

Prácticas de Laboratorio

Guión prácticas: Ciencias Ambientales Técnicas Instrumentales

Dr. Miguel Ángel Bermúdez Arias

PRACTICA 1. VALORACIÓN ÁCIDO-BASE: POTENCIOMÉTRICA Y CONDUCTIMÉTRICA. CÁLCULO DE CONSTANTE DE DISOCIACIÓN DEL ÁCIDO ACÉTICO

FUNDAMENTO TEÓRICO

En las valoraciones o titulaciones ácido-base se determina la concentración de un ácido o una base en disolución, empleando para ello otra disolución de ácido o base de concentración bien conocida como agente valorante, y llevando a cabo un proceso de neutralización. Además, de los datos obtenidos en la valoración pueden obtenerse parámetros fundamentales de la especie estudiada, como las constantes de disociación. A partir de los valores de pH medidos durante la valoración, es sencillo obtener las constantes de disociación.

En esta práctica se utilizarán dos tipos de valoraciones ácido-base, con indicador y con pH-metro, para determinar la concentración del ácido acético y la constante de disociación del ácido acético.

Los dos métodos más ampliamente utilizados para saber cuándo se ha alcanzado el punto de equivalencia se basan uno en el empleo de indicadores ácido-base y el otro en la medida de la variación del pH (valoración potenciométrica con medidores de pH).

Valoración potenciométrica pH:

Para entender este tipo de valoración, recordaremos como son las curvas de valoración, es decir, cómo varía el pH del medio en función del agente valorante añadiendo, en este caso el hidróxido sódico. La Figura 1 muestra la curva correspondiente a la valoración de un ácido con una base, donde en el eje de abscisas se representa el volumen de disolución de NaOH añadido.

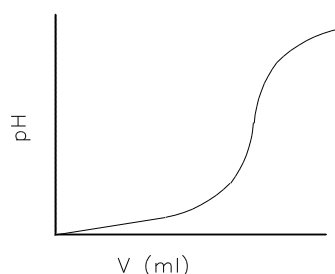


Figura 1. Curva de valoración de un ácido monoprótico con una base.

En el caso de la valoración de un ácido débil, puede observarse como al principio de la valoración el pH aumenta por la adición de la base, que comienza a neutralizar el ácido; a continuación la variación de pH se hace más lenta, debido a la presencia de un tampón ácido débil-base conjugada hasta que llega un momento en el que el pH cambia muy rápidamente, indicando que ya no hay tampón porque se ha consumido el ácido; finalmente el pH viene marcado por el exceso de base añadida, es claramente básico y vuelve a cambiar lentamente.

Si estamos valorando 50 ml de un ácido monoprótico 0,1 M con NaOH 0,1 M, el punto de equivalencia debe aparecer cuando hayamos consumido 50 ml de la disolución de NaOH 0,1 M. Este punto coincide donde el cambio de pH es más brusco, que se corresponde con un punto de inflexión de la curva. Ésta es una característica general de las valoraciones, por lo que constituye un método para determinar el punto de equivalencia. En la práctica, la mejor forma de determinar dicho punto de equivalencia (punto de inflexión de la curva), es calcular la primera derivada de la curva de valoración, que mide la velocidad de cambio del pH y que presentará un máximo en el punto de equivalencia. En la Figura 2 se muestra la gráfica correspondiente a la primera derivada de la curva de valoración, que muestra un máximo nítido en el punto de equivalencia. Este hecho permite determinar con exactitud el punto de equivalencia, y por tanto la concentración desconocida, en una valoración experimental realizada con medida del pH.

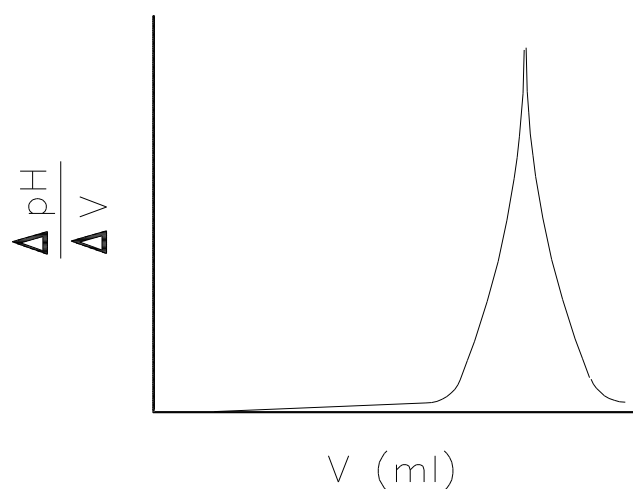
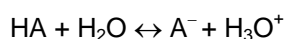


Figura 2. Derivada de la curva de valoración de la Figura 1.

La derivada de la curva de valoración se puede calcular de muchas formas. En este caso se ha empleado una de las más sencillas, y se ha calculado como el cociente de la variación de pH y la variación de volumen, y el valor se ha asignado al punto medio del intervalo de volumen. Este cálculo se puede realizar manualmente, pero resulta largo y tedioso; es mucho más conveniente emplear una hoja de cálculo, que automatiza todos los cálculos, permite corregir fácilmente y, además, facilita enormemente la realización de gráficos de calidad.

Este método de valoración potenciométrica permite determinar también las constantes de disociación de ácidos y bases, utilizando los valores de pH medidos y comparándolos con los teóricos. En este caso, la reacción que tiene lugar es: $\text{HA} + \text{NaOH} \rightarrow \text{A}^- + \text{Na}^+ + \text{H}_2\text{O}$ donde HA

es el ácido monoprótico. Mientras quede ácido en el medio, esto es, antes del punto de equivalencia, es posible calcular el pH teórico empleando la constante de disociación del ácido (ver problemas resueltos en clase).



$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (1)$$

En la ecuación (1) se puede observar que cuando las concentraciones del anión formado y del ácido sin neutralizar son iguales, la concentración de protones coincide con la constante de acidez, por tanto, el pH del medio coincide con el pK_a del ácido. Esto sucede exactamente en el punto medio de la valoración, cuando el volumen de base añadido es justamente la mitad del necesario para alcanzar el punto de equivalencia, esto es cuando hemos añadido un número de moles de base igual a la mitad de los moles iniciales de ácido (ya que la estequiometría es 1:1. Es decir, a partir de la curva de valoración, medida de forma experimental, podemos medir el pK_a del ácido (o incluso los pK_a si fuese un ácido diprótico o poliprótico), como se muestra en la Figura 3.

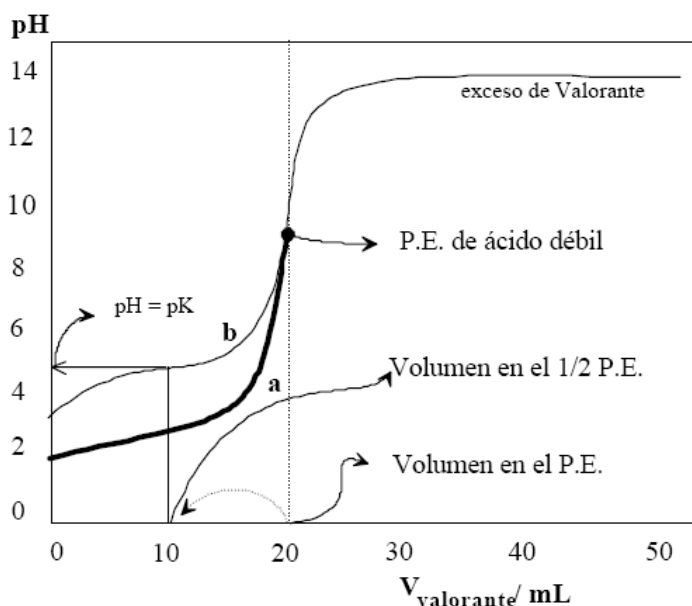


Figura 3. Determinación gráfica del pK_a de un ácido débil monoprótico a partir de una curva de valoración.

En el caso de una valoración con indicador (práctica 4), la valoración termina cuando vira el indicador, esto es, en las cercanías del punto de equivalencia. Sin embargo, en las valoraciones potenciométricas es necesario tomar datos para representar toda la curva; es decir, se necesitan datos, antes, en y después del punto de equivalencia. Esto hace que este método sea más largo.

Hay otra cuestión práctica que conviene recordar en la valoración con pH-metro. Para que la determinación del punto final por este método sea precisa, es decir, para que la curva derivada presente un máximo nítido, es necesario tener un número suficiente de puntos experimentales en la zona de viraje. Hay que tener en cuenta que el viraje completo suele tener lugar en menos de 1,0 ml. Al mismo tiempo, hay que considerar que éste es un método lento de valoración, porque cada dato requiere unos segundos para alcanzar el equilibrio. De manera que si se toman datos cada 0,1 ml durante toda la valoración, se empleará un tiempo excesivamente largo, y se anota el pH cada 2,0 ml, se tardará menos, pero no habrá suficientes valores en la zona de viraje. Una solución muy adecuada para este dilema, se basa en realizar una valoración previa y rápida con indicador, por ejemplo, con fenolftaleína, para la valoración acético-sosa, sin utilizar pH-metro. Esta valoración aproximada indica dónde se encuentra la zona de viraje y permite optimizar la medida con pH-metro. Así es posible medir, por ejemplo, cada 0,1 ml cuando estemos cerca del viraje y cada 1,0 ml cuando estemos lejos. También es posible calcular que volumen de sosa 0,1 M sería necesario consumir para valorar unos 20 ml de disolución de ácido acético 0,1 M.

El pH-metro

El pH-metro es un aparato de uso muy frecuente en el laboratorio de Química, por lo que resulta muy conveniente conocer las bases de su funcionamiento. En la mayoría de los casos, se trata en esencia de un voltímetro que mide el potencial de una pequeña pila, formada por dos electrodos diferentes conectados adecuadamente y sumergidos en la disolución cuyo pH se desea conocer. Uno de los electrodos es sensible a la concentración de protones del medio en el que se sumerge, de manera que el voltaje que suministra la pila depende del pH del medio. Como electrodo de referencia suele utilizarse un electrodo de calomelanos. El electrodo sensible al pH suele ser uno de membrana de vidrio, que es un electrodo de Ag/AgCl modificado. En esencia, se trata de un alambre de plata, recubierto en su extremo con cloruro de plata (insoluble), sumergido todo ello en una disolución diluida de HCl y separado del medio por una fina (y frágil) membrana de vidrio especial. Esta membrana interacciona con los iones en la disolución, lo que hace que el voltaje de la pila dependa del pH.

El electrodo de vidrio presenta muchas ventajas en comparación con otros electrodos sensibles de pH, pero también presenta dos pequeños inconvenientes. Por una parte, resulta imposible conocer exactamente *a priori* como varía el potencial de cada electrodo con el pH del medio. Por otra parte, las propiedades de la membrana de vidrio cambian con el uso, especialmente si se usa en medios agresivos, se ensucia o no se conserva adecuadamente, con lo que la respuesta del pH-metro cambia también. Ambos inconvenientes se resuelven de forma sencilla calibrando con frecuencia el pH-metro. Para ello se emplean patrones, que son disoluciones reguladoras de pH conocido y estable.

Valoración conductimétrica: Conductividad eléctrica

Una forma de detectar el punto final de una valoración ácido-base si no disponemos de un pH-metro, es midiendo la conductividad a lo largo de la valoración.

El contenido se puede determinar mediante una valoración conductimétrica que implica la medida de la conductancia de la disolución problema después de sucesivas adiciones del reactivo valorante NaOH (0,1 M).

Al representar la conductancia en función del volumen de agente valorante (NaOH 0,1 M) añadido se obtienen 2 segmentos rectilíneos con pendientes desiguales a ambos lados del punto de equivalencia. Extrapolando las dos porciones lineales se toma el punto de intersección de ambas rectas como punto final de la valoración.

Hay que tener en cuenta que la conducción de una corriente eléctrica a través de una disolución de un electrolito supone la migración de especies cargadas positivamente hacia el cátodo y especies cargadas negativamente hacia el ánodo. La *conductancia* de una disolución que es una medida del flujo de corriente que resulta de la aplicación de una fuerza eléctrica dada, depende directamente del número de partículas cargadas que contiene. Todos los iones contribuyen al proceso de conducción, pero la fracción de corriente transportada por cada especie está determinada por su concentración relativa y su movilidad en el medio.

