



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO POR
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE PARA LA
DETERMINACIÓN DE AMONIACO EN AIRE EN EL
EQUIPO DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE LA
FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA

MONSERRAT AGUILAR PICHARDO



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX.

AÑO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Irma Cruz Gavilán García
VOCAL: Profesor: José Agustín García Reynoso
SECRETARIO: Profesor: Gema Luz Andraca Ayala
1er. SUPLENTE: Profesor: Alejandra Mendoza Campos
2° SUPLENTE: Profesor: Claudia Inés Rivera Cárdenas

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA Y LABORATORIO DE PROTECCIÓN AMBIENTAL
DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, CIUDAD UNIVERSITARIA.

ASESOR DEL TEMA:

Gema Luz Andraca Ayala

SUPERVISOR TÉCNICO:

Lida Andrea Solórzano García

SUSTENTANTE:

Montserrat Aguilar Pichardo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de licenciatura y que me permitió ser parte de su comunidad estudiantil para aprender y desarrollar mis habilidades tanto académicas como deportivas.

Al programa de Apoyo de Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME PEE 200317), por financiar este trabajo y otorgar una beca estudiantil.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera y a la Facultad de Química por accederme a trabajar en sus instalaciones.

A la Dra. Gema Luz Andraca Ayala por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, guiarme, aconsejarme y apoyarme en la realización de este trabajo.

A la M. C. Lida Andrea Solórzano García por ayudarme y acompañarme en la realización de la experimentación de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio Joel, Mitzi, Gaby, Karen, Ivan y Lila, así como a mis amigos de licenciatura y de mi equipo de baloncesto, quienes fueron parte de esta travesía, porque sin su compañía no hubiese tenido esos momentos de alegría y diversión.

A toda mi familia, quienes sin dudar me apoyaron en todo momento, y que este trabajo no solo es resultado de mi esfuerzo sino el de todos, porque siempre me brindaron el ánimo suficiente para seguir. De manera especial a mis padres Paulino, Anabelle y mi hermano Paul.

1 CONTENIDO

2	Índice de tablas.....	V
3	Índice de figuras	VII
4	Resumen	IX
5	Objetivos.....	X
5.1	General	X
5.2	Particulares	X
5.3	Académico	X
6	Justificación	XI
7	Antecedentes.....	1
8	Marco teórico	5
8.1	El amoniaco	5
8.1.1	Aplicaciones y usos	6
8.1.2	Comportamiento en la atmósfera.....	7
8.1.3	Normatividad.....	8
8.2	La espectrofotometría de UV-visible	12
8.2.1	Interacción de la radiación y la materia	14
8.2.2	Ley de Lambert-Beer	18
8.2.3	Instrumentación	22
8.2.4	Tratamiento de la muestra	26
8.3	Fundamento del método	27
8.4	Implementación del método	30
8.4.1	Intervalo de trabajo	31
8.4.2	Linealidad	31
8.4.3	Límite de detección.....	31
8.4.4	Límite de cuantificación	32
8.4.5	Repetibilidad	32
8.4.6	Reproducibilidad	32
8.4.7	Sesgo	32
9	Metodología	34

9.1	Procedimiento para la evaluación del método.....	34
9.1.1	Intervalo de trabajo y linealidad	35
9.1.2	Límite de detección y de cuantificación.	36
9.1.3	Sesgo	37
9.1.4	Repetibilidad.....	38
9.1.5	Reproducibilidad.....	39
10	Resultados y Discusión.....	40
10.1	Intervalo de trabajo y linealidad.....	40
10.2	Límite de detección y cuantificación.....	43
10.3	Sesgo	44
10.4	Repetibilidad	48
10.5	Reproducibilidad	50
11	Conclusiones	53
12	Referencias.....	54
13	Anexos.....	57
13.1	Material y equipo.....	57
13.2	Reactivos	58
13.3	Elaboración de disoluciones.....	59
13.4	Instrucciones del manejo del espectrofotómetro	61
13.5	Formulas y cálculos estadísticos.....	62
13.6	Datos complementarios.....	63
13.7	Hoja de seguridad	64

2 ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS PARA LA MEDICIÓN DE AMONIACO (Y. KIM, L. CHOI, & N. KIM, 2004).	2
TABLA 2. EMISIONES MÁXIMAS PERMISIBLES DE AMONIACO.	9
TABLA 3. LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EXPOSICIÓN PARA EL CASO DE AMONIACO..	10
TABLA 4. RESUMEN DE LOS NIVELES DE EXPOSICIÓN AGUDA (POR SUS SIGLAS EN INGLES AEGL) EVALUADOS PARA AMONIACO.	11
TABLA 5. LONGITUDES DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN DE LOS PRINCIPALES GRUPOS CROMÓFOROS.	18
TABLA 6. DESCRIPCIÓN DE LA PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES NH_4^+	36
TABLA 7. RESPUESTA DEL INSTRUMENTO PARA LA LINEALIDAD DEL MÉTODO.	41
TABLA 8. ESTADÍSTICOS PROMEDIOS DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO.	42
TABLA 9. RESULTADOS DEL BLANCO Y VALORES DE LOS LÍMITES DEL MÉTODO.	44
TABLA 10. RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN CALCULADA DE LAS DISOLUCIONES ESTÁNDAR.	45
TABLA 11. RESULTADOS DE LA PRUEBA T DE STUDENT.	46
TABLA 12. PRUEBAS DE RECOBRO.	47
TABLA 13. RESULTADO DE REPETIBILIDAD DEL MÉTODO PARA LA CONCENTRACIÓN DE 0.2 PPM.	48
TABLA 14. RESULTADOS DE REPETIBILIDAD DEL MÉTODO PARA LA CONCENTRACIÓN DE 0.08 PPM.	49
TABLA 15. RESULTADOS ANOVA PARA REPETIBILIDAD.	49
TABLA 16. RESULTADOS DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN PARA UNA CONCENTRACIÓN DE 0.2 PPM.	50
TABLA 17. RESULTADOS DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN PARA UNA CONCENTRACIÓN DE 0.8 PPM.	51
TABLA 18. ESTADÍSTICOS DE LA REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO.	51
TABLA 19. RESULTADOS ANOVA PARA REPRODUCIBILIDAD.	52
TABLA 20. RESULTADOS DE LAS REPETICIONES DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN EN EL ESPECTROFOTÓMETRO FQ.	63

TABLA 21. RESULTADOS DE LAS REPETICIONES DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN EN EL
ESPECTROFOTÓMETRO CCA. 63

3 ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. GEOMETRÍA MOLECULAR DEL AMÓNICO (QUIMITUBE, 2012).	5
FIGURA 2. REACCIONES DE NEUTRALIZACIÓN EN LA ATMÓSFERA (B. McCULLOCH, ET AL., 1998).....	8
FIGURA 3. RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA DE UNA SOLA FRECUENCIA (SKOOG, HOLLER, & CROUCH, 2008).....	12
FIGURA 4. REGIONES EN EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO (SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS, 2008).....	13
FIGURA 5. TRANSICIONES ELECTRÓNICAS Y ESPECTROS UV-VISIBLE EN MOLÉCULAS (OWEN, 2000).	16
FIGURA 6. CINCO TIPOS DE TRANSICIONES ELECTRÓNICAS. ESTOS OCURREN DE LOS ORBITALES DE ENLACE Y NO ENLACE A LOS DE ANTIENLACE (FERNÁNDEZ, S.F.).....	17
FIGURA 7. ATENUACIÓN DE UN HAZ DE RADIACIÓN MEDIANTE UNA SOLUCIÓN ABSORBENTE (SKOOG, HOLLER, & CROUCH, 2008).	19
FIGURA 8. DESVIACIONES DE LA LEY DE LAMBERT-BEER CON RADIACIÓN POLICROMÁTICA (SKOOG, HOLLER, & CROUCH, 2008).	21
FIGURA 9. DESVIACIONES A LA RELACIÓN LINEAL DE LA LEY DE LAMBERT-BEER AL NO ELEGIR LA LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORBANCIA (SKOOG, HOLLER, & CROUCH, 2008).	22
FIGURA 10. DIAGRAMA DE UN ESPECTROFOTÓMETRO.	23
FIGURA 11. PORCENTAJE DE NH_4^+ Y NH_3 EN FUNCIÓN DEL PH (ILLINOIS STATE WATER SURVEY, 2004).....	28
FIGURA 12. REACCIÓN DE BERTHELOT. SECUENCIA DE REACCIONES PARA LA FORMACIÓN DE INDOFENOL EN UN MEDIO ALCALINO.	29
FIGURA 13. MOLÉCULA DE INDOFENOL EN EQUILIBRIO ACIDO-BASE.	29
FIGURA 14. EQUILIBRIO EN DISOLUCIÓN ACUOSA DEL NITROPRUSIATO DE SODIO.	30
FIGURA 15. EJEMPLO DE DISOLUCIONES ESTÁNDAR DE AMONIO UNA VEZ DESARROLLADO EL COLOR.....	35
FIGURA 16. GRÁFICA DE LAS TRES REPETICIONES DE LA CURVAS DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO AZUL DE INDOFENOL PARA LA DETERMINACIÓN DE AMONIACO.	40

FIGURA 17. CURVA DE CALIBRACIÓN PROMEDIO DE LA REGRESIÓN LINEAL DEL MÉTODO AZUL DE INDOFENOL A 7 NIVELES DE CONCENTRACIÓN.	42
FIGURA 18. GRÁFICO DE RESIDUALES PARA LA LINEALIDAD DEL MÉTODO.	43
FIGURA 19. GRÁFICO DE COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS POR MATERIAL DE REFERENCIA Y LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO.	46
FIGURA 20. ESPECTROFOTÓMETRO GENESYS 10S VIS	61

4 RESUMEN

En este trabajo se evaluó un método analítico que permita cualificar y cuantificar amoníaco del aire utilizando burbujeadores que contienen una disolución absorbadora de ácido que atrapa el amoníaco como amonio, con el propósito de que sea utilizado posteriormente con fines educativos.

El método analítico utilizado es conocido como azul de indofenol el cual hace uso de la reacción de Berthelot que en presencia de amoníaco desarrolla una coloración azul a causa de la formación del indofenol que permite ser analizada por la técnica de espectrofotometría de UV-visible.

Una vez establecido el método analítico se realizó su verificación efectuando pruebas experimentales para evaluar la linealidad, límite de detección y cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad y sesgo, los cuales son mejor conocidos como parámetros de desempeño del método.

Los resultados obtenidos concluyen que el método es exacto y tiene precisión intermedia, por lo que puede ser utilizado con fines académicos permitiendo cuantificar concentraciones de amoníaco en disolución mayores a 0.15 ppm y detectarlo a partir de 0.07 ppm.

5 OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Implementar el método azul de indofenol en el espectrofotómetro del laboratorio de Protección Ambiental de la Facultad de Química de la UNAM, para la determinación de amoniaco en aire ambiente.

5.2 PARTICULARES

- Realizar la verificar del método analítico azul de indofenol.
- Determinar y realizar la experimentación de los parámetros de desempeño que debe incluir la verificación de un método.
- Obtener resultados que indiquen que se puede utilizar el método en un análisis de rutina a nivel educativo.

5.3 ACADÉMICO

Demostrar que el método analítico azul de indofenol puede ser usado por alumnos de la carrera de ingeniería química para realizar un análisis químico que les permita identificar y cuantificar amoniaco capturado del aire por el método de burbujeadores.

Alcance

En este trabajo entiéndase por “verificación” la confirmación y suministro de evidencia de que el método analítico cumple con el uso previsto, que es identificar y cuantificar el amoniaco.

6 JUSTIFICACIÓN

Para complementar las actividades de docencia en el laboratorio, se realizó la implementación del método azul de indofenol, así como la verificación de que es útil para la determinación de amoniacó capturado del aire ambiente, con la finalidad de que sea utilizado por alumnos del curso experimental de la asignatura de Protección Ambiental I que se imparte dentro del currículo de la carrera de Ingeniería Química en la Facultad de Química de la UNAM. El método analítico propuesto permitirá que los alumnos conozcan y realicen un análisis químico por espectrofotometría de UV-visible, por lo que se debe demostrar que el método permita cuantificar amoniacó.

7 ANTECEDENTES

El aire de la atmósfera es una mezcla de gases muy estable, que hasta una altura de 80 Km a partir de la superficie terrestre la proporción en las que se encuentra cada gas atmosférico permanece prácticamente constante.

En el aire podemos encontrar a los principales contaminantes atmosféricos, que son sustancias las cuales ejercen un efecto perjudicial sobre animales, plantas o materiales, los cuales se producen de forma natura además de ser generados por el hombre (Ayora Cañada, 2006). Los contaminantes atmosféricos se clasifican como partículas en suspensión (polvo y niebla) y contaminantes gaseosos (gases y vapores). Estos pueden ser liberados a la atmósfera en puntos muy concretos (fuentes de emisión) y pueden dispersarse, el cual es un conjunto de procesos que tiene lugar en la atmósfera y cuyo resultado es la disminución de la concentración de los contaminantes respecto a la que existe en el momento de la emisión, ya que los contaminantes se ven influenciados por las variaciones en el clima, en el espacio de las emisiones y la dinámica de dispersión en la atmósfera, que origina importantes variaciones diarias y anuales. Dado lo anterior es importante vigilar la calidad atmosférica, que implica la medición sistemática de los contaminantes atmosféricos para evaluar la exposición de receptores vulnerables, por ejemplo personas, animales, plantas, obras de arte y/o evaluar las fuentes de contaminación atmosférica.

Existen numerosos procedimientos de muestreo y técnicas de análisis de contaminantes gaseoso o de partículas suspendidas en el aire. Es usual que se usen diferentes técnicas y métodos analíticos para determinar el mismo compuesto. Elegir cual nos conviene más dependerá de diferentes criterios como el instrumento a utilizar, el tipo de muestra que se va a analizar, los recursos económicos, la exactitud y precisión que deseamos y el compuesto que se desea identificar y/o cuantificar.

Ya que para este trabajo es de interés cuantificar el amoniaco en el aire, la Tabla 1 enlista diferentes métodos analíticos existentes que son útiles para cumplir este objetivo, cada uno con ventajas y desventajas.

Tabla 1. Características de las diferentes técnicas para la medición de amoníaco (Y. Kim, L. Choi, & N. Kim, 2004).

Técnicas	Ventaja	Desventaja
Espectroscopía UV-visible	- Alta exactitud y precisión	- Costo medio - Limitado si el periodo de muestreo no es adecuado
Cromatografía iónica	- Alta exactitud y precisión	- Costo Alto - Limitado si el periodo de muestreo no es adecuado
Detector de tubos	- Conveniente, económico y rápido	- Límite en el rango de trabajo (no menor a 1 ppm) - Poca precisión
Química seca absorción en ácido	- Simple, económica, seguro y sustentable para bajas concentraciones de amoníaco en el aire - Alta exactitud y precisión	- Básicamente no continuo
Fluorescencia	- Simple y económico - Corto tiempo de muestreo	- Poca exactitud
Cromatografía de gases	- Muy preciso - Puede detectar bajas concentraciones	- Costoso - La técnica requiere habilidad
Infrarrojo no dispersivo	- Relativamente exacto	- No es completamente selectivo para amoníaco - Requiere de corrección de temperatura y presión
Tubos denuder	- Alta exactitud y precisión	- Procedimiento complejo
Celdas electroquímicas	- Simple y rápido	- Poca precisión y exactitud
Quimioluminiscencia	- Alta exactitud	- Requiere cuidado, calibración frecuente

A continuación se describe de forma general algunas técnicas y métodos analíticos utilizados para la determinación de amoniaco en aire.

Cromatografía iónica

El principio de este método es detectar y cuantificar iones amonio (NH_4^+), en el cual el amoniaco es capturado en una disolución de ácido sulfúrico 0.1 N obteniendo así el amonio.

La cromatografía de intercambio iónico (CI) se basa en la separación y determinación de iones con el uso de columnas de intercambio iónico. Cada analito es eluido de la columna con diferentes tiempos de retención permitiendo su identificación cualitativa y el área de los picos obtenidos corresponde a la concentración en disolución. Usualmente se usa un detector de conductividad, aprovechando la capacidad de los iones en disolución de transmitir una corriente eléctrica. Los principales interferentes en CI, son otros iones que eluyen dentro del tiempo de los iones de interés, y la determinación de iones traza en presencia de altos niveles de concentración de otras especies iónicas sigue siendo el más difícil de los análisis (E. Jackson, 2000).

Espectrofotometría UV-Visible

El principio básico de la espectroscopia UV-Visible para la medición de amoniaco, es la captura del gas en una solución acida de ácido sulfúrico o hipoclorito de sodio obteniendo el amoniaco en su forma iónica como amonio, al cual se le adiciona el reactivo de Nessler's que es una disolución alcalina de iodomercuriato de potasio (K_2HgI_4).

El método consiste en que el amonio disuelto reacciona con el reactivo de Nessler's elevando el pH del medio, por el cual se obtiene amoniaco, lo que produce una coloración gradual de amarillo a pardo con una ancha banda de absorción entre 400 y 425 nm. Cantidades del orden del mg de NH_3 , absorben fuertemente a 550 nm y la ley de Lambert-Beer se cumple hasta 1.25 ppm, midiendo la absorbancia a 580 nm en celdas de 1.0 cm de paso óptico, pero estas disoluciones no son muy estables y precipitan al cabo de 15 ó 20 min (Pino Perez & Perez Bendito, 1983).

