

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA**

**UNAN – LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

***“ELABORACIÓN Y APLICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS OPERATORIOS NORMALIZADOS DE TRABAJO DE LAS PRACTICAS DE METODOS INSTRUMENTALES DE ANALISIS I”***

**MONOGRAFÍA  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADAS EN QUÍMICA**

**PRESENTADA POR:**

**BRA. María Magdalena Piura Salmerón  
BRA. Meurys Norelys Soto Rivas  
BR. Edwin David Ordoñez Hernández**

**TUTOR:**

**Msc. FABIO JOSÉ PALAVICCINI NARVAEZ**

**2012: AÑO DEL BICENTENARIO**

## **AGRADECIMIENTOS**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios nuestro Señor por darnos la fortaleza y la sabiduría para concluir con éxitos nuestros estudios universitarios.

A nuestras queridas familias por brindarnos siempre su inmenso soporte y su infinito amor, por la comprensión en el cansancio y nuestro mal humor en los desvelos, por las largas horas de ausencia comprendida y la sonrisa en sus rostros al vernos llegar a casa.

A nuestro tutor Fabio José Pallavicini Narváez por haber aceptado el reto de guiarnos al desarrollo de nuestro trabajo, demostrando su paciencia y preocupación con nosotros.

A nuestros maestros, por siempre apoyarnos en el camino de nuestra formación y compartir sus valiosos conocimientos

## INDICE

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
III. OBJETIVOS.....	3
III.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
III.2 OBJETIVO ESPECIFICO.....	3
IV. MARCO TEORICO.....	4
IV.1. DOCUMENTOS DE UN SISTEMA DE CALIDAD.....	4
IV.1.1. GENERALIDADES.....	4
IV.1.2. TIPOS DE DOCUMENTOS.....	6
IV.1.2.1. MANUAL DE LA CALIDAD.....	6
IV.1.2.2. LOS PROCEDIMIENTOS.....	8
IV.1.2.2.1. PROCEDIMIENTOS DE GESTION.....	9
IV.1.2.2.2. PROCEDIMIENTOS TECNICOS.....	10
IV.1.2.2.3. PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS NORMALIZADOS (PON).....	11
IV.1.2.3. INSTRUCTIVOS.....	13
IV.1.2.4. REGISTROS.....	13
IV.1.2.5. GESTION DE LA DOCUMENTACION.....	14
IV.2. ESPECTROFOTOMETRIA.....	15
IV.2.1. LEYES FUNDAMENTALES DE ABSORCION DE RADIACION ELECTROMAGNETICA.....	17
IV.2.2. LEY DE LAMBERT BEER.....	18
IV.2.3. ERROR FOTOMETRICO.....	20
IV.2.3.1. EFECTO DE LAS INCERTIDUMBRES.....	21
IV.2.4. CALIBRACION DEL ESPECTROFOTOMETRO.....	22
IV.2.4.1. CALIBRACION.....	22
IV.2.4.2. VERIFICACION.....	25
IV.2.4.3. PATRONES DE MEDICION.....	25
IV.2.4.4. PREPARACION DE LOS MATERIALES DE REFERENCIA.....	28
IV.2.4.5. PROBLEMAS HABITUALES EN LA SELECCIÓN DE LOS MATERIALES DE REFERENCIA.....	29
IV.2.5. APLICACIONES CUANTITATIVAS.....	29
IV.3. ALGUNOS PARAMETROS DE VALIDACION.....	31
IV.3.1. PRECISION.....	31
IV.3.2. EXACTITUD.....	32
IV.3.3. LINEALIDAD.....	33
IV.3.4. INCERTIDUMBRE.....	33
IV.4. METODOS DE CUANTIFICACION.....	34
IV.4.1. COMPARACION DIRECTA.....	34
IV.4.2. COMPARACION POR ADICION PATRON.....	34

IV.4.3. CURVA DE CALIBRACION NORMAL.....	35
IV.4.4. CURVA ADICION PATRON.....	36
V. METODOLOGIA UTILIZADA.....	37
VI. ANALISIS DE RESULTADOS.....	38
VI.1. SELECCIÓN DE LAS PRACTICAS DE LABORATORIO.....	38
VI.2.ELABORACION DE LOS PROCEDIMIENTOS E INSTRUCTIVOS.....	38
VI.3. EVALUACION DEL CONTENIDO DE LAS PRACTICAS DE LABORATORIO.....	41
VI.4. PRESENTACION DE LOS DOCUMENTOS ELABORADOS.....	42
VI.4.1. PRACTICA DE LABORATORIO N°1.....	43
VI.4.2. PRACTICA DE LABORATORIO N°2.....	52
VI.4.3 PRACTICA DE LABORATORIO N°3.....	56
VI.4.4. PRACTICA DE LABORATORIO N°4.....	64
VI.4.5. INFORME DE LABORATORIO N°1.....	71
VI.4.6. INFORME DE LABORATORIO N°2.....	78
VI.4.7. INFORME DE LABORATORIO N°3.....	90
VI.4.8. INFORME DE LABORATORIO N°4.....	103
VI.4.9. INSTRUCTIVO DEL ESPECTROFOTOMETRO.....	109
VII. CONCLUSIONES.....	111
VIII. RECOMENDACIONES.....	112
IX. BIBLIOGRAFIA.....	113

### I. RESUMEN

En el presente trabajo monográfico se elaboraron cuatro prácticas de laboratorio siguiendo los contenidos recomendados para los procedimientos operatorios normalizados y apoyándonos en la ISO-IEC TR 10013, también se elaboró un instructivo perteneciente al manejo del espectrofotómetro utilizado para las prácticas del laboratorio. También se elaboraron cuatro informes del laboratorio pertenecientes a los resultados de las prácticas de laboratorio.

En ellas se abarcaron algunos temas como: la calibración del espectrofotómetro, evaluación de la concentración de nitratos en agua del grifo por ultravioleta visible para verificar el cumplimiento de la ley de Lambert Beer y verificar si existe error fotométrico, se tomaron en cuenta parámetros como: linealidad, incertidumbre, precisión. Del mismo modo se determinó la concentración de hierro en aguas por complejación con fenantrolina para evaluar la veracidad del método y si existe efecto de matriz en el mismo. Se evaluó también la determinación de hierro con Tiocianato en la misma muestra de agua.

Toda la documentación elaborada se evaluó su contenido de tal forma que cumpliera con las competencias y subcompetencias pertenecientes al componente curricular métodos instrumentales de análisis I.

## **INTRODUCCION**

---

### **I. INTRODUCCIÓN**

El componente Métodos Instrumentales de Análisis I el cual comprende tanto la parte teórica como la práctica, es de vital importancia para el inicio del manejo de la instrumentación Química vinculado a la espectroscopia y sobre todo los métodos espectrofotométricos ultravioleta visible.

Este componente además de los conocimientos en la instrumentación química también se adquieren habilidades en el manejo de cristalería, preparación de soluciones, calibración de espectrofotómetro, uso de materiales de referencias y métodos de cuantificación como: comparación directa, adición patrón, curva de calibración normal y curva de adición patrón.

Estas prácticas se realizan en el laboratorio de análisis instrumental perteneciente al departamento de Química, además que están relacionados a los conocimientos adquiridos en las clases teóricas; es decir que hay un vínculo en el aprendizaje teórico práctico.

Debido a la gran importancia de la realización de las prácticas de laboratorio es necesario elaborar las guías de laboratorios que se estudiarán. Es decir elaborar la documentación perteneciente a las prácticas espectroscópicas. La documentación de estas prácticas son elaboradas como procedimientos operatorios normalizados.

La elaboración de la documentación pueden ser apoyadas en la guía ISO / TR 10013 la cual presenta directrices para la documentación del sistema de gestión de la calidad. Toda la documentación de un sistema de gestión de la calidad puede contener diferentes tipos de documentos como: manual de la calidad, procedimientos de gestión y técnicos, registros, planes, formatos, etc. Los cuales son indispensables para cualquier laboratorio que desee implementar el sistema de gestión de la calidad.

## **OBJETIVOS**

---

### **II. OBJETIVOS**

#### **III.1 OBJETIVO GENERAL**

Elaborar y aplicar los procedimientos operativos normalizados de trabajo de las prácticas de métodos Instrumentales de análisis I.

#### **III.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Seleccionar los documentos a elaborar correspondiente a las prácticas de laboratorio de métodos instrumentales de análisis I.
2. Elaborar los procedimientos operatorios normalizados de métodos instrumentales de análisis I.
3. Evaluar el contenido de estudio de las prácticas de laboratorio en base a las competencias.
4. Elaborar los instructivos seleccionados.
5. Realizar el montaje de las prácticas de laboratorio de métodos instrumentales de análisis I.
6. Elaborar los informes de las prácticas realizadas.

### IV. MARCO TEORICO

#### IV.1. Documentos de un sistema de gestión de calidad

##### IV.1.1. Generalidades.

La gestión de la calidad tiene impacto estratégico en la empresa y representa una oportunidad competitiva, poniendo especial énfasis en el mercado y en las necesidades del cliente. Así, el sistema de calidad hace que las actividades que se desarrollen se realicen bien la primera vez de llevarlas a cabo y no se produzcan errores.

La calidad se basa, junto con la rentabilidad del negocio, en la satisfacción del cliente, el cual cobra un papel esencial en la negociación y excelencia permanente en todas y cada una de las acciones de la empresa. Ya que, con tantos factores involucrados en la administración de la calidad que exigen a las empresas el cumplimiento de las demandas del mercado, resulta esencial que una compañía tenga un sistema claro y bien estructurado que determine, documente, coordine y mantenga todas las actividades clave que son necesarias en todas sus operaciones. Puesto que esto a las pequeñas empresas les proporciona un fundamento sólido que las prepara para competir contra grandes consorcios brindando la confianza a los clientes que ofrecen productos y/o servicios de calidad.

Un Sistema de Gestión de la Calidad es una serie de actividades coordinadas que se llevan a cabo sobre un conjunto de elementos (Recursos, Procedimientos, Documentos, Estructura organizacional y Estrategias) para lograr la calidad de los productos o servicios que se ofrecen al cliente, es decir, planear, controlar y mejorar aquellos elementos de una organización que influyen en satisfacción del cliente y en el logro de los resultados deseados por la organización

El principal objetivo que persigue la implantación de cualquier diseño de gestión de calidad, es destacar la capacidad de proporcionar un mayor grado de confianza sobre los actuales y potenciales futuros clientes de productos o servicios que una determinada empresa o entidad oferta.

## MARCOTEORICO

---

- Cuando es implantado de forma efectiva un sistema de calidad determinado, se está proporcionando un valor añadido al producto.
- Cualquier empresa que se decida a implantar un sistema de calidad, muestra como organización una preocupación por la mejora continua.

Tomando en consideración tanto la importancia de tener y mantener una adecuada gestión de la calidad, haciendo énfasis en el servicio, así como el mantener como ente principalmente importante en la organización a sus clientes, y su satisfacción, Posterior a ello la organización deberá realizar una evaluación de los recursos con que cuenta y evaluar y escoger entre distintas alternativas de mejora, cual implantar tomando en cuenta todo lo anterior analizado (objetivos estratégicos, los clientes y su satisfacción y los recursos disponibles), para finalizar con una evaluación general para apreciar en qué grado se ha conseguido mejoras en la organización. Este ciclo debe de aplicarse constantemente para mantener una ventaja competitiva continua.

La importancia de este sistema documental radica principalmente en que se pasa de una cultura oral a una cultura escrita, en que se especifican con claridad los procedimientos de trabajo, las responsabilidades de cada área, los compromisos de calidad, las especificaciones técnicas que deben cubrir los productos o servicios, los métodos de verificación y prueba, así como los registros de atención y servicio que se brinda al cliente. La gestión del sistema de calidad está caracterizada según por “la eficiencia, la eficacia y la equidad; así como el establecimiento y mejora de flujos de información que proporcionen toda la información relevante en cada área, y formas de coordinación entre unidades que permitan el suficiente ajuste entre las mismas”. De modo que la organización busque mejoras en la comunicación entre sus miembros y así facilite el desarrollo efectivo de procesos orientados a la mejora continua y a la satisfacción del cliente. Una parte primordial para la implementación del Sistema de Gestión de la Calidad es que todo el proceso y las actividades realizadas se encuentren documentadas, de acuerdo los diferentes tipos de documentos. (1)

## MARCOTEORICO

---

### IV.1.2. Tipos de documentos.

Es una descripción de estructura y sintaxis de un documento, Su función básica es la descripción de la estructura de datos, para usar una estructura común y mantener la consistencia. De esta forma, dichos documentos pueden ser validados, conocen la estructura de los elementos y la descripción de los datos que trae consigo cada documento, y pueden además compartir la misma descripción y forma de validación dentro de un grupo de trabajo que usa el mismo tipo de información.

De acuerdo a esto podemos considerar cuatro categorías básicas de documentos:

- El manual de la calidad.
- Los procedimientos.
- Las instrucciones de trabajo.
- Los registros.

#### IV.1.2.1. Manual de la calidad

Es un documento donde se especifican la misión y visión de una empresa con respecto a la calidad así como la política de la calidad y los objetivos que apuntan al cumplimiento de dicha política.<sup>(2)</sup>

El Manual de Calidad expone además la estructura del sistema de gestión de calidad es un documento público.

La estructura del manual de la Calidad puede ser variable y en diferentes formas, sin embargo es primordial que presente algunos contenidos como:

- Presentación/Portada  
Se utiliza para plantear la presentación que el documento tendrá y la información que contendrá.
- Índice.

Puede diseñarse solo para indicar cada uno de los capítulos y secciones de las que consta el documento.

## MARCOTEORICO

---

- Política de la calidad.

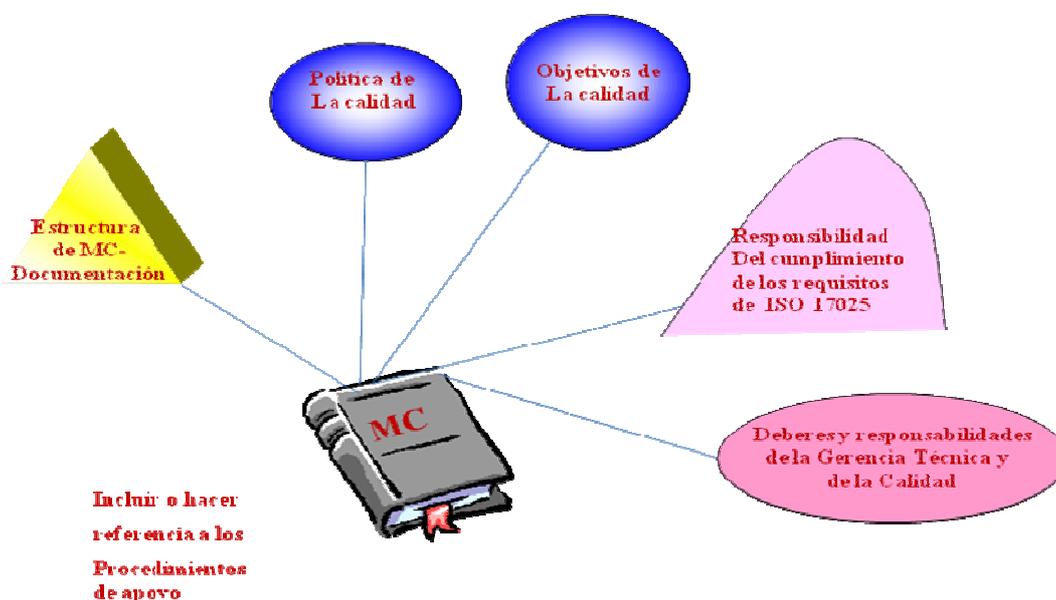
Adquiere una gran importancia, ya que en el mismo el máximo responsable del laboratorio, realiza una declaración indicando: La independencia e imparcialidad del mismo, así como los objetivos de la calidad que fomentan la implantación del sistema, su compromiso con la calidad, y con la provisión de medios y personal que se requieran para alcanzar los mismos de forma satisfactoria.

- Organización.

Es este uno de los apartados más importantes en donde se describe detalladamente la organización, utilizándose los siguientes sub-apartados: Identificación del laboratorio, descripción de puestos, organigramas, referencias a Procesos, formatos y registros.

Descripción de algunos ítems de la norma.

En la figura 1 se puede observar claramente el contenido mínimo que debe estar dentro del manual de la calidad o cualquier nombre que se le asigne.



*Figura Nº1 contenido mínimo para un manual de calidad*

## MARCOTEORICO

---

### IV.1.2.2. Los procedimientos

Es una forma específica de llevar a cabo una actividad o un proceso, también los podemos denominar como los documentos organizativos del sistema de calidad que no contienen detalles sobre la manera de llevar a cabo sus actividades técnicas o administrativas.

Estructura y formato: Puede ser un texto, un diagrama de flujo, una tabla, una combinación de los 3 o cualquier otro método adecuado que satisfaga las necesidades de la organización.

Deben contener la información necesaria y tener una identificación única

Pueden hacer referencia a Instrucciones de trabajo, las cuales definen cómo se lleva a cabo una actividad.

Los Procedimientos documentados generalmente describen actividades que competen a funciones diferentes.

¿Qué se debe hacer?	Explicación de las actividades.
¿Quién debe hacerlo?	Responsables.
¿Cuándo debe hacerse?	Periodicidad.
¿Cómo debe hacerse?	Si es necesario uno o varios modos operatorios específicos o procedimientos específicos.