Las *valoraciones conductimétricas*, en las que las mediciones de la conductancia se utilizan para indicar el punto final de una reacción se puede aplicar para la determinación de la concentración de una variedad de sustancias. **La principal ventaja del punto final conductimétrico es su aplicabilidad a la valoración de disoluciones muy diluidas y a sistemas en los que la reacción de valoración es relativamente incompleta, es decir, para reacciones lentas.** En algunas ocasiones, como por ejemplo para el análisis de disoluciones de fenol muy diluidas, es posible hacerlo por este método mientras que el cambio de pH en el punto de equivalencia no es lo suficientemente importante como para detectarlo mediante potenciometría o con un indicador visual.

Ahora bien, esta técnica también tiene sus limitaciones, así es menos precisa para concentraciones totales de electrolito elevadas.

Antes de explicar el procedimiento experimental, veamos algunos conceptos básicos:

Conductancia, L .

De acuerdo con la **ley de Ohm**, la **corriente (i)** que fluye en un conductor es directamente proporcional a la **fuerza electromotriz aplicada, E** , e inversamente proporcional a la **resistencia R del conductor**:

$$i = \frac{E}{R}$$

La **conductancia L** de una disolución es la **inversa de la resistencia eléctrica** y tiene unidades de ohm^{-1} (Ω^{-1}) o siemens (S).

$$L = \frac{1}{R}$$

Conductancia Específica, k .

La conductancia es directamente proporcional a la sección transversal A e inversamente proporcional a la longitud (l) de un conductor uniforme; por tanto:

$$L = k * \frac{A}{l}$$

Donde k es una constante de proporcionalidad denominada **conductancia específica o conductividad**. Si estos parámetros se expresan en centímetros, k , es la conductancia de un cubo de líquido de 1 cm de lado. Las **unidades** de la conductancia específica son $\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ (S cm^{-1}).

Valoraciones conductimétricas

La adición de un electrolito a una disolución de otro electrolito bajo condiciones que no producen un cambio apreciable en el volumen, afectará la conductancia de la disolución dependiendo de si tienen lugar o no reacciones químicas.

Si no tiene lugar una reacción iónica como sucede cuando se adiciona una sal simple a otra (por ejemplo, al adicionar cloruro de potasio a una disolución de nitrato de sodio), la conductancia simplemente aumentará (al aumentar el nº de iones disueltos), pero si tiene lugar una reacción iónica, la conductancia puede aumentar o disminuir. Así, por ejemplo, al adicionar

una base a un ácido fuerte, la conductancia disminuye debido al intercambio del ion hidrógeno (H^+) por otro catión de menor conductividad. Este es el principio en el que se basan las valoraciones conductimétricas, es decir, la sustitución de iones de cierta conductividad por otros de distinta conductividad.

Por tanto, durante el avance de la reacción de neutralización, precipitación, etc..., se puede esperar, en general, cambios en la conductividad y ello se puede utilizar para la determinación del punto final de la valoración. Así, se mide la conductividad de la muestra después de diferentes adiciones del reactivo valorante y se determina el punto final representando en una gráfica la conductancia frente al volumen de agente valorante añadido. Estas gráficas se caracterizan por porciones de líneas rectas de diferente pendiente a cada lado del punto de equivalencia. Por tanto, si se obtiene el punto de corte de las dos rectas tendremos el punto de equivalencia de la valoración. Es necesario obtener un número de puntos suficientes para definir la curva de valoración.

Dado que en la práctica, las reacciones no son absolutamente completas, las curvas de titulación conductimétrica muestran invariablemente desviaciones de la linealidad en la zona próxima al punto de equivalencia. Las porciones lineales 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, al contrario que en los métodos potenciométricos no tienen ningún significado. Las mediciones en la proximidad del punto de equivalencia no tienen significado ya que se pueden dar reacciones de hidrólisis, disociación o solubilidad del producto de la reacción lo que alteraría los valores de la conductancia en esta región próxima al punto de equivalencia.

Sin embargo, para el caso de reacciones que no se complementan, resulta más adecuado el método conductimétrico de detección del punto final que el método potenciométrico o con indicador.

En el caso de las reacciones ácido-base, el método conductimétrico resulta ser adecuado para la detección del punto final de la reacción, debido a los valores de conductancia de los iones H_3O^+ y OH^- , que son muy elevados en comparación con la conductancia de los productos de reacción. Por lo que después del punto de equivalencia, la conductancia aumentará con una pendiente mayor que antes del punto de equivalencia, debido al exceso de iones H_3O^+ u OH^- provenientes del agente valorante.

En la figura 4, se representa una curva teórica de titulación conductimétrica de una disolución 10^{-3} M de HCl con NaOH. La conductancia antes del punto de equivalencia disminuye, debido a que los iones H_3O^+ se reemplazan por iones Na^+ , de menor movilidad y después del punto de equivalencia, aumenta rápidamente al adicionar la base fuerte debido a que aumenta la concentración de iones Na^+ y OH^- (este último de alta conductividad, como

acabamos de comentar). En la práctica, con la excepción de la región próxima al punto de equivalencia, hay una excelente linealidad entre conductancia y volumen de NaOH añadido, por lo tanto, sólo serían necesarios dos o tres puntos antes y después del punto de equivalencia para trazar las líneas rectas en cuya intersección se encuentra el punto final.

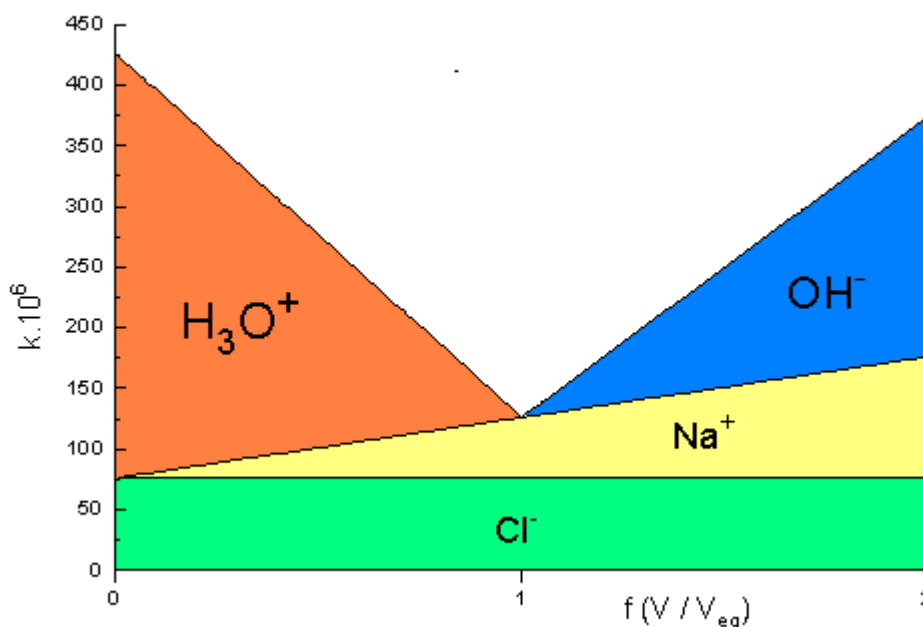


Figura 4. Valoración conductimétrica de ácido fuerte con base fuerte.

Estas valoraciones son de interés práctico cuando las disoluciones son oscuras o muy coloreadas.

Además, el cambio porcentual en la conductividad durante la valoración de un ácido o base fuerte es el mismo, independientemente de la concentración inicial de la disolución a valorar, lo que permite el análisis de disoluciones muy diluidas ($10^{-3} - 10^{-4}$ M) con una precisión comparable al caso de disoluciones más concentradas.

En el caso de la valoración de ácidos o bases débiles con base o ácido fuerte se ilustra a continuación, por ejemplo, en la figura 5, que representa la curva teórica de la valoración conductimétrica de ácido bórico con NaOH.

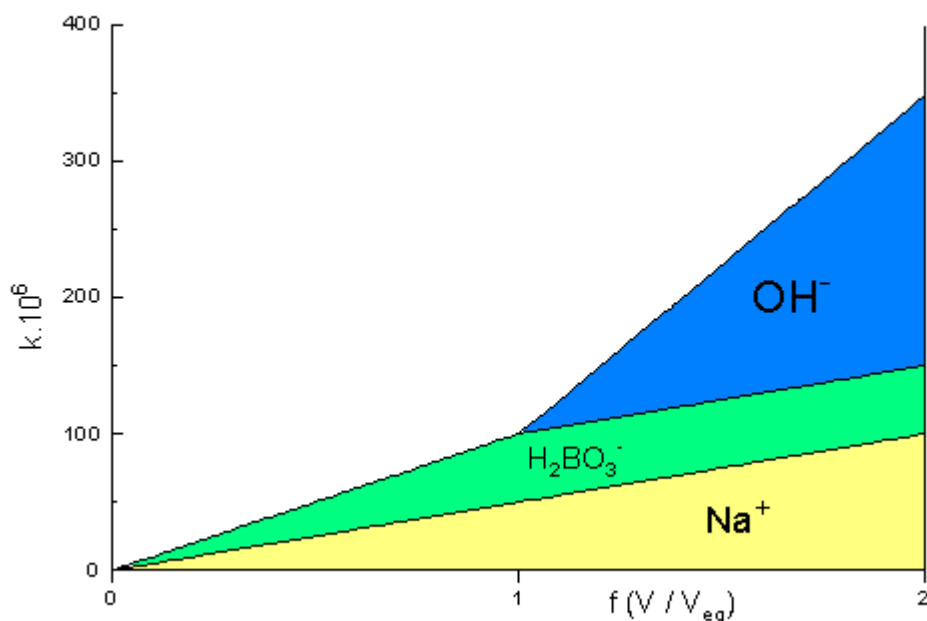


Figura 5. Valoración conductimétrica de ácido débil con base fuerte.

Esta reacción es tan incompleta que la determinación del punto final potenciométrico o con indicador sería poco precisa. En las primeras etapas de la valoración, como bien sabes, se obtiene una disolución reguladora o tampón ya que tendremos en disolución exceso del ácido débil y la sal de dicho ácido (base conjugada + catión sodio) lo que determina que la concentración de iones H_3O^+ sea pequeña y constante en la disolución, que neutralizan los iones OH^- añadidos por lo que no contribuyen a la conductividad, pero si se produce un aumento en la conductividad debido a que aumentan los iones borato y los iones sodio. Cuando se alcanza el punto de equivalencia ya no se forma más ion borato y por lo tanto, las sucesivas adiciones de base hacen que la conductividad aumente rápidamente, debido al aumento de la concentración de iones OH^- .

PARTE EXPERIMENTAL

Material y reactivos

- pH-metro
- Conductímetro
- Disolución de KCl para calibrar el equipo.
- Disoluciones tampón patrones de pH
- Bureta de 25 ml
- Vasos de precipitados, pipetas, matraces
- Agitadores magnéticos
- Disolución de hidróxido sódico valorada 0,1 M
- Ácido acético glacial o ácido benzoico.
- Fenolftaleína en disolución

Procedimiento experimental

Preparación de la disolución de ácido acético glacial y valoración de la misma:

Preparar la disolución de ácido acético. **Atención: el ácido acético glacial es una sustancia corrosiva y combustible; manipular con guantes y gafas, no inhalar sus vapores y evitar que entre en contacto con sustancias oxidantes.** Tomar 0,76 ml de acético glacial y llevar a un matraz de 100 ml y enrasar con agua destilada.

Se realizará en primer lugar la valoración con NaOH empleando indicador, y en segundo lugar se repetirá, sin indicador, para registrar la curva de valoración (pH frente a volumen de base añadida).

Preparación de la disolución de NaOH 0,1 M

Calcular la cantidad de lentejas de NaOH que se necesitan para preparar 100 ml de disolución, pesar dicha cantidad o lo más aproximada posible en la balanza de menor precisión, disolver con agua destilada en un vaso de precipitados y una vez disuelto pasarlo a un matraz de 100 ml, enrasar con agua destilada y homogeneizar.

