



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán C1**

**ELABORACIÓN DEL MANUAL DE PRÁCTICAS PARA LA ASIGNATURA DE  
TÉCNICAS ANALÍTICAS Y SU APLICACIÓN INDUSTRIAL PARA LA  
CARRERA INGENIERIA QUIMICA.**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

Presenta:

**CARLOS MARTÍNEZ MARTÍNEZ**

Asesores:

Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez

M. en C. Pablo Hernández Matamoros

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN  
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
 Jefa del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Elaboración del manual de prácticas para la asignatura de técnicas analíticas y su aplicación industrial, para la carrera de ingeniería química.

Que presenta el pasante Carlos Martínez Martínez

Con número de cuenta: 096382031 para obtener el título de:  
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 06 de abril del 2011.

PRESIDENTE	<u>QFB. Elia Granados Enriquez</u>
VOCAL	<u>Dra. Adriana Morales Pérez</u>
SECRETARIO	<u>Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez</u>
1er SUPLENTE	<u>QFB. Dalia Bonilla Martínez</u>
2º SUPLENTE	<u>QFB. Martha Angélica Villegas González</u>

*[Handwritten signatures]*  
 Adriana Morales Pérez  
 Alma Luisa Revilla Vázquez  
 Dalia Bonilla Martínez  
 Martha Angélica Villegas González

## AGRADECIMIENTOS

- Agradezco a mi madre y a mis hermanas, por todo su apoyo y comprensión durante todos mis estudios ya que este logro también es suyo.
- A mi padre que ya no está, pero fue una inspiración para llegar a este logro.
- A Fabiola por todo el amor, comprensión y todo el apoyo incondicional, en buenos y malos momentos, ya que sin ti jamás lo hubiera logrado.
- A Dra. Alma por todo su apoyo, sus enseñanzas, su guía, paciencia y esfuerzo durante todo el trabajo.
- A Dra. Gaby por sus consejos que me sirvieron de guía en este trabajo.
- A mis sobrinos Lluvia, Shajit, Danesh por siempre contagiar su alegría hasta en los momentos más difíciles.
- A Bruno, Bolillo, Jair, Miguel, Juan, Hugo, Pamela, Tamara por estar juntos durante toda la carrera en las buenas y en las malas.
- A Juan Carlos, Daniel, Claudia, Sandy, Elva y Belen por compartir todos esos momentos amenos en el laboratorio.
- A la universidad por brindarme las herramientas para lograr esta meta.

# ÍNDICE

1.0	Objetivos	4
2.0	Introducción	5
3.0	Espectroscopia de UV- visible con Primera Derivada	7
3.1	Marco teórico	7
3.2	Objetivos	9
3.3	Desarrollo Experimental	10
3.4	Diagrama de Trabajo	12
3.5	Resultados y Discusión	12
3.6	Conclusiones	16
3.7	Referencias	17
4.0	Espectroscopia de Absorción Atómica con Generador de Hidruros	18
4.1	Marco teórico	18
4.2	Objetivos	21
4.3	Desarrollo Experimental	21
4.4	Diagrama de Trabajo	23
4.5	Resultados y Discusión	24
4.6	Conclusiones	28
4.7	Referencias	28
5.0	Espectroscopia de Emisión Atómica	30
5.1	Marco teórico	30
5.2	Objetivos	34
5.3	Desarrollo Experimental	34
5.4	Diagrama de Trabajo	37
5.5	Resultados y Discusión	38
5.6	Conclusiones	44
5.7	Referencias	45
6.0	Electroforesis Capilar de Zona	45
6.1	Marco teórico	45

6.2	Objetivos	49
6.3	Desarrollo Experimental	49
6.4	Diagrama de Trabajo	53
6.5	Resultados y Discusión	54
6.6	Conclusiones	58
6.7	Referencias	59
7.0	Voltamperometría Cíclica	60
7.1	Marco teórico	60
7.2	Objetivos	61
7.3	Desarrollo Experimental	62
7.4	Diagrama de Trabajo	63
7.5	Resultados y Discusión	64
7.6	Conclusiones	68
7.7	Referencias	69
8.0	Anexo1 Formato de Prácticas	70
9.0	Anexo 2 Manual de Uso de ICP	95

# OBJETIVOS.

## Objetivo General.

Probar e implementar cinco prácticas para el laboratorio de la asignatura de Técnicas Analíticas y su Aplicación Industrial de la carrera de Ingeniería Química, que permitan al alumno conocer de manera general las técnicas de análisis propuestas en la asignatura para que conozcan los fundamentos y aprendan a interpretar los resultados obtenidos.

## Objetivos particulares.

- Reafirmar los fundamentos de cada técnica para así plantear las condiciones experimentales y tipo de muestra a analizar para las prácticas.
- Conocer en el manejo de los equipos para establecer las condiciones experimentales adecuadas en cada una de las determinaciones.
- Contribuir al proceso de enseñanza apoyando la generación de un manual de prácticas.
- Que se conozca el tratamiento adecuado de la muestra a analizar así como a conocer e interpretar adecuadamente los datos para obtener el resultados deseado.
- Que conozca el alumno una aplicación industrial con cada práctica.

## INTRODUCCIÓN.

Dentro de las asignaturas que se imparten dentro del nuevo plan de estudios de la carrera de Ingeniería Química, por parte de la sección Química Analítica de la FESC-Cuautitlán se tiene la asignatura llamada Técnicas de Análisis y su Aplicación en la Industria, su objetivo es introducir al alumno a técnicas instrumentales de alta sensibilidad con la finalidad de que se encuentre preparado ante las recientes exigencias en el sector industrial.

La asignatura cuenta con doce créditos, tres horas de teoría y seis horas de práctica a la semana, esta materia ya se impartió, sin embargo, dado que no se cuenta con un manual de prácticas específico para ésta, surge la necesidad de elaborar un manual de prácticas que sirva de apoyo a el alumno y al profesor para el uso y manejo del equipo instrumental de alto costo y la realización de prácticas previamente probadas que resulten adecuadas. Cabe mencionar que es importante que el alumno se involucre con la preparación de una muestra previa a su determinación en cada técnica, lo cual debe de lograrse en el tiempo semanal de laboratorio.

A fin de comenzar a implementar el manual, se tomo en cuenta el equipo instrumental, materiales y los reactivos existentes en la FES-C, campo uno, para establecer las prácticas a ser realizadas. En este trabajo se tiene contemplada la implementación de cinco prácticas de laboratorio no existentes dentro de la sección de química analítica. Las primeras tres prácticas tendrán que ver con métodos espectrofotométricos de análisis como son la espectrofotometría UV-Visible molecular, la espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros y la última la espectrofotometría de emisión atómica. Posteriormente, dentro de los métodos de separación modernos, se introducirá al alumno con la electroforesis capilar, un método electroquímico de separación que ha comenzado a ser importante a nivel industrial, y por último, dentro de los métodos electroquímicos de análisis se revisará la voltamperometría cíclica, una herramienta muy útil para obtener información acerca de procesos fisicoquímicos y cinéticos.



A continuación, se presentará la información introductoria, así como los procedimientos experimentales plantados y los resultados obtenidos a llevarlos a cabo, para cada una de las cinco prácticas. Los formatos de práctica, los cuales se incluirán en el manual, se incluyen en un anexo, al final de este documento.

# *DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE CAFEÍNA Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO EN TABLETAS POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA DE PRIMERA DERIVADA*

## *GENERALIDADES.*

La espectrofotometría es una de las técnicas más utilizadas en la determinación de sustancias capaces de absorber radiación electromagnética [1].

Cuando la radiación atraviesa una capa de un sólido, un líquido o un gas, ciertas frecuencias pueden eliminarse selectivamente por absorción, un proceso en el que la energía electromagnética se transfiere a los átomos, iones o moléculas que componen la muestra. La absorción provoca que estas partículas pasen de un estado fundamental a temperatura ambiente, a uno estado excitado de energía superior [1].

De acuerdo con la teoría cuántica, los átomos, moléculas o iones sólo tienen un número limitado de niveles de energía discretos; de modo que para que se produzca la absorción de la radiación, la energía de los átomos deben de coincidir con la diferencia energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de las especies absorbentes. Como estas diferencias de energía son características para cada especie, el estudio de las frecuencias de la radiación absorbida proporciona un medio para caracterizar los componentes de una muestra [1].

Por medio de la espectrofotometría de UV-Vis es posible cuantificar analitos en muestras que no presenten interferencias. La principal limitante que presenta esta técnica radica en que cuando se tiene dos o más analitos que absorban radiación a una misma longitud de onda, se dificulta su análisis, debido a las interferencias espectrales. Una posibilidad de eliminar estas interferencias es utilizando la espectrofotometría de primera derivada. Esta variante de técnicas espectrofotométricas se selecciona debido a que tiene la posibilidad de determinar los componentes de una mezcla binaria y ternaria sin la necesidad de tener un método de separación previo.[2]

La utilización de los espectros derivados puede aumentar la sensibilidad de la detección de interferencias espectrales menores (por ejemplo, los hombros) y reducir el error

causado por la superposición de la banda espectral de la sustancia analizada por bandas de interferencia de otras especies, en la muestra. El principal inconveniente de la técnica derivada es que la relación señal-ruido se vuelve cada vez peor por órdenes superiores. [2]

Un espectro de primera derivada es un gráfico de gradiente de la  $dA / d\lambda$  de la absorción en comparación con la longitud de onda y dispone de un máximo y un mínimo. La distancia vertical entre estos parámetros es la amplitud, que es proporcional a la concentración del analito. La diferenciación que hace el espectro derivado discrimina contra las bandas anchas, haciendo hincapié en las características más nítidas en medida que se incrementa con el orden creciente de derivados. [2]

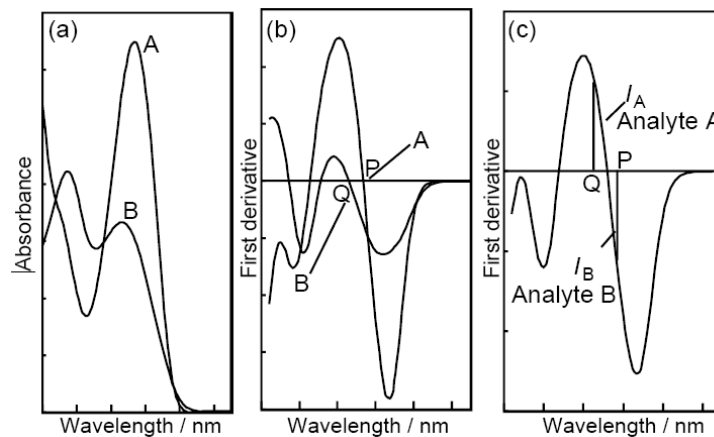


Figura 1. (a) espectro de absorción, (b) espectro de primera derivada de dos analitos A y B (mostrando su paso por cero), (c) espectro de primera derivada donde se muestra los puntos donde la señal depende únicamente de uno de los analitos, (Q) punto de anulación para el analito "a" y (P) punto de anulación para el analito "B". [3]

Para el análisis cuantitativo, la ley de Lambert-Beer ( $A = \epsilon \ell c$ ) se cumple para el espectro normal, la ecuación para primera derivada se puede obtener de la siguiente manera

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \epsilon}{d\lambda^n} \ell c$$

Donde A es la absorbancia,  $\epsilon$  es coeficiente de absortividad molar, es  $\ell$  la longitud de la celda, y c es la concentración molar de la sustancia analizada. Esto forma la base de las determinaciones analíticas. [1]

En una mezcla binaria (M) de los componentes A y B que absorben en la región UV-Visible se expresan por las ecuaciones de la ley de Beer y aditividad:

$$A_M = A_A + A_B = \varepsilon_A l C_A + \varepsilon_B l C_B$$

Aplicando derivada:

$$\frac{dA_M}{d\lambda} = \frac{d\varepsilon_A}{d\lambda} l C_A + \frac{d\varepsilon_B}{d\lambda} l C_B$$

Es posible medir el valor absoluto de los incrementos de absorbancia de una serie de sistemas y relacionarlos con los incrementos de concentración para el componente A, siempre que exista un valor en el eje de las abscisas que le corresponda un valor de cero para el componente B y viceversa. Este punto se denomina punto de anulación o "zero-crossing" y se aplica el concepto a la primera derivada. En otras palabras debe existir una longitud de onda ( $\lambda$ ) donde se cumple simultáneamente que:

$\frac{d\varepsilon_A}{d\lambda} = 0$  por lo tanto independiente de CB y  $\frac{d\varepsilon_B}{d\lambda} \neq 0$  en consecuencia dependiente de la CA.

Por lo anterior se puede aplicar el concepto de punto de anulación en una formulación farmacéutica que contiene como dos principios activos, cafeína (CAF) y ácido acetilsalicílico (AAS).

La espectroscopia de primera derivada se ha utilizado para resolver problemas reales en una variedad de campos, con especial interés en aplicaciones farmacéuticas ya que se puede determinar el contenido de dos principios activos que se encuentran en mezcla en la formulación sin realizar un tratamiento de separación, lo que tiene un impacto económico importante en esta industria ya que reduce la cantidad de consumibles en el tratamiento de la muestra además de tiempo en la determinación de la misma.

## **OBJETIVOS.**

- ✓ Reafirmar el fundamento y el manejo general del espectrofotómetro de absorción molecular, y establecer qué tipo de información puede obtenerse con él.
- ✓ Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar un adecuado tratamiento matemático de los datos obtenidos experimentalmente para realizar adecuadamente la cuantificación de una mezcla binaria (ácido acetilsalicílico - cafeína) mediante una curva de calibración empleando los espectros de primera derivada.
- ✓ Establecer el tratamiento adecuado de una muestra real a fin de asegurar la completa

disolución de los analitos, para obtener resultados confiables.

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL.**

**EQUIPO:** Espectrofotómetro PERKIN ELMER UV/Vis Lambda 18 con celdas de cuarzo y pH metro OAKTON pH 500 series

### **REACTIVOS:**

- Estándar de cafeína 99.0% de pureza Fluka
- Estándar de ácido acetil salicílico 98.0% de pureza sigma aldrich
- Ácido Acético glacial R.A. 68.4% de pureza J.T. Baker México.
- Hidróxido de sodio perlas 98% de pureza, bajo en carbohidratos J.T. Baker México.
- Agua desionizada 18.2  $\Omega$ cm Milipore.

### **PREPARACIÓN DE SOLUCIONES:**

- BUFFER: se prepara 1L de buffer de ácido acético/ acetatos de una concentración total de 0.2 M y pH =5.5
- STOCK CAFEINA: Se pesan 26.2 mg de cafeína, se disuelven con 40 ml de buffer de acetatos, se ponen en agitación con barra magnética durante 5 minutos y finalmente se lleva a aforo de 50 ml llegando a una concentración de 520 mg/L.
- STOCK AC. ACETILSALICILICO : Se pesan 26.0 mg de ácido acetilsalicílico se disuelven con 40 ml de buffer de acetatos, se ponen en agitación con barra magnética durante 5 minutos y finalmente se lleva a aforo de 50 ml llegando a una concentración de 510 mg/L.
- CURVA DE CALIBRACIÓN: Se toman 10 mL del stock de cafeína y 20 mL ácido acetilsalicílico; se llevan al aforo de 50 mL con buffer (Solución A). De la solución A, se prepara la curva de calibración a partir de tomar los volúmenes indicados en la tabla 1.

**Tabla 1. Preparación de la curva de calibración\*.**

Sistema	Solución A (mL)	CAF (mg/mL)	AAS (mg/mL)
1	1	2.08	4.08
2	2	4.16	8.16
3	3	6.24	12.24
4	4	8.32	16.32

5	5	10.40	20.4
6	6	12.48	24.48

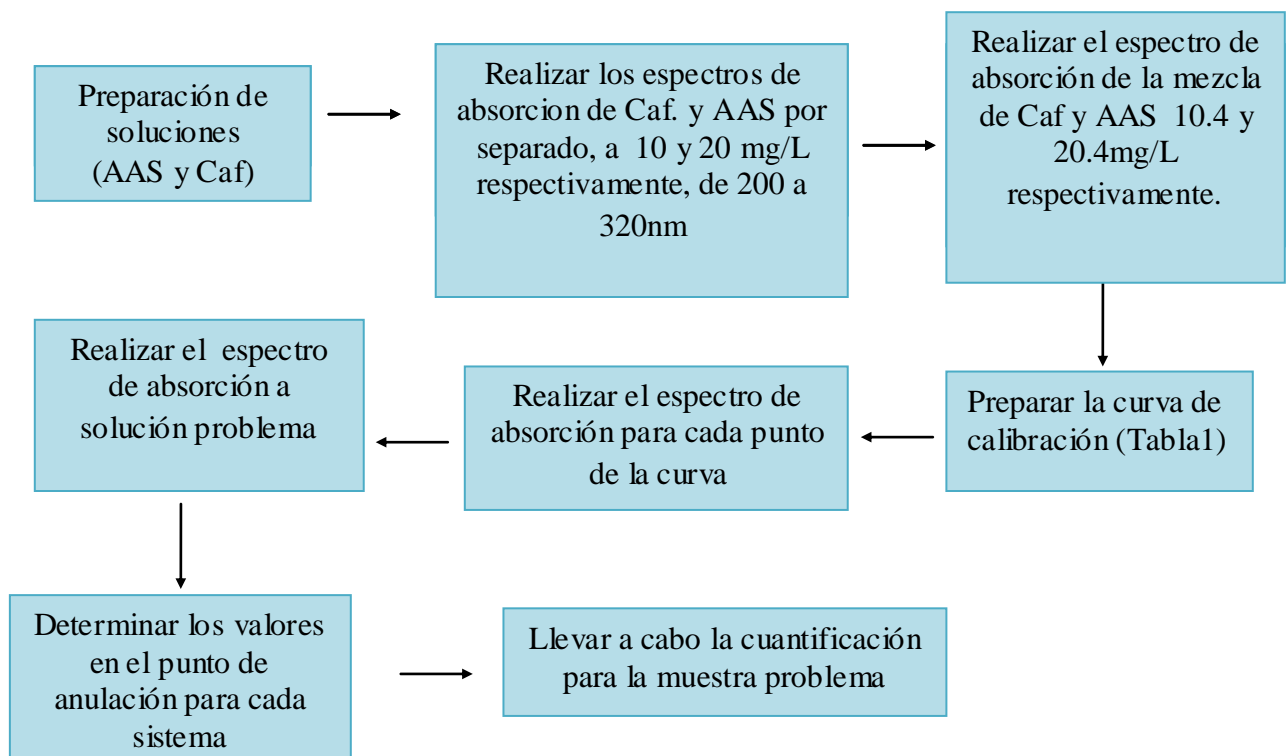
\*Todos los sistemas se llevan al aforo de 50 mL con buffer.

Para cada sistema se determina su espectro de absorción en un intervalo de 200 a 320 nm, tomando como blanco buffer de acetatos.

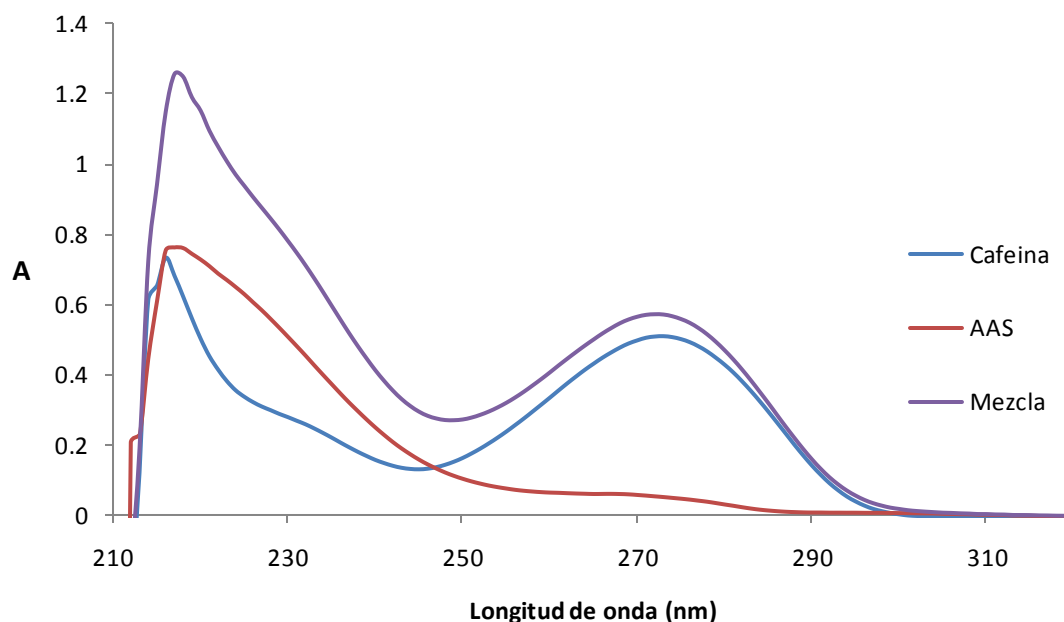
• MUESTRA PROBLEMA:

- ✓ Problema de cafeína: se obtiene el peso promedio de cinco tabletas de cafiasprina (Bayer). Se trituran en un mortero hasta la obtención de un polvo fino; se pesan aproximadamente 27 mg de polvo de tableta, se disuelven en 150 mL de buffer de acetatos con agitación por 10 minutos, se filtra para retirar excipientes y se lleva al aforo de 200 mL con buffer de acetatos y se etiqueta como solución "B".
- ✓ Problema de ácido acetilsalicílico: se toman 3 mL de la solución "B" y se llevan a aforo de 50 mL con buffer de acetatos, se etiqueta como solución "C"

**DIAGRAMA DE TRABAJO.**



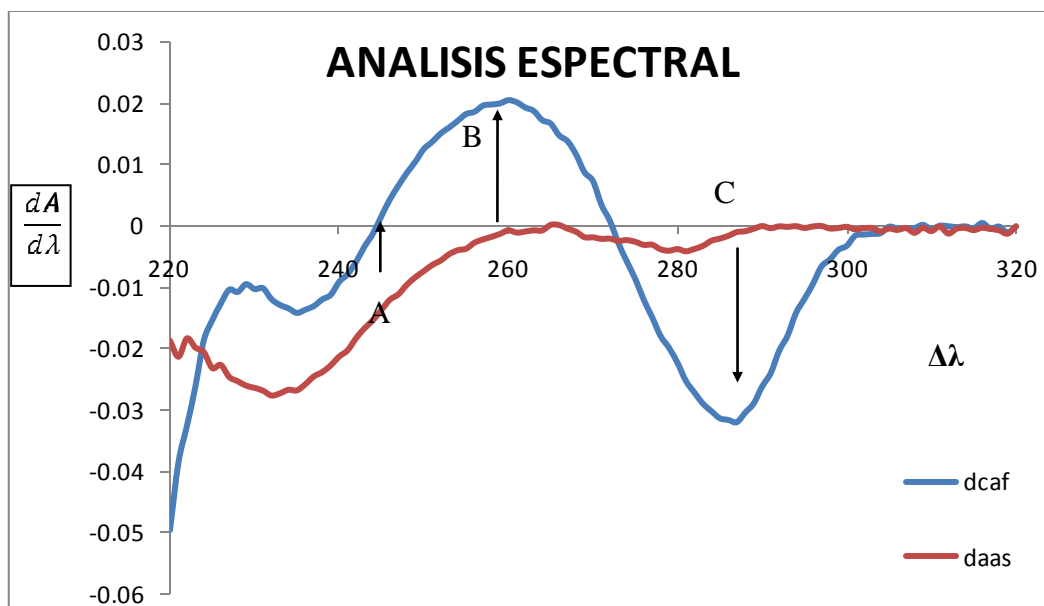
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Gráfico 1. Espectro de absorción para 1) ácido acetilsalicílico (20.4 ppm) , 2) cafeína (10.4 ppm) y 3) mezcla AAS y Caf.**

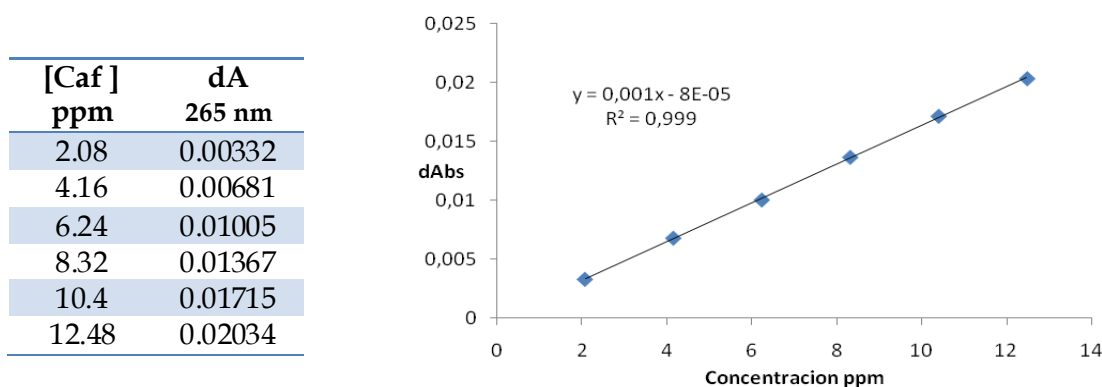
En el gráfico 1 se observan para cafeína dos máximos, en 218 y 273 nm, que coinciden con los reportados en la literatura; por otro lado, el ácido acetilsalicílico presenta un sólo máximo en 225 nm. En el espectro de la mezcla se nota un incremento en la absorbancia muy significativo en los máximos de absorbancia de los analitos debido al cumplimiento de las leyes de aditividad y Lambert-Beer, lo que dificulta la determinación simultánea de estos analitos por espectrofotometría UV simple.

La determinación de los principios activos sin un método de separación previo, es posible si se calcula la primera derivada de los datos espectrofotométricos de los estándares (gráfico 2). Esta gráfica presenta un máximo (260nm) y dos mínimos (233 y 285 nm) para la cafeína en tanto para el ácido acetilsalicílico se observan dos mínimos, el más pronunciado se encuentra en 234 nm, el otro no se distingue bien pero se encuentra en 280 nm.



**Gráfico 2. Espectro de absorción para los analitos de interés aplicando el tratamiento matemático de 1ª derivada.**

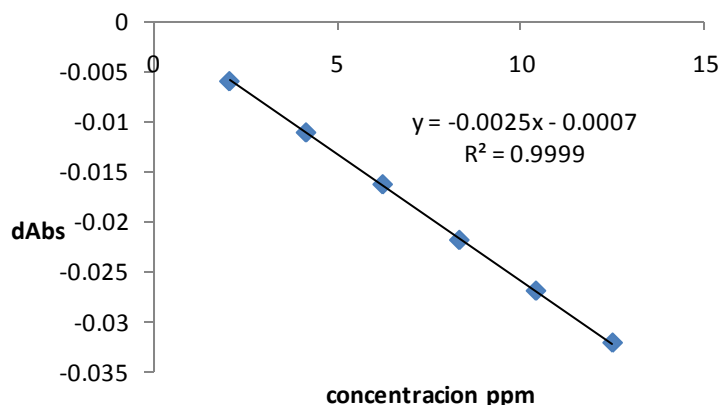
En la gráfica 2 se señalan los puntos B y C que corresponden a los puntos donde el incremento en la absorbancia del ácido acetilsalicílico es cero ( $\Delta Abs = 0$ ), y por lo tanto es independiente de los cambios de concentración, en estos mismos puntos la cafeína presenta cambios de absorbancia debido a los incrementos de concentración de cafeína ( $\Delta Abs = \Delta C_{cafeína}$ ). Por lo tanto en los puntos B ( $\lambda = 265 \text{ nm}$ ) y C ( $\lambda = 290 \text{ nm}$ ) existe la posibilidad de cuantificar a la cafeína sin que exista interferencia por parte del ácido acetilsalicílico, lo cual se puede observar en los gráficos 3 y 4, puesto que a estas longitudes de onda se realizaron las curvas de calibración correspondientes para la cuantificación de cafeína.



