



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE ACIDEZ EN MEDIOS MARINOS SIMULADOS POR
ESPECTROFOTOMETRÍA Y MICROSENSORES SELECTIVOS (MICRO ISE) DE
ESTADO SÓLIDO.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO
PRESENTA:
RICARDO ADRIÁN MARTÍNEZ GALARZA**



Ciudad de México

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: José Alejandro Baeza Reyes**

VOCAL: **Profesor: Gloria García Ramírez**

SECRETARIO: **Profesor: Carolina Flores Ávila**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Joaquín Preza de la Vega**

2° SUPLENTE: **Profesor: Alberto Colin Segundo**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**Laboratorio de Electroquímica Analítica, Investigación y Enseñanza Experimental.
Anexo 3E, Edificio A, Facultad de Química. Laboratorio Cambio Global y Climático,
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Ciudad Universitaria, UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

DR. JOSÉ ALEJANDRO BAEZA REYES

SUPERVISOR TÉCNICO:

DR. JOAN ALBERT SÁNCHEZ CABEZA

SUSTENTANTE:

RICARDO ADRIÁN MARTÍNEZ GALARZA

Agradecimientos

A mi Universidad, mi Facultad, mis profesores por brindarme la formación académica
para toda la vida.

A mi familia: mi madre Maribel, mi padre Carlos, mis hermanos Carlos, Julio y Daniel y a
mi niña hermosa a quien quiero tanto: Sara. He recibido tanto de ustedes que estoy muy
agradecido con todos por los momentos felices que me han brindado.

A mi asesor, el Dr. Alejandro Baeza, por permitir formar parte de su equipo de trabajo y
brindarme la oportunidad y confianza de desarrollar éste proyecto.

A Arturo de Jesús “Joresen”, porque me dio los mejores consejos y las palabras para
seguir siempre adelante.

En general al equipo de laboratorio de microescala, al profesor Allan Noé y Adrián de
Santiago, gran ejemplo de trabajo y constancia proporcionando los más profundos rincones de
su experiencia en la Química.

Al Dr. Joan-Albert Sánchez Cabeza, por apoyar incondicionalmente en todo momento en
la realización de este proyecto y proporcionar los mejores consejos.

Sabiendo que una vida entera no es suficiente para expresar mi gratitud.
Quiero que sientan que el objetivo logrado también es de ustedes y que la
fuerza que me ayudó a conseguirlo fue su apoyo.

Con cariño y admiración

Ricardo Adrián

Lic. En Química

Este trabajo se realizó en el laboratorio de electroquímica microanalítica del Dr. José Alejandro Baeza Reyes de la Facultad de Química y en el Laboratorio Cambio Global y Climático del Dr. Joan-Albert Sánchez Cabeza del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. El objetivo fue contribuir en el ámbito de química marina mediante la implementación de la espectrofotometría como método para la determinar el pH del agua de mar en la zona costera de México. El trabajo ha sido apoyado por los siguientes proyectos:

- Impactos del Cambio Climático y Global en zonas costeras de México, CONACYT PDCPN2013-01/214349.
- Corales hermatípicos como archivos naturales de cambios climáticos en el Caribe Mexicano, CONACYT-CNR C0013-2016-05 277942
- Observatorios costeros y registros ambientales de la acidificación de los mares mexicanos, CONACYT SEMARNAT-2016-01-278634, 2017-2019.
- Observatorio del Cambio Global en la zona costera de Mazatlán, Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IB201612-2.
- Establecimiento de una red de observaciones en el Caribe para evaluar la acidificación de los océanos y su impacto en las floraciones de algas nocivas, a través del uso de técnicas nucleares e isotópicas. Proyecto de Cooperación

Técnica del Organismo Internacional de la Energía Atómica (Naciones Unidas)
RLA7020.

- Supporting a Global Ocean Acidification Observing Network-towards Increased Involvement of Developing States. Proyecto de Cooperación Técnica del Organismo Internacional de la Energía Atómica (Naciones Unidas) INT7019.

Partes de este trabajo han sido presentadas en el foro nacional:

Presentación del trabajo titulado: “Determinación de pH en agua oceánica mediante espectrofotometría UV-Visible, desarrollo de técnicas analíticas a micro-escala de instrumentación a bajo costo: micropotenciometría” en la modalidad de póster con número de control QANA-E4-C y además cuenta con la participación en el Concurso Nacional de Carteles Estudiantiles, durante el 51° Congreso Mexicano de Química, 35° Congreso Nacional de Educación Química, Pachuca de Soto, Hidalgo, México del 28 de Septiembre a 1 de Octubre del 2016.

Y en el siguiente foro internacional:

Presentación del trabajo titulado: “Determination of acidity level in simulated seawater by spectrophotometry” en la modalidad de póster, durante el Atlantic Basin Conference on Chemistry, que se llevó a cabo en la ciudad de Cancún, Quintana Roo, México del 23 al 26 de Enero del 2018.



SOCIEDAD QUÍMICA DE MÉXICO, A.C.

"La química nos une."

otorga el presente

Reconocimiento

a

Ricardo Adrián Martínez Galarza y José Alejandro Baeza Reyes.

por su participación presentando el Trabajo Estudiantil en Modalidad Cartel titulado

Determinación de pH en agua oceánica mediante espectrofotometría UV-Visible, desarrollo de técnicas a micro-escala de instrumentación a bajo costo: mocropotenciometría. QANA-E4-C

en el marco de las actividades del

51º Congreso Mexicano de Química

35º Congreso Nacional de Educación Química

Pachuca de Soto, Hidalgo, México.

28 de Septiembre a 1 de Octubre de 2016

Dr. Benjamín Velasco Bejarano
Presidente Nacional
Sociedad Química de México, A.C.

Dra. María del Jesús Rosales Hoz
Presidente de Congresos
Sociedad Química de México, A.C.

Dr. Antonio Rafael Tapia Benavides
Presidente Local de Congresos, 2016
UAEH





Contenido

Símbolos, significado y unidades	13
Introducción	15
Objetivo general.....	20
Hipótesis general	20
Capítulo 1. Antecedentes Generales	21
1.1 Cambio global.....	22
1.2 El CO_2 atmosférico.....	22
1.3 Interacción del CO_2 atmosférico con el agua de mar	23
1.4 Acidificación Oceánica	24
1.5 Acidificación en las zonas costeras de México.....	24
Capítulo 2. Estudio Espectrofotométrico	26
2.1 Generalidades	27
2.2 Principios teóricos	27
2.2.1 Ley de Lamber-Beer-Bouger.....	27
2.2.2 Determinación del pK_a de un indicador mediante curvas $A = f(\lambda)$	29
2.2.3 La espectrofotometría para determinar el pH del agua de mar.....	32
2.3 Objetivos particulares	36
<i>Contenido</i>	10

2.4 Hipótesis.....	37
2.5 Trabajo experimental.....	37
2.5.1 Reactivos e instrumentos.....	37
2.5.2 Metodología analítica.....	38
2.6 Resultados experimentales.....	46
2.6.1 Valoración potenciométrica del púrpura de m-Cresol.....	46
2.6.2 Absortividad molar de HIn^- e In^{2-}	49
2.6.3 Cologaritmo de la constante de disociación pK_a	60
2.6.4 Longitud de onda del punto isobéptico.....	66
2.6.5 Relaciones de absortividad molar e_1 , e_2 y e_3	67
2.6.6 Cálculo de pH espectrofotométrico.....	68
2.8 Discusión de resultados.....	72
2.9 Conclusiones particulares.....	76
Capítulo 3. Estudio Potenciométrico.....	77
3.1 Generalidades.....	78
3.2 Principios teóricos.....	80
3.2.1 Potenciales electroquímicos.....	80
3.2.2 Electrodo de iones selectivos <i>ISE</i>	80
Contenido.....	11

3.2.3 Ecuación de Nikolsky	81
3.2.4 Electrodo de estado sólido W° selectivo a H^{+}	82
3.3 Objetivos particulares	83
3.4 Hipótesis.....	83
3.5 Trabajo experimental.....	84
3.5.1 Materiales y reactivos	84
3.5.2 Metodología analítica	85
3.6 Resultados experimentales del uso de W° como electrodo de trabajo.....	88
3.6.1 Calibración potenciométrica.....	88
3.6.2 Comportamiento potenciométrico	90
3.6.3 Selectividad.....	92
3.6.4 Determinación del pH de un buffer de tris en agua de mar simulada	94
3.7 Discusión de resultados	95
3.8 Conclusiones particulares	97
Capítulo 4. Conclusiones y comentarios	98
Capítulo 5. Bibliografía.....	102

Símbolos, significado y unidades

A : absorbancia

Φ_{In} : abundancia relativa en medio

homogéneo de la especie In^{2-}

R : cociente de absorbancias

ϵ_i : cociente de absorptividades molares

ϵ_i : coeficiente de absorptividad molar de la especie i / $L mol^{-1} cm^{-1}$

$\alpha_{In(H)}$: coeficiente de especiación en medio homogéneo de la especie In^{2-} con respecto a la partícula intercambiada H^+

$\mathcal{K}_{H^+,M^{z+}}^{pot}$: coeficiente de selectividad potenciométrico del ion H^+ con respecto al ion interferente M^{z+}

K_0 : coeficiente de solubilidad $mol atm L^{-1}$

r^2 : coeficiente de determinación en una correlación lineal

pK_a : cologaritmo de la constante de acidez del par conjugado ácido-base

HIn^-/In^{2-}

C_0 : concentración inicial / $mol L^{-1}$

$mol kg^{-1}$: concentración molar

C_{In} : concentración molar total del indicador / $mol L^{-1}$

$[i]$: concentración molar efectiva de la i -ésima especie / $mol L^{-1}$

K_a : constante aparente de acidez de la especie HIn^-

β_n : constante aparente de formación global para n partículas unidas al polireceptor

F : constante de Faraday / $96500 C mol^{-1}$

h : constante de Planck $1.05 \times 10^{-34} J s$

S_{pH} : desviación estándar del pH

$S_{pot.}$: desviación estándar del potencial / mV

DUZP: Diagrama Unidimensional de Zonas de Predominio

ISE: ion selective electrode (electrodo de iones selectivo)

$W^{\circ}|WO_3$: electrodo de wolframio

E: energía de un fotón / Joule

HIn^{-} : forma protonada del indicador

In^{2-} : forma no protonada del indicador

ν : frecuencia de onda / s^{-1}

I: fuerza iónica / $mol L^{-1}$

G(V): función de Gran

$u(R)$: incertidumbre del cociente *R*

$u(e_i)$: incertidumbre del cociente e_i

$u(pH)$: incertidumbre del *pH*

$u(pK_a)$: incertidumbre del pK_a

I_0 : intensidad incidente

I: intensidad transmitida

$\log \beta_n$: logaritmo de la constante

aparente de formación global para *n*

partículas unidas al polireceptor

λ : longitud de onda / *nm*

λ_{isos} : longitud de onda del punto

isosbético / *nm*

HIn^{-} / In^{2-} : par conjugado ácido-base del indicador

E_{celda} : potencial de celda / *mV*

E_{ER} : potencial del electrodo de referencia / *mV*

E_{ET} : potencial del electrodo de trabajo / *mV*

$E_{prom.}$: potencial promedio / *mV*

E_j : potencial de unión líquida / *mV*

P_{CO_2} : presión parcial del CO_2

T: transmitancia

c: velocidad de la luz / $2.99 \times 10^8 m s^{-1}$

$V_{agreg.}$: volumen agregado / μL

$V_{p.f.v.}$: volumen de punto final de valoración / *mL*

W° : wolframio

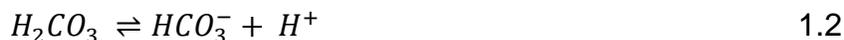
Introducción

De los diversos gases que se encuentran disueltos en agua de mar, se puede resaltar al oxígeno y al dióxido de carbono CO_2 ya que son los únicos, cuya variación de la concentración se encuentra influenciada directamente por la actividad biológica (Delgado & Estrada, 1994). El oxígeno es el principal producto de la fotosíntesis, mientras que el CO_2 es producto de la respiración, incluyendo la degradación de la materia orgánica.

La variación de la concentración de CO_2 disuelto en el agua de mar depende de los procesos de interacción océano-atmósfera, la variación en las productividades primaria (fitoplancton) y secundaria (zooplancton y organismos superiores). El CO_2 disuelto reacciona con el agua a través de la reacción:



que tiene una cinética rápida. El ácido carbónico formado se disocia de acuerdo a los siguientes equilibrios:



que describen el sistema CO_2 -carbonatos en el agua de mar. Un aspecto relevante de este sistema es la capacidad que tiene de actuar como amortiguador del pH marino (Lyman, 1987).

De forma general, los carbonatos participan en reacciones ácido-base, homogéneas y heterogéneas, de intercambio con la atmósfera y litosfera. Se ha propuesto que, en escalas de tiempo geológicas, el pH del agua de mar está determinado

por reacciones de los minerales arcillosos. Sin embargo, el control inmediato del nivel de acidez está determinado por el sistema ácido carbónico-carbonatos, y en menor grado por el equilibrio del sistema ácido bórico-boratos (Riley & Chester, 1971).

El sistema CO_2 - carbonatos también es importante por la relación que existe entre la concentración de ácido y los minerales carbonatados, ya que determina las condiciones bajo las cuales estas rocas carbonatadas se forman o se solubilizan (Garrels & Christ, 1965). Además algunos organismos utilizan los carbonatos disueltos para construir su exoesqueleto y sus conchas. Es pues manifiesta la importancia del sistema CO_2 -carbonatos para los ecosistemas marinos, de ahí la necesidad de conocer más acerca de este sistema desde diversas disciplinas.

La concentración de CO_2 disuelto se puede describir con la ley de Henry:

$$[CO_2] = P_{CO_2} K_0 \quad 1.4$$

donde $[CO_2]$ es la concentración de CO_2 ($mol L^{-1}$), P_{CO_2} es la presión parcial (atm) y K_0 es el coeficiente de solubilidad ($mol atm L^{-1}$) a una determinada temperatura. Bajo las condiciones ligeramente alcalinas que predominan en el océano, la presión parcial del CO_2 sólo es proporcional al CO_2 molecular, ya que el resto se encuentra como carbonato o bicarbonato.

La determinación del pH en el agua de mar mediante espectrofotometría se ha desarrollado desde la década de los 80, la técnica es simple, rápida y precisa, y se puede alcanzar una repetibilidad de hasta 0.0004 unidades de pH (NOAA, 2017), lo que permite

cuantificar con precisión la variación del pH marino provocado por el sistema CO_2 -carbonatos (Byrne, R. H., 1999).

El método se basa en el uso de indicadores ácido-base. En general, estos sistemas son sensibles a los cambios de pH . La estructura molecular de los indicadores suele ser de carácter orgánico y, en disolución acuosa, se comportan como ácidos no nivelados que están en equilibrio con su base conjugada. En la determinación de pH por espectrofotometría es necesario tener una caracterización previa del indicador antes de ser utilizado, ya que de ello depende el valor de las constantes usadas para el cálculo de pH (Clayton & Byrne, 1993; Zhang & Byrne, 1996; Balderas-Hernandez, Ramirez, Rojas-Hernandez, & Gutierrez, 1998).

Algunos indicadores reportados en la literatura para determinar pH por espectrofotometría son: azul de Bromotimol (Zhang & Byrne, 1996), rojo de Cresol (Byrne & Breland, 1989), y púrpura de m-Cresol (Clayton & Byrne, 1993; Dickson A. G., 2007; Loucaides, 2017). En este trabajo se utiliza púrpura de m-Cresol como indicador sensible al pH y las variables consideradas son: la concentración molar efectiva, el cologaritmo de la constante de disociación pK_a y los coeficientes de absortividad molar ϵ_i .

También es posible realizar la determinación potenciométrica del pH en agua de mar alcanzando una repetibilidad máxima de 0.02 unidades de pH , utilizando un electrodo de vidrio convencional (Dickson, A. G., 1993).

Sin embargo, esta operación analítica es inadecuada para determinar el pH por diversas razones: pierde selectividad, tiene interferencias y desgaste en la membrana, presenta error alcalino y tiene variaciones significativas del potencial de unión líquida. Además requiere un control estricto durante la elaboración de disoluciones buffer para la calibración.

Como alternativa, se propone utilizar un sensor selectivo (micro *ISE*) de estado sólido para determinar pH , en particular el sistema $W^0|WO_3$. Estos sensores pueden ser miniaturizados y construidos con materiales convencionales y de bajo costo (Baeza R., 2003) y se han empleado para realizar determinaciones potenciométricas de pH en disolventes acuosos y no acuosos e, incluso, en líquidos iónicos (García Mendoza, 2009).

La acidificación oceánica es uno de los impactos a los que está expuesto el ambiente costero. Desde el año 2013 se ha iniciado el diseño, implementación y operación de observatorios costeros en México que registran datos oceanográficos básicos mediante sondas, con el objetivo de establecer líneas base, identificar tendencias y, eventualmente, proporcionar datos útiles para realizar estudios más exhaustivos sobre el impacto del cambio global sobre los ecosistemas costeros.

En este trabajo se estudiaron la espectrofotometría visible y la potenciometría como métodos para determinar el nivel de acidez de muestras simuladas de agua de mar. Se evaluó la repetibilidad y exactitud del procedimiento, así como una estimación de la incertidumbre asociada a su determinación, con el fin de establecer una técnica reproducible y repetible para determinar con precisión el pH del agua de mar.

Objetivo general

- A) Determinar el pH del agua de mar simulada y comparar los resultados obtenidos mediante dos métodos diferentes: espectrofotometría visible y potenciometría.

Hipótesis general

“La concentración de protones libres solvatados en el agua de mar simulada se puede estimar con precisión empleando un indicador ácido-base, determinando su absorbancia por espectrofotometría y utilizando un electrodo de estado sólido selectivo a la actividad de H^+ ”

Capítulo 1. Antecedentes Generales

"El amor ahuyenta el miedo y, recíprocamente, el miedo ahuyenta al amor. Y no sólo al amor el miedo expulsa; también a la inteligencia, la bondad, todo pensamiento de belleza y verdad, y sólo queda la desesperación muda: y al final, el miedo llega a expulsar del hombre la humanidad misma"

Aldous Huxley (1894-1963) Novelista y Ensayista Británico

1.1 Cambio global

El planeta Tierra es un sistema en constante evolución y está conformado por diversos componentes que pueden interactuar directa o indirectamente. El clima, la civilización humana y los ciclos biogeoquímicos son algunos ejemplos de los componentes que lo integran e interactúan. El ser humano, cada vez más numeroso sobre el planeta, modifica constantemente su entorno, lo cual puede tener efectos adversos a escala mundial. La sociedad está alterando considerablemente los sistemas naturales y sus ciclos, como por ejemplo a través de los cambios de usos del suelo (agricultura y urbanización) y la contaminación de fuentes urbanas, industriales y agrícolas.

Al conjunto de cambios que impactan globalmente al planeta Tierra se le denomina cambio global, como por ejemplo: la variación en la composición de la atmósfera, la destrucción de la capa de ozono y el cambio climático. Estas transformaciones están ocurriendo mucho más rápido que en épocas anteriores debido a las actividades humanas (IIES, 2017). Una de las alteraciones del cambio global es el incremento de CO_2 atmosférico procedente de las actividades humanas.

1.2 El CO_2 atmosférico

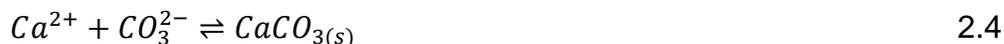
Desde el comienzo de la revolución industrial, a mediados del siglo XIX, la emisión de dióxido de carbono CO_2 ha causado aumento de la concentración de CO_2 atmosférico, aproximadamente de 280 a 405 ppmv en Agosto de 2017 (NOAA, 2017). La concentración atmosférica de CO_2 es la más alta que durante últimos 800.000 años y se espera que continúe aumentando a un ritmo acelerado. Debido a que el CO_2 puede absorber energía infrarroja y actuar como un gas de efecto invernadero, la temperatura

de la superficie terrestre y oceánica ha incrementado. De forma global, la temperatura atmosférica ha aumentado ≈ 0.85 [0.65 a 1.06] °C durante el periodo 1880-2012 (IPCC, 2014).

El aumento de CO_2 atmosférico se ha visto amortiguado por el océano, que es su más grande sumidero. La superficie de los océanos ha absorbido aproximadamente un tercio del total de las emisiones de CO_2 antropogénico de la atmósfera, lo que equivale a 550 mil millones de toneladas de carbono (Canadell, 2007). Esta absorción de CO_2 por el océano ha reducido la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera y amortigua, también, los efectos del cambio climático. Si este sumidero no existiera, la concentración de CO_2 en la atmósfera sería 55% más alta que la observada actualmente (Fabry, Seibel, Feely, & Orr, 2008).

1.3 Interacción del CO_2 atmosférico con el agua de mar

Las especies de carbono presentes en el océano forman el sistema de carbonatos, descrito mediante los equilibrios:



El CO_2 se incorpora al agua de mar a través la interface aire-océano. El sistema de carbonatos regula el pH del agua de mar y controla los flujos de CO_2 entre la biosfera, litosfera, atmósfera y el océano. Una vez que el CO_2 está en la atmósfera, queda

disponible para su uso durante la productividad primaria y los procesos de meteorización. Una consecuencia de la adsorción de CO_2 por los procesos marinos es la disminución del pH oceánico (Millero, 2013).

1.4 Acidificación Oceánica

La acidificación oceánica es la disminución del pH marino consecuencia del aumento de la concentración de dióxido de carbono en el agua de mar. Cuando el CO_2 se hidrata, se forma ácido carbónico que se disocia para formar iones H^+ y HCO_3^- . Eventualmente un ion H^+ puede reaccionar con un ion CO_3^{2-} en el medio para formar también HCO_3^- . El aumento en la concentración de carbono inorgánico en los océanos ha provocado la disminución del pH de las aguas superficiales a razón de 0.02 unidades / década (IPCC, 2007).

La acidificación marina tiene impacto en los organismos que dependen del estado de saturación del $CaCO_{3(s)}$, pues dependen de la calcificación, de la regulación del pH oceánico y por tanto del pCO_2 (Ries, Cohen, & McCorkle, 2009). Por otro lado, especies químicas orgánicas e inorgánicas presentes en el agua de mar, como por ejemplo, el boro, fósforo y nitrógeno, elementos traza como el hierro, vanadio, zinc, arsénico y cromo, algunos complejos metálicos con ligantes orgánicos, y la materia orgánica disuelta modifican su especiación debido a los cambios de pH (Doney, Fabry, Kleypas, & Feely, 2009).

1.5 Acidificación en las zonas costeras de México

Los océanos cubren el 70% de la superficie terrestre, formando el hábitat más grande que, incluyendo la zona costera alberga algunos de los ecosistemas más diversos y

productivos del mundo, incluyendo manglares y arrecifes de coral (CBD, 2007). México es el décimo segundo país con mayor extensión de litorales y de superficie marina en el mundo con un elevado gradiente climático, lo que permite que posea una alta riqueza de ecosistemas marinos y costeros. Sin embargo estos ecosistemas son vulnerables a los impactos de los fenómenos naturales y antropogénicos.

Los cambios en la química del océano causados por el aumento de CO_2 atmosférico pueden ser cuantificados. Sin embargo, aún se conoce poco del efecto que causa la acidificación oceánica en los procesos biológicos y biogeoquímicos en los ecosistemas costeros, especialmente en los ecosistemas costeros de México.