El contenido mínimo que debe tener los procedimientos es el siguiente:

- Título
- Propósito
- Alcance

## MARCOTEORICO

---

- Responsabilidad y autoridad
- Descripción de actividades
- Registros
- Anexos
- Revisión y aprobación
- Identificación de cambios.

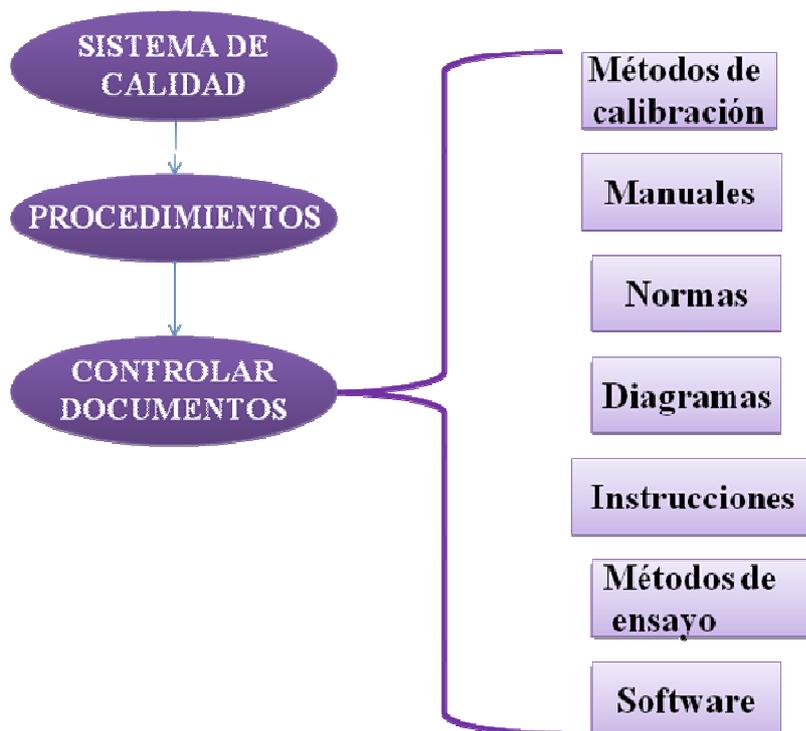
Podemos encontrar diferentes tipos o clasificación de procedimientos y estos pueden ser:

- Procedimientos de gestión
- Procedimientos técnicos
- Procedimientos operativos normalizados

### **IV.1.2.2.1. Procedimiento de gestión**

Los procedimientos de Gestión están relacionados conforme a los requisitos de Gestión de la norma ISO/IEC 17025, es decir donde se destaque aquellos aspectos como: control de la documentación, subcontrataciones realizadas por el laboratorio, las compras que se realizan, las supervisiones por la dirección, las auditorías internas. Las acciones correctivas y preventivas que ejecuta y realiza el laboratorio, etc. (3)

Dentro de los procedimientos de Gestión se encuentra control de los documentos del sistema de Gestión de la Calidad. Algunos documentos a controlar se presentan en la figura No. 2



*Figura N° 2 principales documentos a controlar en los procedimientos de gestión*

### IV.1.2.2.2. Procedimientos técnicos

Entre estos procedimientos tenemos aquellos en los cuales existen factores que determinan la exactitud y la confiabilidad de los ensayos o de las calibraciones realizadas por un laboratorio, algunos ejemplos de procedimientos técnicos como:

**Personal:** En algunas áreas técnicas (por ejemplo, los ensayos no destructivos), puede requerirse que el personal que realiza ciertas tareas posea una certificación de personal.

**Instalaciones y condiciones ambientales:** debe asegurarse de que las condiciones ambientales no invaliden los resultados ni comprometan la calidad requerida de las mediciones.

**Métodos de ensayo y de calibración y validación de los métodos:** debe aplicar métodos y procedimientos apropiados para todos los ensayos o las calibraciones

## MARCOTEORICO

---

dentro de su alcance. Estos incluyen el muestreo, la manipulación, el transporte, el almacenamiento y la preparación de los ítems a ensayar o a calibrar.<sup>(3)</sup>

### **IV.1.2.2.3. Procedimiento Operativo Normalizado (PON)**

Deben ser claros, organizados y detallados. Realizar un seguimiento puntual que es de obligado cumplimiento

#### Definición

Los procedimientos normalizados de trabajo son documentos complementarios al manual de calidad, generalmente referenciados en el mismo, que describen con detalle quien y como deben realizarse las actividades ahí previstas. En caso de que recojan únicamente requisitos normativos suelen denominarse procedimientos operativos de calidad o procedimientos generales.

El objetivo del manual de procedimientos es satisfacer las necesidades de los empleados de la empresa. A diferencia del manual de calidad, el manual de procedimientos no es un documento público ya que debe reflejar los conocimientos y la forma de trabajo de la empresa y su acceso está restringido al personal autorizado de la empresa.

Un procedimiento determina una o varias acciones que debe realizar una persona con formación adecuada siguiendo las instrucciones descritas en el procedimiento y que genera uno o varios registros de calidad. El procedimiento debe indicar quien una actividad como la realiza, como lo documentan y que otras acciones se realizan de forma consecutiva.<sup>(1)</sup>

#### Contenido

Debe incluir como mínimo

- Número de identificación del método.
- Fecha de autorización del método.
- Título.
- Referencias.

## MARCOTEORICO

---

- Aplicación.
- Principios básicos.
- Aparatos y reactivos.
- Precauciones de seguridad.
- Procedimiento detallado.
- Cálculos.
- Estadística.
- Garantía de la calidad.
- Comentarios.

El manual de procedimientos normalizados debe permitir

- Conocer las actividades de la empresa
- Conocer los responsables de cada actividad y la delegación de autoridad
- Conocer la frecuencia con que se realizan estas actividades
- Conocer los documentos que son necesarios para realizar cada actividad
- Conocer los registros que se generan con cada actividad
- Conocer quien tiene autoridad para aceptar las desviaciones que se pueden producir al realizar dichas actividades

La estructura de un PON puede ser el mismo de un procedimiento de Gestión

### **Ejemplo**

1. Objetivo
2. Alcance
3. Términos / Abreviaturas
4. Responsabilidades
5. Parte experimental
6. Documentos Relacionados
7. Referencias Normativas

## MARCOTEORICO

---

### IV.1.2.3. Instructivos

Son documentos en los que se describen de forma ordenada y detallada todas las operaciones que hay que realizar para llevar a cabo las actividades rutinarias de una organización. Ejemplo instructivo para la elaboración de documentos, cualificación del personal, manejo de equipos. etc.

Estructura y formato:

Deberían estar desarrolladas y mantenidas para describir el desempeño de todo trabajo que podría verse afectado por falta de tales instrucciones.

Estas deben contener el título y una identificación única:

La estructura, formato y nivel de detalle utilizan deberían adaptarse a las necesidades del personal y de la complejidad del trabajo, métodos utilizados, formación recibida y las habilidades y calificación del personal. La estructura puede variar con respecto a la de los procedimientos documentados. Pueden estar incluidas en los procedimientos o hacerse referencias a ellas.<sup>(4)</sup>

### IV.1.2.4. Registros

Muestran los resultados obtenidos o proporcionan evidencias que indica que se están realizando las actividades establecidas en los procedimientos documentados e instrucciones de trabajo.

Son los medios utilizados por las organizaciones para documentar sus actividades, ya sean actividades de calidad o actividades técnicas.

Podemos encontrar registros de gestión como formación del personal, contrataciones, quejas, reclamos etc. También podemos encontrar registros técnicos como calibración de los instrumentos de medida, condiciones ambientales, datos obtenidos experimentales etc. <sup>(4)</sup>

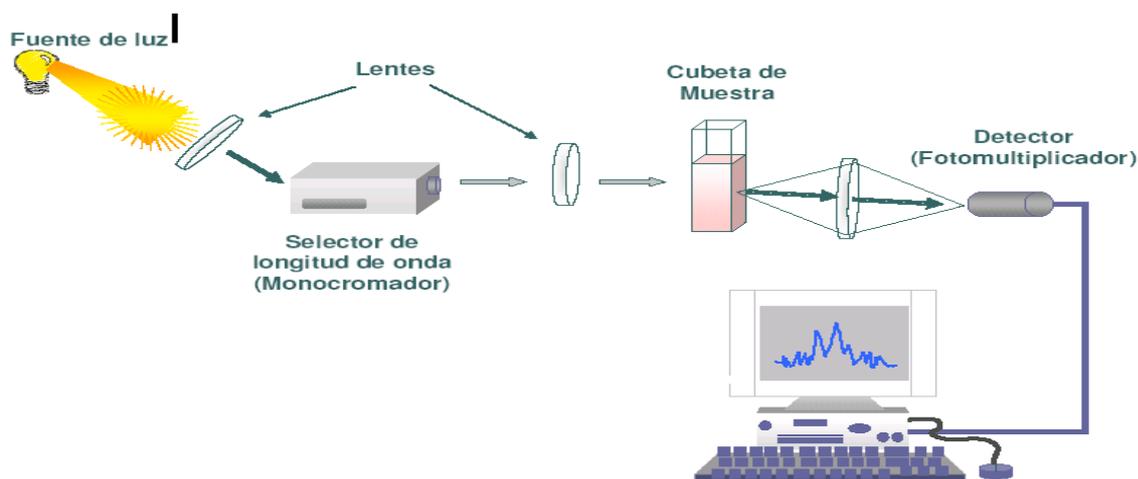


### IV.2 Espectrofotetría

La espectrofotetría es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe radiación de longitudes de ondas que no pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo. La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida.

El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbidas.<sup>(5)</sup>



*Figura nº4 esquema de un espectrofotómetro*

## MARCOTEORICO

La espectrofotometría ultravioleta-visible usa haces de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar los materiales en la región ultravioleta y visible del espectro.

Al campo de luz uv de 200 a 400 nm se le conoce también como rango de uv cercano, la espectrofotometría visible solamente usa el rango del campo electromagnético de la luz visible, de 400 a 800 nm.

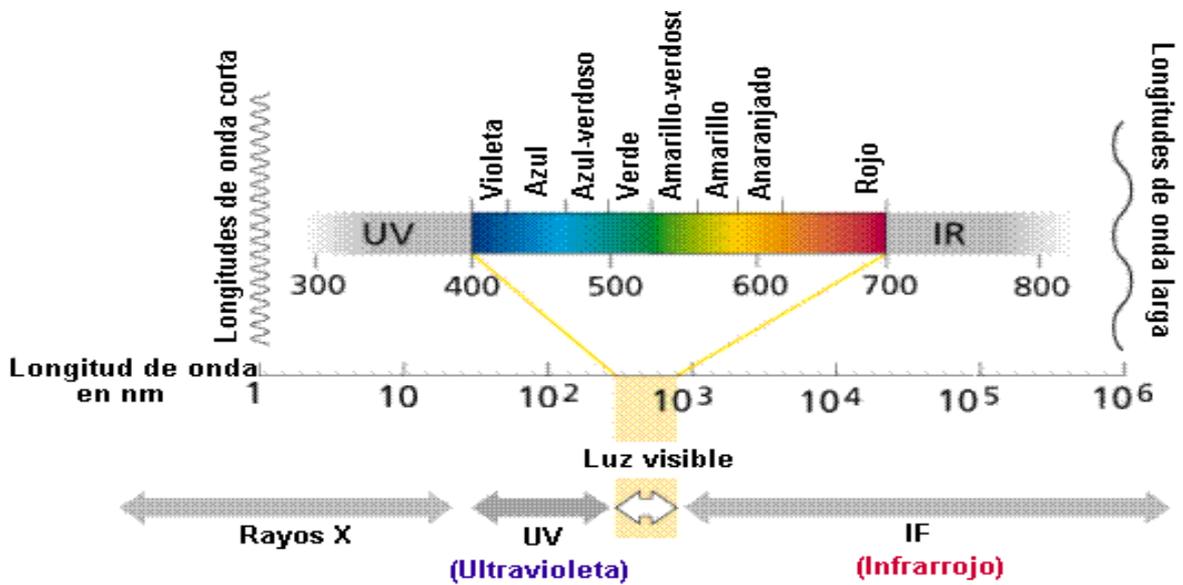


Figura n° 5 espectros electromagnéticos

Además, no está de más mencionar el hecho de que la absorción y transmitancia de luz depende tanto de la cantidad de la concentración como de la distancia recorrida.

## MARCOTEORICO

### IV.2.1. LEYES FUNDAMENTALES DE ABSORCIÓN DE RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA.

Cuando un haz de radiación electromagnética atraviesa una solución que contiene partículas absorbentes, la intensidad de de la radiación se ve disminuida por fenómenos tales como:

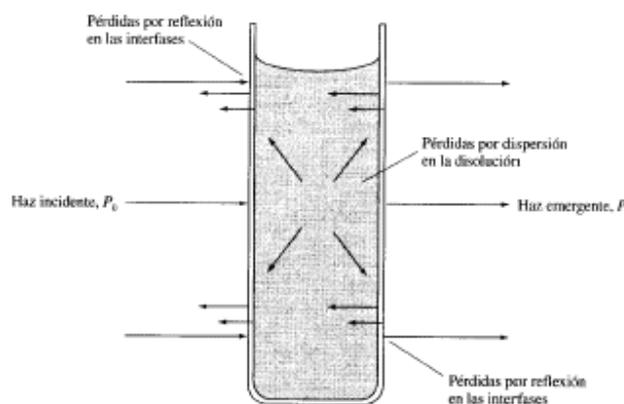
Absorción.

Reflexión.

Refracción.

Dispersión.

Predominado el fenómeno de absorción.



$P_x$ : la intensidad que se pierde por reflexión, refracción y dispersión.

$P_a$ : La intensidad absorción.

$P_0$ : La intensidad inicial de la radiación electromagnética.

$P$ : La intensidad que emerge de la solución.

La intensidad del haz de radiación que emerge de la solución siempre se mide tomando como referencia una solución de comparación (blanco) de modo que el valor correspondiente de  $P_x$  puede ser compensado.(5)

## MARCOTEORICO

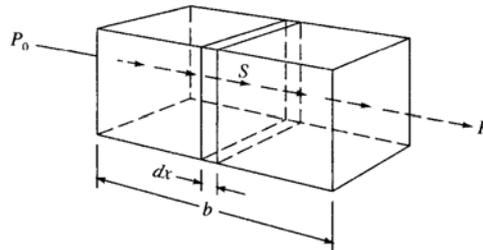
---

### IV.2.2. LEY DE LAMBERT BEER

Hay que asumir dos consideraciones:

Tenemos una celda de espesor  $b$  que contiene una sustancia con capacidad de absorber a la longitud de onda correspondiente.

Que el espesor  $b$  esta subdividido en capas infinitas de espesor  $x$ .



Imaginemos una luz con potencia radiante  $P_0$  que pasa a través de una capa infinitesimal delgada cuyo espesor es  $dx$ .

La disminución de la potencia  $dP$  es proporcional a la potencia incidente  $P_0$ , a la concentración de la especie absorbente  $C$  y a la variación del espesor.

$$\begin{aligned}dP &= -\beta P c dx \\ -\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} &= \beta c \int_0^b dx \\ -(\ln P - \ln P_0) &= \beta cb \\ -\ln P - \ln P_0 &= \beta cb \\ -\ln P + \ln P_0 &= \beta cb \\ \ln \frac{P_0}{P} &= \beta cb \\ \log \frac{P_0}{P} &= \epsilon cb \\ A &= \epsilon cb\end{aligned}$$

La relación entre la intensidad inicial y la intensidad que emerge ( $P_0 / P$ ) y la concentración resulta del hecho de que en cada porción infinitesimal del volumen total, la disminución de la potencia es proporcional a la potencia incidente.(5)

## MARCOTEORICO

Tabla N° IV.2.1 terminología utilizada en espectrofotometría

Término	símbolo	Definición	Nombre y símbolo alternativo
Radiación electromagnética	P, Po	Energía de la radiación	Intensidad de la radiación. I , lo
Absorbancia	A	$\text{Log } P_0 / P$ $abC\epsilon bC$	Densidad óptica, D
Camino óptico de la radiación	b		Camino óptico b, l
Transmitancia	T	$P / P_0$	Transmisión
Absortividad	a	$A / Bc$	Coefficiente de Absortividad
Absortividad molar	$\epsilon$	$A / Bc$	Coefficiente de Absortividad molar

Esta ley es de mucha utilidad para la cuantificación de determinado analito en una muestra. En el grafico se puede observar la relación lineal de la absorbancia y de la concentración a un camino óptico constante.

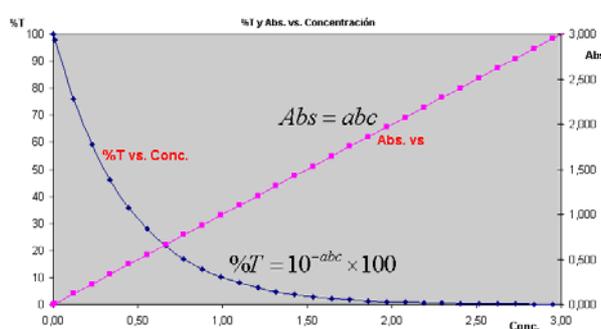


Grafico N°1. Porcentaje de Transmitancia y Absorbancia VS. Concentración

## MARCOTEORICO

---

Esta ley se ve alterada cuando ocurren algunos errores en el análisis al utilizar esta técnica las cuales se conocen como desviaciones de la ley de Lambert – Beer y estas desviaciones pueden ocurrir debido a:

**Limitaciones fundamentales:** Es una ley limitante solo para concentraciones bajas de analitos menores de 0.01M. A concentraciones muy altas las especies absorbentes pierden su independencia, esto es al aproximarse demasiado las moléculas interaccionan entre sí provocando que cambien sus propiedades eléctricas.

