

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA EDUCACION

ESCUELA PROFESIONAL DE EDUCACIÓN SECUNDARIA



**“EL ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE Y SU
UTILIZACIÓN EN EL ANALISIS DE COBRE”**

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL

PROGRAMA: BIOLOGIA - QUIMICA

Presentado por:

Cesar Julián, HEREÑA ROBLES

Indira Sirley, MELO DE PAZ

CERRO DE PASCO

PERU

2018

DEDICATORIA

A mis padres, porque son el pilar fundamental en mi vida, acompañándome siempre académica como profesional. Todo lo que soy se los debo a ellos. A mi familia, mi esposo Cesar a mi hija, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos. Indira Melo y César Hereña.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

I. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

1.1 IDENTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los objetivos del hombre, dedicado a la ciencia, consiste en explicar satisfactoriamente los fenómenos que ha decidido indagar. Como el trabajo del científico suele ser muy difícil ya que con mucha frecuencia se debe enfrentar a problemas casi siempre bastante complejos, eso determina entre otras cosas, que para poder darle respuesta a hechos no previstos y algunas veces no observables se ve en la imperiosa necesidad de emplear conceptos, definiciones y criterios teóricos. Procediendo de esta manera, combinando y dándole configuración lógica a un conjunto de hipótesis, leyes y hechos mediante construcciones adecuadas, establece teorías, las cuales, por lo general, sirven para tratar de dar explicaciones razonables, vastas, complejas, rigurosas y amplias a los fenómenos objeto de estudio.

La aplicación del conocimiento científico y tecnológico debe contribuir a la búsqueda de la verdad, el bienestar común a través de la comprensión crítica de la realidad, promoviendo los mejores aportes en relación con la superación de los problemas educativos y retos que plantean las necesidades sociales.

Impulsar una investigación científica generadora de conocimientos para una educación transformadora con un trabajo reflexivo, riguroso. Por lo tanto, el currículo considera los siguientes:

- La ciencia resuelve problemas y genera nuevos conocimientos.
- El tiempo de la generación del conocimiento es variable.
- La aceptación de nuevas teorías es un proceso lento y en consenso.

El trabajo académico se basa en el descubrimiento y generación del conocimiento científico y tecnológico; considerando que la única forma de justificar el conocimiento científico es a través de la crítica, la contrastabilidad de nuestros ensayos de solución a los problemas surgidos en la tensión entre nuestro conocer y nuestro ignorar.

Por lo tanto, es indispensable, adiestrar al profesional en el funcionamiento correcto del Equipo de Espectrofotometría UV – Visible. Darle las pautas al investigador para que pueda correctamente realizar el procedimiento analítico de cobre por Equipo de Espectrofotometría UV – VIS.

1.2 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACION

El Diagnóstico, es el primer paso para elaborar un referendo que nos permita saber cómo están los jóvenes en Investigación. Por tiempo, en el Proyecto es difícil elaborar dicho documento y solo haremos pruebas de entrada ya en el proceso mismo de ejecución del Trabajo de Investigación.

Con los resultados aspiramos responder a los requerimientos más urgentes que el estudiante necesita en su proceso de Enseñanza Aprendizaje.

El presente trabajo propone una teoría con nuevos aspectos como reto, el cual es formar a los futuros docentes, a fin de proporcionarles las herramientas cognitivas, metodológicas y éticas que les permitieran sentar las bases de una educación dirigida a las generaciones nacidas en la era del conocimiento, dejando atrás paradigmas anquilosados y ortodoxos.

Frente a los cambios que están ocurriendo, **la UNIVERSIDAD** tiene el triple desafío de cara al siglo XXI:

- Su modernización, tanto estructural como curricular.
- La adaptación del proceso de Enseñanza - Aprendizaje a las exigencias de la sociedad actual, asumiendo nuevas concepciones del aprendizaje y la necesidad de estrategias prioritarias para la población estudiantil.
- El apoyo al desarrollo de un sistema que ofrezca Educación a lo largo de toda la vida, teniendo un rol más protagónico y activo en la retroalimentación y la transformación del conjunto del sistema educativo para mejorar su actual calidad y equidad.

Partiendo del principio del compromiso de la Universidad con la **EDUCACIÓN PERMANENTE**, la Universidad que visualizamos tendría la característica siguiente:

- Una Institución, forjadora de ciudadanos conscientes y responsables, de profesionales, Investigadores. y que se proyecten a la comunidad, dotados de una cultura humanística y científica, capaces de seguirse formando por sí mismos, de adaptar sus conocimientos a las transformaciones.

Por ello, delimitamos el trabajo de investigación, A los estudiantes, que egresan de la Carrera de Biología y Química, que empiezan a manejar adecuadamente la Metodología de la Investigación, para un **espacio de tiempo**; entonces este trabajo de Investigación, que consiste en el manejo y análisis del Espectrofotómetro UV-Visible, se puedan evaluar iones presentes en soluciones, en el Laboratorio de la UNDAC, **para tiempos cortos** (de 8 a 12 meses de trabajo), utilizando como herramienta de evaluación, el Diseño Experimental.

1.3 FORMULACION DEL PROBLEMA

1.3.1 PROBLEMA PRINCIPAL

¿Es posible, que se pueda conocer, manejar y aplicar el Espectrofotómetro UV-Visible en el análisis de cobre estableciendo una conexión intrínseca entre la Investigación y la Práctica?

1.3.2 PROBLEMAS ESPECIFICOS

¿Es posible, adquirir y entender los conocimientos básicos sobre Espectrofotometría de absorción UV-visible, incluyendo la Ley de Lambert Beer?

¿Se puede, manejar adecuadamente el equipo de Espectrofotometría de absorción UV-visible?

¿Es posible, determinar el análisis de cobre, presente en una muestra desconocida, explicando la relación del valor a través de la Investigación y la Práctica?

1.4 FORMULACION DE OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

Conocer, manejar y aplicar el Espectrofotómetro UV-Visible en el análisis de cobre.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Adquirir y entender los conocimientos básicos sobre espectrofotometría de absorción UV-visible, incluyendo la Ley de Lambert-Beer.

Manejar adecuadamente el equipo de Espectrofotometría de absorción UV-Visible.

Determinar en el análisis de cobre, utilizando el equipo de Espectrofotometría de absorción UV-Visible, la concentración presente en una muestra.

1.5 JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACION

En el contexto de la globalización, el desarrollo de la ciencia y la tecnología, promueve continuamente cambios cruciales y radicales en los diversos campos profesionales, articulados con los aspectos sociales, económicos, productivos, culturales, ideológicos, filosóficos, ambientales y en los valores; afectando directamente la calidad de formación de los profesionales y consecuentemente, los niveles de calidad de vida y el bienestar de la población. Las Universidades Públicas, dentro de esta situación crítica creciente, cada vez están más limitadas por sus paradigmas tradicionales, sus estructuras organizacionales, y la carencia creciente de recursos para abordar dicho fenómeno.