Otro método conocido es la reacción de Berthelot (indofenol), que es el más útil para las mediciones de amoniaco atmosférico. Se encontró que es el método estándar de la American Public Health Association (APHA) que proporcione los resultados más confiables (Key, et al., 2011). El método implica la reacción de amoniaco, hipoclorito y fenol, catalizados por nitroprusiato de sodio para formar moléculas de indofenol que tiene una coloración azul intensa.

Detector de tubos

El método de detector de tubos para el análisis de amoniaco está compuesta por un vial de vidrio a escala que contiene un químico absorbente sobre gránulos de soporte inertes. El mecanismo básico del método es que el químico absorbente reaccione con el amoniaco en el aire extraído por la bomba de mano, el producto químico es el cambio de color, y el grado de cambio de color indica la concentración de amoníaco (Y. Kim, L. Choi, & N. Kim, 2004).

El detector de tubos es muy simple, fácil de usar y más económico que la espectrofotometría de UV-Visible y cromatografía iónica.

Quimioluminiscencia

Es un método rápido, barato y preciso para la determinación de amoniaco en el aire. El amoníaco y el vapor de agua quedan atrapados simultáneamente en un tubo de muestreo de gas enfriado por nitrógeno líquido. Posteriormente, el amoníaco reacciona con o-ftaldialdehído (OPA) y se determina mediante detección de fluorescencia. El método de OPA está basado en la reacción de NH_3 -OPA- Na_2SO_3 . El límite de detección de amoníaco en una muestra gaseosa es de aproximadamente 1 nmol por litro de gas. Se sugiere que este método se pueda usar para la determinación de amoníaco volátil y otros compuestos en el aire durante el monitoreo ambiental y biológico en la investigación (G. Westra, et al., 2001).

8.1 EL AMONIACO

Es un compuesto químico que en su conformación contiene un átomo de nitrógeno y tres de hidrogeno unidos por enlaces covalentes que presentan un hibridación tipo sp^3 , por lo que la unión es de tipo sigma indicando que es una sustancia estable. La molécula no es plana, sino que presenta una forma tetraédrica (ver Figura 1) con un vértice vacante en el cual se distribuye el par de electrones no enlazantes.

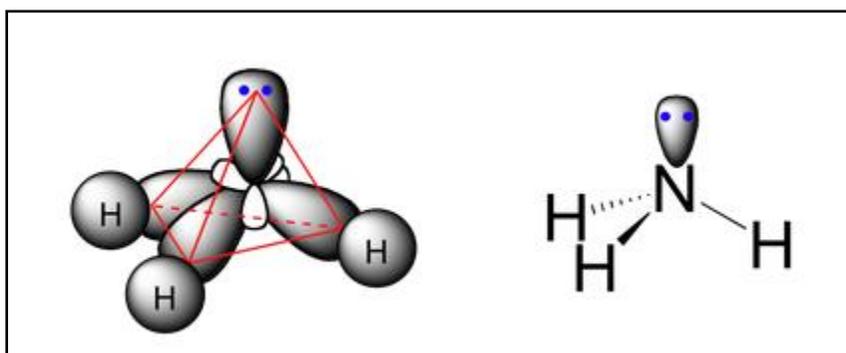


Figura 1. Geometría molecular del amónico (QuimiTube, 2012).

Es un gas incoloro con olor característico, más ligero que el aire y muy soluble en agua. A pesar de ser clasificado como un gas no inflamable, el amoníaco, puede arder en fase vapor y el riesgo de fuego aumenta en presencia de materiales combustibles.

Desde el punto de vista químico, el amoníaco se comporta como una base fuerte, combinándose con todos los ácidos. Se disuelve fácilmente en agua donde genera el ion amonio (NH_4^+) y forma disoluciones alcalinas a causa del hidróxido de amonio (NH_4OH). El ion amonio no es gaseoso y no se capta por el olor en el ambiente. La forma iónica y neutra del amoníaco permanece en equilibrio en la disolución y por tanto dichas disoluciones, aún a bajas concentraciones, generan vapores de olor irritante (ver hoja de seguridad en el anexo 13.7).

Sus fuentes de emisión pueden ser antropogénicas o naturales. Las fuentes agrícolas como los desechos de animales (abono) y fertilizantes, son considerados como la principal contribución (el 90% o más). Las fuentes antropogénicas de amoníaco incluyen industrias, humanos, mascotas, tiradero de residuos, productos de casa y combustión de automóviles, mientras que las fuentes naturales son proporcionadas por animales salvajes, quema de biomasa en ecosistemas naturales, bosques y plantas.

En la toxicología del amoníaco resulta ser un gas irritante con propiedades similares a la de cualquier compuesto básico, clasificado como una sustancia que causa daños severos a la salud. Dado su alta solubilidad en agua favorece la agresividad para los tejidos y las mucosas.

A niveles de concentración superiores a 20 ppm, se tiene la primera percepción del olor y se informa que el amoníaco es peligroso, causando dolores de cabeza, náuseas y quemaduras severas (Laboratorio de Química del Medio e Industria, 1994).

8.1.1 Aplicaciones y usos

El amoníaco es una de las sustancias de mayor interés en la industria química por su gran variedad de aplicaciones. Resulta ser el segundo producto sintético producido a nivel mundial, lo cual se realiza por la reacción entre los gases nitrógeno e hidrógeno en condiciones de presión, temperatura y catalizador, denominado este proceso como Haber-Bosch, el cual permite obtener un mayor rendimiento en la producción de amoníaco. En la actualidad el 80% del amoníaco producido en el mundo se utiliza para la fabricación de fertilizantes.

Los usos del amoníaco pueden ser como:

- Fertilizante solo o en forma de compuestos como sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nitrato de amonio NH_4NO_3 y urea $(\text{NH}_2)_2\text{C}=\text{O}$.
- Fabricación de fibras sintéticas y plásticos (nylon, resinas-formaldehído, uretano y melanina). También se usa en la producción de fibras acrílicas, particularmente en la polimerización de acrilonitrilo, en el cual el amoníaco

actúa como un disolvente y cede uno de sus protones para que se lleve a cabo la reacción.

- Producción de ácido nítrico que se puede hacer por oxidación de amoníaco con aire a óxido nítrico que también se oxida y produce dióxido de nitrógeno el cual se absorbe en agua produciendo ácido nítrico, y que es utilizado en los abonos, colorantes, explosivos, fabricación de ácido sulfúrico, medicamentos y grabado de metales.
- Explosivos. El amoníaco es usado en la fabricación de nitrato de amonio el cual se usa para preparar explosivos ANFO (Ammonium Nitrate), que es la combinación de nitrato de amonio con hidrocarburos que resulta tener una alta potencia.
- Minería como disolución amortiguadora para aumentar el porcentaje de extracción de metales principalmente en la extracción de zinc y cobre.
- Producción de hidracina, aminas, amidas y otros compuestos orgánicos nitrogenados que sirven como intermediarios en la industria farmacéutica (Petróleos Mexicanos [PEMEX], 2016).
- Productos de limpieza, se usa como agente limpiador y desengrasante, aprovechando su propiedad básica que ayudan a eliminar grasas. Tiene el mismo efecto que el hipoclorito de sodio o fenol.

8.1.2 Comportamiento en la atmósfera

El amoníaco es el gas alcalino más predominante en la atmósfera, como consecuencia juega un importante rol en la neutralización de ácidos antropogénicos. La emisión a la atmósfera de NH_3 puede experimentar una conversión en amonio aerosol (NH_4^+). La velocidad de esta reacción, la cual aún es desconocida, tiene una importante relación con la región de emisión de amoníaco. La conversión NH_3 a NH_4^+ aerosol depende de la concentración de ácidos en la atmósfera. Las siguientes reacciones de la Figura 2 en fase gas (g), líquido (l) o sólido (s) resume la producción de amonio (B. McCulloch, et al., 1998). El amoníaco una vez reaccionado con las sustancias ácidas para producir aerosoles amoniacales, puede sufrir deposición por vía seca o vía húmeda.

Además el amoníaco se puede “lavar” del aire rápidamente con ayuda de las lluvias, por su alta compatibilidad en este disolvente.

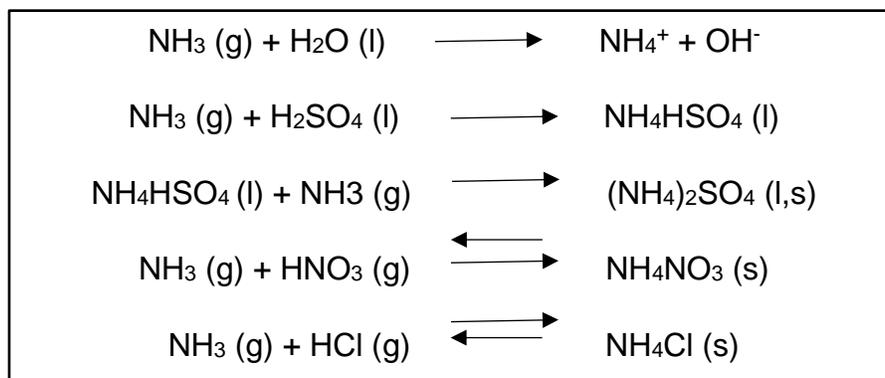


Figura 2. Reacciones de neutralización en la atmósfera (B. McCulloch, et al., 1998).

A causa de las reacciones anteriores, el amoníaco libre tiene una corta duración (menor a 5 días) en la atmósfera, sin embargo una transformación a amonio aerosol, tiene una duración alrededor de 10 días (Nhu-Thuc, et al., 2013).

Normalmente el amoníaco está presente en el aire en concentraciones que dependen del área de análisis, en zonas urbanas la concentración de amoníaco puede estar entre 9 a 48 ppb_v; en áreas rurales la concentración puede ir entre 3 a 12 ppb_v (Solórzano García, 2014).

8.1.3 Normatividad

En México existe la propuesta de la Norma Oficial Mexicana NOM-ECOL-1994 que limita las emisiones máximas permisibles de emisión a la atmósfera de amoníaco proveniente de la fabricación del mismo, la cual no está publicada en el diario oficial de la federación y no es obligatorio su cumplimiento.

Esta propuesta indica que la emisión máxima permisible de amoníaco por chimenea de gases residuales del proceso expresado como (NH₃) por tonelada de producto base 99.9% de pureza, se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Emisiones máximas permisibles de amoniaco.		
	Máximo por día	Promedio 30 días de evaluación
Plantas existentes	0.1875 Kg/ton producto	0.0625 Kg/ton producto
Plantas nuevas	0.1100 Kg/ton producto	0.0550 Kg/ton producto

El límite máximo permisible de emisión de amoniaco fuera del límite del predio de la empresa no debe ser superior a 350 µg/m³ promedio 8 horas, a nivel de piso.

Actualmente sólo existen la Norma Oficial Mexicana NOM-010STPS-1999 la cual establece las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en medio ambiente laboral. La norma define:

- LMPE-PPT: Límite máximo permisible de exposición promedio ponderado en tiempo, es la concentración promedio ponderada en tiempo de un contaminante del medio ambiente laboral para una jornada de ocho horas diarias y una semana laboral de cuarenta horas, a la cual se puede exponer la mayoría de los trabajadores.
- LMPE-CT: Límite máximo permisible de exposición de corto tiempo, es la concentración máxima del contaminante del medio ambiente laboral a la cual los trabajadores pueden estar expuestos de manera continua durante un periodo máximo de quince minutos, con intervalos de al menos una hora de no exposición entre cada periodo de exposición y un máximo de cuatro exposiciones en una jornada de trabajo y que no sobrepase el LMPE-PP.
- CAS: son las iniciales del nombre en inglés del servicio de información de compuestos químicos de los Estados Unidos de América (Chemical Abstract Service).

En la Tabla 3 se enlistan los valores establecidos en la NOM-010-STPS-1999 para los límites máximos permisibles antes citados, para condiciones normales de temperatura y presión.

Tabla 3. Límites máximos permisibles de exposición para el caso de amoniaco.

No.	Sustancia	No. CAS	LMPE-PPT		LMPE-CT	
			ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³
66	Amoniaco	7664-41-7	25	18	35	27

No existe una norma internacional que regule la concentración o la emisión de amoniaco en el aire ambiente, pero algunos países han establecido los límites máximos de exposición en el aire especificando que sea únicamente en ambiente laboral, y las concentraciones van de 18 a 35 mg/m³. La URSS es el único país que indica los límites máximos de exposición en el aire ambiente que es de 0.04 mg/m³ de concentración promedio diario y 0.12 mg/m³ concentración pico por día (Organización Mundial de la Salud [OMS], 1996).

Existe un reporte titulado Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals, en el cual se identifica, revisa e interpreta datos toxicológicos y otros datos científicos relevantes para desarrollar niveles de referencia de exposición aguda (Acute Exposure Guideline Levels, abreviado AEGL), para productos químicos altamente tóxicos y de alta prioridad. Los AEGL representan los límites de exposición del umbral para el público en general y son aplicables a periodos de exposición de emergencia que varían de 10 minutos a 8 horas. Se desarrollan tres niveles, cada uno con cinco periodos de exposición (10 min, 30 min, 1h, 4h y 8h) y se distinguen por diversos grados de gravedad de los efectos tóxicos. Los tres AEGL son definidos de la siguiente manera (Committee on Acute Exposure Guideline Levels, Committe on Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology, 2008):

- AEGL-1: Concentración en el aire expresada como ppm o mg/m³, de una sustancia por encima de la cual se predice que la población en general, incluidos los individuos susceptibles, podrían experimentar incomodidad,

irritación o ciertos síntomas sin sentido. Los efectos no son incapacitantes, son transitorios y reversibles al cesar la exposición.

- AEGL-2: Concentración en el aire expresada como ppm o mg/m³, de una sustancia por encima de la cual se predice que la población en general, incluidos los individuos susceptibles, podrían experimentar efectos adversos irreversibles u otros efectos de salud graves y duraderos.
- AEGL-3: Concentración en el aire expresada como ppm o mg/m³, de una sustancia por encima de la cual se predice que la población en general, incluidos los individuos susceptibles, podrían experimentar efectos en la vida que pongan en peligro la salud o provocar la muerte.

En la Tabla 4, se muestra un resumen de los límites de exposición evaluados para amoníaco de acuerdo a Committee on Acute Exposure Guideline Levels, Committee on Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology (2008).

Tabla 4. Resumen de los niveles de exposición aguda (por sus siglas en inglés AEGL) evaluados para amoníaco.

Clasificación	10 min	30 min	1 h	4 h	8 h	Referencia
AEGL-1	30 ppm 21 mg/m ³	30 ppm 21 mg/m ³	30 ppm 21 mg/m ³	30 ppm 21 mg/m ³	30 ppm 21 mg/m ³	Ligera irritación
AEGL-2 (incapacitar)	220 ppm 154 mg/m ³	220 ppm 154 mg/m ³	160 ppm 112 mg/m ³	110 ppm 77mg/m ³	110 ppm 77 mg/m ³	Irritación: ojos y garganta. Ganas de toser
AEGL-3 (letal)	2,700 ppm 1,888 mg/m ³	1,600 ppm 1,119 mg/m ³	1,100 ppm 769 mg/m ³	550 ppm 385 mg/m ³	390 ppm 273 mg/m ³	Letal

8.2 LA ESPECTROFOTOMETRÍA DE UV-VISIBLE

Los métodos espectrométricos son un grupo de métodos analíticos que se basan en la espectroscopía atómica y molecular. El término espectroscopia es un término general para la ciencia que trata con las interacciones de las formas de energía y la materia para obtener información sobre esta última. Los métodos que más se usan se basan en la radiación electromagnética, que es un tipo de energía que adopta varias formas. Así, la espectrofotometría es el conjunto de procedimientos que utilizan la luz (una región de la radiación electromagnética) para medir concentraciones químicas (Harris, 2007).

La radiación electromagnética se describe por medio de un modelo ondulatorio que incorpora características como longitud de onda (λ), frecuencia (ν), velocidad y amplitud (A). Este fenómeno ondulatorio no requiere medio de soporte para su transmisión, por tanto pasa con facilidad por el vacío.

La Figura 3 muestra la radiación electromagnética polarizada, que se propaga a lo largo del eje x de una sola frecuencia. En a) el campo electromagnético oscila en un plano perpendicular al campo magnético, y b) se muestra la oscilación del campo eléctrico.

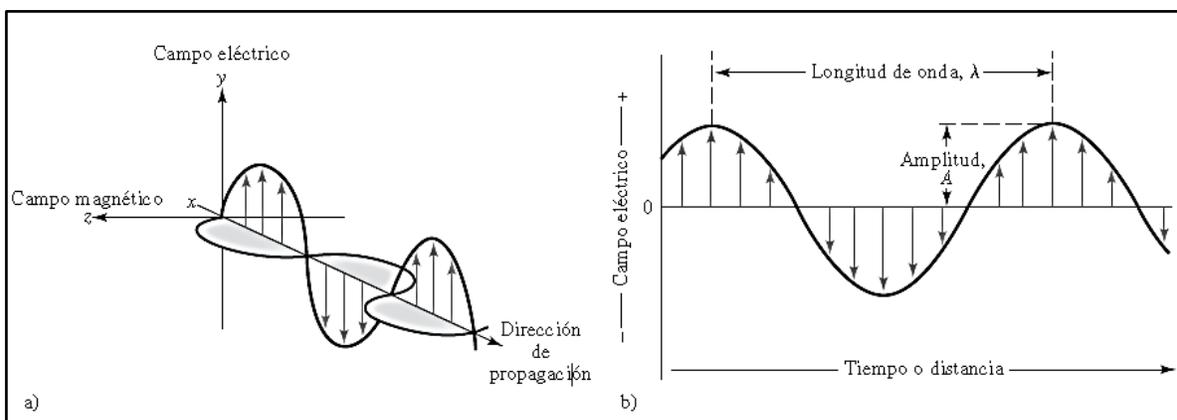


Figura 3. Radiación electromagnética de una sola frecuencia (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

Desde el punto de vista de energía, es más conveniente concebir la radiación electromagnética como partículas, llamadas fotones. Cada fotón transporta la energía, E, dada por la Ecuación 1.

$$E = hv = \frac{hc}{\lambda} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

h = es la constante de Planck (igual a 6.62618×10^{-34} J s).