**Gráfico 3. Curva de calibración y tabla de datos para cafeína a 265 nm.**



[Caf] ppm	dA 290nm
2.08	-0.00597
4.16	-0.0111
6.24	-0.01629
8.32	-0.02186
10.4	-0.02694
12.48	-0.03214

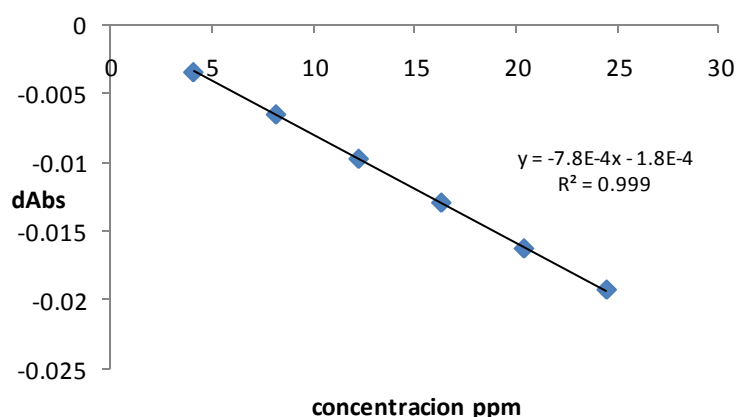


**Gráfico 4. Curva de calibración y tabla de datos para cafeína a 290 nm.**

El mismo comportamiento descrito, se presenta en el punto A ( $\lambda = 244\text{nm}$ ), solo que ahora la cafeína es la que tiene un  $\Delta\text{Abs} = 0$  e independiente de su concentración y el ácido acetilsalicílico cumple con  $\Delta\text{Abs} = \Delta C_{\text{acetilsalicílico}}$ , lo que permite en esta longitud de onda ( $\lambda$ ) determinar al ácido acetilsalicílico sin que afecte la presencia de la cafeína.

Por lo anterior, es posible el análisis simultáneo de cafeína y acetilsalicílico mediante la obtención de primera derivada de los datos espectrofométricos, sin realizar su separación previamente. Se encuentran un máximo a 265 nm y un mínimo 290nm para cafeína, y un mínimo 244nm para ácido acetil salicílico, por lo que esta última longitud de onda es la elegida para la cuantificación y elaboración de la curva de calibración de ácido acetilsalicílico, como se muestra en el gráfico 5.

[AAS] ppm	dA 244 nm
4.08	-0.00342
8.16	-0.00649
12.24	-0.00972
16.32	-0.01291
20.4	-0.01624
24.48	-0.01924



**Gráfico 5. Curva de calibración y tabla de datos para ácido acetilsalicílico a 244 nm.**

El análisis estadístico para las curvas de calibración (gráficos 3 al 5) muestra que el coeficiente de determinación explica el 99.9% de la variación en la absorbancia, por los cambios en la concentración de cafeína y ácido acetilsalicílico, en cuyo caso el valor del

coeficiente de correlación implica una fuerte relación entre la variable independiente (concentración) y la variable dependiente (absorbancia) para ambos analitos, por lo que las curvas de calibración son adecuadas para la cuantificación de éstos.

- **Cuantificación de los principios activos en la muestra.**

La muestra problema contiene ambos principios activos en diferentes proporciones, haciendo necesaria la preparación de soluciones independientes para la cuantificación de cada uno de los activos de manera individual, para tenerlos aproximadamente a la misma concentración y así cuantificarlos con las curvas de calibración realizadas, (ver apartado de preparación de soluciones).

La solución B se utiliza para la cuantificación de cafeína y la solución C para determinar el ácido acetilsalicílico. La tabla 2 presenta los resultados de las cuantificaciones al interpolar en la curva de calibración los datos de incremento de absorbancia ( $\Delta Abs$ ) en las longitudes de onda seleccionadas previamente en los puntos de anulación correspondientes.

**Tabla 2. Determinación de los principios activos en las tabletas.**

P.A	$\lambda$ (nm)	mg p.a./tableta Experimental	mg p.a./ tableta Marbete	%
A. Acetilsalicílico	244	451,597	500	90,319
A. Acetilsalicílico	244	460,813	500	92,162
A. Acetilsalicílico	244	454,607	500	90,921
Cafeína	265	33,795	30	112,652
Cafeína	265	32,311	30	107,705
Cafeína	265	33,814	30	112,714
Cafeína	290	32,664	30	108,882
Cafeína	290	32,352	30	107,841
Cafeína	290	33,674	30	112,246

Como se puede observar en la Tabla 2, para el ácido acetilsalicílico se obtiene en promedio un 91.13% de principio activo con respecto al marbete, a diferencia de la cafeína que es de 111.02% a 265 nm y de 109.65 % a 290 nm en promedio,.

Cabe señalar que, como se observa en la tabla 2, los porcentajes obtenidos para cafeína son superiores al 100%, sin embargo caen dentro del intervalo permitido para uniformidad de dosis reportado que es de 85 -115%.

De manera similar ocurre con el ácido acetilsalicílico, aunque en este caso los porcentajes obtenidos son inferiores al 100%, sin embargo entran dentro del rango reportado.

## CONCLUSIONES.

- ✓ Esta práctica permite al alumno conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del espectrofotómetro de absorción molecular.
- ✓ Se efectuó la cuantificación de ácido acetilsalicílico y cafeína de manera simultánea en una muestra comercial. Para dicha cuantificación se realizó el tratamiento matemático de la primera derivada de los datos obtenidos experimentalmente mediante una curva de calibración.
- ✓ Al realizar la cuantificación de los principios activos en la muestra se observa que se encuentran del rango permitido para esta forma farmacéutica por lo que este método de cuantificación utilizado es adecuado y confiable para estos analitos.
- ✓ Un tratamiento adecuado de una muestra es un paso imprescindible en dicho análisis, ya que la cantidad obtenida de los analitos va a estar en función de la cantidad disuelta de éstos, por lo cual este paso es trascendental para obtener resultados confiables y reproducibles.

## REFERENCIAS.

1. Douglas A. Skoog, F. James Holler. (2001). "Principios de análisis instrumental." McGraw Hill. Quinta edición. México D.F.(141,142)
2. F. Aberasturi.(2001). "UV-Visible First-Derivative Spectrophotometry Applied to an Analysis of a Vitamin Mixture". Journal of Chemical Education (2001), 78, 793-795.
3. Alma Luisa Revilla Vázquez, Pablo Hernández Matamoros. "Determinación Simultánea de Cafeína Y Ácido Acetilsalicílico en Tabletas por Espectrofotometría de La Primera Derivada (Uv-Vis)". Memorias en extenso XXII Congreso Nacional de Química

Analítica. Editadas por la Asociación Mexicana de Química Analítica. A. C.México, 2008. ISBN 978-968-9400-01-1.

4. F. Aberásturi, A. I. Jiménez, F. Jiménez, and J. J. Arias. "UV-Visible First-Derivative Spectrophotometry Applied to an Analysis of a Vitamin Mixture". Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Universidad de La Laguna, Facultad de Química, E-38071 La Laguna, Tenerife, Spain.

# *DETERMINACIÓN DE SELENIO TOTAL POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCIÓN ATOMICA CON GENERADOR DE HIDRUROS*

## *GENERALIDADES.*

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica aplicada para la determinación de metales; esto se logra incidiendo energía electromagnética a los átomos libres del metal de interés y midiendo la energía absorbida por los átomos. [3]

En esta técnica se lleva a cabo primero la creación de un aerosol de la muestra líquida al mezclarse con los gases que originan la flama, después se lleva a cabo la desolvatación de la muestra dentro de la flama y finalmente se genera el vapor atómico de los elementos, los cuales en presencia de radiación electromagnética, suministrada por una lámpara de cátodo hueco, absorben cierta cantidad de radiación, pasando de su estado basal a un estado excitado.

La cantidad de la radiación absorbida puede ser medida y es directamente proporcional a la concentración del átomo o elemento. La absorción sigue la Ley de Lambert-Beer. [1]

Esta técnica tiene varios sistemas de atomización los cuales son utilizados para aumentar los límites de cuantificación, estos son el horno de grafito y el generador de hidruros, éste último cuando se utiliza para mercurio se conoce como vapor frío.

Debido a las crecientes demandas en la industria en la cuantificación de trazas metálicas ha surgido la necesidad de incluir en la formación de los ingenieros químicos técnicas de cuantificación de trazas poco convencionales que están tomando auge en la actualidad como lo es la espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros (EAA-GH), esta técnica específica para algunos elementos (de hecho sólo 7) que tienen la capacidad de generar hidruros volátiles y permitir su cuantificación en partes por billón. Con el propósito de generar una práctica demostrativa de la técnica EAA-GH se propuso determinar selenio en sangre y/o plasma de ganado, debido a que es una técnica muy sensible, y específica, capaz de determinar al selenio y otros metales como arsénico,

antimonio, mercurio, telurio y estaño además del mercurio, a nivel de trazas, siendo la más empleada para dichos elementos.

### Generador de hidruros.

La Espectroscopia de Absorción Atómica con Generación de Hidruros (EAA- GH), requiere de éste aditamento, el cual está disponible para todos los equipos modernos de Absorción Atómica. En la actualidad se hacen análisis de rutina empleando el sistema de atomización por generador de hidruros para metaloides como antimonio, arsénico, selenio y telurio entre otros, ya que estos tienen la capacidad de formar hidruros volátiles. [2]

Las partes principales del equipo de EAA- GH son las mismas que para EAA por flama, sin embargo este sistema de atomización incluye una celda óptica de cuarzo y un sistema de generación de hidruros relativamente complejo (Fig.1), en esta técnica el nebulizador utilizado en EAA por flama no es utilizado. [2]

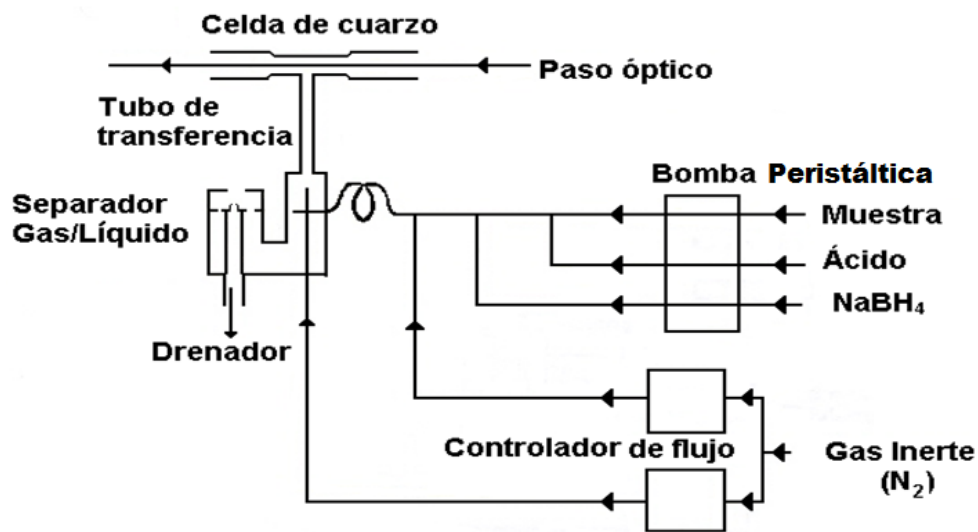


Fig. 1. Esquema para el modulo Generador de Hidruros

Esta técnica se basa en la reacción de los oxianiones del metaloide con borohidruro de sodio y HCl, en elevada concentración (3-9M) produce un hidruro volátil: H<sub>2</sub>Te, H<sub>2</sub>Se, H<sub>3</sub>As, H<sub>3</sub>Sb, etc., el cual es destruido en presencia de la flama y libera al elemento en forma de vapor atómico para ser excitado por la radiación proveniente de la lámpara de cátodo hueco.

El estado de oxidación del metaloide es crucial y se debe tener cuidado para producir el estado de oxidación específico de cada metaloide antes de que la muestra sea introducida en el sistema de generación de hidruros. [2]

El tiempo de mezcla de los reactivos y el tiempo en que el hidruro volátil se separa del líquido y es enviado a la celda óptica, son importantes. El tiempo y la velocidad del flujo de ese proceso es controlado por las corrientes de reactivos juntos, utilizando una bomba peristáltica la cual traslada el ácido, el borohidruro y la muestra a un separador gas-líquido en el cual se lleva a cabo la mezcla de éstos y consiguientemente las reacciones de oxidoreducción a partir de las cuales se generan los hidruros volátiles, los cuales son acarreados por un gas inerte (argón o nitrógeno) a través de tubos o mangueras a la celda óptica. La mayoría de los reactivos introducidos en el flujo del sistema son retirados a un contenedor de residuos, y debido a que el contenido de ácido es muy elevado, a menudo cerca del 50%, el contenedor de residuos es de vidrio y debe ser manejado cuidadosamente. [2]

Poner foto del GH y sus partes señaladas

La celda óptica está hecha de un tubo de cuarzo el cual es transparente a longitudes de onda del UV, térmicamente estable a altas temperaturas, a través del cual el haz de luz proveniente de la lámpara de cátodo hueco pasa hacia el monocromador y posteriormente al fotomultiplicador. En la celda óptica se descompone el hidruro formado de elemento, en hidrógeno molecular y en el metal en su forma elemental, el cual puede absorber el haz de luz emitido por la lámpara de cátodo hueco, produciendo una señal proporcional a la concentración del elemento. [2]

El estado de oxidación del metaloide es importante en EAA-GH. Por ejemplo, en el análisis de Selenio por EAA-GH, se requiere tener al Se (IV), ya que el Se (VI), es el estado más altamente oxidado del elemento, el cual responde de forma errática y no es reproducible en el sistema. Por lo tanto, el selenio en el análisis, tanto en la calibración como en las muestras debe estar en el estado de oxidación de Se (IV). Esto puede lograrse mediante la oxidación de toda la muestra a selenato (Se VI) utilizando un oxidante fuerte como el ácido nítrico o el peróxido de hidrógeno y la reducción del selenato a selenito con HCl. [2]

Después de esa etapa de reducción, el contenido final debe de estar en medio ácido previo a la introducción al módulo de generación de hidruros. La concentración del borohidruro de sodio y del ácido clorhídrico es importante, al igual que la velocidad de flujo a la cual es introducida al recipiente de reacción del modulo de generación de hidruros; la optimización de esto es importante y suele ser diferente para cada equipo y cada elemento. [2]

### **OBJETIVOS.**

- ✓ Conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros, para emplearlo adecuadamente.
- ✓ Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar adecuadamente la cuantificación de selenio en sangre y/o plasma, mediante una curva de calibración.
- ✓ Realizar el tratamiento adecuado de una muestra biológica a fin de asegurar la completa digestión de la materia orgánica para obtener resultados confiables.

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL.**

#### **EQUIPOS:**

- Espectro de Absorción Atómica Varian, Software Spectra AA-800.
- Generador de Hidruros VG77 Varian Australia.
- Horno de microondas Mars 5 CEM Corporation USA.

#### **REACTIVOS:**

- Estándar de Se High-Purity  $1000 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  en 2% de HCl con 99.999% de pureza
- Ácido clorhídrico R.A. 36.5-38% de pureza J.T. Baker México.
- Ácido Nítrico R.A. 68.4% de pureza J.T. Baker México.
- Peróxido de hidrogeno en solución al 30% J.T. Baker México.
- Hidróxido de sodio perlas 98% de pureza, bajo en carbohidratos J.T. Baker México.
- Brohidruro de sodio 99% de pureza, Aldrich Alemania.
- Agua desionizada 18.2  $\Omega\text{cm}$  Milipore.



## PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.

- **Stock Selenio:** Preparar una solución stock de 2 µg/mL a partir del estándar de 1000 µg/mL llevando a la marca de aforo con agua desionizada.
- **Ácido clorhídrico 7M:** Agregar 590 ml de ácido clorhídrico concentrado en un matraz volumétrico de 1L y llevar a la marca de aforo con agua desionizada.
- **Borohidruro de sodio:** pesar 0.508 g de hidróxido de sodio en un vaso de precipitados de 20 mL, y adicionar agua desionizada para solubilizar, pesar 0.612 g de borohidruro de sodio en un vaso de precipitados de 20 mL y adicionar agua desionizada para solubilizar. Verter las soluciones anteriores en un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a la marca de aforo con agua desionizada.
- **Curva de calibración:** Preparar una curva de calibración, en un rango de concentración de 0 a 18 µg/L de Selenio a partir de la sol stock anterior llevando a la marca de aforo con ácido clorhídrico 7M.

**Tabla 1. Preparación de la curva de calibración**

SISTEMA	CONC. Se (µg/L)	VOL. STD (µL)	AFORO (mL)
1	2	50	50
2	6	150	50
3	10	250	50
4	14	350	50
5	18	450	50

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PROBLEMA.

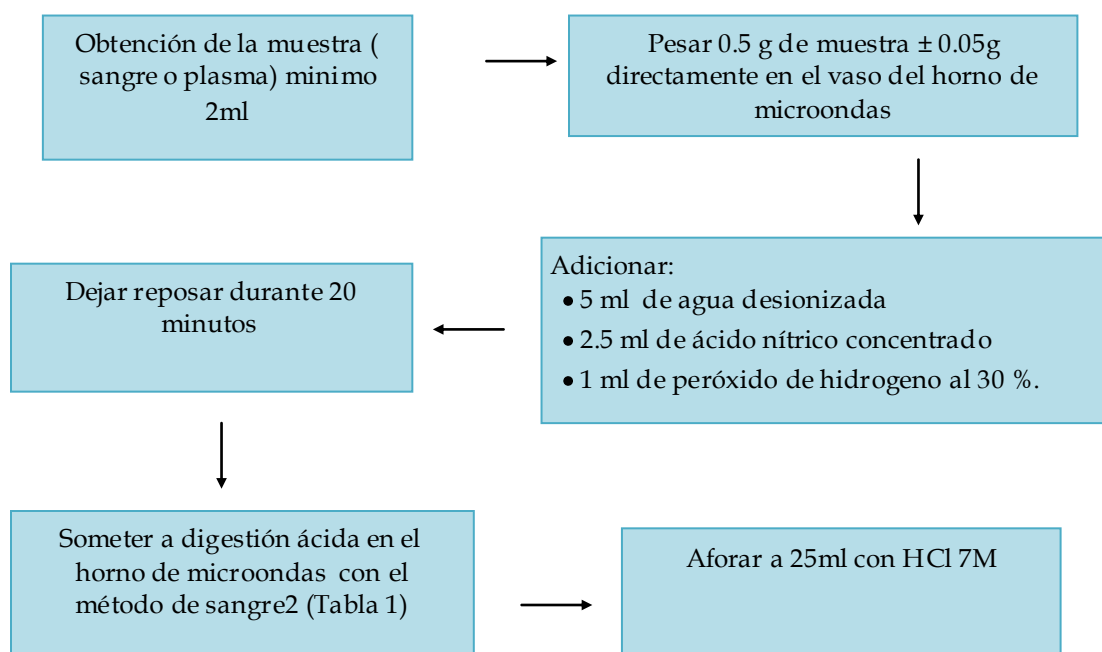
### Digestión Ácida:

- I. Pesar 0.5 g ± 0.05 de sangre directamente en los vasos (asegurándose de no ensuciar las paredes de los vasos).
- II. Adicionar 5 ml de agua desionizada, adicionar 2.5 de ácido nítrico concentrado, 1 ml de peróxido de hidrogeno al 30%, dejar reposar 20 min.
- III. Colocar el vaso de teflón dentro de las de las camisas, colocar las camisas en el carrusel del horno de microondas.
- IV. Apretar cada uno de los vasos y colocar el aro que sujeta a los vasos.
- V. Introducir cuidadosamente el sensor de temperatura en el vaso control (vaso 1).
- VI. Encender el Horno de Microondas, seleccionar el método Sangre2.
- VII. Abrir la puerta del horno e introducir el carrusel, verificando que la ranura ubicada en el centro del carrusel coincida con la base blanca del horno, y conectar el sensor de

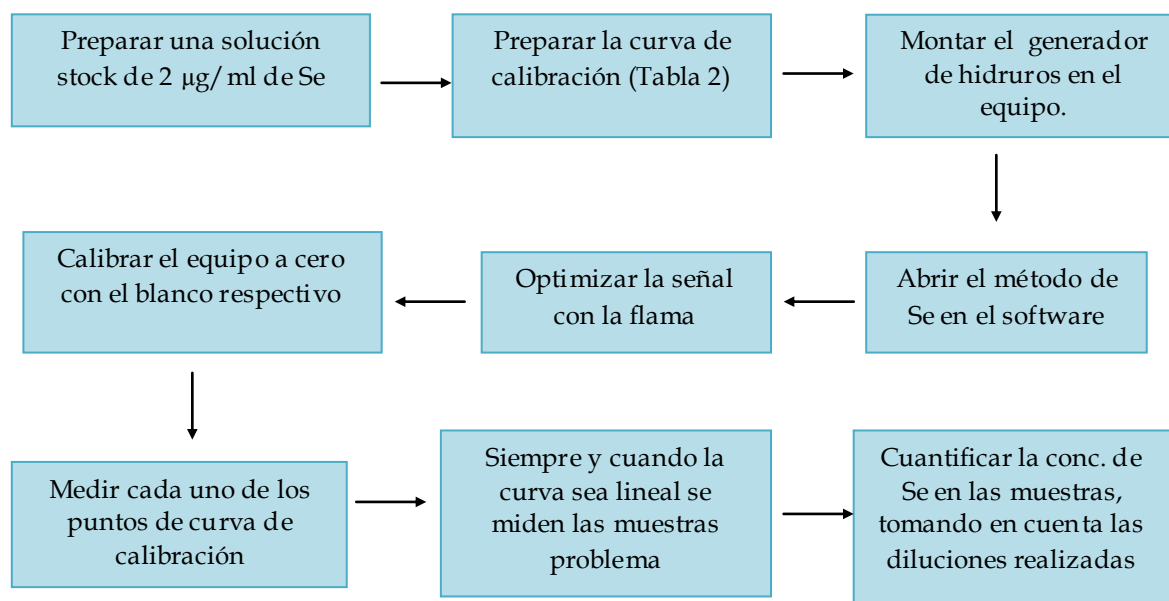
la temperatura en la sonda que se ubica en la parte superior central interna del horno de microondas.

- VIII. Verificar en la pantalla del horno, que se esté monitoreando la temperatura, y que el carrusel gira de manera adecuada.
- IX. Cerrar la puerta y oprimir la tecla "Start" para comenzar la digestión.
- X. Una vez transcurrido el tiempo de la digestión, desconectar el sensor de la temperatura y sacar cuidadosamente el carrusel, y apagar el equipo.
- XI. Colocar el carrusel en la campana de extracción, dejar que la los vasos se enfríen por 20 minutos a temperatura ambiente.
- XII. Una vez fríos, enjuagar los vasos con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico 7M, y verter el contenido del vaso en un matraz volumétrico de 25 ml y llevar a la marca de aforo con HCl 7M, y medir en EAA-GH.

### DIAGRAMA DE TRABAJO



**Imagen 1. Diagrama de preparación de la muestra**



**Imagen 2. Diagrama de la cuantificación de la muestra por EAA-GH**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generación de Hidruros, es una técnica muy sensible, capaz de determinar concentraciones en el rango de partes por billón (ppb) para metales capaces de formar hidruros volátiles (antimonio, arsénico, bismuto, selenio y telurio) y específica. Esta técnica es capaz de analizar cuantitativamente metales a nivel de trazas siendo la más empleada para la determinación de selenio en muestras biológicas [2].

Para la implementación de esta técnica es necesario llevar a cabo una digestión ácida como tratamiento previo (Tabla 1), este tratamiento tiene la finalidad de eliminar la materia orgánica convirtiéndola en CO<sub>2</sub> y agua, dejando libre y disuelto en medio ácido al metal.

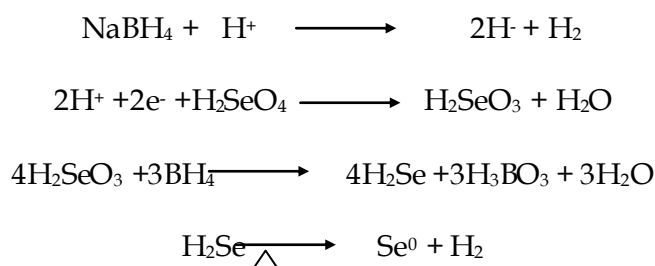
**Tabla 1. Condiciones de digestión ácida para sangre.**

Etapa	Potencia (W)	Potencia %	Rampa (min)	Presión	Temperatura (°C)	Tiempo de mantenimiento
1	1200	100	4	350	140	2 min
2	1200	100	2	350	180	4 min
3	1200	100	2	350	200	4 min

La digestión utilizada en esta práctica fue asistida por microondas ya que el metal que desea cuantificar es volátil por lo que debe de mantenerse en un sistema cerrado para evitar la pérdida del analito, además el método de digestión por microondas es rápido, no hay pérdida de muestra por evaporación y la transformación de la materia orgánica a agua y CO<sub>2</sub> se lleva a cabo en su totalidad, dando como resultado una solución completamente traslucida que facilita el introducir la muestra sin filtrar al equipo para su determinación. Este método de digestión (tabla 1) ya fue previamente validado [4]. La muestra ya digerida debe ser medida en las siguientes 72 hrs posteriores a su digestión ya que el selenio es inestable en medio ácido a bajas concentraciones.

Una vez realizada la digestión se adiciona y afora con HCl 7 M, el cual tiene como propósito reducir al selenio de Se(VI) a Se(IV), especie que al entrar en contacto con borohidruro en medio ácido forma un hidruro volátil de comportamiento adecuado.

En la figura 2, se muestran las reacciones químicas propuestas para la determinación de selenio en el generador de hidruros.



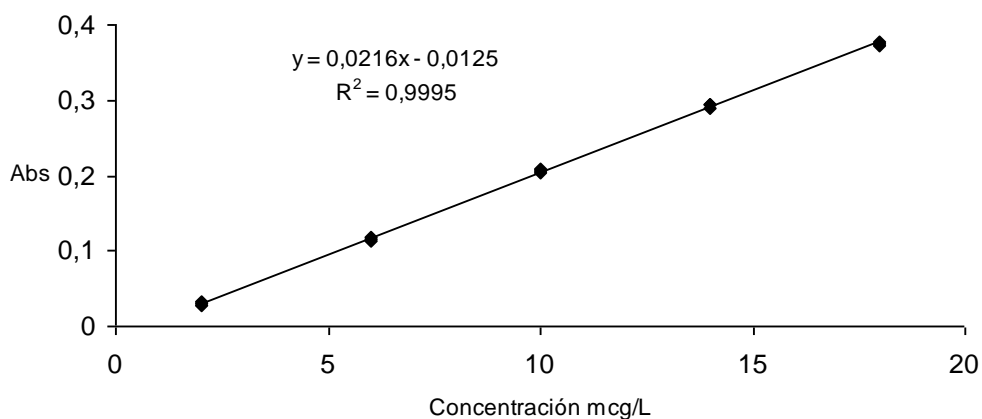
**Figura 2. Reacciones propuestas para la determinación de selenio por generador de hidruros.**

La cuantificación de selenio en la muestra se llevo a cabo por medio de una curva de calibración en un intervalo de 2-18µg de Se/L (tabla 2) debido a que las concentraciones reportadas se encuentran entre 0.05-0.16 µg Se/g muestra.

**Tabla 2. Datos de concentración y absorbancia obtenidos**

Sistema	Conc( $\mu\text{g/L}$ )	Abs
1	2	0,0277
1	2	0,0319
1	2	0,0309
2	6	0,1127
2	6	0,1163
2	6	0,1191
3	10	0,2030
3	10	0,2058
3	10	0,2078
4	14	0,2900
4	14	0,2936
4	14	0,2948
5	18	0,3711
5	18	0,3752
5	18	0,3763

**Curva de calibración de Se**



**Gráfico 4. Curva de calibración para el selenio.**

**Tabla 3. Parámetros estadísticos de la regresión lineal.**

Parámetro	Valor	Óptimo
Pendiente (m)	0.0216	-
Intercepto (b)	-0.0125	$\approx 0.0$
Coefficiente de correlación (r)	0.9995	$\geq 0.98$
Coefficiente de determinación ( $r^2$ )	0.9990	$\geq 0.98$

De acuerdo a los datos mostrados en la tabla 3, se observa que el coeficiente de determinación explica el 99.90% de la variación en la absorbancia por los cambios en la

concentración de selenio y que el valor del coeficiente de correlación implica una fuerte relación lineal entre la concentración y la absorbancia del selenio por lo que la curva es adecuada para la cuantificación de selenio en las muestras de sangre. Una vez obtenidos los parámetros óptimos se lleva a cabo la cuantificación, para ello se utilizaron tres muestras de sangre de borrego.