La actual Educación Universitaria, se caracteriza por su estilo tradicional, teorizante, individualista, libresca, profesionalizante, memorística y repetitiva, alejada de la realidad social y laboral. A esta realidad, se unen la crisis en valores y ética universitaria, dando oportunidad a una creciente corrupción en sus diversas manifestaciones.

Esta corrupción, trae como consecuencia, que nuestros profesionales egresados, no tengan las herramientas adecuadas que les permita desenvolverse adecuadamente como Maestros de aula.

La información obtenida como herramienta imprescindible en la investigación, planificación y administración de los servicios, se convierte así en el principal soporte de gestión para quienes nos proponemos dar un servicio de calidad con criterio científico técnico, debiendo ser relacionada y considerada en el análisis de la producción de los servicios.

Al final de este proceso, la información dada con servicios de calidad, en una gestión eficaz, mostrará una organización moderna que permitirá alcanzar un mejoramiento continuo en aspectos de promoción de la salud, prevención y control, la agricultura y alcanzar una mayor eficiencia en el sistema.

Es por ello, que solo a través de un buen proceso de Enseñanza Aprendizaje, generando Investigación en las aulas y utilizando métodos de evaluación como en este caso el Diseño Experimental, podremos justificar el trabajo al establecer una conexión intrínseca entre la Investigación y la Práctica.

Sólo se justificará el trabajo de investigación: ***si en nuestros egresados, se desarrolla la Capacidad para generar y desarrollar investigaciones en el campo de la especialidad, para contribuir con alternativas de solución en el contexto de la problemática regional, nacional y global y con disposición permanente para difundir la producción científica y tecnológica.***

Esto comprometería a nuestros egresados de dos formas:

Para los docentes

- Actualización profesional y técnica en el manejo de Equipos de análisis.
- Mejora de la práctica docente a través de la Investigación Acción.
- Motivación del personal al contribuir a la solución de los problemas de la agricultura y de la industria,

- Participación en el desarrollo de la investigación de la Región.

Para los estudiantes

- Experiencia de aprendizaje en el estudiante, brindándole conocimientos en materia de evaluación de muestras químicas desconocidas.
- Capacitación en áreas específicas y ejecución de actividades que contribuyan a enriquecer su formación profesional y proporcionar ventajas en su desempeño personal.
- Motivación en ensayos de laboratorio, lo que proporciona confiabilidad cuando utilicen equipos sofisticados

Los alcances de la Investigación, serán:

- Estandarización de los procedimientos técnicos y analíticos, que permita mejorar la eficiencia del laboratorio y la capacitación de nuestros egresados.
- Los resultados del análisis a través del Espectrofotómetro UV-Visible, permitirá en nuestros egresados, el criterio de validez y precisión para análisis de aguas y suelos, los cuales son de utilidad en el ámbito agrícola y comercial para la Región Pasco; por ende, tendríamos egresados de alto nivel competitivo.

1.6 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACION

Las limitaciones del trabajo de investigación son las siguientes:

- **Escasez de material bibliográfico y científico sobre el tema**, escasez de material bibliográfico y científico sobre el tema, especialmente en lo que se refiere al análisis de aguas, donde este presente iones.
- **La falta de recursos económicos**, que permitan hacer una evaluación completa sobre los procesos de Enseñanza Aprendizaje a través de la Metodología de la Investigación Acción.
- **La falta de reactivos, para los equipos de análisis de última generación**, que permitan hacer una evaluación completa sobre los análisis de cobre, utilizando el Espectrofotómetro UV-Visible.
- **Viabilidad:** verificar la posibilidad de conseguir fuentes de datos para el desarrollo del estudio, para el año académico 2018.
- **Lugar** o espacio donde se llevó a cabo la investigación.
- **Tiempo**, año académico 2018, sin embargo, lo correcto sería evaluar a 2 o 3 años consecutivos, lo cual no es posible.

CAPITULO II

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES DE ESTUDIO

Luego de haber revisado tesis, monografías, Proyectos de Investigación en la biblioteca central de nuestra institución, la UNDAC, no se ha encontrado una referencia bibliográfica u otra similar que puedan servir como punto de partida y/o referencial, por lo que el presente estudio devendría en inédito. Sin embargo, hay trabajos parecidos en otras Instituciones, que mencionamos más abajo, por lo tanto: **considero mi trabajo como inédito.**

- G. TISSANDER, *Recreaciones científicas*, Altafulla, Expone una gran cantidad de demostraciones prácticas y explicaciones sobre fenómenos "sorprendentes". Destacan dos temas "la física sin aparatos" y "la química sin laboratorio".
- P. TOMÁS, J. HURTADO, Y OTROS, *Física y química enlatadas*, Agua clara, Alicante, Decenas de experimentos de física y química realizados con latas de refresco. Las experiencias se inician con una breve introducción teórica dónde se analiza su fundamento físico o químico y terminan con varias cuestiones abiertas a la investigación.
- R. HARRÉ (1986), *Grandes experimentos científicos*, Labor, Barcelona, grandes experimentos de la historia de la física y la química (realizados o no, con resultado positivo o negativo), como, por ejemplo, el de Galileo sobre la caída de graves, el de Michelson y Morley sobre la detección del movimiento absoluto de la Tierra en el espacio

2.2 BASES TEORICAS – CIENTIFICAS

2.2.1. EL PROCESO ENSEÑANZA-APRENDIZAJE

Enseñanza y aprendizaje forman parte de un único proceso que tiene como fin la formación del estudiante. La referencia etimológica del término enseñar puede servir de apoyo inicial: enseñar es señalar algo a alguien. No es enseñar cualquier cosa; es mostrar lo que se desconoce. Esto implica que hay un sujeto que conoce (el que puede enseñar), y otro que desconoce (el que puede aprender). El que puede enseñar, quiere enseñar y sabe enseñar (el profesor); El que puede aprender quiere y sabe aprender (el alumno).

Ha de existir pues una disposición por parte de alumno y profesor. Aparte de estos agentes, están los contenidos, esto es, lo que se quiere

enseñar o aprender (elementos curriculares) y los procedimientos o instrumentos para enseñarlos o aprenderlos (medios).

2.2.3. ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE. LA LEY DE LAMBERT-BEER

Los métodos espectroscópicos de análisis están basados en la medida de la radiación electromagnética que es absorbida o emitida por una sustancia. En función de ello se clasifican fundamentalmente en:

- **Métodos de absorción:** Se basan en la disminución de la potencia de un haz de radiación electromagnética al interaccionar con una sustancia.
- **Métodos de emisión:** Se basan en la radiación que emite una sustancia cuando es excitada previamente por medio de otro tipo de energía (térmica, eléctrica...).
- **Métodos de fluorescencia:** Se basan en la radiación que emite la sustancia cuando es excitada previamente por un haz de radiación electromagnética.

Otras clasificaciones de los métodos espectroscópicos se establecen en función de la región del espectro electromagnético que interviene en la técnica. Así, pueden utilizarse regiones como rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas, etc.

Dado que los primeros métodos espectroscópicos desarrollados corresponden a la región del visible recibieron la denominación de métodos ópticos, la cual se utiliza todavía con frecuencia. A continuación, se ofrece una breve información sobre la ley de Lambert-Beer y la **espectrofotometría de absorción** en la región visible del espectro.