Capítulo 2. Estudio Espectrofotométrico

*“El amor no busca a sí un favor, ni por sí mismo tiene algún cuidado,
pero por el otro lado da la felicidad, y construye un cielo en la
desesperación del infierno”*

William Blake (1757-1827) Poeta Visionario Británico

2.1 Generalidades

La espectrofotometría UV-Visible es un método utilizado para cuantificar la concentración de compuestos y tiene como principio la interacción de la radiación electromagnética con la materia. Se fundamenta en medir la radiación monocromática absorbida por un compuesto en disolución lo que produce la excitación de los electrones a un nivel de energía superior.

2.2 Principios teóricos

2.2.1 Ley de Lamber-Beer-Bouger

La luz está formada por fotones, ondas electromagnéticas que se caracterizan por una velocidad en el vacío constante, una frecuencia y una longitud de onda característica. Estas dos propiedades están relacionadas por la ecuación:

$$\lambda\nu = nc \quad 3.1$$

donde λ es la longitud de onda, ν es la frecuencia, c es la velocidad de la luz, y n es el índice de refracción del material a través por el cual pasa la luz. En el vacío la velocidad de la luz es $2.99 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$, y es menor en cualquier medio material. La energía de un fotón, está dada por la ecuación:

$$E = h\nu \quad 3.2$$

donde E es la energía del fotón, ν es la frecuencia y h es la constante de Planck ($6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$). La intensidad de la luz es proporcional al número de fotones que atraviesan un plano de un área unitaria perpendicular a la fuente de energía por unidad de tiempo.

La radiación es absorbida por la materia en función de la estructura electrónica de la sustancia absorbente. Durante la absorción de un fotón, se pueden producir los siguientes fenómenos: 1) aumento de la energía rotacional de la molécula, 2) aumento de la energía vibracional de la molécula, 3) excitación de un electrón a un nivel de energía mayor.

Las componentes rotacionales, vibracionales y electrónicos de la energía total de una molécula sólo pueden tener ciertos niveles de energía bien definidos, y para que un fotón sea absorbido, su valor de energía debe ser igual a la diferencia energética entre dos niveles. Como consecuencia, los espectros de absorción de fotones son característicos de cada molécula. En general, las transiciones electrónicas en una molécula son provocadas por frecuencias de radiación en la región del visible y ultravioleta del espectro electromagnético (Prince, 1965).

La relación de I e I_0 se denomina transmitancia (T):

$$T = \frac{I}{I_0} \quad 3.3$$

La intensidad de la luz transmitida por una muestra, está relacionada con la intensidad de la luz incidente I_0 según la ecuación:

$$\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -abc \quad 3.4$$

donde a es la absorptividad, que depende del analito absorbente, la frecuencia de radiación, la temperatura y la naturaleza del disolvente, entre otros. Y b es la longitud de paso óptico. Si la concentración de un analito se expresa en mol L^{-1} y b en cm , a se

denomina coeficiente de absortividad molar y se simboliza como ε . Lo que permite definir a la absorbancia (A) como:

$$A = -\log T = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon b [i] \quad 3.5$$

Esta relación indica que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración del analito absorbente y se denomina ley de Lamber-Beer-Bouger. Para verificar el comportamiento de la ley de Lamber-Beer-Bouger, se realiza una curva de calibración de $A = f([i])$, donde $[i]$ es la concentración molar efectiva del analito en disolución (mol L^{-1}). Para lo cual se preparan disoluciones de concentración conocida y se determina la absorbancia a la longitud de onda elegida. El coeficiente de absortividad molar (ε_i), es igual a la pendiente de la regresión lineal.

2.2.2 Determinación del pK_a de un indicador mediante curvas $A = f(\lambda)$

Para las especies moleculares que presentan propiedades ácido-base, la absorción de la luz será diferente si dicha especie se encuentra protonada o no, por lo que, las disoluciones de especies ácido-base presentan valores de absorbancia que dependen del pH de equilibrio. La determinación de la absorbancia a diferentes pH permite calcular el valor de la constante aparente de disociación del indicador y, como consecuencia el intervalo útil de pH para que éste sea utilizado para indicar el punto final de una valoración ácido-base.

Las curvas $A = f(\lambda)$ corresponden a los espectros de absorción del indicador en diferentes condiciones de amortiguamiento del pH . Al superponer los espectros, se observa que se cruzan en una longitud de onda específica que corresponde al punto

isosbético. Y se cumple que, para esa longitud de onda, la absorbancia se mantiene constante si el equilibrio es modificado por el pH . Además, en las curvas isosbéticas la absorbancia de dos especies es la misma en un punto que es independiente de la especiación del analito.

En disolución acuosa, el equilibrio de disociación llevado a cabo por el indicador es:



para obtener el pK_a del par conjugado ácido base HIn^-/In^{2-} se utiliza la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{[In^{2-}]}{[HIn^-]}\right) \quad 3.7$$

que relaciona el pH de una disolución con el logaritmo de la concentración molar efectiva del ácido y su base conjugada. Puede construirse una relación en donde se sustituyan las concentraciones molares por la absorbancia de las disoluciones, donde están presentes HIn^- e In^{2-} (Patterson, 1999). Matemáticamente, la ecuación puede transformarse para quedar en función del logaritmo de las absorbancias. Para ello hay que considerar el equilibrio ácido-base, el balance de masa asociado a la concentración molar total, la ley de Lamber-Beer-Bouger y la ley de aditividades.

La absorbancia de una disolución del indicador es la suma de absorbancias de cada una de las formas químicas presentes, que a su vez, están relacionadas con la concentración molar de la ley de Lamber-Beer-Bouger:

$$A = \varepsilon_{HIn} b [HIn^-] + \varepsilon_{In} b [In^{2-}] \quad 3.8$$

donde b es la longitud de paso óptico, y ε_{HIn} y ε_{In} son respectivamente los coeficientes de absorptividad molar de la forma protonada y no protonada del indicador a una longitud de onda determinada. Si para una cierta longitud de onda λ_i se verifica que $\varepsilon_{HIn} = \varepsilon_{In}$ para todas las curvas de absorbancia (es decir, pasan por un mismo punto), se puede concluir que las dos especies químicas del indicador están en estado de equilibrio y que dicho estado es único.

Para una concentración total de indicador C_{In} , el balance de masa asociado es:

$$C_{In} = [HIn^-] + [In^{2-}] \quad 3.9$$

sustituyendo en la ecuación 3.8:

$$A = \varepsilon_{HIn}b[HIn^-] + \varepsilon_{In}b(C_{In} - [HIn^-]) \quad 3.10$$

$$A = \varepsilon_{In}b(C_{In}) + [HIn^-]b(\varepsilon_{HIn} - \varepsilon_{In}) \quad 3.11$$

$$A = A_{In} + [HIn^-]b(\varepsilon_{HIn} - \varepsilon_{In}) \quad 3.12$$

de donde se deriva la concentración de $[HIn^-]$:

$$[HIn^-] = \frac{A - A_{In}}{b(\varepsilon_{HIn} - \varepsilon_{In})} \quad 3.13$$

de forma similar para $[In^{2-}]$:

$$[In^{2-}] = \frac{A_{HIn^-} - A}{b(\varepsilon_{HIn} - \varepsilon_{In})} \quad 3.14$$

finalmente, la relación queda expresada de la siguiente manera:

$$\frac{[In^{2-}]}{[HIn^-]} = \frac{A_{HIn^-} - A}{A - A_{In}} \quad 3.15$$

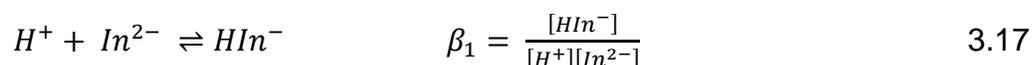
$$pH = pK_a + \log\left(\frac{A_{HIn^-} - A}{A - A_{In}}\right) \quad 3.16$$

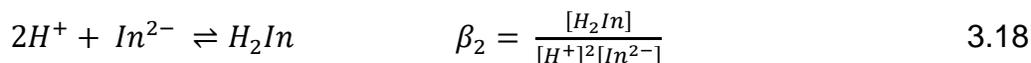
es decir, la relación ahora queda expresada en función de absorbancias, $pH = f\left(\log\left(\frac{A_{HIn^-} - A}{A - A_{In^{2-}}}\right)\right)$, determinadas experimentalmente. Esta relación muestra una línea recta con pendiente $\frac{1}{n}$ y ordenada en el origen igual al pK_a .

2.2.3 La espectrofotometría para determinar el pH del agua de mar

El uso de la espectrofotometría como método para determinar el pH del agua del océano se inició en la década de los años 80. La técnica es simple, rápida y precisa (Byrne & Breland, 1989). Autores como (Clayton & Byrne, 1993) han reportado que es posible alcanzar precisiones analíticas del orden de 0.001 unidades de pH a bordo de cruceros oceanográficos.

El agua de mar es un medio ideal para emplear indicadores colorimétricos sensibles a los cambios de pH . Como la concentración de elementos traza es muy baja, se observan cambios mínimos en las propiedades fisicoquímicas del indicador (Baldo, Morris, & Byrne, 1985). La elección adecuada del indicador depende del pH de la muestra. De manera general, se recomienda trabajar en un intervalo de ± 1 el valor del pK_a . Generalmente, estos indicadores presentan tres formas químicas en disolución acuosa (H_2In , HIn^- e In^{2-}), y cada una de ellas tiene distintos espectros de absorción. Para el púrpura de m-Cresol, la forma H_2In presenta color rosa, la forma monoprotonada HIn^- color amarillo paja, y la forma In^{2-} color púrpura. Las constantes de formación global para de los equilibrios de protonación del polireceptor (In^{2-}) son:





Como la fuerza iónica del medio generalmente está fijada, los coeficientes de actividad adquieren un valor determinado. Dada esta condición, la constante aparente de formación global queda expresada en función de concentraciones molares efectivas. El balance de masa asociado a la concentración total del indicador es:

$$C_{In} = [In^{2-}] + [HIn^-] + [H_2In] \quad 3.19$$

sustituyendo en la ecuación 3.19 los términos de concentración molar despejados de las constantes de formación global (ecuaciones 3.17 y 3.18), se tiene:

$$C_{In} = [In^{2-}] + \beta_1[H^+][In^{2-}] + \beta_2[H^+]^2[In^{2-}] \quad 3.20$$

Factorizando la concentración molar del polireceptor $[In^{2-}]$:

$$C_{In} = [In^{2-}]\{1 + \beta_1[H^+] + \beta_2[H^+]^2\} \quad 3.21$$

La concentración total queda expresada en función de una relación polinomial que depende del pH, y que puede simplificarse de la siguiente manera:

$$C_{In} = [In^{2-}]\alpha_{In(H)} \quad 3.22$$

donde $\alpha_{In(H)}$ es el coeficiente de especiación en medio homogéneo de la especie In^{2-} con respecto a la partícula intercambiada H^+ , en donde: $\alpha_{In(H)} = 1 + \beta_1[H^+] + \beta_2[H^+]^2$. Dicha función permite sistematizar los cálculos de concentraciones molares efectivas (Baeza Reyes, 2011).

En un sistema polidonador, para un valor de pH específico es posible calcular la concentración molar de las especies que participan en un equilibrio determinado mediante la relación:

$$[In^{2-}] = C_0 \Phi_{In} \quad 3.23$$

donde Φ_{In} es la abundancia relativa en medio homogéneo de la especie In^{2-} , que depende del parámetro adimensional pH y de la constante aparente de formación global (β_n), con $\Phi_{In} = \{\sum_{n=0}^j \beta_n [H^+]^n\}^{-1}$.

Por otra parte, la absorbancia de una disolución del indicador es la suma de absorbancias de cada una de las formas químicas presentes, que a su vez, están relacionadas con la concentración molar de la ley de Lamber-Beer-Bouger. Para el púrpura de m-Cresol la absorbancia puede expresarse como:

$$a_\lambda = \{\lambda \varepsilon_{In}[In^{2-}] + \lambda \varepsilon_{HIn}[HIn^-] + \lambda \varepsilon_{H_2In}[H_2In]\} b \quad 3.24$$

donde a_λ es la absorbancia de la disolución a la longitud de onda λ , $\lambda \varepsilon_i$ es el coeficiente de absortividad molar de la especie i a esa longitud de onda, y b es la longitud del paso óptico de la celda.

Sustituyendo los términos de concentración molar obtenidos de las constantes aparentes de formación global:

$$\frac{a_\lambda}{b} = \{\lambda \varepsilon_{In}[In^{2-}] + \lambda \varepsilon_{HIn} \beta_1 [In^{2-}][H^+] + \lambda \varepsilon_{H_2In} \beta_2 [In^{2-}][H^+]^2\} \quad 3.25$$

Factorizando la concentración molar del polireceptor $[In^{2-}]$

$$\frac{a_\lambda}{b} = [In^{2-}]\{\lambda \varepsilon_{In} + \lambda \varepsilon_{HIn} \beta_1 [H^+] + \lambda \varepsilon_{H_2In} \beta_2 [H^+]^2\} \quad 3.26$$

Ahora bien, cuando se determina la absorbancia de una disolución, normalmente se conoce la concentración analítica del indicador y la longitud de paso óptico de la celda. Considerando estas dos variables constantes, se puede definir a la absorbancia de la siguiente manera (A_λ):

$$A_{\lambda} = \frac{a_{\lambda}}{bC_{In}} \quad 3.27$$

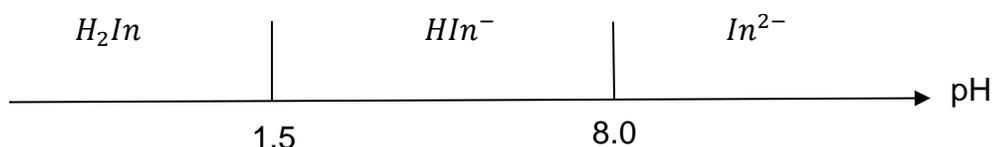
Dividiendo la ecuación 3.26 entre la concentración total, la relación queda expresada como:

$$A_{\lambda} = \frac{a_{\lambda}}{bC_{In}} = \frac{\lambda\varepsilon_{In} + \lambda\varepsilon_{HIn}\beta_1[H^+] + \lambda\varepsilon_{H_2In}\beta_2[H^+]^2}{1 + \beta_1[H^+] + \beta_2[H^+]^2} \quad 3.28$$

$$A_{\lambda} = \{ \lambda\varepsilon_{In} + \lambda\varepsilon_{HIn}\beta_1[H^+] + \lambda\varepsilon_{H_2In}\beta_2[H^+]^2 \} \Phi_{In} \quad 3.29$$

La ecuación 3.29 hace posible determinar la concentración molar efectiva de protones libres solvatados, considerando la formación de las especies H_2In , HIn^- e In^{2-} .

Considerando lo anterior, el diagrama unidimensional de zonas de predominio *DUZP* para las formas químicas del indicador es:



Si $pH > 1.5$, la concentración molar de H_2In comienza a disminuir y, su abundancia relativa tiende a cero, por lo que la ecuación 3.29 puede aproximarse a:

$$A_{\lambda} = \frac{\lambda\varepsilon_{In} + \lambda\varepsilon_{HIn}\beta_1[H^+]}{1 + \beta_1[H^+]} \quad 3.30$$

Definiendo $R = \frac{A_{\lambda_2}}{A_{\lambda_1}}$, es decir la absorbancia a la longitud de onda λ_2 y λ_1 se llega a la

relación:

$$R = \frac{2\varepsilon_{In} + 2\varepsilon_{HIn}\beta_1[H^+]}{1\varepsilon_{In} + 1\varepsilon_{HIn}\beta_1[H^+]} = \frac{A_{\lambda_2}}{A_{\lambda_1}} \quad 3.31$$

De la ecuación 3.31, es posible despejar la concentración de $[H^+]$ dividiendo por $1\varepsilon_{HIn}$:

$$R = \frac{\frac{2\varepsilon_{In}}{1\varepsilon_{HIn}} + \frac{2\varepsilon_{HIn}}{1\varepsilon_{HIn}}\beta_1[H^+]}{\frac{1\varepsilon_{In}}{1\varepsilon_{HIn}} + \beta_1[H^+]} \quad 3.32$$

Reacomodando la ecuación anterior, para que el pH quede en función de los coeficientes de absorptividad molar y de la constante aparente de formación global β_1 :

$$[H^+] \beta_1 = \frac{\frac{2\varepsilon_{In^-} - R \frac{1\varepsilon_{In^-}}{1\varepsilon_{HIn}}}{1\varepsilon_{HIn}}}{R - \frac{2\varepsilon_{HIn}}{1\varepsilon_{HIn}}} \quad 3.33$$

Aplicando el operador logaritmo, y reacomodando:

$$\log[H^+] + \log \beta_1 = \log \left(\frac{\frac{2\varepsilon_{In^-} - R \frac{1\varepsilon_{In^-}}{1\varepsilon_{HIn}}}{1\varepsilon_{HIn}}}{R - \frac{2\varepsilon_{HIn}}{1\varepsilon_{HIn}}} \right) \quad 3.34$$

$$\log[H^+] = -\log \beta_1 + \log \left(\frac{\frac{2\varepsilon_{In^-} - R \frac{1\varepsilon_{In^-}}{1\varepsilon_{HIn}}}{1\varepsilon_{HIn}}}{R - \frac{2\varepsilon_{HIn}}{1\varepsilon_{HIn}}} \right) \quad 3.35$$

$$pH = \log \beta_1 + \log \left(\frac{R - \frac{2\varepsilon_{HIn}}{1\varepsilon_{HIn}}}{\frac{2\varepsilon_{In^-} - R \frac{1\varepsilon_{In^-}}{1\varepsilon_{HIn}}}{1\varepsilon_{HIn}}} \right) \quad 3.36$$

Además, $\beta_1 = K_a^{-1}$; $\log \beta_1 = pK_a$. La ecuación 3.36 permite calcular el pH de una disolución que contenga al indicador, conocidos los coeficientes de absorptividad molar, el cociente $R = \frac{A_{\lambda_2}}{A_{\lambda_1}} = \frac{A_{578}}{A_{434}}$ y cologaritmo de la constante de disociación pK_a del par conjugado ácido-base HIn^-/In^{2-} .

2.3 Objetivos particulares

1. Determinar la concentración analítica de una disolución de púrpura de m-Cresol.
2. Determinar la absorptividad molar de las especies HIn^- e In^{2-} realizando curvas de calibración a pH amortiguado.
3. Obtener el pK_a aparente del par conjugado ácido-base HIn^-/In^{2-} mediante curvas isobélicas.

4. Elaborar disoluciones buffer de $\text{tris} - \text{H}^+ / \text{tris}$ en agua de mar simulada y determinar el pH mediante espectrofotometría visible.
5. Determinar la precisión y exactitud de la determinación de pH por espectrofotometría visible.
6. Estimar la incertidumbre en la determinación de pH por espectrofotometría visible.

2.4 Hipótesis

“Debido a sus propiedades ácido base, el púrpura de m-Cresol puede ser empleado para determinar la concentración de protones libres solvatados del agua de mar simulada.”

2.5 Trabajo experimental

2.5.1 Reactivos e instrumentos

- Espectrofotómetro Agilent modelo 5384A UV-Vis: el sistema utiliza una configuración de fotodiodos que permite la medición simultánea de luz visible y ultravioleta.
- La gestión de datos y el análisis de los espectros se realizó con el software Agilent ChemStation (Agilent Technologies, 2011). El compartimento de las celdas se acondicionó a $(25.0 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$, por medio de un Peltier Agilent modelo 89090A.
- Cubetas-UV macro desechable de plástico de 4 mL, trayecto óptico de 10 mm, BRAND.
- Electrodo de vidrio de 12 mm de diámetro, BECKMAN COULTER.

- Multímetro MUL-630 con interface USB para P.C. para realizar el monitoreo potenciométrico. El multímetro cuenta con un software que es capaz de registrar datos y guardarlos en archivos .txt
- Púrpura de metacresol R.A., REASOL, MW: 382.42 g mol⁻¹.
- Trizma hydrochloride, SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₄H₁₁NO₃ *HCl > 99.0%, MW: 157.60 g mol⁻¹.
- Trizma base, SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₄H₁₁NO₃ > 99.0%, MW: 121.14 g mol⁻¹.
- Cloruro de Magnesio, J.T. Baker, México, MgCl₂*6H₂O, MW: 203.30 g mol⁻¹.
- Cloruro de Calcio, J.T. Baker, México, CaCl₂*2H₂O, MW: 147.01 g mol⁻¹.
- Sulfato de Sodio, J.T. Baker, México, Na₂SO₄, MW: 142.04 g mol⁻¹.
- Cloruro de Sodio, J.T. Baker, México, NaCl, MW: 58.44 g mol⁻¹.
- Cloruro de Potasio, J.T. Baker, México, KCl, MW: 74.55 g mol⁻¹.
- Acetato de Sodio, SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₂H₃O₂Na > 99.98%, MW: 84.02 g mol⁻¹.
- Ácido Acético glacial, SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₂H₄O₂ > 99.7%.
- Ácido Clorhídrico SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: HCl, 36.5-38.0%.
- Hidróxido de Sodio R.A., J.T. Baker: NaOH > 99.9%, MW: 40 g mol⁻¹.
- Biftalato de Potasio J.T. Baker: C₈H₅KO₄ > 99.9%, MW: 204.228 g mol⁻¹.

2.5.2 Metodología analítica

En primer lugar, se realizó la verificación de la calibración de la balanza analítica. Las pruebas que se llevaron a cabo fueron: prueba de excentricidad, repetibilidad y linealidad.

La incertidumbre de la deferencia entre la masa reportada en el certificado de calibración y la masa medida por la balanza se comparó con el Error Máximo Tolerado para ese valor de carga, especificado en la NOM-010-SFC-1994. En la Tabla 1 se resumen los resultados de la calibración de la balanza.

Ulteriormente se verificó la calibración del material volumétrico. El método utilizado consistió en determinar el volumen de un líquido contenido en el instrumento (método gravimétrico). La incertidumbre asociada al volumen contenido se comparó con la tolerancia reportada por el fabricante, todos los instrumentos pasaron la prueba de verificación (matraces, pipetas y bureta).

Tabla 1

Resultados de la verificación de la balanza analítica.

<i>Prueba</i>	<i>Masa de prueba / g</i>	<i>$u(m_{prue.}) / g$</i>	<i>EMT / g</i>	<i>$u(m) / g$</i>
<i>Excentricidad</i>	49.99250	0.00005	0.003	0.00002

<i>Prueba</i>	<i>Masa de prueba / g</i>	<i>$u(m_{prue.}) / g$</i>	<i>EMT / g</i>	<i>$u_{repl.} / g$</i>
<i>Repetibilidad</i>	49.99250	0.00005	0.001	0.0005
	99.98950	0.00009		0.0004

<i>Prueba</i>	<i>Masa de prueba / g</i>	<i>$u(m_{prue.}) / g$</i>	<i>EMT / g</i>	<i>$u_{comb.}(m) / g$</i>
<i>Exactitud</i>	0.00500	0.00001	0.001	0.0006
	0.04999	0.00002	0.001	0.0006
	0.99990	0.00002	0.001	0.0006
	4.99930	0.00003	0.001	0.0007
	9.99860	0.00004	0.002	0.0006
	19.99700	0.00004	0.002	0.0006
	49.99250	0.00005	0.003	0.0007
	99.98950	0.00009	0.003	0.0006

Nota. EMT: Error Máximo Tolerado. La incertidumbre de la masa de prueba se ha tomado del informe de calibración de las pesas.