ν = frecuencia (s^{-1}) que corresponde al número de oscilaciones completas de una onda en un segundo.

c = velocidad de la luz ($2,998 \times 10^8$ m/s en el vacío).

λ = longitud de onda.

En la Figura 4 se muestra el espectro electromagnético el cual abarca una enorme gama de longitudes de onda y frecuencia (y, por tanto, de energías). También se muestra las regiones espectrales principales, las cuales se basan en los métodos usados para generar y detectar las distintas clases de radiación.

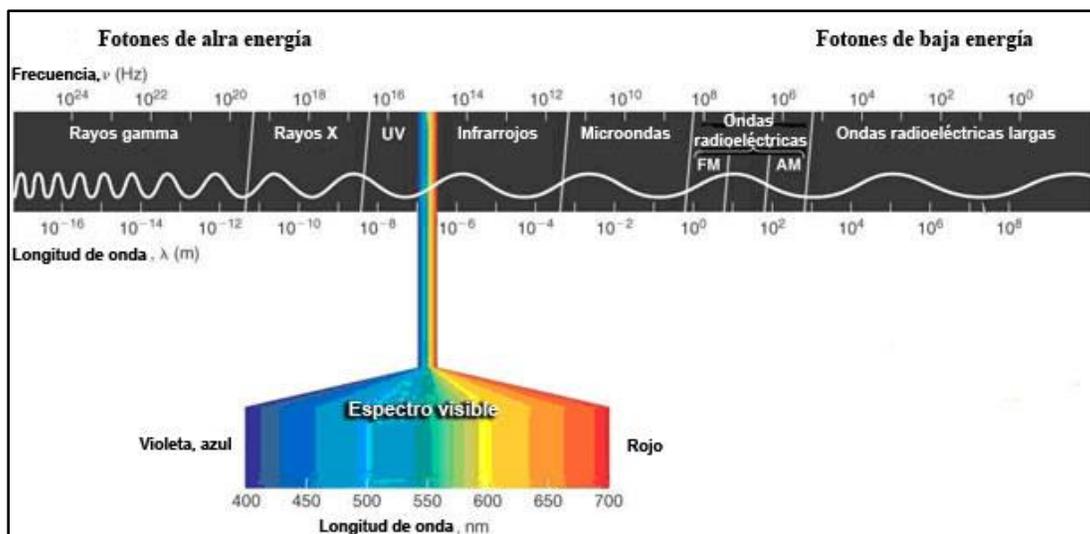


Figura 4. Regiones en el espectro electromagnético (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, 2008).

La espectroscopía de absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético (longitud de onda de 190 a 800 nm), se usa ampliamente en la determinación cuantitativa de una gran cantidad de especies inorgánicas, orgánicas y biológicas. Dicha región del espectro electromagnético es el estudio de interés para fines de este trabajo.

8.2.1 Interacción de la radiación y la materia

Todos los átomos o moléculas poseen un número discreto de niveles de energía. A temperatura ambiente la mayoría de las especies se encuentran en su nivel energético más bajo denominado estado fundamental o basa. De acuerdo a la Ecuación 2, la absorción de radiación ultravioleta o visible por una especie atómica o molecular M consiste en una excitación electrónica, en la que un electrón de la especie M es promovido a un estado de energía más elevado, del cual el producto de la absorción del fotón $h\nu$ por M es una especie excitada electrónicamente M^* .



El proceso de relajación ocasiona que M^* salga del estado de excitación y regrese a su estado fundamental. La relajación puede ocurrir por la conversión de la energía de excitación en calor, por un proceso fotoquímico que es la descomposición de M^* para dar lugar a nuevas especies, la fluorescencia o fosforescencia.

Es importante mencionar que el tiempo de vida de la especie excitada es breve (10^{-8} a 10^{-9} s), por lo que su concentración en cualquier momento es insignificante. La cantidad de energía térmica desarrollada en la relajación es también muy pequeña, por lo que en las mediciones de absorción perturban al mínimo el sistema en estudio, a excepción de la descomposición fotoquímica. Con lo anterior, es posible adquirir información relacionada con el analito al medir la radiación electromagnética emitida cuando regrese a su estado basal o al medir la cantidad de radiación electromagnética absorbida como resultado de la excitación

(Skoog, Holler, & Crouch, 2008). En general, cuando se obtienen espectros de UV-visible, sólo se desea que ocurra la absorción.

8.2.1.1 Absorción de la radiación

La luz es una forma de energía, la absorción de la luz por la materia causa que aumente el contenido de energía de las moléculas o átomo. La energía potencial total de una molécula, generalmente se representa como la suma de energías electrónicas, vibracionales y rotacionales (ver Ecuación 3), siendo la energía electrónica la de mayor valor (ver Ecuación 4).

$$E_{total} = E_{electronica} + E_{vibracional} + E_{rotacional} \quad \text{Ecuación 3}$$

La cantidad de energía que una molécula posee en cada forma no es un continuo, sino una serie de niveles o estado discretos.

$$E_{electronica} > E_{vibracional} > E_{rotacional} \quad \text{Ecuación 4}$$

En algunas moléculas y átomos, los fotones de luz UV y visible tienen suficiente energía para causar transiciones entre los diferentes niveles. La longitud de onda de luz absorbida es aquella que tiene la energía requerida para mover un electrón desde un nivel de energía inferior a uno superior. Sin embargo en las moléculas, los niveles de energía vibracional y rotacional están superpuestos sobre los niveles de energía electrónica, por tanto pueden ocurrir muchas transiciones con diferentes energías.

La Figura 5 muestra el diagrama de los niveles de energía, S_1 y S_2 representan los distintos niveles electrónicos de una molécula de nivel energético fundamental S_0 . También se observa los estados vibraciones para cada nivel energético, donde las diferencias entre los estados vibracionales son menores que entre niveles de energía. Además, cada estado vibracional está a su vez asociada a varios niveles rotacionales.

Como estas diferencias de energía son únicas para cada especie, el estudio de las frecuencias de radiación absorbida proporciona un medio para caracterizar los

constituyentes de una muestra. Con este objeto, se determina en forma experimental una gráfica de absorbancia en función de la longitud de onda y se pueden correlacionar los tipos de enlaces de la especie en estudio. Por tanto, la espectroscopía de absorción molecular es valiosa para identificar grupos funcionales en una molécula (Skoog, Holler, & Crouch, 2008). Pero más importante es la aplicación en la determinación cuantitativa de compuesto que contienen grupos absorbentes.

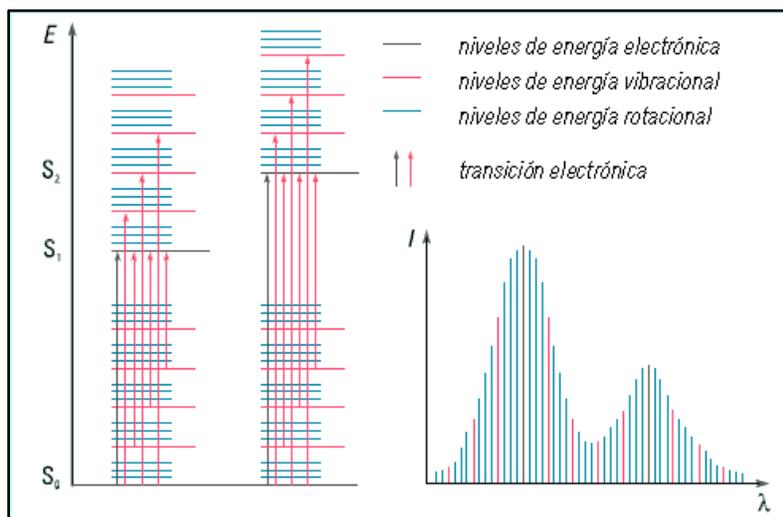


Figura 5. Transiciones electrónicas y espectros UV-visible en moléculas (Owen, 2000).

La absorción de radiación ultravioleta y visible corresponde a la excitación de los electrones externos de átomos y moléculas, para lo cual hay tres tipos de transiciones electrónicas que involucran:

1. Electrones π , σ y n
2. Electrones d y f
3. Electrones de transferencia de carga

Para efectos de este trabajo, el interés solo se enfoca en el primero caso, ya que los otros dos corresponden a metales e iones de la serie de transición y compuestos de coordinación.

Las moléculas orgánicas distribuyen sus electrones en diferentes niveles electrónicos llamados orbitales moleculares, los orbitales de menor energía son

los σ y le siguen los orbitales π . Estos niveles electrónicos se disponen en la región de enlace del diagrama. Si en la molécula existen átomos con pares electrónicos libres (oxígeno, azufre, nitrógeno, halógeno) tendremos la región de no enlace simbolizado con la letra n . En la región de antienlace se encuentran los orbitales moleculares π^* y σ^* .

Una molécula en su estado fundamental tiene ocupado los orbitales de enlace y no enlace, y desocupados los orbitales de antienlace, por tanto las transiciones electrónicas posibles se muestran en la Figura 6. La energía de excitación asociada de n electrones no enlazantes hacia σ^* es lo suficientemente alta para que su absorción quede restringida a la región conocida como ultravioleta vacío ($\lambda < 180$ nm).

Un electrón en el orbital σ es excitado al orbital de antienlace σ^* y π^* requieren una alta energía, siendo que su absorción máxima no se observa en el espectro típico UV-visible (200-700 nm).

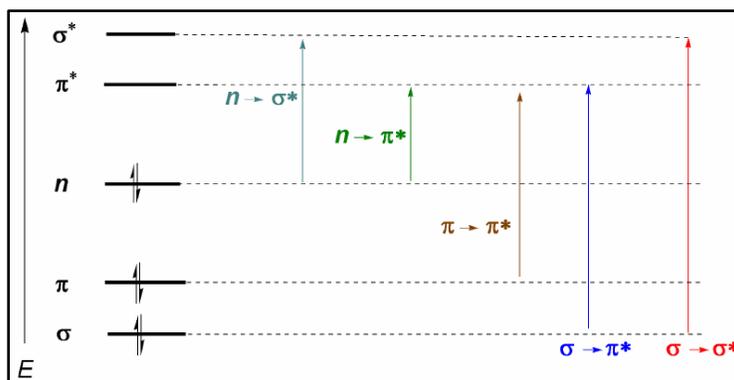


Figura 6. Cinco tipos de transiciones electrónicas. Estos ocurren de los orbitales de enlace y no enlace a los de antienlace (Fernández, s.f.).

La mayoría de las aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos se basan en transiciones de los electrones n y π al estado excitado π^* porque la energía requerida para estos procesos lleva las bandas de absorción hacia dentro de la región ultravioleta-visible (200-700 nm). Las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ requiere la presencia de un grupo funcional no saturado que aporte los

orbitales π . Moléculas que contiene dichos grupos funcionales y son capaces de absorber la radiación UV-visible se les denomina cromóforos (ver Tabla 5).

Tabla 5. Longitudes de onda de máxima absorción de los principales grupos cromóforos.

Cromóforo	Transición	λ_{\max} (nm)
R-OH	$n \rightarrow \sigma^*$	180
R-O-R	$n \rightarrow \sigma^*$	180
R-NH ₂	$n \rightarrow \sigma^*$	190
R-SH	$n \rightarrow \sigma^*$	210
R ₂ C=CR ₂	$\pi \rightarrow \pi^*$	175
R-C \equiv C-R	$\pi \rightarrow \pi^*$	170
R-C \equiv N	$n \rightarrow \pi^*$	160
R-N=N-R	$n \rightarrow \pi^*$	340
R-NO ₂	$n \rightarrow \pi^*$	271
R-CHO	$\pi \rightarrow \pi^*$	190
	$n \rightarrow \pi^*$	290
R ₂ CO	$\pi \rightarrow \pi^*$	180
	$n \rightarrow \pi^*$	280
RCOOH	$n \rightarrow \pi^*$	205
RCOOR'	$n \rightarrow \pi^*$	205
RCONH ₂	$n \rightarrow \pi^*$	210

8.2.2 Ley de Lambert-Beer

Cuando una muestra absorbe luz, la potencia radiante del haz disminuye. La potencia radiante, P , es la energía del haz de luz por unidad de tiempo y de área. La luz se hace pasar a través de un monocromador para seleccionar una longitud de onda, mejor conocida como luz monocromática. Dicha luz, con una potencia radiante P_0 incide en una muestra de longitud b , la potencia radiante del haz que emerge por el lado opuesto de la muestra es P , porque la muestra puede haber absorbido algo de luz, $P < P_0$ (Harris, 2007) tal como se muestra en la Figura 7.

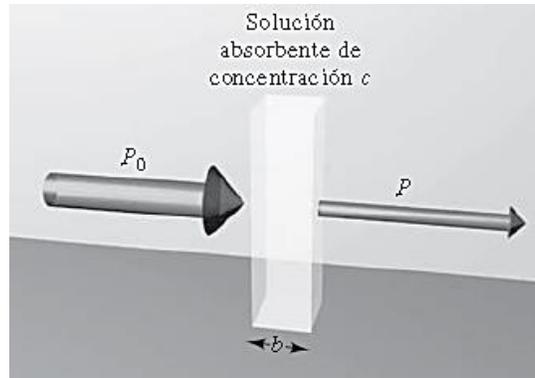


Figura 7. Atenuación de un haz de radiación mediante una solución absorbente (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

La relación directa entre P y P_0 se denomina transmitancia T (ver Ecuación 5), que es la fracción de la luz incidente que pasa a través de la muestra.

$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{Ecuación 5}$$

Por tanto, T puede valer de 0 a 1 y la absorbancia se define como:

$$A = -\log_{10} \left(\frac{P}{P_0} \right) = -\log T \quad \text{Ecuación 6}$$

En el caso de la radiación monocromática, la absorbancia es directamente proporcional a la longitud b de la trayectoria a través de un medio y la concentración c de la especie absorbente, (ver Ecuación 7)

$$A = \epsilon bc \quad \text{Ecuación 7}$$

A = Absorbancia (adimensional)

c = Concentración de la muestra $\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}} = M \right)$

b = Paso óptico, longitud de la celda (cm)

ϵ = Absortividad molar o coeficiente de extinción ($M^{-1} \text{cm}^{-1}$)

La relación anterior expresa la ley de Lambert-Beer, la cual sienta las bases del análisis cuantitativo tanto para las mediciones de la absorbancia atómica como la molecular (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

La absorptividad molar considerada en la ley de Lambert-Beer es característica de cada especie y nos dice cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada. Este parámetro puede ser calculado al reordenar la ecuación (ver Ecuación 8) que representa la ley.

$$\epsilon = \frac{A}{bc} \quad \text{Ecuación 8}$$

8.2.2.1 Limitaciones de la ley

Existen algunas desviaciones que son fundamentales y representan limitaciones propias a la ley, mientras que otras son resultado de la forma en que se realizan las mediciones de absorbancia o como consecuencia de cambios químicos. A continuación se mencionan a detalle las limitaciones a esta ley y sus causas.

1) Concentración del analito

La ley de Lambert-Beer es restrictiva ya que únicamente describe el comportamiento de absorbancia de un analito a concentraciones bajas ($\leq 0.01 M$). El grado de interacción soluto-solvente, soluto-soluto, o los puentes hidrógeno pueden afectar el ambiente del analito y su capacidad de absorción. Es decir, al aumentar la concentración del analito, la distancia promedio entre moléculas y/o iones responsables de la absorción disminuye hasta el punto en que cada partícula altera la distribución de cargas de las moléculas vecinas, modificando la capacidad de absorción de la especie. Así la magnitud de la interacción entre moléculas depende de la concentración.

2) Desviaciones químicas aparentes

Estas desviaciones es causa de la disociación, asociación o reacción del analito con el disolvente para originar un producto con un espectro de absorción diferente al de la especie de interés, por ejemplo, las disoluciones acuosas de los indicadores ácido/base son característicos de este comportamiento.

3) Desviaciones instrumentales

La ley de Lambert- Beer se cumple en forma rigurosa cuando las mediciones se efectúan con radiación monocromática. Sin embargo, la relación entre la absorbancia y la concentración deja de ser lineal cuando se realiza mediciones con radiación policromática (a varias longitudes de onda) ya que la absorptividad molar de una especie en particular difiere entre sí a diferentes longitudes de onda. En la Figura 8 se observa la desviación de la linealidad a medida que se incrementa la diferencia entre los valores de absorptividad molar del analito ϵ' y ϵ'' para dos longitudes de onda λ' y λ'' . Si las absorptividades molares son iguales a las dos longitudes de onda, la ley de Lambert-Beer se cumple.