**Interferencias químicas:** La cuales se producen como consecuencia de la asociación, disociación o reacción de las especies de interés, estas presentan una dependencia fundamentalmente del pH de la solución, de la cantidad de concentración del complejante y del Buffer, en fin todos los factores que pudieran afectar el equilibrio de la reacción.

**Interferencias espectrales:** la cual es debido a la radiación no monocromática, es decir no se emite una sola longitud de onda, para que se cumpla debe existir un solo coeficiente de absorción en el intervalo de  $\lambda \pm \Delta\lambda$ .

**Interferencias instrumentales:** provocado por errores de lectura que siempre se producen pero se hacen más graves a valores pequeños o muy grandes de absorbancias. También es provocada por la radiación parásita la cual es aquella que llega al detector y no procede de la muestra, esta se agrava más a valores altos de absorbancias y es provocada por polvos, por reflexiones o por defectos del sistema óptico.

### IV.2.3. Error fotométrico

El error fotométrico o instrumental indica la repetibilidad de las lecturas en un espectrofotómetro es común tomarlo como:

## MARCOTEORICO

---

$D T = 2S T - T_{promedio} / n$ , el doble de la sumatoria de las desviaciones de las lecturas de T con respecto a la transmitancia promedio T, en valor absoluto, dividido entre el número de datos,  $n$ .(6)

### IV.2.3.1. Efecto de las incertidumbres

Es común que el error indeterminado, o ruido, relacionado con el instrumento límite la exactitud y precisión de los análisis espectrofotométricos. En el contexto de este análisis ruido se refiere a las variaciones aleatorias a la salida del instrumento debidas no solo a fluctuaciones electricas sino también a otro tipo de variables, como la forma en la que el operador utiliza el instrumento, la posición de la celda en el haz luminoso. La temperatura de la solución y la salida de la fuente.

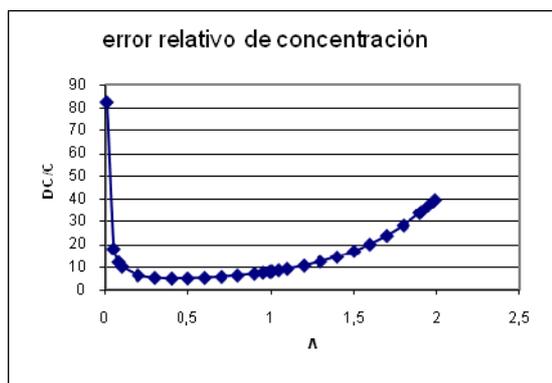
Una medida de absorbancia espectrofotométrica requiere tres pasos : un ajuste al 0% de T, un ajuste al 100 % T y una medida en % T. la relación entre el ruido encontrado en la medida de T y la incertidumbre de la concentración resultante se puede deducir al describir la ley de Beer en la forma(7)

$$A = \epsilon b C \text{ donde } C = \frac{A}{\epsilon b} \text{ sustituyendo } A \text{ tenemos } C = \frac{-\log T}{\epsilon b} \\ = \frac{-0.4303 \ln T}{\epsilon b} \text{ derivando parcialmente}$$

$$\partial C = \frac{-0.4303 \partial T}{\epsilon b T} \text{ dividiendo entre la } C \text{ tenemos}$$

$$\frac{\partial C}{C} = \frac{-0.4303 \partial T}{\epsilon b T C} = \frac{-0.4303 \partial T}{\epsilon b T \frac{-\log T}{\epsilon b}} = \frac{-0.4303 \partial T}{T(-\log T)}$$

$$\% \frac{\Delta C}{C} = \frac{0.403 * 2St}{T(-\log T)} * 100$$



*Gráfico n° 2 error relativo de la concentración*

Al graficar el error relativo de concentración versus absorbancia se observa claramente como los errores aumentan a medida que realizamos lecturas de absorbancias pequeñas y de la misma forma cuando realizamos medidas de absorbancias grandes.

#### **IV.2.4. Calibración del Espectrofotómetro.**

**IV.2.4.1 La Calibración:** operación que bajo condiciones especificadas establece, en una primera etapa una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas y, en una segunda etapa, utiliza esta información para establecer una relación que permita obtener un resultado de medida a partir de una indicación (VIM). (7)

El resultado de una calibración permite atribuir a las indicaciones de un instrumentos los valores correspondientes al mensurando o bien determinar las correcciones a aplicar a tales indicaciones.

La calibración determina las características metrológicas del instrumento o del material de referencia y se realiza mediante comparación directa con patrones de medida o materiales de referencia certificados. La calibración da lugar a un Certificado de Calibración y, en la mayoría de los casos, se fija una etiqueta al instrumento calibrado.

## MARCOTEORICO

Existen varias pruebas para calibrar un espectrofotómetro ultra violeta visible, estas incluyen la exactitud, reproducibilidad de la longitud de onda, y la exactitud y la reproducibilidad fotométrica. Las pruebas se presentan en la siguiente lista:

Tabla N°IV.2.4.1 Pruebas de rendimiento del espectrofotómetro UV-VIS.

Pruebas	Estándar utilizado
Exactitud de longitud de onda o exactitud espectral	Lámpara de Deuterio
	Lámpara de vapor de mercurio
	Filtro de oxido de Holmio
	Filtro de Didymio
	Oxido de Holmio en ácido perclórico
Reproducibilidad de la longitud de onda	Solución de dicromato de potasio (350 y 257nm.)
Luz difusa	Solución de cloruro de potasio ( 200 nm )
	Solución de yoduro de potasio ( 220 nm )
Resolución	Solución de tolueno en hexano
Exactitud fotométrica	Filtros de vidrio de densidad neutra
	Filtros de metales en cuarzo
	Solución de dicromato de potasio
Reproducibilidad fotométrica	Solución de dicromato de potasio
Ruido	Barrido espectral del aire (500 nm.
Línea de base	Barrido de aire en modo de absorbancia.
Estabilidad	Barrido del aire por 60 min. A 340 nm.
Linealidad	Solución de dicromato de potasio en ácido.

## MARCOTEORICO

---

Algunas pruebas de verificación del espectrofotómetro se presentan en la práctica de laboratorio no 1. MIA-I donde se debe realizar las pruebas de exactitud fotométrica, exactitud espectral y evaluación de la linealidad con los materiales de referencias disponibles. Tales como: dicromato de potasio en medio ácido y filtro de óxido de Holmio.<sup>(8,9)</sup>

Suelen distinguirse dos tipos de calibraciones: la calibración directa y la calibración indirecta, aunque suele darse el caso en el ámbito de los laboratorios analíticos que esta última sea conocida también como calibración analítica.

- La calibración directa el valor del patrón (valor de referencia) está expresada en la misma magnitud que se realiza la medición en el equipo. El procedimiento de calibración se basa pues en medir el patrón y comparar el valor obtenido a partir del equipo con el valor declarado del patrón.

En la práctica cuando se realiza una calibración directa se tiene dos propósitos:

- a) Determinar el valor actual (patrón) o medir el error de medida (equipo).

Sesgo: valor de medida – valor de referencia.

Corrección: referencia-medida.

- b) Estimar la incertidumbre. La tolerancia de calibración se define como la suma del sesgo, en valor absoluto, y la incertidumbre expandida.

Tolerancia de calibración = [sesgo] + Uexp

En definitiva el objeto final de la calibración directa es comprobar la conformidad del equipo para su futuro.

- En la calibración indirecta o analítica, la respuesta del instrumento o sistema de medida se expresa en forma de una magnitud distinta de la del patrón o patrones de calibración. Esta calibración se realiza mediante patrones que contienen cantidades conocidas de analito.

## MARCOTEORICO

---

**IV.2.4.2 La verificación**, por su parte, consiste en revisar, inspeccionar, ensayar, comprobar, supervisar, o realizar cualquier otra función análoga, que establezca y documente que los elementos, procesos, servicios o documentos están conformes con los requisitos especificados.

En cierto modo, puede decirse que la verificación es una calibración “relativa” ya que no se está tan interesado en el resultado final como en saber si, a partir de ese resultado, se cumplen o no unos requisitos especificados. Para pronunciarse al respecto, debe tenerse en cuenta la incertidumbre asociada al resultado.<sup>(1)</sup>

### **IV.2.4.3 Patrones de medición**

#### **Patrón de medida, m**

Patrón, m realización de la definición de una magnitud dada, con un valor determinado y una incertidumbre de medida asociada, tomada como referencia

EJEMPLO Serie de soluciones de referencia, de cortisol en suero humano, que tienen un valor certificado con una incertidumbre de medida

EJEMPLO Materiales de referencia con valores e incertidumbres de medida asociadas, para la concentración de masa de diez proteínas diferentes

#### **Material de referencia, m**

MR material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades especificadas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas.

#### **Material de referencia certificado, m**

MRC material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos EJEMPLO Suero humano, con valores asignados a la concentración de colesterol y a la incertidumbre de medida indicados en un certificado, empleado como calibrador o como material para el control de la veracidad de la medida.<sup>(9,10)</sup>

## MARCOTEORICO

Tabla IV.2.4.2. Clasificación de los materiales de referencia.

<b>CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES DE REFERENCIA.</b>					
<b>MATERIAL DE REFERENCIA PRIMARIO</b>	<b>DE</b>	<b>MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO</b>	<b>DE</b>	<b>MATERIAL DE REFERENCIA DE TRABAJO</b>	<b>DE</b>
Es aquel que presenta la más alta calidad metrológica y cuyo valor se determina por medio de un método primario. En el campo de análisis químico, estos MR son patrones primarios para medidas de composición química.		Material de referencia en el que se han certificado uno o varios valores de una o más de sus propiedades mediante un procedimiento técnicamente valido que establece su trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que se expresa el valor de la propiedad del MRC y donde se acompaña su incertidumbre con el nivel de confianza determinado.		Es aquel material de referencia que es usado rutinariamente en el campo del análisis para calibrar un proceso o un instrumento analítico.	

## MARCOTEORICO

Tabla IV.4.2.3. Requisitos básicos de materiales de referencia certificados.

<b>REQUISITOS</b>	
<b>T r a z a b i l i d a d</b>	<p>El MRC debe ser trazable a patrones de referencia nacionales o internacionales. Esto debe quedar perfectamente reflejado en el certificado que aporte el organismo productor. Desde un punto de vista práctico, no existe un procedimiento normalizado para asegurar la trazabilidad de los parámetros de interés en un MRC, y cada organismo de certificación tiene sus propios métodos de trabajo. Sin embargo, la trazabilidad de un MRC exige la utilización de varios métodos independientes, es decir, que se encuentre el valor de la propiedad que se desea certificar (por ejemplo la concentración de ácido oleico en manteca de cacahuete) utilizando diversos métodos analíticos cuyos principios de medida sean completamente distintos. Algunos organismos productores realizan los análisis en sus propios laboratorios mientras que otros recurren a laboratorios externos de reconocido prestigio. En ambos casos, el valor certificado de la propiedad deseada del MRC se determina en un ejercicio interlaboratorio, como el valor consenso de los resultados obtenidos mediante los diferentes laboratorios participantes.</p>
<b>H o m o g e n e i d a d</b>	<p>El MRC debe ser homogéneo y de composición constante. Se debe prestar atención a los datos sobre estudios de homogeneidad que facilite el fabricante y valorar si son adecuados, teniendo en cuenta el tamaño de muestra recomendado para su uso y la precisión del método utilizado.</p>

## MARCOTEORICO

<b>E</b> <b>s</b> <b>t</b> <b>a</b> <b>b</b> <b>i</b> <b>l</b> <b>i</b> <b>d</b> <b>a</b> <b>d</b>	El material debe ser estable durante las condiciones de envío, y el usuario debe conocer durante cuánto tiempo permanece estable el MRC desde su recepción y desde que se abre el recipiente. La estabilidad tiene que referirse tanto a las propiedades certificadas como a la matriz. Algunos MRC pueden verse afectados por numerosos factores como la luz, la temperatura o la exposición a la atmósfera, por lo que el fabricante deberá indicar las condiciones de transporte, manejo y almacenamiento recomendadas para el material.
<b>M</b> <b>a</b> <b>t</b> <b>r</b> <b>i</b> <b>z</b>	El MRC ha de ser lo más parecido posible, tanto en la composición de la matriz como en el valor de la propiedad a determinar, a las muestras reales que serán posteriormente analizadas con nuestro método analítico. Esta propiedad no es nada más que sentido común puesto en práctica: si mi laboratorio analiza plomo a nivel de mg/l en agua de río que será posteriormente destinada al consumo humano, el mejor MRC posible es agua de río. Como un MRC que se asemeje exactamente a nuestras muestras generalmente será imposible de encontrar, podemos utilizar un MRC que sea parecido.

### IV.2.4.4 Preparación de los materiales de referencias.

Existen cuatro etapas básicas en la preparación de estos patrones:

- Selección y preparación del material: se detecta la necesidad por parte del organismo de certificación. Se selecciona el material que va a servir de base para la preparación de dicho material.
- Estudios de homogeneidad y estabilidad.
- Certificación de los valores de referencia.
- Emisión del informe de certificación.

### IV.2.4.5 Problemas habituales en la selección de los materiales de referencias.

- Escasez de MRC en el mercado. Dificultad de localizar los disponibles y de comunicarse con fabricantes y distribuidores.
- Su alto costo, lo que limita su aplicación. En muchos casos, puede estar en función de la metodología de su certificación. Por ejemplo, los MRC matriciales se obtienen mediante estudios interlaboratorios que son largos y costosos.
- Escasa información por parte de los fabricantes, lo cual dificulta la evaluación de si un determinado MRC es adecuado a los objetivos.
- El analito requerido no se encuentra certificado en una matriz idéntica o parecida a la composición del producto o de la muestra.
- Dificultad en disponer de distintos niveles de concentración para evaluar el procedimiento en todo su rango de aplicación.
- Una incertidumbre inadecuada para evaluar un procedimiento de medida.
- No poder controlar la toma de muestra, lo que puede suponer una incertidumbre superior al de la etapa de análisis.
- Problemática de su trazabilidad. Patrones en los que se declara su trazabilidad a organismos reconocidos, como NIST, BCR, etc., pero en los que, a veces, no existen garantías sobre el aseguramiento de la misma ni sobre la fiabilidad de su valor certificado.

### IV.2.5. Aplicaciones Cuantitativas

Una de las razones por las cuales es de gran popularidad el uso de la espectroscopia es que muchos compuestos orgánicos e inorgánicos poseen fuertes bandas de absorción en la región ultravioleta / visible del espectro electromagnético. Además en muchas ocasiones los analitos que no absorben radiación, puede enlazarse químicamente con otra especie diferente que si absorba ese tipo de radiación. Por ejemplo las especies de hierro (II) pueden formar complejos con el ligando ortofenantrolina, el cual este complejo si absorbe radiación en la región visible. Otra

## MARCOTEORICO

---

de las ventajas de la absorción es que es fácil ajustar las condiciones experimentales e instrumentales de tal forma que se cumpla la ley de Lambert Beer.

En las aplicaciones medioambientales existen un gran número de métodos para el análisis de las aguas de corrientes y las aguas residuales.<sup>(11)</sup>

analito	Método
	Oligometales
Aluminio	La reacción con colorante cianuro de eriocromo R a pH 6 produce un complejo de color rojo a rosado
Arsénico	Reducido a $AsH_3$ con Zn y hacerlo reaccionar con dietilditiocarbamato para producir un complejo rojo.
Cromo	Oxidar a Cr (VI) y hacer reaccionar con difenilcarbazina en disolución acida, para obtener un complejo rojo-violeta.
Cobre	Mezclar con neocuproína en solución neutra a ligeramente acida; extraer con $CHCl_3/CH_3OH$ para obtener una disolución amarilla.
Plomo	Extracción en $CHCl_3$ con ditizona de muestra alcalinizada con tampón amoniacal; complejo rojo cereza
	<i>Compuestos inorgánicos no metálicos.</i>
Amoniaco	La reacción con amonio, hipoclorito y fenol produce indofenol azul: catalizado por una sal de manganeso.
Nitrato	Reducción a $NO_2^-$ por Cd, se forma un colorante azo por reacción con sulfanilamida y N-(1-naftil)-etilendiamina.
Fosfato	Reacción con molibdato amónico seguida de reducción con cloruro de estaño para formar azul de molibdato.

### **IV.3 Algunos Parámetros de validación**

#### **IV.3.1. Precisión.**

La precisión depende exclusivamente de los errores aleatorios del proceso de medida y es independiente de los errores sistemáticos. Dicho de otra manera, la precisión proporciona una medida global de las distancias existentes entre los valores de un grupo y el valor medio de los mismos (o entre dichos valores entre sí), con independencia de su distancia respecto al valor verdadero de la magnitud que se está midiendo. El parámetro estadístico que se utiliza normalmente para expresar la precisión es la desviación estándar, ya sea en términos absolutos o relativos.

Dado que el número de factores que pueden afectar a la precisión de los resultados es elevado, al evaluar la precisión de un método analítico es conveniente distinguir entre unas condiciones de mínima variación de los factores de influencia y unas condiciones de máxima variación de los mismos. Es lo que normalmente se conoce como condiciones de repetibilidad y de reproducibilidad, respectivamente. <sup>(12)</sup>

Este parámetro de validación se puede evaluar de tres maneras las cuales son:

IV.3.1.1. Repetibilidad: Precisión esperada bajo las mejores condiciones a intervalos de cortos de tiempo (en un mismo día), un mismo laboratorio, mismo operador. Mismo instrumento.