Se concluyó que la balanza analítica cumple con la prueba de excentricidad, repetibilidad y exactitud. La incertidumbre de las pruebas es menor el Error Máximo Tolerado para esa carga de prueba.

Cálculo de la incertidumbre combinada

De acuerdo con la GUM (Guide to the expression of Uncertainty in Measurement), primero se identificaron las fuentes de incertidumbre cuantificables asociadas a la determinación. Se tomaron en cuenta desviaciones estándar, promedios y que distribución sigue cada instrumento utilizado. Después de estimar los componentes individuales y expresarlos como incertidumbres estándar, se calculó la incertidumbre combinada utilizando la ley de propagación de incertidumbres.

La relación entre la incertidumbre combinada $u_c(y)$ de un valor y y la incertidumbre de los parámetros independientes tiene la siguiente expresión:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 u^2(x_i)}$$

En la cual f es la función que depende de las N cantidades x_1, x_2, \dots, x_n que están asociadas al mensurando (GUM, 2012).

Determinación de la concentración analítica (C_{In}) de una disolución de púrpura de m-Cresol

Para determinar la concentración analítica (C_{In}) de una disolución de púrpura de m-Cresol, se realizó una microtitulación con monitoreo potenciométrico de microelectrodos. Como electrodo de trabajo se empleó un alambre de W^0 de 1.0 mm de diámetro y 5 cm

de longitud, colocado dentro de una punta de micropipeta automática. La calibración del electrodo indicador se realizó con disoluciones buffer de pH (4.50, 5.55, 7.47, 8.90, 10.01). Se pesó la masa necesaria para preparar $(49.08 \pm 0.04) \text{ mL}$ de púrpura de m-Cresol de concentración inicial $C_0 = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$. De ahí, se tomaron 0.5 mL de disolución con una jeringa de insulina de $(1.01 \pm 0.01) \text{ mL}$ y se adicionó en la celda de 10 mL, agregando agua desionizada c.b.p. 5 mL. La titulación se hizo con NaOH $C_0 = (0.0946 \pm 0.0004) \text{ mol L}^{-1}$, cuya concentración analítica se determinó mediante su normalización con biftalato de potasio como material de referencia. En la titulación del indicador, se hicieron adiciones del titulante de 40 μL , realizando el procedimiento se por quintuplicado.

Determinación de los coeficientes de absortividad molar mediante curvas de calibración

Se prepararon 6 disoluciones de $(24.81 \pm 0.03) \text{ mL}$ partiendo de una disolución stock de concentración analítica $C_{In} = (6.69 \times 10^{-5} \pm 0.06 \times 10^{-5}) \text{ mol L}^{-1}$, las adiciones de indicador fueron de 1.0 mL, fijando la fuerza iónica con NaCl. En el caso de HIn^- , se empleó buffer de acetatos $pH = 4.5$. Mientras que para In^{2-} se utilizó NaOH $C_0 = (0.017 \pm 0.002) \text{ mol L}^{-1}$. En la Tabla 2 y 3 se presentan las condiciones experimentales en las que fueron elaboradas las disoluciones:

Tabla 2

Volumen agregado de reactivos para elaborar la curva de calibración, $pH=4.5$.

Disolución	Vol. de indicador / mL	C_{in} / mol L ⁻¹	Vol. de NaCl / mL	Buffer de acetatos $pH= 4.5$, c.b.p 25.0 mL
1	1.0	2.6E-06	1.0	25.0
2	2.0	5.3E-06	1.0	25.0
3	3.0	8.0E-06	1.0	25.0
4	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
5	5.0	1.3E-05	1.0	25.0
6	6.0	1.6E-05	1.0	25.0

Nota. Por simplicidad solo se presenta la condición de fuerza iónica 0.1 mol L⁻¹.

Tabla 3

Volumen agregado de reactivos para elaborar la curva de calibración, $pH=12$.

Disolución	Vol. de indicador / mL	C_{in} / mol L ⁻¹	Vol. de NaCl / mL	NaOH, $pH= 12$, c.b.p 25.0 mL
1	1.0	2.6E-06	1.0	25.0
2	2.0	5.3E-06	1.0	25.0
3	3.0	8.0E-06	1.0	25.0
4	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
5	5.0	1.3E-05	1.0	25.0
6	6.0	1.6E-05	1.0	25.0

Para modificar la fuerza iónica desde 0.1 a 0.7 mol L⁻¹ únicamente se cambió el volumen de cloruro de sodio agregado. Las Figuras 1 y 2 muestran las disoluciones de púrpura de m-Cresol a $pH = 4.5$ y $pH = 12.0$.



Figura 1. Púrpura de m-Cresol en Buffer de acetatos a $pH=4.5$.



Figura 2. Púrpura de m-Cresol en NaOH $C_0=0.01$ mol L⁻¹ a $pH=12$.

Se trazaron los espectros de absorción de manera independiente. Una vez colocada la muestra en la celda, se realizaron barridos de ventana 1 nm, para longitudes de onda de 380.0 nm a 400.0 nm, a una velocidad de 480.0 nm min⁻¹. La temperatura de la celda se ajustó con el Peltier Agilent del espectrofotómetro a (25.0 ± 0.1) °C.

Determinación del pK_a aparente del par conjugado ácido-base HIn^-/In^{2-}

Para la obtención del cologaritmo de la constante de disociación acida (pK_a), se prepararon 11 disoluciones (24.81 ± 0.03) mL de púrpura de m-Cresol en un intervalo de $7 \leq pH \leq 9$, fijando la fuerza iónica desde 0.1 a 0.7 mol L⁻¹ con NaCl. El volumen adicionado de indicador fue de (3.975 ± 0.002) mL, más buffer tris $C_0 = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$. En la Tabla 4 se muestran las condiciones experimentales en las que fueron elaboradas las disoluciones. La concentración del indicador en disolución es $C_{In} = (1.10 \times 10^{-5} \pm 0.01 \times 10^{-5}) \text{ mol L}^{-1}$.

Tabla 4

Condiciones experimentales para determinar el pK_a aparente del par conjugado ácido-base HIn^-/In^{2-} .

Disolución	pH	Vol. de indicador / mL	$C_{In} / \text{mol L}^{-1}$	Vol. de NaCl / mL	Buffer tris c.b.p 25.0 mL
1	7.0	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
2	7.2	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
3	7.4	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
4	7.6	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
5	7.8	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
6	8.0	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
7	8.2	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
8	8.4	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
9	8.6	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
10	8.8	4.0	1.0E-05	1.0	25.0
11	9.0	4.0	1.0E-05	1.0	25.0

Nota. Por simplicidad únicamente se presenta la condición de fuerza iónica 0.1 mol L⁻¹.

Al igual que las absorptividades molares, se obtuvieron las constantes de disociación (K_a) desde 0.1 a 0.7 mol L^{-1} y se trazaron los espectros de absorción de cada disolución. La Figura 3 muestra las disoluciones elaboradas para la determinación del pK_a aparente. El orden de adición de reactivos fue indicador, NaCl y por último el *tris*.



Figura 3. Disoluciones de Púrpura de m-Cresol a diferentes valores de pH. De izquierda a derecha: disolución amarilla pH=4.5, disolución púrpura pH=12.0.

Preparación del agua de mar simulada

Para la elaboración del agua de mar simulada de salinidad $S = 35$, se utilizó la fórmula reportada por Del Valls y Dickson (1998). Todas las sales fueron mantenidas secas en un horno a 100°C . En la Tabla 5 se presentan las sales utilizadas para la elaboración del agua de mar simulada.

Tabla 5

Composición del 1 L agua de mar simulada de salinidad $S=35$

Componente	Concentración / mol kg^{-1}	Masa pesada / g
NaCl	0.42764	24.964
Na_2SO_4	0.02927	4.160
KCl	0.01058	0.787
MgCl_2	0.05474	5.219
CaCl_2	0.01075	1.197

A partir de las concentraciones molales (Tabla 5) se calculó la masa de sales necesarias para preparar el agua de mar simulada. El *tris* es una sal orgánica utilizada

para la elaboración de buffers en agua de mar sintética, este amortiguador se emplea para calibrar celdas potenciométricas usadas para la determinación de pH oceánico (Hansson, 1973; Ramette y otros, 1977; Dickson 1993a). Se pesó la cantidad necesaria de *tris* - H^+ y *tris* base (Tabla 6) calculada a partir de la ecuación $pH = pK_a + \log\left(\frac{[tris]}{[tris-H^+]}\right)$, para una concentración inicial $C_0 = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ y volumen de $(250.0 \pm 0.1) \text{ mL}$. Las disoluciones elaboradas fueron guardadas en frascos de vidrio pyrex a una temperatura de $5 \text{ }^\circ\text{C}$. De ellas, se tomó una alícuota de $(24.81 \pm 0.03) \text{ mL}$, se adicionó $(3.975 \pm 0.002) \text{ mL}$ de indicador y se registraron los espectros de absorción.

Tabla 6

Masa de clorhidrato de tris y tris base pesada para elaborar buffers en agua de mar simulada.

Buffer	pH	Masa <i>tris</i> - H^+ / g	Masa <i>tris</i> / g	Agua de mar simulada c.b.p 250.0 mL
1	7.0	3.612	0.248	250.0
2	7.4	3.237	0.548	250.0
3	8.0	2.129	1.397	250.0
4	8.4	1.234	2.081	250.0
5	9.0	0.405	2.726	250.0

También se determinó el pH de un buffer de tris en agua de mar simulada. La disolución TRIS-T27-007 (3 Mayo 2015) fue proporcionada por el Laboratorio de Físicoquímica Marina de la Universidad de San Diego en California, y tiene un valor de $pH = (8.093 \pm 0.002)$, calculado a partir de la ecuación 18 (Del Valls & Dickson, 1998). Se preparó un volumen de 100.0 mL, agregando 4.0 mL de indicador. Se tomaron alícuotas de 3 mL de muestra y se midieron por espectrofotometría a una temperatura de $(25.0 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$.

2.6 Resultados experimentales

2.6.1 Valoración potenciométrica del púrpura de m-Cresol

La ecuación que se obtuvo de la recta de regresión lineal obtenida de la calibración previa del electrodo de trabajo es:

$$E = -54mV(pH) + 18 mV \quad r^2 = 0.9880$$

Para asignar valores de pH a cada punto de la valoración, se empleó la relación:

$$pH = \frac{E - 18 mV}{-54 mV} \quad 3.37$$

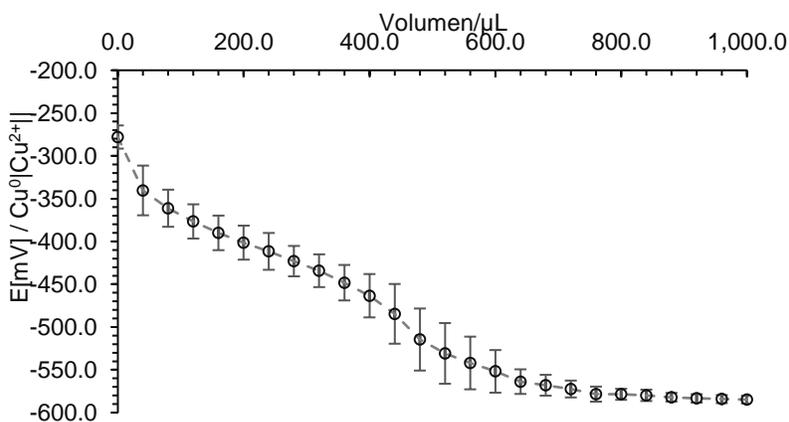


Figura 4. Curva ponderada de titulación potenciométrica (n=5), para la reacción de HIn^- con NaOH en agua desionizada. ET: W° , ER: $Cu^0|Cu^{2+}||$.

La Figura 4 muestra la curva de potencial de la especie HIn^- , realizada con monitoreo potenciométrico de microelectrodos, presenta el comportamiento de un ácido no nivelado disociado débilmente $\left[\log\left(\frac{K_a}{C_0}\right) = -7.0\right]$. Se aprecia la evolución del potencial durante la determinación analítica. En la Figura 5 se presenta el progreso del pH durante el

procedimiento analítico. La dispersión de los datos es mayor en la zona donde no se puede amortiguar el pH adecuadamente.

Esta evidencia experimental del comportamiento ácido-base del colorante indica que el nivel de acidez de una disolución está condicionado por la disponibilidad de las partículas H^+ disociadas. Consecuentemente, si la concentración inicial del indicador es $C_0 < 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, el aporte de los iones H^+ o de OH^- del agua se vuelve significativo y este impone el nivel de acidez alrededor de un valor muy cercano a $pH = 7$ (Baeza Reyes, 2011).

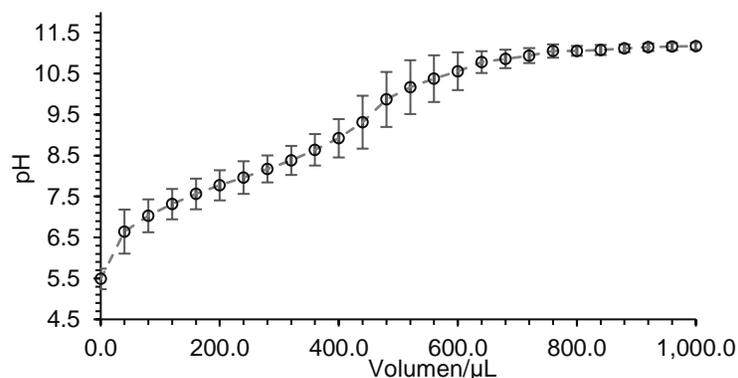


Figura 5. Gráfica ponderada ($n=5$) de pH en función del volumen agregado de titulante, para la curva de monitoreo potenciométrico de HIn^- con $NaOH$ en agua desionizada.

Para el cálculo de volumen de punto final de valoración ($V_{p.f.v.}$), se empleó la función de Gran para un ácido no nivelado que esta disociado débilmente (Figura 6). Del volumen de punto final de valoración $V_{p.f.v.} = (0.41 \pm 0.01) \text{ mL de NaOH}$

$$C_{In} = 0.41 \text{ mL NaOH} \left(\frac{0.0946 \text{ mol NaOH}}{1000 \text{ mL}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol } HIn^-}{1 \text{ mol NaOH}} \right) \left(\frac{1}{0.41 \text{ mL } HIn^-} \right) \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) = 0.083 \text{ mol L}^{-1}$$

$$C_{In} = (0.083 \pm 0.002) \text{ mol L}^{-1}$$

La incertidumbre relativa de la concentración del indicador es de tan sólo

$\%u_{rel.} = 2.4 \%$.

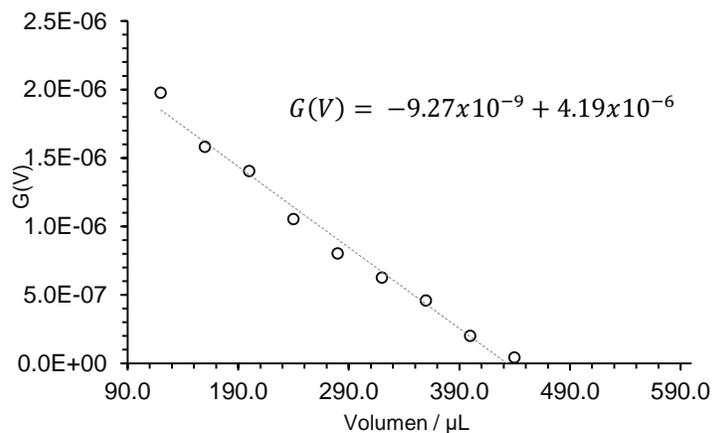


Figura 6. Función de Gran para un ácido débil titulado con una base nivelada, del análisis de regresión lineal $r^2 = 0.9866$.

2.6.2 Absortividad molar de HIn^- e In^{2-}

A diferencia de otros trabajos por ejemplo (Zhang & Byrne, 1996), en este trabajo las absortividades molares se han obtenido directamente de los valores de las pendientes de las rectas de regresión lineal de las curvas de calibración. En las Figuras 7 a 22, se presentan los espectros de absorción correspondientes a las especies químicas HIn^- e In^{2-} , y las curvas de calibración de cada especie. Los máximos observados coinciden con los reportados en la literatura para el púrpura de m-Cresol $\lambda_1 = 434.0 \text{ nm}$ y $\lambda_2 = 578.0 \text{ nm}$, (Clayton & Byrne, 1993; Dickson A. G., 2007; Loucaides, y otros, 2017).

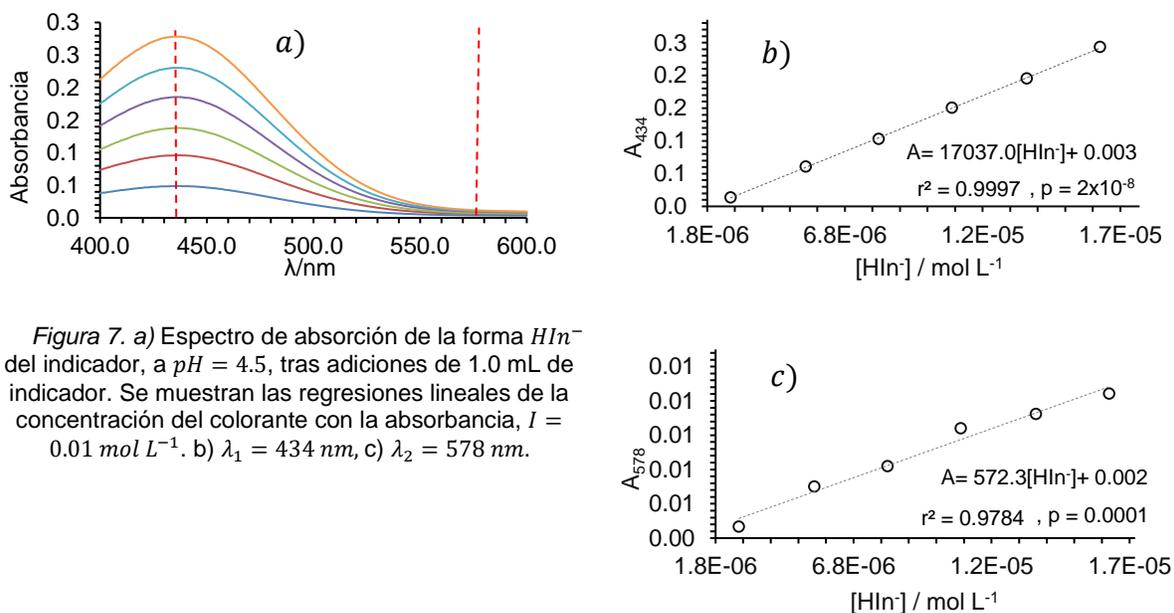


Figura 7. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.01 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

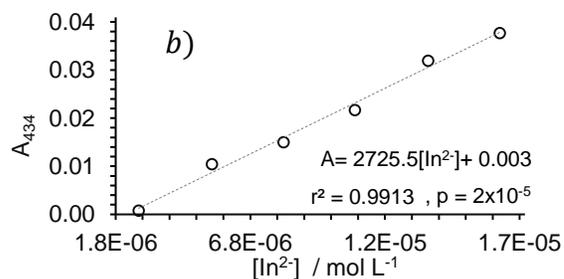
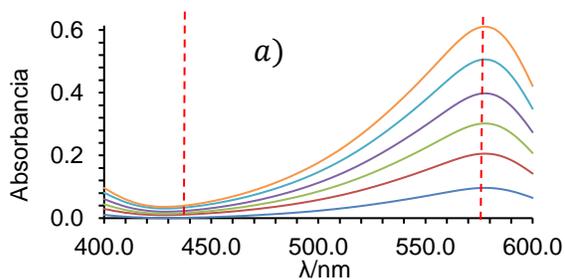


Figura 8. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $I = 0.01 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

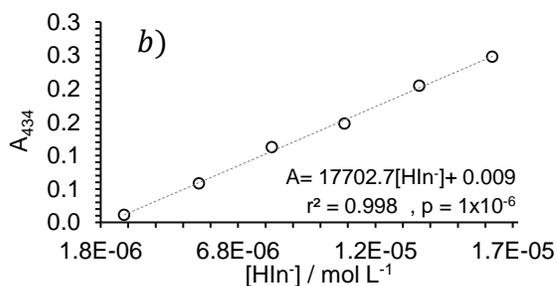
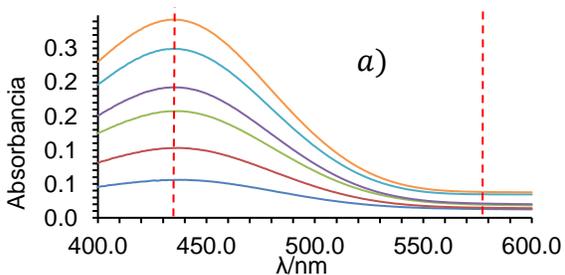
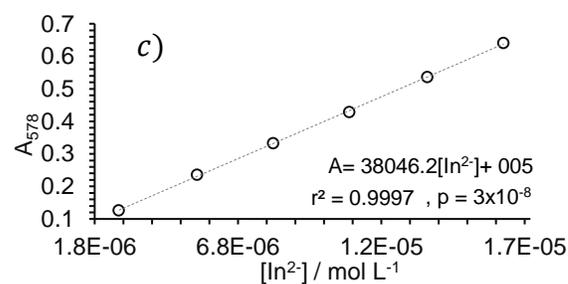
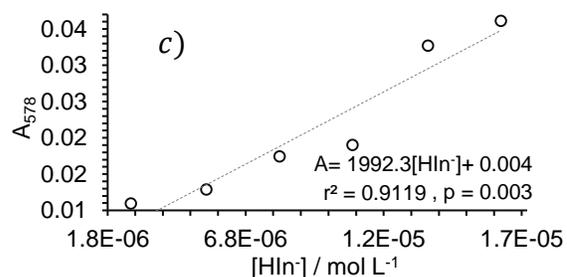


Figura 9. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $I = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



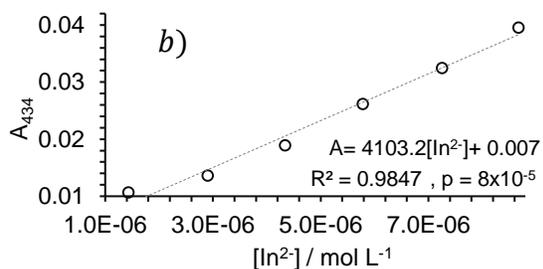
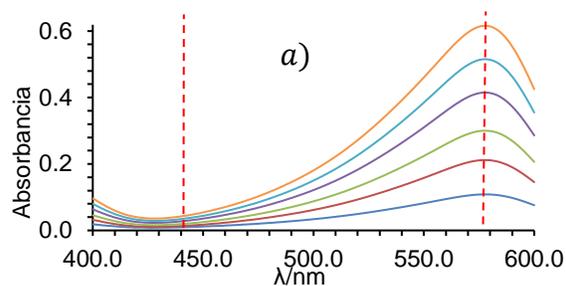


Figura 10. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $I = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