Si se considera que se dispone de una fuente de radiación que hace llegar a la muestra un haz de radiación, de longitud de onda previamente seleccionada, cuya potencia es P_0 , la muestra de espesor b absorbe una parte de esa radiación incidente, de forma que la potencia del haz disminuye después de atravesar la muestra siendo su nueva potencia P . El cociente entre la potencia de la radiación que sale de la muestra y la de la que incidió sobre ella, se define como transmitancia:

$$T = P / P_0$$

La transmitancia también puede expresarse en tanto por ciento, multiplicando el cociente anterior por 100. Es más frecuente utilizar el

concepto de **absorbancia**, o **densidad óptica**, que se define como el logaritmo de la transmitancia cambiado de signo:

$$A = \log (P_0/P) = - \log T$$

De acuerdo con estas expresiones, si la muestra no absorbe radiación, P y P₀ coinciden, por lo tanto, A=0, y se transmite toda la radiación T=1 (100% de transmitancia). Si, en otro caso, se transmite solo un 1% de radiación (T=0.01), P = P₀ / 100, la absorción de radiación que ha tenido lugar corresponde a A = 2

Al incidir radiación electromagnética visible sobre la materia puede ser totalmente absorbida o totalmente reflejada. En el primer caso el objeto aparecerá de color negro y en el segundo de color blanco. Puesto que nosotros percibimos los objetos por medio de la luz reflejada, si hacemos incidir un haz de luz blanca (que contiene todas las longitudes de onda) sobre un objeto, éste absorberá ciertas longitudes de onda y reflejará otras, siendo éstas últimas las responsables del **color**. Se dice que este color (observado) es complementario del que se percibiría si la luz absorbida se pudiera detectar. Dado que en la parte experimental de esta práctica las medidas van a realizarse con espectrofotometría visible, es conveniente conocer para qué longitud de onda tiene cada color su máxima absorción, lo que se muestra en la tabla siguiente:

Tabla N° 01: colores de la luz visible

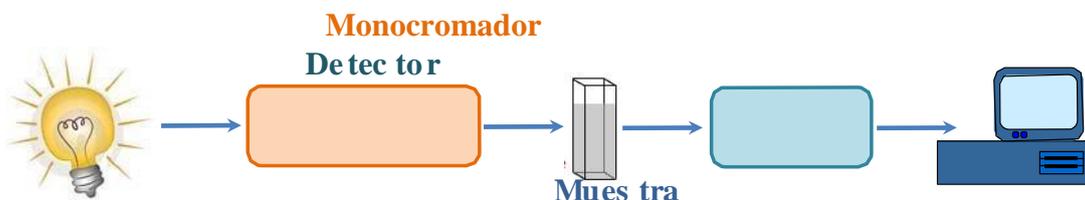
| COLORES DE LA LUZ VISIBLE | | |
|--|-----------------|-----------------|
| Longitud de onda de máxima absorción(nm) | Color absorbido | Color observado |
| 380-420 | Violeta | Amarillo-verde |
| 420-440 | Azul-violeta | Amarillo |
| 440-470 | Azul | Anaranjado |
| 470-500 | Verde-azul | Rojo |
| 500-520 | Verde | Púrpura |
| 520-575 | Amarillo-verde | Violeta |

Para medir los valores de absorbancia y transmitancia de una disolución se utilizan **Espectrofotómetros UV-Vis**, que, como puede verse en la Figura, se componen de cinco elementos principales:



Grafico N° 01: espectrofotómetro UV-Visible

- Una fuente de radiación que suele ser una lámpara de filamento de wolframio.
- Un monocromador que permite seleccionar una longitud de onda determinada originando un haz monocromático.
- Un recipiente para contener la muestra denominado cubeta fabricado con un material que permite el paso de la radiación en la región del espectro de interés. Suelen ser de vidrio, plástico o cuarzo. El espesor de la cubeta más habitual es 1 cm.
- Un detector que convierte la energía radiante en una señal eléctrica.
- Una pantalla de visualización



Fuente de radiación

Pantalla

Grafico N° 02: esquema de operación del espectrofotómetro UV-Visible

La absorbancia está relacionada con la concentración de la sustancia, **c**, por la ley de **Lambert-Beer**, que se resume con la ecuación: $A = \epsilon b c$, donde **c** se expresa en mol/L, **b** es la longitud del camino óptico (anchura de la célula que contiene la disolución de la sustancia) y se expresa en cm, y ϵ es la absorptividad molar, propiedad característica de cada sustancia correspondiente a la cantidad de radiación que absorbe a una longitud de onda determinada por unidad de concentración, siendo sus unidades $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (téngase en cuenta que la absorbancia no tiene unidades).

Para poder aplicar la ley de Lambert-Beer es necesario seleccionar previamente una longitud de onda puesto que tanto **A** como ϵ varían con ella. Para ello se obtiene previamente el **espectro de absorción** de la sustancia, que consiste en una representación de los valores de absorbancia frente a la longitud de onda expresada en nanómetros (nm).

Del espectro de absorción puede seleccionarse el valor de longitud de onda para el cual la absorbancia es máxima. La Figura muestra dos ejemplos de espectro de absorción.

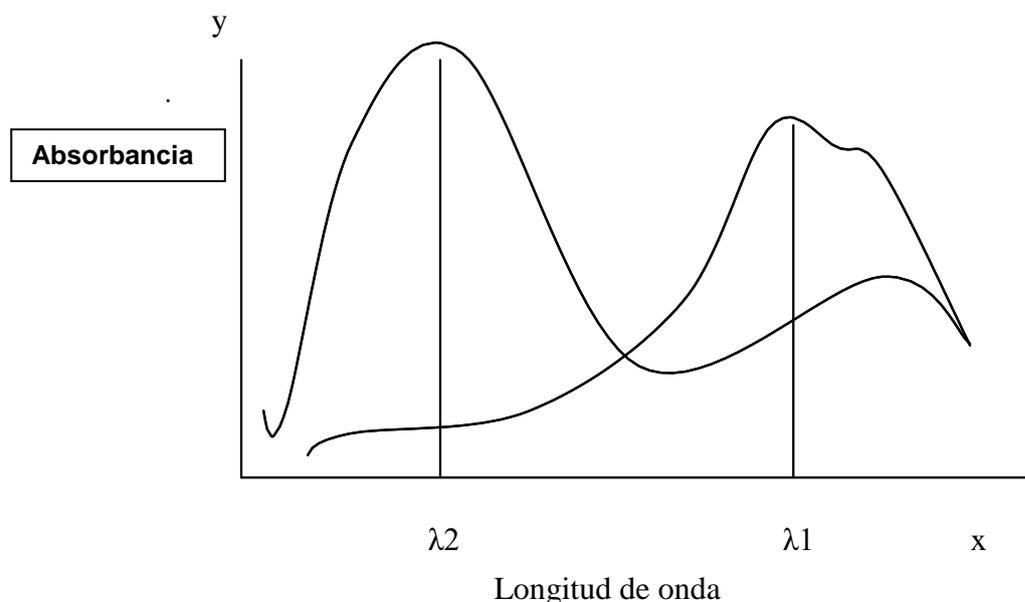


Gráfico N° 03: espectro de longitud de onda

Si bien la ley de Lambert-Beer indica que a una representación gráfica de la absorbancia frente a la concentración le correspondería una línea recta, esto sólo tiene lugar para disoluciones diluidas, por ello, no es conveniente utilizar la expresión matemática directamente, sino construir en cada caso la recta de calibrado que confirme que la ecuación de Lambert-Beer se cumple en el intervalo de concentraciones en el que se trabaja. Esta recta se construye midiendo la absorbancia de una serie de disoluciones de concentración perfectamente conocida.