IV.3.1.2. Precisión intermedia: Grado de dispersión de resultados obtenidos en diferentes tiempos (diferentes días) de un ensayo o análisis, efectuado por el mismo operador y el mismo instrumento.

IV.3.1.3. Reproducibilidad: Precisión esperada para la medición de un analito en una muestra, efectuada en diferentes laboratorios, a diferentes tiempos, por diferentes operadores y con diferentes instrumentos.

### IV.3.2. Exactitud

La exactitud de un método analítico es uno de los parámetros de calidad básicos que, desde un punto de vista metrológico, depende de la trazabilidad de las medidas.

Respecto al concepto de exactitud, es preciso indicar que la terminología y los símbolos utilizados presentan diferentes significativas. El hecho de que organismo como ISO o IUPAC utilicen términos y símbolos distintos da lugar a cierta confusión.

La IUPAC (1998) define exactitud como “el grado de concordancia entre el resultado de una medida y el valor real del mensurando”. Añade también que se trata de un concepto cualitativo utilizado para describir el error asociado a un resultado; se suele decir que un valor es muy exacto o poco exacto, sin embargo, hace falta un parámetro que permita medir cuantitativamente la exactitud. Este parámetro es el error que se define como “la diferencia entre el resultado de la medida y el valor real del mensurando”.<sup>(13)</sup>

Los errores pueden clasificarse en aleatorios o indeterminados y sistemáticos o determinados.

Aspectos importantes:

- a) El resultado de una medida puede ser un valor individual o una estimación estadística procedente de un cierto número de observaciones, como el valor medio de un número pequeño de medidas o el valor medio de un grupo grande de medidas.
- b) El valor real del mensurando es precisamente lo que se pretende averiguar al realizar las medidas. Por lo tanto, se trata casi siempre de un valor desconocido que en la práctica, impide la evaluación de la exactitud y pone en entredicho la utilidad misma del concepto.
- c) Algunas veces se asocia el concepto de exactitud únicamente a los errores sistemáticos y el de precisión a los errores aleatorios.

### IV.3.3. Linealidad

El rango dinámico lineal es limitado por la luz difusa a grandes valores de absorbancias y por el ruido a bajos valores de absorbancias. La linealidad la podemos evaluar de varias formas entre ellas tenemos: el comportamiento de la gráfica, el gráfico de residuales, el coeficiente de regresión<sup>(14)</sup>. El ANOVA de un factor todo ellos con el fin de comprobar si existe una relación lineal entre la concentración de los estándares y las absorbancias de las mismas. Además nos es de gran utilidad para ver el cumplimiento de la ley de Lambert Beer

### IV.3.4. Incertidumbre

Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza.

La incertidumbre de medida incluye componentes procedentes de efectos sistemáticos, tales como componentes asociadas a correcciones y a valores asignados a patrones, así como la incertidumbre debida a la definición. Algunas veces no se corrigen los efectos sistemáticos estimados y en su lugar se tratan como componentes de incertidumbre.

Un análisis químico se puede considerar como un tipo especial de medición en la que: como en cualquier proceso de medida se obtiene un resultado que define el valor de una propiedad de una muestra (mensurando), que se obtiene siguiendo un determinado procedimiento (caracterizado por una serie de etapas) y que implica el uso de un equipo. De medida.

El resultado obtenido viene siempre acompañado de una cierta incertidumbre que viene a poner de manifiesto la existencia de factores incontrolables que hacen que no se repita el valor obtenido de una medida a otra.<sup>(1,15)</sup>

## MARCOTEORICO

---

### IV.4. Métodos de cuantificación.

Existen varias formas para calcular la concentración de un analito en una muestra llamados métodos de cuantificación dependiendo de la utilidad y de las preparaciones de las soluciones entre ellos tenemos:

Comparación directa.

Se preparan tres soluciones:

Blanco	Estándar	Muestra
El cual contiene todos los reactivos utilizados en la preparación exceptuando el analito. El cual se utiliza para ajustar el cero.	Concentración conocida del analito a cuantificar utilizada como referencia.  ( CE)	Preparación de la muestra con la cantidad de solvente adecuada.  ( CM)

$$CM = \frac{A_M C_E}{A_E}$$

Comparación por adición patrón

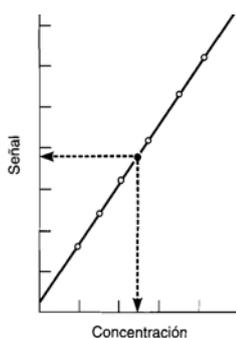
Blanco	Estándar + muestra	Muestra
El cual contiene todos los reactivos utilizados en la preparación exceptuando el analito. El cual se utiliza para ajustar el cero.	Alícuota de muestra más alícuota del estándar.  ( C <sub>M+E</sub> )	Preparación de la muestra con la cantidad de solvente adecuada.  ( CM)

$$CM = \frac{A_M C_E}{A_{M+E} - A_M}$$

#### IV.4.1. Curva de Calibración Normal.

Este método se basa en la medida de la señal de un cierto número de patrones sintéticos, que contienen cantidades perfectamente conocidas de analito; esta metodología, también llamada calibración externa, es la más empleada e involucra uno, dos o más patrones para cuantificar la concentración de analito en la muestra. El patrón debería idealmente responder de la misma forma que el analito presente en la matriz, pero en algunos casos el pretratamiento de la muestra puede causar pérdidas del analito, por lo que la sustancia RM debería estar sujeta al mismo proceso que la muestra para que las pérdidas se produzcan de igual forma en ambas, corrigiendo así una posible fuente de error sistemático.(10)

Se prepara una serie de estándares de concentración conocidas y se lee las absorbancias de cada uno de ellos. Se grafica C vs A (señal del instrumento) de los estándares. Se realiza la preparación de la muestra.



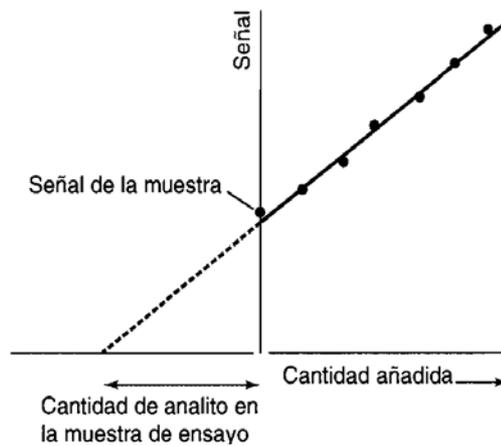
Se evalúan los parámetros de regresión. Se realiza el cálculo:

$$CM = \frac{Am - a}{b} * Fd$$

#### IV.4.2. Curva de Adición Patrón

Esta calibración es comúnmente conocida como método de adición de patrón y conlleva la adición de una sustancia pura o patrón a la propia muestra, que contiene analito, con el objeto de poder determinar la concentración de analito en la muestra de forma eficaz. La adición de una cantidad conocida de patrón a la matriz es la metodología más fácil para reproducir la muestra. Esta calibración se debe utilizar cuando la matriz de la muestra es desconocida o tan compleja que un patrón externo no puede utilizarse con confianza si se sospecha que existe efecto matriz.

Se utiliza cuando existe efecto de matriz. Se prepara una serie de estándares de concentración conocidas cada una conteniendo una cantidad constante de alícuota de la muestra. Se grafica C vs A (señal del instrumento) de los estándares. (9,16)



El cálculo de la muestra es:  $Cm = \frac{a}{b} * Fd$

### III. Metodología utilizada

La metodología utilizada en la selección de los procedimientos a elaborar fue en base a:

- Practicas realizadas en años anteriores
- Existencia de reactivos
- Cantidades de reactivos para realizar las practicas
- Temas que cumplan con la mayor parte del contenido de la materia.
- Disponibilidad de equipos

En la selección del instructivo elaborado fue en base al espectrofotómetro a utilizar.

En la elaboración de los informes la selección fue en base a las prácticas realizadas.

La metodología a utilizar para la elaboración de los procedimientos operativos normalizados fue la siguiente:

- Primeramente se comprobó los resultados a través de la realización de cada practica.
- Una vez obtenido los resultados se elabora los procedimientos de cada practica en base a los requisitos mínimos que debe contener un procedimiento operativo normalizado.
- Los informes se elaboraron de acuerdo a lo solicitado por cada Procedimiento Operatorio Normalizado.

### VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### VI.1 Selección de las prácticas de laboratorio.

Las prácticas de años anteriores que se han venido realizando en los métodos instrumentales de análisis I son variables, entre ellas tenemos: calibración de un espectrofotómetro ya sea con cromato en medio básico o dicromato en medio ácido, análisis de cromo (III), determinación de nitratos, determinación de hierro ya sea formando complejos con hierro (II) o formando complejo con Hierro (III) en agua o en sal, determinación de fósforo en cereales, análisis de mezclas etc.

En la selección de las prácticas de espectrofotometría uno de los mayores problemas fue la existencia de los reactivos.

Las prácticas que se seleccionaron para luego elaborar su procedimiento operatorio normalizado de trabajo fueron las siguientes:

- Calibración de un espectrofotómetro.
- Determinación de nitratos en aguas.
- Determinación de hierro en aguas por el método ortofenantrolina.
- Determinación de hierro en aguas por complejación con tiocianato.

Aunque hay que resaltar que en la tercera práctica se utiliza mucho reactivo para la preparación de la solución amortiguadora; sin embargo en la bodega de química hay en existencia los reactivos utilizados.

#### VI.2 Elaboración de procedimientos e instructivos.

En la elaboración de la documentación para las prácticas de análisis instrumental I se seleccionaron los procedimientos de las prácticas realizar por los estudiantes.

Los procedimientos de las prácticas se elaboraron de acuerdo a las directrices de la norma 10013 y de acuerdo a la estructura que propone los procedimientos operatorios normalizados.

También se elaboró un instructivo para el manejo del espectrofotómetro SHIMADZU serie 1203.

Los procedimientos e instructivos elaborados se presentan en la siguiente tabla:

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla n° VI.1 procedimientos e instructivos

<b>PROCEDIMIENTO</b>	<b>Tiempo de duración</b>
Calibración de un espectrofotómetro UV-visible(PMIA-I-01)	4 horas
Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo.(PMIA-I-02)	4 horas
Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina ((PMIA-I-03)	4 horas
Determinación de la concentración de hierro (III) en aguas por espectrofotometría. (PMIA-I-04)	4 horas
<b>INSTRUCTIVO</b>	
Instructivo de trabajo del espectrofotómetro uv visible 1203 (INS-01)	Para todas las practicas
<b>INFORMES DE LABORATORIOS</b>	
Informe de Calibración de un espectrofotómetro UV- visible(IMIA-I-01)	
Informe de Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo. (IMIA-I-02)	
Informe de Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina(IMIA-I-03)	
Informe de Determinación de la concentración de hierro (III) en aguas por espectrofotometría(IMIA-I-04)	

Como se puede observar son cuatro procedimientos correspondientes a 16 horas que es el tiempo que presenta el componente curricular de los laboratorio de métodos instrumentales de análisis I. el instructivo se aplica para todas las prácticas de laboratorio. También en la documentación se elaboraron los cuatro informes de cada laboratorio con el fin de que los estudiantes les sirva de guía para la elaboración de los informes de una forma un poco diferente a la tradicional, es decir aplicando los conocimientos tanto de espectrofotometría como de quimiometría.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

Si bien es cierto que con estas prácticas se da el cumplimiento de las horas programadas, en algunas ocasiones también se imparten prácticas de espectrofotometría atómica, dependiendo de la disponibilidad de los laboratorios que presentan este tipo de instrumento. No se elaboró el procedimiento de la práctica de absorción atómica debido a que no siempre se imparte esta práctica debido al gasto de gas y de algunos reactivos que elevan el costo de la misma.

### **VI.3 Evaluación del contenido de las prácticas de laboratorio.**

El contenido de cada practica de laboratorio y posteriormente su aplicación y la elaboración de cada informe debe de ir cada una de ellas relacionadas con las competencias y subcompetencias de cada componente curricular, en este caso Métodos Instrumentales de Análisis I. Es debido a esto que es importante evaluar el contenido de los mismos.

En la primera práctica el contenido principal es sobre la verificación instrumental de la respuesta de un espectrofotómetro, si bien en la práctica el título es de calibración, en la realidad lo que se realiza es una verificación. En esta se evalúan algunas pruebas como la exactitud espectral, la exactitud fotométrica, la evaluación de la respuesta del detector en función de la respuesta lineal y la respuesta del ruido y de la deriva. Es decir se realizan pruebas para ver el funcionamiento de las partes del espectrofotómetro. También se aplicaron algunas pruebas de quimiometría para los resultados de las diferentes pruebas.

En la segunda práctica el contenido es sobre la aplicación de la ley de Lambert Beer, es decir la relación lineal que existe entre la concentración de cada estándar de nitrato y la respuesta de la absorbancia de cada uno de ellos, además de evaluar el error aleatorio de la medición calculado como error relativo de concentración, es decir comprender un poco sobre los errores en las mediciones.

En las prácticas tres y cuatro se determinó hierro a partir de la formación de un complejo, ya sea de hierro (II) o hierro(III), se pudo interpretar y estudiar el mismo analito pero con diferente método. También se realizaron algunos estudios sobre el efecto de los componentes de la matriz en la señal de la lectura, es decir se evaluó el

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

efecto de matriz, al mismo tiempo se aplicó dos métodos de cuantificación diferentes: a partir de la curva de calibración normal y a partir de la curva de adición patrón.

Por otra parte a los resultados de las concentraciones de hierro en las muestras se les evaluó el error aleatorio utilizando diferente replicas de muestras y utilizando los parámetros de regresión. También se utilizaron algunas pruebas quimiométricas para el análisis de los resultados.

En la tabla N° VI.2 se presenta en resumen los contenidos que se basan en el cumplimiento de las competencias y subcompetencias.

*Tabla n° VI.2 resumen de los contenidos*

<b>PROCEDIMIENTO</b>	<b>contenido</b>
Calibración de un espectrofotómetro UV-visible (PMIA-I-01)	Manejo del espectrofotómetro. Verificación / calibración. Exactitud espectral. Exactitud fotométrica. Linealidad. Ruido. Deriva.
Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo. (PMIA-I-02)	Aplicación de la ley de Lambert Beer. Evaluación del error fotométrico.
Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina ((PMIA-I-03)	Aplicación de la ley de Lambert Beer. Cuantificación por CCN y CAP.
Determinación de la concentración de hierro (III) en aguas por espectrofotometría. (PMIA-I-04)	Evaluación del efecto de matriz. Evaluación del error aleatorio.

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS**

---

### **VI.4 Presentación de los documentos elaborados.**

Los procedimientos elaborados, procedimientos operatorios normalizados, instructivos e informes de laboratorio, los cuales se presentan a continuación:

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b>	PMIA-I-01
	<b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### I. Objetivos

- Evaluar la exactitud de la longitud de onda utilizando un filtro de óxido de Holmium.
- Evaluar la exactitud fotométrica a partir de un estándar de dicromato de potasio.
- Evaluar la linealidad cuando se trabaja con un soluciones estándares de dicromato de potasio.

### II. Responsabilidades

- El tutor de la práctica debe dirigir y supervisar la aplicación correcta de este procedimiento para el grupo de estudiantes.

### III. Parte experimental

#### 3.1. Principio

- La medición espectrofotométrica se basa en la medición de los valores de absorbancias obtenidos experimental con material de referencia de valores conocidos. Primeramente se realiza un barrido espectral con un filtro de Holmium para verificar los valores de los picos de absorbancias y luego se evalúa la medición fotométrica y la linealidad a partir de los resultados de un estándar de dicromato de potasio en medio ácido sulfúrico. Los datos experimentales se comparan con las especificaciones del espectrofotómetro utilizado y se realiza un análisis sobre las lecturas del mismo.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b>	PMIA-I-01
	<b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### 3.2. Equipos y Materiales

- Espectrofotómetro ultra violeta visible .Shimadsu 1203.
- Matraces de 100 ml.
- Matraces de 25 ml.
- Pipeta de 5 ml.
- Pipeta de 2 ml.
- Pizeta.
- Celda de oxido de holmium.

### 3.3. Reactivos

#### Dicromato de potasio.

- ✓ Puede causar cáncer por inhalación.
- ✓ Nocivo en contacto con la piel.
- ✓ Tóxico por ingestión.
- ✓ Muy tóxico por inhalación.
- ✓ Irrita las vías respiratorias y piel.
- ✓ Muy tóxico para los organismos acuáticos.
- ✓ Evítese la exposición
- ✓ Evítese su liberación al medio ambiente

#### Ácido sulfúrico.

- ✓ Provoca quemaduras graves
- ✓ Consérvese bajo llave y manténgase fuera del alcance de los niños

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b>	PMIA-I-01
	<b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

- ✓ En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y
- ✓ Acúdase a un médico.
- ✓ No adicionar jamás agua a este producto
- ✓ En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico y muéstresele la etiqueta o el envase.

### IV. Procedimiento

#### Parte A. Preparación de soluciones.

- Solución de 500 ppm de dicromato de potasio: Pesar 0.05 g de dicromato de potasio y diluir a 100 ml con ácido sulfúrico 0.005M.
- Solución de ácido sulfúrico 0.005M: Tomar aproximadamente 0.28 ml de ácido sulfúrico concentrado y diluirlo a 1 L de solución con agua destilada.