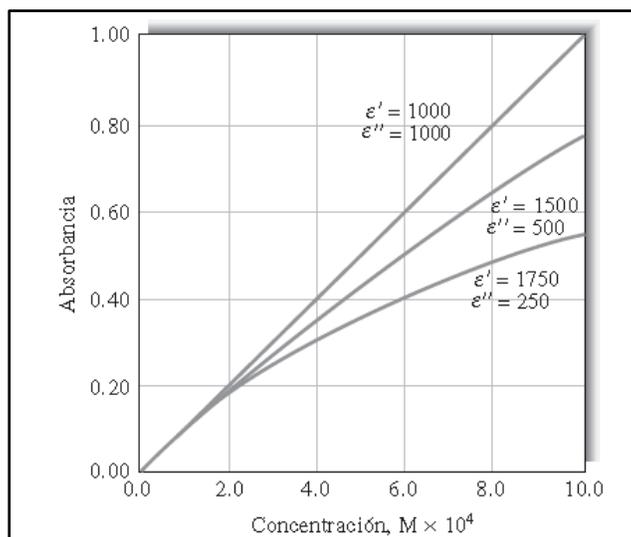


Figura 8. Desviaciones de la ley de Lambert-Beer con radiación policromática (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

Si las bandas de longitud de onda seleccionada para mediciones espectrofotométricas corresponden a una región del espectro de absorción en la que la absorptividad molar del analito es en esencia constante, las desviaciones respecto a la ley de Beer son mínimas. Es recomendable seleccionar una banda de longitud de onda cercana a la longitud de onda de absorción máxima (ver Figura 9 inciso a), en la cual la absorptividad del analito cambia poco y con ello obtener una buena linealidad (ver Figura 9 inciso b).

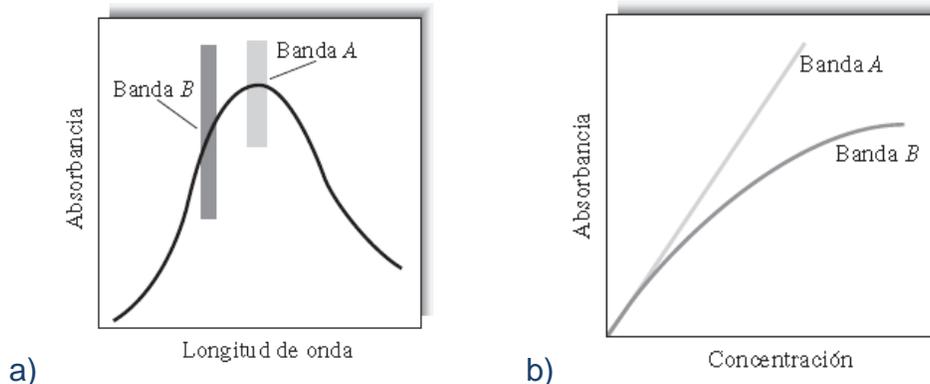


Figura 9. Desviaciones a la relación lineal de la ley de Lambert-Beer al no elegir la longitud de onda de máxima absorbancia (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

8.2.3 Instrumentación

Los instrumentos para medir la absorbancia de radiación UV o visible constan de una fuente, selector de longitud de onda, recipiente para muestra, transductor de señal y procesador de señal.

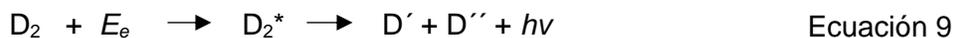
Un ejemplo de la instrumentación se observa en la Figura 10, en a) es un espectrofotómetro de haz sencillo, donde se debe alternar la medición del blanco y la muestra y b) es un espectrofotómetro de doble haz, donde la luz pasa alternadamente por las celdas de la muestra y el blanco a causa de la rotación de un espejo cortador.

8.2.3.1 Fuente

Para mediciones de absorción molecular es necesario disponer de una fuente continua cuya potencia radiante no cambie en un intervalo considerado de longitud de onda.

a. Lámparas de deuterio e hidrógeno

La excitación electrónica del deuterio o hidrógeno a baja presión produce un espectro continuo en la región ultravioleta.



En este tipo de lámparas se debe usar celdas de cuarzo, ya que la absorción del vidrio es muy fuerte a longitudes de onda menores de 350 nm.

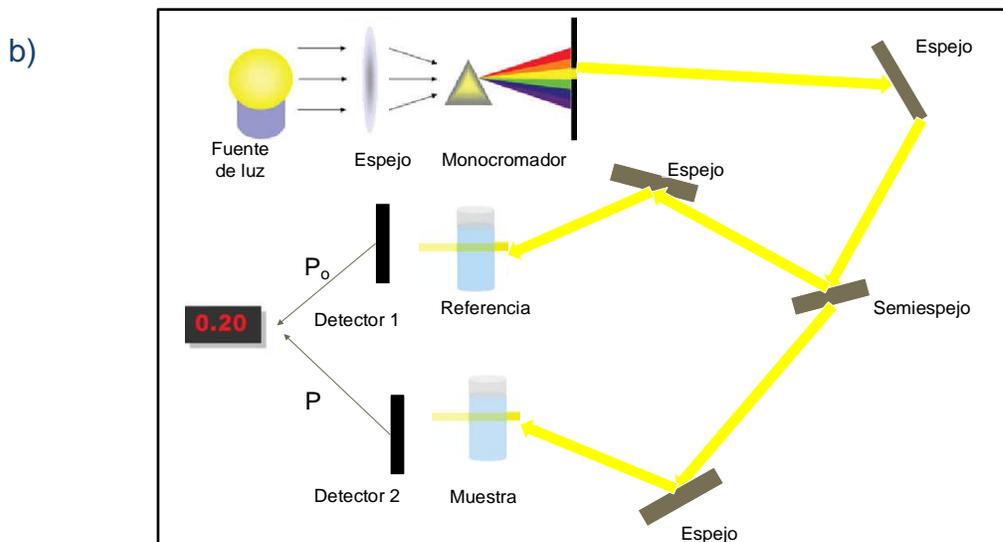
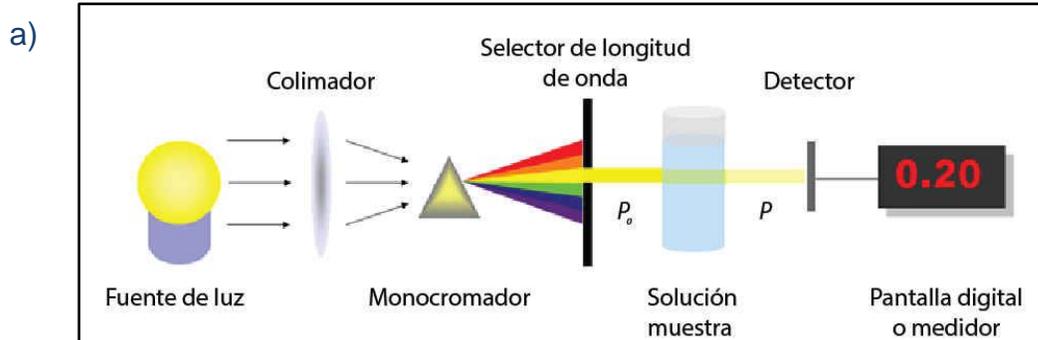


Figura 10. Diagrama de un espectrofotómetro.

b. Lámparas de filamentos de tungsteno.

Son la fuente más común de radiación visible y del infrarrojo cercano, ya que proporciona longitudes de onda comprendida entre 350 y 2500 nm.

La lámpara de tungsteno, contienen una pequeña cantidad de yodo dentro de la envoltura de cuarzo en la que se aloja el filamento de tungsteno. El yodo reacciona con el tungsteno gaseoso formado por sublimación, produciendo el compuesto volátil WI_2 . Cuando las moléculas de dicho compuesto chocan con el filamento, se produce su descomposición y el tungsteno se vuelve a depositar.

c. Diodos emisores de luz (LED, por sus siglas en ingles).

Son dispositivos que al llegar a tener polarización directa producen energía radiante. Son comunes los diodos fabricados con arseniuro de aluminio y galio, fosforo de arsénico y galio, fosforo de galio, y nitruro de galio e indio. Las mezclas de estos compuestos se usan para desplazar el máximo de la longitud de onda a cualquier lugar en la región de 375 a 1000 nm o más. Estos diodos producen un espectro continuo en un intervalo angosto de longitudes de onda.

d. Lámparas de arco de xenón

Producen una radiación intensa al pasar la corriente a través de una atmósfera de xenón. El espectro es continuo en un intervalo comprendido entre 200 y 1000 nm.

8.2.3.2 Selectores de longitud de onda

La mayor parte de análisis espectroscópicos requieren radiación que consiste de un grupo de longitud de onda limitadas, angostas y continuas llamadas bandas.

Una banda angosta intensifica la sensibilidad de las medidas de absorbancia, puede proporcionar selectividad y se le requiere para obtener una relación lineal entre la señal óptica y la concentración. Idealmente, la salida de radiación desde un selector de longitud de onda sería de una sola longitud de onda o frecuencia, pero ningún selector de longitud de onda real se aproxima a esta idea.

Hay dos tipos de selectores de longitud de onda:

a. Filtros

Existen filtros de interferencia los cuales dependen de la interferencia óptica para proporcionar banda angosta de radiación. Los filtros de absorción, se usan ampliamente para la sección de bandas en la región visible y su función es absorber porciones seleccionadas del espectro.

b. Monocromadores

Estos dispersan la luz en las longitudes de onda que la compone y selecciona una banda estrecha de longitud de onda, que es la que pasa por la muestra o llega al

detector. Los monocromadores están compuestos por una ranura que proporciona una imagen óptica rectangular, una lente o espejo colimador que produce un haz paralelo de radiación, una red que dispersa la radiación en las longitudes de onda que se compone, un enfoque que reforma la imagen de la ranura de entrada y la enfoca sobre una superficie plana (plano focal) y una rendija de salida en el plano focal que aísla la banda espectral deseada (ver Figura 10 inciso a).

8.2.3.3 Recipiente para la muestra

Las celdas o cubetas en las que se coloca la muestra y el disolvente deben ser de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. Para espectroscopía en la región ultravioleta se requieren celdas de cuarzo o sílice fundida, las cuales también son transparentes en la región visible. Aunque, en esa región pueden utilizarse celdas de vidrio de silicato.

Las mejores celdas tienen ventanas perfectamente perpendiculares a la dirección del haz para reducir al mínimo las pérdidas por reflexión. La longitud de celda más común es de 1 cm. A veces se emplean las cubetas cilíndricas pero se debe poner especial cuidado en repetir la posición de la cubeta respecto al haz, ya que las variaciones en la longitud de la trayectoria y en la pérdida por reflexión en superficies curvas pueden causar errores importantes.

La calidad de las medidas de absorbancia depende en gran medida del uso y mantenimiento que se hagan a las cubetas. Las huellas dactilares, la grasa u otras señales sobre las paredes de las celdas alteran el paso de la radiación incidente a la muestra. Las cubetas calibradas no deben secarse mediante la acción del calor ya que puede causar daños físicos o cambios en la longitud de trayectoria. Las celdas se deben calibrar regularmente entre sí con una solución absorbente.

8.2.3.4 Transductor de radiación

Los transductores o también conocidos como detectores, convierten la energía radiante en una señal eléctrica. El transductor ideal debe tener una alta sensibilidad, una alta relación señal-ruido y una respuesta constante a un amplio intervalo de longitudes de onda. Además debe tener un tiempo de respuesta

rápido y una señal de salida cero si no hay iluminación. La señal eléctrica producida por el transductor ideal debe ser directamente proporcional a la potencia radiante.

Existen dos tipos generales de transductores, de fotones y de calor, de los cuales el primero se usa ampliamente en las mediciones de radiación UV y visible.

Todos los transductores de fotones, también conocidos como detectores fotoeléctricos, tienen una superficie activa que absorbe la radiación. En algunos, la energía absorbida causa emisiones de electrones y hace que se produzca una corriente fotoeléctrica, en otros la radiación impulsa a los electrones a las bandas de conducción, por lo que la detección se basa en la conductividad.

8.2.3.5 Procesadores de señal y dispositivo de lectura

Un procesador de señal es un dispositivo electrónico que amplifica la señal eléctrica proveniente del transductor ejecutando operaciones matemáticas con la señal, como derivaciones, integraciones o conversiones a un logaritmo para hacerla más adecuada en el funcionamiento de los dispositivos de lectura. Se pueden encontrar diferentes tipos de dispositivos que desplieguen la información en los instrumentos modernos de tal forma que pueda ser interpretada.

8.2.4 Tratamiento de la muestra

Las mayores fuentes de error en espectroscopía UV-visible están relacionadas con el tratamiento y la química de la muestra. Varios factores, que incluyen el disolvente utilizado, la concentración, pH y temperatura de la muestra, pueden afectar la posición e intensidad de las bandas de absorción de las moléculas. Estos parámetros deben controlarse para asegurar máxima precisión y para poder comparar espectros medidos bajo diferentes condiciones (Owen, 2000).

El disolvente ideal para la preparación de muestras sería aquel que disuelva todos los tipos de compuestos, debe ser no inflamable y no tóxico, además de completamente transparente a todas las longitudes de onda. También la polaridad de un disolvente puede modificar el entorno electrónico de un cromóforo absorbente.

La concentración, normalmente solo afecta la intensidad de las bandas. A concentraciones altas, las interacciones moleculares pueden causar cambios en la posición de la banda de absorción, lo que afecta la linealidad de la concentración en relación con la absorción, y llevar a resultados cuantitativos inexactos.

Los efectos del pH sobre los espectros de absorción pueden ser muy grandes y ser resultado principalmente por variaciones del equilibrio entre dos formas diferentes. Si el espectro de la muestra se afecta por el pH, debe utilizarse una disolución reguladora para controlar este parámetro.

8.3 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La determinación de amoníaco por espectrofotometría está basada en la reacción de amoníaco disuelto en un medio acuosa con fenol e hipoclorito de sodio produciendo la molécula indofenol, el cual tiene un color azul intenso en un medio alcalino (pH= 8-11) y que pueda ser catalizada por nitroprusiato de sodio.

Se considera amonio disuelto tanto al amoníaco libre (NH_3) como a los iones amonio (NH_4^+) presentes en disolución. Si este tiene un pH superior a 9.2 la concentración de amoníaco tiende a incrementar, y si el pH llega a ser menor al mencionado, la concentración de amoníaco disminuye y la de amonio aumenta (ver Figura 11).

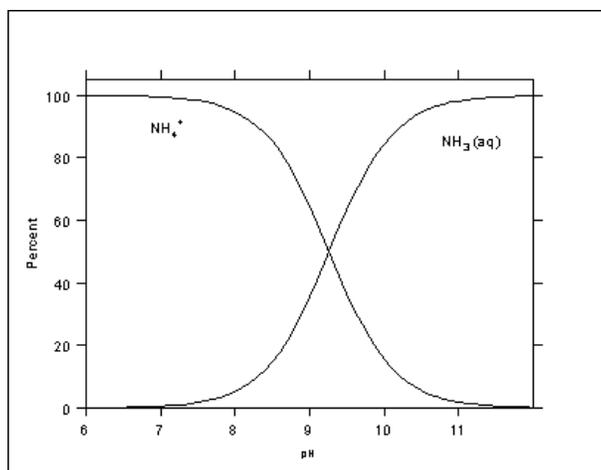


Figura 11. Porcentaje de NH_4^+ y NH_3 en función del pH (Illinois State Water Survey, 2004).

Obtener la molécula indofenol a partir de amoníaco procede de varias etapas. La primera etapa es la reacción entre el amoníaco e hipoclorito de sodio para dar como primer producto la monocloroamina (NH_2Cl), que es un compuesto oxidante menos fuerte al hipoclorito. Esta primera reacción puede formar tres tipos de cloroaminas inorgánicas diferentes (NH_2Cl , NHCl_2 , NCl_3) dependiendo del valor del pH, el cual debe ser de 8.4 o mayor para obtener únicamente la monocloroamina que es el compuesto principal que se desea obtener, y la proporción ideal de hipoclorito:amoníaco debe ser de 6:1, ya que si hay mayor cantidad de amoníaco se suele formar las dicloroaminas y tricloroaminas. La segunda

La segunda etapa es la reacción de la monocloroamina y el fenol en presencia de hipoclorito para formar p-benzoquinona-N-cloroimina en presencia de nitroprusiato de sodio como catalizador. La quinona formada reacciona con otra molécula de fenol y forma el indofenol. La reacción de formación de indofenol se muestra en la Figura 12.

El cambio de color del indofenol está asociado al valor de pH del medio (ver Figura 13), razón de ser necesario el uso de un buffer que mantenga un pH básico para solo obtener la especie química disociada del indofenol.