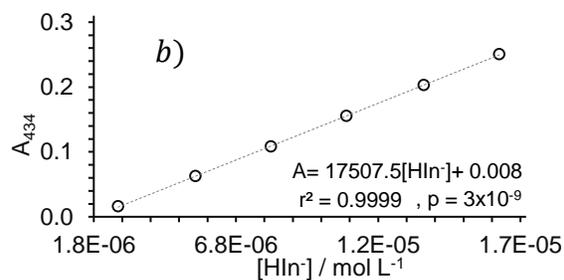
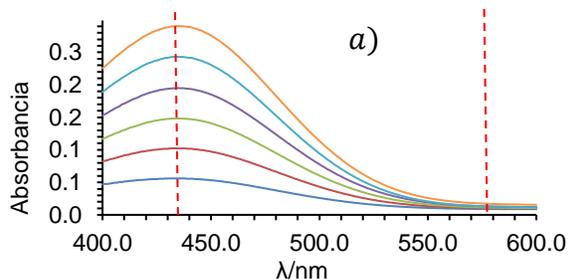
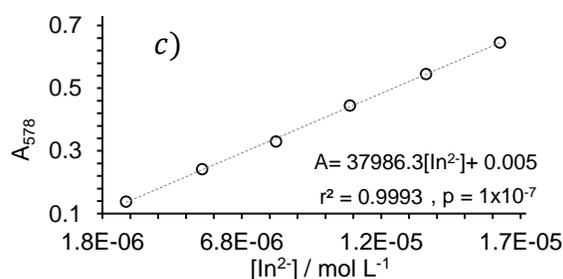
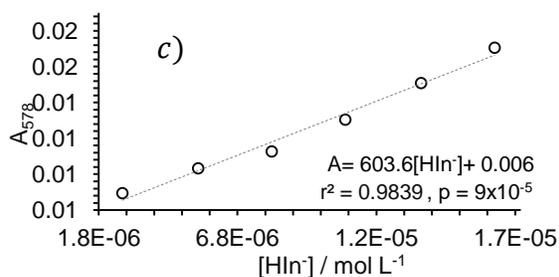


Figura 11. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $I = 0.2 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



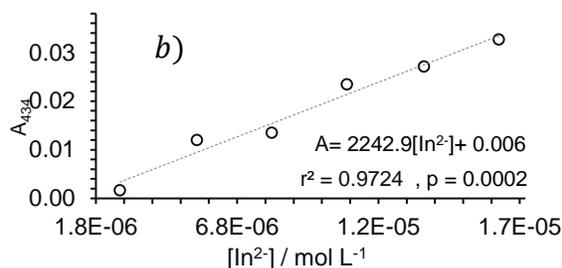
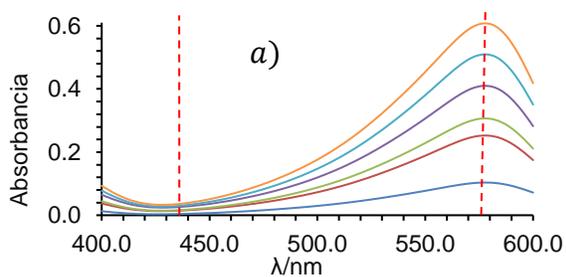


Figura 12. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.2 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

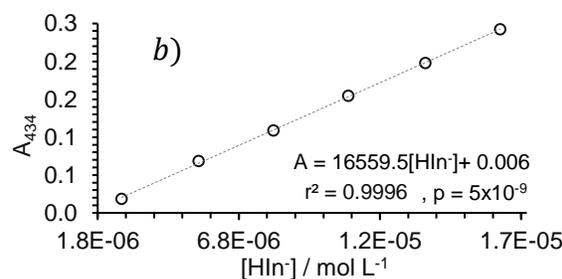
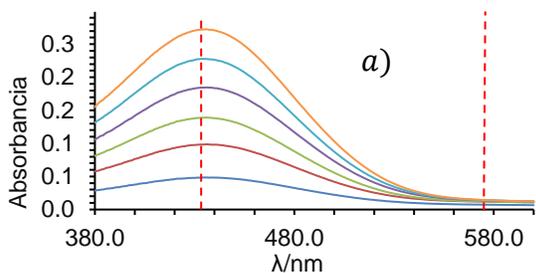
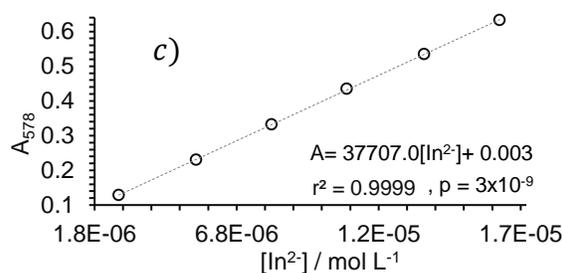
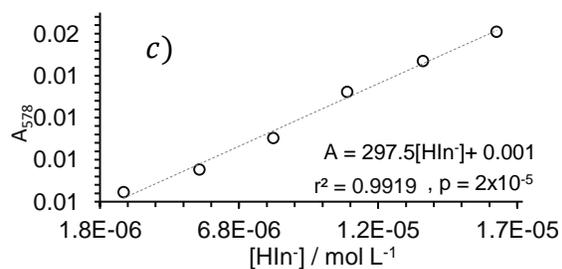


Figura 13. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.3 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



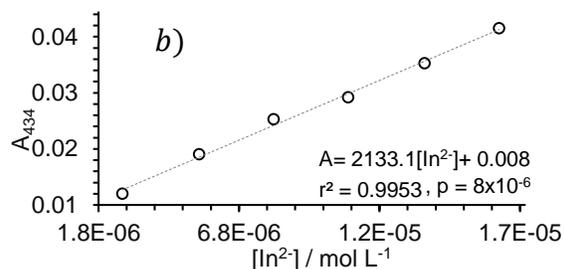
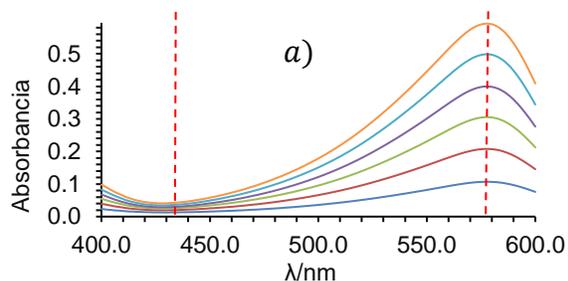


Figura 14. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.3 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

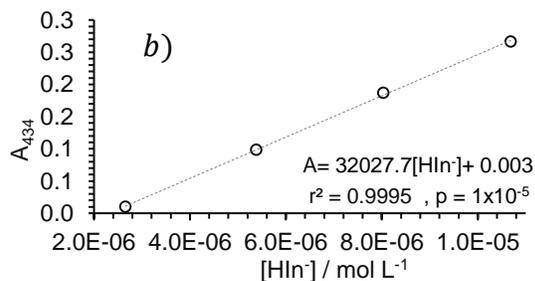
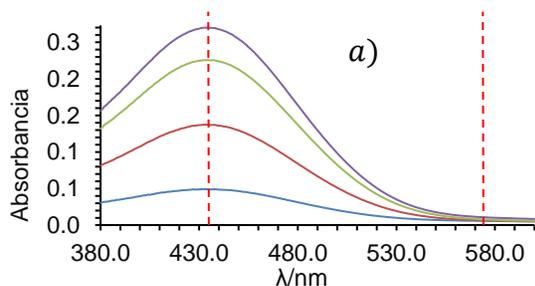
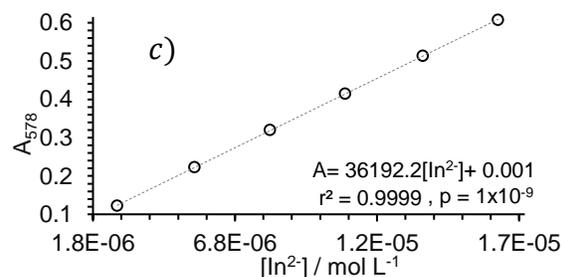
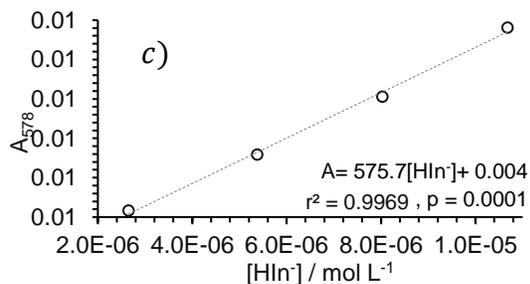


Figura 15. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.4 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



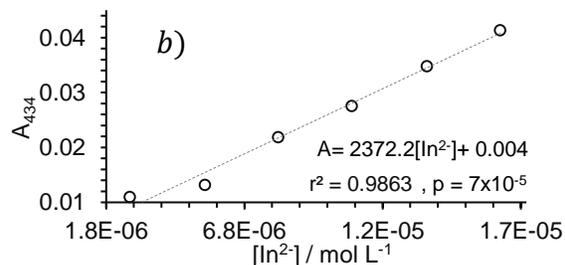
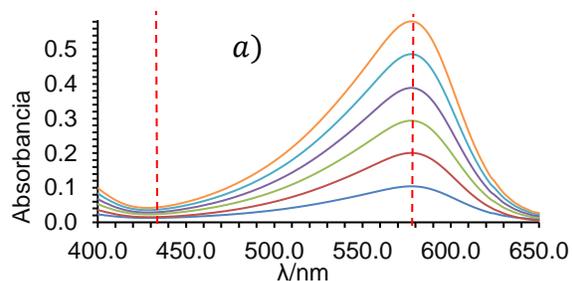


Figura 16. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.4 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

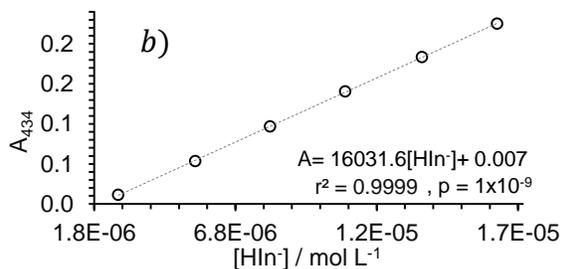
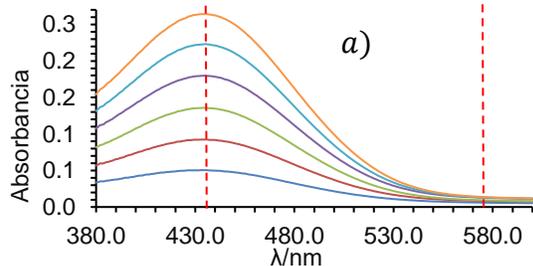
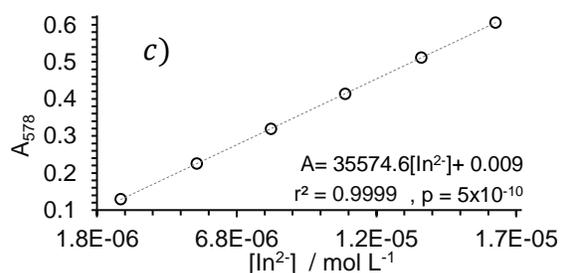
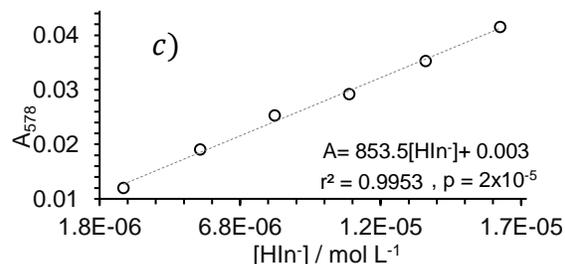


Figura 17. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.5 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



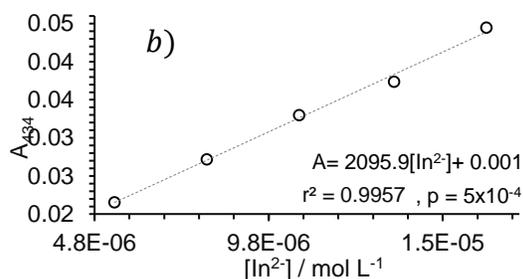
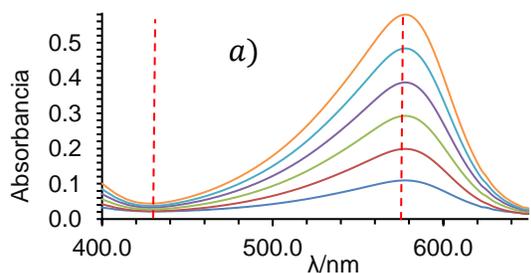


Figura 18. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.5 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

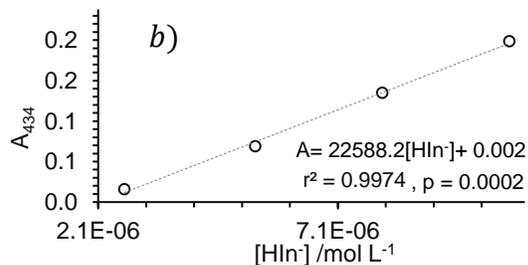
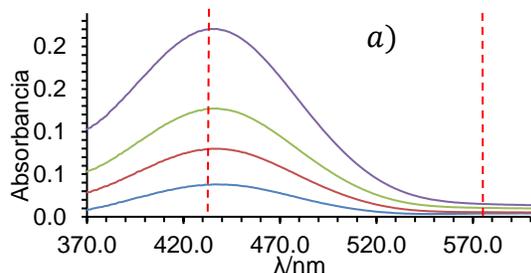
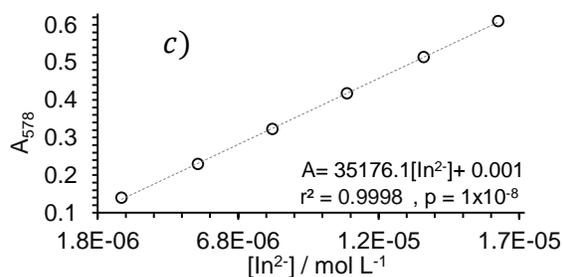
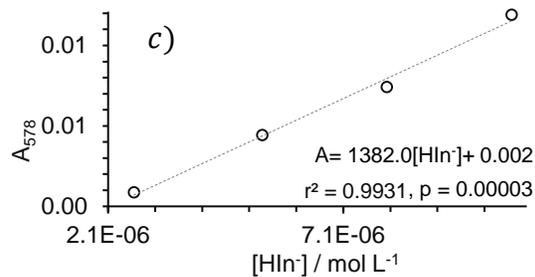


Figura 19. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.6 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



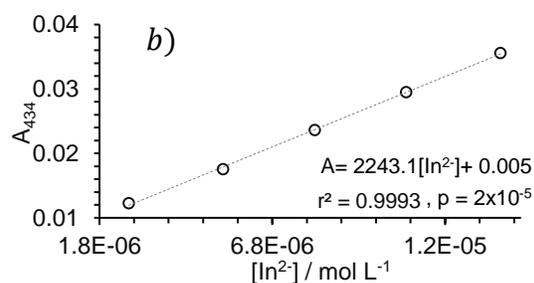
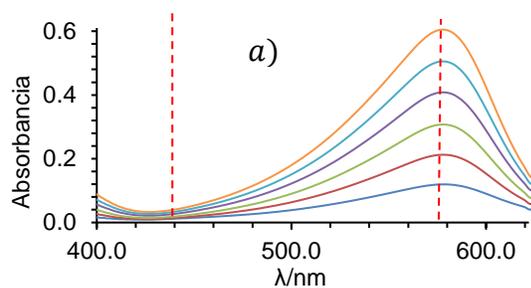


Figura 20. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.6 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

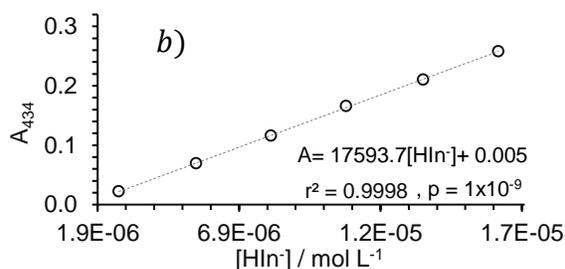
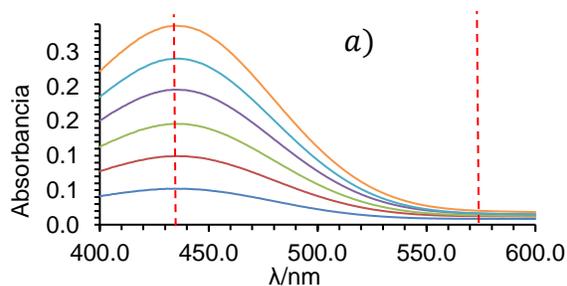
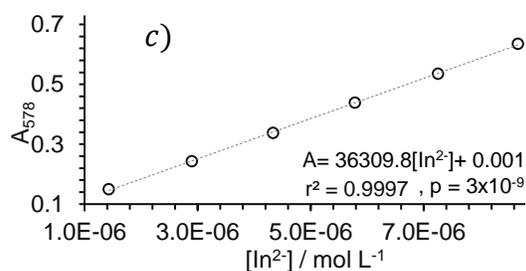
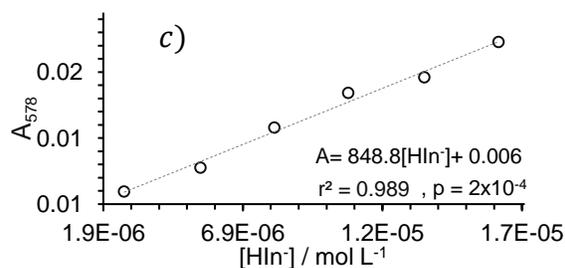


Figura 21. a) Espectro de absorción de la forma HIn^- del indicador, a $pH = 4.5$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.7 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



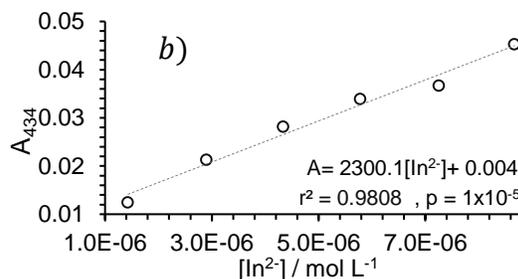
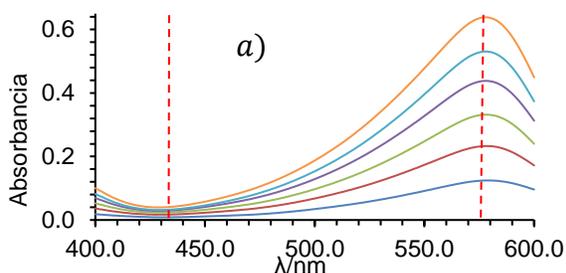
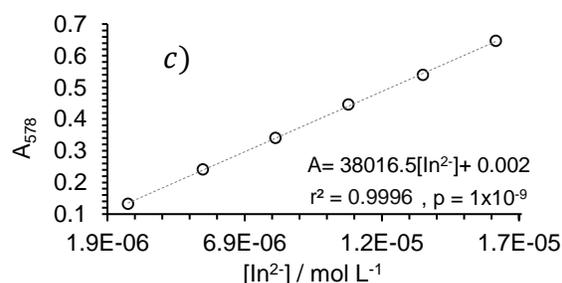


Figura 22. a) Espectro de absorción de la forma In^{2-} del indicador, a $pH = 12.0$, tras adiciones de 1.0 mL de indicador. Se muestran las regresiones lineales de la concentración del colorante con la absorbancia, $l = 0.7 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



En cada espectro se aprecian claramente las bandas de absorción pertenecientes a la forma protonada y no protonada del indicador. Existe una elevada linealidad entre los datos de absorbancia y concentración molar del indicador en la forma HIn^- , $pH = 4.5$, e In^{2-} , $pH = 12.0$.

De la pendiente de la curva de calibración, se calcularon $434\epsilon_{HIn}$, $578\epsilon_{HIn}$, $578\epsilon_{In}$ y $434\epsilon_{In}$ para las dos longitudes de onda. En la Tabla 7 se recogen los valores de absorptividad molar para las diferentes condiciones de fuerza iónica. En todos los casos, los coeficientes de determinación de las regresiones son superiores a 0.95, por tal motivo se puede afirmar que los coeficientes de determinación son estadísticamente significativos $p < 0.05$.

Tabla 7

Valores experimentales de absorptividad molar obtenidos mediante ajustes lineales, para diferentes condiciones de fuerza iónica. Los coeficientes de determinación de las regresiones son superiores a 0.95.

I / mol L ⁻¹	$\lambda\varepsilon_i / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1} * 1000$							
	5x10 ⁻³	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
434 ε_{HIn}	17.03±0.04	17.70±0.03	17.50±0.07	16.56±0.01	16.01±0.02	16.03±0.08	22.58±0.02	17.61±0.04
578 ε_{HIn}	0.5±0.10	1.9±0.30	0.6±0.30	0.2±0.10	0.5±0.40	0.8±0.40	1.3±0.40	0.8±0.10
434 ε_{In}	2.7±0.20	4.1±0.20	2.2±0.10	2.1±0.10	2.3±0.10	2.0±0.10	2.2±0.10	2.3±0.20
578 ε_{In}	38.04±0.03	37.98±0.05	37.70±0.01	36.19±0.07	35.57±0.05	35.17±0.02	36.31±0.02	38.06±0.01

En este trabajo no se observó una tendencia definida de la absorptividad molar con la fuerza iónica para el colorante púrpura de m-Cresol. (Gabriel, Forja, Rubio, & Gómez-Parra, 2005) reportan un comportamiento similar para el indicador azul de bromotimol utilizando cloruro de sodio para fijar la fuerza iónica. Si bien es posible determinar las absorptividades molares utilizando esta sal inerte para establecer la salinidad, sería conveniente analizar el comportamiento que presenta esta variable usando agua de mar simulada como amortiguador de la fuerza iónica.

La absorptividad molar que presenta una mayor incertidumbre es $578\varepsilon_{HIn}$, debido a que a $pH = 12$ la concentración molar de HIn^- es muy baja ($[HIn^-] \approx 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), lo que implica absorbancias muy bajas. En la Tabla 8 se presenta la incertidumbre relativa de las constantes determinadas experimentalmente.

Tabla 8

Incertidumbres relativas de las absorptividades molares para $I = 0.7 \text{ mol L}^{-1}$, expresadas en %.