#### Parte B. Exactitud espectral a partir de una celda de Oxido de Holmium.

1. Corregir la línea de base, realizando un barrido espectral de 200 a 650 nm utilizando el vacío como blanco.
2. Colocar el filtro de Holmium en el camino correcto del paso óptico.
3. Realizar el barrido espectral de 200 nm a 650 nm.
4. Realizar el barrido espectral tres veces.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b> <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>		PMIA-I-01
			Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>		<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

5. Anotar los valores correspondientes a los picos característicos obtenidos en el barrido en la siguiente tabla:

<b>Replicas</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>promedio</b>
Picos característicos /Longitud de onda	$\lambda$	$\lambda$	$\lambda$	
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b> <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>		PMIA-I-01
			Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>		<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

6. Comparar los valores de las longitudes de ondas de los máximos obtenidos con los valores de referencias y evaluar la exactitud espectral.

Replicas	1	2	observación
Picos máximos	Longitud teórica	Longitud experimental	
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
Evaluación de la exactitud espectral:			

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b> <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>		PMIA-I-01
			Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>		<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### Parte C. Exactitud fotométrica con un estándar de dicromato de potasio.

1. Preparar 100 ml de una solución de dicromato de potasio de 500 ppm en ácido sulfúrico 0.005M.(parte A)
2. Preparar una solución de 60 ppm de dicromato de potasio en ácido sulfúrico 0.005M a partir de la solución anterior.
3. Realizar un barrido espectral de 200 nm a 450 nm de la solución de ácido sulfúrico 0.005 a modo de corrección de la línea de base.
4. Realizar un barrido espectral de 200 nm a 450 nm de la solución de dicromato de potasio de 60 ppm. por triplicado.
5. Anotar los resultados en la siguiente tabla:

replicas	1	2	3	
Longitud de onda	A	A	A	promedio
1				
2				
3				
4				

6. Comparar los valores obtenidos experimentalmente de las absorbancias con los valores de referencias.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b>	PMIA-I-01
	<b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### Parte D. Evaluación de la Linealidad.

1. Seleccione una longitud de onda nominal para el valor mayor de Absorbancia.
2. Prepara una serie de estándares de dicromato de potasio de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm.
3. Realizar las lecturas de absorbancias para cada solución. Anotar los resultados en la siguiente tabla:

C $K_2Cr_2O_7$ (ppm)	A
0	
20	
40	
60	
80	
100	

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b>	PMIA-I-01
	<b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### 4. Evaluar la linealidad del método.

<b>Parámetros de regresión</b>	
Intercepto	
Pendiente	
Varianza residual	
Coefficiente de regresión.	
Precisión del modelo	
Desvío intercepto	
Desvío pendiente	
Conclusiones:	

### V. Registros.

El reporte generado de este procedimiento se entregará al tutor

### VI. Anexos.

Formato de resultados obtenidos.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 1</b>	PMIA-I-01
	<b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### VII. Referencias

1. Cheng Chow Chan, Y.C Lee. Analytical Method Validation Performance Verification. John Wiley 2004.
2. G. Delgado. Curso Validación de métodos analíticos. Maestría en Química Aplicada al análisis y Gestión de la Calidad. UNAN – León ( febrero 2008)
3. F. PALLAVICCINI, “Métodos Espectroscópicos “, Maestría en Química Aplicada al análisis y Gestión de la Calidad. UNAN – León ( febrero 2008).

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <b>Métodos</b> <b>instrumentales de</b> <b>análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 2</b>  <b>Determinación de la concentración de</b> <b>nitrate por el método espectrofotométrico</b> <b>ultra violeta selectivo.</b>	PMIA-I-02
		Emisión:
<b>Elaborado por: María</b> <b>Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: MSc. Fabio Pallavicini</b>	

### I. Objetivos

- Verificar que el cumplimiento de la ley de Lambert Beer.
- Determinar la concentración de nitratos en muestras de aguas.
- Evaluar el error fotométrico.

### II. Responsabilidad

El tutor de la práctica deberá supervisar y dirigir la aplicación correcta de este procedimiento para el grupo de estudiantes.

### III. Parte Experimental

#### 3.1. Principio

- El ión nitrato presente en una muestra de agua se determina espectrofotométricamente midiendo la absorción de la radiación ultravioleta a 220 nm. La presencia de materia orgánica disuelta puede interferir, debiéndose realizar una segunda medida a 275 nm para corregir el valor de nitratos. La acidificación con ácido clorhídrico impide las interferencias debidas a concentraciones de hidróxido o carbonato hasta 1000 mg /L de CaCO<sub>3</sub>. Este método es aplicable para muestras con bajo contenido de materia orgánica, es decir, aguas naturales incontaminadas y suministros de agua potable.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <b>Métodos</b> <b>instrumentales de</b> <b>análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 2</b>  <b>Determinación de la concentración de</b> <b>nitrate por el método espectrofotométrico</b> <b>ultra violeta selectivo.</b>	PMIA-I-02
		Emisión:
<b>Elaborado por: María</b> <b>Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: MSc. Fabio Pallavicini</b>	

### 3.2. Equipos y Materiales

- a. Espectrofotómetro ultra violeta visible. Shimadzu 1203.
- b. Matraces de 100 ml.
- c. Matraces de 25 ml.
- d. Pipeta de 5 ml.
- e. Pipeta de 2 ml.
- f. Pizetas.
- g. Nitrato de potasio.
- h. Ácido clorhídrico.
- i. Agua destilada.

### 3.3. Reactivos

#### Nitrato de potasio

- ✓ Peligro de fuego en contacto con materias combustibles.
- ✓ Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar.
- ✓ En caso de incendio y/o de explosión no respire los humos.

#### Acido clorhídrico

- ✓ Provoca quemaduras.
- ✓ Irrita las vías respiratorias.
- ✓ Consérvese bajo llave y manténgase fuera del alcance de los niños.
- ✓ En caso de contacto con los ojos, lávense inmediatamente y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
- ✓ En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstrela la etiqueta).

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Práctica de Laboratorio N° 2</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	PMIA-I-02
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: MSc. Fabio Pallavicini</b>	

### IV. Procedimiento.

#### **Parte A. Preparación de soluciones.**

Solución nitrato de potasio 100 ppm: Pesar 0.163 g de nitrato de potasio, previamente secado en horno y diluir a 1L con agua destilada.

Solución de ácido Clorhídrico 1N: Tomar 8.6 de solución HCL concentrado y diluir con agua destilada a 100 ml.

#### **Parte B. Curva de calibración normal**

1. Tomar alícuotas de 0, 0.5, 1, 1.25, 2.5 y 5 ml de la solución patrón de 100 ppm de nitrato en seis matraces aforados de 25 ml, añadir 1 ml de ácido clorhídrico 1N y enrasar con agua destilada.
2. Seleccionar la longitud de onda de 220 nm como longitud de onda nominal. Asuma que la materia orgánica no interfiere en el análisis.
3. Leer espectrofotométricamente cada solución realizando las correcciones adecuadas del blanco.

#### **Parte C. Evaluación del error fotométrico.**

Realizar 10 lecturas de la cuarta solución de la curva de calibrado.

#### **Parte D. Determinación de nitratos en muestras de aguas.**

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N° 2</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	PMIA-I-02
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: MSc. Fabio Pallavicini</b>	

Realizar las lecturas de las tres muestras proporcionados por el instructor de laboratorio.

### V. Referencias.

- CLESCERI, L, GEENBERG G y EATON A; (1998), Standard Methods fro the Examination of Water and waste water, N.Y. American Publishing Health Association, 20 th edition.

### VI. Cuestionario.

- Calcular el coeficiente de absortividad para el nitrato.
- Grafique la curva de calibración y evalúe la linealidad.
- Determinar la concentración de nitratos en muestras de aguas con sus intervalos de confianza.
- Evaluar el error relativo de concentración a partir de la gráfica del error fotométrico.
- Investigar otros tipos de método por los que se pueda realizar la determinación de nitratos.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b> <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### I. Objetivos

- Verificar la linealidad del modelo de calibración ( ley de Lambert Beer ).
- Evaluar si existe efecto de matriz.
- Determinar la concentración de hierro por medio de los parámetros de la CCN y CAP.
- Realizar un análisis de los dos métodos utilizados para cuantificar.

### II.Responsabilidad

El tutor de la práctica deberá supervisar y dirigir la aplicación correcta de este procedimiento para el grupo de estudiantes.

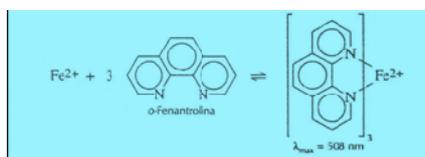
### III. Parte experimental

#### 3.1. Principio

El Hierro en estado de oxidación de +2, reacciona con el ligando Orto – Fenantrolina formando un complejo  $Fe(O-Fen)_3^{2+}$  de color rojo – naranja. La intensidad del color de este complejo es independiente de la acidez de la solución entre valores de pH entre 3 y 9. Sin embargo debido a que la velocidad de formación es mayor en las disoluciones ácidas, la reacción suele efectuarse a pH entre 3.0 y 3.5.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b> <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	



El Hierro en estado de oxidación de +3 se reduce con Hidroxilamina antes de agregar el ligando para que todo el hierro (III) presente pase a hierro (II) y todo reaccione con el ligando. La absorbancia de las muestras y de los patrones se mide a una longitud de onda de 510 nm.

### 3.2. Equipos y Materiales

- Espectrofotómetro ultra violeta visible. Shimadzu 1203.
- Plancha de calentamiento.
- Erlenmeyer de 125 ml : 7.
- Probeta de 10 ml: 1.
- Pipeta de 10 ml: 2.
- Pizeta : 1.
- Beakers 100 ml : 2.
- Matraces aforados de 100 ml y 50 ml: 1 y 2 respectivamente.
- Espátula: 1.
- Papel Kleenex.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Estándar de hierro.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

- n. Hidroxilamina.
- o. Solución buffer (ácido acético / acetato de amonio).
- p. Orto Fenantrolina.
- q. Permanganato de potasio.
- r. Agua destilada.

### 3.3. Reactivos

#### Acido sulfúrico

- ✓ Provoca quemaduras graves
- ✓ En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua acúdase a un médico.
- ✓ No echar jamás agua a este producto
- ✓ En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico y muéstresele la etiqueta o el envase.

#### Acido clorhídrico

- ✓ Provoca quemaduras.
- ✓ Irrita las vías respiratorias.
- ✓ En caso de contacto con los ojos, lávense inmediatamente y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
- ✓ En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta).

#### Hidroxilamina

- ✓ Nocivo por ingestión

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

- ✓ Irrita las vías respiratorias.
- ✓ Irrita la piel.
- ✓ Riesgo de lesiones oculares graves.
- ✓ Muy tóxico para los organismos acuáticos
- ✓ No respirar el polvo.
- ✓ En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

### Ortofenantrolina

- ✓ Tóxico por ingestión
- ✓ En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta).

### Permanganato de potasio

- ✓ Peligro de fuego en contacto con materias combustibles.
- ✓ Tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático
- ✓ Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.
- ✓ Evítese su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas de la ficha de datos de seguridad

## IV. Procedimiento.

### Parte A. Preparación de soluciones.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

Solución estándar de hierro 200 ppm: Pesar 1.4 g sal de Mohr y transferir a un frasco volumétrico que contenga 20 ml ácido sulfúrico concentrado y 50 ml de agua luego añádase permanganato de potasio 0.1N gota a gota hasta que persista un color rosa pálido y diluir a un litro.

Solución estándar de hierro 10 ppm: preparar 50 ml

Solución de hidrocloreuro de Hidroxilamina:

Disolver 10 g de Hidroxilamina con 50ml de agua destilada en un balón de aforo de 100 ml, agitar y aforar hasta la marca.

Solución buffer a pH de 4.5:

Disolver 250 g de acetato de amonio con 150 ml de agua destilada en un Beaker de 2 litros, agregar cuidadosamente 700 ml de ácido acético glacial.

Solución 1, 10 ortoFenantrolina:

Disolver 100 mg de monohidrocloreuro de 1,10 Ortofenantrolina en 50 ml de agua destilada.

### **Parte B. Preparación de las soluciones estándares:**

1. Tomar 5 Erlenmeyer de 125 ml y en cada uno de ellos adicionar alícuotas de 2, 4, 6, 8 y 10 ml de la solución de hierro de 10 ppm.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

2. adicionar 2 ml de ácido clorhídrico concentrado a cada uno de los Erlenmeyer.
3. Adicionar un ml de la solución de Hidroxilamina a cada uno de los Erlenmeyer.
4. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
5. Agregar perlas de ebullición y calentar en plancha de calentamiento hasta que el volumen disminuya a 10 ml.
6. Enfriar a temperatura ambiente.
7. Adicionar a cada solución 15 ml de solución buffer.
8. Adicionar 2 ml de la solución de orto Fenantrolina.
9. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
10. Dejar que desarrolle el color por unos 15 minutos.
11. Medir su absorbancia a 510 nm.
12. El blanco se prepara siguiendo los pasos del 2 al 11, sin agregar estándar.

### **Parte C. preparación de la muestra:**

1. En un Erlenmeyer de 125 ml adicionar 10 ml de muestra de agua proporcionada por el profesor.
2. adicionar 2 ml de ácido clorhídrico concentrado a cada uno de los Erlenmeyer.
3. Adicionar un ml de la solución de Hidroxilamina a cada uno de los Erlenmeyer.
4. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
5. Agregar perlas de ebullición y calentar en plancha de calentamiento hasta que el volumen disminuya a 10 ml.
6. Enfriar a temperatura ambiente.
7. Adicionar a cada solución 15 ml de solución buffer.
8. Adicionar 2 ml de la solución de orto Fenantrolina.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b> <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

9. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
10. Dejar que desarrolle el color por unos 15 minutos.
11. Medir su absorbancia a 510 nm.

### **Parte D. preparación de la curva de adición patrón:**

1. En 6 erlenmeyer de 125 ml adicionar a cada uno 10 ml de muestra ellos y adicionar alícuotas de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ml de la solución de hierro de 10 ppm respectivamente.
2. adicionar 2 ml de ácido clorhídrico concentrado a cada uno de los erlenmeyer.
3. Adicionar un ml de la solución de hidroxilamina a cada uno de los erlenmeyer.
4. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
5. Agregar perlas de ebullición y calentar en plancha de calentamiento hasta que el volumen disminuya a 10 ml.
6. Enfriar a temperatura ambiente.
7. Adicionar a cada solución 15 ml de solución buffer.
8. Adicionar 2 ml de la solución de orto fenantrolina.
9. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
10. Dejar que desarrolle el color por unos 15 minutos.
11. Medir su absorbancia a 510 nm.

### **V. Referencias.**

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Practica de laboratorio N° 3</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejacion con ortofenantrolina</b>	<b>PMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

CLESCERI, L, GEENBERG G y EATON A; (1998), Standard Methods fro the Examination of Water and waste water, N.Y. American Publishing Health Association, 20 theditionMiller

### VI. Cuestionario.

- Trace la curva de calibración normal, evalúe la linealidad y obtenga el modelo de calibración.
- Utilizando el modelo anterior determine la concentración de hierro en la muestra de agua.
- Trace la curva de adición patrón, evalúe la linealidad y determine la concentración de hierro en la muestra.
- Trace la CCN y la CAP en la misma grafica y analice si existe efecto de matriz.
- Compare los resultados de la concentración de hierro con su incertidumbre
- $(C_m \pm tS_x)$  por medio de la CCN y la CAP.
- Cual método de cuantificación utilizaría en caso de análisis de muestras.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b> <b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	PMIA-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### I. Objetivos

- Evaluar la linealidad del modelo de calibración (ley de LambertBeer)
- Determinar la concentración de hierro (III) presente en la muestra por medio de parámetros de CCN.
- Evaluar el error aleatorio de la concentración de hierro en una muestra.

### II. Responsabilidad

El tutor de la práctica deberá supervisar y dirigir la aplicación correcta de este procedimiento para el grupo de estudiantes.

### III. Parte Experimental

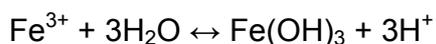
#### 3.1. Principio

Hierro III reacciona con Tiocianato para dar una serie de color rojo intenso de color compuestos, que permanecen en solución verdadera: Hierro II no reacciona.

Dependiendo de la concentración de Tiocianato, una serie de complejos se pueden obtener; estos complejos son de color rojo y se pueden formular como  $(\text{Fe}(\text{SCN})_n)^{3-n}$ , donde  $n = 1 \dots 6$ . a una concentración de tiocianato bajo la especie predominante es de color  $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$   $\{\text{Fe}^{3+} + \text{SCN}^- \rightarrow [\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}\}$ . a 0,1 M concentración de tiocianato es en gran parte  $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]^+$ , y en la concentración de tiocianato muy alto que es  $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3-}$ . En la determinación colorimétrica un gran exceso de tiocianato se debe utilizar, ya que esto incrementa la intensidad y también la estabilidad del color. ácidos fuertes deben estar presentes para suprimir la hidrólisis

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	PMIA-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	



### 3.2. Equipos y Materiales

1. Espectrofotómetro ultra violeta visible. Shimadzu 1203.
2. Plancha de calentamiento.
3. Erlenmeyer de 125 ml : 7.
4. Pipeta de 10 mL: 2.
5. Pizeta : 1.
6. Beakers 100 ml : 2.
7. Matraces aforados de 500ml, 100 ml y 50 ml: 2, 1,1 respectivamente.
8. Espátula: 1.
9. Papel Kleenex.
10. Ácido clorhídrico concentrado.
11. Estándar de hierro(III) (sulfato de hierro amónico (III) )
12. Permanganato de potasio.
13. Tiocianato de potasio
14. Acido nítrico 4M
15. Agua destilada.