2.2.3. EDUCACIÓN

Es un fenómeno histórico – social – cultural por lo tanto debe responder a los principales problemas y desafíos del entorno. Es así, que en la conferencia de las Naciones Unidas sobre medio Ambiente Humano, celebrada en Estocolmo, Suecia en junio de 1972 , se constató la necesidad de un cambio en la actitud de las personas ante el medio ambiente, lo que llevo a la siguiente conclusión: “Es indispensable una labor de educación en cuestiones ambientales, dirigida tanto a las

generaciones jóvenes como a los adultos y que preste la debida atención al sector de población menos privilegiada, para ensanchar las bases de una opinión publica bien informada”.

2.2.4. SOLUCIONES INTEGRALES INTERDISCIPLINARIAS

Los problemas del medio ambiente deben ser abordados desde un enfoque interdisciplinario, teniendo como eje central la educación, complementado con la economía, la política, el derecho, la sociología, la cultura y otros. Planteamiento surgido en la conferencia intergubernamental de Educación Ambiental en Tbilisi en el año de 1977. Del mismo modo, Delgado Kenneth dice: “el enfoque interdisciplinario de las cuestiones ambientales, en la medida que se contemplan diversas consideraciones de orden económico, psicológico, político, biológico, social, pedagógico, etc., para abordar la problemática de toda su complejidad”.

Análisis de los resultados

El análisis de la información arrojada por un Diseño Experimental permite realizar diversos análisis estadísticos como son: la prueba t, el análisis de varianza, el análisis de covarianza, etc.

¿Qué ventajas y usos tiene este diseño?

- Son factibles dado que se pueden realizar en pequeñas unidades, por lo cual son más baratos y tienen menos obstáculos prácticos.
- Permiten realizar investigaciones dentro de un marco de restricciones, particularmente la falta de aleatorización.
- Facilitan el desarrollo de estudios en ambientes naturales.
- Es a través de los Experimentos, inferir relaciones causales entre la variable independiente y la variable dependiente, pero su probabilidad de ser verdadera es relativamente baja en comparación con los diseños experimentales verdaderos.

¿Qué desventajas y limitaciones tiene este diseño?

- En los diseños Experimentales la variable independiente puede confundirse con variables extrañas, por lo que se sabe, un cambio en la variable dependiente se debe realmente a la variación de la variable independiente; es decir, la probabilidad de una conclusión de que la variable independiente produjo un determinado cambio conductual es mayor que cuando se usa un diseño Cuasi Experimental.
- Al utilizar grupos intactos o naturalmente formados, existe la posibilidad de que se presenten sesgos en la selección. Entonces, es conveniente tratar de igualar los grupos experimental y control con base a aquellas variables consideradas como importantes en el estudio.

2.3 DEFINICION DE TERMINOS BASICOS

Métodos de Enseñanza: constituyen recursos necesarios de la enseñanza; son los vehículos de realización ordenada, metódica y adecuada de la misma. Los métodos y técnicas tienen por objeto hacer más eficiente la dirección del aprendizaje.

Estrategias de Aprendizaje: está enfocado hacia la determinación de los Factores importantes de la toma de decisiones estratégicas, el cual comprende una serie de Conjunto de variables: Personales, de trabajo y de contexto, así mismo se toman en cuenta los valores de las Categorías de regulación y las Habilidades cognitivas.

Rendimiento académico: según Pizarro (1985), una medida de las capacidades respondientes o indicativas que manifiesta, en forma estimativa, lo que una persona ha aprendido como consecuencia de un proceso de instrucción o formación. Además, el mismo autor, ahora desde la perspectiva del alumno, define al rendimiento académico como la capacidad respondiente de éste frente a estímulos educativos, la cual es susceptible de ser interpretada según objetivos o propósitos educativos ya establecidos. Tenemos también que en 1985, Himmel (cit. por Castejón Costa, 1998) define el rendimiento académico o efectividad escolar como el grado de logro de los objetivos establecidos en los programas oficiales de estudio. Por otro lado, el rendimiento académico, para Novaez (1986), es el quantum obtenido por el individuo en determinada actividad académica.

La autoestima: es el sentimiento valorativo de nuestro ser, de nuestra manera de ser, de quienes somos nosotros, del conjunto de rasgos corporales, mentales y espirituales que configuran nuestra personalidad. Esta se aprende, cambia y la podemos mejorar. Es a partir de los 5-6 años cuando empezamos a formarnos un concepto de cómo nos ven nuestros mayores (padres, maestros), compañeros, amigos, etcétera y las experiencias que vamos adquiriendo. Según como se encuentre nuestra autoestima, ésta es responsable de muchos fracasos y éxitos, ya que una autoestima adecuada, vinculada a un concepto positivo de mí mismo, potenciara la capacidad de las personas para desarrollar sus habilidades y aumentará el nivel de seguridad personal, mientras que una autoestima baja enfocará a la persona hacia la derrota y el fracaso.

Calidad de vida: se define en términos generales como el bienestar, felicidad y satisfacción de un individuo, que le otorga a éste cierta capacidad de actuación, funcionamiento o sensación positiva de su vida. Su realización es muy subjetiva, ya que se ve directamente influida por la personalidad y el entorno en el que vive y se desarrolla el individuo.

Integrador, por que busca integrar los contenidos impartidos en las diversas asignaturas de estudio, dando, una visión sintética de los fenómenos, los hechos aparecen interrelacionados.

Activo, por que promueve la unidad de la Teoría y la práctica, la intervención de objeto con el sujeto.

Aprendizaje, es asimilación de la nueva información a estructuras cognoscitivas previas para que estos suceda la información debe ser significativa para el sujeto.

Currículum, es el conjunto de experiencias que vive los sujetos de la Educación.

Educación, es un proceso permanente y continuo para el desarrollo integral de la persona humana. Es decir, son el desarrollo de capacidades y la interiorización de los valores.

Educación Ambiental, es una medida para la sensibilización, ciudadana sobre la problemática medio ambiental, con el objetivo de promover un cambio de comportamiento social para detener el índice de degradación que sufre el medio ambiente.

Ecología, es la ciencia que estudia la interrelación que existe entre los seres vivos y su medio ambiente.

Medio ambiente, es el mundo que nos rodea, en que vivimos y del cual tomamos las sustancias necesarias para la vida.

Contenido transversal, son determinado por la Comunidad Educativa en función de los problemas y las necesidades de la sociedad en un lugar momento dado.