**Tabla 4. Resultados promedio de la concentración de selenio en sangre**

PESO (g)	ABS	µg de Se/g mta
0.5146	0.0256	0.0547
0.5096	0.0331	0.0467
0.5055	0.0387	0.0599

Los resultados obtenidos son de tres muestras diferentes de sangre que al analizarlas las concentraciones de selenio se encuentran alrededor de 0.05ppm como se muestra en la tabla 4. El rango reportado para selenio en sangre es de 0.05-0.16 ppm, los resultados obtenidos se encuentran cerca del límite inferior y uno de ellos se encuentra por debajo de lo reportado en la literatura esto se debe a la baja ingesta de selenio en la dieta ya que la dieta de los borregos está hecha a base de forrajes que provienen de suelos deficientes de selenio esta deficiencia puede provocar desordenes metabólicos.

La importancia del estudio del selenio radica en que este es un micronutriente y las funciones bioquímicas que desempeña en el metabolismo y en el sistema inmunitario son de significativa importancia por sus implicancias económicas en salud y producción animal. La vitamina E y el Se son esenciales para proteger el organismo animal de daños causados por la producción de metabolitos nocivos o tóxicos. Estos dos micronutrientes son necesarios y responsables del mantenimiento e integridad de paredes y membranas celulares en los tejidos. Los dos actúan juntos, la vitamina E con capacidad antioxidante previene la oxidación de ácidos grasos insaturados que produce peróxidos nocivos para las células, y sí estos se forman actúa la GSHP catalizando su destrucción. El Cu y el Se protegen a los tejidos de daños oxidativos a través de sus respectivas metaloenzimas superóxidodismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GSHP). [5]

Por lo anterior ha despertado el interés de investigadores y la industria ganadera para la suplementación del ganado con este importante micro elemento, de igual forma en la

industria alimentaria de los llamados alimentos funcionales donde el selenio a cobrado gran importancia en este sector por lo que esta técnica ha cobrado importancia ya que es rápida y confiable.

### **CONCLUSIONES.**

- Esta práctica permite conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros, ya que permite al alumno obtener datos confiables, reproducibles y veraces, ya que coinciden con los reportados en la literatura.
- Se cuantifico el selenio contenido en 3 muestras de sangre, mediante una curva de calibración, obteniendo concentraciones dentro del rango reportado para este elemento, sin embargo los datos obtenidos se encuentran cercanos al límite inferior, lo cual nos indica que los animales utilizados, presentan una deficiencia de este elemento.
- Se realizó el tratamiento adecuado de las muestras de sangre, el cual consistió en una digestión ácida asistida por microondas, lo cual permite a los alumnos conocer y manipular dicho equipo, además de la completa digestión de la materia orgánica de la muestra.

### **REFERENCIAS.**

1. Gabriela Uribe Diaz.(2002)."Métodos de separación para el análisis químico y el desarrollo tecnológico: cuantificación de trazas metálicas(As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Pt, Rh, Zn) en muestras de suelo por espectrofotometría de absorción atómica". Tesis Q.F.B. Cuautitlán Izcalli (México) México. UNAM.(Pag.24,25)
2. G. Chasteen Thomas . These notes were written by Dr. Thomas hydride generation atomic absorption spectroscopy .  
[http://www.shsu.edu/~chm\\_tgc/primers/HGAAS.html](http://www.shsu.edu/~chm_tgc/primers/HGAAS.html); Department of Chemistry, Sam Houston State University, Huntsville, Texas 77341.

3. Douglas A. Skoog, F. James Holler. (2001). “Principios de análisis instrumental.” McGraw Hill. Quinta edición. México D.F. (203-207)
4. Gleason Huerta Ma. Eugenia. 2004. “Desarrollo y optimización de los métodos de digestión ácida en microondas para la cuantificación de selenio en muestras biológicas”. Tesis Q.F.B. Cuautitlan Izcalli (México) México. UNAM.
5. Pérez Becerril Erika Fabiola. (2007). “Estudio de perfiles de Selenio en sangre y líquido ruminal de bolos de Selenato de Bario”. . Tesis Q.F.B. Cuautitlán Izcalli (México) México. UNAM. (pag 2,3,23)



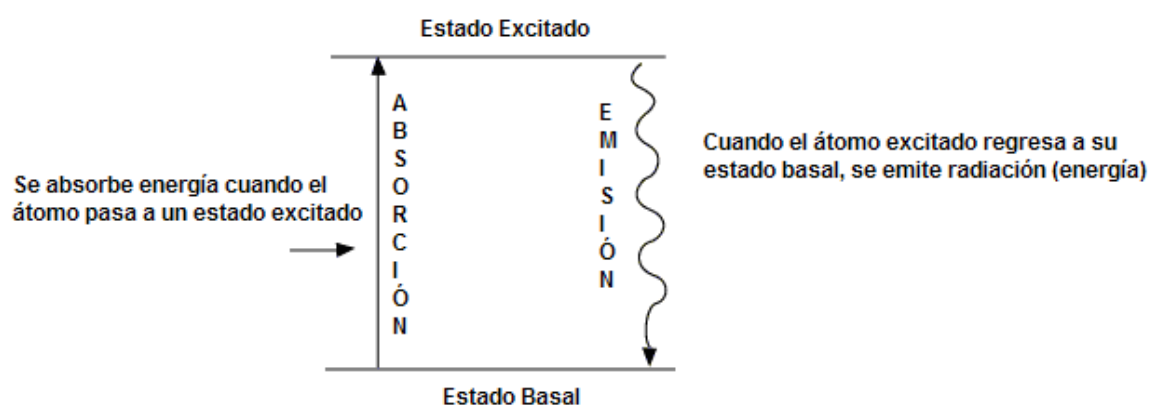
## ***DETERMINACIÓN DE ELEMENTOS METÁLICOS Y METALOIDES EN SANGRE DE BORREGOS POR ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-OES).***

### **GENERALIDADES.**

La espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES, por sus siglas en inglés) es una técnica que permite la determinación de elementos metálicos, semimetálicos y no metálicos.

La absorción y emisión de energía pueden ser fácilmente descritas partiendo del entendimiento de la naturaleza de los espectros atómicos e iónicos. Considerando el modelo atómico de Bohr, el cual describe al átomo con un núcleo con carga positiva rodeado por electrones en diferentes orbitales de niveles discretos de energía, todos los átomos tienen en sus orbitales electrones, que pueden pasar de un orbital a otro, y poseen una energía asociada con éstos.

La energía es absorbida por el átomo, el electrón pasa de un orbital de menor energía (estado basal) a uno superior o de mayor energía (estado excitado), éste es el proceso de excitación. El electrón regresa al orbital en que se encontraba inicialmente emitiendo un fotón y en este proceso se dice que decae el átomo (Figura 1).



**Figura 1. Transición electrónica de un átomo**

La razón por la que el átomo no permanece en el estado excitado es que siempre tiende a permanecer en un estado estable y su estado inicial o basal es el más estable, por lo que para

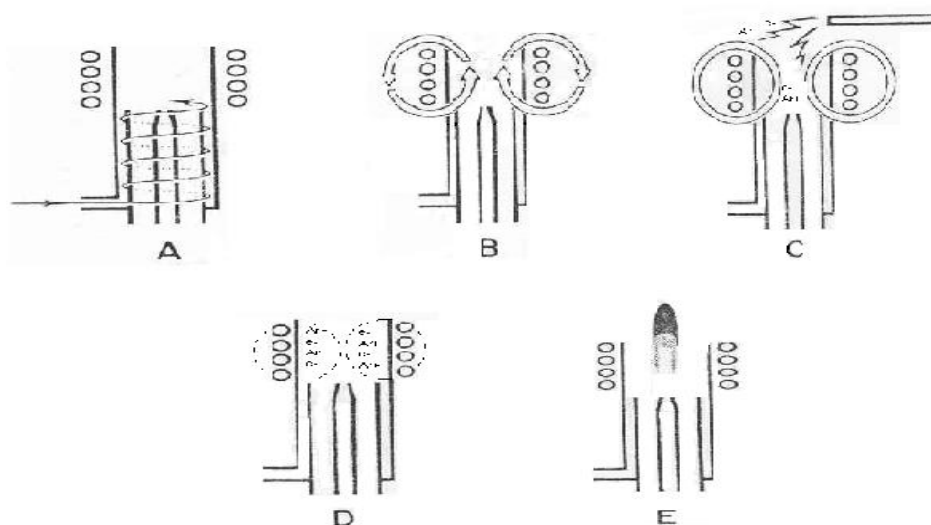
regresar a éste debe ceder o perder la energía absorbida. La energía absorbida por el átomo puede ser producto de la colisión con otras partículas (átomos, electrones, iones o moléculas) o debido a que la energía usada incrementa la energía cinética del átomo (es decir, que incrementa la velocidad del átomo) por lo que el átomo pasa al estado excitado.

La espectroscopia de emisión atómica es una técnica analítica cualitativa y cuantitativa, que se basa en la medición de la emisión de energía de una población de átomos excitados por medio de una fuente de alta energía. Esta técnica se puede emplear idealmente para determinar hasta 73 elementos de manera simultánea. Este tipo de espectroscopia es similar a la absorción atómica, con la diferencia básica de que no es necesaria una fuente de luz. En la espectroscopia de emisión los átomos son elevados a un estado excitado por medio de colisiones térmicas, (se emplea una fuente calorífica, un plasma), al regresar a un estado electrónico basal, los átomos excitados emiten radiaciones características de cada elemento.[3]

- **Formación del Plasma**

Se dice que un plasma es el cuarto estado de la materia y no es un estado particular sino cierto estado específico de la materia en el que, en conjunto el material es eléctricamente neutro, pero que contiene iones y electrones libres, capaces de moverse en forma independiente.

Un plasma inductivamente acoplado es una descarga eléctrica formada en una corriente de argón que fluye a través de una serie de tubos de cuarzos concéntricos, rodeados por una bobina de cobre. Esta bobina está conectada a un generador de radiofrecuencia (Figura 2). Durante la ignición del plasma, la corriente de gas es sembrada con electrones provenientes de una fuente exterior, tal como una pequeña chispa. Estos electrones son acelerados en un entorno toroidal mediante un campo electromagnético de RF (Radio Frecuencia) y chocan con los átomos de argón para crear más electrones e iones de argón; los cuales son a su vez acelerados. Este proceso continúa hasta que el gas este altamente ionizado (un plasma), en este punto la descarga es estable y su mantenimiento dura tanto mientras se mantenga el campo de radiofrecuencia. La temperatura dentro del plasma toroidal puede ser superior a los 10,000 °C en su parte más caliente. [2]



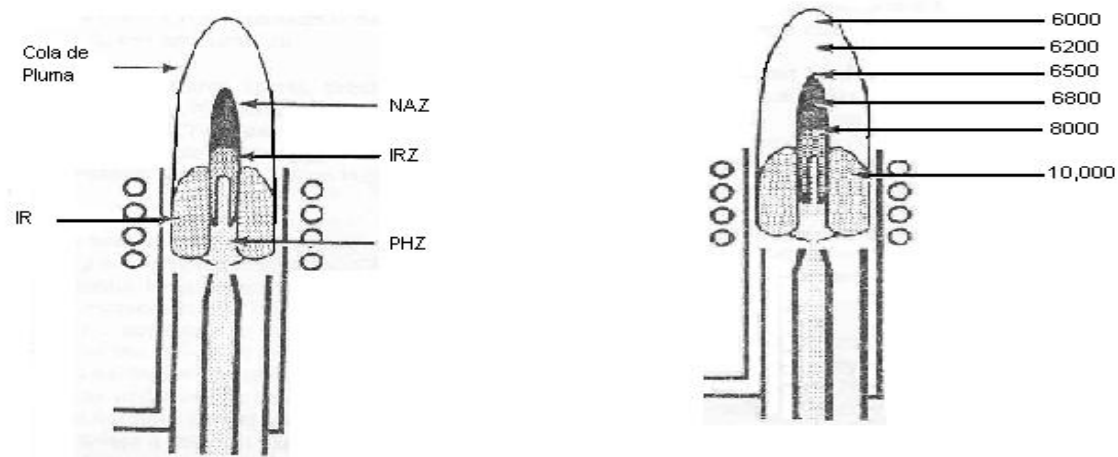
**Figura 2. Corte transversal de una antorcha representación de la carga de la bobina en la secuencia de pasos de la ignición.**

En la figura 2 se observa: A.- El gas de argón forma un torbellino directamente en el centro de la antorcha. B.- El poder RF la carga es aplicada a la bobina. C.- Una chispa produce la liberación de pocos electrones de los átomos de argón. D.- Los electrones libres son acelerados por la RF promoviendo choques con otros átomos de argón y ionización y por tanto formando el plasma. E.- La muestra en aerosol acarreada por el flujo de nebulización penetra al centro del plasma. [2]

Las muestras son introducidas como líquidos y son nebulizadas a aerosoles, una mezcla de finas gotas de muestra y gas argón del flujo de nebulización, formado en la cámara de nebulización ubicada justo abajo de la antorcha; el aerosol es acarreado al centro de la antorcha por el flujo de nebulización o flujo central.

Siendo la función principal de la alta temperatura del plasma la remoción del disolvente o desolvatación, el solvente es evaporado de cada gotita del aerosol formándose un sólido microcristalino el cual contiene a los átomos de interés analítico en forma molecular o de sal iónica (el aerosol contiene cuando mucho 1 al 2 % de sólidos), las partículas formadas absorben energía y realizan la atomización, este proceso se da en dos pasos el primero es la sublimación, en la cual la estructura de la red cristalina es rota para formar moléculas libres gaseosas; y el segundo es la atomización en sí, en la cual los átomos gaseosos libres son formados por la ruptura de las uniones químicas que mantienen a las

moléculas juntas. Este último proceso predominantemente ocurre en la zona de precalentamiento (PHZ) del plasma (Figura 3A).



**Figura 3. A) Zonas del plasma. B) Regiones de temperatura (°K)**  
IR región de inducción, PHZ zona de precalentamiento, IRZ zona de radiación inicial, NAZ zona normal analítica.

Una de las razones importantes para la superioridad del ICP sobre la EAA con flama y el horno de grafito, es la elevada temperatura del plasma. Mientras la flama y el horno de grafito tienen su rango superior de temperatura alrededor de 3,300 °K en el área, la temperatura en el centro del ICP es casi de 6,800 °K (Figura 3B), además de presentar ionización y excitación eficientes, la alta temperatura del ICP reduce y/o elimina las interferencias químicas que se pueden presentar en flama y horno de grafito. [2]

Las muestras líquidas son introducidas en las descargas del plasma como un aerosol suspendido en el gas argón. Esta muestra en aerosol, es transportada a través del tubo central de los tres tubos que comprenden el conjunto de la antorcha. Esta muestra pasa, como una especie de corriente de gas en forma de aerosol, a través de la descarga del plasma toroidal, donde es desolvatada, atomizada y donde los átomos e iones resultantes son excitados. Después de esta excitación los átomos comprendidos en la muestra emiten las radiaciones correspondientes en sus longitudes de onda características, esta luz se transmite a través del sistema óptico, al detector CID (Dispositivo de Inyección de Carga que es un detector bidimensional integrador que cuenta con elementos individuales de resolución). [2]

## **OBJETIVOS.**

- Conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del espectrofotómetro de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo, para emplearlo

adecuadamente.

- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar adecuadamente la cuantificación de Co, Cu, Fe, Ca, Mg, Mn, Mo, Se y P en sangre de ovinos, mediante una curva de calibración.
- Realizar el tratamiento adecuado de una muestra real a fin de asegurar la completa digestión de la materia orgánica para obtener resultados confiables.

## **DESARROLLO EXPERIMENTAL.**

### **EQUIPOS:**

- Espectro de emisión Atómica THERMO JARRELL ASH, Software Thermo Spec-CID
- Horno de microondas Mars 5 CEM Corporation USA.

### **REACTIVOS:**

- Estándar de multielemental High-Purity  $1000 \pm 3 \mu\text{g}/\text{ml}$  en 2% de HCl con 99.999% de pureza
- Ácido clorhídrico R.A. 36.5-38% de pureza J.T. Baker de México.
- Ácido Nítrico R.A. 68.4% de pureza J.T. Baker de México.
- Peróxido de hidrogeno en solución al 30% J.T. Baker de México.
- Agua desionizada  $18 \Omega\text{cm}$  Milipore.

### **ESTÁNDARES:**

- Multielemental High-Purity  $1000 \pm 3 \mu\text{g}/\text{ml}$  en 1% de ácido clorhídrico con 99.999% de pureza.
- Estándar de hierro High-Purity  $1000 \pm 3 \mu\text{g}/\text{ml}$  en 2% de ácido clorhídrico con 99.999% de pureza.
- Estándar de molibdeno Aldrich Chemical Company 1020 ppm con 99.999% de pureza.

## **PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.**

**Concentración de las soluciones Stock:** Para llevar a cabo la determinación se realizó una curva de calibración multielemental, que incluye los siguientes elementos: Co, Cu, Ca, Mg, Mn, Se, P y Zn. Para su preparación se utilizó un estándar multielemental, el cual contiene 10 ppm para Ca, Co, Cu, P, Se y 1 ppm para Mg, Mn, Zn a partir del cual se preparó la curva de calibración.

Debido a que el estándar multielemental, no contiene Mo y Fe, fue necesario la preparación de las siguientes soluciones:

- A partir de un estándar de hierro de 1000 ppm en HCl al 2 % se realizó un dilución de 200 µl / 20ml obteniendo una concentración de 10ppm.
- A partir de un estándar de molibdeno de 1020 ppm en HCl al 2 % se realizó un dilución de 200 µl / 20ml obteniendo una concentración de 10.2ppm.

En base a las soluciones anteriores se preparó la curva de calibración con cinco sistemas en un intervalo de concentración de 0.4 a 2.0 ppm para los stock Ca, Co, Cu, Fe, Mo, P, Se y para el stock de Mg, Mn, Zn en un intervalo de 0.04 a 0.2 ppm. Como se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1. Preparación de curva de calibración.**

Sistema	mL de cada stock	[ Ca, Co, Cu, Fe, Mo,P, Se] ppm	[ Mg, Mn, Zn] ppm
1	1	0.4	0.04
2	2	0.8	0.08
3	3	1.2	0.12
4	4	1.6	0.16
5	5	2.0	0.20

Nota: todos los sistemas se llevaron a un volumen de aforo de 25 ml.

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PROBLEMA.

### Digestión Ácida:

1. Pesar 0.5 g + 0.05 de sangre directamente en los vasos (asegurándose de no ensuciar las paredes de los vasos).
2. Adicionar 5 ml de agua desionizada, adicionar 2.5 de ácido nítrico concentrado, 1 ml de peróxido de hidrogeno al 30%, dejar reposar 20 min.
3. Colocar el vaso de teflón dentro de las de las camisas, colocar las camisas en el carrusel del horno de microondas.
4. Apretar cada uno de los vasos y colocar el aro que sujeta a los vasos.
5. Introducir cuidadosamente el sensor de temperatura en el vaso control (vaso 1).
6. Encender el Horno de Microondas, seleccionar el método Sangre2 (Tabla 2).
7. Abrir la puerta del horno e introducir el carrusel, verificando que la ranura ubicada en el centro del carrusel coincida con la base blanca del horno, y conectar el sensor de la temperatura en la sonda que se ubica en la parte superior central interna del horno de microondas.

8. Verificar en la pantalla del horno, que se esté monitoreando la temperatura, y que el carrusel gira de manera adecuada.
9. Cerrar la puerta y oprimir la tecla "Start" para comenzar la digestión.
10. Una vez transcurrido el tiempo de la digestión, desconectar el sensor de la temperatura y sacar cuidadosamente el carrusel, y apagar el equipo.
11. Colocar el carrusel en la campana de extracción, dejar que la los vasos se enfríen por 20 minutos a temperatura ambiente.
12. Una vez fríos, enjuagar los vasos con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico 7M, y verter el contenido del vaso en un matraz volumétrico de 25 ml y llevar a la marca de aforo con HCl 7M, y medir en EAA-GH.

**Tabla 2. Condiciones de digestión ácida para sangre.**

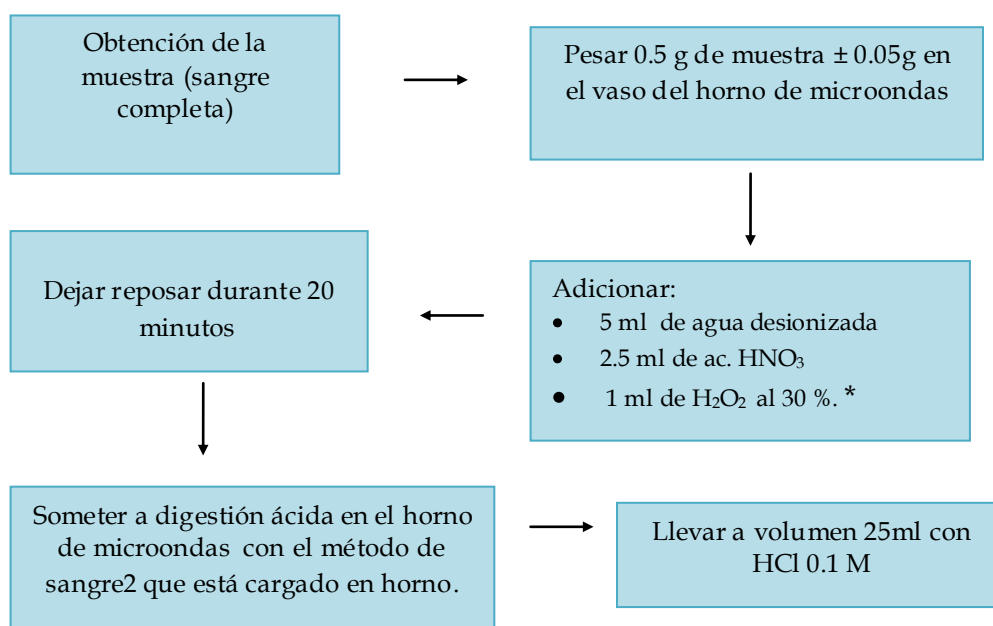
Etapa	Potencia (W)	Potencia %	Rampa (min)	Presión	Temperatura (°C)	Tiempo de mantenimiento
1	1200	100	4	350	140	2 min
2	1200	100	2	350	180	4 min
3	1200	100	2	350	200	4 min

Para esta digestión ya se han hecho estudios para llegar a una óptima digestión donde esto se logra por medio de rampas de temperatura y potencia que pueden manipularse en horno de microondas estas condiciones ya fueron estudiadas para sangre.

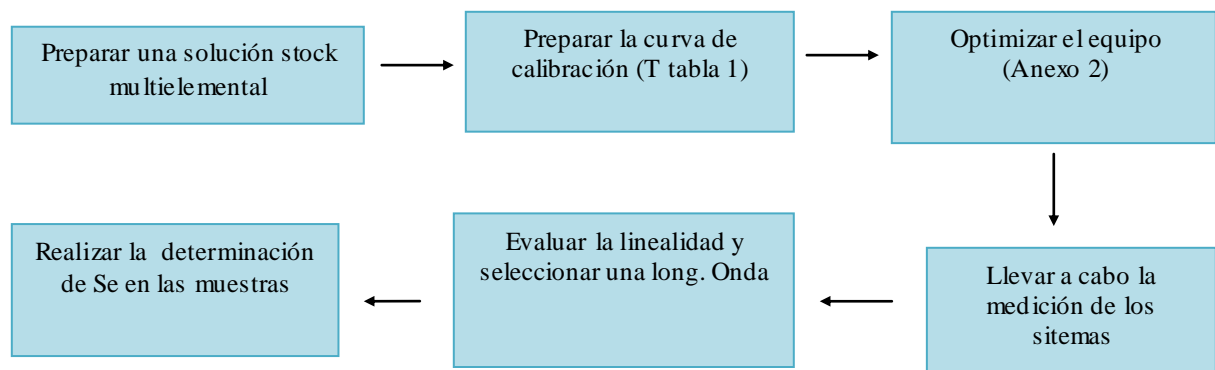
[3]

## DIAGRAMAS DE TRABAJO

### • Preparación de la muestra



## Cuantificación de la muestra



**No es lógico el último y penúltimo paso del diagrama.**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica de ICP-OES es utilizada para la determinación de trazas metálicas, se pueden determinar concentraciones que van desde mg/L (ppm) a ug/L (ppb) y llega a determinar ng/L (ppt) cuando se encuentra acoplado a un espectrómetro de masas. Además, en esta técnica se logra la determinación simultánea de varios elementos, por lo que es una técnica muy utilizada para la determinación de trazas metálicas en suelos, agua, materias primas y fármacos.

El monitoreo de los minerales propuestos en animales, principalmente en ovinos, da un panorama general del estado nutricional en el que se encuentran estos animales, ya que diversas investigaciones a nivel mundial han señalado que la deficiencia o exceso de estos minerales provocan diferentes trastornos metabólicos, así como enfermedades que pueden producir el deceso de los animales y por lo tanto grandes pérdidas económicas a los productores. Estas deficiencias en los animales son una consecuencia de que los alimentos que consumen son producidos en suelos deficientes de estos minerales, por lo que surge la necesidad de monitorear los niveles en los animales y posteriormente suplementar los minerales deficientes, y finalmente corroborar que la suplementación ha sido eficiente verificando que los niveles de dichos minerales se encuentran dentro de los parámetros normales.

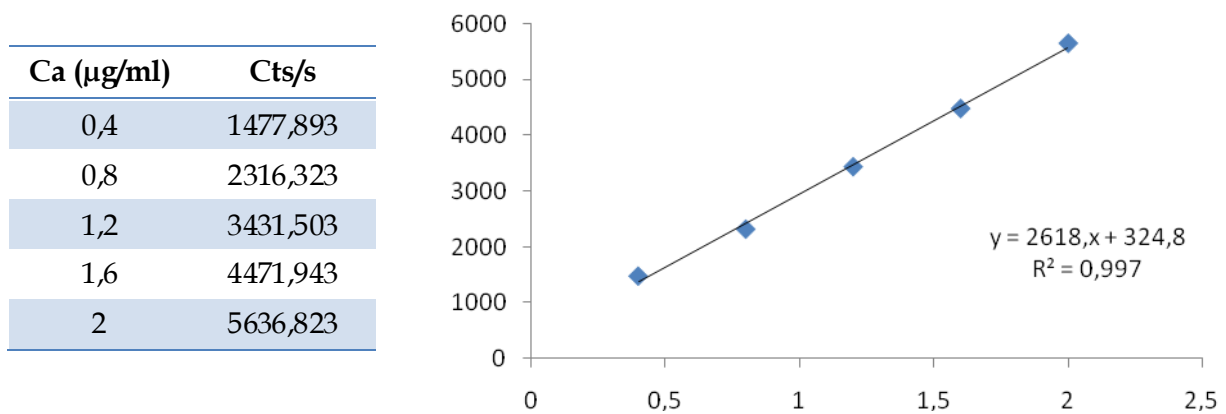
Para la implementación de esta técnica es necesario llevar a cabo un pretratamiento de la muestra, el cual consiste en una digestión ácida asistida por microondas, ya que la muestra de sangre no puede ser introducida al equipo, ya que está conformada por materia



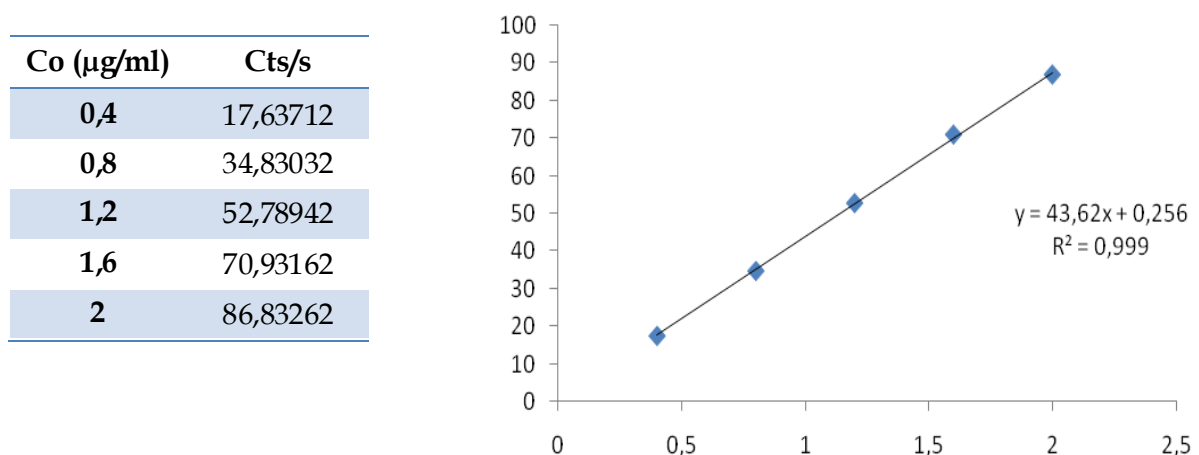
orgánica en la cual se encuentran ligados los metales de interés y por lo tanto, no pueden ser detectados y analizados de manera correcta. En la digestión ácida la materia orgánica es transformada en CO<sub>2</sub> y vapor de agua, de esta manera el metal queda en solución y puede ser cuantificado.