### 3.3. Reactivos

#### Acido clorhídrico

- ✓ Provoca quemaduras.
- ✓ Irrita las vías respiratorias.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b>	PMIA-I-04
	<b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

- ✓ Consérvase bajo llave y manténgase fuera del alcance de los niños.
- ✓ En caso de contacto con los ojos, lávense inmediatamente y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
- ✓ En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstrele la etiqueta).

### Permanganato de potasio

- ✓ Peligro de fuego en contacto con materias combustibles.
- ✓ Tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático
- ✓ Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.
- ✓ Evítese su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas de la ficha de datos de seguridad

### Estándar de hierro (III)

- ✓ Leve irritante
- ✓ Nocivo leve

### Tiocianato de potasio

- ✓ Nocivo por ingestión.
- ✓ En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
- ✓ En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
- ✓ No comer, beber ni fumar durante su utilización.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b> <b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	PMIA-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### Acido nítrico

- ✓ Puede generar óxidos de nitrógeno, muy tóxicos, cuando se calienta.
- ✓ Reacciona explosivamente con polvos metálicos, carburos, sulfuro de hidrógeno, alcohol y carbón.
- ✓ Incrementa la inflamabilidad de combustibles orgánicos y materiales oxidados, pudiendo causar su ignición.
- ✓ Con agua y vapor, genera calor y humos corrosivos y venenosos. Con agentes reductores poderosos, explota.
- ✓ En general, evite humedad, calor y el contacto con los compuestos mencionados en las propiedades químicas
- ✓ Este producto es principalmente irritante y causa quemaduras y ulceración de todos los tejidos con los que está en contacto.
- ✓ La dosis letal mínima es aproximadamente de 5 ml (concentrado) para una persona de 75 Kg

### **IV. Procedimiento.**

#### **Parte A. Preparación de soluciones.**

Solución estándar de hierro (III) 242 ppm: Pesar 0.432 g de sulfato de hierro amónico (III) y disolver en agua, añadir 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y diluir a 500 ml con agua destilada.

Tiocianato de potasio: disolver 20 g de Tiocianato de potasio en 100 ml de agua destilada.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	PMIA-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

Solución de ácido nítrico 4 M: tomar 14.3 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado y diluir en 50 ml de agua destilada.

Permanganato de potasio: pesar 0.79 g de KMnO<sub>4</sub> y diluir en 50 ml de agua destilada

### **Parte B. Preparación de las soluciones estándares:**

1. Tomar 5 erlenmeyer de 125 ml y en cada uno de ellos adicionar alícuotas de 3, 6, 9, 12 y 15 ml de solución de 242 ppm de hierro (III)
2. Adicionar 2 ml de ácido clorhídrico concentrado a cada uno de los erlenmeyer.
3. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
4. Agregar perlas de ebullición y calentar en plancha de calentamiento hasta que el volumen disminuya a 10 ml.
5. Enfriar a temperatura ambiente.
6. Llevar a un volumen de 50 ml
7. Agregar gotas de permanganato de potasio hasta que el color vire a rosa pálido.
8. Llevar a un volumen de 500 ml con agua destilada.
9. Tomar 40 ml de solución anterior
10. Agregar 5 ml de Tiocianato de potasio y 3 ml de ácido nítrico 4 M
11. Llevar a un volumen de 50 ml
12. Medir su absorbancia a 480 nm
13. El blanco se prepara siguiendo los pasos del 2 al 11, sin agregar estándar.

### **Parte C. preparación de la muestra:**

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b> <b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	PMIA-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

1. En un erlenmeyer de 125 ml adicionar 10 ml de muestra de agua proporcionada por el profesor.
2. adicionar 2 ml de ácido clorhídrico concentrado a cada uno de los erlenmeyer.
3. Llevar a un volumen de 50 ml con agua destilada.
4. Agregar perlas de ebullición y calentar en plancha de calentamiento hasta que el volumen disminuya a 10 ml.
5. Enfriar a temperatura ambiente.
6. Llevar a un volumen de 50 ml.
7. Agregar gotas de permanganato de potasio hasta que el color vire a rosa pálido
8. Llevar a un volumen 500 ml en un balón aforado
9. Tomar 40 ml de la solución anterior
10. Agregar 5 ml de Tiocianato de potasio y 3 ml de ácido nítrico 4 M
11. Llevar a un volumen de 50 ml
12. Medir su absorbancia a 480 nm.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-león</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Práctica de Laboratorio N°4</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro (III) en agua potable por espectrofotometría</b>	PMIA-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por : Br. María Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### V. Referencias

CLESCERI, L, GEENBERG G y EATON A; (1998), Standard Methods for the Examination of Water and waste water, N.Y. American Publishing Health Association, 20th edition Miller

### VI. Cuestionario.

- Trace una curva de calibración normal, evalúe la linealidad y obtenga el modelo de calibración.
- Determine la concentración de hierro (III) por utilizando los parámetros de regresión.
- Calcule el error aleatorio de la concentración de hierro.
- Compare los resultados con los de la norma CAPRE.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio I</b> <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### Análisis de Resultados

#### I. Exactitud espectral

Para determinar la exactitud espectral a través de un material de referencia, filtro de óxido de holmio, se realizó la lectura en el espectrofotómetro y se obtuvieron siete valores de longitud de onda características.

*Tabla n<sup>o</sup>1 determinación de la exactitud espectral*

<b>Replicas</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>promedio</b>
<b>Longitud de onda</b>	$\lambda$	$\lambda$	$\lambda$	
1	638	638	638	638
2	537	537	537	537
3	486	486	486	486
4	447	447	447	447
5	419	419	419	419
6	361	361	361	361
7	334	334	334	334

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio I</b>  <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

Estos resultados experimentales se comparan con los valores de referencia con el fin de obtener el sesgo de cada uno de ellos y esto se logra a través de la diferencia de los valores de referencia y los valores de longitud de onda experimental, esta diferencia tiene que ser +/- 3nm en la región visible y +/- 1nm en la región ultra violeta que son las especificación del espectrofotómetro SHIMADZU 1200. El valor del sesgo para cada pico característico lo vemos podemos observar en la siguiente tabla:

*Tabla n°2 comparación de los valores de la exactitud de referencia y las experimentales*

Valor referencia	Valor experimental	Sesgo
637.5	638	0.5
536.2	537	0.8
453.2	447	-6.2
418.7	419	0.3
360.9	361	0.1
333.7	334	0.3

De los resultados obtenidos se puede observar que cuatro de los valores obtenidos cumplen con esta especificación y dos de de estos valores están por encima del valor máximo permitido; sin embargo hay que tomar en consideración que el ancho

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio I</b> <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

de banda espectral del espectrofotómetro es de 5 nm por lo que podemos tomar en consideración el ancho de banda espectral permite que estos valores sean aceptables. Si bien aparece un pico que presenta un sesgo mayor que las especificaciones y mayor que el ancho de banda espectral, este podría ser debido a la vejes que presenta el filtro de oxido de Holmio y debido a que este no presenta certificado de calibración, debido a que los valores de referencia son tomados de la literatura. Por lo tanto podemos afirmar que hay exactitud espectral.

### II.

### Exactitud

#### fotométrica.

Para evaluar la exactitud fotométrica (comparación entre valores de absorbancias experimentales y absorbancias de referencias) se utiliza como material de referencia una solución de dicromato de potasio de 60 ppm en medio ácido el cual presentó dos diferentes longitudes de onda 349 nm y 258.5 nm, a cada una de ellos se les realizó la lectura de sus absorbancias por triplicado y se muestran en la siguiente tabla:

*Tabla n<sup>o</sup>3 evaluación de la exactitud fotométrica*

replicas	1	2	3	
Longitud de onda	A	A	A	promedio
349	0.659	0.660	0.660	0.6596
258.5	0.883	0.885	0.888	0.8853

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio I</b>  <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

*Tabla n<sup>o</sup>4 comparación de las absorbancia de referencia y las experimentales*

Longitud de onda	Abs. referencia	Abs. experimental	sesgo
258	0.893	0.8853	0.0077
349	0.640	0.6596	-0.0196

Como se puede observar en la tabla 4 en los valores de absorbancias experimentales se obtuvo un sesgo mayor de 0.005 (para ambas lecturas) que son las especificaciones del espectrofotómetro, sin embargo hay que tomar en consideración varios factores que podrían atribuirse a la falta de exactitud fotométrica y son los siguientes:

- El estándar de dicromato de potasio fue preparado en el laboratorio.
- No se utilizó un material de referencia certificado.
- Los valores de referencias son tomados de la literatura.

Sin embargo a pesar de esos factores podemos afirmar que si bien presentan sesgo significativo, estos valores de absorbancias están muy próximos a los valores de referencia y para ejercicio de esta prueba resulta muy útil realizar la comparación.

### **III. Evaluación de la Linealidad**

Para evaluar la linealidad del método se prepararon cinco soluciones de concentración diferente de dicromato de potasio en medio ácido, luego se realizó las

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio I</b>  <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

lecturas de sus absorbancias a una longitud de onda determinada (350nm) en el espectrofotómetro. Los resultados de las absorbancias para cada estándar con los parámetros de regresión se presentan en la tabla No 5

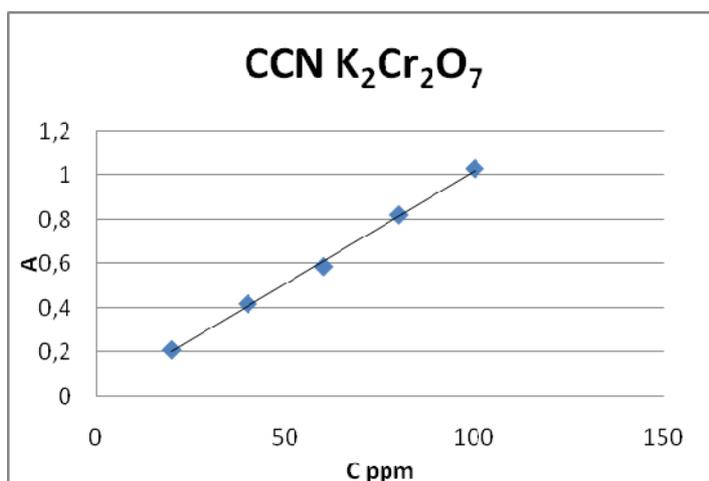
*Tabla n<sup>o</sup>5 resultados de la CCN y sus parámetros de regresión*

Concentración	Absorbancia	Parámetros de regresión	
20	0.213	Pendiente (b)	0.0102
40	0.418	Intercepto (b <sub>0</sub> )	0.00270
60	0.587	Desvío pendiente (sb)	0.0193
80	0.821	Desvío del intercepto (sbo)	2.91x10 <sup>-4</sup>
100	1.03	Desviación residual Sx/y	0.0184
		Coeficiente de regresión r <sup>2</sup>	0.998

En el siguiente gráfico se muestra los valores experimentales de las absorbancias para cada una de las soluciones de dicromato de potasio. (Concentración versus absorbancias). Gráfico No 1.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <b>Métodos instrumentales de análisis I</b>	<b>Informe de laboratorio I</b>  <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		Instructor: Fabio Pallavicini
Elaborado por : Br. <b>Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>		



*Gráfico n<sup>o</sup>1 curva de calibración normal de los estándares de dicromato de potasio.*

Como se puede observar en el comportamiento de la gráfica existe una relación lineal entre la absorbancia y la concentración donde los puntos experimentales se encuentran muy próximos a la recta ajustada. Al igual que el valor del coeficiente de regresión ( $r^2$ ) nos indica lo mismo (que existe buena linealidad) ya que su valor experimental es de 0.9978 y la literatura recomienda valores superiores a 0.9975, por lo cual podemos afirmar el buen funcionamiento de equipo cuando realizamos lecturas a diferentes concentraciones. Al mismo tiempo con esta relación lineal entre la concentración y la respuesta del instrumento en absorbancia podemos observar el cumplimiento de la ley de Lambert Beer.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio I</b>  <b>Calibración de un espectrofotómetro UV – visible.</b>	<b>IMIA-I-01</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por : Br. Magdalena Piura, Meurys Norelys Soto y Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

## CONCLUSIONES

En la evaluación de la exactitud se utilizó un filtro de oxido de Holmio y se obtuvieron valores de longitudes de onda con sesgo dentro de las especificaciones del fabricante comprobándose la buena lectura del espectrofotómetro.

En la evaluación de la exactitud fotométrica se utilizó una solución de dicromato de potasio de 60 ppm y se encontró el sesgo de las absorbancias experimentales con las de referencias obteniéndose valores que sobrepasaban las especificaciones del equipo pero por ser valore pequeños pueden ser útiles para evaluar esta prueba.

Se comprobó la excelente relación lineal que existe entre la concentración y la respuesta del instrumento al evaluar la grafica de la curva de calibración normal y también los parámetros de regresión.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

### Análisis de resultados.

#### **I) Evaluación de la linealidad**

Para evaluar la linealidad del método se realizó la preparación de una serie de soluciones de estándares de diferentes concentraciones a partir de una solución patrón de nitrato de 100 ppm y se realizó la lectura de su absorbancia a una longitud de onda determinada (220nm), ya que a esta longitud de onda se determina el ion nitrato en una muestra de agua. Los resultados de las mediciones de las absorbancias, volúmenes y concentraciones de los estándares los presentamos en la siguiente tabla.

*Tabla No 1 lecturas de absorbancias para los estándares de nitrato*

<b>Vol. alicuota 100 ppm</b>	<b>Concentraciones en ppm</b>	<b>absorbancias</b>
0.5	2	0.123
1	4	0.231
1.25	5	0.282
2.5	10	0.594
5	20	1.178

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

Las absorbancias encontradas a través de la lectura los estándares mostrados en la tabla anterior, nos arrojaron los siguientes resultados para los parámetros de la Curva de Calibración Normal. Los cuales se muestran a continuación.

*Tabla n°2 parámetros de la curva de calibración normal*

<b>parámetros</b>	<b>CCN</b>
Coefficiente de regresión( $r^2$ )	<b>0.9997068</b>
Intercepto (a)	-0.0027969
Pendiente (b)	0.0590728
Desvío del intercepto (Sa)	0.006098
Desvío de la pendiente (Sb)	0.000584
Desvío residual (Sx/y)	0.008439

Como observamos el coeficiente de regresión está próximo a uno ( $r^2 = 0.9997$ ) lo que nos demuestra una relación lineal entre la concentración de los estándares y sus absorbancias.

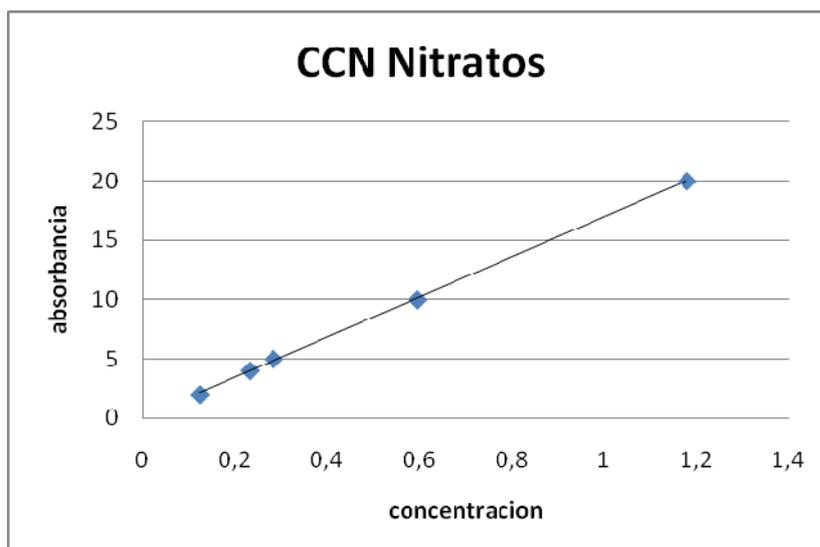
También podemos confirmar la relación lineal al observar la curva de calibración normal (gráfico 1) donde se observa que los puntos experimentales están prácticamente sobre la recta de mejor ajuste confirmándonos la relación lineal que

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>	<b>IMAI-I-02</b>
	<b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

existe entre la concentración y la señal de la absorbancia. Una vez evaluada la linealidad de la recta de regresión esta la podemos utilizar para la cuantificación de nitratos en muestras.

*Grafico Nº 1 CCN para estándares de nitratos*



### **II) Evaluación del error fotométrico.**

Para evaluar el error relativo de concentración o error fotométrico se realizó la lectura de lectura del estándar de 2.5 ppm de nitratos, se realizaron 10 replicas a la misma longitud de onda de trabajo (220 nm).