Aprendizaje, es un proceso de construcción de representaciones personales significativas y con sentido de un objeto o situación de la realidad.

2.4 FORMULACION DE HIPOTESIS

2.4.1 HIPOTESIS GENERAL

¿Es posible que se pueda conocer, manejar y utilizar el Espectrofotómetro UV-Visible, adecuadamente, en el análisis e identificación de una muestra de cobre desconocida, explicando

correctamente con precisión y exactitud el resultado de ese análisis?

2.4.2 HIPOTESIS ESPECÍFICAS

¿Es posible que se pueda observar y explicar los conocimientos básicos sobre la técnica de la espectrofotometría de absorción UV-visible, a través de la Ley de Lambert-Beer?

¿Se puede fomentar in situ, en los estudiantes, el manejo adecuado del equipo de espectrofotometría de absorción UV-visible, dentro de las actividades de la Investigación, fomentando su desarrollo Humano, la Información y la comunicación, mejorando su proceso de Investigación en el aula?

¿Es posible cuantificar adecuadamente el análisis de cobre, presente en una muestra, valorando positivamente la conexión entre la Investigación y la Práctica?

2.5. IDENTIFICACION DE VARIABLES

Las variables pueden definirse como aspectos de los problemas de Investigación que expresan un conjunto de propiedades, cualidades y características observables de las unidades de análisis. Carrasco, S. (2006)

2.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

El espectrofotómetro de absorción UV-Visible

Para la evaluación del equipo, hemos utilizado el **Diseño Experimental**, en el cual hemos descrito su manejo, calibración y operatividad del Espectrofotómetro UV-Visible.

2.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Evaluación del **Diseño de Post Test**, a través del análisis e identificación de una muestra de cobre desconocida, explicando correctamente con precisión y exactitud el resultado de ese análisis, validando la conexión entre la Investigación y la Práctica.

2.6 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES E INDICADORES

2.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE:

Ley de Lambert-Beer
Absorbancia y Transmittancia
El elemento metálico Cobre
Determinación del pH

2.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE:

Toma de muestras
 Preparación de la muestra
 Evaluación química de la muestra, usando el equipo.
 Preparación del Post test, ejecución y evaluación para los alumnos
 Evaluación de la práctica
 Compromiso con las actividades

2.6.3. VARIABLE DE OPERACIONALIZACION

2.6.3.1. Preparación de los patrones

Preparar los estándares para cada uno de los elementos según la siguiente tabla:

Tabla N° 02: preparación de la concentración Sulfato de cobre

| Elemento | Concentración | Medio (blanco) |
|----------|---------------|-------------------------|
| Cobre | 4, 8 y 12 ppm | HNO ₃ al 5 % |

2.6.3.2. Lectura en el equipo

Verificar la realización de las siguientes etapas.

- Abrir las válvulas de acetileno y de aire de la compresora.
- Encendido del sistema eléctrico.
- Prendido de la lámpara: selección del elemento (alineamiento de la lámpara, selección de la longitud de onda y de la rendija).
- Optimización de la señal. Alineamiento de la ranura y altura del quemador con el haz de la lámpara. Ajuste de la velocidad de succión de la muestra.
- Mediciones, absorbancia de cada uno de los estándares de los elementos a analizar y de las muestras correspondientes.

2.7. Resultados

Condiciones de la lectura:

| Condiciones | Analito en estudio | | |
|-----------------------|--------------------|--|--|
| | Cobre | | |
| Corriente de Lámpara: | | | |
| Longitud de onda: | | | |
| Rendija: | | | |
| Blanco de Reactivos: | | | |

Curva de Calibración:

| COBRE | | |
|---------|---------------|-------------|
| Muestra | Concentración | Absorbancia |
| E1 | | |
| E2 | | |
| E3 | | |
| M | | |

2.7.1. Cálculos:

- Halle los parámetros de regresión, sus niveles de confianza y el límite de detección (LDD) del método.
- Evaluación de la longitud de onda máxima para la solución de Cu^{+2} , a través de ploteo en el equipo en el rango de 300 nm a 750 nm; con el fin de determinar la longitud de onda de trabajo.
- Preparación de la solución patrón.
- Preparación de las soluciones estándares.
- Elaboración de la curva de calibrado.
- Hallar la concentración de cobre, en una muestra desconocida, además del intervalo de confianza a un nivel del 95 %. Compare el valor obtenido con el referencial.

CAPITULO III

3 METODOLOGIAS Y TECNICAS DE INVESTIGACION

3.1 TIPO DE INVESTIGACION

El tipo de investigación será de tendencia cuantitativa, porque se refiere a una investigación que describe las variables de estudio. Será de primer nivel, por ser descriptiva y explicativa.

NIVEL: Aplicativo

3.2 DISEÑO DE INVESTIGACION

Se basa en un Estudio sin Intervención, debido a que el investigador, se limita a describir y analizar el objeto o situaciones que se presentan en la investigación, sin interferir en la realidad.

El Diseño de investigación corresponde a un estudio de diseño descriptivo observacional con Sistemas de Medición, porque permitirá determinar ciertas características del objeto o situación estudiada.

En la ejecución del presente trabajo, se empleará el **Diseño Experimental Directo**.

X o Y

Dónde:

X son los análisis experimentales, o es el proceso de evaluación, Y son los resultados obtenidos

3.3 POBLACION Y MUESTRA

La Población, estará dada por todas las sustancias que interactúan con el cobre. Ejemplo: sulfato de cobre, nitrato de cobre, fosfato de cobre, acetato de cobre, cloruro de cobre, dicromato de cobre, entre otros.

En el caso de **la Muestra**, estará dada para el sulfato de cobre, porque es soluble en agua y además es muy común encontrarlo en la Región Pasco, de donde se extrae como solución.

3.4 METODOS DE INVESTIGACION

Los métodos que se emplearán en la Investigación serán el Inductivo-Deductivo, porque consistirá en la acción de conocer y manejar correctamente el equipo de espectrofotometría UV-Visible; el Método Experimental para indicar la concentración de la solución desconocida de cobre y el Método Analítico para explicar las dificultades que podrían tener los resultados a través de su precisión y exactitud. El Método Bibliográfico – Documental para indicar las experiencias que se han venido realizando en el análisis instrumental del cobre.

3.5 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

3.5.1 TECNICA

- a. **La observación:** empleamos la observación estructurada, porque se manipuló los hechos que se observaron. Así mismo, el trabajo documental, estuvo centrado en la revisión de libros, revistas y otros documentos que han tenido relación con nuestra investigación. También, utilizamos las informaciones obtenidas a través del Internet.
- b. **Fichaje:** se utilizó el fichaje bibliográfico para anotar los datos referidos a los libros que se manejaron durante la investigación. Además, las fichas de transcripción textual, transcribiendo entre comillas al pie de la letra el contenido científico.
- c. **Los parámetros de desempeño:** que se exigen en la validación de métodos analíticos, los cuales pueden ser vistos en la tabla N° 01.