$\lambda \varepsilon_i$	$\%u_{rel.}$
$434\varepsilon_{HI_n}$	0.2
$578\varepsilon_{HI_n}$	9.0
$434\varepsilon_{In}$	5.0
$578\varepsilon_{In}$	0.02

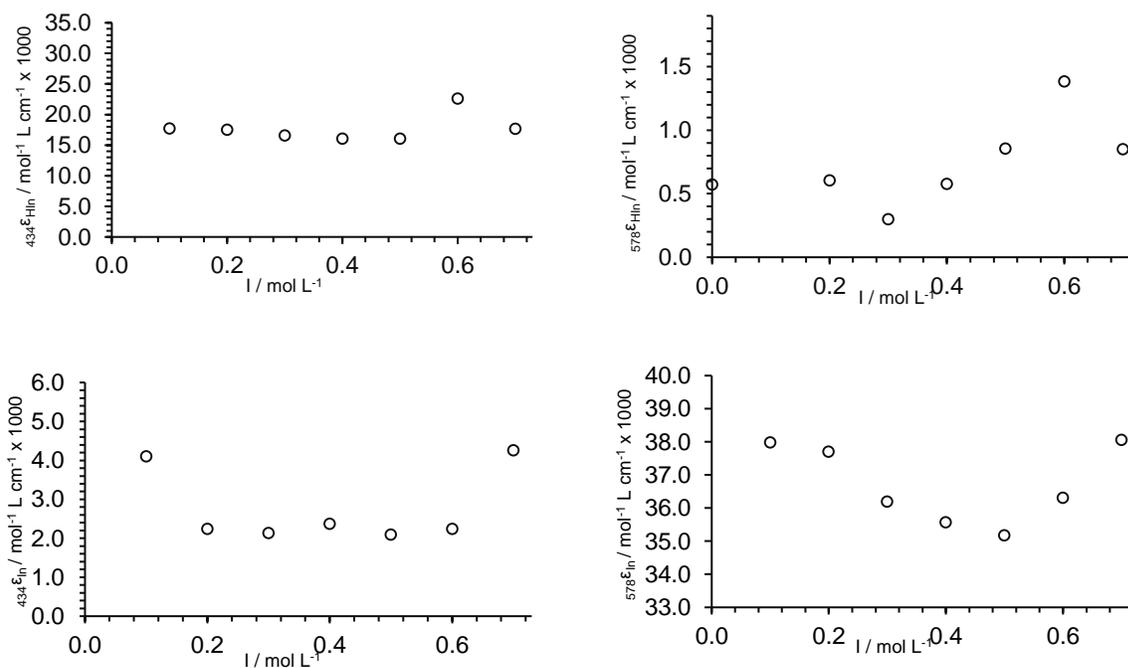


Figura 23. Representación gráfica de la variación de la absorptividad molar con la fuerza iónica.

2.6.3 Cologaritmo de la constante de disociación pK_a

Al igual que las absorptividades molares, se obtuvieron los valores de constante de disociación ácida en diferentes condiciones de fuerza iónica. Se utilizaron las absorbancias determinadas en los máximos de absorción para HIn^- e In^{2-} provenientes de las curvas isobésticas $A = f(\lambda)$. En las Figuras 24 a 31, se presentan los espectros de absorción para las diferentes condiciones de fuerza iónica de trabajo, así como las relaciones lineales de $pH = f\left(\log\left(\frac{A_{HIn^-} - A}{A - A_{In}}\right)\right)$. De las regresiones lineales se obtuvo el valor de la ordenada en el origen, que corresponde al pK_a del par conjugado ácido-base del indicador.

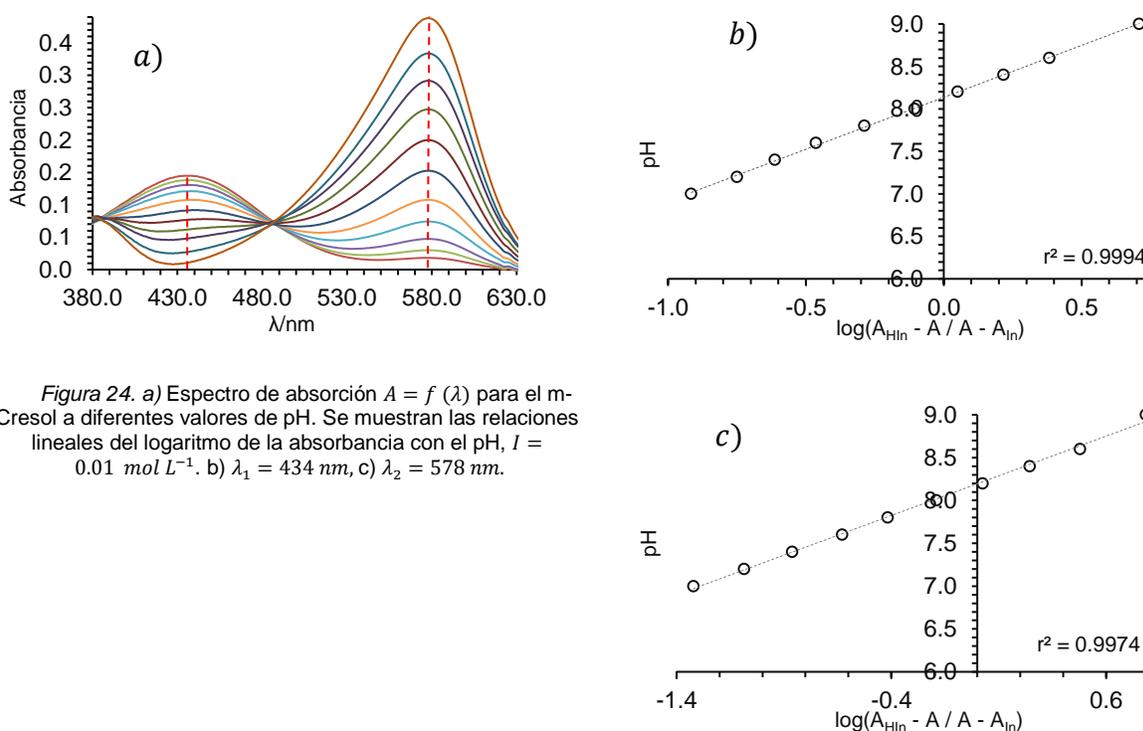


Figura 24. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.01 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

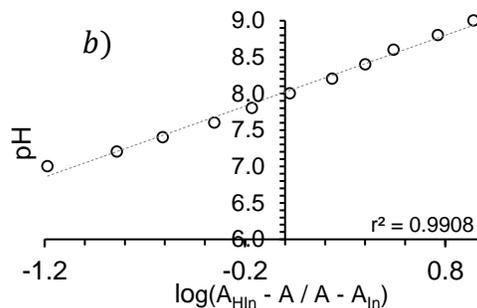
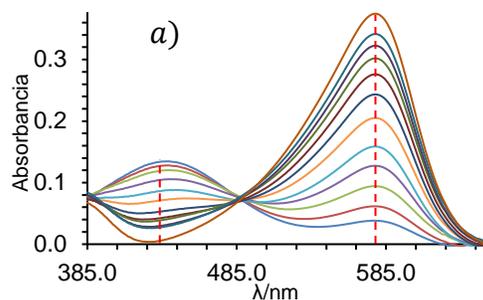


Figura 25. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

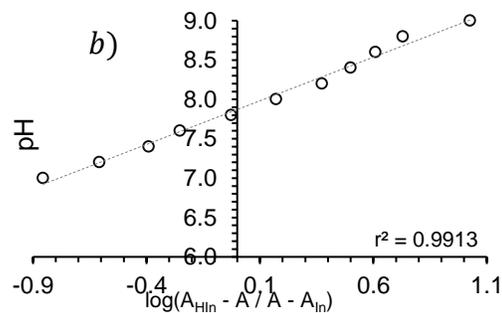
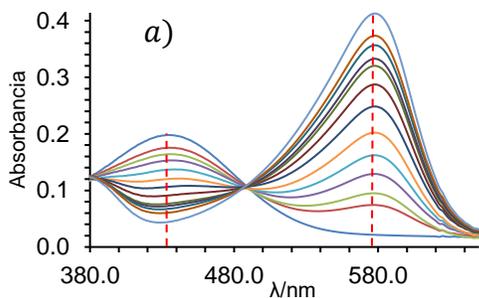
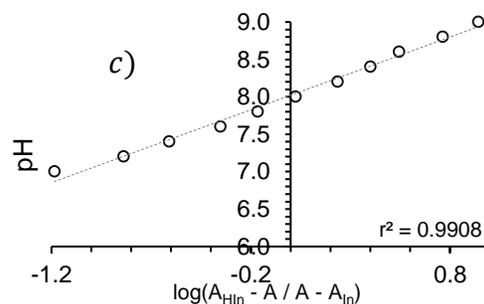
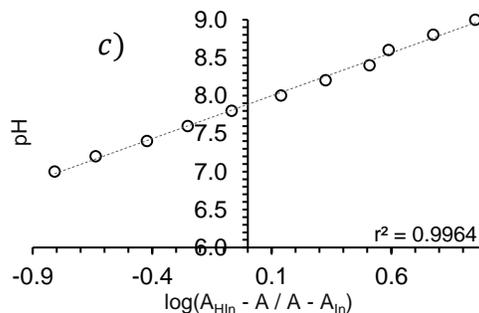


Figura 26. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.2 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



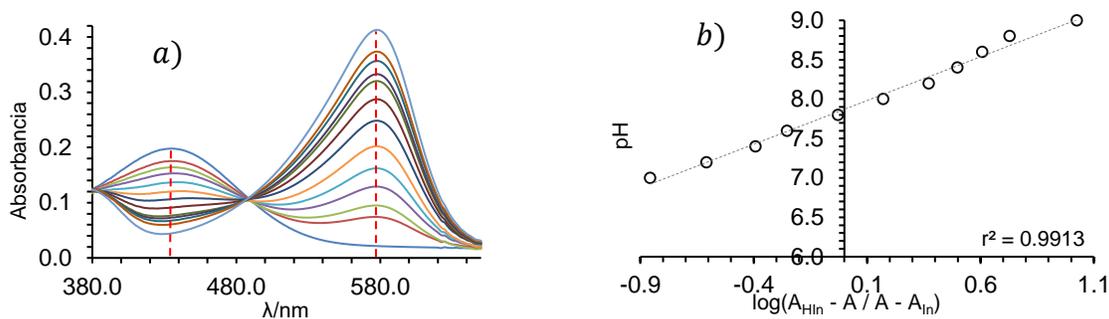


Figura 27. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.3 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

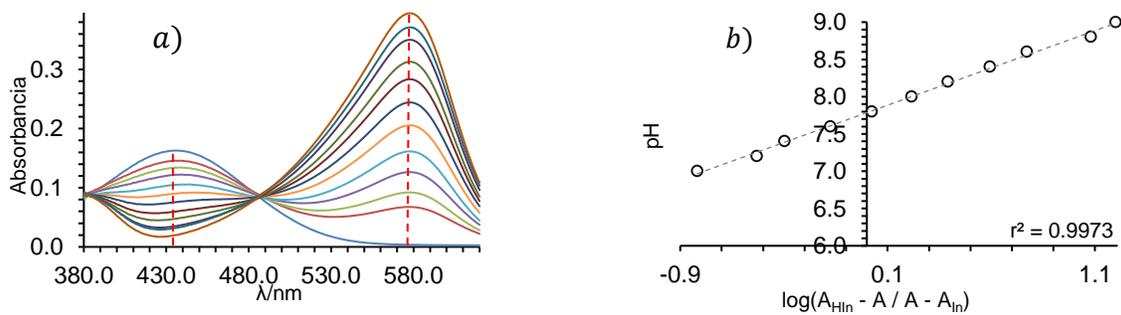


Figura 28. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.4 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

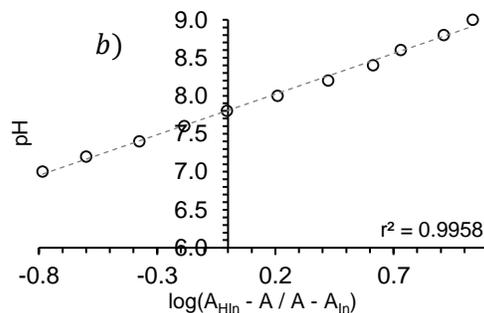
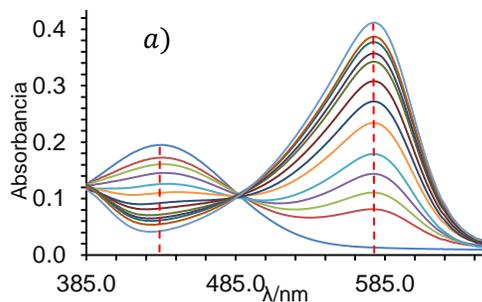


Figura 29. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.5 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

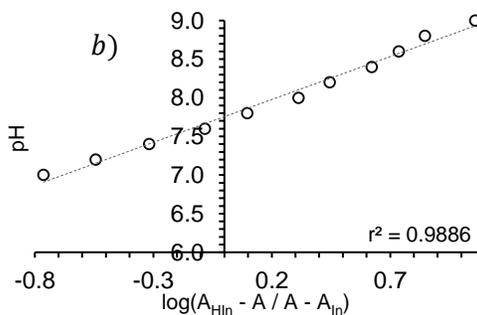
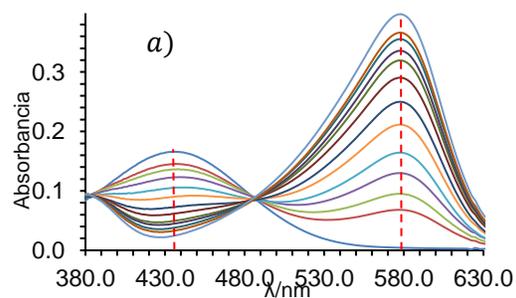
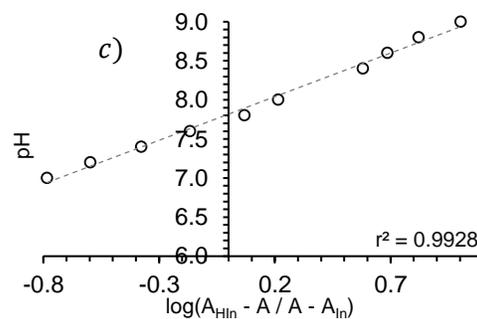
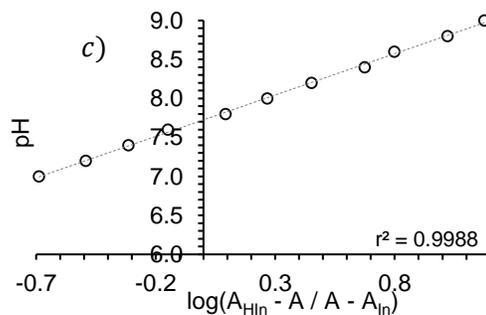


Figura 30. a) Espectro de absorción $A = f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.6 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.



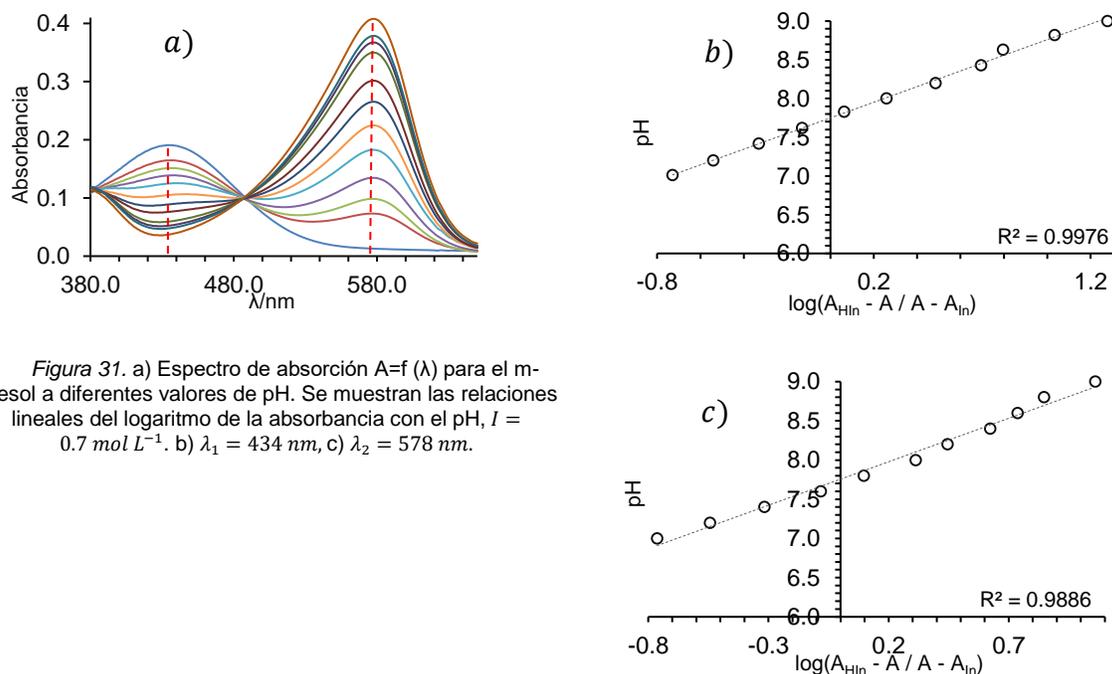


Figura 31. a) Espectro de absorción $A=f(\lambda)$ para el m-Cresol a diferentes valores de pH. Se muestran las relaciones lineales del logaritmo de la absorbancia con el pH, $I = 0.7 \text{ mol L}^{-1}$. b) $\lambda_1 = 434 \text{ nm}$, c) $\lambda_2 = 578 \text{ nm}$.

En cada espectro de absorción se aprecia una banda definida en 434.0 nm correspondiente a la especie HIn^- , y en 578.0 nm una banda debida a la especie In^{2-} . Se trabajó en el intervalo de $7 \leq pH \leq 9$, debido a que el sistema $tris - H^+ / tris$, con $pK_a = 8.06$, tiene una capacidad amortiguadora máxima en este intervalo de pH . Se observa que las curvas se cruzan en el punto isobéptico, donde las especies HIn^- e In^{2-} absorben luz por igual. De las regresiones lineales de la absorbancia del indicador en el máximo de absorción y el pH de la disolución, se calculó el cologaritmo de la constante de disociación pK_a . En todos los casos, los coeficientes de determinación son superiores al 0.99. Cada constante se determinó seis veces. En la Tabla 9 se presentan los valores experimentales de pK_a . La dependencia del pK_a con la fuerza iónica es mostrado en la Figura 32.

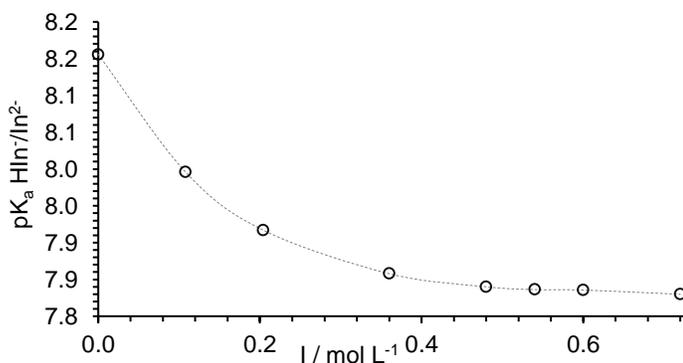


Figura 32. Variación de la segunda constante de acidez del par HIn^-/In^{2-} con la fuerza iónica.

En el caso del $[pK_a]_{I=0.7 \text{ mol L}^{-1}}$, utilizado para el cálculo de pH espectrofotométrico, la incertidumbre relativa es de tan sólo $\% u_{rel.} = 0.1 \%$.

Tabla 9

Variación del pK_a del par conjugado ácido base HIn^-/In^{2-} con la fuerza iónica.

$I / \text{mol L}^{-1}$	pK_a	$u(pK_a)$
0.01	8.16	0.02
0.10	8.00	0.01
0.20	7.92	0.02
0.36	7.88	0.05
0.48	7.86	0.04
0.54	7.85	0.02
0.60	7.84	0.01
0.72	7.83	0.01

Nota. $u(pK_a)$ es la incertidumbre del pK_a (del inglés uncertainty)

La incertidumbre del pK_a es del mismo orden de magnitud para todas las condiciones de fuerza iónica. Asimismo se observa la disminución de la constante aparente de disociación a razón de que aumenta la fuerza iónica.

2.6.4 Longitud de onda del punto isobéptico

Se presentan en la Tabla 10 los valores de la longitud de onda del punto isobéptico (λ_{isob}) determinados experimentalmente. Existe una variación del punto isobéptico de aproximadamente 0.2 nm por unidad de concentración. Sin embargo, esta variación no presenta un comportamiento bien definido pues, el coeficiente de determinación es inferior a 0.7, $p > 0.05$.

No hay desplazamiento del espectro de absorción por el incremento de la fuerza iónica (efecto batocrómico, hiperocrómico, hipsocrómico o hipocrómico), por lo que podemos concluir que la interacción de los iones de la sal inerte con las especies absorbentes no es significativa.

Tabla 10

Variación de la longitud de onda del punto isobéptico λ_{isob} con la fuerza iónica

$I / \text{mol L}^{-1}$	$\lambda_{isob} / \text{nm}$
0.01	488.1
0.1	487.9
0.2	487.8
0.3	488.1
0.4	486.9
0.5	487.2
0.6	487.6
0.7	486.0

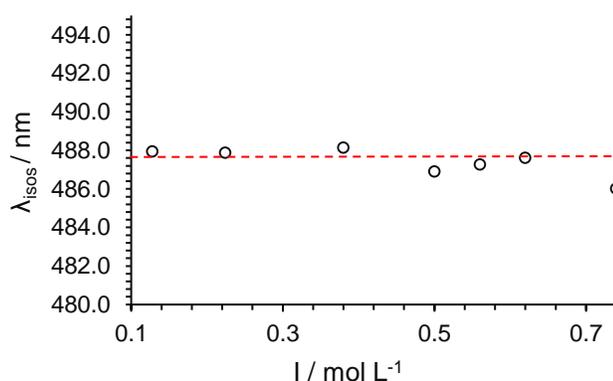


Figura 33. Variación de la longitud de onda del punto isobéptico del par HIn^-/In^{2-} con la fuerza iónica. Valor reportado (línea punteada roja).

El valor reportado de longitud de onda del punto isobéptico del par HIn^-/In^{2-} para el púrpura de m-Cresol es, $\lambda_{isob} = 487.6 \text{ nm}$ (Clayton & Byrne, 1993).

2.6.5 Relaciones de absortividad molar e_1 , e_2 y e_3

La ecuación 3.36 puede ser simplificada. El término logarítmico contiene dentro de su argumento cocientes de absortividades molares, definidos como $e_1 = \frac{2 \varepsilon_{HIn}}{1 \varepsilon_{HIn}}$, $e_2 = \frac{2 \varepsilon_{In}}{1 \varepsilon_{HIn}}$,

$e_3 = \frac{1 \varepsilon_{In}}{1 \varepsilon_{HIn}}$. La ecuación para el cálculo de pH puede escribirse como:

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{R - e_1}{e_2 - R * e_3}\right) \quad 3.38$$

La Tabla 11 presenta los valores experimentales de las razones e_1 , e_2 y e_3 resultado de los cocientes de absortividades molares.

Tabla 11

Relaciones de absortividad molar del m-Cresol utilizadas para el cálculo de pH. $u(e_i)$ es la incertidumbre del cociente.

Cocientes	Valor	$u(e_i)$	Valor ^a
e_1	0.048	0.003	0.0069
e_2	2.160	0.026	2.2220
e_3	0.130	0.009	0.1331

^a Cocientes utilizados por (Clayton & Byrne, 1993; Dickson A. G., 2007).

Como en el caso de las absortividades molares, sus relaciones no presentan un comportamiento definido con la fuerza iónica. Por lo tanto, para su determinación, es necesario establecer la salinidad del medio y obtener el valor experimental de los cocientes. Solamente el cociente e_1 tiene un valor diferente al reportado en la literatura, pero cabe destacar que la metodología utilizada en este trabajo es diferente a la empleada por otros autores. A pesar de este hecho, el valor puede ser utilizado para realizar el cálculo de pH espectrofotométrico ya que se ha calculado a partir de una curva de calibración en condiciones de $I = 0.7 \text{ mol L}^{-1}$.

En cuanto a los cocientes e_1 , e_2 y e_3 la incertidumbre relativa es 6.0, 1.0 y 7.0 %.