Valoración con indicador

1. Rellenar una bureta de 25 ml con disolución de NaOH 0,1 M previamente valorada.
2. Preparar un matraz Erlenmeyer con 10,0 ml de disolución de ácido acético o ácido benzoico y unos 90 ml de agua destilada; añadir cuatro gotas de indicador.

3. Proceder a la valoración. Añadir lentamente la sosa, agitando el matraz para que se mezclen bien las disoluciones. La valoración termina cuando se detecta el primer cambio de color estable.
4. Calcular la molaridad y concentración en g/l de la disolución de ácido acético o de ácido benzoico.

Valoración con pH-metro

1. Comprobar que el pH-metro se encuentra sumergido en agua destilada siempre que no se encuentre en uso
2. Calibrar el pH-metro, utilizando dos tampones calibrados
3. Realizar la valoración de 10,0 ml de disolución de ácido acético o ácido benzoico en un vaso, en el que se habrá introducido el pH-metro, colocando sosa en la bureta y midiendo el pH. Si fuese necesario se añadirá agua destilada hasta que la membrana del electrodo esté totalmente sumergida en la disolución aún en presencia de agitación. Las medidas habrán de tomarse cada 1 ó 2 ml de base añadida al principio, luego, cada 0,5 ml y cuando ya estemos a 1 ml del punto de equivalencia esperado, tomar los datos cada 0,1 ml de NaOH añadidos. Cuando la variación de pH vuelva a hacerse lenta, 1 ml más allá del punto de equivalencia, volver a medir cada 1 ó 2 ml, 4 ó 5 puntos más para terminar la valoración. Es importante mantener la agitación, que puede realizarse con agitadores magnéticos. **Atención: evitar que el imán toque la membrana de vidrio del pH-metro.** Recordar que la medida de pH se toma cuando la lectura se estabiliza.
4. Dibujar la curva de valoración y la derivada de la misma. Para calcular la derivada puede utilizarse una hoja de cálculo como EXCEL[®], o cualquier otro programa, o bien manualmente. A partir de estas gráficas, calcular el punto final de la valoración, la concentración de la disolución de ácido acético preparada y el pK_a del ácido acético, y comparar su valor con los encontrados en la bibliografía.

Valoración con conductímetro

1. Calibrar el conductímetro utilizando la disolución de KCl patrón.
2. Realizar la valoración conductímetrca de 10 ml de disolución de ácido acético en un vaso más 20 ml de agua destilada, tomando los valores de conductividad desde 0 ml hasta 3 ml antes del punto de equivalencia obtenido por la valoración con el indicador, de NaOH 0,1 M, añadiendo 1 ml cada vez y desde 3 ml después del punto de equivalencia hasta los 35 ml. Anotar los valores en una tabla V_{NaOH} (ml) y conductividad (μS).

3. Representar las 2 rectas obtenidas, igualar las ecuaciones de ambas rectas y sacar el punto de corte de las 2 rectas, con esto obtenemos el punto de equivalencia.
4. Calcular la concentración de la disolución de ácido acético.

CUESTIONES

1. ¿Por qué es necesario calibrar los pH-metros?
2. Explicar las diferencias entre los resultados de las dos valoraciones. ¿Cuál de las dos es más precisa? ¿Cuál es más rápida?
3. ¿Para qué casos sería cada una de ellas más adecuada?
4. Comentar dos posibles causas de errores en esta experiencia
5. ¿Cómo sería la curva de valoración de un ácido diprótico débil con base fuerte? Dibujar una curva aproximada indicativa para este caso y para una valoración de base débil con ácido fuerte
6. En la valoración de un ácido débil monoprotico con base fuerte, ¿depende el punto de equivalencia del pK_a del ácido?
7. Calcule el pK_a del ácido acético glacial y compárelo con el valor de la bibliografía.
8. Calcule la molaridad y la concentración expresada en g/l de la disolución de ácido acético glacial preparada. Realice estos cálculos tanto con los datos de la valoración con indicador, como con los datos obtenidos de las valoraciones potenciométricas y conductimétricas.
9. Calcule así mismo el error con respecto a la concentración teórica.
10. ¿Por qué es necesario calibrar el conductímetro?
11. ¿Hay diferencia entre el valor del volumen del punto final calculado al hacer la valoración con un indicador visual y con el método conductimétrico?, ¿A qué puede ser debida?
12. Realizar los cálculos del pH de la disolución antes de empezar la valoración, en el punto de equivalencia, y un punto después del punto de equivalencia, con el dato de concentración de ácido acético calculado y el volumen de muestra de 10 mL,, Es decir, valoráis 10 mL de disolución de ácido acético igual a x M (dato calculado en la práctica) con NaOH 0,1 M – curva de valoración teórica.

Bibliografía

Martínez Urreaga, J. et al., “Experimentación en Química General”; Ed. Thomson, Madrid, 2006

Manual de prácticas de análisis químico. Universidad de Sevilla, Carlos Brunatti y Hernán De Napoli: Titulaciones conductimétricas.

PRACTICA 2.- DETERMINACIÓN DE LA DUREZA DEL AGUA

FUNDAMENTO TEÓRICO

El agua es un excelente disolvente, por eso la que se encuentra en la naturaleza (agua continental o agua de mar) siempre contiene distintos tipos de sales disueltas. Las sales en disolución se disocian en sus iones, de manera que, por ejemplo en el agua de mar predominan los iones Na^+ y Cl^- , mientras que en las aguas continentales predominan los iones Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , HCO_3^- , SO_4^{2-} y Cl^- . Si la concentración de cationes polivalentes (fundamentalmente Ca^{2+} y Mg^{2+} , que son los que habitualmente se encuentran a mayor concentración) en el agua es alta se dice que el agua es dura. La dureza de un agua impide la acción detergente de los jabones, por formación de precipitados, y además da lugar a la formación de incrustaciones de carbonato cálcico y otras sales en las paredes de los recipientes al hervirla. Este último aspecto condiciona seriamente la utilización de un agua, para la producción de vapor o agua caliente en calderas. Las especificaciones de un agua para la producción de vapor son muy estrictas, ya que durezas elevadas rebajan considerablemente la eficacia en la transmisión del calor y provocan atascos y roturas en las instalaciones.

La dureza del agua se define como la suma de las concentraciones de iones Ca^{2+} y Mg^{2+} , expresadas como concentración de carbonato de calcio en mg/l. Para su determinación se pueden analizar por separado el Ca y el Mg, y posteriormente calcular la dureza transformando las concentraciones de dichos iones en concentración de CaCO_3 equivalente. Sin embargo, si el objetivo es determinar la dureza total de un agua, es posible obtenerla mediante un único ensayo que determina directamente la suma en conjunto de las concentraciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} .

La dureza de un agua se expresa en mg de CaCO_3/l o en mg de CaO/l . También es frecuente expresar la dureza de un agua en “grados de dureza” o “grados hidrotimétricos”, la definición de “grados de dureza” es distinta según se utilice la denominación francesa, alemana o inglesa como se indica en el siguiente cuadro:

Grados de dureza	Equivalencia
1º Francés	10 mg CaCO_3/l de agua
1º Alemán	10 mg CaO/l de agua
1º Inglés	14,3 mg CaCO_3/l de agua

Según estos principios, la equivalencia entre un grado de dureza en los tres sistemas es la siguiente:

Sistema Francés	Sistema Alemán	Sistema Inglés
1	0,56	0,70
1,78	1	1,25
1,43	0,8	1

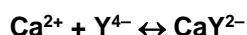
En función del grado de dureza algunos autores clasifican las aguas, de la forma siguiente:

Dureza en ° Franceses	Clase de agua
1 - 3	Muy blanda
3 – 6	Blanda
6 – 10	Ligeramente blanda
10 – 22	Bastante dura
22 - 50	Muy dura

La determinación de la dureza de las aguas naturales se justifica no sólo porque es un dato que se utiliza para evaluar la potabilidad de las mismas, sino porque sirve además de control, en numerosos procesos industriales (fabricación de seda artificial, cerveza, aguas gaseosas, papel, curtidos, en lavaderos, en el revelado de películas fotográficas, en los generadores de vapor, calderas, etc...) donde se precisan aguas blandas; o en aquellos otros, donde, por el contrario, se necesitan agua con una dureza adecuada como es el caso de las piscifactorías.

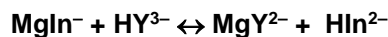
DETERMINACIÓN DE LA DUREZA TOTAL.

La determinación de la dureza total se lleva a cabo por valoración complexométrica empleando ácido etilendiamintetracético (EDTA) como reactivo valorante. El EDTA a pH 10 reacciona con los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} , para formar complejos muy estables de estequiometría 1:1. Este tipo de valoraciones se denominan valoraciones por formación de complejos o complexometrías. Así, por ejemplo, la reacción con Ca^{2+} puede escribirse como:



Donde Y^{4-} es el anión etilendiaminotetraacetato, que es realmente la especie complejante (ligando tetradentado). El Mg^{2+} , que forma un complejo menos estable que el Ca^{2+} , no reacciona con el EDTA hasta que se ha consumido todo el Ca^{2+} . Como indicador visual del punto final de la valoración se emplea Negro de Eriocromo T (NET), ligando que en disolución acuosa a pH = 10 es de color azul. Por otro lado, el NET forma un compuesto de coordinación de color púrpura con los iones Mg^{2+} que es menos estable que el complejo con EDTA. Así a lo

largo de la valoración, mientras en la disolución de la muestra hay Mg^{2+} ésta tiene color rojo vino y sólo cuando se ha añadido la cantidad de EDTA suficiente para reaccionar con el Ca^{2+} y el Mg^{2+} el color de la disolución cambia a azul. La reacción que da lugar al cambio de color de la disolución puede escribirse como:



Rojo

Azul

En la reacción anterior el ligando Y^{4-} del reactivo valorante (EDTA), al ser un complejante más fuerte, desplaza al ligando In^{3-} del indicador NET. En las proximidades del punto de equivalencia la disolución toma un color morado; se debe continuar la valoración hasta que el color sea azul (punto final de la valoración).

Teniendo en cuenta que la reacción de la valoración tiene estequiometría 1:1, se determina la dureza del agua expresada como mg de $CaCO_3/l$.

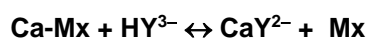
Se dice que un agua es blanda si su dureza es inferior a 60 mg de $CaCO_3/l$, es moderadamente dura si su dureza está comprendida entre 150 y 300 mg de $CaCO_3/l$ y muy dura si el valor de la dureza supera los 300 mg $CaCO_3/l$.

DETERMINACIÓN DE LA DUREZA CÁLCICA Y MAGNÉSICA

La determinación de la dureza cálcica se lleva a cabo, así mismo, mediante una valoración complexométrica empleando ácido etilendiamintetracético (EDTA) como reactivo valorante pero a $pH > 10$ y usando como indicador Murexida.

Inicialmente la disolución adquiere un color rosa debido al complejo $Ca-Mx$ para virar a color morado de la Murexida libre, ya que el complejo $Ca-EDTA$ (CaY^{2-}) es incoloro.

La reacción que da lugar al cambio de color de la disolución puede escribirse como:



Rosa

Morado

En la reacción anterior el ligando Y^{4-} del reactivo valorante (EDTA), al ser un complejante más fuerte, desplaza al ligando Mx del indicador Murexida, cambiando el color de la disolución de rosa a morado.

Teniendo en cuenta que la reacción de la valoración tiene estequiometría 1:1, se determina la dureza cálcica del agua expresada como mg de $CaCO_3/l$. Así mismo, también podemos calcular la dureza magnésica restando al valor de la dureza total (mg de $CaCO_3/l$) el valor de la dureza cálcica (mg $CaCO_3/l$), expresando también en mg $CaCO_3/L$ la dureza magnésica. Ahora bien, también podemos expresar la dureza cálcica como mg Ca/l o moles de Ca/l y la dureza magnésica como mg Mg/l o moles de Mg/l .