Tabla N° 03: Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos

| | |
|----|---|
| 1 | Precisión/ Adecuabilidad del Sistema |
| 2 | Exactitud y Repetibilidad |
| 3 | Precisión del Método o Precisión Intermedia |
| 4 | Estabilidad Analítica de la Muestra |
| 5 | Linealidad del Sistema |
| 6 | Linealidad del método |
| 7 | Robustez |
| 8 | Tolerancia |
| 9 | Especificidad |
| 10 | Límite de Detección |
| 11 | Límite de Cuantificación |

- d. **Documentación:** Cuando se realiza la validación de métodos analíticos, debe ser respaldado por una serie de actividades que son sustentados por los siguientes documentos:

e. **PROTOCOLO**

El contenido del protocolo de validación debe contener un grupo de especificaciones necesarias como:

- Título.
- Propósito u Objetivo.
- Responsabilidades.
- Plan de prueba. En este se deben describir los parámetros de desempeño que permitan verificar la aplicación analítica deseada.
- Criterios de aceptación para cada parámetro.
- Formato de registro de resultados.

f. REPORTE

El contenido mínimo de un reporte de validación debe abarcar los siguientes datos:

- Título.
- Resultados.
- Análisis de resultados.
- Confrontación contra los criterios de aceptación.
- Conclusión.

Cuando se documentan todos los registros analíticos es interesante realizarlo de una manera cuidadosa, debido a que esta documentación es muy crítica, por lo cual debe estar ordenada y disponible, bajo la responsabilidad del área de calidad.

Es considerable, enfatizar que para iniciar las determinaciones metodológicas se debe supervisar la calificación del equipo, por ende, su calibración y comprobación del método.

3.6 TECNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS

3.6.1 PROCESAMIENTO MANUAL

Para la Variable Independiente: se formularán un procedimiento de análisis, con la finalidad de conocer el espectrofotómetro UV-Visible, su manejo y su importancia en el análisis químico.

Para la Variable Dependiente: empleamos el escalamiento de Likert, para medir los análisis, sus contenidos, así como su interpretación.

3.6.2 PROCESAMIENTO ELECTRÓNICO

Para el trabajo estadístico se codificarán y digitarán aplicando el paquete estadístico SPSS. Para la identificación y descripción de las variables estudiadas se utilizará la estadística descriptiva: frecuencias y porcentajes y las medidas de tendencia central y de dispersión.

Para establecer la correlación entre las variables se aplicará la técnica inferencia de Correlación de Pearson. Para establecer la asociación entre los niveles alcanzados en cada variable en función del género se utilizará la técnica inferencia del Chi cuadrado de Pearson. Para el establecimiento de comparación de medias de las variables estudiadas en función del género, se utilizará la T de student.

Intervalo de confianza

$$X = x \pm t \frac{s.}{\sqrt{n}}$$

Determinación de la media muestral

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad \text{cuando N es pequeño}$$

Determinación de la desviación muestral

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1.- DESCRIPCION DEL TRABAJO DE CAMPO

4.1.1 ¿Cómo identificar el cobre?

El cobre es uno de los metales que se encuentran en la tabla periódica. Se identifica con la abreviatura de Cu. Este metal muy dúctil por lo general se encuentra en la naturaleza en forma de mineral, pero a veces también se encuentra en forma de pepita. El cobre ha sido utilizado por los seres humanos durante miles de años como un material para herramientas, utensilios de cocina, para las esculturas, la construcción y, más recientemente, para la conducción eléctrica. Una de las propiedades más importantes del cobre en relación con su uso moderno es su altísimo nivel de conductividad eléctrica. El cobre es relativamente fácil de identificar a través de varios medios.



Figura N° 04: cobre presente en la naturaleza

Esta es la forma más rápida y sencilla de identificar el cobre. El cobre puro, tiene un color brillante naranja rojizo. Una vez que el metal está expuesto durante un período prolongado de tiempo a la intemperie, su superficie puede parcial o totalmente cambiar de color, a diferencia de la original, y cambia de color naranja rojizo brillante a un tono verde opaco de color rojo o azulado. El cobre es el único metal cuyo color natural no es plateado.

El cobre es el único metal en la tabla periódica cuyo color natural es de color rojizo. Sin embargo, ciertos metales menos costosos pueden ser recubiertos de cobre por razones decorativas. Puede martillar la

pieza si sospecha que es cobre, ya que esto le será muy útil porque el cobre puro es muy blando y se le realizan abolladuras fácilmente. Si el metal en cuestión no es así, entonces es probable que sea otra cosa.

Una de las características del cobre es que no es un metal magnético. Por lo tanto, si tocas con un imán la pieza de cobre o un objeto de cobre, y se pega, muy seguramente no estás tratando con una pieza de cobre puro, sino una pieza de cobre impura que contiene hierro, o un metal completamente diferente. Sin embargo, este paso por sí solo no garantiza la identificación. Otros metales, como el oro y la plata, también no son magnéticos.



Figura N° 05: cobre usado en la industria

La mayoría de los metales tienen puntos de fusión bastante específicos, y el cobre se funde a 1,982.12 F°. Esto también será útil para identificar el metal con mayor claridad. Si identificas al cobre con otros medios de identificación como los mencionados anteriormente, y la temperatura de fusión se ajusta de forma clara a las características del metal, puede estar razonablemente seguro de que usted ha identificado una pieza pura de cobre.

El cobre además de ser utilizado para diversos propósitos es uno de los metales que se puede reutilizar, por lo que la industria del reciclaje de este metal ha aumentado en gran medida.

4.1.2. Preparación de una solución de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 100 ppm

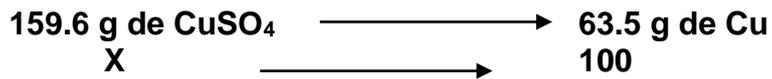
Primer paso:

Calculamos la masa del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 249.6$

Secamos para evaporar el agua

Calculamos la masa del $\text{CuSO}_4 = 159.6$





$$\begin{aligned}
 X &= 251.34 \text{ g de CuSO}_4 \\
 X &= 0.25134 \text{ mg de CuSO}_4
 \end{aligned}$$

Solución 100 ppm de CuSO_4 , será= 0.25134 mg diluidos en 1 Litro de agua

Preparación de 4 ppm, aplicar ecuación de dilución:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$\begin{aligned}
 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 4 \text{ ppm} \times 25 \text{ ml} \\
 V_1 &= 1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Procedimiento: se debe tomar 1 ml de la solución patrón 100 ml y disolver en 25 ml de agua.

Para 8 ml tomar 2 ml de la solución patrón; para 12 ml, tomar 3 ml de la solución patrón. En ambos casos enrasar en fiola de 25 ml.

Segundo paso:

A continuación, al obtener la masa, en un vidrio de reloj añadimos el sulfato de cobre necesario pesándolo en la balanza.



Figura N° 06: sulfato de cobre

Tercer paso:

Después de pesar el sulfato de cobre lo depositamos en un vaso de precipitado, y añadimos agua hasta los 100 mL para disolverlo, mezclándolo.