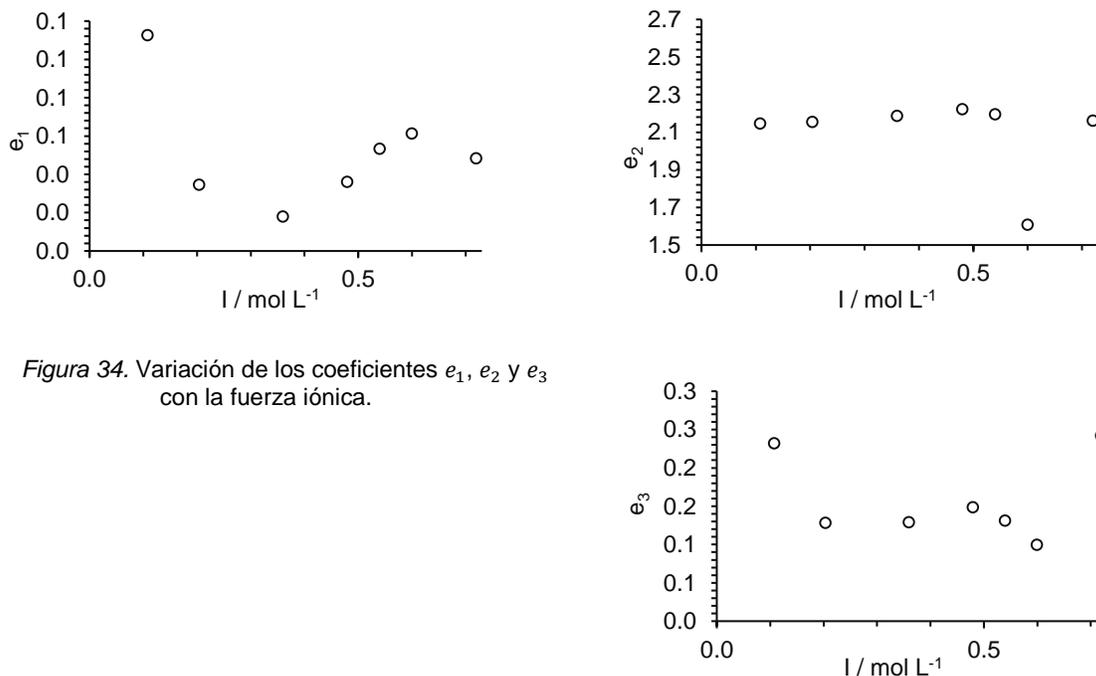


Figura 34. Variación de los coeficientes e_1 , e_2 y e_3 con la fuerza iónica.

2.6.6 Cálculo de pH espectrofotométrico

Utilizando los resultados de las secciones anteriores, en nuestras condiciones experimentales la ecuación 3.38 puede escribirse como:

$$pH = (7.83 \pm 0.01) + \log \left(\frac{R - (0.048 \pm 0.002)}{(2.16 \pm 0.03) - R * (0.130 \pm 0.008)} \right) \quad 3.39$$

Donde R es el cociente de absorbancias determinadas en los máximos de absorción $R =$

$\frac{A_{578}}{A_{434}}$. Para validar el método de cálculo de pH por espectrofotometría, se determinó el pH

de los buffers de tris en agua de mar simulada, para 7 réplicas. Se ha calculado la

incertidumbre de todas las constantes utilizadas para la determinación del nivel de acidez

utilizando la propagación cuadrática de incertidumbres, con la finalidad de estimar la incertidumbre final de cada determinación de pH .

Precisión de la determinación de pH .

Para evaluar la precisión se calculó la desviación estándar típica de la determinación, (Tabla 12). Como criterio de aceptación se calculó el coeficiente de variación, el cual, en todos los casos es menor al 3 %.

Tabla 12

Precisiones de la determinación espectrofotométrica de pH .

Buffer	pH	S_{pH}	%CV
1	6.81	0.018	0.26
2	7.29	0.010	0.13
3	7.90	0.009	0.11
4	8.30	0.008	0.09
5	8.97	0.060	0.66
6	7.96	0.003	0.03

Nota. CV: coeficiente de variación. S_{pH} : desviación estándar del pH .

Se presentan además los espectros de absorción de cada disolución buffer de menor a mayor pH (Figura 35 y 36).

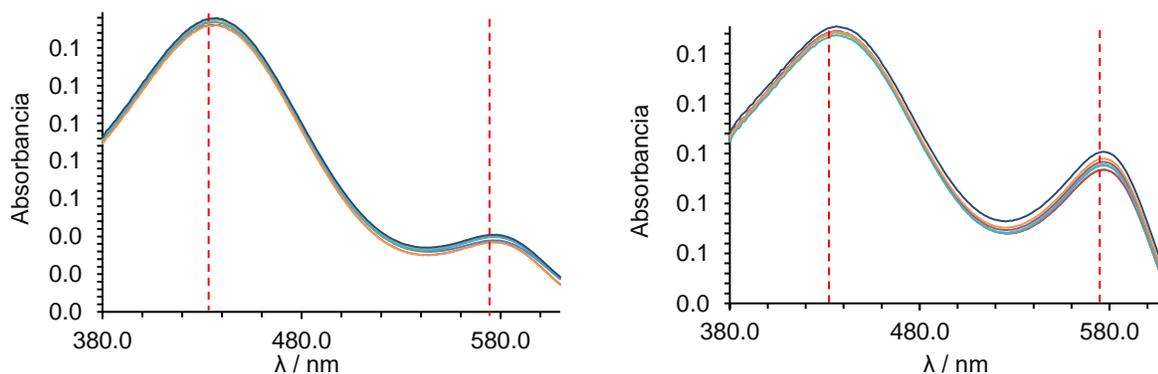


Figura 35. Espectros de absorción ($n=7$) del indicador púrpura de m-Cresol en los buffers de tris, $pH=6.81$, 7.29 , $C_{in}=5.38 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

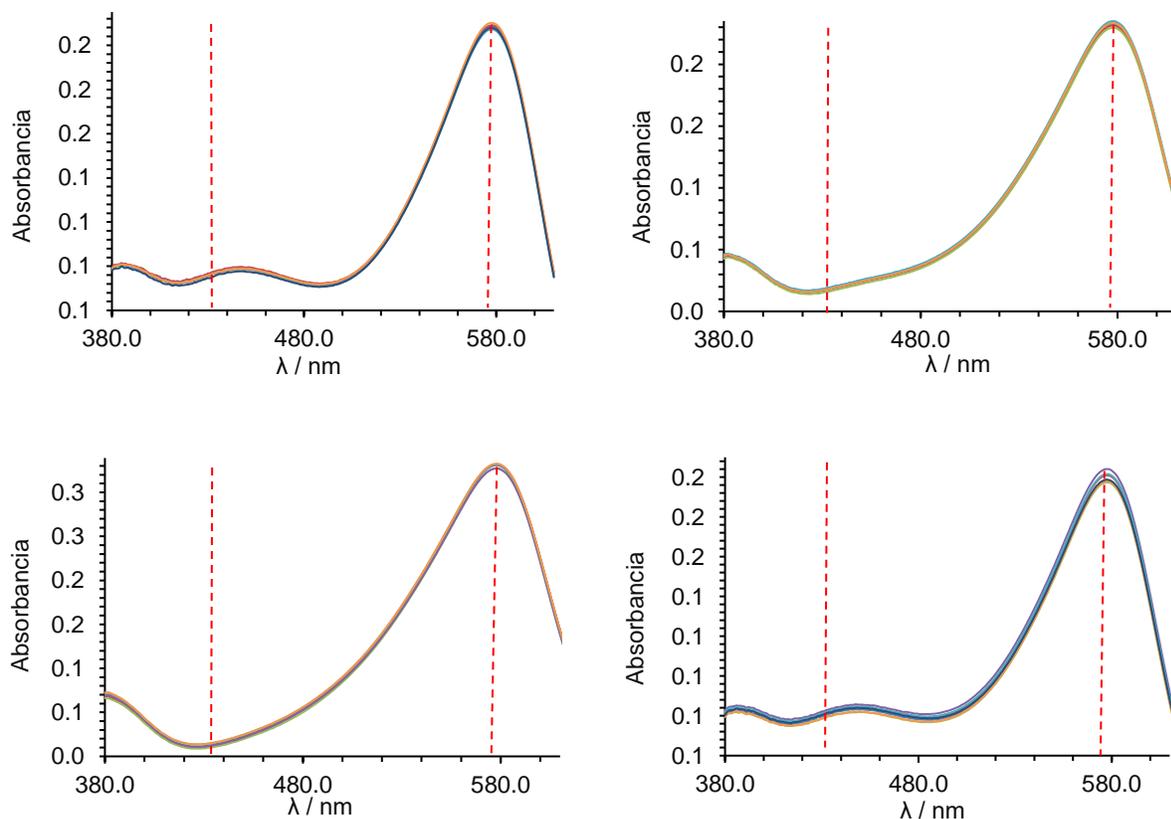


Figura 36. Espectros de absorción ($n=7$) del indicador púrpura de m-Cresol en los buffers de tris, $\text{pH}=7.90, 8.30, 8.97, 7.96$, $C_{\text{in}}=5.38 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

En los espectros de absorción se observan las bandas de las especies HIn^- e In^{2-} y la variación de la absorbancia con la concentración molar. La cantidad de indicador adicionada causa valores de absorbancia inferiores a 0.4.

Exactitud de la determinación de pH .

En la Tabla 13 se resumen los valores de pH espectrofotométrico obtenidos y su incertidumbre de la determinación. Para la disolución número 5, la incertidumbre del pH es mayor debido a que la concentración molar de HIn^- es muy baja en esas condiciones, lo que implica una mayor incertidumbre de la absorbancia.

Tabla 13

Valores absorbancia, cociente R y pH de los buffer de tris obtenido por espectrofotometría.

Buffer	A_{434}	A_{578}	$R = \frac{A_{578}}{A_{434}}$	$u(R)$	pH	$u(pH)$	pH esperado ^a	$u(pH)^a$
1	0.1537	0.0388	0.252	0.002	6.81	0.04	7.00	0.02
2	0.1486	0.0961	0.646	0.003	7.29	0.03	7.40	0.01
3	0.0864	0.1964	2.273	0.010	7.90	0.04	8.00	0.01
4	0.0583	0.2724	4.675	0.030	8.30	0.04	8.40	0.01
5	0.0330	0.3502	10.653	0.116	8.97	0.15	9.00	0.02
6	0.0815	0.1998	2.452	0.010	7.96	0.04	8.09	

Nota. Todos los resultados numéricos corresponden a valores promedio

^a El pH esperado hace alusión al valor teórico de la disolución.

En cuanto a la disolución número seis, el nivel de acidez se ha calculado a partir de la ecuación que relaciona la concentración de protones libres (pH) con la temperatura y salinidad, ecuación 18, página 1546 (Del Valls & Dickson, 1998).

$$\begin{aligned}
 pH = & (11911.08 - 182499S - 0.039336S^2) / T \\
 & + (-366.27059 + 0.53993607S + 0.00016329S^2) \\
 & + (64.52243 - 0.084041S) \ln T - 0.11149858T
 \end{aligned}$$

la salinidad nominal del buffer es $S = 35$ y T la temperatura en Kelvin (K).

Si bien la determinación por espectrofotometría ha permitido evaluar el nivel de acidez de las disoluciones, existe una diferencia en relación al valor teórico. A pesar de que la fuerza iónica es constante, se tiene el efecto de la disminución de la actividad del protón por efecto de la salinidad, lo que conlleva a que los valores de pH sean compatibles. En cuanto a la disolución número seis, el amortiguador no es un material de referencia

certificado y el cálculo de pH se ha realizado asumiendo una temperatura de 25 °C y salinidad $S = 35$.

2.8 Discusión de resultados

Efecto de la adición del indicador

Durante la determinación de pH mediante espectrofotometría, la adición del indicador provoca variaciones del nivel de acidez de la muestra, por lo que es necesario evaluar su efecto (Dickson A. G., 2007; Clayton & Byrne, 1993; Whitney King & Kester, 1989; Zhang & Byrne, 1996; Douglas & Byrne, 2017). La curva de titulación $pH = f(V_{agre.})$ (Figura 5), indica que el púrpura de m-Cresol en disolución acuosa presenta el comportamiento de un ácido no nivelado que está débilmente disociado. Para una disolución del indicador, el nivel de acidez del medio estará condicionado por la disponibilidad de las partículas H^+ que están disociadas. Considerando la adición del indicador en una muestra real de agua de mar, se podría diluir al indicador hasta una concentración $< 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sin embargo eso llevaría al aumento de la incertidumbre de la absorbancia. Consecuentemente, en este trabajo no se evaluó tal efecto debido a que se trata de una disolución buffer, la adición de un ácido o una base no afecta el pH de la disolución y el indicador se encuentra muy diluido, ($C_{In} \approx 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Pero en muestras reales será necesario realizar la corrección de pH por la adición del indicador.

Absortividades molares

Para la determinación de las absortividades molares se empleó un diseño experimental basado en la elaboración de una curva de calibración con disoluciones de púrpura de m-Cresol de concentración conocida, cuyo pH esta amortiguado

adecuadamente. La linealidad encontrada entre la absorbancia en los máximos de absorción y la concentración del indicador ha sido, en todos los casos, muy elevada. Sin embargo, no ha sido posible establecer un comportamiento definido de las absorptividades molares con la fuerza iónica, un aspecto poco estudiado.

Este procedimiento puede ser aplicado siempre que se conozca con precisión la concentración analítica del indicador. Por ejemplo (Zhang & Byrne, 1996), utilizan una disolución del indicador de concentración formal, es decir únicamente se pesa la masa de indicador y se coloca en un volumen determinado (amortiguando el pH adecuadamente), determinan la absorbancia y, con la ley de Lamber-Beer-Bouger, calculan la absorptividad molar $\epsilon_i = A_\lambda/[i]$. Otros (Clayton & Byrne, 1993) preparan disoluciones del indicador a diferentes valores de pH, determinan la absorbancia y los datos se ajustan en la ecuación 3.30 para calcular el valor de las constantes mediante un método de iteración.

Cologaritmo de la constante de acidez del par conjugado ácido-base HIn^-/In^{2-}

La metodología analítica implementada en este trabajo consistió en la determinación directa del pK_a mediante curvas isobélicas. Se observó una elevada linealidad entre el pH de las disoluciones y el logaritmo de las absorbancias. Además, se calcularon y reportaron las incertidumbres del pK_a , habitualmente no reportadas en la literatura científica para este tipo de determinaciones. Resultando para todos los casos una incertidumbre del mismo orden de magnitud, lo que permite concluir que la variabilidad es aceptable.

La constante de disociación es diferente al reportado por otros autores (Clayton & Byrne, 1993; Dickson A. G., 2007; Xuewu, Patsavas, & Byrne, 2011). Se presentan en la Tabla 14 los datos reportados por estos autores y el calculado en este trabajo. Nuestro valor es ligeramente inferior, consecuencia de la fuerza iónica.

Tabla 14

Valores de pK_a del púrpura de *m*-Cresol reportados por algunos autores y en este trabajo.

Referencia	pK_a
(Clayton & Byrne, 1993)	8.10
(Dickson A. G., 2007)	8.00
(Xuewu, Patsavas, & Byrne, 2011)	8.00
Este trabajo	7.83

Además de las sales que contiene el agua de mar simulada, y que fijan la fuerza iónica, el *tris* está presente en concentración 0.1 mol L^{-1} y tiene influencia en la salinidad del medio.

Longitud de onda del punto isobéptico (λ_{isos})

Al igual que las absortividades molares, la longitud de onda del punto isobéptico mostró no presento un comportamiento definido con la fuerza iónica. Esto indica que los máximos de absorción no se ven desplazados por la influencia de la salinidad, lo que hace posible determinar las absorbancias que corresponden a las concentraciones molares de las especies que participan en el equilibrio químico $HIn^- \rightleftharpoons H^+ + In^{2-}$.

Razones de las absorptividades molares (e_i)

Los razones e_1 , e_2 y e_3 presentaron un comportamiento similar a las absorptividades molares. Para su uso en el cálculo de pH es necesario determinarlas en las condiciones deseadas de fuerza iónica. Los cocientes e_1 y e_3 muestran una mayor incertidumbre debido a las bajas absorbancias involucradas en su cálculo, pero es posible reducir la incertidumbre en relación a la concentración de indicador utilizada para realizar la curva de calibración.

Determinación de pH

Los valores de las constantes obtenidas en este trabajo no difieren considerablemente con los valores reportados obtenidos por otros métodos, excepto para el cociente e_1 . En los trabajos de (Zhang & Byrne, 1996) y (Clayton & Byrne, 1993), la determinación de los cocientes e_1 , e_2 y e_3 se obtiene por mediciones de absorbancia en disoluciones de fuerza iónica $I = 0.7 \text{ mol L}^{-1}$ (un sólo punto). En este trabajo los cocientes se han obtenido a través de la pendiente obtenida de la curva de calibración en las mismas condiciones de fuerza iónica.

Si bien la metodología muestra una buena repetibilidad (0.003 unidades de pH), la incertidumbre metodológica estimada es de 0.04 unidades de pH . Esta incertidumbre es adecuada para el estudio de las variaciones de pH en zonas costeras (de varias décimas a lo largo del año), pero es necesario mejorar la metodología analítica implementada para reducir la incertidumbre final del método en el caso del seguimiento de aguas de mar abierto.

2.9 Conclusiones particulares

- La caracterización del indicador utilizado es imprescindible para obtener el valor experimental de las constantes involucradas en la ecuación de cálculo de pH espectrofotométrico y su incertidumbre.
- La metodología para obtener los coeficientes de absorptividad molar es aceptable, pues existe una elevada linealidad entre la absorbancia y la concentración del indicador.
- Es posible determinar el pK_a aparente del indicador mediante curvas isobélicas para un valor de fuerza iónica determinado.
- La metodología analítica empleada para obtener las constantes espectrofotométricas y termodinámicas del púrpura de m-Cresol ofrece resultados congruentes con los métodos reportados para la obtención de sendas constantes.
- Se ha alcanzado una precisión de 0.003 unidades de pH en la técnica espectrofotométrica.
- Para estos resultados se ha estimado una incertidumbre de 0.04 unidades de pH , que es adecuado para el estudio de la variabilidad del nivel de acidez en aguas costeras.

Capítulo 3. Estudio Potenciométrico

“Pero aquel que contempla el tercer mantra de OM, o sea, aquel que ve a Dios como el Mismo, se esclarece y obtiene la moksha. Así como una serpiente, aligerada de su antigua piel, se renueva, así también el yogui que venera el tercer mantra aligerado de su enroscamiento mortal, de sus pecados y sus debilidades terrestres, y emancipado de manera tal que su cuerpo espiritual puede deambular por todo el Universo de Dios, disfruta de la gloria del Espíritu Omnímodo y Omnisciente, cada vez más y más. La contemplación del último mantra lo dota de moksha o inmortalidad”

De The Mandukyopanishat being The Exposition of OM the Great Sacred Name of the Supreme Being in the Vedas.

Trad. Pandit Guru, Datta Vidhyarthi, profesor de Ciencias Físicas, Lahore. Lahore, 1893.

3.1 Generalidades

En Química Analítica se estudian los fenómenos químicos que requieren la medición, el monitoreo o la caracterización de una o más especies químicas. Para ello se diseñan metodologías de análisis para llevar a cabo determinaciones analíticas por medio de una técnica operatoria (Baeza, 2015). Una familia de herramientas muy útiles que permiten realizar tales tareas, en una infinidad de medios de reacción, son los sensores y biosensores.

En general un sensor es un dispositivo que recibe y responde a una señal o estímulo. Un sensor electroquímico es un dispositivo químico que responde a cambios específicos en el potencial o en la corriente eléctrica como consecuencia de la presencia de una especie química que interactúa con él. Cuando el elemento sensor está constituido por un elemento químico inorgánico u orgánico se tiene un sensor químico. El elemento químico sensor se selecciona de tal manera que interactúa con la especie a analizar (analito) de manera muy exclusiva o selectiva. En la literatura química se conoce a estos sensores químicos por sus siglas en inglés: *ISE*, *Ion Selective Electrodes*.

Un *ISE* necesita un elemento interno sensible a la interacción elemento sensor–analito que transporte una señal hasta un dispositivo de medida y procesamiento de la información capturada. Dicho elemento se conoce como transductor. Aquel analito al cual se dirige la acción selectiva del elemento sensor se le conoce como analito diana (en inglés, *target compound*).

La interacción sensor – diana puede generar cambios electroquímicos, de luz, de temperatura, o del sonido, que son transductores electroquímicos, ópticos, termométricos o acústicos, respectivamente. En la literatura los sensores químicos y los biosensores más estudiados son aquellos con transducción electroquímica. En la Figura 37, se muestran los elementos mínimos de un *ISE* o de un biosensor:

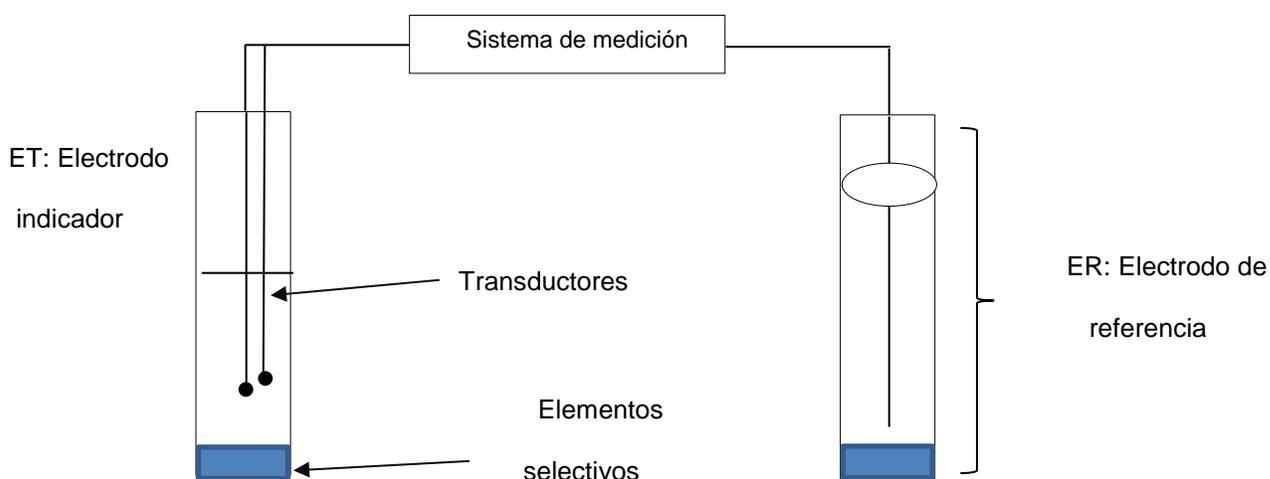


Figura 37. Arreglo básico para un ISE con monitoreo potenciométrico.

Los *ISE* o biosensores que sólo miden un cambio de potencial en la interface sensor–analito con respecto a un electrodo de referencia se conocen como sensores o biosensores potenciométricos, y el sistema de medida que requieren es un potenciómetro a corriente casi nula. Aquellos en los cuales se impone un potencial externo para electrotransformar algún producto de la interacción sensor–analito, requieren un transductor extra para cerrar el circuito de corriente de electrólisis. Estos se conocen como sensores amperométricos y requieren de un amperímetro como sistema de medición, además de una fuente de poder para llevar a cabo la electrólisis.