PARTE EXPERIMENTAL

Material y reactivos

- Disolución de sal disódica de EDTA 0,01 M
- Indicador Negro de Eriocromo T (NET)
- Disolución tampón $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ de pH 10, 2 M (Para ello disolver 3,4 g de cloruro amónico en unos 150 ml de agua destilada. A continuación, en la campana extractora, añadir 30 ml de amoniaco concentrado y enrasar finalmente el matraz aforado al volumen final de 250 ml. Compruebe el pH con un pH-metro. El matraz con el tampón debe permanecer cerrado en la campana extractora debido al fuerte olor del amoniaco).
- Disolución de sal disódica de EDTA 0,1 M
- Indicador Murexida (Mx)
- Disolución de hidróxido sódico 1 M
- Erlenmeyer 250 ml
- Probetas 25 ml y 100 ml
- Bureta 25 ml
- Agitador magnético

Procedimiento experimental para la dureza total

En un erlenmeyer de 250 ml poner, en el orden indicado, 20 ml de la muestra de agua, 100 ml de agua destilada, 2 ml de una disolución tampón $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ de pH 10 y una punta de espátula de indicador NET (negro de Eriocromo T) sólido. La disolución adquiere un color púrpura si el agua tiene iones Ca^{2+} y/o Mg^{2+} . Valorar con disolución EDTA disódica 0,01 M hasta que la disolución adquiera un tono azul.

Procedimiento experimental para la dureza cálcica y magnésica

En un erlenmeyer de 250 ml poner, en el orden indicado, 100 ml de la muestra de agua, 10 ml de disolución de NaOH 1 M, y una punta de espátula de indicador Mx (Murexida) sólido. La disolución adquiere un color rosa si el agua tiene iones Ca^{2+} . Valorar con disolución EDTA disódica 0,1 M hasta que la disolución adquiera un tono morado.

CUESTIONES

1. Escribir las reacciones de que tienen lugar durante la valoración
2. ¿Por qué la determinación de la dureza total debe realizarse a pH 10 y no a cualquier otro pH?
3. Calcular la dureza del agua en mg CaCO_3/l .
4. Buscar las concentraciones máximas permitidas en las aguas de consumo humano (aguas potables) para los iones Ca^{2+} , Mg^{2+} y el valor de la dureza total.
5. Calcular la dureza cálcica del agua en mg CaCO_3/l ; en mgCa/l y en moles de Ca/l. Igualmente para la dureza magnésica (calcular en mg CaCO_3/l ; mg Mg/l y moles de Mg/l)

Bibliografía

Martínez Urreaga, J. et al., "Experimentación en Química General"; Ed. Thomson, Madrid, 2006

+PRÁCTICA 3. DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS (ÁCIDO CÍTRICO, ÁCIDO ASCÓRBICO ...) EN MUESTRAS DE ZUMO DE FRUTAS MEDIANTE HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

FUNDAMENTO TEÓRICO

Resumen teórico de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Importancia de la determinación de ácidos orgánicos en alimentos.

OBJETIVO

1. Familiarizar al alumno con la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).
2. Aplicación de la técnica a la determinación y cuantificación del ácido cítrico y/u otros ácidos orgánicos en muestras de zumo de fruta empleando el método de calibración con patrones externos. Realización de la curva de calibrado y determinación de la concentración de ácido cítrico y de otros ácidos en una muestra problema. *En este caso, las rectas de calibrado ya las tenemos hechas, por lo que os daremos los datos de concentración y área para los diferentes ácidos que detectemos para que podáis hacer las correspondientes rectas de calibrado.*

PARTE EXPERIMENTAL

Material, equipo y reactivos

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución
- Loop de inyección de 20 μ l
- Columna cromatográfica SUPELCO 610 H
- Detector de absorbancia UV (λ de análisis 273 nm)
- Ácido cítrico (patrón puro)
- Agua Milli-Q
- Ácido fosfórico
- Muestras de zumo de frutas y otras muestras problema
- Balanza
- Vaso de precipitados
- Matraces aforados de 100 ml
- micropipetas

PROCEDIMIENTO

- En primer lugar, explicaremos el equipo y el método con el que vamos a trabajar. Y así, mientras que se va estabilizando el equipo, prepararemos las disoluciones patrón de ácido cítrico para la realización de la recta de calibrado, o bien las muestras a analizar:

Parámetros del método utilizado para la realización de los cromatogramas – condiciones cromatográficas.

- Fase móvil: Agua Mili-Q con ácido fosfórico 0,1 M.
- Caudal: 0,5 ml/minuto.
- Temperatura: 35 grados Celsius.
- Columna de azúcares: Columna de intercambio iónico.
- Presión: 4,6 mega pascales.

Preparación de los patrones de ácido cítrico:

1. Preparar 4 disoluciones patrón de ácido cítrico a partir del reactivo ácido cítrico comercial. Estas disoluciones deben ser de concentraciones: 1000 ppm; 3000 ppm; 5000 ppm y 10.000 ppm, respectivamente.
2. Analizar los diferentes patrones, comenzando por el de menor concentración y terminando por el de mayor concentración a fin de obtener los datos de tiempo de retención del ácido cítrico y área del pico del cromatograma.

Datos del ácido cítrico comercial: ácido cítrico monohidrato $P_m = 210,14 \text{ g/mol}$
Pureza del ácido cítrico monohidratado comercial = 100%
 P_m ácido cítrico anhidro = 192,14 g/mol
Prepararemos 100 ml de cada patrón externo, utilizando como disolvente agua MilliQ (desionizada).

Tabla 1. Disoluciones patrón de ácido cítrico.

[ácido cítrico]	Masa ácido cítrico comercial (monohidratado) (mg) teórica	Masa real pesada (mg)	[ácido cítrico] _{exp} ppm
1.000 ppm			
3.000 ppm			
5.000 ppm			
10.000 ppm			

Una vez estabilizado el equipo procedemos a pinchar alícuotas de 20 microlitros de las disoluciones patrón comenzando por la de menor concentración, y anotamos el área del pico. Posteriormente el alumno deberá realizar la recta de calibrado con el programa Excel o similar.

NOTA: Para agilizar la práctica, una vez explicado el equipo, procederemos a pinchar las muestras para que el alumno vea el funcionamiento del equipo y a continuación indicamos los datos necesarios para la realización de las rectas de calibrado.

3. Construir la curva de calibrado representando (en Excel) área de pico frente a concentración de ácido cítrico y ajustar la recta mediante análisis de regresión lineal (mínimos cuadrados).

Tabla 2. Datos para recta de calibrado del ácido cítrico

[ácido cítrico] ppm	Área del pico	Tiempo de retención
1150	3.127.774,4	____min
2810	6.865.219,48	
4960	13.165.449,7	
7780	20.263.735,4	
10040	25.899.582,4	
Ecuación de la recta de calibrado Excel:_____		
Coeficiente de regresión lineal, R²:_____		

Medida de muestras problema:

4. Ahora realizaremos el cromatograma de una/s muestra/s de zumo de frutas (20 μ L) para comprobar la presencia de ácido cítrico y su concentración. Identificaremos el pico del ácido cítrico y determinaremos su concentración a partir del área del pico y de la recta de calibrado. Así mismo, con la ayuda de las profesoras y de datos de experimentos anteriores, realizados en las mismas condiciones, identificaremos los otros picos.

IMPORTANTE: Antes de analizar la muestra de zumo, prepararemos la muestra de la siguiente manera. Tomamos **2,0 mL de la muestra y añadimos 8,0 mL de agua desionizada en un matraz aforado de 10 ml** (**factor de dilución:** _____).

A continuación, se centrifuga la muestra durante 10,0 min a 4000 rpm y posteriormente, se toman 2,0 mL del sobrenadante y se filtraron a través de un filtro de nailon de 0,45 μ m acoplado a la jeringuilla y se recoge el filtrado en un vial. Posteriormente tomamos una alícuota de esta disolución e inyectamos 20 μ L de esta muestra en el HPLC.

Tabla 3.1. Identificación de los picos del cromatograma de la muestra 1 diluida:

Pico del cromatograma	Tiempo de retención (min)	Área del pico	Ácido orgánico
1			
2			
3			
4			

Tabla 3.2. Cálculo de concentración de ácido orgánico a partir del área del pico y la recta de calibrado en la muestra 1 diluida y sin diluir: _____

Ácido orgánico	Área pico	[ác org] _{diluido}	Factor dilución	[ác org] _{original}
Ácido cítrico				

Tabla 4.1. Identificación de los picos del cromatograma de la muestra 2 diluida:

Pico del cromatograma	Tiempo de retención	Área del pico	Ácido orgánico
1			
2			
3			

Tabla 4.2. Calculo de concentración de ácido orgánico a partir de recta de calibrado en la muestra 2 diluida y sin diluir: _____

Ácido orgánico	Área pico	[ác org] _{diluido}	Factor dilución	[ác org] _{original}
Ácido cítrico				

5. Si es posible calcula las concentraciones de los ácidos orgánicos distintos al cítrico en las muestras pinchadas en el punto 4 a partir de los datos de las rectas de calibrado dadas.

Recta del ácido ascórbico: $y = 72696 x - 325633$ $R^2 = 0,9946$

Recta del ácido láctico: $y = 1581,6 x + 120676$ $R^2 = 0,9981$

Recta de ácido málico: $y = 1992,8 x + 6195$ $R^2 = 0,9999$

En caso de detectarse algún pico más en las muestras de zumo analizadas daremos al alumno los datos necesarios para la realización de la recta de calibrado correspondiente o bien la ecuación de la recta del analito o analitos detectados.

Tabla 5.1. Calculo área de los picos, y concentración de ácidos orgánicos y/o azúcares a partir de los datos de las diferentes rectas de calibrado en la muestra 1.

Ácido orgánico	Área pico	t retención	[ác org] _{diluido}	Factor de dilución	[ác org] _{original}
Ácido cítrico					
Ácido Málico					
Ácido ascórbico (Vit. C)					
Ácido láctico					

Tabla 5.2. Calculo área de los picos, y concentración de los ácidos orgánicos y/o azúcares a partir de los datos de las diferentes rectas de calibrado en la muestra 2.

Ácido orgánico	Área pico	t retención	[ác org] _{diluido}	Factor de dilución	[ác org] _{original}
Ácido cítrico					
Ácido ascórbico					
Ácido láctico					

6. Compara los valores de concentraciones de los diferentes ácidos orgánicos de las muestras 1 y 2 de zumo de frutas con valores encontrados en la bibliografía para dichos zumos o frutas.

RESULTADOS

- Realiza la curva de calibración con los datos de concentración y área de los picos cromatográficos de los diferentes patrones para el ácido cítrico.
- Calcula la concentración de ácido cítrico en las muestras problema
- Calcula las concentraciones de los otros ácidos y/o azúcares identificados en las muestras problemas.
- Compara los valores de concentraciones de los diferentes ácidos orgánicos y/o azúcares de las muestras 1 y 2 de zumo de frutas con valores encontrados en la bibliografía para dichos zumos.

BIBLIOGRAFÍA

- **Christian, G. D.** "Química Analítica", Ed. McGraw-Hill, (6ª ed.), 2009.
- **Harris, D.C.** "Análisis Químico Cuantitativo". Ed. Reverté (3ª ed), 2007.
- **Rouessac, F.; Rouessac, A.** "Análisis Químico: Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas" Ed. McGraw-Hill, 2003.
- **Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A.** "Principios de Análisis Instrumental" Ed. McGraw-Hill, (5ª ed.), 2001.
- **Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, J. & Crouch, S. R.** "Fundamentos de Química Analítica". Ed. Thomson, (8ª ed), 2005.
- **Correa Navarro, Y.M; Rivera Giraldo; J.D.** "Evaluación de ácidos orgánicos en bebidas de fruta comerciales por cromatografía líquida de alta eficiencia". Revista Facultad de Ciencias Básicas; 2018, Vol. 14 (1) 1-6

ANEXO

Tabla A.1. Identificación de los picos del cromatograma de la muestra 1 diluida: ZUMO DE NARANJA CARREFOUR

Pico del cromatograma	Tiempo de retención (min)	Área del pico	Ácido orgánico
1	11,22	4.819.880	Ácido cítrico
2	13,23	435.235	Ácido Málico
3	13,81	3.431.213	Ácido ascórbico (Vit. C)
4	16,37	947.742	Ácido láctico

Tabla A.2. Identificación de los picos del cromatograma de la muestra 2 diluida: ZUMO DE NARANJA HACENDADO abierto hace 1 semana

Pico del cromatograma	Tiempo de retención	Área del pico	Ácido orgánico
1	11,218 min	6.823.756,1	Ácido cítrico
2	13,809 min	346.687,0	Ácido ascórbico
3	16,750 min	1.069.044,9	Ácido láctico

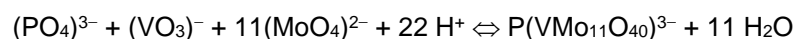
PRACTICA 4. DETERMINACIÓN DE FOSFATOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA

FUNDAMENTO TEÓRICO

El objetivo de esta práctica es la determinación del contenido de fosfatos solubles en una muestra de agua mediante espectrofotometría ultravioleta-visible. Se aplicará el método de adiciones estándar para eliminar interferencias con otros compuestos.