Figura N° 07: disolución del sulfato de cobre

Cuarto paso:

Una vez disuelto volcamos el contenido del vaso de precipitado en el matraz aforado y lo enrasamos hasta llegar a la marca del matraz (su volumen es de 1 litro).

Para añadir el agua, usamos un vaso de precipitación, teniendo en cuenta el enrasado de la figura A.

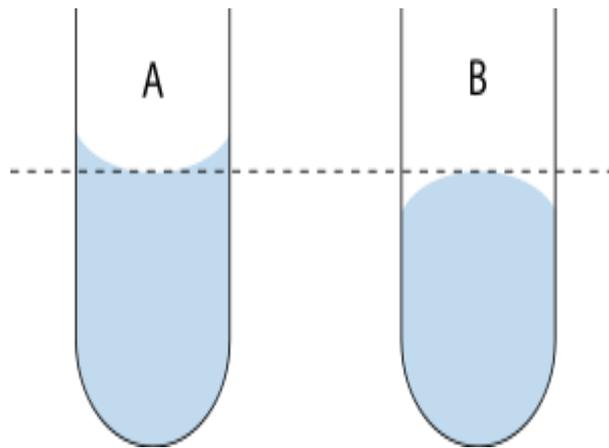


Figura N° 08: enrase de la solución sulfato de cobre

4.1.3. Determinación de cobre como complejo amoniacal

Un método para cuantificar la cantidad de cobre en una solución se basa en la formación del complejo amoniacal de cobre, que es de un color azul intenso. Procedimiento: Se prepara una solución madre de cobre de 1000 mg L⁻¹ partiendo de un estándar primario de Cu. Prepare una solución de 500 mg L⁻¹ de Cu en un balón de 25 mL y agregue 8 mL de hidróxido de amonio concentrado antes de enrasar con agua destilada. Con esta solución y tomando al agua destilada como referencia, haga un barrido de 5 absorbancia en función de longitud de onda en el espectrofotómetro.

La longitud de onda de trabajo se encuentra entre 600 y 660 nm. Determine la cantidad mínima de amonio que debe ser agregado para asegurar el acomplejamiento completo del Cu. Para ello, mantenga la alícuota de estándar de Cu y varíe la alícuota de hidróxido de amonio. La cantidad adecuada de hidróxido de amonio es la que permite la obtención de la mayor señal de absorbancia de la solución

Nota: Una vez optimizado el volumen de hidróxido de amonio requerido haga la lectura de la absorbancia y determine la absorptividad molar (ϵ) o la absorptividad (k). Prepare los patrones de Cu de la curva de calibración, dentro del intervalo de concentración que corresponda al tipo de instrumento a emplear. Para la determinación de Cu en la muestra, tome una alícuota de la solución de muestra, agregue el volumen óptimo de hidróxido de amonio y enrase con agua a 25 mL.

Determine la absorbancia de esta solución. Determine también la cantidad mínima de amonio que debe ser agregado, para asegurar el acomplejamiento completo del Cu en la muestra, y la alícuota de muestra para que la señal de la solución se encuentre dentro del intervalo de la curva de calibración, antes de realizar el análisis por triplicado. Nota: Este método no puede emplearse en presencia de metales que precipitan en medio básico.

CONCLUSIONES

1. Toda solución, donde la coloración sea azulada, existe la fuerte probabilidad de que esté presente, soluciones de Sulfato de cobre.
2. Las soluciones para poder ser analizada en el equipo de espectrofotometría de absorción UV-Visible, generalmente son para disoluciones diluidas y las unidades de concentración están en ppm (mg/L).
3. La longitud de onda máxima evaluada en el equipo fue de 350 nm, para un ploteo de 300 – 650 nm. El ploteo se realizó tanto para la Absorbancia como la Transmittancia, el valor de longitud de onda fue la misma (los gráficos uno inverso del otro).
4. Para la Solución Patrón, se ha preparado una solución de 100 ppm.
5. Para las soluciones estándares se ha utilizado a partir de la solución patrón; soluciones de 4 ppm, 8 ppm y 12 ppm
6. La determinación de la concentración para la muestra desconocida fueron 03: para el blanco no se reportó la concentración, la segunda fue de 4.444 ppm y la tercera de 9.778 ppm, ambas dentro del rango de la Línea de regresión, con una precisión del 95% y un error del 5%. Este tipo de determinación se denomina análisis cuantitativo.
7. Como cromóforo para darle atrapamiento al ión cobre, se ha utilizado el Amoníaco (NH_3), con el que se genera una solución amoniacal de precipitado azul.
8. Sin embargo, puede hacerse evaluaciones cualitativas, también con el Hidróxido de Sodio, que genera como producto un precipitado de color azul, denominado Hidróxido de Cobre: $\text{Cu}(\text{OH})_2$
9. Se concluye, que los análisis químicos, efectuados a través de instrumentos o equipos, son más seguros, confiables y el tiempo de análisis no demora tanto como en un análisis por vía clásica.
10. El espectrofotómetro de absorción UV-Visible es un equipo seguro que permite hacer análisis para soluciones muy diluidas y el error de trabajo es mínimo.

SUGERENCIAS

- 1.- Se recomienda, realizar análisis de laboratorio utilizando el espectrofotómetro UV-Visible, para otro tipo de soluciones donde esté presente el cobre, como, por ejemplo, el Nitrato de cobre, entre otros.
- 2.- Las pruebas de análisis efectuadas en el Laboratorio de Aguas y Suelos, se ha utilizado agua destilada, sin embargo, es preferible usar agua ultra pura, que no se tiene en el Laboratorio y que podría disminuir fuertemente los errores, tal es el caso de la Longitud de Onda Máxima.
- 3.- Los Docentes, deben aplicar nuevas estrategia de Aprendizaje, en especial para la comprensión nuevos conocimientos, el uso de Talleres que le permitan como estrategia antes, durante y después del mismo hacer Investigación – Acción; puesto que facilita el aprendizaje de los estudiantes, haciendo para ello uso de equipos de última generación que pueda hacernos entender mejor el análisis químico.
- 4.- Los Docentes, tener en cuenta que para el desarrollo óptimo de las capacidades del alumno, no solo se debe utilizar nuevas estrategias de Investigación, sino que se debe generalizar su uso adecuado en todas las áreas del saber, es decir que el uso de los equipos de análisis deben ser utilizados también en la Biología, física, etc.
- 5.- Los padres de familia y sus profesores deben de estimular en sus hijos, la investigación para mejorar el trabajo educativo de ellos, utilizando las estrategias adecuadas, como es el caso de la utilización de los equipos de análisis en el curso de C.T.A.
- 6.- A los Investigadores, para que mi trabajo, les sirva como punto de partida a referencia para ahondar más en esta Investigación, que es un tema muy tratado pero a la vez pilar para un mejor aprendizaje en el desarrollo de capacidades de los alumnos y docentes.