3.2 Principios teóricos

3.2.1 Potenciales electroquímicos

Los potenciales surgen en las interfases de la membrana debido a las diferencias de los potenciales químicos de cada ion, cambios de concentración abruptos, y acumulación de iones adsorbidos y dipolos alineados. En el seno de la disolución, los potenciales surgen del movimiento de la carga, creando campos locales y potenciales consecuentes. Todos estos efectos pueden interpretarse en términos del potencial electroquímico de las especies cargadas y el procedimiento es generalmente aplicable a todo tipo de electrodos (Freiser, 1978).

3.2.2 Electrodo de iones selectivos *ISE*

Cuando se realiza una medición potenciométrica entre dos electrodos, se pretende interpretar los potenciales en términos de las actividades de los iones. De esta manera se obtiene información acerca de la composición de la disolución. Los electrodos selectivos de iones modernos están basados en membranas pasivas, regiones del espacio que separan dos fases de tal manera que el transporte de material entre las fases externas de contacto sea modificado o inhibido en comparación con el transporte que ocurriría cuando las fases están en contacto directo.

El transporte de material puede incluir especies complejas tanto neutras como cargadas. La razón por la que el transporte de membrana es interesante y útil en química analítica es que el transporte conduce al desarrollo de una diferencia de potencial electrostático a través de la membrana. Estos potenciales de membrana reflejan la composición de las fases exteriores, generalmente las disoluciones de contacto, y

pueden relacionarse, en la mayoría de los casos, con las actividades de los iones. Cuando los potenciales de membrana son interpretados en términos de actividades de iones, se tiene una técnica analítica para una sola medición o monitorización continua de disoluciones adyacentes a una membrana.

Las membranas son generalmente líquidas o sólidas. Por lo general, son lo suficientemente gruesas como para poseer una región interior y dos superficies exteriores que separan la membrana de las fases exteriores. Con el fin de describir los procesos generadores de potencial, es conveniente considerar las membranas como suficientemente gruesas para tener una región interior de composición única con respecto a las regiones exteriores. Éste concepto es útil para la mayoría de las membranas tangibles que se utilizan como ISEs.

3.2.3 Ecuación de Nikolsky

El potencial de celda se establece por medio de un convenio que sitúa al electrodo de trabajo como cátodo, al electrodo de referencia como ánodo, de forma que el potencial de celda queda definido como la suma de potenciales del electrodo de referencia, de trabajo y del potencial de unión líquida, expresado en conjunto como:

$$E_{celda} = E_{ET} - E_{ER} + E_j \quad 4.1$$

El potencial E , resultado de realizar una medición mediante un *ISE* de iones selectivo se conoce como potencial de celda. La ecuación que describe la variación del potencial del electrodo indicador en función logaritmo de concentración de la especie i , se conoce como ecuación de Nikolsky. Esta es una modificación de la ecuación de Nernst ya que toma en cuenta a la especie i de interés y a las otras especies iónicas del medio que

tienen influencia sobre el potencial, debido a que la selectividad nunca es del 100% hacia la diana de interés:

$$E = E_0 + \frac{RT}{(z_A F)} \ln[a_A + \sum_B K_{A,B}^{pot} (a_B)^{z_A/z_B}] \quad 4.2$$

donde E es el potencial medido; E_0 es una constante que incluye el potencial normal del electrodo de referencia y el potencial de unión líquida; z_A y z_B son los números de carga del ion de interés A, y del ion interferente B; a_A y a_B son las actividades del ion primario A, y el ion interferente B; y $K_{A,B}^{pot}$ es el coeficiente de selectividad potenciométrico para el ion primario A contra el ion interferente B. Si el valor del coeficiente de selectividad es mayor a 1, el *ISE* responde a los iones interferentes más selectivamente. En la mayoría de los casos el valor del coeficiente de selectividad es menor a 1, lo que significa que el sensor responde al ion primario de forma más selectiva que a los iones interferentes. Generalmente, la respuesta de este tipo de electrodos varía linealmente con el logaritmo de la concentración, manteniendo condiciones experimentales controladas. La ecuación de Nikolsky asume una respuesta Nernstiana no solo para el ion primario sino también para el ion interferente, (IUPAC, 2000).

3.2.4 Electrodo de estado sólido W^0 selectivo a H^+

El empleo de un microsensor en base al sistema $W^0|WO_3$ se ha utilizado durante años en docencia e investigación obteniendo resultados comparables a aquellos obtenidos mediante un electrodo de vidrio convencional (Muhammad, Hernandez, Baeza, & Escobar, 2003). El elemento sensor a H^+ es una superficie cristalina de óxidos de WO_3 .

3.3 Objetivos particulares

1. Construir un equipo de potenciometría a microescala con materiales convencionales y de bajo costo.
2. Elaborar un electrodo de trabajo y referencia para realizar determinaciones potenciométricas de pH en las condiciones de trabajo planteadas.
3. Realizar una curva de calibración para el *ISE* de estado sólido con disoluciones buffer preparadas en agua de mar simulada.
4. Realizar valoraciones potenciométricas ácido-base en el medio de reacción de agua de mar simulada con monitoreo de electrodos.
 - a. Titulación de un ácido nivelado con NaOH.
 - b. Titulación de un ácido no nivelado con NaOH.
5. Determinar los coeficientes de selectividad potenciométricos de los cationes Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .
6. Determinar el *pH* de un buffer de tris en agua de mar simulada (TRIS-T27-007).
7. Comparar el *pH* del buffer (método potenciométrico) con el obtenido por espectrofotometría.

3.4 Hipótesis

“La calibración del sensor con buffers elaborados en agua de mar simulada ofrecerá una respuesta de tipo nikolskyana a la actividad del protón solvatado. Ésta ecuación de Nikolsky ajustable, resultado de la calibración permitirá determinar la concentración de protones libres solvatados del agua de mar simulada”

3.5 Trabajo experimental

3.5.1 Materiales y reactivos

- Multímetro MUL-630 con interface USB para P.C. para realizar el monitoreo potenciométrico. El multímetro cuenta con un software que es capaz de registrar datos en cada momento y guardarlos en archivos formato.txt.
- Alambre de tungsteno 1.0 mm de diámetro SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: 99.9%.
- Ácido Clorhídrico SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: HCl, 36.5-38.0%.
- Hidróxido de sodio R.A. J.T. Baker: NaOH > 99.9%, MW: 40 g mol⁻¹
- Trizma hydrochloride SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₄H₁₁NO₃ *HCl > 99.0%, MW: 157.60 g mol⁻¹.
- Nitrato de Cobre J.T. Baker, 99.9%.
- Biftalato de potasio J.T. Baker: C₈H₅KO₄ > 99.9%, MW: 204.228 g mol⁻¹.
- Ácido Acético glacial SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₂H₄O₂ > 99.7%.
- Acetato de sodio SIGMA-ALDRICH, México, S.A.: C₂H₃O₂Na > 99.98%, MW: 84.02 g mol⁻¹.
- Agua desionizada para realizar disoluciones y lavados pertinentes (desionizador Barnstead modelo 04751) a R= 18.3 MΩ, conductividad específica=0.055 μS·cm⁻¹.
- Alambre de cobre convencional de grosor 3 mm.
- Puntas de micropipeta automática.
- Algodón.
- Vaso de jarabe bihoradado de 10 mL.

- Jeringa plástica de insulina de 1.0 mL.
- Agitador magnético a base de un ventilador de computadora en una caja de acrílico con una barra de agitación.
- Soporte universal de metal.

3.5.2 Metodología analítica

La construcción de los sensores está basada en la metodología descrita con anterioridad (Muhammad, Hernandez, Baeza, & Escobar, 2003). El diseño de los electrodos y el equipo de potenciometría a microescala, se presentan en las Figura 38 y 39.

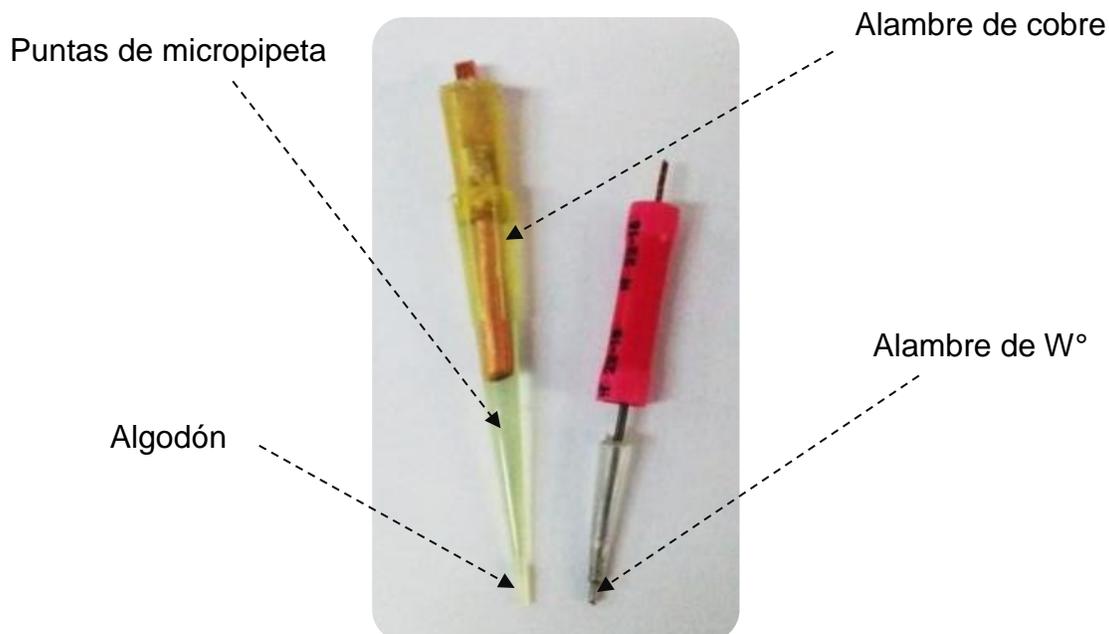


Figura 38. Electrodo indicador de W° y de referencia $\text{Cu}^0|\text{Cu}^{2+}$, $C_0 = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ ||

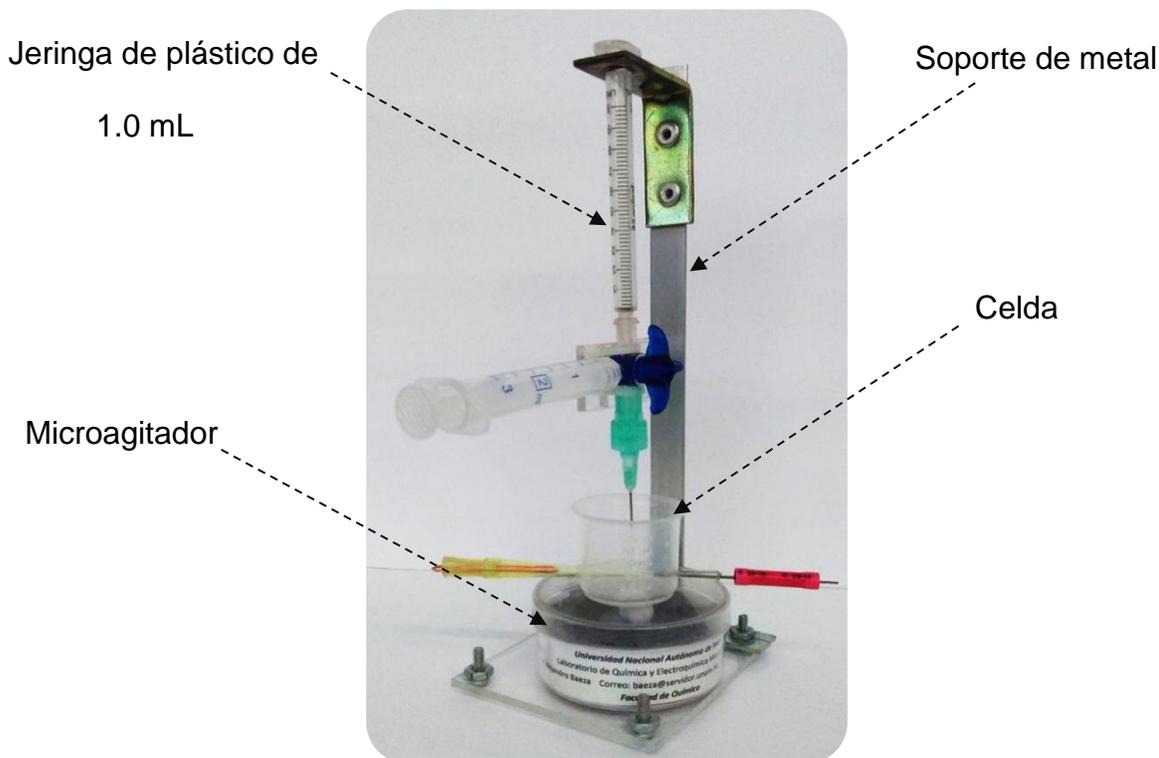


Figura 39. Equipo de potenciometría de mínima instrumentación construido con materiales convencionales y de bajo costo.

Curva de calibración potenciométrica

La calibración del *ISE* de W° se realizó a partir de 5 disoluciones amortiguadoras de *pH* en agua mar simulada. El nivel de acidez de cada disolución se determinó por espectrofotometría. Con el fin de evitar la precipitación de los hidróxidos de calcio y magnesio para $pH > 8.0$, al agua de mar simulada no se agregó $MgCl_2$ ni $CaCl_2$. Los buffers utilizados para la calibración fueron, acetatos, bis (2-amino-2-metil-1,3-propanodiol), morfolina, tris y amonio amoniaco. La Tabla 15 muestra los buffers utilizados para la calibración y el *pH* de cada disolución.

Tabla 15

Disoluciones buffers utilizadas para la calibración del ISE de W° .

Buffer	Sistema	<i>pH</i>
1	Acetatos	4.08
2	Bis	6.09
3	Morfolina	7.01
4	Tris	8.01
5	Amonio/amoniaco	9.99

Para determinar el pH del buffer de acetatos se empleó verde de bromocresol como indicador (Brelan & Byrne, 1993). En cuanto a los buffers restantes, se utilizó púrpura de m-Cresol. Se tomó una alícuota de 5 mL del buffer y se adicionó en la celda potenciométrica, conectando los electrodos al multímetro y registrando la diferencia de potencial durante un tiempo de 5 minutos para obtener un valor de potencial promedio durante un tiempo de muestreo definido. Posteriormente se hizo el mismo procedimiento para las disoluciones amortiguadoras restantes, realizando el procedimiento por quintuplicado.

Curvas de valoración ácido base con monitoreo potenciométrico

Se realizó la valoración potenciométrica de un ácido nivelado HCl , $C_{HCl} = (0.098 \pm 0.002) \text{ mol L}^{-1}$ y de un ácido no nivelado $tris - H^+$, $C_{tris} = (0.091 \pm 0.003) \text{ mol L}^{-1}$. Se tomaron 0.5 mL de ácido y se adicionaron en la celda, agregando agua de mar simulada hasta un volumen de 5 mL. Se conectó el par de electrodos al multímetro y se hicieron adiciones del titulante registrando el potencial de celda simultáneamente, realizando el procedimiento por quintuplicado para ambos sistemas.

Determinación de los coeficientes de selectividad potenciométricos $\mathcal{K}_{H^+,M^{Z+}}^{pot}$

El método para determinar los coeficientes de selectividad potenciométricos consiste en la mezcla de disoluciones. Se elaboró un buffer de biftalato de potasio ($pH = 4.0$) en agua de mar simulada. Se tomaron 5 mL de buffer y se adicionaron en la celda, registrando el valor de la diferencia de potencial. Este valor es igual al potencial de la disolución antes de ser agregado el ion interferente E_1 . Luego, a partir de una disolución de $NaCl$ $C_0 = 3 \text{ mol L}^{-1}$ se realizaron adiciones de 100 μL . El potencial de la disolución hace alusión a la presencia del ion interferente E_2 . Se realizó el mismo procedimiento para los iones K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .

Determinación de pH del buffer de tris TRIS-T27-007

Finalmente, para determinar el pH del buffer de tris en agua de mar sintética TRIS-T27-007 (3 Mayo 2015), se tomó un volumen de 5 mL de muestra, conectando el par de electrodos al multímetro y midiendo la diferencia de potencial con un tiempo de muestreo de 5 minutos, realizando el procedimiento once veces.

3.6 Resultados experimentales del uso de W° como electrodo de trabajo

3.6.1 Calibración potenciométrica

Al cabo de 60 segundos, el potencial de la disolución se estabilizó y se mantuvo constante. El número de registros de potencial durante los 5 minutos de muestreo fue de 600. El sensor de W° presenta el comportamiento de acuerdo a la ecuación de Nikolsky (Baeza R., 2003):

$$E = (-33.0 \pm 0.8)mV (pH) - (103.4 \pm 4)mV \quad r^2 = 0.9948 \quad 4.3$$

que se obtuvo de la regresión lineal entre los valores observados de potencial de celda y el *pH* de las disoluciones amortiguadores (Figura 40). Asimismo, se determinó la incertidumbre de la pendiente y de la ordenada en el origen. Se aprecia una variación lineal del potencial de electrodo con la concentración del protón solvatado. La dispersión de los datos es mayor sólo en el punto número tres. En la Tabla 16 se presenta la desviación estándar de las lecturas de potencial de celda realizadas para la calibración. La incertidumbre relativa de pendiente y ordenada en el origen es 3 % y 4 % respectivamente.

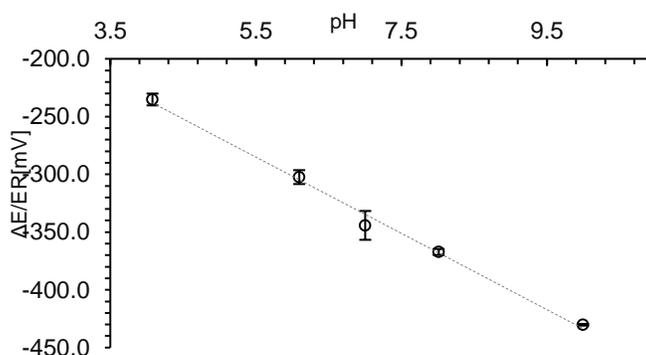


Figura 40. Curva ponderada (n=5) de calibración potenciométrica del ET de W° para pH en agua de mar sintética. ET: W°, ER: Cu⁰|Cu²⁺||.

Tabla 16

Potencial de celda medido (n=5) para la calibración del ISE de W°.

E_{celda}/mV	$S_{pot.} / mV$
-235.2	1.5
-302.4	1.9
-344.2	4.1
-367.2	2.1
-430.2	2.3

3.6.2 Comportamiento potenciométrico

Como aplicación de la ecuación 4.3, se realizó el monitoreo potenciométrico de una reacción de HCl con $NaOH$ en presencia de agua de mar simulada. La Figura 41 muestra la curva de potencial en función del volumen agregado de titulante. La ecuación que permite relacionar el potencial de celda con el pH es:

$$pH = \frac{(E_i - 103.4 \text{ mV})}{-33.0 \text{ mV}} \tag{4.4}$$

donde E_i es el potencial de celda medido, de esta manera se asociaron valores de pH a cada una de las lecturas de potencial que se realizaron.

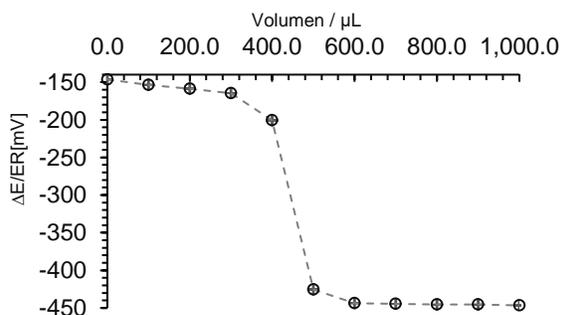


Figura 41. Curva ponderada de caracterización potenciométrica (n=5) para la reacción de HCl con NaOH en agua de mar simulada. ET: W° , ER: $Cu^0|Cu^{2+}|$

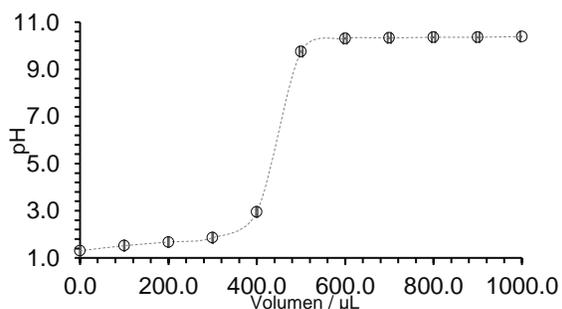


Figura 42. Gráfica ponderada (n=5) de pH en función del volumen agregado de titulante, para la curva de monitoreo potenciométrico de HCl con NaOH en agua de mar simulada.

En la Figura 42 se aprecia la evolución del pH durante la operación, iniciando con un ácido totalmente dissociado, su neutralización, y finalmente la presencia de la base en exceso. La reproducibilidad del sistema es buena ya que no presenta una dispersión significativa en los datos experimentales de pH . En la Tabla 17 se presentan los valores de pH correspondientes a cada punto de la curva de titulación y la desviación estándar.

Tabla 17

pH calculado a partir de la ecuación 4.4, correspondiente a la titulación de HCl con NaOH.

<i>pH</i>	S_{pH}
1.10	0.01
1.32	0.02
1.57	0.04
1.85	0.01
2.95	0.07
7.75	0.11
10.30	0.02
10.33	0.04
10.36	0.03
10.36	0.01
11.39	0.01

Nota. S_{pH} : desviación estándar del pH

De manera similar, se realizaron los cálculos de pH para la valoración potenciométrica del *tris* – H^+ con *NaOH* en agua de mar simulada (Figura 43 y 44). Se concluyó que el sensor proporciona valores de *pH* que describen adecuadamente los procesos que ocurren en disolución.

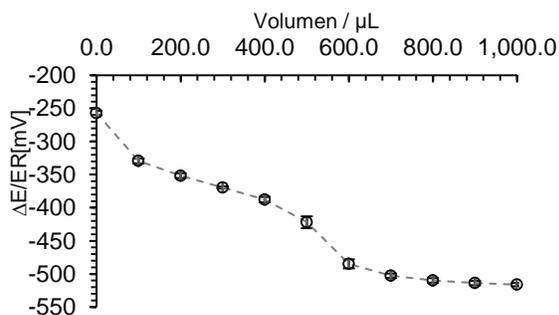


Figura 43. Curva ponderada de caracterización potenciométrica (n=5) para la reacción de *tris* – H^+ con NaOH en agua de mar simulada. ET: W° , ER: $Cu^0|Cu^{2+}|$.

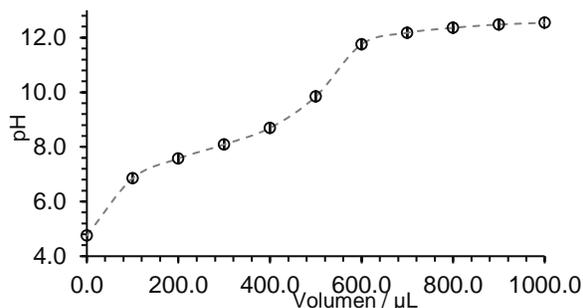


Figura 44. Gráfica ponderada (n=5) de pH en función del volumen agregado de titulante, para la curva de monitoreo potenciométrico de *tris* – H^+ con NaOH en agua de mar simulada.