Los abonos inorgánicos están constituidos por diversas clases de fosfatos solubles, los más comunes de los cuales derivan de los aniones meta- (PO_3^-), piro- ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) y ortofosfato (PO_4^{3-}). Debido a su elevada solubilidad, estos aniones son arrastrados fácilmente por las aguas superficiales hacia ríos, acuíferos, etc. Otra fuente de fosfatos la constituyen los vertidos urbanos que contienen detergentes: para aumentar su eficacia, algunos detergentes utilizan fosfatos inorgánicos en su composición como agentes alcalinizadores. Las aguas naturales contienen normalmente cantidades de fosfatos por debajo de 1 mg/l. Cantidades superiores de estos nutrientes favorecen el crecimiento de algas que consumen el oxígeno del medio acuático (eutrofización de las aguas) y provocan la desaparición de especies vegetales y animales.

El método propuesto para determinar fosfatos se basa en la formación de un heteropoliácido con el reactivo vanado-molibdico (de color amarillo y soluble en agua) cuya absorción de luz se mide a 420 nm. Para el ortofosfato, la formación de este complejo tiene lugar según la reacción:



En esta identificación interfieren concentraciones apreciables de Fe(III), silicato y arseniato, entre otras especies. Es decir, estas especies absorben luz a la longitud de onda utilizada (420 nm, absorción del $\text{P}(\text{VMo}_{11}\text{O}_{40})^{3-}$). Para eliminar dicha interferencia se preparará un blanco (sin fosfato) cuya absorbancia se restará de la del resto de las muestras. Adicionalmente, es posible que la absorbancia del complejo se vea afectada por efectos de matriz. La matriz puede potenciar o atenuar la absorbancia de luz por el complejo, lo cual puede conducir a resultados erróneos. Para minimizar este efecto, aplicaremos el **método de adiciones estándar**, que consiste en la adición de cantidades crecientes del analito de interés (fosfato en nuestro caso) a una cantidad fija de muestra. Este procedimiento resulta más efectivo que un calibrado externo (**recta de calibrado con disoluciones patrón**) cuando la matriz interfiere en la detección. **En esta práctica estudiaremos la importancia de los efectos de matriz, determinando la concentración de fosfato mediante ambos métodos y comparando los resultados.**

Espectrofotometría

La espectrofotometría es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc) y estado de agregación (sólido, líquido, gas). El fundamento físico-químico de la espectrofotometría está relacionado con la capacidad de las moléculas de absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna.

La Mecánica Cuántica nos dice que la luz está compuesta de fotones cada uno de los cuáles tiene una energía:

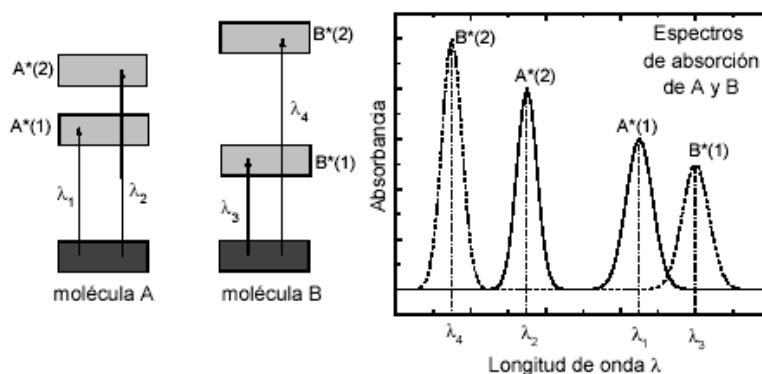
$$E_{\text{fotón}} = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda$$

donde $h = 6.6 \cdot 10^{-34}$ J·s es la *constante de Planck*, c es la *velocidad de la luz*, ν es su *frecuencia* y λ su *longitud de onda*.

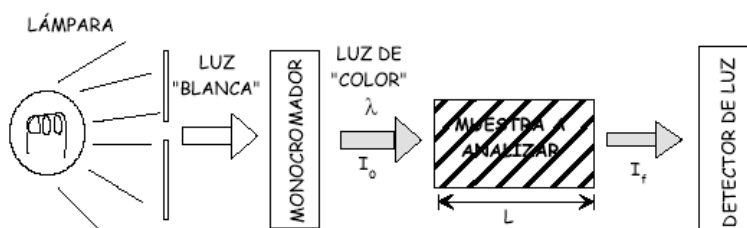
Cuando decimos que una molécula absorbe luz de longitud de onda, esto significa que la molécula absorbe un fotón de esa longitud de onda. En esta práctica estudiaremos la absorción de luz en el visible-ultravioleta cercano (325-700 nm). Cuando una molécula absorbe un fotón en este intervalo espectral, se excita pasando un electrón de un orbital del estado fundamental a un orbital excitado de energía superior. De esta manera la molécula almacena la energía del fotón:

$$A + h \cdot \nu = A^*$$

Como la energía se conserva, la diferencia de energía entre el *estado excitado* (A^*) y el *fundamental* de la molécula (A) debe ser exactamente igual a la energía del fotón. Cada molécula tiene una serie de estados excitados discretos (o bandas) que dependen de su estructura electrónica y que la distinguen del resto de moléculas. Como consecuencia, el espectro de absorción, es decir, la luz absorbida en función de la longitud de onda, constituye una verdadera seña de identidad de cada molécula. Dos moléculas distintas presentarán espectros de absorción distintos, como se representa esquemáticamente en la figura.



Un espectrofotómetro consta de una fuente de luz “blanca” caracterizada por un espectro de emisión continuo en un intervalo amplio de longitudes de onda (en nuestro caso 350 nm - 900 nm). Un monocromador actúa como filtro óptico transmitiendo un haz de luz de longitud de onda fija λ e intensidad I_0 que penetra en la cubeta de análisis donde se encuentra la muestra. Un detector sensible a la luz mide la intensidad del haz a la salida I



La intensidad del haz de luz se va atenuando a medida que atraviesa la cubeta con la muestra debido a la absorción de las moléculas. El ritmo de absorción depende de la intensidad inicial de luz y de la concentración de moléculas. Lo cual da lugar a la ley de Lambert-Beer para la absorción de luz en un medio, que relaciona la *intensidad a la salida* de la muestra I y la *distancia recorrida por la luz* en la muestra, L :

$$A \equiv \log_{10} \frac{I_0}{I_f} = \varepsilon \cdot [B] \cdot L$$

donde la constante ε es la denominada *absortividad molar* (o también *coeficiente de extinción*), que en general depende de la longitud de onda de la luz incidente.

Como se puede observar, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de moléculas en la muestra. Es decir la representación de absorbancia frente a concentración sigue una recta de pendiente $m = \varepsilon \cdot L$.

Esta ley de proporcionalidad se cumple para luz monocromática (de una longitud de onda dada) y disoluciones diluidas de las moléculas absorbentes ($< 0.01M$). Se encontrarán en general desviaciones cuando se realicen experimentos sobre muestras concentradas de analitos.

Métodos de calibrado: patrón externo y adiciones estándar

Una **curva de calibrado** representa la respuesta de un método analítico (señal detectada) sobre muestras patrón o estándar con concentraciones conocidas de analito. Se prepara además una disolución blanco, que contienen únicamente la matriz, es decir todos los reactivos y disolventes de la muestra salvo el analito de interés. En el intervalo de respuesta lineal del método analítico (dentro del cual la señal es proporcional a la concentración de analito), se obtiene una recta de calibrado a partir del procedimiento siguiente:

- 1.- Se representa la señal detectada corregida de la señal del blanco frente a la concentración de cada disolución patrón;
- 2.- Se realiza una regresión lineal de los puntos resultantes por el método de mínimos cuadrados (apéndice).

Se recomienda el uso de Excel para obtener la recta de ajuste. La recta de calibrado $y = a x + b$ (x:concentración, y:señal) permite obtener la concentración de cualquier muestra problema a partir de la señal obtenida experimentalmente



El **método alternativo de adiciones estándar** consiste en añadir sobre la muestra problema cantidades crecientes conocidas de analito. De esta manera, todas las medidas se realizan sobre la misma matriz. Al representar la señal experimental frente a la concentración de analito añadida resulta una recta a partir de cuya pendiente y ordenada en el origen se obtiene la concentración de la muestra problema. El procedimiento se demuestra e ilustra en la figura.

Método de adiciones estándar
 (cuando es imposible aislar los efectos de matriz)

En el intervalo de respuesta lineal la señal S es proporcional a la concentración de analito

$$S = a (C_t + C_x) \quad \begin{array}{l} C_t: \text{concentración problema} \\ C_x: \text{concentración añadida} \end{array}$$

$$S = a (C_t + C_x) = a C_t + a C_x = a x + b$$

Recta de calibrado $y = a x + b$ ($y = S$, $x = C_x$, $b = a C_t$)

C_x se puede obtener de dos formas a partir de la recta:

- 1) $b/a = C_x$
- 2) extrapolación a $y = 0 \Rightarrow x = -b/a = -C_x$



PARTE EXPERIMENTAL

Material y reactivos

Material

- Matraces aforados de 25 ml
- Probeta de 250 ml,
- 1 matraz aforado de 100 ml
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Matraces aforados de 100ml y 1000 ml por mesa.

Reactivos

- Fosfato ácido de potasio K_2HPO_4
- Heptamolibdato amónico $(NH_4)_6[Mo_7O_{24}]$
- Metavanadato amónico $(NH_4)[VO_3]$

1. Preparación de reactivos

- **Reactivo vanado-molibdico (única para todos):** En unos 400 ml de agua destilada, disolver 20 g de heptamolibdato amónico, $(NH_4)_6[Mo_7O_{24}]$. Preparar una segunda disolución de 0.5 g de metavanadato amónico, NH_4VO_3 , en 300 ml de agua y añadir 100 ml de ácido nítrico concentrado (con guantes y gafas de protección, en la campana extractora). Mezclar ambas disoluciones en un matraz aforado de un litro y enrasar con agua destilada.
- **Disolución patrón de ortofosfato $(PO_4)^{3-}$ (1 g/l):** Preparar 100 ml de disolución patrón en matraz aforado disolviendo la cantidad adecuada (cálculéla) de KH_2PO_4 en agua destilada.
- **Disolución de trabajo de ortofosfato (0,1 g/l):** Se prepara una disolución de trabajo pipeteando 10 ml de disolución patrón y enrasando a 100 ml con agua destilada en matraz aforado.

2. Calibrado externo

En matraces aforados de 25 ml se pipetea alícuotas de la disolución de trabajo de forma que la concentración final de fosfato sea de 3, 5, 10, 15 y 20 mg/l. Se agregan 10 ml de la disolución vanado-molibdato amónico a cada una de ellas y se enrasa con agua destilada. Agitar cada matraz para homogeneizar la disolución y dejar en reposo 10 minutos para que tenga lugar el desarrollo del color. Preparar además un blanco (disolución con 10 ml de vanado-molibdato, sin fosfato).