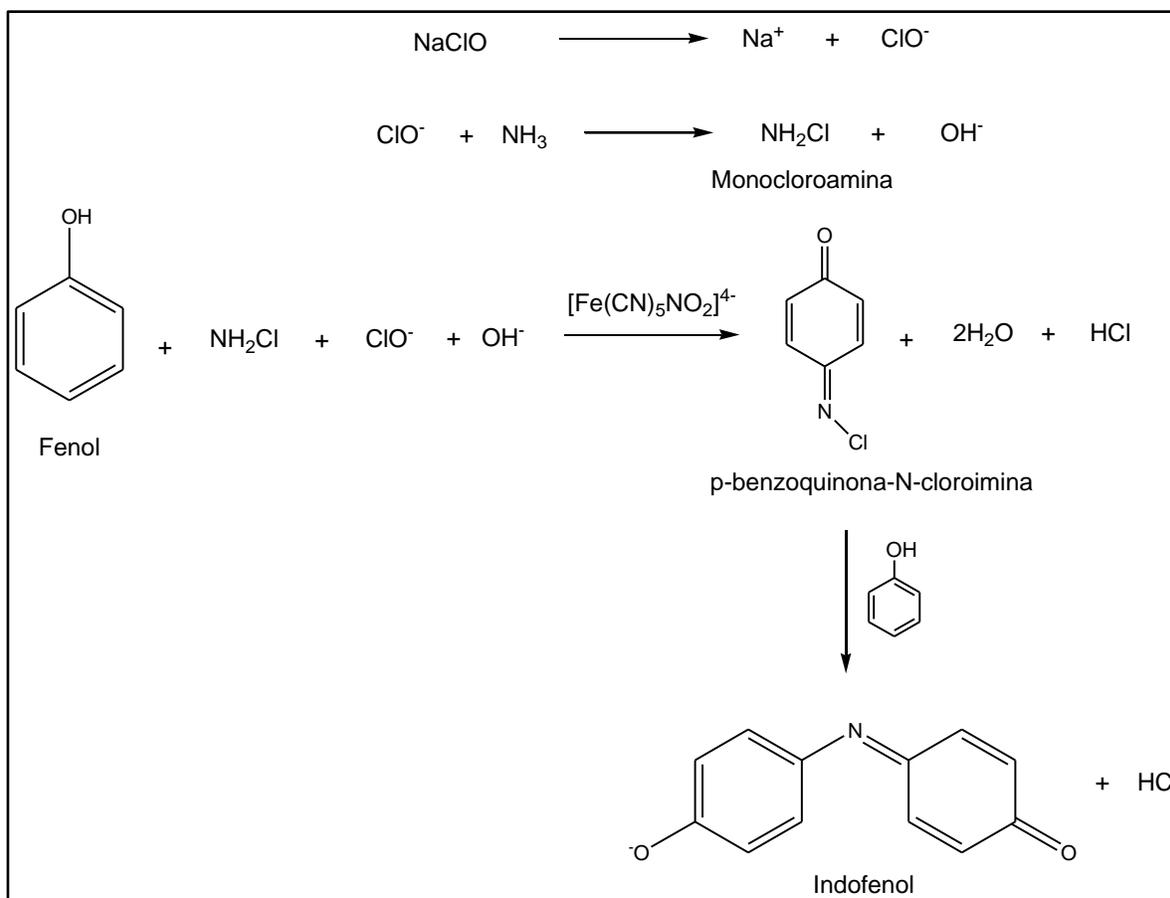


Figura 12. Reacción de Berthelot. Secuencia de reacciones para la formación de indofenol en un medio alcalino.

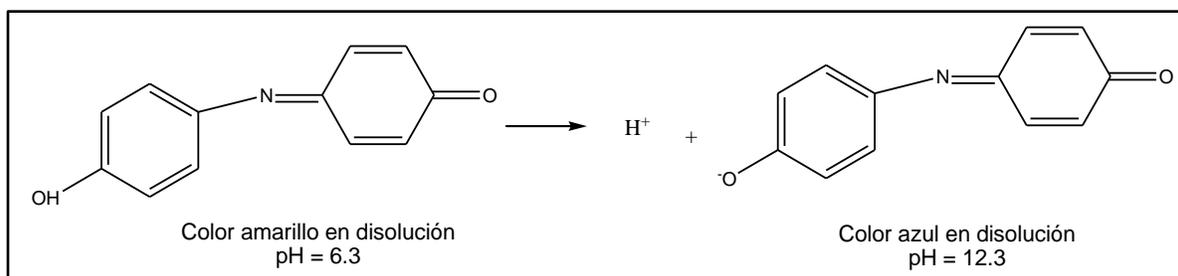


Figura 13. Molécula de indofenol en equilibrio ácido-base.

El pH del medio de reacción resulta ser el parámetro más crítico para la determinación de amoníaco con el método azul de indofenol. A un valor de pH inferior a 8, la reacción no comienza (M. Tzollas, et al., 2010). El requerimiento de un orden de adición de los reactivos se explica con base a las reacciones

propuestas. En el medio de reacción se debe colocar primero un buffer que permita tener condiciones alcalinas, posteriormente se adiciona el hipoclorito de sodio al amoníaco antes del fenol para poder formar la monocloroamina. Si el fenol se adiciona primero y posteriormente se agrega el hipoclorito la producción de monocloroamina se reduce, ya que el fenol resulta ser una sustancia sensible a agentes oxidantes. La disociación del átomo de hidrógeno perteneciente al grupo hidroxilo del fenol, forma el radical feniloxilo que es estabilizado por resonancia. El radical así formado puede continuar oxidándose con facilidad y conllevar a la formación de productos tales como dihidroxibenceno, trioxibenceno y/o quinonas. El hipoclorito al ser un compuesto químico fuertemente oxidante reacciona con el fenol, antes de poder formar la monocloroamina.

El nitroprusiato de sodio, también conocido como nitroferricianuro de sodio y en este texto abreviado como NF es generalmente incorporado como un reactivo en procedimiento de análisis para la determinación de amoníaco por la reacción de Berthelot. Dado que este reactivo aumenta la velocidad de reacción, se conoce generalmente como catalizador.

Se reveló que en la reacción de Berthelot, el NF se convierte rápidamente a nitritopentacianoferrato de sodio en disolución alcalina. Después de esta reacción inicial, se establece un equilibrio entre NF y acuopentacyanoferrato de sodio (AqF), tal como se muestra en la Figura 14.

Hay evidencia de que AqF es el catalizador real para la reacción de Berthelot, que es responsable de una mayor sensibilidad.

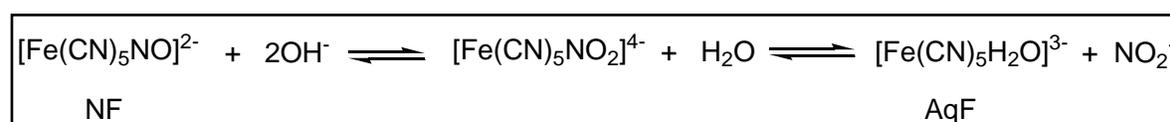


Figura 14. Equilibrio en disolución acuosa del nitroprusiato de sodio.

8.4 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO

Para este trabajo fue necesario hacer una verificación del método, azul de indofenol, lo cual consiste en confirmar por la provisión de evidencia objetiva de

que se cumple los requisitos para el método. La verificación consiste en evaluar el desempeño del método para demostrar que cumple con las características para el uso previsto. Se debe contar con la técnica para realizarlo adecuadamente tomando en consideración las propias instalaciones, equipo y persona.

Los parámetros de desempeño son la evidencia objetiva que caracterizan al método e indican que tan bueno es para el propósito que se desarrolló. Por tanto, los parámetros recomendados para un método que incluye mediciones por espectrometría de ultravioleta-visible se mencionan a continuación con su respectiva definición.

8.4.1 Intervalo de trabajo

Intervalo comprendido entre las concentraciones superior e inferior (incluyendo dichas concentraciones) y para las que se ha demostrado que el analito es cuantificado con un nivel satisfactorio de repetibilidad, recuperación y linealidad (Vega Rodríguez, 2011). El intervalo de trabajo es generalmente más amplio que el intervalo lineal.

8.4.2 Linealidad

Es la capacidad del método para obtener resultados proporcionales a la concentración del analito en las muestras, dentro de un determinado rango.

La relación entre la respuesta del instrumento con la concentración no tiene que ser perfectamente lineal para que un método sea efectivo, pero la curva debe ser repetible (Eurachem, 2005).

8.4.3 Límite de detección

La menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba (Centro Nacional de Metrología [CENAM], 2008).

Cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito o de la propiedad relacionada, como en el análisis de trazas, es importante saber cuál es la concentración más baja del analito que se desea detectar confiablemente por el

método. Normalmente es suficiente proporcionar un indicativo del nivel al cual la detección resulta problemática.

8.4.4 Límite de cuantificación

Es la concentración más baja del analito que puede determinarse con un nivel de incertidumbre aceptable. Debe establecerse empleando materiales de referencia o muestras apropiadas.

Algunas convenciones toman el límite de cuantificación como 5, 6 o 10 veces la desviación estándar de la medición del blanco (Centro Nacional de Metrología [CENAM], 2008).

8.4.5 Repetibilidad

Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente por un solo analista, usando los mismos instrumentos, mismo lugar y método en intervalos cortos de tiempo.

8.4.6 Reproducibilidad

Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando haciendo variar las condiciones de medición. Para lo cual es necesario especificar las condiciones que se hacen variar, las cuales pueden ser: el principio de medición, el método de medición, el observador, el instrumento de medición, el patrón de referencia, el lugar, las condiciones de uso o el tiempo.

8.4.7 Sesgo

Es la diferencia entre el valor promedio obtenido de los resultados de prueba con respecto a un valor de referencia aceptado o conocido.

Existen tres formas de evaluarlo:

- Uso de material de referencia o material de referencia certificado
Material o sustancia en el cual uno o más de los valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y bien establecidos como para ser utilizados en la evaluación del desempeño de un método.

- Uso de métodos de referencia

Comparación de resultados del método a prueba con los obtenidos por un método normalizado, que puede utilizar una técnica analítica diferente.

- Experimentos de recobro

Porción de la cantidad de analito presente en la muestra o adicionado a esta (fortificar), que debe ser cuantificada efectivamente por el método de ensayo.

Es una forma de evaluar la eficiencia del proceso de preparación e interferencia que puedan existir para detectar todo el analito presente en una muestra al aplicar el método.

9 METODOLOGÍA

En esta sección se describe el procedimiento que se siguió para realizar las pruebas experimentales de los parámetros de desempeño que caracterizan al método. La lista de materiales, equipo y reactivos utilizados se enlistan en los anexos 13.1 y 13.2.

La evaluación del método se limita a obtener evidencia de que se puede cuantificar la concentración de amónico que haya sido capturado en disolución del aire además de la fortificación que se pueda realizar a las muestras (adición de una concentración conocida del analito), ya que las concentraciones de amoniaco más altas esperadas capturar del aire ambiente en disolución están alrededor de 0.28 ppm, equivalente a una concentración de 0.3 ppm de amonio, de acuerdo a la relación de la Ecuación 10. Se debe tener presente que el amoniaco se captura del aire en una disolución ácida contenida en burbujeadores y con el uso de una bomba que arrastra aire hacia la disolución.

$$[NH_3] = [NH_4^+] * \left(\frac{17 \frac{g}{mol} NH_3}{18 \frac{g}{mol} NH_4^+} \right) \quad \text{Ecuación 10}$$

Hay que recordar que este método consiste en cuantificar amoniaco por medio de la reacción de Berthelot, las muestras obtenidas contendrán el amoniaco como amonio ya que la disolución en la cual se captura es acida, razón de que se implemente el método usando disoluciones patrón de amonio para imitar las condiciones en las que estarán las muestras.

9.1 PROCEDIMIENTO PARA LA EVALUACIÓN DEL MÉTODO.

En esta sección se describe a detalle cómo se realizó la experimentación de cada parámetro de desempeño. En todos ellos se debe tener en cuenta el siguiente procedimiento para revelar el color de las disoluciones estándares de amoniaco o

de alguna muestra, el cual consiste en añadir 2.0 mL de la disolución buffer, 5.0 mL de disolución de trabajo de fenol, 5.0 mL de agua destilada o desionizada, 2.5 mL de la disolución de trabajo de hipoclorito de sodio y se lleva al aforo con agua a un volumen final de 25.0 mL. Se debe esperar al menos 30 min para que la reacción proceda por completo y revele el color (ver Figura 15).

Las lecturas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 630 nm en una celda con un paso óptico de 1 cm.

La descripción de la elaboración de disoluciones mencionadas anteriormente se encuentra en el anexo 13.3.



Figura 15. Ejemplo de disoluciones estándar de amonio una vez desarrollado el color.

9.1.1 Intervalo de trabajo y linealidad

Se realizó una curva de calibración a partir de la disolución de trabajo de amonio tal como se muestra en la Tabla 6. El intervalo de trabajar se propuso con base a las concentraciones de amonio en disolución que se espera encontrar en las muestras.

Se repitió la preparación de cada nivel tres veces, leyendo la absorbancia de cada nivel seis veces.

Nivel	Concentración NH_4^+ (ppm)	Alícuota disolución de trabajo NH_4^+ (mL)	Volumen final (mL)
1	0.08	0.2	25.0
2	0.2	0.5	25.0
3	0.4	1.0	25.0
4	0.8	2.0	25.0
5	1.2	3.0	25.0
6	1.6	4.0	25.0
7	2.0	5.0	25.0

El blanco que se utilizó se preparó con 2 mL de ácido sulfúrico 0.1 N y la adición de las disoluciones mencionadas en la sección 9.1 Procedimiento para la evaluación del método.

Se utilizó el método de mínimos cuadrados para determinar la ecuación de la recta así como el coeficiente de correlación, el cual indica la linealidad del método.

Los criterios de aceptación para la linealidad e intervalo de trabajo son:

- Tener un coeficiente de correlación (r) mayor o igual a 0.98, ya que se está analizando concentraciones traza.
- Valor de pendiente cercano a 1.
- Error aleatorio en la respuesta del instrumento no mayor al 5%.
- Gráfica de residuales no debe mostrar tendencia.

9.1.2 Límite de detección y de cuantificación.

Se hicieron 3 blancos de curva independientes y se realizaron lecturas de absorbancia de cada uno por sextuplicado, a partir de lo cual se puede calcular los límites de detección y cuantificación.

El blanco que se utilizó fue el de la curva de calibración, que se preparó con 2 mL de ácido sulfúrico 0.1 N y la adición de 2.0 mL de la disolución buffer, 5.0 mL de disolución de trabajo de fenol, 5.0 mL de agua destilada o desionizada, 2.5 mL de la disolución de trabajo de hipoclorito de sodio y se lleva al aforo a 25.0 mL con agua.

El límite de detección se expresa como la concentración del analito calculado a partir de la siguiente fórmula:

$$L. D. = \frac{\bar{b} + 3 * S_b}{m} \quad \text{Ecuación 11}$$

El límite de cuantificación se expresa como la concentración del analito correspondiente a:

$$L. C. = \frac{\bar{b} + 10 * S_b}{m} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde \bar{b} es la media de las lecturas de absorbancia del blanco, m es el valor de la pendiente obtenido de la regresión lineal de la curva de calibración, S_b es la desviación estándar de las absorbancias del blanco.

El número 10 y 3 son elegidos de acuerdo al nivel de confianza deseado, el cual es de 10% y 3% la desviación estándar relativa del blanco.

9.1.3 Sesgo

Este parámetro se evaluó utilizando material de referencia certificado y por experimentos de recobro.

El material de referencia que se usó fue un estándar de cloruro de amonio del cual se preparó una disolución madre a una concentración de 5 ppm, a partir del cual se hicieron tres disoluciones de concentración conocida y a cada una de ellas se midió la absorbancia por triplicado. Se calculó la concentración de las disoluciones utilizando la ecuación de la curva de calibración. Posteriormente se calculó la t de student con la Ecuación 13 para determinar si son iguales estadísticamente el valor de la concentración esperada con la concentración calculada por el método y si existe error sistemático.

$$t_o = \left| \frac{(\bar{x}_o - x)\sqrt{n}}{\sigma} \right|$$

Ecuación 13

\bar{x}_o = Promedio de las mediciones o concentraciones

x = Valor de la referencia

σ = Desviación estándar de las mediciones o concentraciones

n = Número de mediciones

Para los experimentos de recobro se usaron muestras a las cuales se prepararon de dos formas, fortificadas y sin fortificar. El procedimiento consistió en dividir en dos la muestra y a una se le añadió una concentración conocida de cloruro de amonio (0.8 ppm), posteriormente ambas partes de la muestra se les preparo de forma usual añadiendo la disolución fenol de trabajo, hipoclorito de amonio de trabajo y buffer, tal como se preparó la curva de calibración. Una vez obtenidos los resultados se usó la Ecuación 14 para el cálculo de recobro.

$$\%Recobro = \frac{C_f - C_{sf}}{C_{ad}} \times 100$$

Ecuación 14

C_f = Concentración de disolución fortificada

C_{sf} = Concentración de disolución sin fortificar

C_{ad} = Concentración adicionada

El criterio de aceptación es obtener un recobro entre 70-110%, ya que se está trabajando con concentraciones traza y una muestra del medio ambiente.

9.1.4 Repetibilidad

Se eligieron dos niveles diferentes de concentración dentro del intervalo de trabajo, analizando cada nivel por triplicado por un mismo analista en tres diferentes días.

Se calculó el porcentaje de recuperación de los seis resultados para cada nivel con la Ecuación 15, y se determinó la media (\bar{x}), desviación estándar (δ) y el coeficiente de variación (%CV) de los porcentajes de recuperación. También se realiza un análisis de varianza para determinar la existencia de repetibilidad entre el porcentaje de recuperación obtenido en los tres días de análisis.

$$\%Recuperación = \frac{C_{cal} \times 100 \%}{C_{esp}} \quad \text{Ecuación 15}$$

C_{cal} = Concentración calculada con el método

C_{esp} = Concentración esperada

9.1.5 Reproducibilidad

Se eligieron dos niveles diferentes de concentración dentro del intervalo de trabajo, analizando cada nivel por triplicado, por un mismo analista en tres días diferentes, utilizando un espectrofotómetro diferente al utilizado anteriormente.

Se calcula el porcentaje de recuperación de los resultados para cada nivel utilizando la Ecuación 15, y se calculó la media (\bar{x}), desviación estándar (δ) y el coeficiente de variación (%CV) de los porcentajes de recuperación para cada nivel. Se comparan estos resultados con los obtenidos en la repetibilidad, usando la ANOVA para determinar si hay diferencia alguna entre los porcentajes de recuperación al utilizar dos diferentes espectrofotómetros.