Una vez realizado el tratamiento de las muestras y preparada la curva de calibración, se procede a la medición de todas las soluciones, obteniéndose los resultados que se muestran a continuación.

Cabe señalar que el equipo permite medir la emisión en al menos 2 longitudes de onda, sin embargo, en nuestro caso se selecciona solamente una, a fin de disminuir el tiempo de medición y el tamaño del archivo a procesar.



**Figura 6. Curva de calibración y tabla de datos para Calcio (393.3nm)**



**Figura 7. Curva de calibración y tabla de datos para Cobalto (237.8nm)**

[ ] Cu ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cts/s
0,4	9,60319
0,8	18,67899
1,2	28,44819
1,6	38,33839
2	47,20049

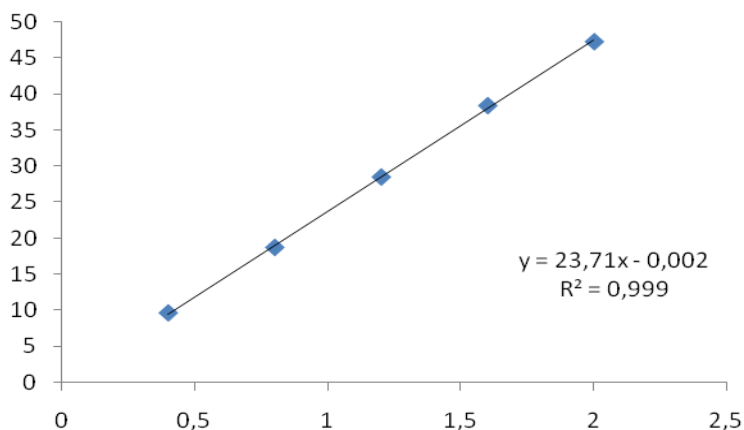


Figura 8. Curva de calibración y tabla de datos para Cobre (224.7nm)

[ ] Fe ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cts/s
0,4	35,35754
0,8	64,61964
1,2	101,60794
1,6	135,12094
2	168,35694

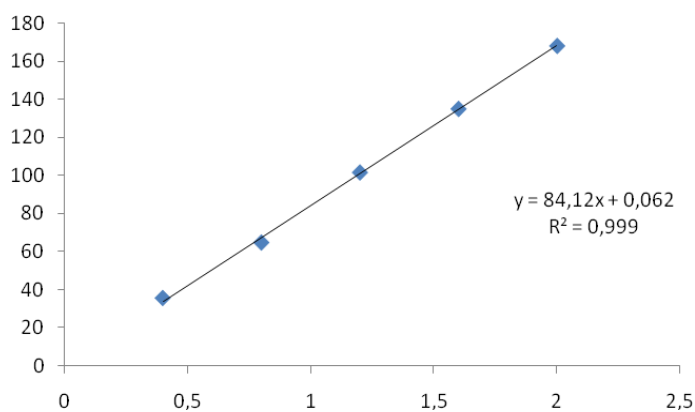


Figura 9. Curva de calibración y tabla de datos para Hierro (238.2 nm)

Mg ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cts/s
0,04	5,85097
0,08	10,37301
0,12	16,15301
0,16	21,19141
0,2	26,56341

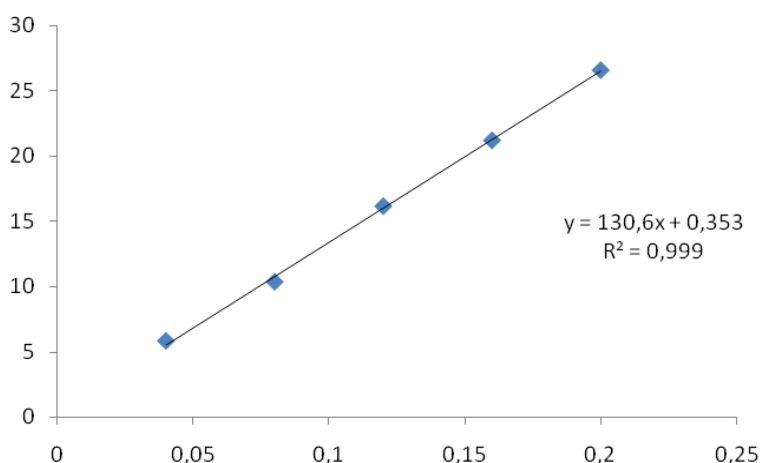


Figura 11. Curva de calibración y tabla de datos para magnesio (202.5 nm)

Mn (µg/ml)	Cts/s
0,04	14,64703
0,08	29,30853
0,12	45,22153
0,16	61,14123
0,2	75,35123

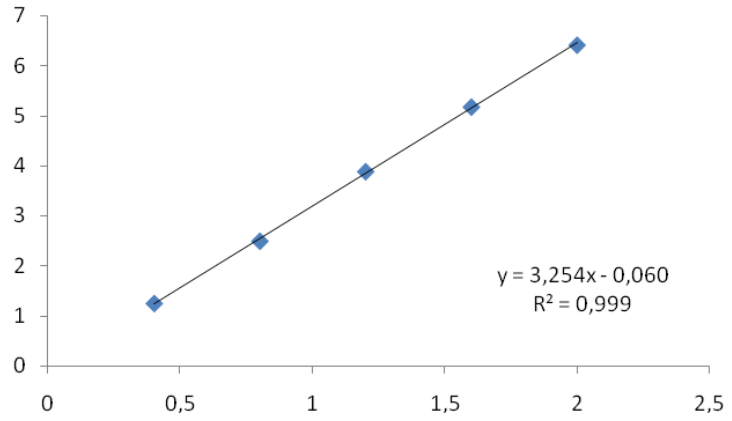


Figura 12. Curva de calibración y tabla de datos para Manganeso (257.6 nm)

Mo (µg/ml)	Cts/s
0,4	7,69106
0,8	14,31594
1,2	22,41374
1,6	29,88534
2,0	37,27374

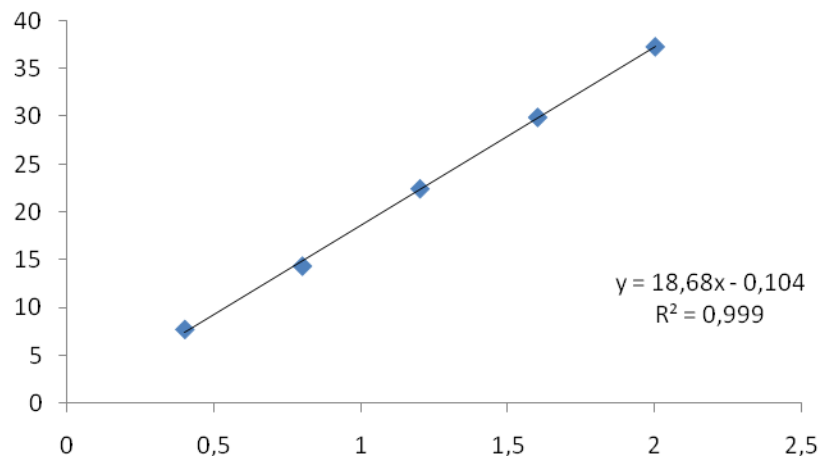


Figura 13. Curva de calibración y tabla de datos para Molibdeno (202.0 nm)

P (µg/ml)	Cts/s
0,4	0,94997
0,8	1,76962
1,2	2,74319
1,6	3,70431
2	4,61925

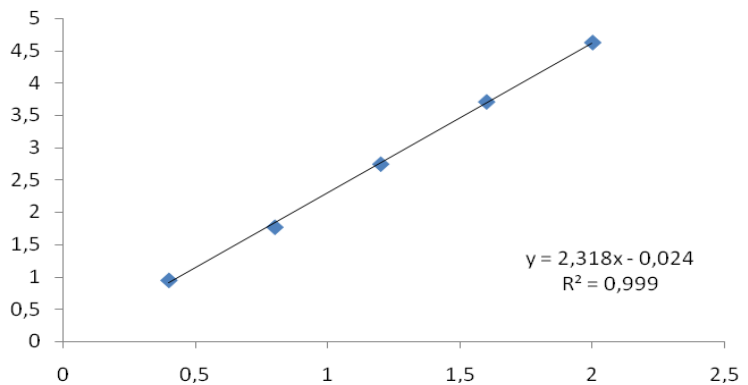


Figura 14. Curva de calibración y tabla de datos para Fosforo (185.9 nm)

Se (µg/ml)	Cts/s
0,4	1,24957
0,8	2,49545
1,2	3,88566
1,6	5,17844
2	6,41704

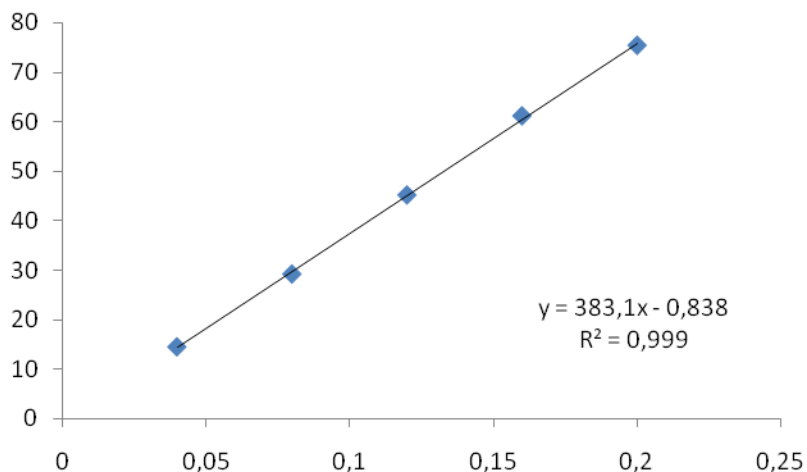


Figura 15. Curva de calibración y tabla de datos para Selenio (196.0 nm)

[ ] Zn (µg/ml)	Cts/s
0,04	5,85097
0,08	10,37301
0,12	16,15301
0,16	21,19141
0,2	26,56341

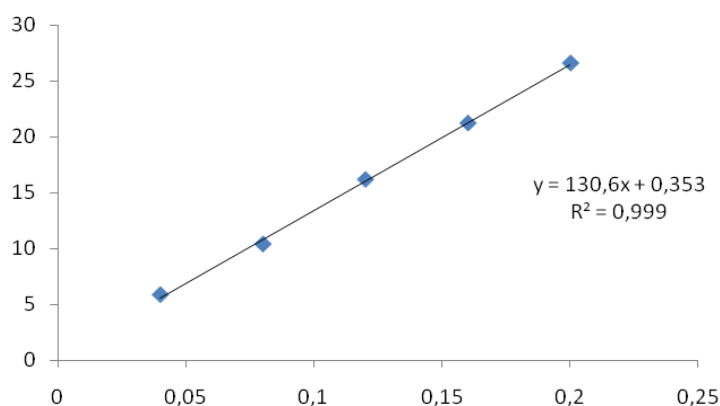


Figura 16. Curva de calibración y tabla de datos para Zinc (202.5 nm)

Tabla 3. Ecuaciones obtenidas de las regresiones lineales para cada curva de calibración

Elemento	Regresión lineal	$r^2$	µg/ml
Ca	$y = 2618,4x + 324,85$	0,9972	<b>0,4-2,0</b>
Co	$y = 23,714x - 0,0023$	0,9997	
Cu	$y = 43,623x + 0,2565$	0,9996	<b>0,04-0,2</b>
Mo	$y = 18,684x - 0,1045$	0,9993	
P	$y = 2,3183x - 0,0247$	0,9992	
Se	$y = 3,2545x - 0,0601$	0,9996	
Fe	$y = 84,125x + 0,0626$	0,999	
Mg	$y = 130,61x + 0,3534$	0,999	
Mn	$y = 383,1x - 0,8384$	0,9996	
Zn	$y = 85,84x + 0,3213$	0,9989	

Las curvas de calibración para Ca, Co, Cu, Se, Mo, P y Fe se prepararon en un rango de concentraciones de 0.4 - 2.0 µg/ml y para Mg, Mn, Zn en el rango de 0.04-0.20 µg/ml como se observa en la Tabla 4. Cada uno de los sistemas fue analizado por triplicado.

Como se puede observar en la tabla 3 cada una de las ecuaciones de la recta de las curvas de calibración tiene un coeficiente de determinación mayor o igual a 0.99, el cual explica 99.0% de la variación en la intensidad de emisión debido a los cambios en la concentración para cada uno de los metales a analizar, esto indica que los datos obtenidos se justan a un modelo lineal y por lo tanto las muestras pueden ser cuantificadas por la interpolación de la propiedad (cts/s) en la curva de calibración correspondiente para cada uno de los metales.

Una vez que se determinó que existe una relación lineal entre la propiedad y la concentración en base a los estándares analizados se procedió a la cuantificación de Co, Cu, Fe, Ca, Mg, Mn, Mo, Se y P en las muestras. Debido a que la sangre es una muestra compleja, ésta tuvo que ser tratada previamente mediante una digestión ácida asistida por microondas.

**Tabla 4. Resultados obtenidos para las replicas de la curva de calibración**

Elemento	Muestra sangre 1	Muestra sangre 2	Muestra plasma <sup>3</sup>	Conc. Normales en Plasma <sup>3</sup>
Peso (g)	0.4906	0.5048	0,4952	
	µg del M <sup>o</sup> /g de muestra			
Ca	113.65	188.64	114.621	77.6
Co	0.567	0.355	0.003	n.r.
Cu	1.045	1.059	0.576	1.18
Fe	280.50	188.63	9.896	1.33
Mg	3.751	1.388	0.884	15.5
Mn	0.243	0.948	0.101	n.r.
Mo	0.010	0.008	0.077	0.05
P	433.26	430.90	82.634	119
Se	2.085	1.770	0.203	0.10
Zn	3.490	1.337	0.936	0.89

nr = no reportado

Se analizaron tres muestras problema dos de sangre y una de plasma de borregos, en las cuales se determinó la concentración de de los metales en cuestión. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4, en la cual se citan los valores

obtenidos experimentalmente y los valores de referencia para muestras de plasma según R. Pastrana [3].

En la tabla 4 se puede observar que los valores obtenidos experimentalmente Ca, Fe, Mo, Se y Zn las concentraciones obtenidas experimentalmente se encuentran por debajo de los valores reportados, sin embargo para P, Cu y Mg, los valores son superiores a los reportados. Cabe señalar que los valores obtenidos en éste tipo de análisis son muy variados, debido a diferentes factores que afectan las concentraciones de estos minerales en los animales como son: la raza, edad, genero, estado nutricional, ubicación geográfica y temporada del año. Por lo que para tener un parámetro confiable de comparación lo más recomendable es realizar un estudio en una zona delimitada y controlar los factores antes mencionados.

### **CONCLUSIONES.**

- La práctica de laboratorio para la asignatura Técnicas Avanzadas Análisis del paquete terminal de la carrera de Ingeniería Química se llevó a cabo de manera satisfactoria y permitió establecer las necesidades que se deben de cubrir e incluir en el manual de prácticas, como es una guía de uso rápido del equipo de ICP-OES y también del horno de digestión por microondas.
- Esta práctica permite conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del espectrofotómetro de emisión de acoplamiento inductivo, ya que permite al alumno obtener datos confiables, reproducibles y veraces, ya que coinciden con los reportados en la literatura.
- Se cuantifico contenido de Co, Cu, Fe, Na, K, Ca, Mg, Mn, Mo, Se y P de manera simultánea en sangre de ovinos en 3 muestras, mediante una curva de calibración, obteniendo concentraciones dentro del rango reportado para este elemento, sin embargo los datos obtenidos se encuentran cercanos al límite inferior, lo cual nos indica que los animales utilizados, presentan una deficiencia de este elemento.

- Se realizó el tratamiento adecuado de las muestras de sangre, el cual consistió en una digestión ácida asistida por microondas, lo cual permite a los alumnos conocer y manipular dicho equipo, además de la completa digestión de la materia orgánica

## REFERENCIAS.

1. L. M. Pérez. Determinación de trazas metálicas contaminantes (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Pd, Pt, Rh y Zn) en muestras ambientales (suelo, pasto y agua) por espectrometría de emisión atómica, en tres municipios de la zona metropolitana. Tesis Químico. Cuautitlán Izcalli, México. UNAM. 12-20, (2004).
2. I. O. Luís. “Métodos de separación para el análisis químico y el desarrollo tecnológico: Determinación de trazas metálicas (Pt, Pd, Hg, Pb, Cr, Cu, As, Cd, Zn y Rh) contaminantes en el medio ambiente en los municipios de Zumpango, Netzahualcóyotl y Cuautitlán Izcalli por ICP-OES”. Tesis Químico. Cuautitlán Izcalli, México. UNAM. 8-10, (2003).
3. R. Pastrana, L.R. Mc Dowell, N. S. Wilquinson. Small Ruminant Research. **5**, 23-34, (1991).
4. M. E. Gleason. Desarrollo y optimización de los métodos de digestión ácida en microondas para la cuantificación de selenio en muestras biológicas. Tesis Q.F.B. Cuautitlán Izcalli, México. UNAM. (2004).

## ***DETERMINACIÓN DE PARABENOS EN PRODUCTOS COSMETICOS POR MEDIO DE ELECTROFORESIS CAPILAR.***

### ***GENERALIDADES.***

La electroforesis capilar (EC) es una de las técnicas analíticas más avanzadas y utilizadas de separación para el análisis de moléculas de origen biológico como son proteínas, ácidos nucleicos, enzimas, lípidos complejos, carbohidratos, fragmentos de ADN, así como moléculas del área farmacéutica. Es una técnica alternativa o complementaria a la cromatografía de líquidos en muchas áreas, incluyendo ensayos de muchos componentes, determinación de impurezas, confirmaciones de identidad y determinaciones estequiométricas. [1]

Esta técnica se fundamenta en que las especies cargadas (iones) se mueven y separan bajo la influencia de un campo eléctrico en función de su velocidad de migración. Las partes básicas del sistema son un par de electrodos, una fuente de poder y un medio conductor. El mecanismo de separación de la electroforesis capilar es el mismo que el de la electroforesis convencional. La migración diferencial dentro de zonas discretas es debido a diferencias en las movilidades electroforéticas, las cuales están a su vez vinculadas a la relación masa /carga y a la conformación de los analitos. [1]

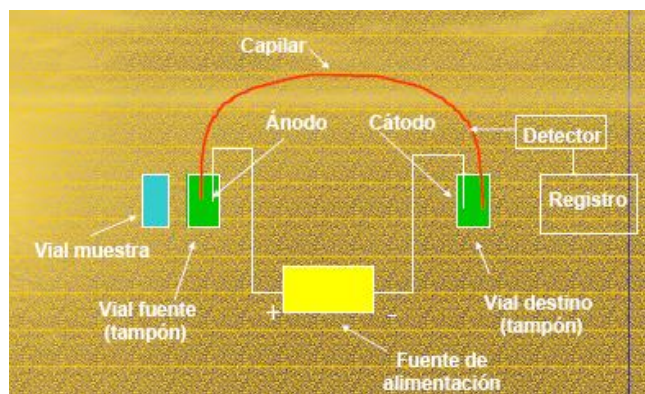
La electroforesis capilar es una técnica moderna para la separación de componentes en matrices complejas. Los analitos pueden separarse en una gran variedad de electrolitos soporte, incluyendo buffers acuosos, parcialmente acuosos, y electrolitos soporte no acuosos, cuando se trabaja con sustancias insolubles que tienen la finalidad de determinar y estabilizar el pH del medio de soporte y las especies predominantes en los analitos con propiedades ácido base, por lo que afecta la velocidad de migración de los compuestos, además de proporcionar un medio conductor. [2]

Esta técnica consiste en introducir en un capilar una muestra de especies (cargadas o neutras), que se separan en función de su carga y su movilidad iónica en el medio en el que se encuentran bajo la influencia de un campo eléctrico.



Un sistema de EC se compone básicamente de los siguientes elementos (Figura 1).

- I. Par de Electrodos (ánodo y cátodo)
- II. Deposito (viales)
- III. Capilar
- IV. Sistema de inyección
- V. Fuente de alimentación
- VI. Detector
- VII. Registro



**Fig. 1. Esquema de los componentes principales de un equipo de Electroforesis Capilar.**

[4]

Los cationes se trasladan hacia el cátodo (-) y los aniones hacia el ánodo (+) a velocidades que dependen del equilibrio entre la fuerza impulsora del campo eléctrico sobre los iones cargados de la muestra y las fuerzas de retardo entre las moléculas que migran y el medio circundante, que son principalmente fuerzas de fricción electrostáticas. La corriente se mantiene por todo el circuito ya que los electrodos, están sumergidos en viales que contienen buffer. Durante la separación en los electrodos se producen iones hidroxilo e hidrógeno en el cátodo, mientras que en el ánodo se forman iones oxígeno e hidrógeno. Las separaciones electroforéticas se originan por las diferentes movilidades de los analitos. La movilidad electroforética se ve afectada por la carga, la forma y tamaño del analito así como de la viscosidad del medio y del flujo electroosmótico. [1]

El buffer determina y estabiliza el pH del medio de soporte, y las especies químicas predominantes de los analitos con propiedades ácido-base por lo que afecta la velocidad de migración de los compuestos en diversas formas, además de proporcionar un medio conductor. A medida que la fuerza iónica del buffer aumenta la proporción de corriente conducida por éste crece, y la participación de la muestra en dicha conducción de corriente disminuye, con lo que se reduce la velocidad de migración. Además, una elevada fuerza iónica del buffer incrementa la intensidad global de corriente y en consecuencia la producción global de calor. [1]

La ionización de las moléculas de agua del buffer produce iones oxonio ( $H_3O^+$ ), los cuales poseen una carga positiva, y por lo tanto al aplicar un voltaje se origina un flujo de disolvente debido al movimiento de los contraiones.

La necesidad de optimizar separaciones para una gran variedad de compuestos tiene como resultado diferentes modalidades de trabajo que se han desarrollado para expandir el número de aplicaciones de esta técnica con la gran ventaja que se pueden realizar utilizando el mismo equipo. Las diferentes modalidades que se trabajan hasta el momento son:

- Electroforesis capilar por zona. (ECZ)
- Cromatografía capilar electrocinética micelar (MECK)
- Isotacoforesis Capilar.
- Electroforesis capilar con gel.
- Electrocromatografía capilar.

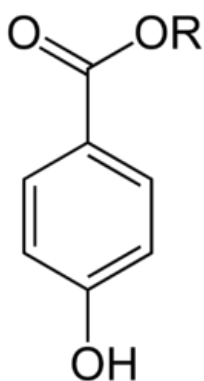
La electroforesis capilar por zona es la forma más simple de la electroforesis capilar principalmente porque el capilar es llenado con un electrolito soporte y la migración de los analitos se da en zonas discretas y a diferentes velocidades. Cuando se tiene un flujo electroosmótico (pH 4-12) y una polaridad positiva, las especies cargadas positivamente se mueven a lo largo del capilar con una velocidad mayor a la del FEO puesto que su movimiento se ve acelerado por la atracción de sus cargas al electrodo negativo. Los analitos cargados negativamente se mueven en sentido contrario y más lentamente y en contra del FEO debido a que son atraídos por el electrodo positivo. Los analitos neutros se mueven a través del capilar por el FEO, por lo general durante este movimiento no se produce separación entre las especies no cargadas. La velocidad de los analitos puede modificarse al controlar el pH, la viscosidad o la concentración del búfer, o con el cambio del voltaje. Este tipo de modalidad se utiliza para separar por lo general compuestos de bajo peso molecular, que no sufran de adsorción en la superficie del capilar.

En tanto, en la cromatografía capilar electrocinética micelar se adicionan surfactantes o tensoactivos como el dodecilsulfato de sodio al electrolito soporte en concentraciones tales que excedan la concentración micelar crítica y así lograr la formación de micelas, las cuales ayudan a la separación de especies neutras y especies aún cargadas.

La mayor parte de los búferes utilizados en esta modalidad presentan un FEO alto hacia el electrodo negativo, esto provoca que las micelas aniónicas sean arrastradas hacia

dicho electrodo, con una velocidad menor a la del FEO, de este modo, durante el proceso la mezcla reguladora está formada por una fase acuosa que se mueve rápidamente y una fase micelar que lo hace con más lentitud. Cuando se introduce la muestra en el sistema los componentes se distribuyen entre la fase acuosa y el interior hidrófobo de las moléculas. La distribución de los analitos y los equilibrios que resultan dependen de la polaridad de los analitos. Con los analitos polares se favorece la permanencia en la disolución acuosa, mientras que para los compuestos no polares prefieren el medio constituido por las cadenas de hidrocarburo de las micelas para especies neutras, el equilibrio entre la micela y el electrolito soporte rige su movilidad electroforética y por tanto sus posibilidades de separación. Cuando el analito neutro es muy polar no interacciona con la micela, es simplemente acarreado por el FEO sin embargo la mayoría de los analitos interaccionan de una u otra forma con la micela. Los compuestos hidrofóbicos en general interacciona fuertemente con la micela y son retenidos en mayor proporción que los hidrofílicos.

Los parabenos, son un grupo de productos químicos utilizados como conservantes en la industria cosmética y farmacéutica, efectivos en variadas formulaciones. Estos compuestos y sus sales son usados principalmente por sus propiedades bactericidas y fungicidas. Pueden ser encontrados en champús, cremas hidratantes, geles para el afeitado, lubricantes sexuales, medicamentos tópicos y parenterales, autobronceadores y dentífricos. También son utilizados como aditivos alimentarios.



Los parabenos son ésteres del 4-ácido hidroxibenzoico, también llamado p-ácido hidroxibenzoico o para-ácido hidroxibenzoico, de donde deriva su nombre. Los parabenos más usuales son metilparabeno etilparabeno, propilparabeno y butilparabeno, los menos comunes son isobutilparabeno, isopropilparabeno, bencilparabeno y sus sales. Su estructura química en general es la misma en la cual R simboliza un grupo alquilo como metilo, etilo, propilo o butilo.

Debido a sus propiedades ácido-base, los parabenos pueden ser analizados por dos modalidades de la electroforesis capilar, como iones, a pH alcalino, se emplea la electroforesis capilar de zona, y como especies neutras, la cromatografía capilar electrocinética micelar. Al comparar el análisis de un grupo de analitos por dos técnicas, el alumno aprenderá los fundamentos de ambas modalidades, aprenderá a manejar el equipo

de electroforesis capilar y comprobará que un problema puede solucionarse de distintas maneras, algunas más sencilla y económicas que otras.

### **OBJETIVOS.**

- Conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del equipo de electroforesis capilar, para emplearlo adecuadamente.
- Conocer y comparar los métodos de Electroforesis Capilar de Zona y de Cromatografía Capilar Electrocinética.
- Efectuar la cuantificación de los parabenos contenidos en las muestras comerciales utilizando una curva de calibración como método de cuantificación.

### ***PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL***

#### **EQUIPO:**

Electroforesis Capilar PACE/MDQ, Beckman Coulter (CA; USA)

#### **REACTIVOS:**

- Estándar metil parabeno 99.999% de pureza
- Estándar etil parabeno 99.999% de pureza
- Estándar butil parabeno 99.999% de pureza
- Estándar propil parabeno 99.999% de pureza
- Ácido Bórico R.A J.T. Baker de México.
- Etanol R.A J.T. Baker de México.

#### ***PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.***

**Buffer de boratos 50 mM (ECZ):** Pesar 567mg de ácido bórico reactivo analítico, disolver con aproximadamente 40 ml de agua pH a 9.2 con HCL 0.1 y finalmente aforar a 50 ml con agua desionizada.