2.1. Preparación de las muestras problema

Pipetear 5 ml de la disolución problema y pasarlos a un matraz aforado de 25 ml. Añadir 10 ml de la disolución vanado-molibdato y enrasar con agua destilada. Repetir este procedimiento otras 2 veces más para tener 3 muestras problema. Dejar reposar 10 minutos

2.2. Medidas de absorbancia

- Ajustar el espectrofotómetro para medidas de absorbancia a 420 nm
- Introducir el blanco en el aparato y ponerlo a cero.
- Medir finalmente la absorbancia a 420 nm de los patrones y de las 3 muestras.

- Construir la recta de calibrado y determinar la concentración de cada muestra problema.
- La concentración de fosfatos en la muestra problema original será el resultado de promediar los resultados de las tres medidas y aplicar el factor de dilución. El error se obtiene a partir de la dispersión de los datos: $e = \pm t \cdot (s/\sqrt{N})$, donde s es la desviación cuadrática y N el número de medidas realizadas.

3. Determinación de fosfato por el método de adiciones estándar

Con el fin de minimizar efectos de matriz se aplica el método de adiciones estándar. Para ello se pasan 5 alícuotas del mismo volumen de muestra problema en matraces de 25 ml. A 4 de esos matraces se les añade cantidades crecientes de la disolución de trabajo. A continuación se agregarán 10 ml de la disolución de vanado-molibdato y se enrasará con agua destilada. Dejar reposar 10 minutos.

Calcular las alícuotas de la muestra problema y las adiciones de forma que la concentración estimada de fosfato no exceda de 20 mg/l.

3.1. Medidas de absorbancias:

Poner a cero el espectrofotómetro con el mismo blanco del apartado anterior y medir la absorbancia a 420 nm de cada muestra. Construir la recta de adiciones estándar y determinar la concentración de fosfatos. Aplicar el factor de dilución correspondiente. Para el cálculo de errores en este apartado, pedir el resultado obtenido a 2 parejas del mismo turno de prácticas y realizar los cálculos de la desviación estándar

4. Presentación de resultados

- Incluir todas las medidas de absorbancia y concentraciones de las disoluciones patrón de fosfato correspondiente en tablas.
- Representar en gráficas independientes los datos experimentales de los dos calibrados realizados (patrón externo y adiciones estándar), así como cada una de las rectas por mínimos cuadrados (se recomienda el uso de Excel)
- Para cada uno de los métodos utilizados (calibrado y adiciones estándar), expresar la concentración de fosfato resultante de la muestra problema junto con los errores absoluto y relativo de la determinación. Comparar ambos métodos y discutir los resultados.

Bibliografía

Daniel C. Harris, "Análisis Químico Cuantitativo"; 2ª ed., Ed. Reverté. Capítulos 4, 5 y 19

PRACTICA 5. DETERMINACIÓN DE SODIO Y COBRE MEDIANTE EMISIÓN ATÓMICA EN MUESTRAS DE AGUA.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En esta práctica se va a determinar la concentración de cobre y sodio en muestras de agua. La técnica utilizada será espectroscopía de emisión atómica basada en atomización con plasma, en concreto se utilizará la técnica de Espectroscopia de Emisión Atómica de Plasma Acoplado Inductivamente, ICP-OES (detector óptico).

Tanto para la determinación del Sodio como para la determinación del Cobre vamos a utilizar el método de calibrado con patrones externos.

Además, en el caso del sodio aplicaremos también el método de calibrado con patrón interno.

Por otra parte, para ambos elementos usaremos también el método de calibrado de adiciones estándar.

Antes de explicar el procedimiento experimental, repasemos un poco del fundamento teórico de la técnica.

FUNDAMENTO TEÓRICO

Los métodos de espectroscopía atómica son muy útiles ya que permiten la determinación cualitativa (identificación de elementos en una muestra) y cuantitativa (obtener concentración de dichos elementos en la muestra) de más de 70 elementos químicos. Además, generalmente permite detectar concentraciones del orden de ppm ó ppb y a veces incluso menores (ppt).

Son métodos rápidos, y generalmente de alta selectividad. Se usan cada vez más en el área medioambiental o en el análisis de alimentos ya que permite detectar contaminantes como los metales pesados a niveles de ultratrazas (San José Wéry, 2017).

Se pueden dividir las técnicas de espectroscopía atómica en tres grandes grupos:

- **Espectrometría óptica:** De emisión, absorción o fluorescencia.
- **Espectrometría de masas.**
- **Espectrometría de Rayos X:** De emisión, absorción o fluorescencia.

En la asignatura de técnicas instrumentales de laboratorio de segundo curso del grado en ciencias ambientales, estudiamos únicamente las técnicas principales de espectrometría óptica.

Para poder analizar los elementos presentes en una muestra mediante espectrometría óptica, éstos deben atomizarse, es decir, convertirse en átomos o iones elementales en estado gaseoso,

y así se puede medir la absorción UV - visible, la emisión o la fluorescencia de dichas especies atómicas presentes en el vapor.

En la tabla 1 se resumen los principales métodos de espectroscopía atómica óptica.

Tabla 1. Clasificación de los métodos de espectroscopía atómica óptica

Método de atomización	T de atomización característica (°C)	Tipos de espectroscopía	Nombre común y siglas.
Plasma acoplado inductivamente	6000 - 8000	Emisión	Espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)
Llama	1700 - 3150	Absorción	Espectroscopía de absorción atómica (AAS)
		Emisión	Espectroscopía de emisión atómica (AES)
		Fluorescencia	Espectroscopia de fluorescencia atómica (AFS)
Electrotérmico	1200 - 3000	Absorción	AAS electrotérmica
		Fluorescencia	AFS electrotérmica
Plasma de corriente continua	5000 - 10.000	Emisión	Espectroscopía de plasma de corriente continua DC, DCP.
Arco eléctrico	3000 - 8000	Emisión	Espectroscopia de emisión de fuente de arco
Chispa eléctrica	Varía con el tiempo y la posición	Emisión	Espectroscopia de emisión de fuente de chispa

Origen de los espectros ópticos atómicos

Los átomos o iones en fase gaseosa únicamente pueden sufrir transiciones electrónicas. Por lo tanto, los espectros de emisión atómica, absorción atómica y fluorescencia se componen de un nº limitado de líneas espectrales bien definidas.

Espectros de emisión

Si se excita un átomo de sodio ($_{11}\text{Na}$: configuración electrónica: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^1$), mediante energía eléctrica o térmica, el electrón del nivel 3s puede saltar a un nivel superior de energía y posteriormente se relajará, volviendo a niveles inferiores de energía, emitiendo energía en forma de radiación electromagnética.

En la figura 1 se esquematiza este proceso para explicar el origen de los espectros de emisión del sodio.

La transición desde o hacia el estado fundamental se conoce como **transición de resonancia** y su línea espectral **línea de resonancia**.

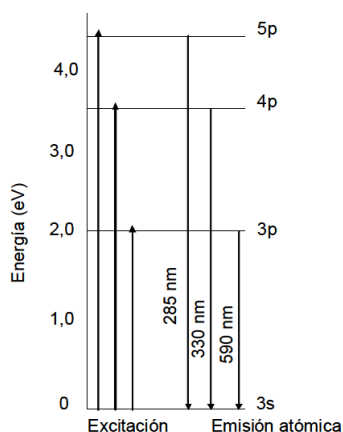


Figura 1. Origen de las 3 líneas de emisión del sodio

Espectros de absorción

Los átomos absorben REM si es de la λ apropiada y algunos e^- pueden pasar a niveles excitados, de mayor energía. En la figura 2 se esquematiza de nuevo este fenómeno para el átomo de Na junto con el espectro obtenido.

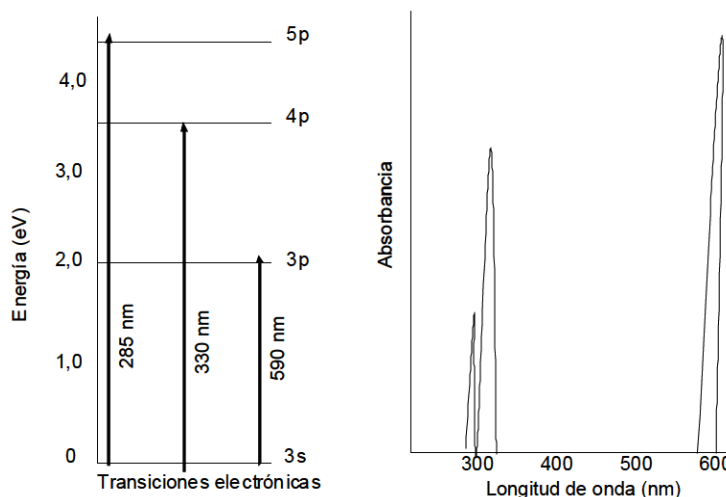


Figura 2. Origen de las 3 líneas de absorción del sodio y esquema del espectro de absorción que se obtendría.

Por tanto, tanto si trabajamos en absorción atómica como en emisión atómica, la medida de la intensidad de la radiación lumínica se realiza a una longitud de onda específica del elemento a determinar. Para deducir la concentración del elemento a partir de las medidas, hay que tener en cuenta que:

- Cuando se analiza mediante **absorción atómica**, la concentración del elemento se deduce de la medida de la absorción de luz por los átomos de los elementos que están en el estado fundamental cuando se irradian con la fuente de radiación adecuada.
- En **emisión atómica**, sin embargo, se mide la intensidad de las radiaciones que emite la fracción de átomos que pasa al estado excitado por acción de la llama o del plasma (efecto térmico) cuando regresan al estado fundamental.

Espectroscopía de emisión atómica

Como acabamos de comentar, la técnica de emisión atómica mide la radiación que emiten los átomos excitados al volver al estado fundamental, y la intensidad de esta radiación es proporcional a la concentración de dicho elemento en la fase gaseosa, por lo que nos es útil para determinar la concentración de dicho elemento. Cada elemento emite fotones de diferente energía, es decir, cada elemento emite a una frecuencia y longitud de onda característica (ver origen de los espectros de emisión) y la intensidad de la radiación emitida es proporcional a la concentración del analito en la llama o el plasma.

Dependiendo de los métodos de excitación utilizados, se habla de emisión atómica mediante llama o fotometría de llama y emisión atómica mediante excitación con arco o chispa eléctrica y espectroscopía de emisión basada en atomización mediante plasma (el más utilizado es el plasma acoplado inductivamente). A continuación, vamos a explicar la técnica de plasma acoplado inductivamente.

Espectroscopía de emisión basada en atomización con plasma

En este caso, los elementos se atomizan en el seno de un plasma, esta técnica permite la determinación de un gran número de elementos metálicos mediante emisión. En primer lugar, debemos estudiar que es un plasma.

Un plasma es una mezcla gaseosa que conduce la electricidad ya que se trata de un gas parcialmente ionizado en el que encontramos cationes y electrones, pero también átomos neutros, de forma que están en equilibrio, manteniéndose la electroneutralidad. Se considera que es el cuarto estado físico de la materia.

Actualmente, los equipos de emisión atómica utilizan plasmas de Argón, por lo que las principales especies químicas conductoras son cationes de Ar y electrones, pero también nos encontramos con cationes (M^{n+}) que provienen de la muestra. Los iones de Ar que hay en el plasma, absorben suficiente energía para mantener la temperatura del plasma ($\approx 8000-10.000$ K).

Hay tres tipos principales de plasmas de alta temperatura:

- **Plasma de acoplamiento inductivo (ICP) (Ar):** el más empleado, permite el análisis simultáneo de varios elementos.
- **Plasma de corriente continua (DCP) con tres electrodos:** Más barato y sencillo, los espectros son más sencillos y menos sensibles. Consume menos Ar.
- **Plasma inducido por microondas (MIP):** no se usa actualmente para análisis de elementos, pero sí como detector en algunos equipos de cromatografía de gases.

La espectroscopia de emisión óptica con fuentes de plasma se basa en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma, permitiendo determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza y ultra traza, partiendo de muestras en disolución acuosa.

Esta técnica es aplicable a la determinación de un gran número de elementos en los cuales sus límites de detección son en general en $\mu\text{g/L}$ (ppb) (figura 3)

[illegible]

Figura 3. Límites de detección en $\mu\text{g/L}$ de algunos de los elementos que se analizan habitualmente mediante ICP-OES

Fuente: Fausto Adrián Pachacama Sola, 2013, tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Católica de Ecuador

Plasma acoplado inductivamente

En este caso, el método utilizado para la obtención del plasma es mediante una tensión de alta frecuencia. En la Figura 4 puede verse un esquema de una antorcha de plasma acoplado inductivamente.