En el espectrofotómetro que se utilizó para esta prueba, también se tuvo que leer las absorbancias de la curva de calibración que se describió en la sección 9.1.1 Intervalo de trabajo y linealidad. Con los resultados se obtuvo la ecuación de la curva de calibración para este espectrofotómetro y con ello se calculó la concentración de las disoluciones que se leyeron en dicho instrumento.

10 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 INTERVALO DE TRABAJO Y LINEALIDAD

En la Figura 16 se observa un gráfico que contiene las tres repeticiones de la curva de calibración descrita en la Tabla 6, a partir del cual se determinó el intervalo de trabajo del método.

Se observa que la linealidad del método se pierde a partir de la concentración 1.6 ppm, ya que en las tres repeticiones las absorbancias no caen en valores cercanos entre sí, como sucede en las concentraciones menores a 1.6 ppm. Lo que coincide con que la absorbancia comienza a ser mayor de 1 y la linealidad se pierde. Por tanto, el intervalo de trabajo para el método se establece en un rango de concentraciones de 0.08 ppm a 1.2 ppm del cual se muestran los resultados de absorbancia para cada nivel en la Tabla 7. En esta se reporta la media de absorbancia, ya que hay que recordar que se hicieron tres repeticiones de la curva de calibración leyendo la absorbancia de cada nivel seis veces. También se reporta el valor de la absorbancia esperada y el resultado de los residuales, los cuales se calcularon utilizando las fórmulas del anexo 13.5.

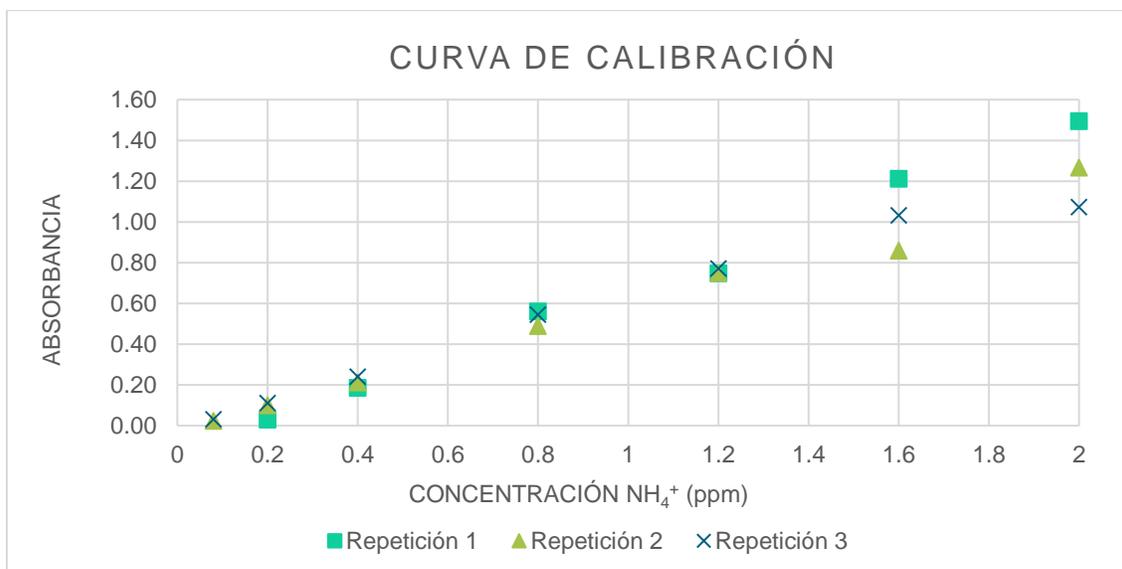


Figura 16. Gráfica de las tres repeticiones de las curvas de calibración del método azul de indofenol para la determinación de amoníaco.

Tabla 7. Respuesta del instrumento para la linealidad del método.				
Nivel	Concentración (ppm)	Media de la absorbancia (y_i real)	Absorbancia (y_i esperada)	Residuales (y_i real - y_i esperada)
1	0.08	-0.002	-0.023	0.021
		0.023	0.018	0.006
		0.032	0.033	-0.002
2	0.2	0.030	0.063	-0.033
		0.100	0.096	0.004
		0.111	0.114	-0.003
3	0.4	0.186	0.207	-0.021
		0.212	0.226	-0.014
		0.241	0.249	-0.007
4	0.8	0.561	0.494	0.067
		0.489	0.487	0.002
		0.545	0.517	0.027
5	1.2	0.748	0.781	-0.033
		0.749	0.747	0.002
		0.771	0.786	-0.015

Una vez establecido el intervalo de trabajo, se hizo un gráfico obteniendo la media de la absorbancia de cada nivel reportado en la Tabla 7, así la curva de calibración promedio obtenida se observa en la Figura 17 y en la Tabla 8 se resume los estadísticos que lo describen.

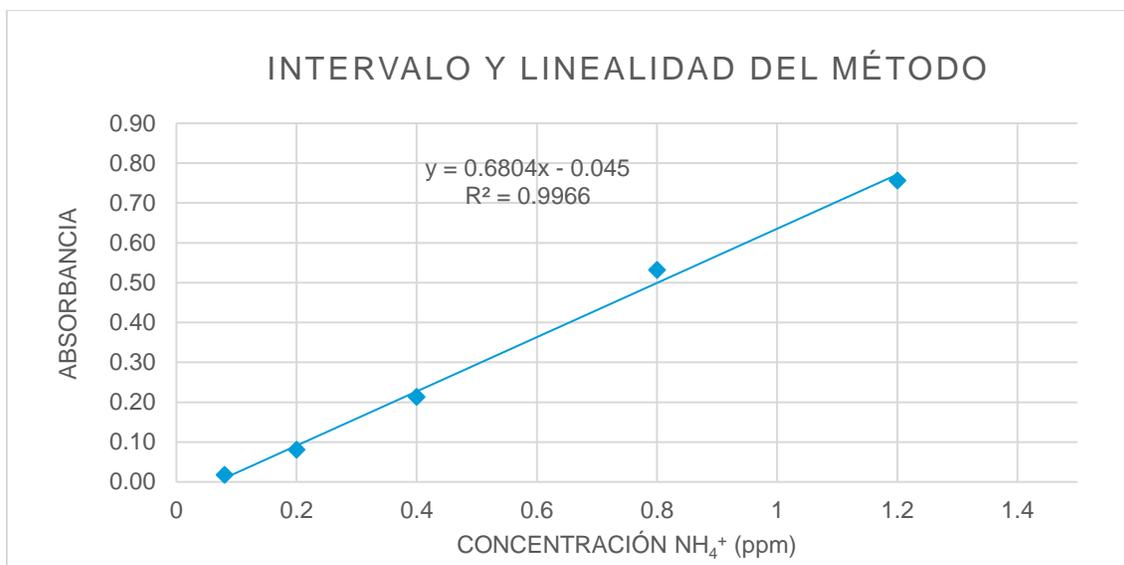


Figura 17. Curva de calibración promedio de la regresión lineal del método azul de indofenol a 7 niveles de concentración.

Tabla 8. Estadísticos promedios de la linealidad del método.

Estadístico	Símbolo	Resultado	Criterio aceptación
Pendiente	m	0.680	Cercano a 1
Ordenada al origen	b	-0.045	
Coefficiente de correlación	r	0.9966	Mayor o igual a 0.98
Error aleatorio de la respuesta	S _{y/x}	0.026	Menor al 5%

El intervalo de trabajo y lineal para el método azul de indofenol tiene un rango de concentraciones de 0.08 ppm a 1.2 ppm de amonio, equivalente a 0.08 ppm a 1.13 ppm de amoniaco en disolución. La ecuación de la curva de calibración queda expresada como:

$$\text{Absorbancia} = [\text{NH}_4^+] * 0.680 - 0.045 \quad \text{Ecuación 16}$$

Recordando que si se quiere conocer la concentración de amoniaco en la disolución se debe usar la relación de la Ecuación 10.

Se graficó los residuales (ver Figura 18) calculados de las tres repeticiones de la curva de calibración de la Tabla 7.

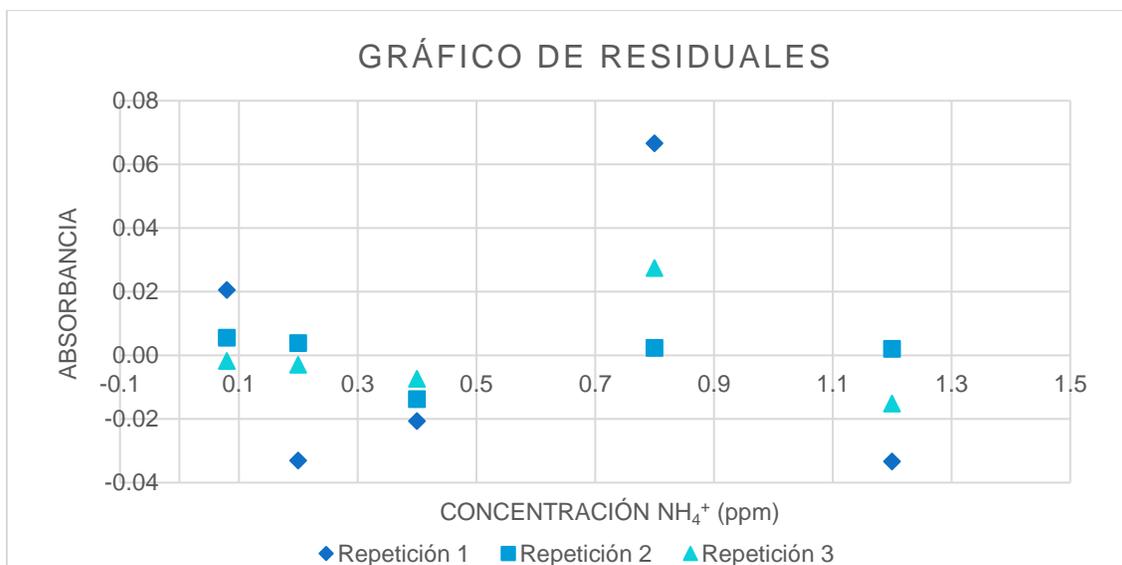


Figura 18. Gráfico de residuales para la linealidad del método.

En la Tabla 8 se muestra que el intervalo lineal tiene un coeficiente de correlación de 0.9966 cumpliendo con el criterio de aceptación, el valor de la pendiente resulta no estar cerca del valor propuesto, indicando la baja sensibilidad del método al analito de interés. El error relativo respecto a la respuesta del instrumento es menor al 5% y el gráfico de residuales (Figura 18) no muestra tendencia, lo que indica la no existencia de error sistemático. Por tanto existe linealidad de la respuesta del instrumento con respecto a la concentración del analito.

10.2 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Utilizando la Ecuación 11 y Ecuación 12 mencionadas en la metodología para calcular los límites de detección (L.D.) y límite de cuantificación (L.C.) con base a los resultados de la lectura del blanco que se muestran en la Tabla 9. Dado que los blancos se prepararon de forma independiente, se realizó el cálculo estadístico de la media, desviación estándar y límites de detección y cuantificación para cada blanco.

Tabla 9. Resultados del blanco y valores de los límites del método.				
Blanco	Media	Desviación estándar	Limite detección	Limite cuantificación
	\bar{x}	s_b	L.D.	L.C.
1	-0.033	0.023	0.05 ppm	0.28 ppm
2	0.092	0.000	0.14 ppm	0.14 ppm
3	0.002	0.002	0.01 ppm	0.03 ppm
		Media	0.07 ppm	0.15 ppm

El L.D. tiene una media de 0.07 ppm, que es menor al primer valor de la curva de calibración y el L.C. fue de 0.15 ppm, resulta ser un valor intermedio entre los dos primeros valores de la curva de calibración (ver Figura 17).

El valor del límite de detección es aceptado ya que es menor al nivel inferior en el intervalo de trabajo de acuerdo a lo establecido por la Comisión de control analítico y aplicación de cobertura. Criterio para la validación de métodos fisicoquímicos (2011).

El límite de cuantificación es aceptado ya que permite determinar la concentración más alta de amonio muestreado en el aire de acuerdo a lo establecido en la metodología, además de permitir fortificar las muestras con cloruro de amonio a concentraciones mayores o iguales al L.C.

10.3 SESGO

- Evaluación por material de referencia.

Se hicieron tres disoluciones de concentraciones diferentes y conocida de cloruro de amonio, del cual está certificado su concentración (material de referencia). A estas disoluciones las nombramos como concentración real.

La Tabla 10 muestra los resultados obtenidos de cada disolución, las cuales se leyeron su absorbancia por triplicado y a partir de la cual se calculó la concentración de cada una utilizando la Ecuación 16.

Tabla 10. Resultados de la concentración calculada de las disoluciones estándar.				
Concentración real (ppm)	Absorbancia	Concentración calculada (ppm)	Media de la concentración calculada (ppm)	Desviación estándar
x_{real}			\bar{x}	σ
0.04	0.004	0.072	0.07	0.001
	0.003	0.070		
	0.004	0.072		
0.1	0.044	0.131	0.13	0.001
	0.044	0.131		
	0.045	0.132		
0.6	0.360	0.595	0.60	0.001
	0.361	0.597		
	0.362	0.598		

Se realizó una prueba t de student, usando la Ecuación 13 descrita en la metodología, con una confiabilidad del 95%, estableciendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula (H_0): La media de la concentración calculada es igual a la concentración real.

Hipótesis alterna (H_1): La media de la concentración calculada es diferente a la concentración real.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 11, se rechaza la hipótesis nula para las concentraciones del material de referencia NH_4Cl a 0.04 y 0.1 ppm ya que la t_0 es mayor a la t_i por lo que estadísticamente la concentración real del estándar resulta ser diferente a la concentración calculado por el método.

Para la concentración real de 0.6 ppm del material de referencia de NH_4Cl resulto ser igual a la concentración calculada, de acuerdo al estadístico t student ya que el valor de t_0 es menos al valor de t_i .

La existencia de error sistemático para las concentraciones de 0.04 y 0.1 ppm se debe a que estas son menores al límite de cuantificación que se estableció a una concentración de 0.15 ppm.

Por otra parte, la concentración de 0.6 ppm del material de referencia utilizado es una concentración mayor al L.C, y que está a la mitad de la curva de calibración tal como se ve en la Figura 19, razón de que el método si cuantificara sin error sistemático dicha concentración.

Tabla 11. Resultados de la prueba t de student.

Concentración real (ppm)	Media de la concentración calculada (ppm)	Valor de t critica (t _o)	Valor t de tablas al 95% (t _i)	Hipótesis nula
0.04	0.07	64.22	4.30	Rechazada
0.1	0.13	63.74	4.30	Rechazada
0.6	0.60	3.99	4.30	Aceptada

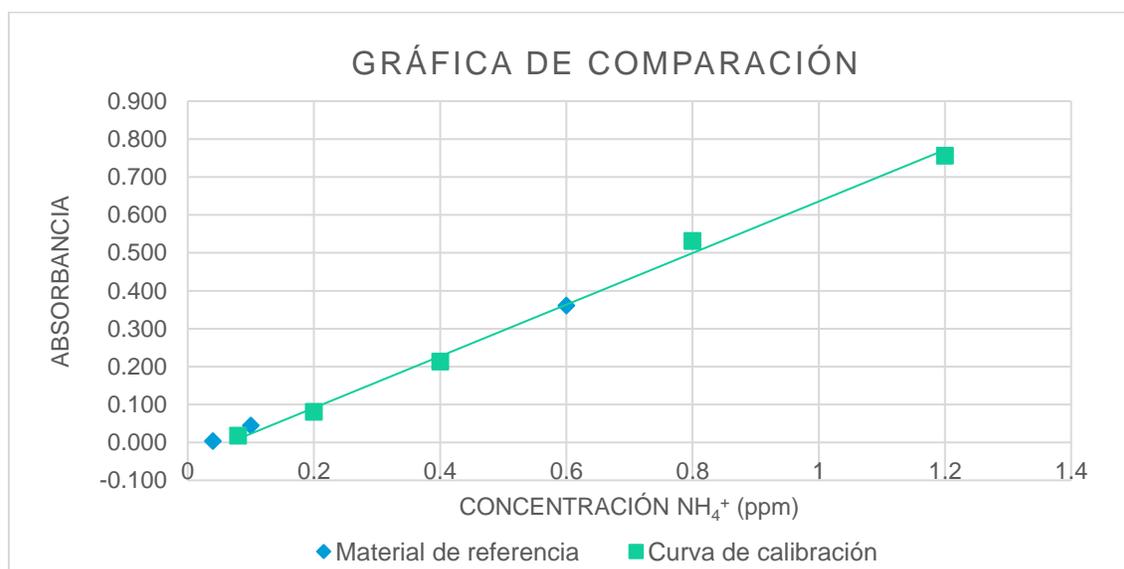


Figura 19. Gráfico de comparación de resultados obtenidos por material de referencia y la curva de calibración del método.

- Evaluación por experimento de recobro.

Los resultados de las pruebas de recobro se muestran en la Tabla 12 donde la concentración se calculó usando la Ecuación 16 de la curva de calibración y para el recobro se utilizó la Ecuación 14 mencionado en la metodología.