**Preparación de la muestra problema:** Pesar 250 mg de cada uno de los productos y disolverlos en solución mezcla de 17 ml de metanol/ 3 ml de buffer de boratos (173 v/v) aforando a los siguientes volúmenes según la muestra:

- Gel folicure, aforo a 5 ml

- Shampoo laral kids y desodorante obao, aforo a 10 ml.

Filtrar con un filtro de membrana de 45  $\mu\text{m}$  cada solución problema antes de su inyección.

**Estándares:** Preparar las soluciones stock de parabenos de la siguiente manera:

- Pesar 50mg de etilparabeno, solubilizar con 5ml de metanol y afororar finalmente a 100 ml con una mezcla de etanol –agua (15/85v/v).
- Pesar 50mg de butilparabeno, solubilizar con 5ml de metanol y afororar finalmente a 100 ml con una mezcla de etanol –agua (15/85v/v).
- Pesar 50mg de metilparabeno, solubilizar con 5ml de metanol y afororar finalmente a 100 ml con una mezcla de etanol –agua (15/85v/v).
- Pesar 50mg de propilparabeno, solubilizar con 5ml de metanol y afororar finalmente a 100 ml con una mezcla de etanol –agua (15/85v/v).

**Preparación de sistemas:** Para construir la curva de calibración se prepara los siguientes sistemas a partir de la solución estándar (stock) de parabenos. Cada dilución se preparo tomando un volumen adecuado y aforado a 25 ml con agua desionizada. Se preparan 6 diluciones de acuerdo a la siguiente tabla.

**Tabla 1. Preparación de la curva de calibración**

Sistemas	1	2	3	4	5
Sol. Problema (ml)	0	0	0	0	0
Std. Metilparabeno	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
Std. Etilparabeno	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
Std. Propilparabeno	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
Std. Butilparabeno	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
Aforo c/agua desionizada	25	25	25	25	25
Concentración ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	10	20	40	60	80

**Preparación del buffer de fosfatos 10 mM pH= 7.0: EtOH (85: 15) (MEKC)**

Medir 16.85  $\mu\text{L}$  de ácido fosfórico  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , ya agregar aproximadamente 20 mL de agua desionizada, ajustar el pH a 7.0 con NaOH 0.1 M y adicionar 3.75 mL de etanol y finalmente aforar con agua a 25 mL.

Pesar 75.89 mg dodecil-sulfato de sodio para tener una solución 10 Mm y disolverla con los 25 ml del buffer de fosfatos.

### Medición de las muestras:

1. Se coloca en el equipo apagado un cartucho con capilar de las siguientes especificaciones

**Tabla 2. Características físicas del capilar.**

Long. Total	40 cm
Long. Efectiva	29.5 cm
Diámetro Interno	75 $\mu\text{m}$

Abrir el archivo del método Paraben.met, el cual debe tener las siguientes condiciones de análisis:

- Preparar el capilar lavando al inicio con Na OH 0.1 M por 5 min., a 20 psi de presión.
- Lavar con agua desionizada por 2 min, a 20 psi (para remover los rastros de NaOH).
- Equilibrar el capilar lavando con buffer de corrida (boratos pH=9.2).
- Inyectar la muestra a presión (0.5 psi) por 10 s
- Aplicar un voltaje de separación de 20kV por 15 min.
- Hacer la detección a 275nm.

El equipo maneja un diagrama de coordenadas en las cuatro charolas que contiene (Figura 1); dos de las cuales son para posicionar las muestras (Sample Inlet = SI y Sample Outlet = SO) y otras dos para poner las soluciones de lavado y de separación (Buffer Inlet = BI y Buffer Outlet= BO). Como muestra la figura 1, en cada charola se encuentran las diversas posiciones que se emplearan para poner los viales que contengan las soluciones necesarias y que se programaran en el método a emplear (Tabla 3).

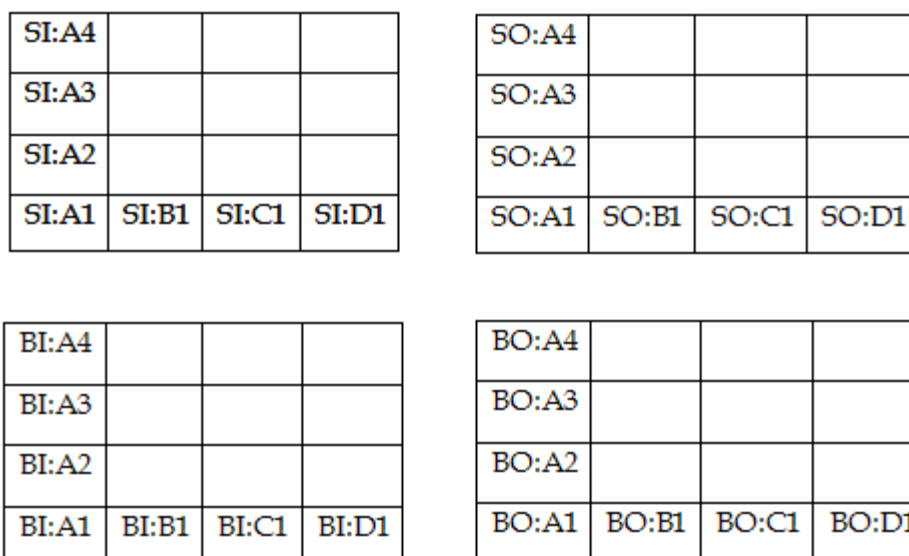


Figura 1. Diagrama de acomodo de los viales en las charolas del equipo de electroforesis capilar

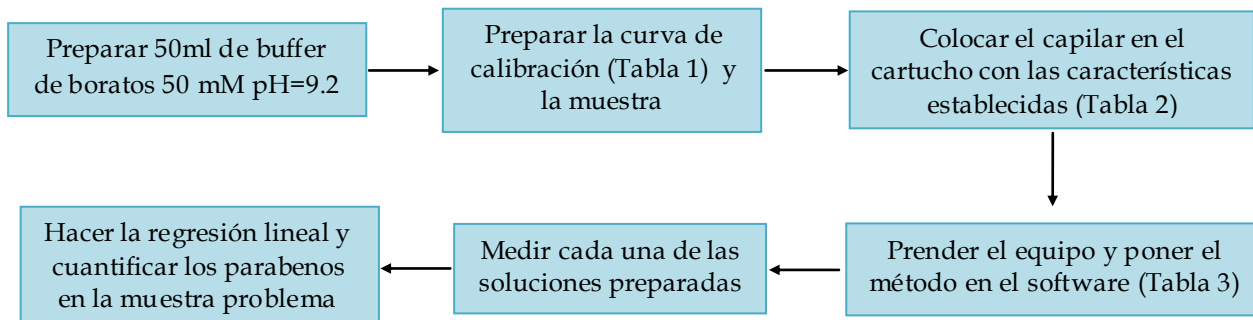
2. Colocar los siguientes viales, con 1 ml de cada solución:

BI:A1 Agua desionizada, BO:A1 Vial vacío (para desechos), BI:B1 NaOH 0.1M, BO:D1 Buffer de corrida para la separación, BI:C1 Buffer de corrida para lavar, BI:D1 Buffer de corrida para la separación, SI:A1 Metilparabeno, SI:A2 Etilparabeno, SI:A3 Propilparabeno, SI:A4 Mezcla de los parabenos.

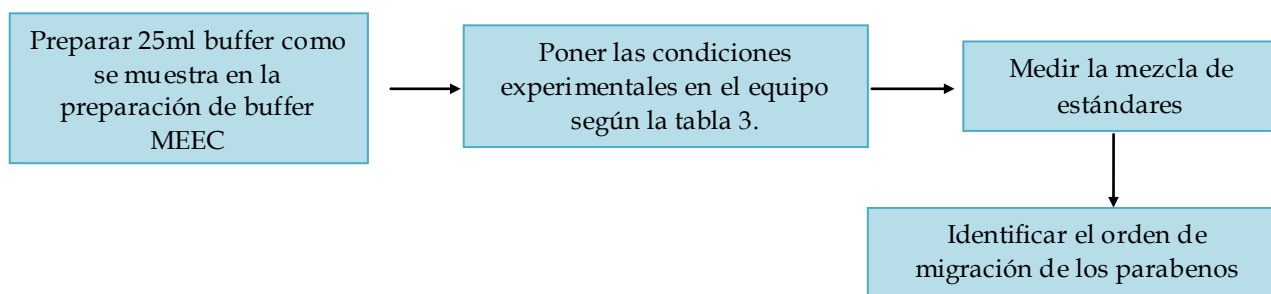
3. Medir cada una de las soluciones, empleando el método de programación (Tabla 3).

Tabla 3. Método de programación para la separación de los parabenos.

Acción	Especificaciones	Inlet (entrada)	Outlet (salida)	Observaciones
Lavar	20 psi, 5 min	BI:C1	BO:A1	Hacia el detector (forward)
Inyectar	0.5 psi, 5 s	SI:C1	BO:A1	
Separar	20kV, 15 min	BI:D1	BO:D1	
Autocero	0.17min			
Fin	15 min			



**Imagen 1. Diagrama de flujo de las actividades a realizar la cuantificación de parabenos en la muestra por Electroforesis Capilar por Zona**



**Imagen 2. Diagrama de flujo de las actividades a realizar por MECC**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### ECZ

La primer parte de la práctica consistió en analizar el orden de migración de cada uno de los parabenos basándose en su relación carga/masa, además de su tamaño, forma y peso molecular.

En la figura 1 se observan los 4 picos, los cuales corresponden a un tiempo de migración de 3.88 min. para Butilparabeno (BP), 3.97min. para Propilparabeno(PP), 4.08 min. para Etilparabeno (EP) y 4.28 min. para Metilparabeno (MP). Como se puede observar en la tabla 4, su valor de pKa son similares, por lo tanto a pH de 9.2 los analitos poseen una carga negativa, haciendo que todos se muevan hacia la misma dirección, siendo el factor que tiene



mayor influencia en la separación por ECZ la diferencia en el peso molecular o mejor dicho, su relación carga-masa.

El butilparabeno se mueve más lentamente hacia el ánodo por lo que el flujo electroosmótico lo mueve más fácilmente hacia el detector (ubicado en el cátodo) haciendo que sea el primer analito en salir. El orden de migración observado, tiene que ver por lo tanto con su masa molecular, siendo el más pequeño el último en migrar hacia el detector.

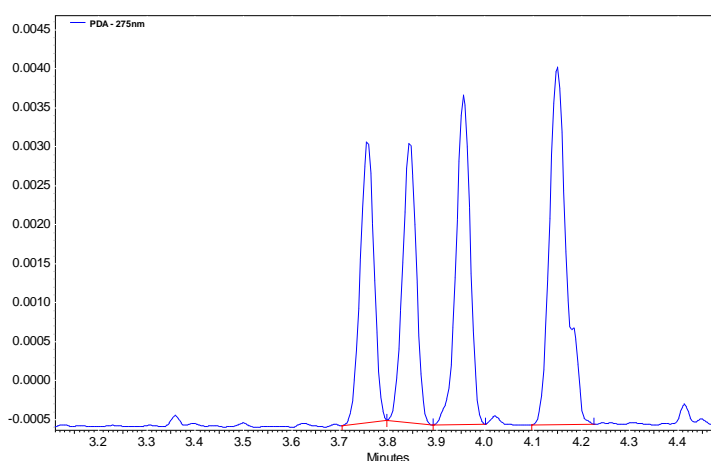
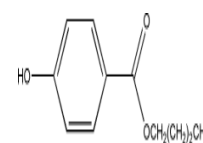
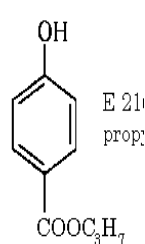
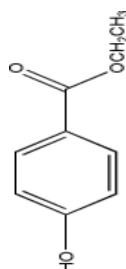
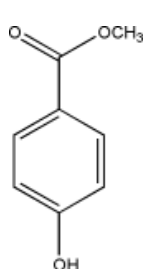
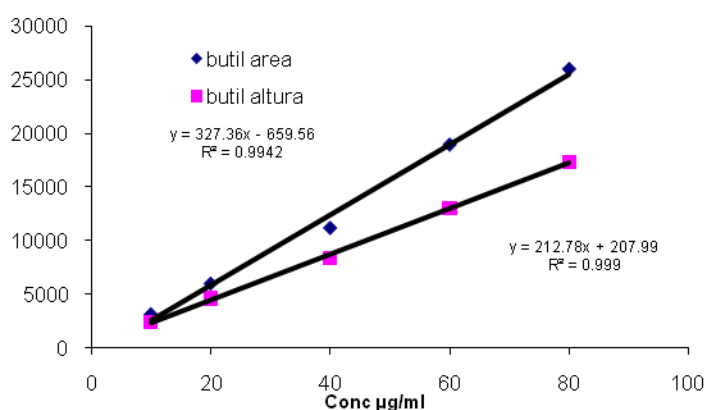


Figura 2. Electroferograma obtenido para el análisis de la mezcla de los parabenos por ECZ.

Tabla 4. Propiedades químicas de los parabenos.

	Metilparabeno	Etilparabeno	Propilparabeno	Butilparabeno
<b>PM</b> (g/mol)	152.15	166.18	180.20	194.23
<b>pka</b>	$8.31 \pm 0.13$	$8.31 \pm 0.13$	$8.32 \pm 0.15$	$8.23 \pm 0.15$





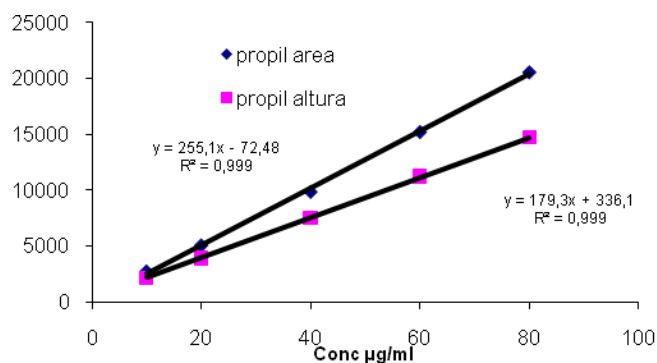
**Tabla 5. Resultados para el BP.**

[butilparabeno] µg/ml	área	altura
10	1736	1408
20	3659	3159
40	5766	4649
60	9253	7225
80	12102	9141

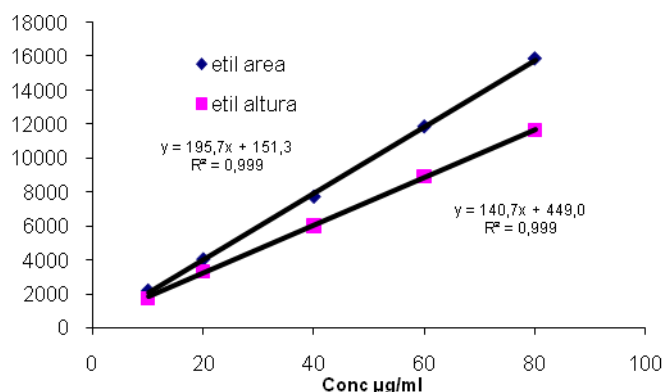
**Figura 3. Gráfico obtenido para la curva de Butilparabeno**

**Tabla 6. Resultados para el PP.**

[Propilparabeno] µg/ml	área	altura
10	2229	1783
20	4070	3354
40	7760	6036
60	11896	8960
80	15899	11663



**Figura 4. Gráfico obtenidos para la curva de Propilparabeno**



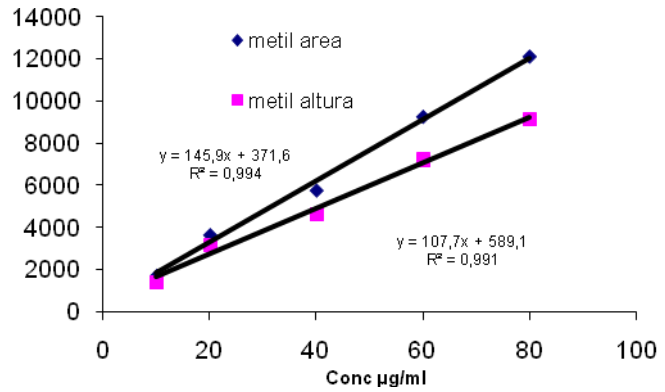
**Tabla 7. Resultados para el EP.**

[Etilparabeno] µg/ml	área	altura
10	2689	2155
20	5016	3871
40	9814	7498
60	15174	11182
80	20517	14632

**Figura 5. Gráfico obtenido para la curva de Etilparabeno.**

**Tabla 7. Resultados para el MP**

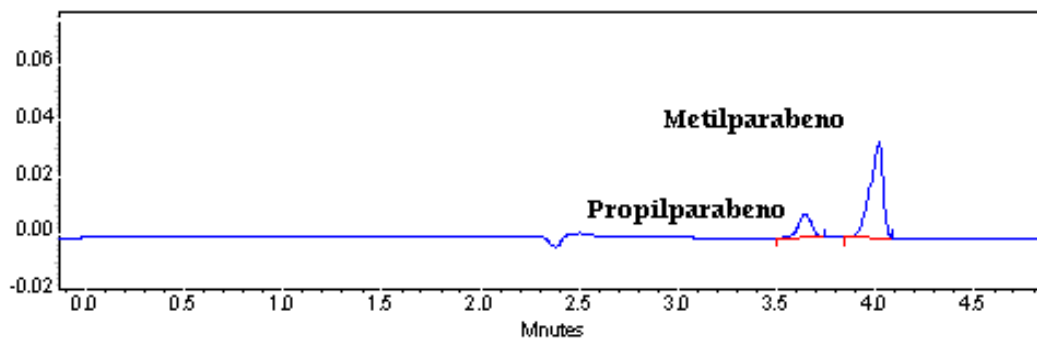
[Metilparabeno] µg/ml	área	altura
10	3081	2365
20	5983	4609
40	11322	8373
60	18456	12684
80	25543	17050



**Figura 6. Grafico obtenidos para curva de Metilparabeno**

Para el análisis estadístico de las curvas de calibración se tiene que el coeficiente de determinación explica el 99.9% de la variación en la absorbancia, por los cambios en la concentración para los parabenos, además el valor del coeficiente de correlación implica una fuerte relación entre la concentración y la propiedad (área o altura de pico). Las curvas son por tanto adecuadas para la cuantificación de parabenos en diversas muestras, en este caso para un gel de baño.

Para la identificación de parabenos en la muestra se encontraron dos picos que coinciden con los tiempos de migración de Propilparabeno y Metilparabeno en la mezcla de estándares como se observa en la tabla 4.



**Figura 7. Electroferograma obtenido para el análisis de la muestra de gel para baño.**

A fin de confirmar los analitos se recomienda fortificar la muestra (gel de baño) ya que éste contiene varios compuestos que pueden modificar el tiempo de migración de los analitos en cuestión.

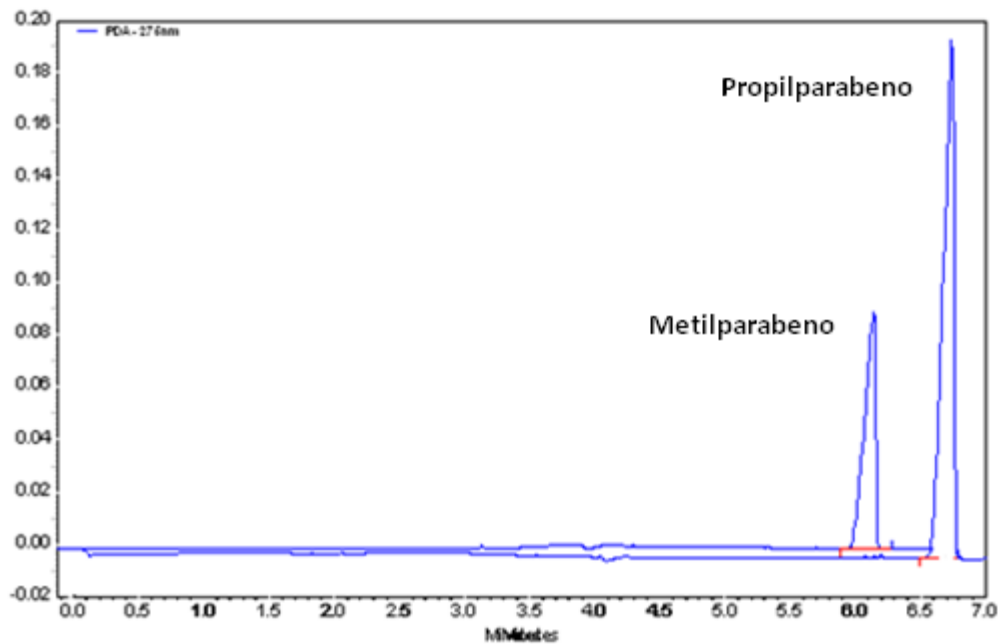
**Tabla 4. Resultados obtenidos para la muestra de gel humectante**

Peso mta. (mg)	Muestra	Compuesto	Tm	Área	µg PRBN/mg mta
250.0	Muestra 1	Propilparabeno	3.773	4020	124.953
		Metilparabeno	4.159	18019	354.581
251.5	Muestra 2	Propilparabeno	3.815	4090	127.350
		Metilparabeno	4.121	19038	374.553

La concentración de parabenos (PRBN) en la muestra se realizó por duplicado (tabla 4), sin embargo, no hay un parámetro de comparación ya que el gel para baño no contiene las cantidades en la formulación.

## MECC

La siguiente parte de la práctica es la comparación del orden de elución con otra modalidad, la Cromatografía Capilar Electrocinética Micelar (MECC por sus siglas en inglés). Con esta técnica se logra que los analitos como el propilparabeno, que posee una cadena hidrocarbonada más grande que el metilparabeno, interaccione más con la parte hidrófoba de la micela, por lo tanto en esta técnica el orden de migración será primero saldrá el Metilparabeno y posteriormente el Propilparabeno como se muestra en la figura 8.



**Figura 8. Electroferograma obtenido para estándares de Metilparabeno y Propilparabeno por MECC**

Al comparar el orden de migración con electroforesis capilar por zona se ve que por MECC, el orden se invierte, lo que se debe a otro fenómeno químico que sucede durante la separación, en este caso la repartición del analito entre la fase móvil acuosa y la parte hidrófoba de la micela, lo cual tiene que ver con su cadena hidrocarbonada.

### **CONCLUSIONES.**

- La práctica de laboratorio para la asignatura Técnicas Avanzadas Análisis del paquete terminal de la carrera de Ingeniería Química se llevó a cabo de manera satisfactoria y permitió establecer las necesidades que se deben de cubrir e incluir en el manual de prácticas.
- Esta práctica permite conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del equipo de Electroforesis Capilar, ya que permite al alumno obtener datos confiables, reproducibles y veraces.

- Se cuantificó contenido de de manera simultánea de metilparbena y propilparbena en muestra gel para baño, mediante una curva de calibración, obteniendo concentraciones satisfactorias.
- Se comparó el orden de migración de un grupo de analitos empleando dos modalidades de la electroforesis capilar a fin de explicar el fundamento de cada modalidad.

#### **REFERENCIAS:**

1. Miriam A. Castillo, Alma L. Revilla, Raquel López (2005). “Fundamentos de electroforesis capilar.” Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.(4)
2. Luis Gerardo Reyes García. (2009). “Optimización y validación de un método analítico para la determinación de clorhidrato de mementina por electroforesis capilar mediante la detección indirecta”. Tesis Q.F.B. Cuautitlán Izcalli (México) México. UNAM.
3. Douglas A. Skoog, Donald M. West. (2001). “Química Analítica.” Mc graw hill. México D.F.
4. Manuel Santamaria . (2004). Métodos actuales de Química analítica: Desarrollo, instrumentación y sistema de calidad.  
[http://www.uam.es/personal\\_pdi/ciencias/manchi/elec-cap/Apuntescurso.pdf](http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/elec-cap/Apuntescurso.pdf)

# **ESTUDIO DEL FERROCIANURO POR VOLTAMPEROMETRIA CICLICA**

## **Generalidades**

La voltamperometría comprende un amplio grupo de técnicas electroquímicas. Estas técnicas se pueden utilizar para el estudio de la composición de una solución, mediante las relaciones corriente-potencial obtenidas de una celda electroquímica, y con la respuesta corriente-tiempo a potencial controlado de un electrodo.

La voltamperometría está entre las técnicas analíticas más sensibles disponibles, se utiliza de manera rutinaria para la determinación de sustancias electroactivas en niveles de concentración por debajo de las partes por millón. Es posible tener tiempos de análisis de segundos. Tiene la posibilidad de determinar simultáneamente varios analitos en un solo barrido es frecuente en las determinaciones voltamperométricas. Las técnicas voltamperométricas tienen la posibilidad única de distinguir los diversos estados de oxidación que puede afectar la reactividad y la toxicología de una sustancia. La teoría de la voltamperometría está bien desarrollada y es posible estimar aceptablemente parámetros desconocidos.

Voltamperometría cíclica o de barrido lineal.

La voltamperometría cíclica consiste en variar de una manera cíclica el potencial de un electrodo estacionario inmerso en una solución en reposo y medir la corriente resultante. La señal de excitación es un barrido de potencial lineal con una onda de forma triangular. Las velocidades de barrido simétricas triangulares pueden variar desde unos cuantos milivolts por segundo hasta cientos de volts por segundo. Esta señal de excitación triangular de potencial barre el potencial del electrodo de trabajo en dirección de ida y vuelta entre dos valores designados. El triángulo regresa a la misma velocidad y permite la visualización de un voltamperograma completo con las formas de las ondas anódicas (oxidación) y catódicas (reducción), unas sobre la otra. La corriente en el electrodo de trabajo se mide en condiciones de difusión controlada y de transferencia de masa. Los parámetros importantes en un voltamperograma cíclico son las magnitudes de la corriente anódica en el pico anódico  $i_{pa}$ , de la corriente catódica en el pico catódico  $i_{pc}$ , el potencial del pico catódico  $E_{pc}$ , el potencial del pico anódico  $E_{pa}$ , y el potencial de semipico  $E_p/2$ , que es potencial al cual la corriente es la mitad de la corriente del pico correspondiente. La corriente de pico (en amperes) para una sustancia es:

$$i_p = n^{3/2} F^{3/2} (\pi \nu D / RT) A C \chi(\sigma t)$$

Donde  $\chi(\sigma t)$  es una función tabulada cuyo valor es 0,446 para una reacción de transferencia electrónica simple, controlada por difusión, R está en J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>, y T está en kelvins. A 25 °C. La ecuación anterior se reduce a:

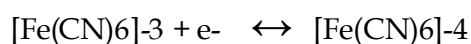
$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} \nu^{1/2} C$$

Para A en cm<sup>2</sup>, D cm<sup>2</sup>/s, C en mol/cm<sup>3</sup> y  $\nu$  en V/s.

Para medir con exactitud las corrientes de pico, es esencial establecer la línea de base correctamente. Esto no es siempre fácil, particularmente par los sistemas más complicados. Para una onda reversible, E<sub>p</sub> es independiente de la velocidad de barrido e  $i_p$ , como cualquier otro punto de la onda, es proporcional a  $\nu^{1/2}$ .

El analito estudiado será el anión ferrocianuro [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>-3</sup> el cual puede ser reducido sobre la superficie del electrodo a [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>-4</sup>. El intercambio de un electrón entre el analito y

el electrodo es un proceso reversible bien conocido. La reacción para este estudio redox es:



### Objetivos:

- Conocer las partes y el manejo del equipo del potencióstato
- Demostrar que la reacción de reducción del ferrocianuro de potasio es una reacción reversible

### Equipos:

- Potencióstato

### Reactivos:

- Estándar de ferrocianuro de potasio con 99.999% de pureza
- Cloruro de potasio grado analítico
- Agua desionizada 18Ωcm Milipore.



## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### Preparación de Soluciones.

- Preparación de una solución de cloro de potasio 1M:

Pesar 3.76 g de reactivo analítico de cloruro de potasio, disolver con aproximadamente 40 ml de agua y finalmente aforar a 50 mL con agua desionizada.

- Preparación de una solución ferrocianuro de potasio 0.1M

Pesar 824.8 mg de reactivo analítico de ferrocianuro de potasio, disolver en aproximadamente 20 ml de agua y llevar a volumen de 25 ml con agua desionizada.