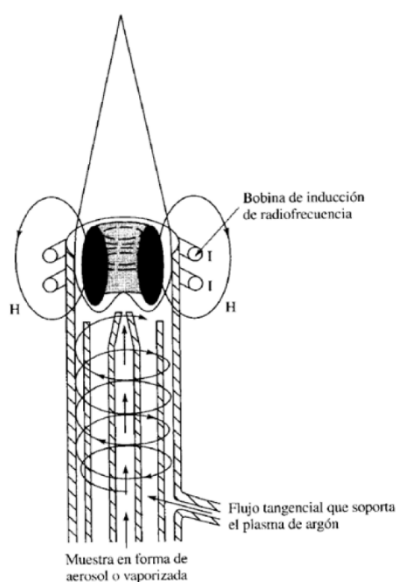


Figura 4. Antorcha para generación de un plasma ICP.

Fuente: Skoog et al., Principios de análisis instrumental, 2001

Una antorcha típica de plasma ICP consta de 3 tubos concéntricos de cuarzo, por los que fluye el gas que va a formar el plasma, Ar. El consumo de Argón depende del diseño de la antorcha y oscila entre 5 y 20 L/min.

Estos tubos se encuentran dentro de una bobina de inducción refrigerada con agua, alimentada con un generador de radiofrecuencia que trabaja a una potencia de 0,5 – 2 kW y a unos 27 - 41 MHz de frecuencia. Para iniciar la ionización del Ar, se precisa una chispa de la bobina Tesla. Una vez formados los iones y electrones (e^-) se mueven en círculos debido al campo magnético (H) que se crea que los mantiene confinados. El plasma creado, se mantiene separado de las paredes por una corriente de gas Ar, que entra tangencialmente, de forma que mantiene el plasma centrado además de enfriar las paredes interiores del tubo central.

El inconveniente que presentan estos equipos de plasma es el gran consumo de Ar lo que supone un coste elevado, por tanto, únicamente serán interesantes si se van a realizar un gran número de análisis. Actualmente se ha optimizado el diseño de la antorcha con lo que se ha conseguido disminuir mucho el consumo de Ar, aun así, es importante tener todas las muestras ya preparadas antes de proceder a los análisis con el fin de optimizar el consumo de Ar.

Algunos equipos más modernos presentan la antorcha girada 90° de forma que está alineada con el espectrofotómetro, lo que mejora el límite de detección de 4 a 10 veces.

El límite de detección de la emisión atómica mediante ICP es incluso del orden de ppb.

La temperatura del plasma varía de 9000 – 2000 K desde la base al extremo de la antorcha, se trata de una llama en forma de corona circular que arde hacia arriba de modo que el centro de la corona está libre que es por donde se introduce la muestra por un tubo central muy fino de 1 a 2 mm de diámetro en forma de aerosol (nebulizada), hasta la zona analítica (unos 20 mm por encima de la bobina) donde la temperatura alcanza los 5000 - 6000 K que es suficiente para excitar a cualquier elemento introducido.

La muestra se introduce mediante un flujo de Ar a un caudal de 0,3 – 1,5 L por minuto a través del tubo central de cuarzo de la antorcha. Se pueden usar distintos tipos de nebulizadores para la introducción de la muestra, como por ejemplo un nebulizador de flujo cruzado como el de la figura 5.

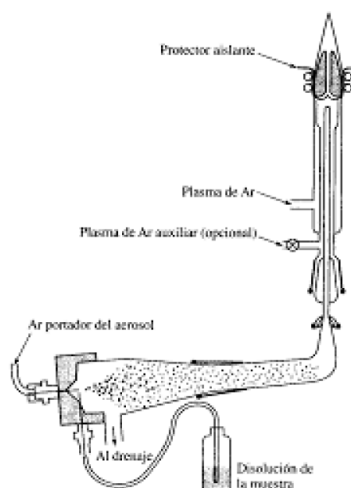


Figura 5. Nebulizador cruzado para la introducción de la muestra en finas gotas en ICP.

Fuente: Skoog et al., Principios de análisis instrumental, 2001

En la actualidad se ofrecen varios diseños de espectrofotómetros de emisión de plasma, la mayoría abarca por completo el espectro ultravioleta y visible, desde 170 a 800 nm.

Algunos equipos están diseñados para trabajar en condiciones de vacío con lo que pueden llegar a longitudes de onda del ultravioleta de hasta 150 ó 160 nm. Esta región de longitudes de onda corta es importante porque elementos como el fósforo, azufre y carbono presentan líneas de emisión en dicha zona (Fausto Adrián Pachacama Sola, 2013, tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Católica de Ecuador y referencias ahí citadas).

Partes de un equipo de ICP-OES

Un equipo ICP-OES, Figura 6, está formado por (Fausto Adrián Pachacama Sola, 2013, tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Católica de Ecuador):

- Un sistema de introducción de la muestra (nebulizador, bomba peristáltica y cámara de nebulización).
- Sistema de producción de emisión (antorcha).
- Sistema de colección y detección de la radiación emitida (elementos de transferencia
- Óptica, mecanismos de dispersión de longitud de onda, espectrómetro y detector).

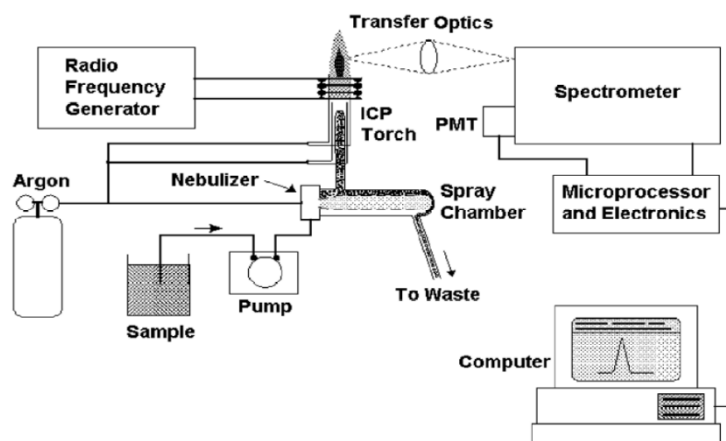


Figura 6. Partes de un equipo de ICP-OES

Fuente: Fausto Adrián Pachacama Sola, 2013, tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Católica de Ecuador

Equipo de ICP-OES de la Universidad Católica de Ávila

El equipo de ICP-OES del laboratorio de Análisis ambiental de la Universidad Católica de Ávila es un equipo de Perkin Elmer, en concreto el modelo AVIO 220 Max. En el siguiente video se puede ver una demostración de cómo funciona el equipo: <https://www.youtube.com/watch?v=eAkwpfiiUao&t=100s> y en este otro video hay más información sobre el equipo: <https://www.youtube.com/watch?v=pd54C6Gb2U0>. Los videos están en inglés, pero puedes ver con más detalles como es el equipo y cómo funciona.

En el laboratorio explicaremos el equipo, sus partes más importantes, y la parte más importante del software.

Así mismo, vamos a ver qué elementos se pueden analizar con el equipo PERKIN ELMER AVIO 220 Max y sus límites de detección.

Aplicaciones en el área de la química ambiental y la toxicología

Mediante esta técnica se pueden realizar análisis de plantas, suelos, rocas, minerales, sedimentos, lodos, alimentos, bebidas, aguas residuales y de consumo. En muchos casos se necesita un tratamiento previo de digestión y disolución ya que es necesario que el elemento a analizar se encuentre en disolución acuosa.

Este método, como ya hemos visto, permite determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza y ultratrazo.

Esquema del procedimiento a seguir para el análisis de elementos mediante ICP-OES

- En primer lugar, debemos saber cuáles son las condiciones más adecuadas para el análisis del contaminante o de los contaminantes que deseamos analizar, es decir,

longitud de onda de emisión del elemento, límite de detección e intervalo de concentraciones más adecuado para la realización de la recta de calibrado.

- Preparar las disoluciones patrón para la realización de la recta de calibrado.
- Preparación de las muestras problema a analizar, digestión y/o dilución si fuera necesario.
- Medida de la intensidad de emisión del elemento en cuestión para los patrones preparados a fin de poder realizar la recta de calibrado, Intensidad de emisión vs concentración del elemento.
- Medida de la intensidad de emisión del elemento en cuestión en las disoluciones problema preparadas.
- Con los datos de intensidad de emisión y concentraciones de los patrones podemos realizar la recta de calibrado empleando, por ejemplo, un programa de cálculo como puede ser el Excel, de Microsoft. Cálculo de la ecuación de la recta de calibrado y coeficiente de regresión lineal, R^2 .
- Una vez que conocemos ecuación de la recta de calibrado, $y = mx + b$ y el valor de "y" (intensidad de emisión) de la disolución problema, podemos calcular x, concentración del elemento en la disolución problema. El resultado de concentración obtenido estará en las mismas unidades que la concentración de las disoluciones patrón.
- Discusión de los resultados contrastando con los datos encontrados en la bibliografía o con los resultados esperados.

PARTE EXPERIMENTAL

Material y reactivos

- Espectrofotómetro ICP-OES Perkin Elmer, modelo AVIO 220 Max
- Argón para el plasma
- $N_2(g)$ para cortar la llama
- Aire sintético que se usa como gas portador y de nebulización.
- Matraces aforados de 100 ml para el método de adiciones estándar (5) y de 50 o de 100 mL para los patrones de Cu y Na (5 patrones externos) y para los patrones de Na con K para aplicar método de patrones internos (5 matraces)
- Patrón de 1000 ppm de Cu, patrón de 1000 ppm de Na y patrón de 1000 ppm de K.
- Pipetas o micropipetas de 1 ml, 5 ml o de 10 ml y puntas.
- Agua Milli Q, (desionizada)
- HNO_3 al 2% para el blanco y para preparar los patrones

Procedimiento**1. Método de calibrado con patrones externos.****1.1 Preparación de los patrones.**

A partir de la disolución comercial de 1000 ppm se prepara por dilución 100 ml de disolución patrón de 100 ppm en HNO_3 al 2%.

A partir de esta disolución patrón de 100 ppm de cada elemento, preparar por dilución con HNO_3 al 2%, las disoluciones de 1, 3, 5, 7 y 10 ppm, para la realización de la recta de calibrado.

Por tanto, en matraces de 100 ml, prepararemos **5 patrones de 1, 3, 5, 7 y 10 ppm de Na** a partir de una disolución patrón de 100 ppm de Na (preparada mediante dilución de la disolución comercial de 1000 ppm de sodio).

Tabla 1. Preparación de patrones externos de Na

Patrón	ppm de Na	V (ml) de la disolución de 100 ppm
1	1	
2	3	
3	5	
4	7	
5	10	

En matraces de 50 ml, prepararemos también **7 patrones de 0,25, 0,5, 1, 3, 5, 7 y 10 ppm de Cu a partir de una disolución patrón de 100 ppm de Cu** (preparada mediante dilución de la disolución comercial de 1000 ppm de cobre) o para los patrones de menor concentración podemos partir mejor del patrón de 10 ppm ya preparado por los técnicos.

Tabla 2. Preparación de patrones externos de Cu

Patrón	ppm de Cu	V (ml) de la disolución de 100 ppm o de la 10 ppm
1	0,25	
2	0,50	
3	1	
4	3	
5	5	
6	7	
7	10	

1.2 Medición

Seleccionar el método para la determinación de Na (fíjate a qué longitud de onda emite el Na) y realizar las medidas de emisión, del **blanco (HNO_3 2% en agua MilliQ)** y de las disoluciones patrón.

Medir a continuación también la emisión de la disolución problema.

Emisión atómica de sodio: realizar las medidas de los patrones de sodio y posteriormente de las muestras de agua a analizar, anotar los resultados.