Tabla 12. Pruebas de recobro.				
		Muestra		
		B1	B2	B3
Sin fortificar	Media concentración	0.09 ppm	0.08 ppm	0.11 ppm
	Desviación estándar	0.0015	0.0015	0.0022
Fortificada	Media concentración	0.92 ppm	0.90 ppm	0.99 ppm
	Desviación estándar	0.0022	0.0015	0.0022
Concentración adicionada		0.8 ppm	0.8 ppm	0.8 ppm
%Recobro		104.5 %	101.8 %	110.1 %

De acuerdo al criterio de aceptación establecido en la metodología el porcentaje de recobro debe estar en el intervalo de 70-110%, lo cual se cumple ya que el método si cuantifico la concentración con la que se fortifico la muestra que fue de 0.8 ppm, obteniendo así para las muestras B1, B2 y B3 un recobro de 104.5 %, 101.8 %, 110.1 % respectivamente

Los resultados obtenidos al usar material de referencia y las pruebas de recobro, demuestran que el método permite cuantificar con poco sesgo concentraciones mayores o iguales al límite de cuantificación que es de 0.15 ppm hasta 1.2 ppm que es el límite superior del intervalo de trabajo del método.

10.4 REPETIBILIDAD

Las concentraciones que se eligieron para evaluar este parámetro fueron de 0.2 ppm y 0.8 ppm, midiendo la absorbancia de cada una por triplicado en 3 días diferentes.

Los resultados se muestran en la Tabla 13 para una concentración de 0.2 ppm y en la Tabla 14 para una concentración de 0.8 ppm. Se observa que en ambos casos el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) tiene valores bajos, lo que indica que hay poca variabilidad en el porcentaje de recuperación de cada día, es decir que hay homogeneidad entre los resultados obtenidos en un mismo día tanto para una concentración de 0.2 y 0.8 ppm.

Día	%Recuperación concentraciones	Media (\bar{x})	Desviación estándar (σ)	Coeficiente de variación (%CV)
1	54.84 %	54.84 %	0.0	0.0
	54.84 %			
	54.84 %			
2	105.78 %	105.04 %	1.94	1.85
	106.52 %			
	102.84 %			
3	111.91 %	111.41 %	0.42	0.38
	111.17 %			
	111.17 %			

Tabla 14. Resultados de repetibilidad del método para la concentración de 0.08 ppm.				
Día	%Recuperación concentraciones	Media (\bar{x})	Desviación estándar (σ)	Coefficiente de variación (%CV)
1	109.97 %	110.03 %	0.11	0.10
	109.97 %			
	112.15 %			
2	97.72 %	97.76 %	0.11	0.11
	97.72 %			
	97.91 %			
3	106.05 %	111.41 %	0.21	0.20
	106.42 %			
	106.42 %			

Para comprobar que hay repetibilidad entre las medias del porcentaje de recuperación obtenidos los tres días de análisis, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con una confiabilidad del 0.05, para comprobar que las medias son estadísticamente iguales.

Hipótesis nula $H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2 = \bar{x}_3$

Hipótesis alterna $H_1: \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2 \neq \bar{x}_3$

Tabla 15. Resultados ANOVA para repetibilidad.			
Concentración	Valor Observado F_o	Valor $F_{critica}$ ($\alpha=0.05$)	H_0
0.2 ppm	2183.23	5.14	Rechazada
0.8 ppm	5253.5	5.14	Rechazada

Dado que el valor de F_o es mayor al valor de $F_{critica}$ de acuerdo a la Tabla 15, se rechaza la hipótesis nula y se afirma que por lo menos una de las medias del

porcentaje de recuperación de la concentración 0.2 ppm y 0.8 ppm es diferente respectivamente, por tanto se no hay repetibilidad en el método.

La no existencia de repetibilidad es atribuido a errores sistemáticos que puede ser causa del instrumento, ya que puede no haberse usado de forma incorrecta el instrumento o cabe la posibilidad de que la lámpara del espectrofotómetro ya no estuviese en buenas condiciones.

10.5 REPRODUCIBILIDAD

Este parámetro se evaluó utilizando dos espectrofotómetros diferentes, el que se utilizo fue el de la Facultad de Química (FQ) en el que se realizaron las pruebas experimentales de los parámetros de desmepeño anteriormente descritos y el segundo espectrofotómetro utilizado está en el Centro de Ciencias de la Atmósfera (CCA). En cada espectrofotómetro se analizaron disoluciones con concentración de 0.2 ppm y 0.8 ppm de amonio en tres días diferentes pero por el mismo analista, obteniendo así los resultados de las Tabla 16 y Tabla 17.

Espectrofotómetro	Día 1	Día 2	Día 3
1. CCA	84.0 %	81.57 %	98.60 %
	84.0 %	73.47 %	98.82 %
	84.0 %	71.66 %	98.56 %
2. FQ	54.84 %	105.78%	111.9 %
	54.84 %	106.52 %	111.1 %
	54.84 %	102.84 %	111.2 %

Tabla 17. Resultados de los porcentajes de recuperación para una concentración de 0.8 ppm.			
Espectrofotómetro	Día 1	Día 2	Día 3
1. CCA	117.22 %	89.02 %	124.08 %
	117.24 %	89.60 %	124.11 %
	117.22 %	86.15 %	124.11 %
2. FQ	109.97 %	97.72 %	106.05 %
	109.97 %	97.72 %	106.42 %
	110.15 %	97.91 %	106.42 %

De los porcentajes de recuperación obtenidos se calculó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, lo cual se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18. Estadísticos de la reproducibilidad del método.				
Concentración	Espectrofotómetro	Media %recuperación \bar{x}	Desviación estándar (δ)	Coeficiente de variación %CV
0.2 ppm	CCA	86.00 %	11.71	13.61
	FQ	90.43 %	30.99	34.27
0.8 ppm	CCA	103.44 %	12.73	17.32
	FQ	95.67 %	18.11	5.99

Los valores del coeficiente de variación expuestos en la Tabla 18 muestra que hay poca variabilidad en los datos, a excepción del espectrofotómetro FQ para una concentración de 0.2 que es mucho mayor en comparación a los otros %CV, lo cual puede deberse a que es una concentración cercana al límite de cuantificación determinado para este método en dicho espectrofotómetro.

Sin embargo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existe reproducibilidad entre los instrumentos utilizados en los tres diferentes días.

Hipótesis nula $H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2 = \bar{x}_3$

Hipótesis alterna $H_1: \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2 \neq \bar{x}_3$

Tabla 19.Resultados ANOVA para reproducibilidad.			
Concentración	Valor Observado F_o	Valor critico $F_{critica}$ ($\alpha=0.05\%$)	H_0
0.2 ppm	0.065	18.513	Aceptada
0.8 ppm	0.420	18.513	Aceptada

De acuerdo a los resultados de la Tabla 19, la comparación de la medias del porcentaje de recuperación para cada concentración respectivamente con el uso de dos espectrofotómetros diferentes resultan ser igual estadísticamente, ya que el valor de F_o es menor al valor de $F_{critica}$. Se afirma que existe reproducibilidad en el método.

11 CONCLUSIONES

Se logró la implementación del método analítico azul de indofenol que permite identificar amoníaco en disolución acuosa utilizando la reacción de Berthelot.

Realizada la verificación del método se estableció el intervalo de trabajo que va de 0.08 a 1.3 ppm, con linealidad de 0.9966, un límite de detección de 0.07 ppm y un límite de cuantificación de 0.15 ppm.

Se determina que el método tiene poco sesgo, lo que indica que puede ser utilizado para cuantificar amoníaco con veracidad ya que no hay interferentes. Además se establece que tiene una precisión intermedia, dado que se tiene reproducibilidad en el método pero no repetibilidad.

Con base a los resultados se consigue demostrar que el método puede ser utilizado en análisis de amoníaco en disolución de forma práctica a nivel educativo, en el que los alumnos puedan realizar un análisis analítico por espectrofotometría para identificar y cuantificar con precisión y veracidad el amoníaco, siempre y cuando este dentro del intervalo de trabajo establecido.

12 REFERENCIAS

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR]. (2004). *Toxicological Profile for Ammonia*. Atlanta.
- Ayora Cañada, M. J. (Septiembre de 2006). *Universidad de Jaén*. Obtenido de http://www4.ujaen.es/~mjayora/docencia_archivos/Quimica%20analitica%20ambiental/tema9.pdf
- B. McCulloch, R., Stephen Few, G., C. Murray, G., & P. Aneja, V. (1998). Analysis of ammonia, ammonium aerosols and acid gases in the atmosphere at a commercial hog farma in eastern North Carolina, USA. *Environmental Pollution*, 102(S1), 263-268.
- Centro Nacional de Metrología [CENAM]. (Abril de 2008). *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible*. México. Recuperado el 2017 de Mayo de 30 , de <http://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/>
- Committee on Acute Exposure Guideline Levels, Committee on Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology. (2008). *Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals* (Vol. 6). Washington, D.C.: The National Academies Press.
- E. Jackson, P. (2000). Ion Chromatography in Environmental Analysis. En J. Wiley, & S. Ltd, *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (págs. 2779-2801). Chichester: R. A. Meyers.
- Eurachem. (Noviembre de 2005). *Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para la validación de método y temas relacionados* (2 ed.). Los Cués, Querétaro, México: Centro Nacional de Metrología.
- Fernández, G. (s.f.). *Química orgánica*. Recuperado el 28 de 08 de 2017, de <http://www.quimicaorganica.org/espectroscopia-visible-ultravioleta/732-niveles-y-transiciones-electronicas.html>
- G. Westra, H., E. van Doorn, J., G. Tigchelaar, R., & A. Berden, J. (2001). A method for the determination of volatile ammonia in air, using a nitrogen-cooled trap and fluorometric detection. *Analytical Biochemistry*, 296(2), 225-231.
- Harris, C. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona: Reverté.
- Illinois State Water Survey. (2004). *Nitrogen Cycles Project*. Obtenido de <http://www.isws.illinois.edu/nitro/nspecies.asp>
- Key, D., Petit, J.-E., Bonnet, C., Depernon, L., Liu, O., Kennedy, S., . . . Baum, M. (2011). Integrated method for the measurement of trace nitrogenous atmospheric bases. *Atmospheric Measurement Techniques*, 4, 2795-2807.
- Laboratorio de Química del Medio e Industria. (1994). *Estudio para la elaboración de la norma oficial mexicana que regula los niveles máximos permisibles de emisión a la*

atmósfera de amoníaco (NH₃) en la fabricación del mismo. Ciudad de México: Instituto Nacional de Ecología. Recuperado el 26 de Octubre de 2017, de http://repositorio.inecc.gob.mx/ae/ae_009383-1.pdf

- M. Tzollas, N., A. Zachariadis, G., N. Anthemidis, A., & A. Stratis, J. (2010). A new approach to indophenol blue method for determination of ammonium in geothermal waters with high mineral content. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 90(2), 115-126.
- Nhu-Thuc, P., Ki-Hyun, K., Zang-Ho, S., Eui-Chan, J., Kweon, J., & Nam-Jin, K. (2013). Analysis of ammonia variation in the urban atmosphere. *Atmospheric Environment*, 65, 177-183.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (1996). *Guía para la Salud y la Seguridad No. 37. Amoníaco*. (PISSQ, Trad.) Metepec.
- Owen, T. (2000). *Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna. Conceptos básicos*. Agilent Technologies.
- Palton, C., & Crouch, S. (1977). Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 49(3), 464-469.
- Petróleos Mexicanos [PEMEX]. (20 de 04 de 2016). *Petróleos Mexicanos [Pemex]*. Obtenido de <http://www.pemex.com/comercializacion/productos/Paginas/petroquimicos/amoniaco.aspx>
- Pino Perez, F., & Perez Bendito, D. (1983). *Análisis de elementos traza por espectrofotometría de absorción molecular uv-visible*. Cordoba: Monte de piedad y caja de ahorros de cordoba y universidad de sevilla.
- Prolab*. (28 de 07 de 2014). Recuperado el 08 de 2017, de <http://www.prolab.com.br/blog/funcionamento-e-componentes-espectrofotometro/>
- PumChem*. (4 de January de 2016). Obtenido de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- QuimiTube*. (2012). Obtenido de <http://www.quimitube.com/videos/hibridacion-sp3-de-la-molecula-de-amoniaco>
- Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. (2008). *Light Sensitivity*. European Commission.
- Skoog, D., Holler, F., & Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental* (Sexta ed.). D.F.: Cengage Learning.
- Solórzano García, L. A. (2014). *Implementación de un sistema de generación de concentraciones controladas de amoníaco en fase gas*. Tesis de licenciatura: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Validación de método y determinación de la incertidumbre de la medición. (2010). *"Aspectos generales sobre la validación de métodos"*. Santiago: Instituto de Salud Pública.

Vega Rodriguez, G. (16 de Febrero de 2011). *Comisión de control analítico y aplicación de cobertura. Criterio para la validación de métodos fisicoquímicos*. México: Secretaría de salud. Recuperado el Octubre de 2017, de <http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/cvfq032011.pdf>

Y. Kim, K., L. Choi, H., & N. Kim, C. (2004). Comparison of analysis methods for ammonia from swine production facilities. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*, 17(11), 1608-1614.

13 ANEXOS

13.1 MATERIAL Y EQUIPO

- Balanza analítica, Santorius.
- Espectrofotómetro, Thermo Cientific, Genesys 10S UV-Vis
- Espectrofotómetro, GBC, Cintra 101
- Parrilla de calentamiento
- Matraz volumétrico 25.0 mL, 50.0 mL, 100.0 mL y 250.0 mL
- Pipeta volumétrica 15.0 mL, 10.0 mL, 5.0 mL, 4.0 mL, 3.0 mL, 2.0 mL y 1.0 mL
- Micropipeta 200-1000 μ L
- Vaso de precipitado

13.2 REACTIVOS

- Estándar cloruro de amonio (NH_4Cl), 100 $\mu\text{g/mL}$, High- Purity Standards.
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4), reactivo 99,2 %, J.T. Baker.
- Cloruro de amonio (NH_4Cl), reactivo 100.2%, J.T. Baker.
- Fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$), reactivo 99.9%, J.T. Baker.
- Fosfato tribásico de sodio decahidratado ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), reactivo 98.4%, J.T. Baker.
- Hidróxido de sodio (NaOH), reactivo $\geq 97.0\%$, Labessa.
- Hipoclorito de sodio (NaClO), reactivo 5 %, Hycel.
- Metanol (CH_3OH), reactivo 99.9%, J.T.Baker.
- Nitroprusiato de sodio ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$), reactivo $\geq 99.0\%$, Labessa.
- Agua destilada o desionizada.

13.3 ELABORACIÓN DE DISOLUCIONES

a. Disolución de H_2SO_4 . 0.1 N

Se diluyó 0.7 mL de ácido sulfúrico en 250.0 mL de agua. La disolución dura hasta dos meses en refrigeración.

b. Disolución de nitroprusiato de sodio

Se disolvió 0.2 g de nitroprusiato de sodio en 10.0 mL de agua. La disolución se conserva por dos meses en refrigeración.

c. Hidróxido de sodio 6.75 M

Se pesó 135 g de NaOH y se disolvió en 500 mL de agua destilada. Se volatiliza el amoníaco contenido en el reactivo al calentar la disolución hasta tener un volumen de aproximadamente 300 mL, se dejó enfriar y se llevó a un volumen final de 500.0 mL. Conservar en una botella de polietileno.

d. Buffer de fosfatos.

Se pesó 5.0 g de $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ y se disolvió en un poco de agua. Se adicionó 7.4 mL de NaOH 6.75 M y se llevó a un volumen final de 100.0 mL con agua.

e. Hipoclorito de sodio 0.1 N

Se tomó un volumen de 6.5 mL hipoclorito de sodio al 5 % y se llevó a un volumen final de 50.0 mL de agua destilada. La disolución se conserva por dos meses en refrigeración.

f. Fenol 45 % v/v

Se pesó 25.0 g de fenol y se calentó a 60° C en baño maría hasta tenerlo en estado líquido, el cual se trasvasó a un matraz de 50.0 mL y

se diluyo con metanol. Esta disolución se conserva por dos meses en refrigeración.

g. Disolución de trabajo hipoclorito de sodio

Se mezcló 15.0 mL de la disolución de hipoclorito 0.1 N con 15.0 mL de la disolución de NaOH 6.75 M y se diluyo con agua en un volumen final de 50.0 mL. Se debe preparar el día en que se usara.

h. Disolución de trabajo de fenol

Se mezcló 10.0 mL de la disolución de fenol 45% v/v y 500.0 μ L de la disolución de nitroprusiato y se llevó a un volumen final de 50.0 mL. Debe prepararse el día en que se usara y solo es estable por 4 hrs.

i. Disolución madre de NH_4Cl

Se preparó una disolución a 1000 ppm de NH_4Cl lo cual equivale a 0.94 mg/mL de NH_3 . Para lo cual se pesó 0.1479 g de la sal y se disuelve en un volumen final de 50.0 mL. Esta disolución se conserva en refrigeración hasta dos meses.

j. Disolución de trabajo NH_4Cl

Se tomó una alícuota de 0.5 mL de la disolución madre de NH_4Cl y diluir en 50.0 mL con la disolución de ácido sulfúrico 0.1 N. Esta disolución de trabajo tiene una concentración de 10 ppm de NH_4Cl , equivalente a 9.5 ppm de NH_3 .

13.4 INSTRUCCIONES DEL MANEJO DEL ESPECTROFOTÓMETRO

Procedimiento

1. Encender el espectrofotómetro con el botón indicando ON/OFF que se encuentra en la parte posterior del equipo.
2. Esperar 15 minutos a que el equipo se estabilice antes de hacer la primera medición.
3. Seleccionar la longitud de onda deseada con la tecla ▼ (ajustar longitud de onda).
4. Insertar el blanco y oprima la tecla ▼ (introducir blanco) para ajustar a cero la absorbancia.
5. Retirar la celda con el blanco.
6. Introducir en otra celda la muestra, leer y anotar el valor de la absorbancia de las muestras.
7. Apague el equipo con el botón indicando ON/OFF.



