó un único patrón al 3.52 % v/v de etanol que contenía estándar interno de n-propanol al 0.2 % v/v. Se analizó una sola muestra que se diluyó 3 mL en 25 mL adicionándole (antes de aforar) 2.5 mL del estándar

interno de n-propanol al 2% v/v. Se inyectó el patrón y la muestra en el cromatógrafo de gases y se obtuvo para el patrón un área de 225324 para el etanol y 52327 para el estándar interno; para la muestra se obtuvo un área de 197829 para el etanol y 39798 para el n-propanol. ¿Cuál es el % v/v de etanol en la botella original del guaro?

$$\%v/v = 3.52\%v/v * 197829/39798 * 25 \text{ mL} / 3 \text{ mL} = 33.86$$
$$\%v/v$$
$$225324/52327$$

- » Del problema anterior, calcule ¿cuál sería el resultado si no se hubiera empleado el estándar interno?

$$\%v/v = 3.52\%v/v * 197829 * 25 \text{ mL} / 3 \text{ mL} = 25.75 \%v/v$$
$$225324$$

- » ¿Cuál sería el contenido de cafeína en una Coca Cola que etiqueta 37 mg/355 mL, si se analizó por HPLC con un solo patrón para el cual se pesó 58.2 mg de cafeína al 94.3% y se llevó a un balón aforado de 25 mL para posteriormente, diluir 5 mL en 50 mL y después 2 mL en un balón de 25 mL. El refresco se desgasificó y se tomó una alícuota de 10 mL en 25 mL y de ahí 4 mL en 10 mL y se filtró. Se inyectaron 20 µL del patrón y de la muestra y se obtuvieron áreas de 1228 para el patrón

y de 1142 para la muestra. Expresar los mg de cafeína por cada 355 mL de Coca Cola.

$$58.2 \text{ mg}/0.025 \text{ L} * 94.3/100 * 5/50 * 2/25 = 17.56 \text{ mg/L}$$
$$17.56 \text{ mg/L} * 1142 / 1228 * 10 \text{ mL}/4 \text{ mL} * 25 \text{ mL}/10 \text{ mL} =$$
$$102.08 \text{ mg/L}$$
$$102.08 \text{ mg/L} * 0.355 \text{ L} =$$
$$36.24 \text{ mg}/355 \text{ mL}$$

- » En un análisis de cafeína en tabletas de tiamina (500 mg/tab) y cafeína (50 mg/tab) por HPLC, se pesaron 10 tabletas cuyo peso fue de 8.3224 gramos en total, se colocaron las 10 tabletas en un balón aforado de 250 mL, se disolvieron y aforaron con agua destilada. De ahí se filtraron 25 mL para eliminar excipientes, se tomaron 2 mL y se llevaron a un balón de 50 mL, del cual se tomó 1 mL y se llevó a un balón de 10 mL, para después llevar 5 mL a un vial con el fin de ser cuantificado por HPLC. Luego del análisis y la interpolación en la curva de calibración utilizada, se obtuvo que la muestra inyectada contiene 7.42 mg/L de cafeína en el vial. Determine lo siguiente:

a. mg/L en el balón de 10 mL = 7.42 mg/L.

b. mg/L en el balón de 50 mL = 7.42 mg/L \* 10/1 = 74.2 mg/L.

c.  $\text{mg/L en el balón de 250 mL} = 7.42 \text{ mg/L} * 10/1 * 50/2 = 1855 \text{ mg/L}$ .

d.  $\text{mg en el balón de 250 mL} = 7.42 \text{ mg/L} * 10/1 * 50/2 * 0.25 \text{ L} = 463.75 \text{ mg}$ .

e.  $\text{mg/tableta obtenidos} = 463.75 \text{ mg}/10 = 46.38 \text{ mg/tab}$ .

f.  $\% \text{ de lo etiquetado} = 46.38/50 * 100 = 92.75\%$ .

- » En la preparación de una solución madre de cloruros para un análisis por cromatografía de iones, ¿cuánto debe pesar de cloruro de sodio (58.4 g/mol) al 99 % de pureza para obtener una concentración de cloruros (35.45 g/mol) a 125 mg/L en un balón de 200 mL y qué concentración obtendría para el sodio (23.0 g/mol)?

$$125 \text{ mg/L} * 0.200 \text{ L} * 100/99 * 58.4 \text{ g/mol} / 35.45 \text{ g/mol} = 41.6 \text{ mg} = 0.0416 \text{ g}$$

$$41.6 \text{ mg} / 0.200 \text{ L} * 99/100 * 23.0 \text{ g/mol} / 58.4 \text{ g/mol} = 81.1 \text{ mg/L}$$

- » En un análisis de calcio (40.08 g/mol) en tabletas de carbonato de calcio (100.09 g/mol) por cromatografía de intercambio catiónico, se pesaron 10 tabletas etiquetadas con 200 mg de calcio por tableta y se obtuvo 7.4852 g, se morterizaron las diez tabletas hasta formar polvo fino y se pesó exactamente una muestra de 0.1629 g, se diluyó en 200 mL y después 2 mL en 50 mL con agua destilada. Se determinó la concentración interpolando en la curva de calibración y se obtuvo una concentración experimental de 9.01 mg/L de calcio. Determine lo siguiente:

a.  $\text{mg Ca en el balón de 50 mL} = 9.01 \text{ mg/L} * 0.05 \text{ L} = 0.4505 \text{ mg}$

b.  $\text{mg/L Ca en el balón de 200 mL} = 9.01 \text{ mg/L} * 50/2 = 225.25 \text{ mg/L}$

c.  $\text{mg Ca en el balón de 200 mL} = 9.01 \text{ mg/L} * 50/2 * 0.2 \text{ L} = 45.05 \text{ mg}$

d.  $\text{mg Ca en la pesada de 0.1629 g} = 45.05 \text{ mg}$

e.  $\text{mg/tableta de Ca obtenido} = 45.05 \text{ mg} * (7.4852/10)/0.1629 \text{ g} = 207.0 \text{ mg/tab}$

f.  $\text{mg/tableta de CaCO}_3 \text{ obtenido} = 207.0 \text{ mg/tab} * 100.09 \text{ g/mol} / 40.08 \text{ g/mol} = 516.9 \text{ mg/tab}$

g.  $\% \text{ de lo etiquetado de Ca} = 207.0/200 * 100 = 103.5\%$