Tabla 3. Medidas de emisión atómica del Na para los patrones

Patrón	ppm de Na	I emisión
1	1	
2	3	
3	5	
4	7	
5	10	

Realizar la recta de calibrado a partir de los datos obtenidos y comprobar su resultado:

Ecuación de la recta obtenida: _____

Coefficiente de correlación: $R^2 =$ _____

Datos de Intensidad de Emisión y de las muestras de agua analizadas:

Tabla 4. Medidas de emisión atómica del Na para las muestras de agua analizadas

Muestras de agua	I emisión
1	
2	
3	

Si es necesario diluir alguna de las disoluciones, anotar también los resultados para la muestra de agua o extracto diluido.

Tabla 5. Medidas de emisión atómica del Na y de concentración según software del equipo de las muestras diluidas

Muestras de agua diluida	Factor de dilución	I emisión

Ahora ya podemos calcular la concentración de Na a partir de la recta de calibrado obtenida.

Tabla 6. Medidas de emisión atómica del Na y de concentración según recta de calibrado del alumno

Muestras de agua	I emisión	ppm de Na
1		
2		
3		

Tabla 7. Medidas de emisión atómica del Na y de concentración según recta de calibrado del alumno en las muestras diluidas y en las originales

Muestras de agua diluida	Factor de dilución	I emisión	[Na ⁺] _{diluido}	[Na ⁺] _{original}

Emisión atómica de cobre: realizar las medidas de los patrones de cobre y posteriormente de las muestras de agua a analizar, anotar los resultados.

Tabla 8. Medidas de intensidad de emisión atómica del Cu de los patrones externos

Patrón	ppm de Cu	I
1	0,25	
2	0,50	
3	1	
4	3	
5	5	
6	7	
7	10	

Realizar la recta de calibrado a partir de los datos obtenidos y comprobar su resultado:

Ecuación de la recta obtenida: _____

Coefficiente de correlación: $R^2 =$ _____

Datos de Intensidad de emisión de Cu de las muestras de agua analizadas:

Tabla 9. Medidas de intensidad de emisión atómica del Cu de las muestras

Muestras	I
1	
2	
3	

Si es necesario diluir alguna de las disoluciones, anotar también los resultados para la muestra diluida.

Tabla 10. Medidas de intensidad de emisión atómica del Cu de las muestras diluidas

Muestras	Factor de dilución	I

Ahora ya podemos calcular la concentración de Cu a partir de la recta de calibrado obtenida.

Tabla 11. Medidas de absorción atómica del Cu y de concentración según recta de calibrado del alumno

Muestras de agua	I	ppm de Cu
1		
2		
3		

Tabla 12. Medidas de emisión atómica del Cu y de concentración según recta de calibrado del alumno en las muestras diluidas y en las originales

Muestras de agua diluida	Factor de dilución	I	[Cu ²⁺] _{diluido}	[Cu ²⁺] _{original}

2. Método de calibrado por el método de patrón interno para el Na – método gráfico

En primer lugar, vamos a preparar los patrones de Na dopados con 10 ppm de K cada uno para aplicar el método gráfico de calibrado con patrón interno. Matraces de 100 mL

Tabla 13. Preparación de patrones de Na dopados con K

Patrón	ppm de Na	V (ml) de la disolución de 100 ppm de Na	ppm de K	V de disolución de 100 ppm de K a pipetear
1	1		10	
2	3		10	
3	5		10	
4	7		10	
5	10		10	

Realizar las medidas de las disoluciones patrón mediante emisión atómica para la determinación de Na mediante el método de patrón interno. Para ello, debemos conocer tanto la emisión de Na como la emisión de K de los patrones y muestras problemas que contienen todas ellas 10 ppm de K.

El método que hemos usado para medir el sodio, también nos permite analizar el potasio. Aunque no hemos preparado patrones externos de potasio para hacer la recta de calibrado, no es necesario ya que se puede hacer con una recta de calibrado, previamente guardada.

Medir también la disolución problema, por emisión (para el Na y el K).

Emisión atómica de sodio y de potasio: realizar las medidas de los patrones de sodio dopados con 10 ppm de K y posteriormente de las muestras de agua a analizar, anotar los resultados, tanto de intensidad de emisión del Na como de intensidad de K.

Tabla 14. Medidas de emisión atómica del Na y del K para los patrones de Na dopados con K

Patrón	ppm de Na	I emisión Na	I emisión K	I_{Na}/I_K
1	1			
2	3			
3	5			
4	7			
5	10			

Ecuación de la recta de calibrado I_{Na}/I_K vs ppm de Na: _____ (calibrado patrón interno)

Coefficiente de regresión R^2 : _____

Tabla 15. Datos de Intensidad de Emisión de Na y de K de las muestras de agua analizadas:

Muestra de agua	I emisión Na	I emisión K	I_{Na}/I_K
1			
2			

Si es necesario diluir alguna de las disoluciones, anotar también los resultados para la muestra de agua o extracto diluido.

Tabla 16. Datos de intensidad de emisión del Na y del K en las muestras de agua diluidas

Muestra de agua diluida	Factor de dilución	I emisión Na	I emisión K	I_{Na}/I_K

NOTA: Para poder aplicar este método gráfico a las muestras diluidas, tendremos que añadir disolución patrón de potasio y HNO_3 al 2% para diluir, de modo que la concentración final del patrón interno (K) siga siendo de 10 ppm. Si simplemente diluimos con HNO_3 al 2%, esta concentración bajaría también a la mitad.

Calcula la concentración de Na a partir de la recta de calibrado I_{Na}/I_K vs ppm Na.

Tabla 17. Medidas de emisión atómica del Na y de K, de la relación de señales y de concentración según recta de calibrado del alumno

Muestras de agua	I emisión Na	I emisión K	I_{Na}/I_K	$[Na^+]$
1				
2				

Tabla 18. Medidas de emisión atómica del Na y del K, de la relación de señales y de concentración según recta de calibrado del alumno en las muestras diluidas

Muestras de agua diluida	Factor dilución	I emisión Na	I emisión K	I_{Na}/I_K	$[Na^+]_{diluido}$	$[Na^+]_{original}$

3. Método de calibrado mediante adiciones estándar para el cobre y el sodio

En primer lugar, vamos a preparar las disoluciones a medir y a continuación mediremos la intensidad de emisión del sodio y del cobre de todas las disoluciones preparadas y haremos las representaciones de las rectas de calibrado de adiciones estándar (I_{Na} vs $[Na]_{patrón\ final}$ e I_{Cu} vs $[Cu]_{patrón\ final}$) y procederemos a calcular las concentraciones de cobre y sodio tanto en la muestra diluida como en la disolución original.

Para la preparación de las disoluciones a medir para el método de adiciones estándar, etiquetaremos 5 matraces de 100 mL, del 1 a 5. A todos ellos añadiremos 25 mL de la muestra problema a analizar y a continuación cantidades crecientes del patrón de Cu^{2+} y Na^+ de 100 ppm (o de los patrones de Cu^{2+} 100 ppm y Na^+ 100 ppm) de modo que al final, una vez enrasados los matraces con agua destilada, las concentraciones finales de Cu(II) y Na(I) provenientes del patrón (o de los patrones) sean de 0 ppm; 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm y 8 ppm, respectivamente

Tabla 21. Preparación de las disoluciones a analizar para determinar cobre mediante el método de adiciones estándar.

	Matraz 1	Matraz 2	Matraz 3	Matraz 4	Matraz 5
$[Cu^{2+}]_{patrón\ final}$	0 ppm	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm
V muestra problema	25 ml	25 ml	25 ml	25 ml	25 ml
V disolución patrón de 100 ppm de Cu^{2+}	0 ml				
Completar con agua destilada hasta aforo	_____ml				
Volumen total matraz	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml

A continuación, mediremos la intensidad de emisión de todas las disoluciones preparadas y haremos la representación de la recta de calibrado de adiciones estándar y procederemos a calcular la concentración de cobre tanto en la muestra diluida como en la disolución original.

Tabla 22. Medidas de intensidad para matraces del método de adiciones estándar.

Matraz	$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{patrón final}}$	I
1	0 ppm	
2	2 ppm	
3	4 ppm	
4	6 ppm	
5	8 ppm	

Recta de calibrado del método de adiciones estándar: _____

Concentración de cobre tanto en la muestra diluida como en la disolución original.

 $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{diluida}} =$
 $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{muestra original}} =$

Tabla 23. Preparación de las disoluciones a analizar para determinar sodio mediante el método de adiciones estándar.

	Matraz 1	Matraz 2	Matraz 3	Matraz 4	Matraz 5
$[\text{Na}^+]_{\text{patrón final}}$	0 ppm	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm
V muestra problema	25 ml	25 ml	25 ml	25 ml	25 ml
V disolución patrón de 100 ppm de Na^+	0 ml				
Completar con agua destilada hasta aforo	_____ ml				
Volumen total matraz	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml

A continuación, mediremos la intensidad de emisión de todas las disoluciones preparadas y haremos la representación de la recta de calibrado de adiciones estándar y procederemos a calcular la concentración de sodio tanto en la muestra diluida como en la disolución original.

Tabla 24. Medida intensidad de emisión método adiciones estándar.

Matraz	$[\text{Na}^+]_{\text{patrón final}}$	I_{Na}
1	0 ppm	
2	2 ppm	
3	4 ppm	
4	6 ppm	
5	8 ppm	

 Recta de calibrado del método de adiciones estándar para el ion Na^+ : _____

Concentración de sodio tanto en la muestra diluida como en la disolución original.

 $[\text{Na}^+]_{\text{diluida}} =$
 $[\text{Na}^+]_{\text{muestra original}} =$

4. Cálculo del error cometido en la determinación de Na y Cu mediante los diferentes métodos:

Pide al profesor que te indique las concentraciones teóricas de Na y Cu que contenían las disoluciones problema analizadas para poder realizar los cálculos del error relativo y absoluto para los diferentes métodos.

[Na⁺] muestra problema 1 =

[Cu²⁺] muestra problema 1 =

[Na⁺] muestra problema 2 =

[Cu²⁺] muestra problema 2 =

Tabla 25. Cálculo del error cometido al calcular concentración de cobre con los diferentes métodos

PROBLEMA	[Cu ²⁺] _{teórica}	[Cu ²⁺] _{experimental}	Método calibrado	Error absoluto	Error relativo (%)
1			PATRONES EXTERNOS		
2			PATRONES EXTERNOS		
3			PATRONES EXTERNOS		
1			ADICIÓN ESTANDAR		

NOTA: Para las muestras que ha habido que diluir, debes utilizar el dato de concentración de cobre o sodio obtenido para la muestra original. En el caso de adiciones estándar, sólo preparamos los matraces con muestra problema 1. Tendríamos que haber preparado otros tantos matraces para analizar también la muestra problema 2 o la 3 por este método.

Tabla 26. Cálculo del error cometido al calcular concentración de sodio con los diferentes métodos

PROBLEMA	[Na ⁺] _{teórica}	[Na ⁺] _{experimental}	Método calibrado	Error absoluto	Error relativo (%)
1			PATRONES EXTERNOS		
1			PATRÓN INTERNO – MÉTODO GRÁFICO		
1			ADICIÓN ESTANDAR		
2			PATRONES EXTERNOS		

NOTA: Para las muestras que ha habido que diluir, debes utilizar el dato de concentración de cobre o sodio obtenido para la muestra original. En el caso de adiciones estándar, sólo preparamos los matraces con muestra problema 1. Tendríamos que haber preparado otros tantos matraces para analizar también la muestra problema 2 o la 3 por este método.

BIBLIOGRAFIA

- **Christian, G. D.** "Química Analítica", Ed. McGraw-Hill, (6ª ed.), 2009.
- **Harris, D.C.** "Análisis Químico Cuantitativo". Ed. Reverté (3ª ed), 2007.
- **Rouessac, F.; Rouessac, A.** "Análisis Químico: Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas" Ed. McGraw-Hill, 2003.
- **Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A.** "Principios de Análisis Instrumental" Ed. McGraw-Hill, (5ª ed.), 2001.
- **Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, J. & Crouch, S. R.** "Fundamentos de Química Analítica". Ed. Thomson, (8ª ed), 2005
- **Pachacama Sola, F. A.** "Determinación de azufre, boro y fósforo en tejido foliar por espectrofotometría de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES). Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, 2013.