### Montaje del equipo:

- Montar la celda en la portacelda y asegurar la misma de manera de evitar que la tapa de la celda se mueva con los electrodos.
- Colocar dos electrodos de platino y un electrodo de colomel en la tapa de la celda
- por medio de caimanes conectar del potencióstato a los electrodos de la siguiente forma:

**Tabla1. Electrodos necesarios para la determinación**

Electrodo de trabajo	Platino
Electrodo auxiliar	Platino
Electrodo de referencia	Calomel

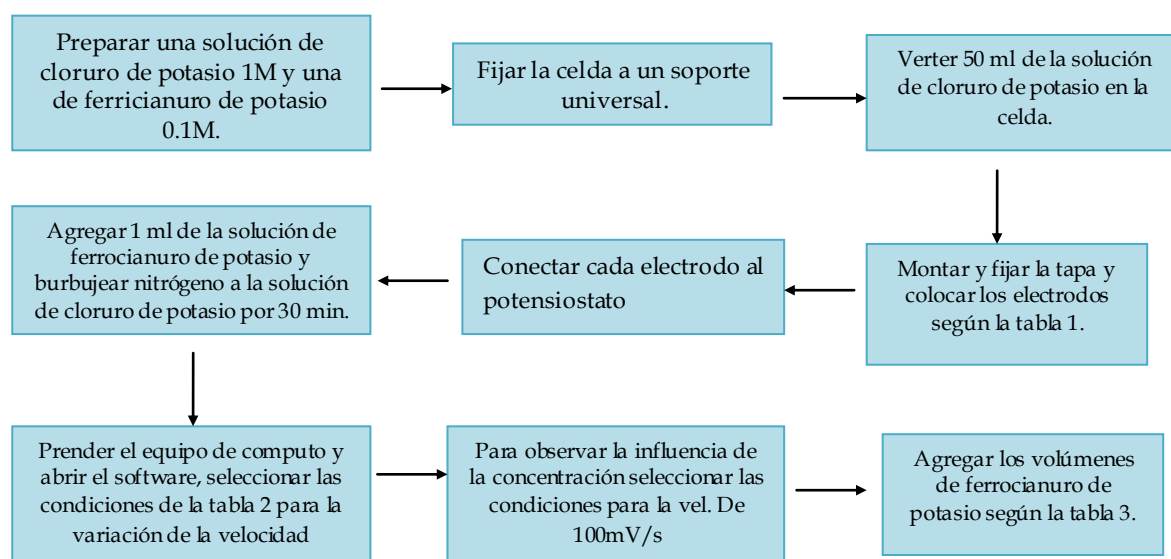
### Selección de condiciones

Una vez montado el equipo y conectado los electrodos según la tabla anterior colocar 50 ml de la solución de cloruro de potasio en la celda y se hace burbujear nitrógeno a la solución de cloruro de potasio por 30 min. Posteriormente se prende la computadora del equipo se abre el software y se selecciona la opción de voltamperometría cíclica posteriormente se seleccionan las condiciones como se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla2. Concentraciones de ferrocianuro de potasio en cada uno de los sistemas a medir**

Vol. De KCl (ml)	Ferrocianuro de potasio (ml)	Concentración Molar
51	1	1.960E-3
51.1	0.1	2.152E-3
51.2	0.1	2.343E-3
51.3	0.1	2.534E-3

**Imagen 1. Diagrama del estudio del ferrocianuro de potasio por voltamperometría cíclica**



**Tabla2. Concentraciones de ferrocianuro de potasio en cada uno de los sistemas a medir**

Velocidad mV/s	50mV/s	100mV/s	200mV/s	350mV/s
Element 1 :	cyclic voltammetry	cyclic voltammetry	cyclic voltammetry	cyclic voltammetry
Time resolution (s)	.22	.12	.055	.0596
Initial value (mV)	400	400	400	400
Intermediate value 1 (mV)	-500	-500	-500	-500
Intermediate value 2 (mV)	0	0	0	0
Final value (mV)	600	600	600	600
Scanningrate (mV/s)	50	100	200	352,348,993,288,591
Measurement points	183	168	183	97
Repeat	1	1	1	1
Mode	Absolute	Absolute	Absolute	Absolute
Acquisition mode	Programmed	Programmed	Programmed	Programmed
Maximum current range	±2 mA	±2 mA	±2 mA	72 mA
Minimum current range	±2 mA	±2 mA	±2 mA	72 mA
Current gain	1	1	1	1
Potential range (mV)	AUTO	AUTO	AUTO	AUTO
Open circuit at end	Yes	Yes	Yes	Yes
Display data	I(E)	I(E)	I(E)	I(E)
Save results	E,I,t	E,I,t	E,I,t	E,I,t
Start measurement	Yes	Yes	Yes	Yes
Block start	Yes	Yes	Yes	Yes
Block end	Yes	Yes	Yes	Yes
Repeat block	1	1	1	1

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al hacer un barrido lento, se observo, que a medida que el potencial del electrodo se hace más negativo, pero sin alcanzar el valor termodinámico donde ocurre la reducción, es de esperar que no se aprecie corriente de tipo farádica. Si se observara esta corriente corresponde a la reacción de impurezas sumada a la corriente de tipo capacitiva, aunque esta tiene un valor pequeño.

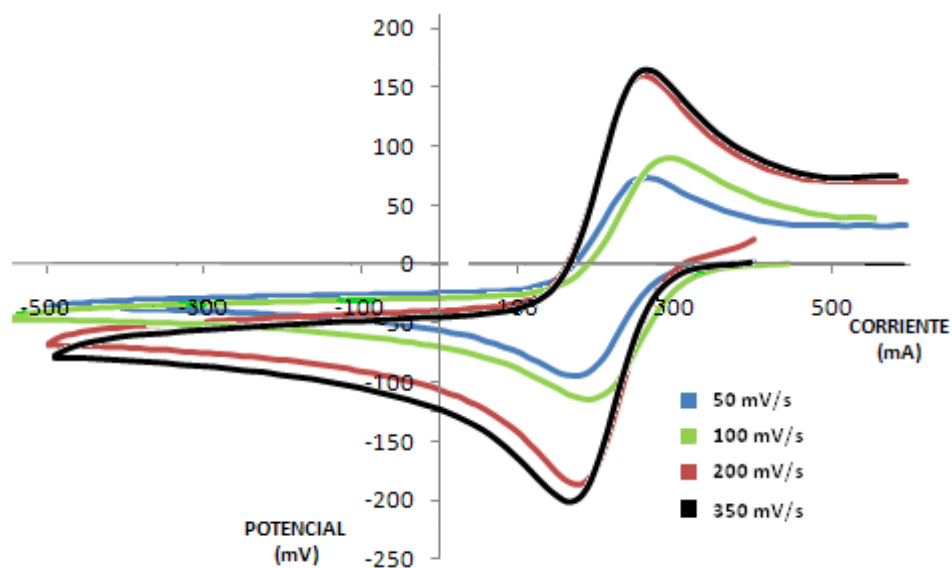
A medida que el potencial del electrodo se próxima al correspondiente a la reducción, la corriente comenzara a aumentar proporcionalmente a la cantidad de especie que este reaccionando. Si luego que este aumento de corriente se continúa el barrido de

potencial en sentido catódico, se observa que la intensidad de corriente alcanzara un valor estable, un valor limite.

Esta última situación se explica de la siguiente manera si de tres mecanismos de transportes mencionados antes se permite que solo actúe la difusión (esto se consiguió manteniendo en reposo la solución para evitar convección y agregando un electrolito fuerte, llamado electrolito soporte, para evitar la migración) ocurrió que al alcanzarse el valor de potencial adecuado los iones que se encontraron inmediatamente próximos a la superficie del electrodo lógicamente fueron los primeros en reaccionar, una vez que se consumieron estas especies, es necesario que el ion ferrocianuro viaje desde el seno de la solución hasta la superficie del electrodo impulsado por el gradiente de concentración establecido. Si la reacción de transferencia de carga es rápida es decir que no requiere de catalizadores ni sobrepotenciales, esto dependerá de la facilidad con la que el ion llegue a la superficie del electrodo. Se establece entonces, un control difusional; y esta es la razón de obtener una corriente constante aunque el potencial tome valores cada vez más catódicos.

Considerando que el barrido se inicia en sentido catódico, se observa que al alcanzar el valor adecuado de potencial para que comience la reacción de reducción, la corriente aumenta notablemente hasta alcanzar un valor máximo. Dado que la especie que reacciona es consumida totalmente en la superficie del electrodo, la corriente de reducción cae a medida que se aumenta el potencial.

Para realizar la práctica se llevo a cabo barridos a distintas velocidades como se muestran en grafico 1 para analizar la influencia de la velocidad en el voltamperograma.



**Grafico 1. Voltamperograma de ferrocianuro a una concentración de  $1.960E-3$  M a diferentes velocidades.**

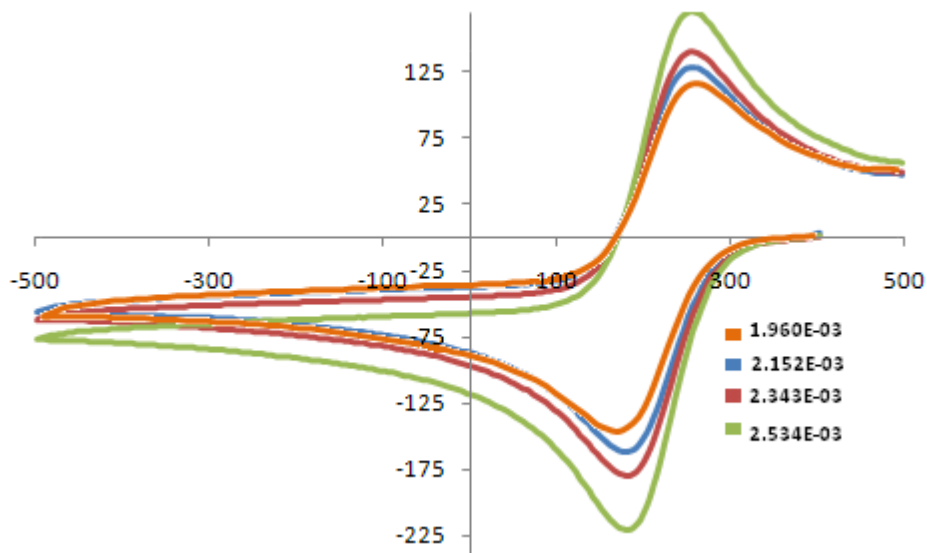
Una vez alcanzado el valor de potencial de corte catódico, el barrido de potencial es invertido y se obtiene un aumento de corriente anódica correspondiente a la reacción de oxidación. Hay dos valores que son importantes para el análisis del proceso de oxido-reducción, son las corrientes obtenidas en los máximos, llamados corriente de pico anódico ( $i_{pa}$ ) que fue de 184mA y corriente de pico catódico ( $i_{pc}$ ) fue de 253mA como se puede observar en el grafico2.

La respuesta mostrada para estas corrientes pico en esta práctica se empleo una velocidad de 100 mV/seg.

Si un proceso es reversible, es decir que la transferencia de electrones es más rápido que los demás procesos, por ejemplo la difusión, la separación de los potenciales de pico,  $E_{pa}$  y  $E_{pc}$  deben de cumplir con la relación:

$$E_{pa} - E_{pc} = \frac{2.22RT}{nF} = \frac{57.0}{n} \text{ (mV)} \neq (253 - 184) = 69\text{mV}$$

En este caso la relación no se cumplió lo cual nos indica que no fue una relación reversible pues la transferencia de electrones demostró ser más lenta que los procesos de difusión sin embargo este valor no es tan lejano al valor ideal.



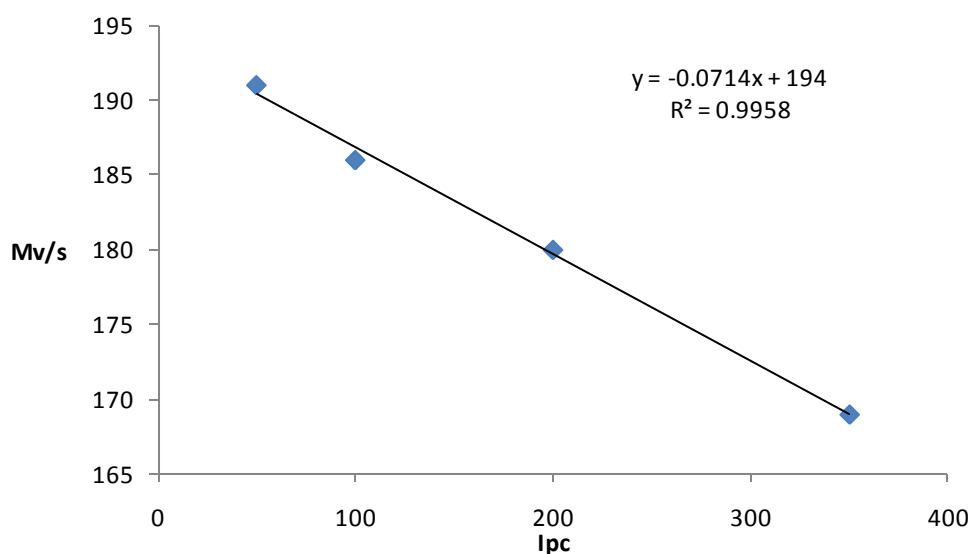
**Grafico2. Voltamperograma de ferrocianuro a una velocidad de 100mV/seg. a diferentes concentraciones.**

Es decir que a 25°C la separación de los picos debería de ser aproximadamente de 57mV por electrón intercambiado. A mayor separación de picos tendrá un proceso cada vez más irreversible.

Otra relación importante para un proceso reversible es la relación entre la corriente de pico, la concentración de la especie que reacciona y la velocidad de barrido:

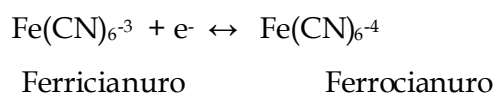
$$I_p = (2.69 \cdot 10^8) n^{3/2} A C \sqrt{D v}$$

Donde  $I_p$  es la corriente de pico en amperes,  $A$  el área del electrodo en  $m^2$ ,  $D$  el coeficiente de difusión en  $m^2/s$ ,  $C$  la concentración en  $mol/L$  y  $v$  la velocidad de barrido en  $v/s$ . Es decir que para analizar la reversibilidad de un sistema es posible realizar barridos a distintas velocidades y observar si se obtiene una línea recta cuando se grafica  $I_p$  versus  $v^{1/2}$  como se muestra en el siguiente grafico donde se exponen  $I_{PC}$  contra la velocidad de barrido y como se observa la  $r^2$  es de 0.9958 que se considera lineal por lo que se considera reversible el sistema de ferrocianuro.

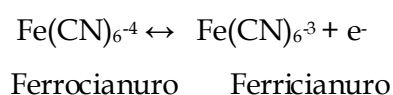


**Gráfico 3. Corrientes de pico catódico en función de las velocidades.**

En la grafica 2 puede observarse en la zona A donde la señal se debe a la reacción:



Mientras que en la zona B se observa un pico correspondiente a la reacción de:



En el caso de una reacción irreversible, solo se hubiera observado un pico al realizar el barrido en una dirección, pero no en la siguiente.

Ya que el ciclo suele darse varias veces, y los potenciales en los que se dan en esta inversión mismos que pueden apreciarse en la grafica 3.

### **CONCLUSIONES**

- Se conoció las partes y el manejo del potenciostato así como las condiciones para llevar a cabo el experimento
- Demostró que la reacción de reducción del ferrocianuro de potasio es una reacción reversible.

### **REFERENCIAS.**

- [http://catedras.quimica.unlp.edu.ar/qa2/guias/2010-TP-07-Voltamperometria\\_ciclica.pdf](http://catedras.quimica.unlp.edu.ar/qa2/guias/2010-TP-07-Voltamperometria_ciclica.pdf)
- <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?id=54362>
- Douglas A. Skoog, F. James Holler. (2001). “Principios de análisis instrumental.” Mc Graw Hill. Quinta edición. México D.F.(203-207)

### **CONCLUSIONES GENERALES**

- Se desarrollaron y probaron 5 prácticas para ser incorporadas en lo que será el manual de laboratorio de la asignatura de Técnicas Analíticas y su Aplicación Industrial, de la carrera de Ingeniería Química. Dichas prácticas permitirán al alumno conocer y aplicar las técnicas de análisis propuestas en el temario de la asignatura.

- Los conocimientos teórico - práctico de las técnicas fueron reafirmados y aplicados al plantear y seleccionar condiciones experimentales, así como al analizar los resultados obtenidos y la conclusión de cada práctica.
- El desarrollo de cada una de las prácticas permitió establecer el tratamiento adecuado de acuerdo al tipo de muestra y conocer el manejo de los equipos que no se contemplan dentro de las asignaturas obligatorias.
- Se generaron 5 formatos de prácticas, necesarios para la elaboración de una primera versión del manual de prácticas contribuyendo con el proceso de enseñanza de la asignatura de Técnicas Analíticas y su Aplicación Industrial de la carrera de Ingeniería Química.



## ANEXO 1

### Formato de prácticas:

#### DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE CAFEÍNA Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO EN TABLETAS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE PRIMERA DERIVADA (UV-Vis)

La espectrofotometría es por mucho una de las técnicas más utilizadas en la determinación de sustancias capaces de absorber radiación electromagnética. Debido a la facilidad en el manejo del equipo es posible cuantificar analitos en muestras que no presenten interferencias. La principal limitante que presenta esta técnica radica en que cuando se tiene dos o más analitos que absorban radiación, se dificulta su análisis debido a las interferencias, espectrales. Una posibilidad de eliminar estas interferencias es utilizando la Espectrofotometría de primera derivada o segunda derivada. Esta variante de técnicas espectrofotométricas se selecciona debido a que tiene la posibilidad de determinar los componentes de una mezcla binaria y ternaria sin la necesidad de tener un método de separación.

Una mezcla binaria (M) de los componentes A y B que absorben en la región UV-Visible se expresan por las ecuaciones de la ley de Beer y aditividad:

$$A_M = A_A + A_B = \epsilon_A l C_A + \epsilon_B l C_B \quad \text{y/o} \quad \frac{dA_M}{d\lambda} = \frac{d\epsilon_A}{d\lambda} l C_A + \frac{d\epsilon_B}{d\lambda} l C_B$$

Es posible medir el valor absoluto de los incrementos de absorbancia de una serie de sistemas y relacionarlos con los incrementos de concentración para el componente A, siempre que exista un valor en el eje de las abscisas que le corresponda un valor de cero para el componente B y viceversa. Este punto se denomina punto de anulación o zero-crossing y se aplica el concepto a la primera o segunda derivada. En otras palabras debe existir un  $\lambda$  donde se cumple simultáneamente que:

$\frac{d\epsilon_B}{d\lambda} = 0$  por lo tanto independiente de  $C_B$  y  $\frac{d\epsilon_B}{d\lambda} \neq 0$  en consecuencia

$d\lambda$

$d\lambda$

Dependiente de la  $C_A$ .

Por lo anterior se puede aplicar el concepto de punto de anulación en una formulación farmacéutica que contiene como principios activos cafeína (CAF) y ácido acetilsalicílico (AAS).

### ***Cuestionario previo.***

- 1.- ¿Qué tipo de sustancias pueden ser determinadas por Espectrofotometría de Primera Derivada(UV-Vis)?
- 2.- Describir brevemente el procedimiento para llevar a cabo la técnica en cuestión.
- 3.- Mencione como se realiza la cuantificación.
- 4.- ¿Qué quiere decir zero crossing?
- 5.- ¿Qué propiedad se utiliza para efectuar la cuantificación?
- 6.- Describa el objetivo y los beneficios de esta determinación.
- 7.- Describa la preparación de la muestra y cual es su finalidad.

### **EXPERIMENTACIÓN.**

**Equipo:** Espectrofotómetro PERKIN ELMER UV/Vis Lambda 18 con celdas de cuarzo y pH metro OAKTON pH500 series

**Reactivos:** Cafeína 99% (Aldrich), Ácido Acetilsalicílico 97%, Ácido Acético Glacial 99% (JT Baker) y NaOH 98.5% (JT Baker)

**Preparación de Soluciones: Buffer:** Se prepara 1 L de buffer de ácido acético / acetato de concentración total 0.2 M y pH = 5.5

**Stock Cafeína:** Se pesan 26.2 mg de cafeína, se disuelven y se lleva al aforo de 50 mL en buffer. Concentración de 519 mg/L

**Stock Acetilsalicílico:** Se pesan 26.8 mg de ácido acetilsalicílico se disuelven en buffer enrasando a un aforo de 50 mL. Concentración de 520 mg/L

**Espectro de Absorción:** A partir del stock de cafeína y ácido acetilsalicílico se preparan por separado 50 mL de solución de concentración de 10.4 mg/mL, además de una mezcla de ambos en la misma concentración y se determina su espectro de absorción de las tres soluciones en un intervalo de  $\lambda$  de 200-320 nm contra blanco buffer.

**Curva de calibración:** Se toman 10 mL del stock de cafeína y ácido acetilsalicílico; se llevan al enrase de 50 mL con buffer (Solución A). De la solución A, se prepara la curva de calibración a partir de tomar los volúmenes indicados en la tabla 1.

**Tabla 1.** Preparación de la curva de calibración\*.

Sistema	Solución A (mL)	CAF (mg/mL)	AAS (mg/mL)
1	1	2.08	2.08
2	2	4.16	4.16
3	3	6.24	6.24
4	4	8.32	8.32
5	5	10.40	10.40
6	6	12.48	12.48

\*Todos los sistemas se llevan al aforo de 50 mL con buffer. Para cada sistema se determina su espectro de absorción contra blanco buffer, en un intervalo de 0 de 200-320 nm.

**Preparación de la muestra problema:**

**Problema de Cafeína:** Se obtiene el peso promedio por tableta de 652 mg. Se trituran 5 tabletas en un mortero hasta la obtención de un polvo muy fino; se pesan 27 mg de polvo tableta, se disuelven en buffer con agitación por 10 minutos, se filtra para retirar los excipientes y se lleva al aforo de 200mL con buffer (solución B), se obtiene el espectro de absorción de la solución.

**Problema de Ácido acetilsalicílico:** Se toman 3 mL de la solución B, se enrasa al aforo de 50 mL (solución C). Se lee la solución anterior en el espectrofotómetro.

***Informe de trabajo.***

El Informe de trabajo debe de contener lo siguiente, empleando un formato de reporte.

- 1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema
- 2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad.
- Describir perfectamente el procedimiento de preparación de la muestra problema.
- 3.- Gráficos de la Curva de Calibración  $dA = f(\mu g/ml)$

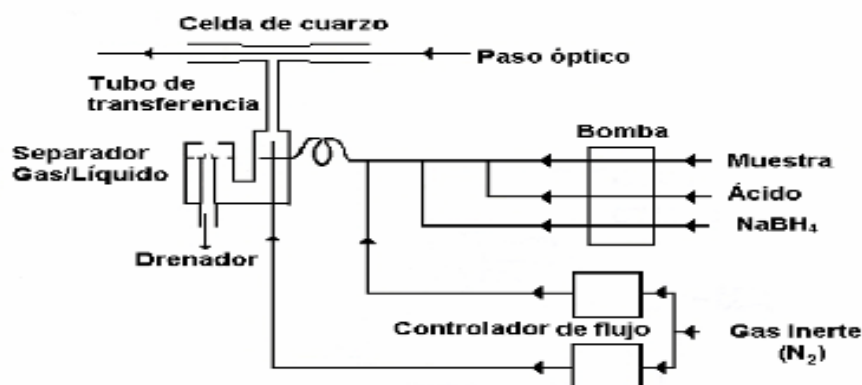
- 4.- Análisis de linealidad para cada curva por el método de mínimos cuadrados.
- 5.- Establecer la ecuación que relaciona cada una de las variables en el gráfico correspondiente, indicando el valor de la pendiente y ordenada de origen, y mencionando sus unidades.
- 6.- Los cálculos correspondientes para la determinación de cafeína y de ácido acetil salicílico en  $\mu\text{g/ml}$  de la muestra.
- 7.- Observaciones y conclusiones.
- 8.- Referencias Bibliográficas.

# DETERMINACIÓN DE SELENIO POR EAA POR GENERADOR DE HIDRUROS.

## *Introducción.*

La Espectrofotometría de Absorción Atómica se basa en que los átomos en estado basal fundamentalmente son capaces de absorber energía a longitudes de onda específicas, por lo que la cantidad de energía que absorben es proporcional a la cantidad de analito en la muestra. En ésta existen diferentes mecanismos de atomización como son: flama, sistema de mercurio por vapor frío, horno de grafito y generación de hidruros.<sup>1</sup>

El sistema de generación de hidruros se produce en las muestras una reacción en un sistema externo con un agente reductor usualmente boro hidruro de sodio. Los productos de reacción gaseosa acarrean la muestra a la celda en la trayectoria de la luz del EAA. Dicha reacción no produce átomos libres pero si hidruros volátiles. Esta especie molecular no es capaz de causar absorción atómica. Para disociar el gas hidruro en átomos libres, la muestra en la celda debe ser calentada por una flama de aire-acetileno. El gas hidruro es disociado en la celda caliente a átomos libres y la aplicación de energía da como resultado la excitación de los átomos provocando el desprendimiento de energía de los átomos y finaliza con el decaimiento de éstos y el átomo regresa a su estado basal. Esta técnica es ampliamente utilizada para determinar selenio en diferentes tipos de muestras, como son fluidos biológicos, tejidos, alimento, ya que ésta técnica es muy sensible, al grado de que puede determinas concentraciones del rango de ppb ( $\mu\text{g/L}$ ).



### ***Cuestionario previo.***

- 1.- ¿Qué tipo de sustancias pueden ser determinadas por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generador de Hidruros?
- 2.- Describir brevemente el proceso de atomización de la muestra para esta técnica.
- 3.- Mencione como funciona una lámpara de cátodo hueco
- 4.- ¿Qué mezclas de gases se utilizan en esta técnica?
- 5.- ¿Qué propiedad se utiliza para efectuar la cuantificación?
- 6.- Describa el objetivo y los beneficios de una digestión asistida por microondas para este tipo de muestras.
- 7.- Describa las reacciones que se llevan a cabo en preparación de la muestra y cual es su finalidad.

### ***Material.***

- 5 Matraces volumétricos de 50 ml.
- 1 matraz volumétrico de 25ml
- 1 micropipeta de 20-200,100-1000.

### ***Reactivos.***

- Ácido clorhídrico R.A. 36.5- 38% de pureza J. T. Baker de México.
- Ácido nítrico R. A. 65.4% de pureza J. T. Baker de México
- Peróxido de hidrógeno en solución al 30% J. T. Baker de México
- Hidróxido de Sodio perlas 98.4% de pureza, bajo en carbohidratos J. T. Baker de México
- Boro hidruro de sodio 99% de pureza, Aldrich Alemania
- Agua desionizada 18.2  $\Omega$ cm Millipore.

### ***Estándares.***

- Estándar de selenio High-Purity  $1000 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  en 2% de ácido clorhídrico con 99.999% de pureza

## *Procedimiento experimental.*

- **Stock Selenio:** Preparar una solución stock de 2 µg/mL a partir del estándar de 1000 µg/mL llevando a la marca de aforo con agua desionizada.
- **Curva de calibración:** Preparar una curva de calibración, en un rango de concentración de 0 a 18 µg/L de Selenio a partir de la sol stock anterior llevando a la marca de aforo con ácido clorhídrico 7M.

SISTEMA	CONCENTRACION (µg/L)	VOLUMEN (µL)	VOLUMEN AFORO (mL)
1	2	50	50
2	6	150	50
3	10	250	50
4	14	350	50
5	18	450	50

**Tabla 1.** Preparación de la curva de calibración

- **Preparación de la muestra problema:** Pesar 0.5 g ± 0.05 de sangre directamente en los vasos (asegurándose de no ensuciar las paredes de los vasos), Adicionar 5 ml de agua desionizada, adicionar 2.5 de ácido nítrico concentrado, adicionar 1 ml de peróxido de hidrogeno al 30%, dejar reposar 20 min, colocar el vaso dentro de las de las camisas, colocar las camisas en el carrusel del horno de microondas, introducir cuidadosamente el sensor de temperatura, encender el Horno de Microondas, colocar el carrusel dentro del Horno, seleccionar el método Sangre2, oprimir la tecla "Start" para comenzar la digestión, una vez transcurrido el tiempo de la digestión, sacar cuidadosamente el carrusel y colocarlo en la campana de extracción, apagar el horno de microondas, dejar que la los vasos se enfríen por 20 minutos a temperatura ambiente, una vez fríos, enjuagar los vasos con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico 7M, verter el contenido del vaso en un matraz volumétrico de 25 ml y llevar a la marca de aforo con HCl 7M, medir en EAA-GH.