Figura 20. Espectrofotómetro Genesys 10s vis

13.5 FORMULAS Y CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

Media

$$\bar{x} = \frac{\sum_i^n x}{n}$$

Desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Coefficiente de variación

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$$

Pendiente

$$m = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

Ordenada al origen

$$b = \bar{y} - mx$$

Coefficiente de correlación

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

Respuesta corregida

$$\hat{y} = mx + b$$

Residuales

$$R = y_i - \hat{y}$$

$$R = \text{valor observado} - \text{valor corregido}$$

Error aleatorio de la respuesta

$$\delta_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

ANOVA

El análisis de varianza se realizando con el uso del programa Excel. En el caso de repetibilidad el procedimiento fue:

Datos → análisis de datos → análisis de varianza de un factor

Para reproducibilidad el procedimiento fue:

Datos → análisis de datos → análisis de varianza de dos factor con una sola muestra por grupo

13.6 DATOS COMPLEMENTARIOS

Se realizaron tres curvas de calibración de amoniaco las cuales se leyó su absorbancia en los espectrofotómetros de la facultad de química y del CCA. De cada curva de calibración se determinó la pendiente, ordenada al origen coeficiente de correlación y error aleatorio así como la media.

En el caso de reproducibilidad se usaron la media de de m y b medios respectivos a cada instrumento para el cálculo de concentraciones usando la ecuación 14, despejando la concentración de amonio.

Tabla 20. Resultados de las repeticiones de la curva de calibración en el espectrofotómetro FQ.

Día	Pendiente	Ordenada al origen	Coeficiente de correlación	Error aleatorio
	m	b	r	$S_{y/x}$
1	0.718	-0.080	0.9920	0.050
2	0.651	-0.035	0.9997	0.009
3	0.672	-0.020	0.9986	0.018
Media	0.680	-0.045	0.9966	0.026

Tabla 21. Resultados de las repeticiones de la curva de calibración en el espectrofotómetro CCA.

Día	Pendiente	Ordenada al origen	Coeficiente de correlación	Error aleatorio
	m	b	r	$S_{y/x}$
1	0.726	0.052	0.9879	0.091
2	0.560	0.077	0.9990	0.021
3	0.649	0.122	0.9859	0.088
Media	0.652	0.084	0.9909	0.067

13.7 HOJA DE SEGURIDAD



MATERIAL SAFETY DATA SHEET (MSDS)

AMMONIA

(Please ensure that this MSDS is received by the appropriate person)

DATE: September 2015		Version 3	
Ref. No.: MS025		Labelling Elements:	
1 PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION		Hazard Pictograms	
Product Name	Ammonia		
Chemical Formula	NH ₃		
Trade name	Ammonia		
Colour coding	Silver body with a Red(A.11) circle below the valve, and a yellow band immediately below the red circle		
Valve	CGA240-3/8 inch – 18 NGT right hand female		
Company Identification	African Oxygen Limited 23 Webber Street Johannesburg, 2001 Tel. No: (011) 490-0400 Fax No: (011) 490-0506		
EMERGENCY NUMBER	0850111185 or (011) 873 4332 (24 hours)		
2 COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS		Signal Word: Danger	
Chemical Name	Ammonia	Hazard Statements:	
Chemical family	Corrosive, caustic, reactive gas	H221: Flammable gas	
Synonyms	Anhydrous ammonia, R717	H331: Toxic if inhaled	
CAS No.	7664-41-7	H314: Causes severe skin burns and eye damage	
UN No.	1005	H400: Very toxic to aquatic life	
ERG No.	125		
Hazchem	Warning Corrosive toxic gas		
3 HAZARDS IDENTIFICATION		Precautionary Statements:	
Main Hazards: Irritating or corrosive to exposed tissues. Inhalation of vapours may result in pulmonary oedema and chemical pneumonitis. Contact with liquid product may cause frostbite or freeze burns, in exposed tissues. All cylinders are portable gas containers and must be regarded as pressure vessels at all times.		(SEE FIRST AID MEASURES SECTION FOR TREATMENTS)	
Adverse Health Effects: Inhalation of high concentrations produces violent coughing due to the local action on the respiratory tract. If rapid escape is not possible, severe lung irritation, pulmonary oedema and death can result. Lower concentrations cause eye irritation, laryngitis and bronchitis.		P260: Do not breathe gas/vapours	
Biological Hazards: Because of its alkaline properties, long-term exposure to flora can cause damage. Aquatic fauna can also be affected should the pH of their environment change due to long-term exposure to high concentrations of ammonia.		P262: Do not get in eyes, on skin, or on clothing	
Vapour Inhalation: Ammonia acts principally on the upper respiratory tract, where it exerts an alkaline, caustic action. It produces respiratory reflexes such as coughing and arrest of respiration. It affects the conjunctiva and cornea immediately. Inhalation causes acute inflammation of the respiratory organs, coughing, oedema of the lungs, chronic bronchial catarrh, secretion of saliva and retention of urine.		P264: Wash hands thoroughly after handling	
Eye Contact: Exposure to high gas concentrations may cause temporary blindness and severe eye damage. Direct contact of the eyes with liquid anhydrous ammonia will produce serious eye burns.		P271: Use only outdoors or in a well ventilated area	
Skin Contact: Liquid anhydrous ammonia produces skin burns on contact.		P273: Avoid release to the environment	
Ingestion: Swallowing of the liquid results in severe corrosive action of the mouth, throat, and stomach.		P301: Collect spillage	
		P304+P340: IF INHALED: remove to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing	
		P310: Immediately call a POISON CENTRE or doctor/physician	
		P320: Specific treatment is urgent (see first aid measures section)	
		P301+P330+P331: IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do not induce vomiting	
		P303+P361+P353: IF ON SKIN (or hair): Immediately remove or take off all contaminated clothing. Immediately rinse skin with water/shower	
		P363: Wash contaminated clothing before re-use.	
		P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do so. Continue rinsing.	
		P377: Leaking gas fire: Do not extinguish, unless leak can be stopped safely.	
		P401: Store in accordance with national regulations	
		P403+233: Store in a well ventilated place and keep container tightly closed	
		P405: Store locked up	
		P501: Do not dispose contents/container to storm water drains, treat as hazardous waste.	

MATERIAL SAFETY DATA SHEET (MSDS)

AMMONIA

(Please ensure that this MSDS is received by the appropriate person)

4 FIRST AID MEASURES

Prompt medical attention is mandatory in all cases of overexposure. Rescue personnel should be equipped with self-contained breathing apparatus. Any conscious person who has inhaled ammonia causing irritation should be assisted to an uncontaminated area and inhale fresh air. A person overcome by ammonia should immediately be carried to an uncontaminated area. If breathing has ceased, artificial respiration must be started immediately, preferably by trained personnel. If breathing is weak or has been restored by artificial respiration, oxygen may be administered. Summon a physician immediately for anyone who has been burned or overcome by ammonia. Until a physician arrives, and after having accomplished a thorough removal of ammonia as possible, keep the patient warm and quiet, and take such specific action as may be indicated.

Eye Contact Persons with potential exposure to ammonia should not wear contact lenses. Call a physician at once. Immediately begin irrigation of the eyes with copious amounts of clean water while holding the eyelids apart. Continue irrigation for 15 minutes. Repeat this procedure every 10 minutes for an hour, each time irrigating for a period of 5 minutes. If readily available, a 5% boric acid solution may be used instead of water, but irrigation must not be delayed while such a solution is sought or prepared. Prompt and thorough irrigation is of primary importance. Any standard anaesthetic solution for ophthalmic use ordered by the physician may be instilled for control of severe pain, but only after the 15 minute period of irrigation has been completed. Continuous cold boric acid compresses should be used for cases of severe injury, in addition to irrigation. No oils or ointments should be instilled until after the eye has been examined by a qualified physician, and then only as prescribed by him. Ulcers of the cornea should be treated by an ophthalmologist.

Skin Contact If skin contact is extensive and emergency showers available, the victim should get under the emergency shower immediately. Contaminated clothing and shoes should be removed under the shower. In other cases, the affected areas should be washed thoroughly with large amounts of running water for at least 15 minutes. Do not apply salves or ointments or cover burns with dressing; however, protect the injured area with a clean cloth prior to medical care. Do not attempt to neutralize the ammonia. Subsequent medical treatment is otherwise the same as for thermal burns.

Inhalation The conscious person who has inhaled a concentration of ammonia which causes irritation effects should go to an uncontaminated area and inhale fresh air or oxygen. Eye, nose and throat irritation should be treated as described below for more serious exposures. However, if the exposure has been to minor concentrations for a limited time, usually no treatment will be required. A worker overcome by ammonia must be carried to an uncontaminated atmosphere and, if breathing is laboured or has ceased, given artificial respiration (back-pressure, arm lift, or mouth-to-mouth resuscitation) immediately, preferably by trained personnel. When breathing has been restored, 100% oxygen is administered, but not for more than 1 hour of continuous treatment at one time. Oxygen therapy may be interrupted after 1 hour, and reinstated as the clinical condition indicates. Observe for laryngeal spasm and perform tracheotomy if indicated. In case of severe exposure, the patient should breathe 100% oxygen under positive exhalation pressure (4cm) for one-half hour periods every hour. Treatment may be continued in this way until symptoms subside or other clinical indications for interruption appear.

Contact with nose & throat. Irrigate the nose and mouth continuously for 15 minutes. If the

patient can swallow, encourage him to drink large quantities of 0,5% citric acid solution or lemonade. Never give anything by mouth to an unconscious person.

Ingestion

If liquid anhydrous ammonia has been swallowed, call a physician immediately. If the patient is conscious and able, he should drink large amounts of water to dilute the chemical. Do not induce vomiting if the patient is in shock, extreme pain or is unconscious. If vomiting begins, place the patient face down with head lower than hips; this prevents vomit from entering the lungs and causing further injury.

5 FIRE FIGHTING MEASURES

Extinguishing media.

Fog-water spray. (In the absence of fog equipment, a fine spray of water may be used.) Use media suitable for surrounding fire. Although ammonia does not represent a serious flammability hazard, mixtures of air and ammonia containing from 15% to 28% ammonia vapour by volume will ignite when sparked, or exposed to temperatures exceeding 651°C.

Specific Hazards

High levels of ammonia can produce corrosive effects on tissues and can cause laryngeal and bronchial spasm and oedema so as to obstruct breathing.

Emergency Actions.

Rescue personnel should be equipped with self-contained breathing apparatus. If possible, stop the flow of gas. Since ammonia is soluble in water, it is the best extinguishing media - not only in extinguishing the fire, but also absorbing the escaped ammonia gas. Evacuate the area. All cylinders should be removed from the vicinity of the fire. Cylinders that cannot be removed should be cooled with water from a safe distance. Cylinders which have been exposed to excessive heat should be clearly identified and returned to the supplier. CONTACT THE NEAREST AFROX BRANCH.

Protective Clothing.

Self-contained breathing apparatus. Safety gloves. Goggles and shoes, or boots, should be worn when handling cylinders.

Environmental precautions.

As the gas is lighter than air, ensure that it is not trapped in confined spaces. Knock down pockets of gas with fog-water spray, and ventilate the area using forced-draft if necessary. Prevent from entering sewers and drains.

6 ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

Personal Precautions. Personnel working with anhydrous ammonia should be thoroughly familiar with safety precautions for handling a gas corrosive to human tissue as well as measures

MATERIAL SAFETY DATA SHEET (MSDS)

AMMONIA

(Please ensure that this MSDS is received by the appropriate person)

For handling emergencies. A gas mask must be worn when breaking and making connections, or pressuring a system. Self-contained breathing apparatus should be available both up and down wind.

Environmental Precautions. Because of its high alkalinity and solubility in water, ammonia can alter the pH balances of surface water, soil and plants. Should they be exposed to high concentrations for any length of time, these changes in pH could be detrimental to both flora and fauna.

Small spills. Only personnel trained for, and designated to handle emergencies, should attempt to stop a leak. Respiratory equipment of a type suitable for ammonia must be worn. All persons not so equipped must leave the affected area until the leak has been stopped. If ammonia vapour is released, the irritating effect of the vapour will typically force personnel to leave the area before they have been exposed to dangerous concentrations. Knock down small amounts of ammonia using a fog-water spray. Prevent from entering sewers or drains. Ventilate the area using forced-draught ventilation if necessary.

Large spills Evacuate all unprotected personnel to upwind areas. Disperse leaks with water spray or fog to lower concentration of ammonia gas. Neutralise contaminated area with a dilute acid, and deluge with plenty of water. Rotate a leaking cylinder to allow gas instead of liquid to escape. Keep area isolated until all gas has been dispersed. Evaporation is very rapid causing ice to form on leaking cylinders.

7 HANDLING AND STORAGE

Always store full cylinders in upright position. Avoid dragging, rolling or sliding cylinders. Use trolleys for handling. Cylinders should be stored in a well ventilated area on a hard dry surface. Ventilation inlets should be at ceiling and floor level. Cylinders must be used on a "first in - first out" basis. Keep cylinders away from sources of heat. Keep away from children.

8 EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION

Occupational Exposure Hazards. Inhalation of high concentrations produces violent coughing due to local action on the respiratory tract. If rapid escape is not possible, severe lung irritation, pulmonary oedema and death can result. Lower concentrations cause eye irritation, laryngitis and bronchitis. Exposure to high gas concentrations may cause temporary blindness and severe eye damage. Direct contact of the eyes with liquid anhydrous ammonia will produce serious eye burns. Liquid anhydrous ammonia produces skin burns on contact.

TLV 25ppm
STEL 35ppm

Engineering control measures. Engineering control measures are preferred to reduce exposures. General methods include mechanical ventilation, process or personal enclosure, and control of process conditions. Administrative controls and personal protective equipment may also be required. Use a suitable flameproof ventilation system separate from other exhaust ventilation systems. Exhaust direct to outside and supply sufficient replacement air to make up for air removed by exhaust system.

Personal protection
Eyes - Chemical goggles
Hands - Rubber gloves
Skin - rubber or plastic apron

9 PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

PHYSICAL DATA

Chemical Symbol	NH ₃
Molecular Weight	17,031
Specific Volume @ 20°C & 101,325 kPa	1406,6 ml/g
Boiling point @ 101,325 kPa	-33,4°C
Relative density (Air = 1) @ 101,325 kPa	0,599
Flammability levels in air	16 - 25% (by vol.)
Autoignition temperature	651°C
Colour	None
Taste	Alkaline
Odour	Pungent

10 STABILITY AND REACTIVITY

Conditions to avoid. Heating of cylinders, as the increase in pressure bears a direct relationship to increase in temperature. When the gas is exposed to temperatures in the range 449°C at 101,325kPa, dissociation will occur, with the release of nitrogen and hydrogen. The hydrogen could then form explosive gas/air mixtures. Never use cylinders as rollers or supports, or for any other purpose than the storage of ammonia.

Incompatible Materials. Most common metals are not affected by dry ammonia. However, when combined with water vapour, ammonia will attack copper, zinc, or alloys containing copper as a major alloying element. Therefore, these materials should not be used in contact with ammonia.

Hazardous Decomposition Products See above, Conditions to Avoid

11 TOXICOLOGICAL INFORMATION

Acute Toxicity Ammonia is not a systemic poison
Skin & eye contact Severe Irritant
Chronic Toxicity Chronic irritation to the eyes, nose, and upper respiratory tract may result from repeated exposure to the vapours.
Carcinogenicity: No known effect.
Mutagenicity: Genetic mutations observed in bacterial and mammalian test systems.

Reproductive Hazards: No known effect

National Legislation: None
(For further information see Section 3, Adverse Health Effects).

12 ECOLOGICAL INFORMATION

Ammonia gas can cause damage to the ecology due to its high alkalinity and affinity for water. pH changes can occur in the immediate environs of a spill which could affect both flora and fauna

13 DISPOSAL CONSIDERATIONS

Disposal Methods. Ammonia may be disposed of by discharge into water of sufficient volume to absorb it. Disposal of the resultant ammonium hydroxide, including and subsequent neutralisation products, must be done in an environmentally safe manner that, for example, will not be harmful to aquatic life. Large amounts should only be handled by the gas supplier.

14 TRANSPORT INFORMATION

ROAD TRANSPORTATION

LIN No.	1005
Class	2.3 Toxic gas
Subsidiary risk	Corrosive, Inhalation hazard
ERG No	125
Hazchem warning	Toxic gas

SEA TRANSPORTATION

IMDG	1005
class	2.3
Label	Toxic gas

AIR TRANSPORTATION

ICAO/IATA Code	1005
Class	2.3
Subsidiary risk	Toxic, corrosive gas
Packaging group	
- Cargo	200
- Passenger	Forbidden
Maximum quantity allowed	
- Cargo	25kg
- Passenger	Forbidden

15 REGULATORY INFORMATION

GHS Hazard class: Flam gas 2
Acute tox 3
(Inhalation)

MATERIAL SAFETY DATA SHEET (MSDS)

AMMONIA

(Please ensure that this MSDS is received by the appropriate person)

Skin cor: 1B
Acute aquatic: 1

National Legislation: OHSact and Regulations (85 of 1993)
Refer to SANS 10234 and SANS 1034 Supplement for explanation of the above

16 OTHER INFORMATION

Bibliography
Compressed Gas Association, Arlington, Virginia
Handbook of Compressed Gases - 3rd Edition
Matheson, Matheson Gas Data Book - 6th Edition
SANS 10265 - Labelling of Dangerous Substances

17 EXCLUSION OF LIABILITY

Information contained in this publication is accurate at the date of publication. The company does not accept liability arising from the use of this information, or the use, application, adaptation or process of any products described herein.