3.6.3 Selectividad

En la mayoría de los casos, los sensores no responden al 100% hacia una diana de interés. Si bien en química analítica se controlan los medios de reacción y las interferencias se minimizan tanto como sea posible, en la práctica, estas interferencias no pueden ignorarse porque pueden tener un aporte significativo a la variable medida.

En el caso de la potenciometría, las especies iónicas que constituyen una disolución electrolítica pueden tener un aporte significativo en el potencial de membrana si están en una concentración elevada, lo cual hace importante evaluar la respuesta del sensor ante las especies iónicas posibles en una muestra. En particular para agua de mar simulada, se han obtenido los coeficientes de selectividad potenciométricos de los cationes Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , y se pretende evaluar la respuesta de electrodo ante estas especies iónicas del medio. La ecuación de Nikolsky sin interferente es:

$$E_1 = K + 0.059 \log([H^+]) \quad 4.5$$

Agregando el término $\mathcal{K}_{H^+,M^{z+}}^{pot}[M^{z+}]$ en el argumento del logaritmo, que corresponde a la especie M^{z+} en el medio:

$$E_2 = K + 0.059 \log\left([H^+] + \mathcal{K}_{H^+,M^{z+}}^{pot}[M^{z+}]^{1/z+}\right) \quad 4.6$$

Dado que existe una diferencia de potencial en la disolución cuando el ion interferente está presente y cuando no lo está, pueden restarse las expresiones:

$$E_2 - E_1 = 0.059 \log\left(1 + \frac{\mathcal{K}_{H^+,M^{z+}}^{pot}[M^{z+}]^{1/z+}}{[H^+]}\right) \quad 4.5$$

Manipulando algebraicamente la expresión, se obtiene:

$$10^{\frac{E_2-E_1}{0.059}} = 1 + \mathcal{K}_{H^+,M^{z+}}^{pot} \frac{[M^{z+}]^{1/z+}}{[H^+]} \quad 4.7$$

Donde $[M^{z+}]$ corresponde a la concentración molar efectiva del ion interferente, y el valor de la pendiente corresponde a $\mathcal{K}_{H^+,M^{z+}}^{pot}$. Esta expresión es función del cociente de la concentración molar del ion interferente $[M^{z+}]$ y la concentración molar de $[H^+]$, o sea el pH de la disolución que se encuentra amortiguado, variables que pueden controlarse en el laboratorio. Se presentan las relaciones lineales (Figura 45 a 48) y el valor experimental de los coeficientes de selectividad potenciométricos.

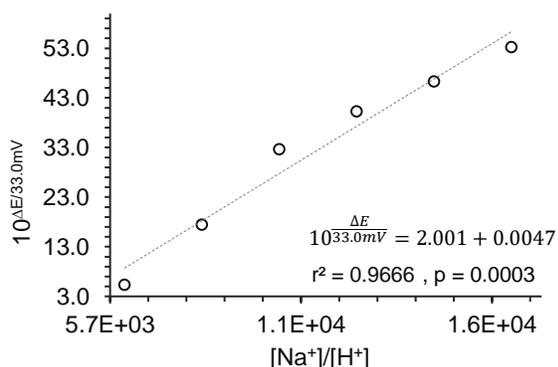


Figura 45. Gráfica $10^{\Delta E/33.0mV} = f([Na^+]/[H^+])$, E_2 es debido a la presencia de $[Na^+]$, E_1 es en ausencia de Na^+ en 5 mL agua de mar simulada en buffer de biftalato de potasio pH=4.01.

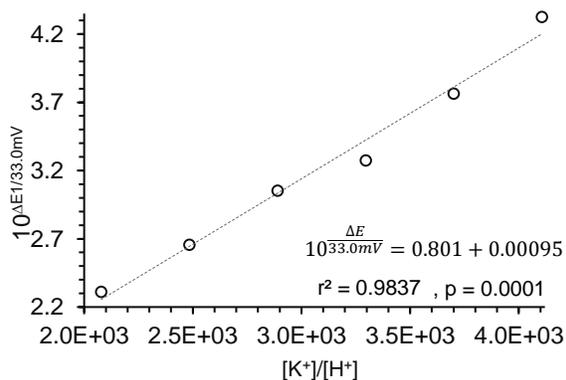


Figura 46. Gráfica $10^{\Delta E/33.0mV} = f([K^+]/[H^+])$, E_2 es debido a la presencia de $[K^+]$, E_1 es en ausencia de K^+ en 5 mL agua de mar simulada en buffer de acetatos pH=4.01.

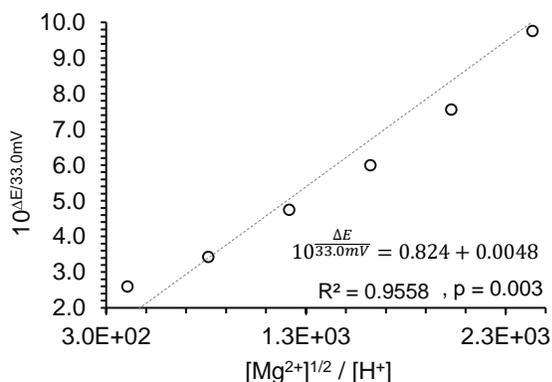


Figura 47. Gráfica $10^{\Delta E/33.0mV} = f([Mg^{2+}]^{1/2} / [H^+])$ E₂ es debido a la presencia de $[Mg^{2+}]$, E₁ es en ausencia de Mg^{2+} en 5 mL agua de mar simulada en buffer de acetatos pH=4.00.

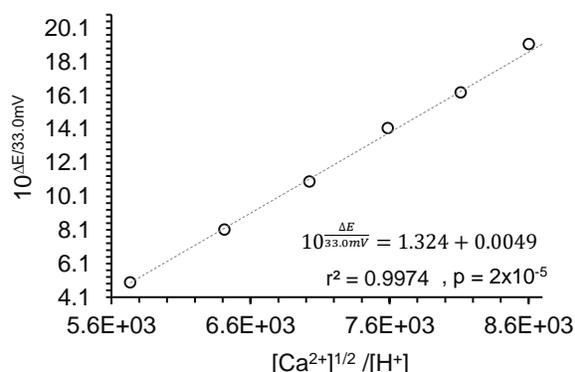


Figura 48. Gráfica $10^{\Delta E/33.0mV} = f([Ca^{2+}]^{1/2} / [H^+])$ E₂ es debido a la presencia de $[Ca^{2+}]$, E₁ es en ausencia de Ca^{2+} en 5 mL agua de mar simulada en buffer de acetatos pH=4.00.

Tabla 18

Coeficientes de selectividad potenciométricos, obtenidos mediante el método de las disoluciones mezcladas.

Ion interferente	$\mathcal{K}_{H^+,MZ^+}^{pot}$
Na^+	4.7×10^{-3}
K^+	9.5×10^{-4}
Mg^{2+}	4.8×10^{-3}
Ca^{2+}	4.9×10^{-3}

3.6.4 Determinación del pH de un buffer de tris en agua de mar simulada

Después de la calibración y evaluación la selectividad del ISE, se determinó el pH del buffer de tris en agua de mar sintética TRIS-T27-007. El resultado se compara con el obtenido por espectrofotometría. Además se analiza la precisión y exactitud del método potenciométrico, así como una estimación de la incertidumbre asociada a la determinación. En la Tabla 19 se presentan los potenciales de celda medidos y el pH calculado a partir de la ecuación 4.4.

Tabla 19

Potencial de celda medido con el ISE de W^o y pH calculado con la ecuación 4.4.

Réplica	E_{celda}/mV	$E_{prom.}/mV$	$S_{pot.}/mV$	pH	$pH_{prom.}$	S_{pH}	$pH_{esperado}$
1	-379.0	-366.8	2.8	7.9	7.9	0.09	8.09
2	-379.0			7.9			
3	-379.0			7.9			
4	-383.8			8.0			
5	-379.0			7.9			
6	-384.1			8.0			
7	-376.6			7.8			
8	-383.0			8.0			
9	-379.0			7.9			
10	-376.0			7.8			
11	-384.1			8.1			

Nota. El pH esperado hace alusión al valor reportado. Se ha tomado $pH=8.093 \pm 0.002$, (Del Valls & Dickson, 1998).

Para terminar, se presenta en la Tabla 20 el pH de la disolución de tris en agua de mar simulada, determinada mediante los métodos: espectrofotométrico y potenciométrico.

Tabla 20

pH del buffer de tris en agua de mar simulada TRIS-T27-007 determinado por espectrofotometría y por potenciometría.

Método	pH	$u(pH)$
Espectrofotométrico	7.96	0.04
Potenciométrico	7.9	0.4

3.7 Discusión de resultados

Calibración potenciométrica

A diferencia de los trabajos reportados que se basan en la definición operacional del pH para determinar el nivel de acidez del agua de mar (Dickson A. G., 2007; Millero, Frank J., 1993), en este trabajo, se han elaborado amortiguadores de pH en agua de mar

sintética y se ha construido una curva de calibración potenciométrica. El sensor presenta una respuesta lineal entre el potencial de electrodo y el logaritmo de la concentración de protones solvatados, por lo que se presume que se tiene una buena respuesta de potencial del par H_nWO_3/WO_3 . Sin embargo la incertidumbre relativa de la pendiente y ordenada en el origen es mayor al 1 %.

El propósito de realizar curvas de valoración potenciométricas, es ejemplificar el uso de la ecuación 4.4 para determinar valores de pH a partir de potenciales de celda medidos. Además el sensor describió adecuadamente la evolución del nivel de acidez de los procesos llevados a cabo durante la operación analítica.

Selectividad del sensor

En cuanto a la selectividad del sensor, los coeficientes de selectividad potenciométricos indican que los iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} no son fuertes interferentes en la membrana cristalina de WO_3 . Se ha trabajado con concentraciones 1 mol L^{-1} para los iones interferentes y se ha demostrado que en ésta concentración el sensor sigue siendo selectivo. Para las condiciones simuladas de agua de mar, ningún catión interferente está presente en esta concentración. Sin embargo sólo se ha evaluado la selectividad a un determinado valor de ($pH = 4.0$), y se eligió por la razón $10^{-4.0} > 10^{-8.0} \text{ mol L}^{-1}$. Lo conveniente es evaluar la selectividad del sensor en un intervalo de pH más amplio para obtener la relación de $\log K_{H^+,M^{z+}}^{pot} = f(pH)$, esperando una variación constante del coeficiente de selectividad con el pH .

Precisión y exactitud de la determinación de pH

La precisión que se ha obtenido con la potenciometría es de 0.09 unidades de pH . Si bien se ha alcanzado una precisión de igual magnitud a la reportada por (Dickson, A. G., 1993) la incertidumbre estimada es alta (0.4 unidades de pH). Es necesario evaluar más detalladamente las fuentes de incertidumbre asociadas a esta técnica para mejorarla. Con una mejor estimación de la incertidumbre, sería posible utilizar el sensor para desarrollar un sistema para el monitoreo continuo de pH de agua de mar.

En cuanto a la exactitud de la determinación, se concluyó que es buena. El pH calculado a partir de la ecuación 4.4 arroja valores de pH ($n=11$ mediciones) de magnitud similar al obtenido por espectrofotometría, lo que indica una buena exactitud de pH con el electrodo de W° .

3.8 Conclusiones particulares

- El electrodo de W° responde de manera selectiva al pH en la muestra de simulada de agua de mar.
- Se obtuvo una precisión de 0.09 unidades de pH con el electrodo de W° .
- El sensor presenta una buena exactitud en la determinación de pH .
- El electrodo de W° permitió la determinación de pH del agua de mar simulada, pero con una incertidumbre de ± 0.4 unidades de pH .
- Una reducción de la incertidumbre permitiría implementar el sensor en un sistema de monitoreo continuo de pH .

Capítulo 4. Conclusiones y comentarios

“Hasta el final seguiré siendo, simplemente, Michael Faraday”

Michael Faraday (1791-1876) Físico y Químico Británico

El trabajo desarrollado ha permitido obtener las siguientes conclusiones:

- La implementación de medidas de pH en agua de mar simulada por espectrofotometría ha permitido alcanzar incertidumbres de ± 0.04 y una repetibilidad de 0.003 unidades de pH .
- Se ha obtenido una ecuación de cálculo de pH espectrofotométrico con constantes determinadas en condiciones de fuerza iónica de 0.7 mol L^{-1} .
- Una vez determinada la concentración del indicador, se ha obtenido los parámetros espectrofotométricos (coeficientes de absortividad molar), que son congruentes con los valores reportados en la literatura para el púrpura de m-Cresol.
- Se ha determinado el pK_a aparente de la especie HIn^- con una incertidumbre relativa inferior al 1%.
- El electrodo de W° permite determinar el pH del agua de mar simulada, pero con una incertidumbre mayor en un orden de magnitud que el método espectrofotométrico.

Hasta este momento, se han obtenido valores de pH espectrofotométrico con una incertidumbre de ± 0.04 unidades de pH . Para el estudio de aguas de la zona costera la incertidumbre es aceptable, ya que las variaciones de pH que se esperan son del orden de la décima de unidad. Sin embargo, en aguas del océano abierto, estas variaciones son menores y sería necesario mejorar la incertidumbre de la determinación.

La metodología analítica propuesta en este trabajo para obtener el valor de los coeficientes de absorptividad molar y el pK_a arroja resultados válidos que pueden ser empleados en la ecuación de cálculo de pH utilizando púrpura de m-Cresol como indicador. Sin embargo, algunos coeficientes de absorptividad tienen una mayor incertidumbre debido a las bajas absorbancias utilizadas para su cálculo. En este sentido es necesario mejorar el procedimiento para la obtención de dichas constantes. Por ejemplo, para las absorptividades molares, sería conveniente construir la curva de Ringbom $A = f(\log[i])$ para determinar un intervalo de concentraciones adecuado para realizar la curva de calibración $A = f([i])$ con el mínimo error por lectura, además de aumentar el número de puntos en la curva de calibrado. También, sería conveniente modificar la concentración del indicador para determinar el pK_a , evaluada en relación al valor de mínimo error obtenido de la curva de Ringbom.

Por razones de alcance de esta tesis, se ha asumido el trabajo a una salinidad constante. Si bien el efecto de variaciones de salinidad en ambientes de mar abierto se espera pequeño, este no es el caso de la zona costera. Para un futuro desarrollo, se propone un estudio de la variación del pH en función de la salinidad del agua de mar,

especialmente importante para lagunas costeras afectadas por la descarga de los ríos caudalosos.

Para finalizar, el electrodo de W° ha dado una buena respuesta de pH , pero la incertidumbre asociada a la técnica operatoria es mayor que la incertidumbre del método espectrofotométrico. Sería adecuado analizar otras fuentes de incertidumbre, por ejemplo, el potencial de unión líquida. Aunado a esto, rediseñar la construcción del electrodo de referencia con el fin de minimizar la variación del potencial de unión líquida si es que contribuye considerablemente en el potencial de celda.

Capítulo 5. Bibliografía

“A veces es más fácil eludir las dificultades predominantes (en la ciencia) que atacarlas”

Jacobus Henricus van 't Hoff (1852-1911) Químico Holandés

- Baeza R., J. A. (2003). Titulaciones ácido-base: potenciométricas a microescala total con microsensores de pH y de referencia de bajo costo. *Rev. Chil. Ed. Cient., Vol. 1, No. 2*, 16-19.
- Baeza Reyes, J. A. (2011). Caso general: $ML_j = ML_i + (i+j)L$. En J. A. Baeza Reyes, *QUÍMICA ANALÍTICA. Expresión gráfica de las reacciones químicas* (págs. 22-36). México D.F.: S y G.
- Baeza, A. (4 de Abril de 2015). *microelectrochemalexbaeza.com*. Obtenido de http://microelectrochemalexbaeza.com/wp-content/uploads/2015/04/DOC_APOY_FUNDAMENTOS_ELECTROANALITICA_2011_16333.pdf
- Balderas-Hernandez, P., Ramirez, M. T., Rojas-Hernandez, & Gutierrez, A. (1998). Determination of pKa's for thymol blue in aqueous medium: Evidence of dimer formation. *Talanta*, 1439-1452.
- Baldo, R., Morris, M. J., & Byrne, R. H. (1985). Spectrophotometric Determination of Seawater pH Using Phenol Red. *Analytical Chemistry*, 57(13), 2564-2567.
- Breland, J. A., & Byrne, R. H. (1993). Spectrophotometric determination of the total alkalinity of sea water using bromocresol green. *Deep-Sea Research* 40., 629-641.
- Byrne y otros. (1999). The role of pHT measurements in marine CO₂-system characterizations. *Deep-Sea Res*, 1985-1997.
- Byrne, R. H., & Breland, J. A. (1989). High precision multiwavelength pH determinations in sea water using cresol red. *Deep-Sea Research* (36), 803-810.

- Byrne, R. H., McElligott, S., Feely, R. A., & Millero, F. J. (1999). The role of pH measurements in marine CO₂-system characterizations. *Deep-Sea Res*, 1985-1997.
- Canadell, J. G. (2007). *Contributions to accelerating atmospheric CO₂ grow from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks*.
- CBD. (22 de May de 2007). *cbd.int*. Obtenido de www.cbd.int: www.cbd.int/ibd/2007/
- Clayton, T. D., & Byrne, R. H. (1993). Spectrophotometric seawater pH measurements: total hydrogen ion concentration scale calibration of m-cresol purple and at-sea results. *Deep-Sea Research I Vol. 40.*, 2115-2129.
- CO₂, E. (1 de July de 2017). *co2.earth*. Obtenido de www.co2.earth: <https://www.co2.earth/>
- Del Valls, T. A., & Dickson, A. G. (1998). The pH of buffers bases on 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol ("tris") in synthetic seawater. *Deep-Sea Research*, 1541-1554.
- Delgado, O., & Estrada, M. (1994). CO₂ system in Mediterranean frontal zone. *SCIENTIA MARINA*, 237-250.
- Dickson, A. G. (1993). The measurements of sea water pH. *Marine Chemistry*, 131-142.
- Dickson, A. G. (1993a). pH buffers for sea water media based on the total hydrogen ion concentration scale. *Deep-Sea Research I 40*, 107-118.
- Dickson, A. G. (12 de October de 2007). Obtenido de <http://scrippschemists.ucsd.edu/adickson/content/standards-ocean-measurements>

- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Annual review of marine science*, 169-192.
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Kleypas, J. A., & Feely, R. A. (2009). Ocean Acidification: The other CO₂ Problem. . *Annual Review of Marine Science*, 169-192.
- Douglas, N. k., & Byrne, R. H. (2017). Achieving accurate spectrophotometric pH measurements using unpurified meta-cresol purple. *Marine Chemistry*, 66-72.
- EURACHEM. (2012). Cálculo de la Incertidumbre Combinada. En EURACHEM, *Cuantificación de la Incertidumbres en Mediciones Analíticas* (pág. 25). España.
- Fabry, V. J., Seibel, B. A., Feely, R. A., & Orr, J. C. (2008). Impact of oceano acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 65(3), 414-432.
- Freiser, H. (1978). Electrochemical Potentials, Fluxes and Mobility. En H. Freiser, *ION-SELECTIVE ELECTRODES IN ANALYTICAL CHEMISTRY* (págs. 10-14). New York: PLENUM PRESS.
- Gabriel, M. D., Forja, J. M., Rubio, J. A., & Gómez-Parra, A. (2005). Dependencia de las absortividades molares del azul de timol de la temperatura y salinidad: Aplicación a la determinación espectrofotométrica del pH en aguas estuáricas. *Ciencias Marinas*, 309-318.
- García Mendoza, A. (Octubre de 2009). Tesis de Licenciatura. *Influencia del nivel de acidez en la electrooxidación monoelectrónica del ferroceno y en la electrorreducción bielectrónica de la benzoquinona en un líquido iónico representativo: Tetrafluoroborato de 1-butil-4-metil-piridinio*. México D.F., México.

- Garrels, R. M., & Christ, C. L. (1965). *Solutions, minerals, and equilibria*. New York : Harper and Row.
- GUM. (2012). Estimación de incertidumbres. *Revista Española de Metrología* , 114-130.
- Hansson, I. (1973). A new set of pH scales and standar buffers for sea water. *Deep-Sea Research* 20, 479-491.
- IIES. (1 de Julio de 2017). *iies.unam.mx*. Obtenido de www.iies.unam.mx: <http://www.iies.unam.mx/cambio-global-y-dimensiones-humanas/>
- IPCC. (2014). *Cambio Climatico Informe de Sintesis*. Ginebra.
- IUPAC. (2000). POTENTIOMETRIC SELECTIVITY COEFFICIENTS OF ION-SELECTIVE ELECTRODES. *Pure Applied Chemistry, Vol. 72*, 1851-2018. Obtenido de www.iupac.org.
- Loucaides, S., Rèrolle, V. M., Papadimitriou, S., Kennedy, H., Mowlem, M. C., Dickson, A. G., & Achterberg , E. P. (2017). Characterization of meta-Cresol purple for spectrophotometric pH measurements in saline and hypersaline media at sub-zero temperatures. *Scientific Reports*, 7, 2481.
- Lyman, J. (1987). Buffer mechanism of sea water.
- Millero, F. J. (2013). The Carbonate System. En F. J. Millero, *Chemical Oceanography* (págs. 259-264). New York: CRC Press.
- Millero, Frank J. (1993). The use of buffers to measure the pH of seawater. *Marine Chemistry*, 143-152.
- Muhammad, A., Hernandez, V. E., Baeza, A., & Escobar, R. N. (2003). THE USE OF W° MICRO BIOSENSOR TO MEASURE THE SITE-SPECIFIC pH CHANGES IN THE

- RHIZOSPHERE OF LUPINUS FERTILIZED WITH DIFFERENT SOURCES OF P.
Pak. J. Soil Sci. Vol. 22(2), 41-46.
- Nemzer, B. V., & Dickson, A. G. (2005). The stability and reproducibility of Tris buffers in synthetic seawater. *Marine Chemistry*, 237-242.
- NOAA. (18 de Agosto de 2017). *nodc.noaa.gov*. Obtenido de www.nodc.noaa.gov:
<https://www.nodc.noaa.gov/oceanacidification/data/0142327.xml>
- Pattersson, G. S. (1999). A Simplified Method for Finding the pKa of an Acid-Base Indicator by Spectrophotometric. *Journal of Chemical Education Vol. 76*, 395-398.
- Prince, A. B. (1965). Absortion spectrophotometric. *Methods of Soil Analysis. Part 2.* Durham: Chemical and Microbiological Properties.
- Ramette, R. W., Culberson, C. H., & Bates, R. G. (1977). Acid-base properties of tris(hydroxymethyl) aminomethane (tris) buffers in seawater from 5 to 4 °C .
Analytical Chemistry 49, 867-870.
- Ries, J. B., Cohen, A. L., & McCorkle, D. C. (2009). Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology*, 1131-1134.
- Riley, J. P., & Chester, R. (1971). *Introduction to marine chemistry*. London, New York: Academic Press.
- Whitney King, D., & Kester, D. R. (1989). Determination of Seawater pH from 1.5 to 8.5 using Colorimetric Indicators. *Marine Chemistry*, 5-20.
- Xuewu, L., Patsavas, M. C., & Byrne, R. H. (2011). Purification and Characterization of meta-Cresol Purple for Spectrophotometric Seawater pH Measurements. *Enviromental Science & Technology (45)*, 4862-4868.

Zhang, H., & Byrne, R. H. (1996). Spectrophotometric pH measurements of surface seawater at in situ conditions: Absorbance and protonation behavior of thymol blue. *Marine Chemistry*, 17-25.