## ***Manejo de Residuos.***

Las disoluciones ácidas deben de ser neutralizadas con algún hidróxido antes de ser vertidas a la tarja.

## ***Informe de trabajo.***

El Informe de trabajo debe de contener lo siguiente, empleando un formato de reporte.

- 1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema
- 2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad.
  - Describir perfectamente el procedimiento de preparación de la muestra problema.
- 3.- Gráfico de la Curva de Calibración  $A = f(\mu\text{g/ml de Se})$
- 4.- Análisis de linealidad de la curva por el método de mínimos cuadrados.
- 5.- Establecer la ecuación que relaciona cada una de las variables en el gráfico correspondiente, indicando el valor de la pendiente y ordenada de origen, y mencionando sus unidades.
- 6.- Los cálculos correspondientes para la determinación de selenio en  $\mu\text{g/ml}$  de sangre.
- 7.- Observaciones y conclusiones.
- 8.- Referencias Bibliográficas.



## DETERMINACIÓN DE ELEMENTOS METÁLICOS Y METALOIDES EN SANGRE DE BORREGOS POR ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP)

### Objetivos:

- Conocer el fundamento, las partes básicas y el manejo general del espectrofotómetro de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo, para emplearlo adecuadamente.
- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar adecuadamente la cuantificación de Co, Cu, Fe, Ca, Mg, Mn, Mo, Se y P en sangre de ovinos, mediante una curva de calibración.
- Realizar el tratamiento adecuado de una muestra real a fin de asegurar la completa digestión de la materia orgánica para obtener resultados confiables.

### INTRODUCCIÓN:

La espectroscopia de emisión atómica es una técnica analítica cualitativa y cuantitativa, que se basa en la emisión de energía de una población de átomos excitados por medio de una fuente de alta energía (plasma). Esta técnica se puede emplear para determinar hasta 73 elementos de manera simultánea. Este tipo de espectroscopia es similar a la absorción atómica, con la diferencia básica de que no es necesaria una fuente de luz. En la espectroscopia de emisión los átomos son elevados a un estado excitado por medio de colisiones térmicas, que al regresar a un estado electrónico basal, los átomos excitados emiten radiaciones características de cada elemento.

### CUESTIONARIO PREVIO.

- 1.- ¿En que se basa la emisión atómica?
- 2.- ¿Que es plasma, cual es su función en esta técnica?
- 3.- ¿Explique a que se refiere la espectrofotometría de emisión atómica de acoplamiento inductivo?
- 4.- ¿Cuáles son sus límites de detección?
- 5.- ¿Qué tipo de gas se utiliza en esta técnica?

- 6.- ¿Qué propiedad se utiliza para efectuar la cuantificación?
- 7.- Describa el objetivo y los beneficios de una digestión asistida por microondas para este tipo de muestras.
- 8.- ¿Qué tipo de interferencias puede llegar a tener esta técnica y como afectan a una determinación?
- 9.- ¿Qué beneficios tiene utilizar esta técnica en comparación con absorción atómica?

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL.**

#### **EQUIPOS:**

- Espectro de emisión Atómica THERMO JARRELL ASH, Software Thermo Spec-CID
- Horno de microondas Mars 5 CEM Corporation USA.

#### **REACTIVOS:**

- Estándar de multielemental High-Purity 1000± 3µg/ml en 2% de HCl con 99.999% de pureza
- Ácido clorhídrico R.A. 36.5-38% de pureza J.T. Baker de México.
- Ácido Nítrico R.A. 68.4% de pureza J.T. Baker de México.
- Peróxido de hidrogeno en solución al 30% J.T. Baker de México.
- Agua desionizada 18Ωcm Milipore.

#### **Estándares:**

- Multielemental High-Purity 1000± 3µg/ml en 1% de ácido clorhídrico con 99.999% de pureza.
- Estándar de hierro High-Purity 1000± 3µg/ml en 2% de ácido clorhídrico con 99.999% de pureza.
- Estándar de molibdeno Aldrich Chemical Company 1020 ppm con 99.999% de pureza.

### **PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.**

**Concentración de las soluciones Stock:** Para llevar a cabo la determinación se realizó una curva de calibración multielemental, que incluye los siguientes elementos: Co, Cu, Ca, Mg, Mn, Se, P y Zn. Para su preparación se utilizó un estándar multielemental, el cual contiene

10 ppm para Ca, Co, Cu, P, Se y 1ppm para Mg, Mn, Zn a partir del cual se preparo la curva de calibración.

Debido a que el estándar multielemental, no contiene Mo y Fe, fue necesario la preparación de las siguientes soluciones:

- A partir de un estándar de hierro de 1000 ppm en HCl al 2 % se realizó un dilución de 200 µl / 20ml obteniendo una concentración de 10ppm.
- A partir de un estándar de molibdeno de 1020 ppm en HCl al 2 % se realizó un dilución de 200 µl / 20ml obteniendo una concentración de 10.2ppm.

En base a las soluciones anteriores se preparó la curva de calibración con cinco sistemas en un intervalo de concentración de 0.4 a 2.0 ppm para los stock Ca, Co, Cu, Fe, Mo, P, Se y para el stock de Mg, Mn, Zn en un intervalo de 0.04 a 0.2 ppm. Como se muestra en la tabla1.

**Tabla1. Preparación de curva de calibración.**

Sistema	mL de cada stock	[ Ca, Co, Cu, Fe, Mo,P, Se] ppm	[ Mg, Mn, Zn] ppm
1	1	0.4	0.04
2	2	0.8	0.08
3	3	1.2	0.12
4	4	1.6	0.16
5	5	2.0	0.20

Nota: todos los sistemas se llevaron a un volumen de aforo de 25 ml.

### **Preparación de la muestra problema.**

#### **Digestión Ácida:**

- XIII. Pesar 0.5 g + 0.05 de sangre directamente en los vasos (asegurándose de no ensuciar las paredes de los vasos).
- XIV. Adicionar 5 ml de agua desionizada, adicionar 2.5 de ácido nítrico concentrado, 1 ml de peróxido de hidrogeno al 30%, dejar reposar 20 min.
- XV. Colocar el vaso de teflón dentro de las de las camisas, colocar las camisas en el carrusel del horno de microondas.
- XVI. Apretar cada uno de los vasos y colocar el aro que sujeta a los vasos.
- XVII. Introducir cuidadosamente el sensor de temperatura en el vaso control (vaso 1).
- XVIII. Encender el Horno de Microondas, seleccionar el método Sangre2.

- XIX. Abrir la puerta del horno e introducir el carrusel, verificando que la ranura ubicada en el centro del carrusel coincida con la base blanca del horno, y conectar el sensor de la temperatura en la sonda que se ubica en la parte superior central interna del horno de microondas.
- XX. Verificar en la pantalla del horno, que se esté monitoreando la temperatura, y que el carrusel gira de manera adecuada.
- XXI. Cerrar la puerta y oprimir la tecla "Start" para comenzar la digestión.
- XXII. Una vez transcurrido el tiempo de la digestión, desconectar el sensor de la temperatura y sacar cuidadosamente el carrusel, y apagar el equipo.
- XXIII. Colocar el carrusel en la campana de extracción, dejar que los vasos se enfríen por 20 minutos a temperatura ambiente.
- XXIV. Una vez fríos, enjuagar los vasos con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico 7M, y verter el contenido del vaso en un matraz volumétrico de 25 ml y llevar a la marca de aforo con HCl 7M, y medir en EAA-GH.

### ***Manejo de Residuos.***

Las disoluciones ácidas deben de ser neutralizadas con algún hidróxido antes de ser vertidas a la tarja.

### ***Informe de trabajo.***

El Informe de trabajo debe de contener lo siguiente, empleando un formato de reporte.

- 1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema
- 2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad.
  - Describir perfectamente el procedimiento de preparación de la muestra problema.
- 3.- Gráficos de las Curvas de Calibración  $A = f(\mu\text{g/ml})$  para cada metal.
- 4.- Análisis de linealidad para cada curva por el método de mínimos cuadrados.
- 5.- Establecer la ecuación que relaciona cada una de las variables en el gráfico correspondiente, indicando el valor de la pendiente y ordenada de origen, y mencionando sus unidades.
- 6.- Los cálculos correspondientes para la determinación de cada metal en  $\mu\text{g/ml}$  de sangre.
- 7.- Observaciones y conclusiones.
- 8.- Referencias Bibliográficas.

## **PRACTICA DEMOSTRATIVA DE ELECTROFORESIS CAPILAR DE ZONA (CZE) Y CROMATOGRAFÍA CAPILAR MICELAR ELECTROCINÉTICA (MEKC)**

Determinación cuantitativa de parabenos (metil,etil,butil y propilparabeno en productos comerciales.

### **Objetivos:**

- Conocer las partes y el manejo del equipo de electroforesis capilar
- Conocer y comparar los métodos de Electroforesis Capilar de Zona y de Cromatografía Capilar Micelar Electrocinética y seleccionar el más eficiente para la separación de la mezcla de parabenos.
- Efectuar la cuantificación de los parabenos contenidos en las muestras comerciales utilizando una curva de calibración como método de cuantificación.

### **Introducción**

Dentro de las diferentes técnicas que engloban a la electroforesis capilar, la Electroforesis Capilar de Zona (ECZ), es la más utilizada como método de separación, debido a la simplicidad de operación y su versatilidad.

La ECZ es la forma mas simple de EC principalmente porque el capilar es llenado solo con un electrolito soporte (comúnmente un buffer) y la migración de los analitos se da en zonas discretas y a diferentes velocidades debido a las diferencias de cada uno de los analitos. La separación de mezclas con analitos aniónicos y cationicos es posible debido a la influencia del flujo Electroosmótico (FEO). Los analitos neutros no migran por si solos, pero coeluyen en presencia del FEO. Cuando se tiene un flujo Electroosmótico (pH entre 4-12) y polaridad positiva, las especies cargadas positivamente se mueven a lo largo del capilar con una velocidad que es mayor que la del FEO, puesto que su movimiento se va acelerando por la atracción de sus cargas al electrodo negativo. Los analitos cargados negativamente se mueven en sentido contrario, mas lentamente y en contra del flujo Electroosmótico debido a que son atraídos por el electrodo positivo. Los analitos neutros se mueven a través del capilar con el FEO por lo que durante este movimiento no se produce separación entre las especies no cargadas.

La cromatografía Electrocinética Micelar Capilar (MEKC) es un híbrido de la electroforesis y la cromatografía, esta fue introducida por Terade y compañía en 1984. En la MEKC, se añaden al buffer cantidades de surfactante o tensoactivo que excede la concentración micelar crítica a fin de obtener las respectivas micelas. Hasta ahora la mayoría de las aplicaciones han sido reportadas utilizando los surfactantes dodecil-sulfato de sodio (SDS), bromuro de cetiltrimetilamonio (BCTA) y bromuro de dodeciltrimetilamonio (BDTA).

La cromatografía capilar en presencia de micelas tiene un futuro prometedor, sus ventajas sobre la CLAR son la eficiencia de columna (100,000 platos o más) y la facilidad con la que se puede modificar la fase pseudo estacionaria en comparación con el cambio de fase estacionaria en CLAR. En MEKC, cambiar la composición del buffer, provoca un esfuerzo mínimo que proporciona una segunda fase distinta que influirá en la eficiencia de la separación.

### **Cuestionario previo**

Cuál es el fundamento de electroforesis Capilar de Zona?

Qué tipo factores afectan a las separaciones electroforéticas?

Qué tipo de sustancias pueden separarse por electroforesis capilar de zona?

Qué es el flujo Electroosmótico?

Cuál es el fundamento de la Cromatografía Capilar Micelar Electrocinética?

Qué tipo de sustancias pueden separarse por MEKC?

Como se prepara una solución micelar?

Qué es la concentración micelar crítica?

Realizar el cálculo para la preparación de soluciones?

### **PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA CZE**

Preparación de soluciones

Preparación del buffer de boratos 50 mM pH=9.2 (CZE)

Pesar 154.5 mg de reactivo analítico de ácido bórico, disolver con aproximadamente 40 mL de agua y ajustar el pH a 9.2 con NaOH 0.1 y finalmente aforar a 50 mL con agua desionizada.

### Preparación de la muestra problema

Pesar 250 mg de gel Folicure, disolver con 4 ml de mezcla metanol buffer (17:3), agitar durante 20 min y aforar a 5 ml.

Pesar 250 mg shampoo Loreal Kids y desodorante Obao, disolver con 8ml de mezcla metanol buffer, agitar durante 20 min y llevar a aforo de 10 ml.

Filtrar con un filtro de membrana de 45  $\mu\text{m}$  cada solución problema antes de su inyección.

### 3. Estándares.

Preparar las soluciones stock de parabenos de la siguiente manera:

1. Pesar 50 mg de Etilparabeno, solubilizar con 5 mL de metanol y aforar finalmente a 100 mL con una mezcla de etanol-agua (15:85 v/v).
2. Pesar 50 mg de Butilparabeno, solubilizar con 5 mL de metanol y aforar finalmente a 100 mL con una mezcla de etanol-agua (15:85 v/v).
3. Pesar 50 mg de Metilparabeno, solubilizar con 5 mL de metanol y aforar finalmente a 100 mL con una mezcla de etanol-agua (15:85 v/v).
4. Pesar 50 mg de Propilparabeno, solubilizar con 5 mL de metanol y aforar finalmente a 100 mL con una mezcla de etanol-agua (15:85 v/v).

### Preparación de sistemas

Para construir la curva de calibración se preparan los siguientes sistemas a partir de la solución estándar (stock) de parabenos (Tabla 1). Cada dilución se preparo tomando un volumen adecuado y aforado a 25 ml con agua desionizada. Se preparan 6 diluciones de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 1. Preparación de los sistemas para la curva de calibración de parabenos

Sistemas	1	2	3	4	5
Sol. Problema(mL)	0	0	0	0	0
Sol. Stock de Metil, Etil, Butil y Propilparabeno (mL)*	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
Aforo con agua deionizada(mL)	25	25	25	25	25
C STD $\mu\text{g/ml}$	10	20	40	60	80

\* Se tomara el volumen indicado de cada uno de los stocks y se adicionaran en el mismo matraz de los sistemas.

#### Medición de las muestras

Se coloca en el equipo apagado un cartucho con capilar de las siguientes especificaciones:

DT	40 cm
DI	29.5 cm
$\phi$	75 $\mu\text{m}$

DT (diametro total), DI (Diametro al detector) ,  $\phi$  (diámetro del capilar).

2. Abrir el archivo del método: Paraben.met que se encuentra en d:/selene/, el cual contiene las siguientes condiciones de corrida (Tabla)

Preparar el capilar lavando al inicio con NaOH 0.1 M por 2 min. a 20 psi, enjuagar con agua desmineralizada por 2 min, a 20 psi (para bajar el pH).

Equilibrar el capilar lavando con buffer de corrida (Boratos pH= 9.2).

Considerando las indicaciones del programa de trabajo del equipo, se enciende y se calibra, las condiciones de trabajo se muestren en la siguiente tabla:



**Tabla 2. Condiciones de trabajo para CZE y MEKC**

Longitud del capilar	Potencial (kV) aplicado	Detector	$\lambda$ de trabajo	Inyección hidrodinámica
40 cm de longitud	20 kV	Con arreglo de diodos	275nm	0.3psi x 10 s

### 6. Procedimiento para correr las muestras

Se corre cada uno de los sistemas preparados, iniciando con el sistema más diluido al más concentrado, anotar resultados.

Nota: Para el manejo del software, ver el capítulo anexo 1 de su utilización.

### PROCEDIMIENTO DE DESECHO DE SOLUCIONES DE TRABAJO

Todas las soluciones de parabenos pueden desecharse en la tarja, dejando correr suficiente agua.

### ANÁLISIS DE RESULTADOS E INFORME DEL TRABAJO

El tiempo de migración puede ser usado como herramienta de diagnóstico para determinar cualitativamente la presencia de una sustancia en la muestra, contrastado contra un estándar.

Como el área bajo la curva del pico (señal) está relacionada con la concentración  $A = K$  [concentración], se puede construir la curva de calibración correspondiente.

Registrar los resultados siguientes, tomados directamente de la carta que se obtiene como resultado de cada corrida:

Concentración 10 $\mu\text{g/ml}$ de parabenos	Tiempo de migración ( $t_m$ )	Área del pico (A)	Altura del pico (H)	Numero de platos teóricos (N)	Resolución ( $R_s$ )
metilparabeno					
etilparabeno					

butilparabeno					
propilparabeno					
Concentración 20 µg/ml de parabenos	Tiempo de migración (tm)	Área del pico (A)	Altura del pico (H)	Numero de platos teóricos (N)	Resolución (Rs)
metilparabeno					
etilparabeno					
butilparabeno					
propilparabeno					

Concentración 40 µg/ml de parabenos	Tiempo de migración (tm)	Área del pico (A)	Altura del pico (H)	Numero de platos teóricos (N)	Resolución (Rs)
metilparabeno					
etilparabeno					
butilparabeno					
propilparabeno					

Concentración 60 µg/ml de parabenos	Tiempo de migración (tm)	Área del pico (A)	Altura del pico (H)	Numero de platos teóricos (N)	Resolución (Rs)
metilparabeno					
etilparabeno					
butilparabeno					
propilparabeno					

Concentración 80 µg/ml de parabenos	Tiempo de migración (tm)	Área del pico (A)	Altura del pico (H)	Numero de platos teóricos (N)	Resolución (Rs)
metilparabeno					
etilparabeno					
butilparabeno					
propilparabeno					

### EXPERIMENTO ADICIONAL

#### COMPARACIÓN DEL ANÁLISIS DE PARABENOS POR CZE vs. MECK

Preparación del buffer de fosfatos 10 mM pH= 7.0: EtOH (85: 15) (MEKC)

Medir 16.85 µL de ácido fosfórico H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, y agregar aproximadamente 20 mL de H<sub>2</sub>O desionizada, ajustar el pH a 7.0 con NaOH 0.1 M y adicionar 3.75 mL de etanol y finalmente aforar con agua a 25 mL.

Pesar 75.89 mg dodecil-sulfato de sodio para tener una solución 10 Mm y disolverla con los 25 ml del buffer del apartado 1.

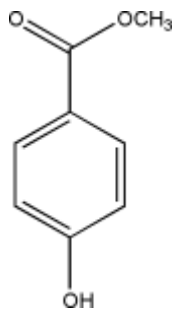
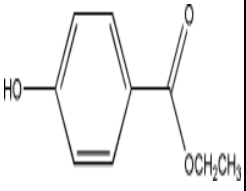
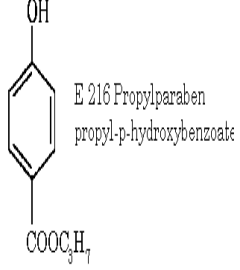
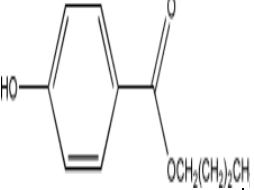
#### Informe de trabajo

- Debe de contener los siguientes puntos al menos:
- Los objetivos particulares de la práctica y breve introducción al tema incluyendo propiedades antimicrobianas de los parabenos.
- De acuerdo a los pka's reportados para los parabenos, cual fue el orden de elusión en CZE de los compuestos a las condiciones del análisis. Justificar su respuesta.
- Grafica de la curva de calibración Area = f [µg/\*ml del parabeno].
- Análisis de linealidad de la curva y las ecuaciones que siguen la respuesta, mencionado cada uno en sus términos.
- Calcular el (tm) promedio para cada sustancia en estas condiciones de análisis y su

C.V.

- Calcular el contenido en mg de metil, etil, propil o butilparabenos para cada muestra comercial.
- Discutir acerca del contenido de parabenos en las muestras comerciales y si esta dentro de especificaciones.
- De acuerdo a las condiciones utilizadas en MEKC, las estructuras de los parabenos y los pka's, justificar el orden de elusión en esta técnica.

**Datos:**

	Metilparabe no	Etilparabeno	Propilparabeno	Butilparabeno
PM (g/mol)	152.15	166.18	180.20	194.23
pka's	8.31 ± 0.13	8.31 ± 0.13	8.32 ± 0.15	8.23 ± 0.15
				

**Referencias:**

Handbook of pharmaceutical excipients. 30a edición. Editado por Arthur H. Kibbe. Apha. USA, 2000.

L, Labat, et.al. Comparison of high-performance liquid chromatography and capillary zone electrophoresis for the determination of parabens in a cosmetic product. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 23(2000)763-769. France.

Rim Driouch, et.al. Separation and determination of haloperidol, parabens and some of their degradation products by micellar electrokinetic chromatography. Journal of chromatography. 903(2000)271-278. Japan

## ESTUDIO DEL FERROCIANURO POR VOLTAMPEROMETRIA CICLICA

### Introducción

Esta técnica resulta de gran importancia en el campo de la electroquímica, especialmente para estudios de procesos redox, mecanismos de reacción, propiedades electrocatalíticas, etc. estudio de intermediarios de reacción, etc.

Esta técnica se basa en aplicar un barrido de potencial al electrodo de trabajo tanto en el sentido directo como en el inverso, es decir realizando lo que se denomina barrido triangular de potencial. Este programa de potencial se inicia en un valor inicial  $E_i$  hasta un valor de corte denominado  $E_f$ .

En este tipo de perturbación, la pendiente de la variación de potencial se conoce como "velocidad de barrido". El barrido puede ser iniciado en cualquier sentido (anódico o catódico) y esta técnica permite repetir este ciclo las veces que sea necesario. Considerando que el barrido se inicia en el sentido anódico, se observa que al alcanzar el valor adecuado de potencial para que comience la reacción de oxidación, la corriente aumenta notablemente hasta alcanzar un valor máximo. Dado que la especie que reacciona es consumida totalmente en la superficie del electrodo, la corriente de oxidación cae a medida que se aumenta el potencial.

Una vez alcanzado el valor de potencial de corte anódico, el barrido de potencial es invertido y se obtiene un aumento de corriente catódica correspondiente a la reacción de reducción. El ciclo finaliza a un valor de potencial, en este caso, coincidente con el valor de potencial inicial. Dos valores importantes para el análisis del proceso de óxido reducción, son las corrientes obtenidas en los máximos, llamados corriente de pico anódico ( $i_{pa}$ ) y corriente de pico catódico ( $i_{pc}$ ), respectivamente.

Para analizar que sucede con la corriente que circula por el sistema a medida que se modifica el potencial del electrodo, es necesario emplear un sistema de tres electrodos, uno de trabajo, uno de referencia y uno auxiliar.

## Objetivos

- Conocer las partes y el manejo del equipo del potencióstato
- Demostrar que la reacción de reducción del ferrocianuro de potasio es una reacción reversible

## Equipos:

- Potencióstato

## Reactivos:

- Estándar de ferrocianuro de potasio con 99.999% de pureza
- Cloruro de potasio grado analítico
- Agua desionizada 18 $\Omega$ cm Millipore.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### Preparación de Soluciones.

- Preparación de una solución de cloruro de potasio 1M:

Pesar 3.76 g de reactivo analítico, disolver con aproximadamente 40 ml de agua y finalmente aforar a 50 mL con agua desionizada.

- Preparación de una solución ferrocianuro de potasio 0.1M

Pesar 824.8 mg de reactivo analítico de ferrocianuro de potasio, disolver en aproximadamente 20 ml de agua y llevar a volumen de 25 ml con agua desionizada.

### Montaje del equipo:

- Montar la celda en la portacelda y asegurar la misma de manera de evitar que la tapa de la celda se mueva con los electrodos.
- Colocar dos electrodos de platino y un electrodo de calomel en la tapa de la celda
- por medio de caimanes conectar del potencióstato a los electrodos de la siguiente forma:

Electrodo de trabajo	Platino
Electrodo auxiliar	Platino
Electrodo de referencia	Calomel

### Selección de condiciones

#### Seleccionar

Una vez montado el equipo y conectado los electrodos según la tabla anterior colocar 50 ml de la solución de cloruro de potasio en la celda y se hace burbujear nitrógeno a la solución de cloruro de potasio por 30 min. Posteriormente se enciende la computadora del equipo se abre el software y se selecciona la opción de voltamperometría cíclica posteriormente se seleccionan las condiciones como se muestran en la siguiente tabla para observar la influencia de la velocidad de barrido en la determinación:

Velocidad mV/s	50mV/s	100mV/s	200mV/s	350mV/s
Element 1 :	<b>cyclic voltammetry</b>	<b>cyclic voltammetry</b>	<b>cyclic voltammetry</b>	<b>cyclic voltammetry</b>
Time resolution (s)	<b>0.22</b>	<b>0.12</b>	<b>0.055</b>	<b>0.0596</b>
Initial value (mV)	<b>400</b>	<b>400</b>	<b>400</b>	<b>400</b>
Intermediate value 1 (mV)	<b>-500</b>	<b>-500</b>	<b>-500</b>	<b>-500</b>
Intermediate value 2 (mV)	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Final value (mV)	<b>600</b>	<b>600</b>	<b>600</b>	<b>600</b>
Scanning rate (mV/s)	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>352,348,993,288,591</b>
Measurement points	<b>183</b>	<b>168</b>	<b>183</b>	<b>97</b>
Repeat	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Mode	<b>Absolute</b>	<b>Absolute</b>	<b>Absolute</b>	<b>Absolute</b>
Acquisition mode	<b>Programmed</b>	<b>Programmed</b>	<b>Programmed</b>	<b>Programmed</b>
Maximum current range	<b>±2 mA</b>	<b>±2 mA</b>	<b>±2 mA</b>	<b>72 mA</b>
Minimum current range	<b>±2 mA</b>	<b>±2 mA</b>	<b>±2 mA</b>	<b>72 mA</b>
Current gain	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Potential range (mV)	<b>AUTO</b>	<b>AUTO</b>	<b>AUTO</b>	<b>AUTO</b>
Open circuit at end	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
Display data	<b>I(E)</b>	<b>I(E)</b>	<b>I(E)</b>	<b>I(E)</b>
Save results	<b>E,I,t</b>	<b>E,I,t</b>	<b>E,I,t</b>	<b>E,I,t</b>
Start measurement	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
Block start	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
Block end	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
Repeat block	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

Posteriormente para ver el efecto de la concentración en la determinación se elegirá la velocidad de 100 mV/s aplicando diferentes concentraciones como se muestran en la siguiente tabla:

Vol. De KCl (ml)	Ferrocianuro de potasio (ml)	Concentración Molar
51	1	1.960E-3
51.1	0.1	2.152E-3
51.2	0.1	2.343E-3
51.3	0.1	2.534E-3



## *Informe de trabajo.*

El Informe de trabajo debe de contener lo siguiente, empleando un formato de reporte.

1. Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema
2. Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad.
3. Observaciones y conclusiones.
4. Referencias Bibliográficas.

## ANEXO 2

### Manual de uso de ICP:

### ***MANUAL DE USO ESPECTROFOTOMETRO DE EMISION POR PLASMA***

***THERMO JARRELL ASH***



La siguiente lista debe seguirse en el orden que se describe ya que el buen funcionamiento del equipo depende de estas operaciones. Además de que esta lista debe ser colocada a un costado del equipo para no olvidar realizarlas cada vez que se use el equipo.

1. La primera operación que realiza es abrir el flujo del gas argón y verificar que el manómetro del tanque indique más de 400 lb, y el manómetro del flujo de salida del tanque indique 80 psi. y el manómetro interno o de entrada al equipo indique 60 psi.



2. Encender la unidad de suministro de energía de alto voltaje que se encuentra a un costado del equipo.



3. Encender el interruptor de la unidad de potencia del equipo que se encuentra al lado derecho del equipo. Esta unidad suministra energía a todos los módulos internos excepto el de refrigeración, el cual tiene suministro directo a la corriente.



4. Encender el sistema o módulo de refrigeración el cual tiene un suministro de energía directo a la corriente, y el interruptor se encuentra en la parte frontal del equipo a la izquierda.



5. Asegurar que la temperatura de la óptica sea de 90 °F y que no varíe, este display se encuentra en el costado inferior derecho de la antorcha



6. Una vez que se han realizado estos pasos se deja al equipo encendido por tiempo aproximado a una hora, antes de encender la computadora y abrir el programa (TERMOJT). Con un doble clic en el icono que se encuentra en el menú de inicio.