El cálculo del error relativo de concentración se realizó con la siguiente ecuación;

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

$$\% \frac{\Delta C}{C} = \frac{0.403 * 2St}{T(-\log T)} * 100$$

Los resultados de porcentaje de Transmitancia y Transmitancia se presentan en la siguiente tabla:

*Tabla n°3 Transmitancia y porcentaje de Transmitancia de un estándar de nitrato.*

<b>%T</b>	<b>T</b>
51.29	0.51
50.00	0.50
51.29	0.51
50.70	0.51
50.00	0.50
50.00	0.50
51.29	0.51
50.00	0.50
50.70	0.51
<b>ST</b>	<b>0.00593</b>

Los valores del error relativo de concentración son:

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

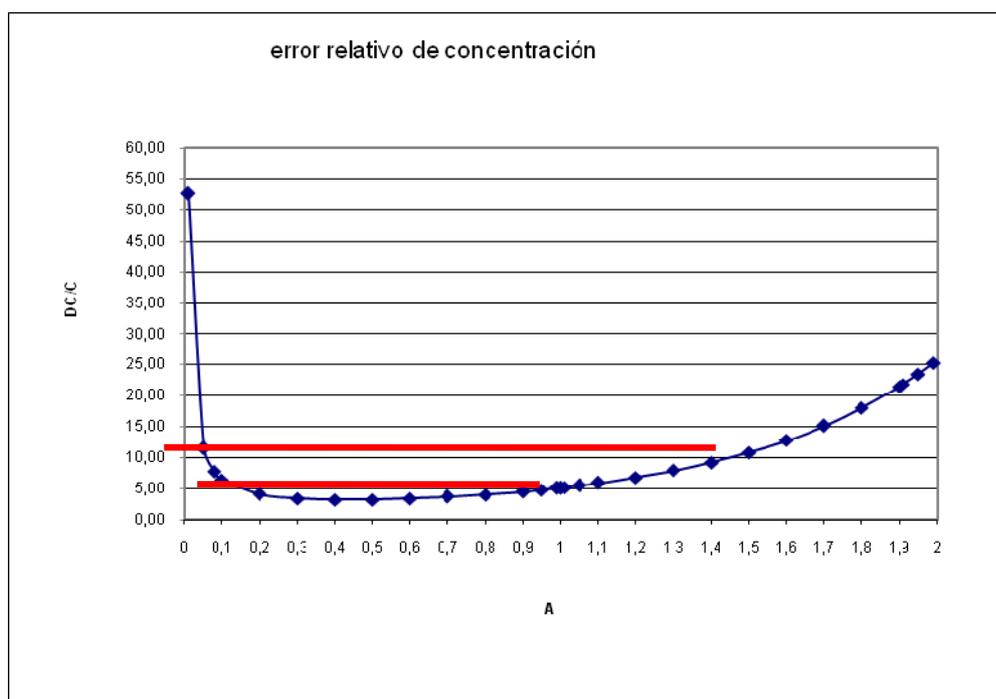
 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

*Tabla n°4 error relativo de concentración para estándares de nitrato*

A	T	%T	dc/c	%dc/c	A	T	%T	dc/c	%dc/c
0.01	0.98	97.72	0.53	52.65	1.1	0.08	7.94	0.06	5.89
0.05	0.89	89.13	0.12	11.55	1.2	0.06	6.31	0.07	6.80
0.08	0.83	83.18	0.08	7.73	1.3	0.05	5.01	0.08	7.90
0.1	0.79	79.43	0.06	6.48	1.4	0.04	3.98	0.09	9.23
0.2	0.63	63.10	0.04	4.08	1.5	0.03	3.16	0.11	10.85
0.3	0.50	50.12	0.03	3.42	1.6	0.03	2.51	0.13	12.80
0.4	0.40	39.81	0.03	3.23	1.7	0.02	2.00	0.15	15.17
0.5	0.32	31.62	0.03	3.25	1.8	0.02	1.58	0.18	18.04
0.6	0.25	25.12	0.03	3.41	1.9	0.01	1.26	0.22	21.51
0.7	0.20	19.95	0.04	3.68	1.91	0.01	1.23	0.22	21.90
0.8	0.16	15.85	0.04	4.06	1.95	0.01	1.12	0.24	23.52
0.9	0.13	12.59	0.05	4.54	1.99	0.01	1.02	0.25	25.27
0.95	0.11	11.22	0.05	4.83					
0.99	0.10	10.23	0.05	5.08					
1	0.10	10.00	0.05	5.15					

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	



*Grafico n° 2 error relativo de la concentración*

Los valores para un error relativo de concentración del cinco por ciento son:

Absorbancia mínima es 0.118 y la absorbancia máxima es 1.08 al mismo error. Esto es trabajando en el intervalo de absorbancia entre 0.118 y 1.08 se comete un error menor del 5 por ciento. A un 10 por ciento de error los valores de absorbancias son: absorbancia mínima 0.07 y absorbancia máxima 1.45

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

### III) Aplicación a una muestra de agua.

Se realizola lectura de las absorbancias de una muestra de agua de grifo, a este análisis se le realizaron 5 replicas la cuales fueron:

Replica	1	2	3	4	5	promedio
lectura	1.121	1.120	1.121	1.122	1.122	1.1212

Para el cálculo de la concentración de la muestra se utilizaron los parámetros de regresión de la curva de calibración normal y el promedio de la lectura de la muestra, con un factor de dilución (25/2). El cálculo se realizo dando como resultado una concentración de 237.40 ppm

$$C_m = \frac{A_m - a}{b} * Fd \qquad C_m = \frac{1.1212 - (-0.00279693)}{0.0590729} * \left(\frac{25}{2}\right)$$

$$C_m = 237.40 \text{ ppm}$$

*Donde:*

*C<sub>m</sub>: concentración de la muestra*

*A<sub>m</sub>: absorbancia de la muestra*

*a: intercepto*

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>  <b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>IMAI-I-02</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

*b: pendiente*

*Fd: factor de dilución*

El error aleatorio de la concentración de nitratos se cálculo de la siguiente manera:

$$S_{x_0} = \frac{S_{X/Y}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{X})^2}}$$

$$S_{x_0} = \frac{0.008439}{0.0590728} \sqrt{\frac{1}{5} + \frac{1}{5} + \frac{(1.1212 - (-0.4816))^2}{0.0590728^2 * 208.8}}$$

$$S_{x_0} = 0.14009122 \text{ ppm}$$

*Donde:*

*S<sub>x<sub>0</sub></sub>*: error aleatorio de la concentración

*m*: numero de replicas de la muestra

*n*: numero de estándares

*Y<sub>0</sub>*: absorbancia de la muestra

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>	<b>IMAI-I-02</b>
	<b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

*ȳ: absorbancia promedio de las respuesta de los estándares*

*Xi: concentración de los estándares*

*X: promedio de la concentración de los estándares*

*Sx/y: desviación residual.*

El intervalo de confianza con su límite inferior y superior de la concentración de nitratos es de:

$$C_m \pm tS_{x_0}$$

$$237.40 \pm 3.182 \cdot 0.140091 \text{ ppm}$$

$$237.40 + 0.45 = 238.29 \text{ ppm} \text{ Limite superior}$$

$$237.40 - 0.45 = 236.95 \text{ ppm} \text{ Limite inferior}$$

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>	<b>IMAI-I-02</b>
	<b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

### Questionario

Investigar otros tipos de métodos por los cuales se puede realizar la determinación de nitratos?

Diferentes métodos por los cuales se puede realizar la determinación de nitratos

1. Método espectrométrico ultravioleta selectivo.
2. Método del electrodo de nitrato.
3. Método cromatográfico de iones.

#### 1. Método espectrométrico ultravioleta selectivo.

Esta técnica solamente se utiliza para seleccionar muestras con bajo contenido en materia orgánica (aguas naturales incontaminadas y suministros de agua potable).

#### 2. Método del electrodo de nitrato.

El electrodo del ion  $\text{NO}_3^-$  es un sensor selectivo que desarrolla un potencial a través de una membrana delgada, porosa e inerte que se mantiene en posición en un intercambiador iónico en un líquido inmiscible con agua.

El electrodo responde a la actividad del ión nitrato entre aproximadamente  $10^{-5}$  y  $10^{-1}$  M. El límite inferior de detección esta determinado por la solubilidad escasa pero finita del cambiador iónico líquido.

#### 3. Cromatografía de iones.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>	<b>IMAI-I-02</b>
	<b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

Método utilizado para el análisis de aniones. Es una técnica separativa. Todos los métodos cromatográficos tienen en común la utilización de una fase estacionaria y una fase móvil, las separaciones están basadas en las diferencias en la velocidad de migración entre los componentes de la muestra.

En general los cromatógrafos disponen de:

- Un módulo de introducción de la muestra (inyección)
- Una columna cromatográfica.
- Un detector.
- Un sistema de procesado de datos.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio II</b>	<b>IMAI-I-02</b>
	<b>Determinación de la concentración de nitrato por el método espectrofotométrico ultra violeta selectivo.</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por:</b> <b>Brs. Magdalena Piura,</b> <b>Meurys Soto y Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor Msc. Fabio Pallavicini</b>	

### Conclusiones

En la evaluación de la linealidad se preparo una solución de nitrato de potasio de 100 ppm a partir del cual se obtuvieron otros estándares en un rango de concentraciones 2 a 20 ppm, obteniéndose una excelente relación lineal entre las concentraciones de los estándares y las absorbancias por lo que se pudo observar el cumplimiento de la ley de Lambert Beer en este intervalo de concentraciones.

Encontrado a través de estos resultados una concentración para el nitrato en una muestra de agua de 237.40 +/- 0.45 ppm,. El cálculo fue a partir de los parámetros de regresión y su incertidumbre evaluada como error aleatorio de la curva de calibración normal.

Para el error fotométrico se obtuvo valores de absorbancias mínimas y máximas seleccionando los errores relativos de concentración del 5 % y del 10 %, encontrándose los valores de  $A_{\min}= 0.118$  y  $A_{\max}= 1.08$  para el 5% y  $A_{\min}= 0.07$  y  $A_{\max}= 1.45$  para un error del 10 %.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>	<b>IMIA-I-03</b>
	<b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### Análisis de resultados

#### **I. Evaluación de la linealidad**

Para evaluar la linealidad del método se realizó la preparación de una serie de soluciones de estándares de diferentes concentraciones a partir de una solución madre de 10 ppm, y se realizó la lectura de sus absorbancias a una determinada longitud de onda (510), esto ocurre debido al complejo que forma el hierro II con la Ortofenantrolina. Los resultados de las mediciones de las absorbancias, volúmenes y concentraciones de los estándares los presentamos en la siguiente tabla.

*Tabla n<sup>o</sup>1 Lectura de absorbancias para los estándares de hierro (II) para la curva de calibración normal*

V alícuotas Fe 10 ppm	Conc. ppm	ABS
2	0.4	0.123
4	0.8	0.217
6	1.2	0.286
8	1.6	0.381
10	2	0.478

Para evaluar la linealidad de la curva de adición patrón se realizó la preparación de seis soluciones de estándares de diferentes concentraciones, conteniendo cada una

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

de ellas 10 ml de muestra (agua del grifo), los volúmenes de los estándar con su concentración y sus respectivas absorbancias se presentan en la tabla nº 2

*Tabla nº 2 lectura de las absorbancias para la curva de adición patrón*

V alícuotas	Conc. ppm	ABS
0	0	0.157
2	0.4	0.188
4	0.8	0.213
6	1.2	0.235
8	1.6	0.255
10	2	0.288

Los resultados de los parámetros de las rectas de regresión para las CCN y CAP se presentan en la tabla nº3

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

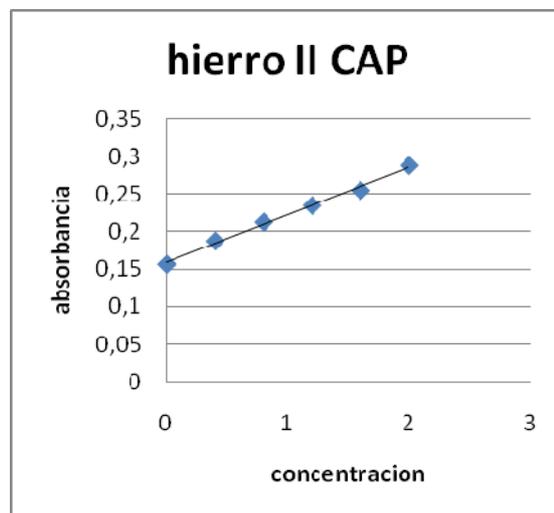
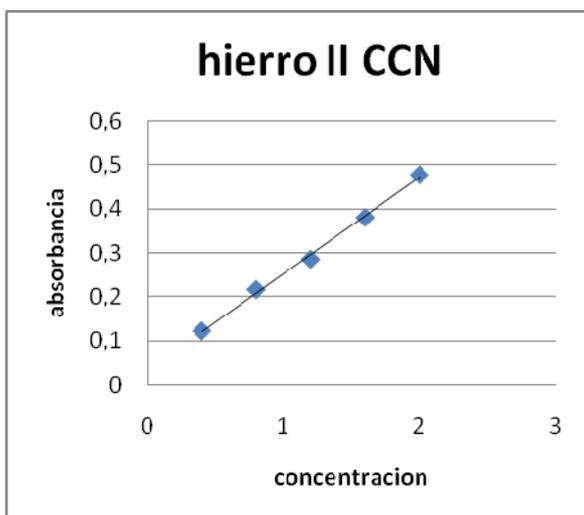
*Tabla n° 3 resultados de parámetros de CCN y CAP*

parámetros	CCN	CAP
r <sup>2</sup>	0.997	0.995
a	0.0348	0.1600
b	0.2185	0.0627
S <sub>a</sub>	0.0091	0.00281
S <sub>b</sub>	0.0067	0.0023
S <sub>x/y</sub>	0.0087	0.0039

Como observamos el coeficiente de regresión está próximo a 1 en ambos casos lo que nos demuestra una relación lineal entre la concentración de los estándares y sus absorbancia. Esto lo podemos confirmar mediante los gráficos en los cuales se ve claramente la excelente relación lineal para ambas curvas.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>	<b>IMIA-I-03</b>
	<b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	



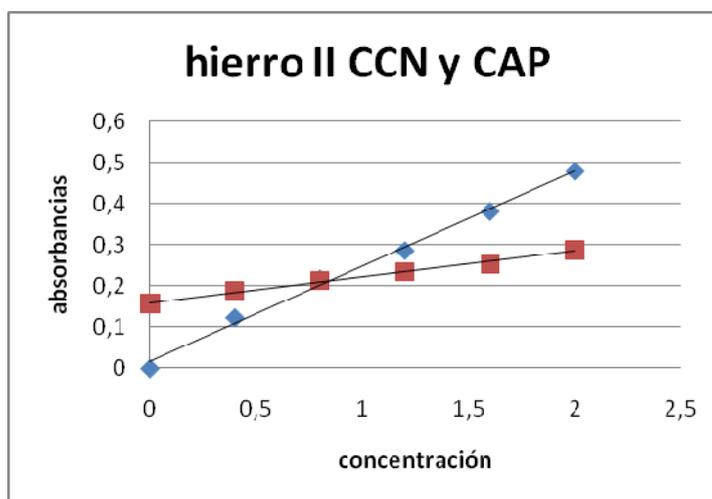
*Gráfico n° 1 y 2 CCN y CAP para estándares de hierro (II)*

### II. Evaluación del efecto de matriz.

Para evaluar el efecto de matriz pusimos en un mismo gráfico la recta de regresión de la CCN y la de la CAP como se muestran en el siguiente gráfico:

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	



*Grafico n° 3 efecto matriz para los estándares de hierro (II), CCN y CAP*

Como se puede observar en el gráfico, las pendientes de la recta son diferentes debido a que hay intercepción de ambas rectas, esto también lo podemos evaluar graficando los límites de las pendientes de ambas rectas

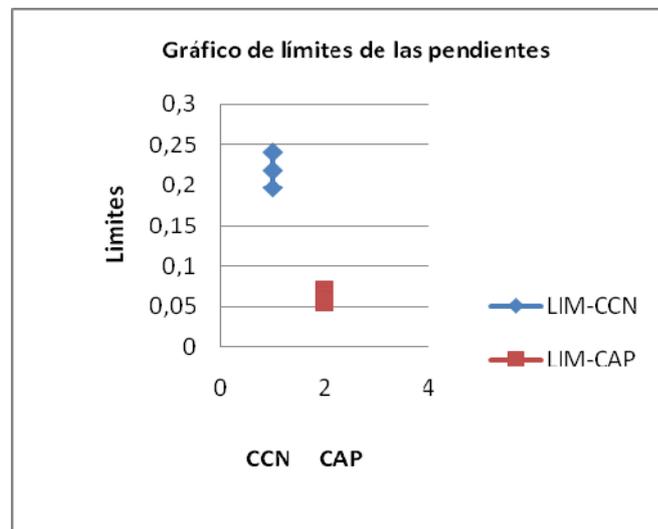
Los resultados de los límites para ambas rectas se presentan en la tabla N° 4y en el gráfico N° 4.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

Tabla n° 4 limites de pendientes de las rectas CCN y CAP

Limites	CCN	CAP
LS	0.2403396	0.06918641
b	0.2185	0.06271429
LI	0.1966604	0.05624217



## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

*Grafico n° 4 límites de pendientes de las rectas CCN y CAP*

En este Grafico se observa que no existen puntos en común al graficar los límites de las pendientes de ambas curvas (AP y CN) esto nos confirma que las pendientes son diferentes por lo cual afirmamos que existe efecto de matriz.