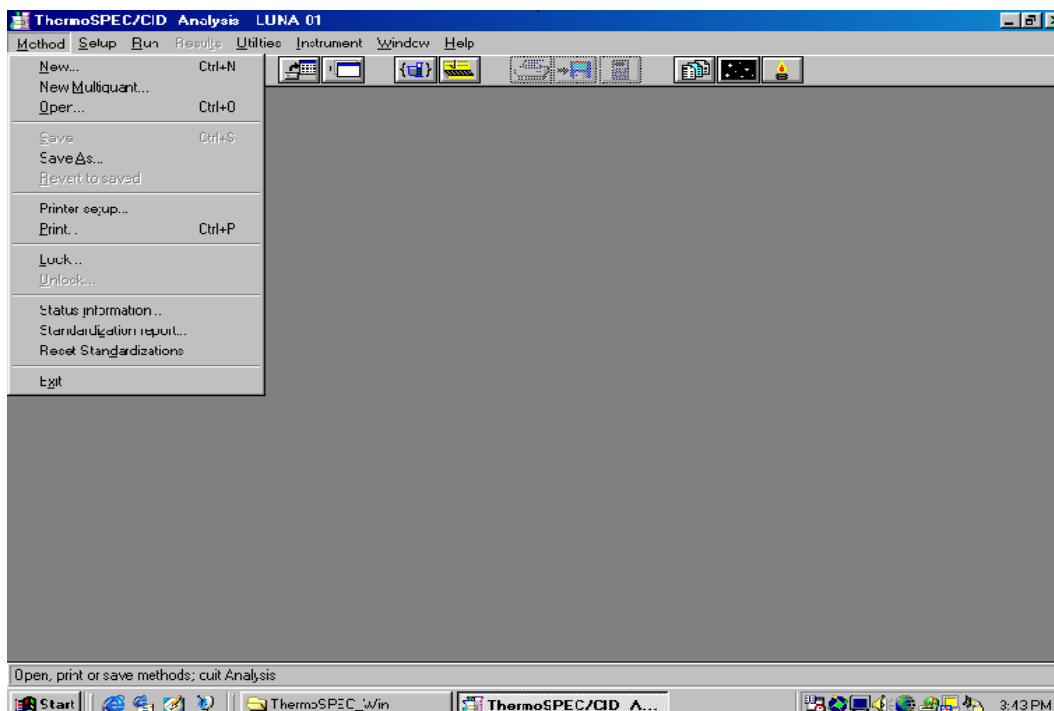


7. Al abrirse este programa aparece un menú del equipo en que se encuentra el icono TERMOSPEC al cual con un doble clic para abrir el programa para iniciar una sesión de trabajo.



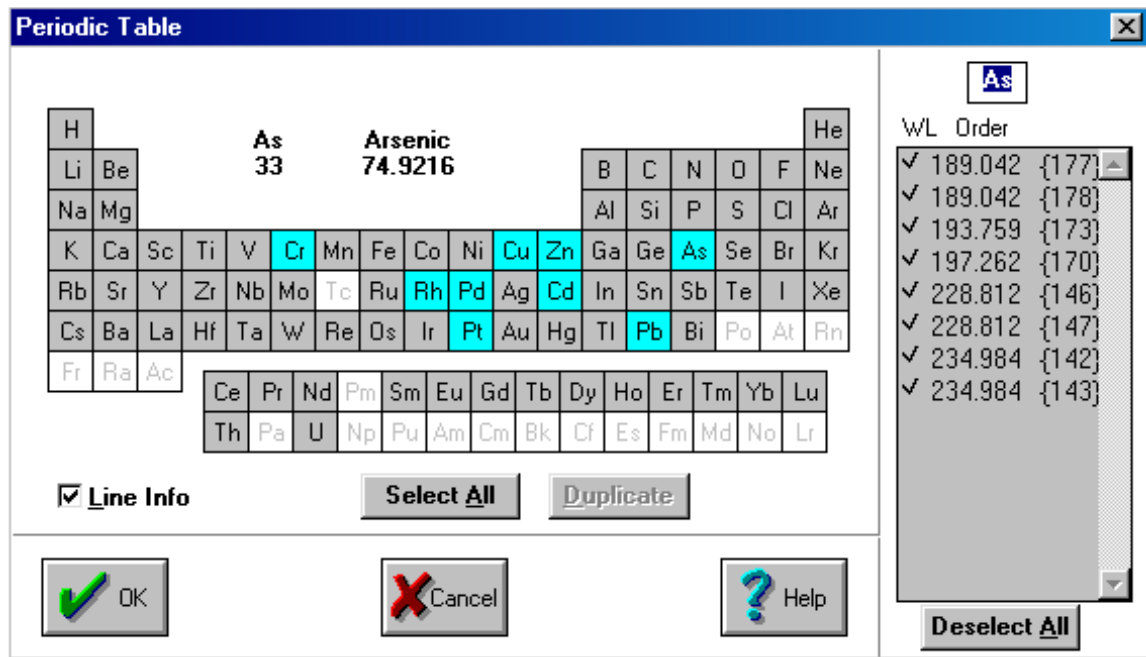
8. En la siguiente pantalla se muestra el menú principal en el cual se encuentran las funciones principales como: método,  (disposición de los parámetros), run (Leer o exponer los estándares y muestras), resultados e instrumento. Estos con

un clic nos despliegan ventanas con parámetros específicos para el funcionamiento del equipo.

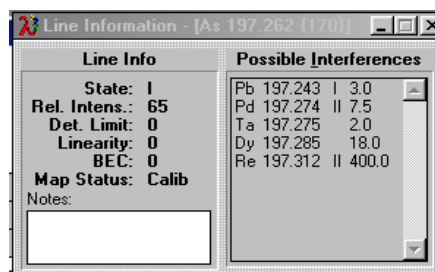


9. La primer ventana se muestra en la pantalla y en esta se realizan las funciones básicas referentes al método como son: crear un nuevo método, abrir uno ya creado, guardar el método nuevo o los cambios realizados a un método abierto, y la información de los estados de estandarización actuales.
10. Al hacer clic en la función nuevo o el icono que aparece en la pantalla la tabla periódica que en la cual se seleccionan los elementos a analizar, en la función nuevo y cualificación de múltiples elementos aparece la tabla con los elementos ya seleccionados, los cuales pueden ser determinados de manera simultánea, si no se desea determinar todos estos elementos con un doble clic en el elemento que desea borrar. La función de abrir nos da la opción de abrir alguno de los métodos ya creados en los cuales podemos realizar cambios.

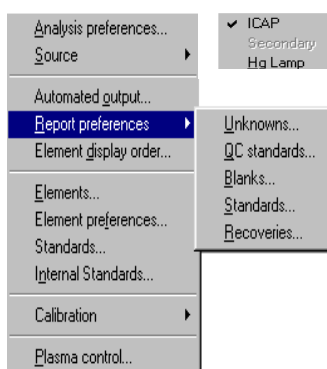
11. La función de salvar sirve para guardar los cambios realizados a métodos ya creados o guardar un nuevo método en el archivo del equipo.



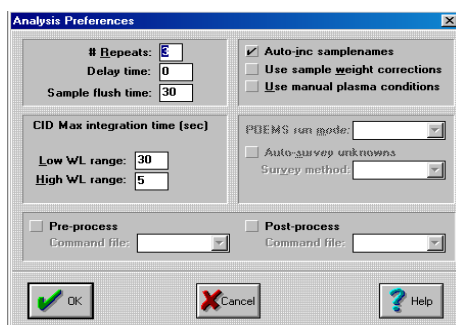
12. Esta tabla aparece al dar clic en el icono de la tabla, en nuevo o en la función elementos en la ventana.  Para seleccionar o adicionar elementos se da un doble clic en seleccionar todo, el cual está en la parte inferior de la tabla o en el elemento deseado, al hacer esto en la parte superior de la tabla aparece el elemento seleccionado, su símbolo, número y peso atómico, y en el recuadro de la derecha aparecen las líneas de este elemento seleccionadas, si no se desea utilizar todas las líneas de cada elemento en la parte inferior de este recuadro aparece la función para quitar la selección de todas, para seleccionar solo las que mejor convengan. Para seleccionar las líneas se activa el icono Line info y con un clic en esta aparecerá la siguiente ventana en la que podemos observar la información de cada línea como la intensidad y si se encuentra calibrada, así como los metales con los que hay posible interferencia.



13. La siguiente ventana se despliega al hacer clic en **Set up** en ella encontramos las funciones como: análisis prefernc, fuente, rendimiento de trabajo, reporte orden de los elementos, elementos, elementos preferidos, estándares y panel de control del plasma.

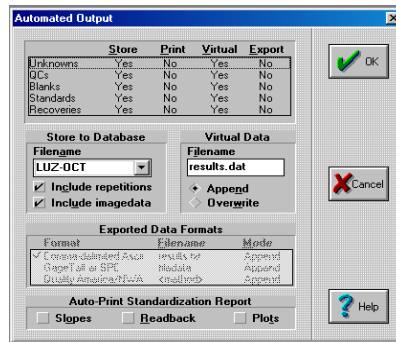


14. En análisis preferido los parámetros deben ser llenados como en la siguiente figura, el numero de repeticiones, tiempo de retardo y flujo de la muestra, la interpolación de las intensidades en la curva y el tiempo máximo de integración de las longitudes de onda del rango bajo y alto en el CID detector.

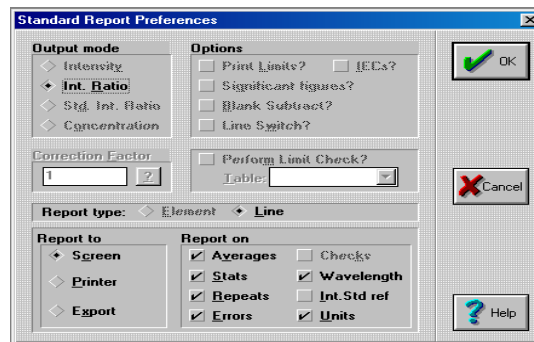


15. En la función rendimiento de trabajo, los parámetros se llena como se muestra en la figura para los estándares blancos y muestras debe indicar Yes en almacén y virtual,

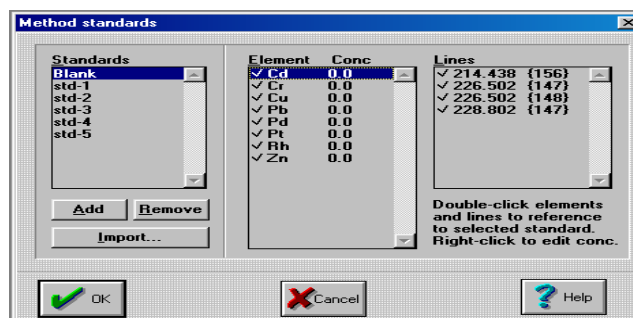
no en imprimir y exportar. El almacén se selecciona así como incluir repeticiones e imagen y en resultado virtual como se muestra.



16. En reporte preferido se eligen los parámetros para los estándares en la forma que se muestra en la figura (Int. Ratio). Para los blancos, Qk estándar y muestras se selecciona concentración, en opciones figuras significantes interruptor de línea e IECs?, El factor de corrección de 1 y el resto de la ventana se llena de la misma forma que en la figura de estándares.

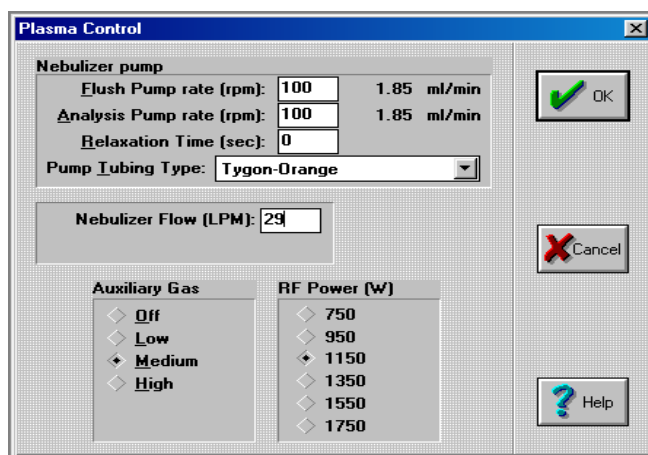


17. En la ventana de estandarización del método aparecen los elementos y líneas previamente seleccionados en la tabla periódica en los rectángulos del centro y derecha, en el rectángulo de la izquierda aparecen en un análisis designado por el equipo el blanco y el estándar alto (10mcg/ml), pero si se desea utilizar otras concentraciones en la parte baja de este rectángulo con la opción remover se pueden quitar estos y en la opción adicionar aparece una ventana en la que se da el nombre al estándar así como su concentración y debe hacer clic en OK, al hacer esto aparece el estándar en el rectángulo.






18. La última ventana del menú **Set up** es la del panel de control del plasma, en ella se pueden seleccionar las condiciones en las que operara el instrumento, en caso de no tener elegida la velocidad de flujo óptima y la velocidad de análisis el equipo tiene una velocidad designada o default en el tipo de manguera se selecciona el tipo que sé este utilizando el cual depende del tipo de muestra de la que se trate, una vez que se han seleccionado estos valores y manguera, a la derecha de los recuadro aparece la velocidad final. En la presión del nebulizador también existe un valor designado que es de 28 psi, el cual se puede utilizar en caso de que no se haya elegido la Presión optima y si es así debe colocarse el valor de esta. Es muy importante que se revise esta ventana cada vez que va a usarse el equipo ya que al iniciar la presión siempre es de 2 psi y al cambiarlo siempre debe hacer clic en OK y al encender la antorcha debe dejar absorber agua por al menos 15 minutos para que el flujo se establezca y el manómetro de presión del nebulizador que se encuentra a un costado de este indique el valor que se seleccionó. En gas auxiliar se usa un flujo bajo para muestras de digestión compleja, medio para las de digestión media y alto para las muestras de fácil digestión (la digestión en horno de microondas sirve para tener en solución a los elementos y eliminar sustancias orgánicas). El poder de radio frecuencia más comúnmente usado es de 1150, pero puede ser modificado a conveniencia del análisis.

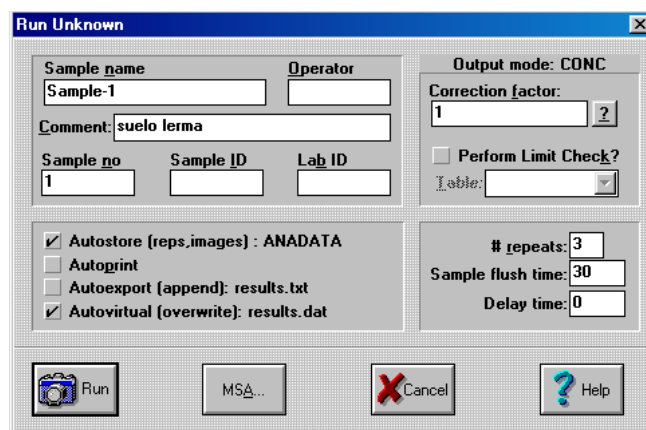


19. El siguiente menú es el de correr en el se da al equipo la orden de leer el estándar, blancos y muestra, también se puede dar esta orden a través de F5, F6, F7, F8. O los

siguientes iconos  en la opción resultados e imágenes aparecen todos los resultados del análisis en orden cronológico que fueron leídas.



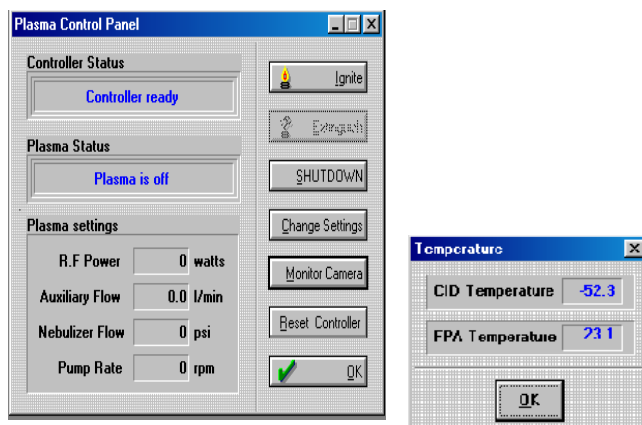
19. Al hacer clic en alguno de los iconos o funciones aparece la siguiente ventana la cual se llena con los datos de identificación de la muestra, laboratorio y analista así como activar autoalmacenamiento de repeticiones e imágenes en el almacén seleccionado previamente en automated output y los resultados auto virtual y debe aparecer el número de repeticiones y tiempo elegidos en análisis preferido.



20. En el menú instrumento aparecen el panel de control del ICP, el perfil de mercurio, auto ajuste de picos, editor de mapas y reset el controlador



21. Al hacer clic en el panel de control del ICP aparece la siguiente ventana la cual en los estados de control y plasma en los primeros segundos aparece la leyenda estableciendo comunicación, cuando no existe ningún problema después de esto aparecen las leyendas control listo y el plasma esta apagado, en caso de no ser así es recomendable hacer clic en reset control y hacer clic en Hard reset, esta operación dura unos segundos al cabo de los cuales normalmente aparece control listo y plasma apagado, antes de dar encendido de la antorcha se debe hacer clic en monitor de cámara y elegir temperatura con esto se abrirá la pequeña ventana en la que se observa la temperatura del CID y la del FPA las cuales deben ser de  $-52$  y  $23 \pm 0.5$  y ser de color azul al encender la antorcha (para que el equipo alcance esta temperatura lleva una hora a partir de que fue abierto el gas de purga)



22. Para iniciar el encendido debe acomodar las mangueras del sistema introducción y desecho en los platos de la bomba peristáltica y tensarla con los dispositivos de estos.

#### Procedimiento para colocación de mangueras

- La bomba es de tipo peristáltico por lo que solo gira para un solo lado por lo tanto con la misma bomba se introduce la muestra y con la misma bomba se extraen los residuos por lo que es de suma importancia la posición de las mangueras
- La bomba deber tener las mangueras en grapas sujetadoras, estas mangueras deben de tener los sujetadores (rojo y naranja) en las hendiduras correspondientes de cada grapa como lo muestra la siguiente figura.



posición correcta  
de grapa

- La manguera con la grapa de color naranja introduce la muestra por lo que la posición correcta en la bomba
- Las grapas sujetadoras tienen palancas, las cuales se utilizan para aplicar presión sobre las mangueras estas palancas aprietan hacia fuera y aflojan hacia adentro



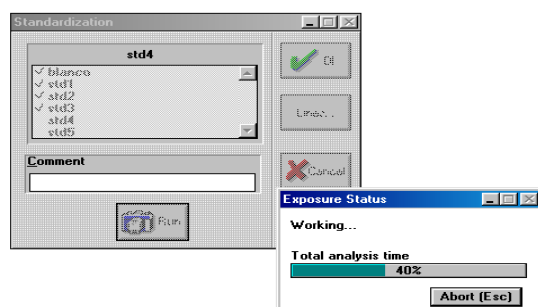
salida de residuos  
entrada de la  
muestra

grapas  
sujetadoras

palancas de  
presión

- Verificar que las mangueras tengan la flexibilidad suficiente para ser presión en la bomba si este no es el caso replácelas
- Un problema frecuente es que se tape la manguera esto se soluciona encontrando el punto de obstrucción y si este se encuentra en uno de los extremos de la manguera se corta el lo menos posible del extremo.
- Las grapas sujetadoras deben de retirarse de la bomba una vez terminada la determinación esto para prolongar la vida de las mangueras

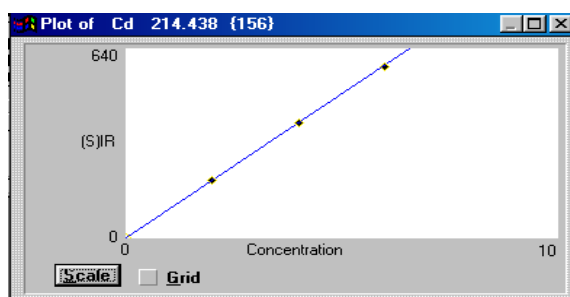
23. Una vez acomodadas las mangueras se colocar el capilar del sistema de introducción en agua destilada o desionizada y el capilar del sistema de desecho en el recipiente indicado para esto, asegurándose que hay suficiente espacio para los desechos de la sesión de trabajo. Una vez que se han realizado estos pasos y se ha alcanzado la temperatura adecuada hacer clic en ignición y aparece a un costado de panel de control la siguiente ventana la cual aparece los parámetros de encendido y debe hacer clic en OK, al hacer esto el equipo comienza a trabajar y aparece un rectángulo que indica el tiempo de purga del encendido y cuando se ha completado se escucha un ligero chispazo en la antorcha y esta enciende, luego de unos segundos comienza a girar la bomba peristáltica.
24. Al iniciar la succión de liquido se debe verificar que este entre de manera normal, se forme un vapor en la cámara de nebulización y que fluya liquido por el capilar de desecho a una velocidad constante para evitar que se acumule en el nebulizador y se apague la antorcha por exceso de humedad, en caso de que no entre o salga adecuadamente mover los dispositivos de tensión de los platos de ambas mangueras hasta observar que él liquido entre y salga a la misma velocidad. Una vez que se ha ajustado la introducción el sistema de introducción debe revisar nuevamente los parámetros del control del plasma y verificar que la presión del nebulizador sea; la elegida así como revisar que el manómetro de este indique ésta presión y dejar encendida la antorcha por al menos 15 minutos para que se establezca su temperatura así como la del resto del espectro, antes de correr los estándares y muestras de la sesión. Transcurrido este tiempo se puede comienzan correr los estándares y muestras, dando clic en los iconos o en el menú correr.



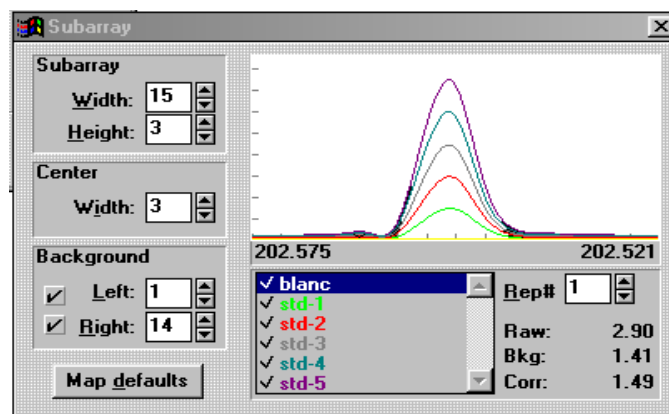
25. En la estandarización aparece una figura con los estándares elegidos y se debe hacer clic en la cámara que aparece en la parte baja y aparece el recuadro de la derecha en el que indica el tiempo de purga y exposición en la barra para cada una de las repeticiones, después de completar cada repetición aparecen en pantalla los resultados para cada estándar y se va marcando con una palomita cada estándar leído al terminar esta hacer clic en OK y desaparece la ventana. Si desea saber los parámetros de la estandarización en el menú de método en la parte más baja apárese la ventana reporte de estandarización, si ha realizado una antes aparecerá el mensaje de que los parámetros han cambiado y si desea guardar los cambios debe hacer clic en OK. Y al abrirse la ventana de reporte de estandarización veremos la siguiente figura. En ella aparecen el elemento, pendiente, intercepto, coeficiente de correlación y fecha de estandarización.

Elem	Slope	Y-int	Corr. Coeff.	Date Standardized
Cd2144	0.950278	0.144987	0.998183	05/23/03 13:25:39
Cr2677	0.129380	-0.293666	0.991656	05/23/03 13:25:39
Cr2835	0.132641	-0.444928	0.996853	05/23/03 13:25:39
Cu2135	0.141506	-0.675008	0.999046	05/23/03 13:25:39
Cu3247	0.195237	-1.948938	0.992632	05/23/03 13:25:39
Pb2203	0.031556	-0.338127	0.987904	05/23/03 13:25:39
Pb2833	-0.000550	-0.036936	-0.072965	05/23/03 13:25:39
Pd3242	-0.029388	-0.614558	-0.883203	05/23/03 13:25:39
Pd3421	0.034972	1.120785	0.936752	05/23/03 13:25:39
Pd3609	0.034267	-0.588782	0.921307	05/23/03 13:25:39
Pd3634	0.496774	33.304420	0.996525	05/23/03 13:25:39
Pt2036	0.016241	-0.273411	0.974137	05/23/03 13:25:39
Pt2036	0.034237	0.172644	0.996975	05/23/03 13:25:39
Pt2144	0.048156	0.038430	0.996088	05/23/03 13:25:39

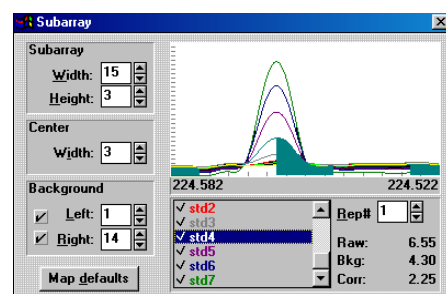
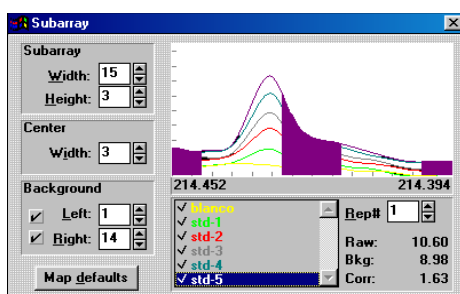
26. En los recuadros de la parte baja podemos ver los gráficos de intensidad de emisión en función de la concentración del elemento, para cada elemento y longitud de onda se obtienen estos parámetros y gráficos y podemos verlos en esta figura eligiendo en la figura anterior con el cursor y verificar que la estandarización sea aceptable para el análisis.




27. Una vez que se han revisado los parámetros en reporte de estandarización se puede revisar si los picos de las áreas bajo la curva están centrado en las líneas de cada longitud de onda en el detector del CID (para verificar que se este detectando el elemento en la ubicación correcta). Para esto se abre el menú run y en la ventana de Load Imagen Data se seleccionan todos los estándares incluyendo el blanco y hacer clic en OK, al hacer esto aparecerán en la pantalla los resultados cómo en la lectura cada longitud y línea de cada elemento, repeticiones y promedio de éstas. Con un doble clic en cualquier elemento aparecerá la siguiente ventana. En la que aparece la ubicación de las áreas bajo la curva debe revisarse que los picos estén centrados y que sean proporcionales entre sí de acuerdo con las concentraciones utilizadas.

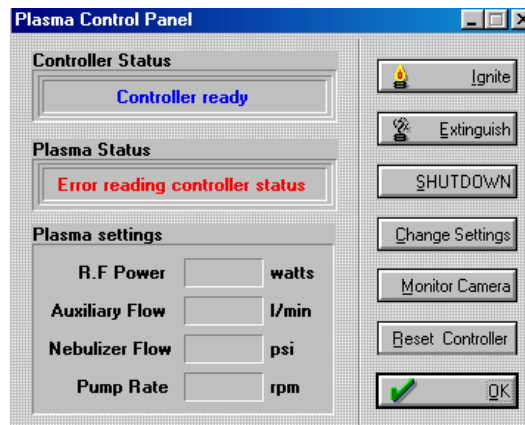


28. En las siguientes figuras se muestran ejemplos de cuándo se encuentran deslocalizadas las líneas de emisión. Esto sucede cuando al operar el equipo se eleva la temperatura del 4° en una hora en el área de trabajo, esto produce un corrimiento óptico y por eso la ubicación de los picos se mueve en el CID detector y la integración de los picos se ve incompleta y o las líneas correspondientes a cada estándar se confunden entre sí. Esto puede provocar que las estandarizaciones no se obtengan los coeficientes esperados esto se observa principalmente en la baja pendiente.



## 29. Procedimiento para apagar el equipo

- Para apagar la flama dirigirse a menú y dar clic en el icono  y aparecerá otra ventana donde se da clic en  donde se apagara la flama



- Posteriormente dar clic en MONITOR CAMERA en esta ventana nos muestra la temperatura de la cámara (Que es donde se encuentra la celda ) la temperatura tanto de la óptica como la de cámara debe de estar a temperatura ambiente esto se observa en el display que se encuentra a un costado de la celda ,una vez llegada a esta temperatura se cierran las ventanas del programa y se apaga la computadora
- Posteriormente se apaga la óptica, el equipo y el regulador y por último se cierran los tanques.