### **III. Aplicación a una muestra de agua.**

#### **III.A a partir de la CCN**

Se realizó la lectura de las absorbancias de una muestra de agua de grifo, a este análisis se le realizaron 5 replicas las cuales fueron:

Replicas	1	2	3	4	5	promedio
Lecturas	0.121	0.121	0.121	0.120	0.120	0.121

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

Para el cálculo de la concentración de la muestras se utilizaron los parámetros de regresión de la curva de calibración normal y el promedio de la lectura de la muestra, con un factor de dilución (50/10) el cálculo se realizó dando como resultado una concentración de 1.9633ppm.

$$C_m = \frac{A_m - a}{b} * Fd$$

$$C_m = \frac{0.1206 - 0.0348}{0.2185} * \frac{50}{10}$$

$$C_m = 0.3926 * 5$$

$$C_m = 1.97\text{ppm}$$

Donde:

*C<sub>m</sub>*: concentración de la muestra

*A<sub>m</sub>*: absorbancia de la muestra

*a*: intercepción

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

*b: pendiente*

*Fd: factor de dilución*

El error aleatorio de la concentración de hierro (II) se calculo de la siguiente manera:

$$S_{xo} = \frac{S_{x/y}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - Y)^2}{b^2 \sum (x_i - X)^2}}$$

$$S_{xo} = \frac{0.077}{0.2185} \sqrt{0.2 + 0.2 + \frac{1.165}{0.2185^2 * 1.6}}$$

$$S_{xo} = 0.07681$$

Donde:

*Sx/y: desviación residual*

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

*m: numero de replicas de muestra*

*n: numero de estándares*

*yo: absorbancia de la muestra*

*ÿ: absorbancia promedio las respuesta de los estandares*

*xi: concentración de los estándares*

*X: promedio de la concentración de los estándares*

*b: pendiente*

*Sxo: error aleatorio de la concentración.*

El intervalo de confianza con su límite inferior y superior de la concentración de hierro (II) es de:

$$C_m \pm tS_{xo}$$

$$1.9633 \pm 3.182 * 0.07681$$

$$\text{Límite superior} \quad 1.9633 + (3.182 * 0.07681) \quad L_s = 2.20 \text{ ppm}$$

$$\text{Límite inferior} \quad 1.9633 - (3.182 * 0.07681) \quad L_i = 1.72 \text{ ppm}$$

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>	<b>IMIA-I-03</b>
	<b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

### III.B a partir de la CAP

Para hacer el cálculo de la concentración de hierro en la muestra se hizo utilidad de diferentes parámetros de regresión de la curva de adición patrón , la cual se muestra a continuación dando como resultado un valor de  $C_m$  : 12.7524 ppm

$$C_m = \frac{a}{b} * Fd$$

$$C_m = \frac{0.1599}{0.0627} * 5$$

$$C_m = 12.75 \text{ ppm}$$

Donde

*C<sub>m</sub>*: concentración de la muestra

*a*: intercepto

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

*b: pendiente*

*Fd: factor de dilución*

El error aleatorio de la concentración se determino de la sig. manera

$$S_{xo} = \frac{S_{x/y}}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{Y^2}{b^2 \sum (x_i - X)^2}}$$

$$S_{xo} = \frac{0.1347}{0.0627} \sqrt{0.2 + \frac{0.04958}{0.0627^2 * 2.8}}$$

$$S_{xo} = 0.1346$$

El intervalo de confianza de su límite inferior y superior de la pendiente se calcula a continuación

$$C_m \pm t S_{xo}$$

$$\text{Límite superior } 12.7524 + 2.78 * 0.1346 \text{ LS} = 13.13 \text{ ppm}$$

$$\text{Límite inferior } 12.7524 - 2.78 * 0.1346 \text{ LI} = 12.38 \text{ ppm}$$

Donde

*C<sub>m</sub>: concentración de la muestra*

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	Instructor: Fabio Pallavicini	

*t: el valor encontrado en la tabla (t tabla)*

### Conclusiones

Para evaluar la linealidad en CCN se realizó una solución madre de 10 ppm de hierro a partir de las cuales se obtuvieron otros estándares en el rango de 0.4 – 2 ppm, obteniéndose una excelente relación lineal entre las concentraciones de los estándares de hierro y las absorbancias del mismo por lo que se observa el cumplimiento de la ley de Lambert Beer.

Para evaluar el efecto de matriz se colocan ambas rectas en un mismo gráfico (CCN Y CAP) las cuales se interceptan mostrando así la diferencia entre ellas, encontrándose que existe efecto de matriz, también se comprobó este resultado por medio gráfico de los intervalos de cada pendiente lo que da como resultado una diferencia entre ellas por lo que afirmamos que existe efecto de matriz.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio III</b>  <b>Determinación espectrofotométrica de hierro en aguas naturales por complejación con ortofenantrolina</b>	<b>IMIA-I-03</b>
		<b>Emisión:</b>
<b>Elaborado por :</b> <b>Magdalena Piura ,</b> <b>Meurys Norelys Soto y</b> <b>Edwin Ordoñez</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

Encontrado a través de estos resultados una concentración de hierro (II) en agua de 1.97 ppm. A partir de los parámetros de la curva de calibración normal y una concentración de hierro (II) en la muestra de 12.75 ppm a partir de los parámetros de la curva de adición patrón, esta diferencia de la concentración obedece a que existe efecto de matriz. Por lo que el método adecuado para la cuantificación sería utilizando una curva de adición patrón por lo antes mencionado.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio nº IV</b> <b>Determinación de la concentración de hierro(III) por espectrofotometría</b>	IMAI-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

### Análisis de resultados

#### I. Evaluación de la linealidad

Para evaluar la linealidad del método se realizó la preparación de una serie de soluciones de estándares de diferentes concentraciones a partir de una solución madre de 242 ppm, y se realizó la lectura de sus absorbancias a una determinada longitud de onda (480nm), esto ocurre debido al complejo que forma el hierro III con el Tiosianato de potasio. Los resultados de las mediciones de las absorbancias, volúmenes y concentraciones de los estándares los presentamos en la siguiente tabla.

*Tabla nº1 Lectura de absorbancias para los estándares de hierro (III) para la curva de calibración normal*

V alícuotas Fe 242 ppm	Conc. ppm	ABS
3	1.16	0.047
6	2.32	0.136
9	3.5	0.207
12	4.64	0.272
15	5.8	0.380

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio nº IV</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro(III) por espectrofotometría</b>	IMAI-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

Los resultados de los parámetros de la recta de regresión para la CCN se presentan en la tabla nº2

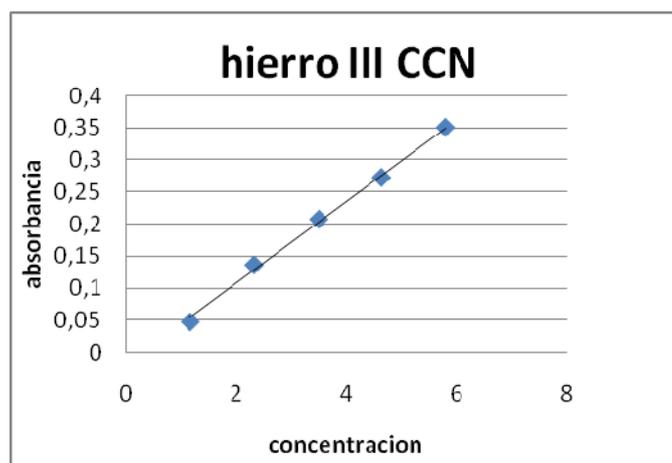
*Tabla nº 2 resultados de parámetros de CCN*

parámetros	CCN
r <sup>2</sup>	0.997
a	-0.0205
b	0.0613
S <sub>a</sub>	0.0072
S <sub>b</sub>	0.064
S <sub>x/y</sub>	0.0069

Como observamos el coeficiente de regresión está próximo a 1 lo que nos demuestra una relación lineal entre la concentración de los estándares y sus absorbancias. Esto lo podemos confirmar mediante el gráfico en el cual se ve claramente la excelente relación lineal para la curva.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio nº IV</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro(III) por espectrofotometría</b>	IMAI-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	



*Gráfico n° 1 CCN para estándares de hierro (III)*

### II. Aplicación a una muestra de agua.

Se realizó la lectura de las absorbancias de una muestra de agua de grifo con contenido de hierro, a este análisis se le realizaron 5 replicas las cuales fueron:

Replicas	1	2	3	4	5	promedio
Lecturas	0.006	0.0059	0.006	0.0059	0.006	0.00596

Para el cálculo de la concentración de la muestras se utilizaron los parámetros de regresión de la curva de calibración normal y el promedio de la lectura de la muestra, con un doble factor de dilución (50/40) y (500/10) el cálculo se realizó dando como resultado una concentración de 21.27ppm.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio nº IV</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro(III) por espectrofotometría</b>	IMAI-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

$$C_m = \frac{A_m - a}{b} * Fd$$

$$C_m = \frac{0.00596 - (-0.0205)}{0.0613} * \frac{50}{40} * \frac{500}{10}$$

$$C_m = 21.27 \text{ ppm}$$

Donde:

*C<sub>m</sub>*: concentración de la muestra

*A<sub>m</sub>*: absorbancia de la muestra

*a*: intercepción

*b*: pendiente

*F<sub>d</sub>*: factor de dilución

El error aleatorio de la concentración de hierro (III) se calculo de la siguiente manera:

$$S_{xo} = \frac{S_{x/y}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - Y)^2}{b^2 \sum (x_i - X)^2}}$$

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio nº IV</b>  <b>Determinación de la concentración de hierro(III) por espectrofotometría</b>	IMAI-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

$$S_{xo} = \frac{0.0069}{0.0613} \sqrt{0.2 + 0.2 + \frac{0.03859}{0.0613^2 * 13.46}}$$

$$S_{xo} = 0.1213$$

Donde:

Sx/y: desviación residual

m: numero de replicas de la muestra

n: numero de estándares

yo: absorbancia de la muestra

Y: absorbancia promedio de las respuesta de los estándares

xi: concentración de los estándares

X: promedio de la concentración de los estándares

b: pendiente

Sxo: error aleatorio

El intervalo de confianza con su límite inferior y superior de la concentración de hierro (III) es de:

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>UNAN-León</b> <i>Métodos instrumentales de análisis I</i>	<b>Informe de laboratorio nº IV</b> <b>Determinación de la concentración de hierro(III) por espectrofotometría</b>	IMAI-I-04
		Emisión:
<b>Elaborado por: María Magdalena Piura, Meurys Soto y Edwin David Ordoñez.</b>	<b>Instructor: Fabio Pallavicini</b>	

$C_m \pm tS_x$

$$21.27 \pm 3.182 * 0.1213$$

$$\text{Límite superior } 21.27 + 3.182 * 0.1213 \text{ LS} = 21.65 \text{ ppm}$$

$$\text{Límite inferior } 21.27 - 3.182 * 0.1213 \text{ LI} = 20.88 \text{ ppm}$$

### Conclusión

Para evaluar la linealidad del método se preparo una solución madre de 242 ppm de hierro (III) a partir de la cual se obtuvieron una serie de diferentes estándares en un rango de concentración de 1.16 – 5.8 ppm, obteniéndose así una excelente relación lineal entre las concentraciones de los estándares y sus absorbancias, por lo que se cumple la ley de Lambert Beer. Dando como resultado una concentración de hierro presente de 21.27 ppm, lo cual sobre pasa el valor permisible (según normas CAPRE) debido a que la muestra fue dopada, esto ocurrió ya que la cantidad de hierro encontrada en la muestra fue en valor por debajo de 0 ppm y para darle aplicación a la cuantificación se realizó la adición de hierro a la muestra.

El valor de la concentración de hierro con la evaluación del error aleatorio a partir de los parámetros de regresión fue de: 21.27 +/- 0.12 ppm.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos espectroscópicos UNAN-León</b>	<b>Instructivo de trabajo del espectrofotómetro UV-visible shimadzu 1203</b>	<b>INS-01</b>
		<b>Emisión:</b>
Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Soto y Edwin Ordoñez	Instructor: Fabio Pallavicini	

### 1. Objetivos

Describir las etapas del funcionamiento y utilización del espectrofotómetro UV-visible shimadzu 1203.

### 2. Alcance

Este instructivo es exclusivamente para el manejo del espectrofotómetro UV-visible shimadzu 1203

### 3. Responsabilidad

La responsabilidad es única del usuario que este manejando el equipo.

### 4. Descripción

- Conectar el equipo a una corriente de 110 V.
- Encender poniendo el interruptor en ON, el cual se encuentra en la parte trasera del equipo.
- Esperar 15 minutos hasta que el equipo se estabilice.  
Opción 1: para una sola longitud de onda
- Entrar en el menú principal y seleccionar la opción 1 para hacer una medición fotométrica.
- Seleccionar la longitud de onda a la que se debe hacer la medición (botón GO TO  $\lambda$ ).

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

 <b>Métodos espectroscópicos UNAN-León</b>	<b>Instructivo de trabajo del espectrofotómetro UV-visible shimadzu 1203</b>	<b>INS-01</b>
		<b>Emisión:</b>
Elaborado por : Br. María Magdalena Piura , Meurys Soto y Edwin Ordoñez	Instructor: Fabio Pallavicini	

- Seleccionar la longitud de onda y presionar enter
- Introducir la celda (cuarzo, vidrio o plástico) que contenga el blanco y realizar su lectura.
- Oprima el botón de autocero (goto).
- Introducir la celda por separado de cada uno de los estándares y obtener sus lecturas de menor a mayor concentración.
- En cada medición de los estándares oprimir star.  
Opción 2: para barrido espectral
- Entrar al menú principal y presionar botón 2 (opción pack del programa)
- Elegir la opción 2 para realizar un barrido espectral
- Seleccionar rango de barrido espectral poniendo la longitud mayor de primero y presionar enter. Seguido de la longitud menor y presione enter
- Seleccionar las unidades a trabajar transmitancias o absorbancias
- Introducir blanco, seleccionar F1 para corrección de línea de base
- Introducir los estándares o muestra, seleccionar star para iniciar barrido espectral.
- Seleccionar F2 para ver los picos del espectro
- Seleccionar F3 para ver la curva espectral
- Presionar return para regresar al menú principal
- Apagar y desconectar el equipo.

### VII. CONCLUSIONES GENERALES.

Las prácticas de laboratorio del componente métodos Instrumentales de Análisis se seleccionaron en base a las prácticas realizadas en años anteriores y la existencia de los reactivos. Estas prácticas se podrían ir realizando en los años posteriores.

Las practicas elaboradas fueron en base a el contenido de los procedimientos operatorios normalizados y siguiendo las directrices de la norma ISO 1013. Se laboraron cuatro prácticas, un instructivo y cuatro informes de laboratorios. Cada uno de ellos con una identificación univoca, es decir una codificación diferente para cada tipo de documentos, en caso de documentos similares se aumenta la numeración de los documentos para poder identificarlos.

En base a el contenido de las practicas esta presentaron la mayoría de las competencias que necesita el componente curricular, es decir manejo de la instrumentación, calibración de equipos, preparación de soluciones, interpretación y aplicación de la ley de Lambert Beer, aplicación de los métodos de cuantificación para un determinado analito en la muestra y aplicación de algunas herramientas de quimiometría para el análisis e interpretación de los resultados.

Al mismo tiempo a los procedimientos operatorios normalizado se les realizó la parte experimental para ver la implementación del mismo y evaluar los resultados de cada práctica realizada. Todos los documentos elaborados en la presente tesis servirán de apoyo a los estudiantes que estén recibiendo el componente curricular de métodos Instrumentales de análisis I para poder realizar sus estudios referentes a la parte experimental.

### VIII. RECOMENDACIONES

1. Elaborar nuevos procedimientos operatorios normalizados para otras prácticas de laboratorio que se puedan realizar.
2. Seleccionar posibles prácticas que se puedan realizar por espectroscopia de absorción y emisión atómica.
3. Elaborar nuevos instructivos con otros equipos a utilizar como el turbidímetro.
4. Aplicar nuevas herramientas de tratamiento de datos dentro de las aplicaciones de las prácticas.

## BIBLIOGRAFIA

### **IX. BIBLIOGRAFÍA**

- [1] Compañó Beltrán R, Ríos Castro A. Garantía de la calidad en los laboratorios analíticos. Editorial síntesis,
- [2] ISO/IE 17025, segunda edición 2005-05-15 ISO/IE 17025:2005(ES) Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y de calibración.
- [3] ISO (1995): ISO/TR 10013:1995, "Guidelines for developing quality manuals"
- [4] Curso sobre requerimientos de calidad para la acreditación de laboratorios de análisis químico. Universidad Internacional de Andalucía Sede Iberoamericana de "La Rábida", Huelva, España 2004
- [5] Skoog A., Holler F.J. y Nieman, T, Análisis Instrumental, Quinta edición, editorial Graw Hill, España año 2001.
- [6] Harris D. C. Análisis Químico Cuantitativo Tercera edición
- [7].ISO (1997d) ISO Guide 32, "Calibration in analytical chemistry and use of certified reference materials"
- [8] Cheng Chow Chan, Y.C Lee. Analytical Method Validation Performance Verification. John Wiley 2004.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [9]. F. PALLAVICCINI, "Métodos Espectroscópicos ", Maestría en Química Aplicada al análisis y Gestión de la Calidad. UNAN – León (febrero 2008).
- [10] ISO (2000a): ISO Guide 31, "Reference materials contents of certificates and labels"
- [11] Harvey QUIMICA ANALITICA MODERNA, Mc Graa Hill, España 2002
- [12]CURSO TEORICO – PRACTICO EN ASPECTOS TECNICOS DEL CONTROL DE CALIDAD INTERNO DEL LABORATORIO DE ANALISIS  
Expositores: Dr. Jorge Chacón, director de la escuela de química de la universidad de Costa Rica
- [13] G. Delgado. Curso Validación de métodos analíticos. Maestría en Química Aplicada al análisis y Gestión de la Calidad. UNAN – León (febrero 2008)
- [14]Miller N. James, Miller C. Jane. Estadística y Quimiometría para Química Analítica 4ta edición 2002.
- [15]Valcárcel Ríos M. LA CALIDAD EN LOS LABORATORIOS ANALITICOS Editorial, revert 1992, Barcelona, España.
- [16] Sierra Alonso I. ANALISIS INSTRUMENTAL volumen 1

## BIBLIOGRAFÍA

---