BIBLIOGRAFIA

- Brown, Ch. (2000). Ultraviolet, visible, and near-infrared spectrophotometers. *Applied Spectroscopy Reviews*, 35 (3), 151-173.
- Horng, M.L. and Quitevis, E. L. (2000). Visible absorption spectroscopy and structure of cyanine dimmers in aqueous solution. *Journal of Chemical Education*. 77. 637- 639
- Komath, S. S., Kenoth, R. Giribau, L., Maiya, B. G. and Swamy, M. J. (2000). Florescence and absorption spectroscopic studies on the interaction of porphyrins with snake gourd (*Trichosanthes anguina*) seed lectin. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 55. 49- 55
- Pauly, H. E. and Pfeleiderer, G. (1977). Conformational and functional aspects of the reversible dissociation and denaturation of glucose dehydrogenase. *Biochemistry*. 16(21). 4599-4604.
- Paz, I. and Pinto, G. (2002). Spectroscopic study about the kinetics of the anthocyanin pigments extraction during the maceration of cherries in liquor. *Spectroscopy Letters*. 35(3). 357-368.
- Peace, N., Vajdos, F., Fee, L., Grimsley, G. and Gray, T. (1995). How to measure and predict the molar absorption coefficient of a protein? *Protein Science* 4, 2411-2423.
- Walz, F. G. (1977). Spectrophotometric titration of a single carboxyl group at the active site of ribonuclease T1. *Biochemistry*. 16(21). 4568-4571
- Chang, R. (1992). *Química*. Mc Graw Hill, México.
- Brown Lemay, Burstein. 1998. *QUÍMICA. La ciencia central*, 7ª Ed., Prentice Hall. México.
- Mahan, B. C. (1990). *Curso de Química Universitario*. Addison – Wesley Iberoamericana, Welmington.
- Freire, Paulo. (1992). Investigación y metodología del tema generador. Torres, Nova Carlos; *La praxis educativa de Paulo Freire*: 139-140.
- Stenhouse, Lawrence (1991). *Investigación y desarrollo del currículo*. Madrid: Morata.
- Babbie, Earl R. (1998). *Métodos de investigación por encuesta*. -- México: Fondo de Cultura Económica. Sector Salud, 439 p.
- Clark, Jhon. (1996) *Bioquímica experimental*. Edit. Acribia. España.
- Harris, D. C. (2007) *Análisis Químico Cuantitativo*. 3ª ed. Capítulo 18. Ed. Reverté,.
- Martínez Urreaga, J. y otros. (2006). *Experimentación en Química General*. Capítulo 5. Ed. Thomson Paraninfo.
- Hernández-Hernández, L.; González-Pérez, C. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Capítulo 3. Ed. Ariel Ciencia.
- Cross, D. G. and Fisher, H.F. (1970). The mechanism of glutamate dehydrogenase reaction. *J. Biol. Chem.* 245(10) 2612-2621.

- Crowder, A. L., Barker, R. and Swenson, C. A. (1973). Ultraviolet difference spectroscopic studies of the binding of ligands to rabbit muscle aldolase. *Biochemistry*. 12(11), 2078-2083.
- Freifelder, D. (1982). *Physical Biochemistry*. Chapter 14. Second Edition. Ed. W. H. Freeman and Company, New York. p. 494-536.
- Van Holde K. E., Jhonson, W. C. and Ho, P. S. (1998). *Principles of physical biochemistry*. Ed. Prentice Hall. New Jersey. pp. 394-407.
- Schmidt, F. (2001). *Biological Macromolecules: UV-visible Spectrophotometry*. *Encyclopedia of life sciences*. Macmillan Publishers Ltd. Nature Publishing Group, 1-4.
- Proshlyakov, D. A. (2004). UV optical absorption by protein radicals in cytochrome c oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1655. 282-289
- Christian, G. D. (1981). *Química Analítica*. 2a ed. Ed. Limusa.
- Harris D. C. (2001). *Análisis Químico Cuantitativo* 2a ed. Ed. Reverté.
- Skoog, D. A. (1996). *Fundamentos de Química Analítica* 4a ed. Ed. Reverté.

BIBLIOGRAFÍA ESPECIALIZADA

- Hewlett Packard. (1988). *The Diode-Array Advantage in UV-VIS Spectroscopy*. Publication N°12 - 5594–8912.
- Inge, J.A. Jr. and Crouch, S.R. (1988). *Spectrochemical Analysis*. Prentice Hall International, Inc.
- Skoog, D.A. y West, D.M. (1984). *Análisis Instrumental*. 2ª edición. Ed. Interamericana.
- www.unodc.org/unodc/bulletin_1954-01-01_3_page005.html#s500



Foto N° 01: solución sulfato de cobre, 100 ppm



Foto N° 02: solución sulfato de cobre, 4, 8 y 12 ppm



Foto N° 03: colocación de la cubeta en el equipo



Foto N° 04: equipo espectrofotométrico UV-Visible

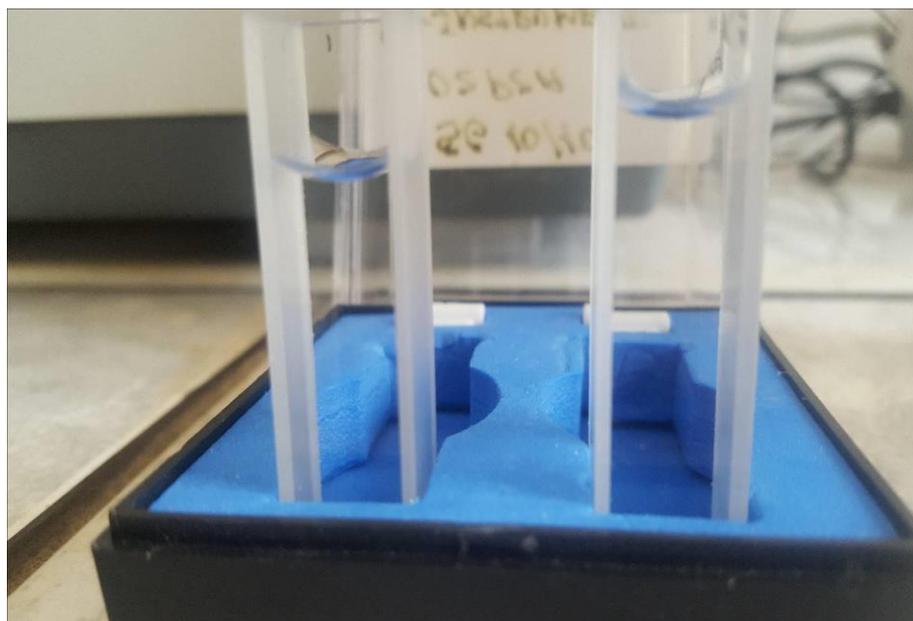


Foto N° 05: cubetas de vidrio, donde se coloca la solución



Foto N° 06: pesando muestra de sulfato de cobre, en la balanza analítica



Foto N° 07: colocando solución sulfato de cobre, 4 ppm, en el equipo



Foto N° 08: evaluando la concentración de la muestra patrón



Foto N° 09: evaluando la longitud de onda máxima para la solución sulfato de cobre



Foto N° 10: preparando solución sulfato de cobre, con muestra desconocida

Figura N° 09: Absorbancia vs λ_{max} para la solución sulfato de cobre

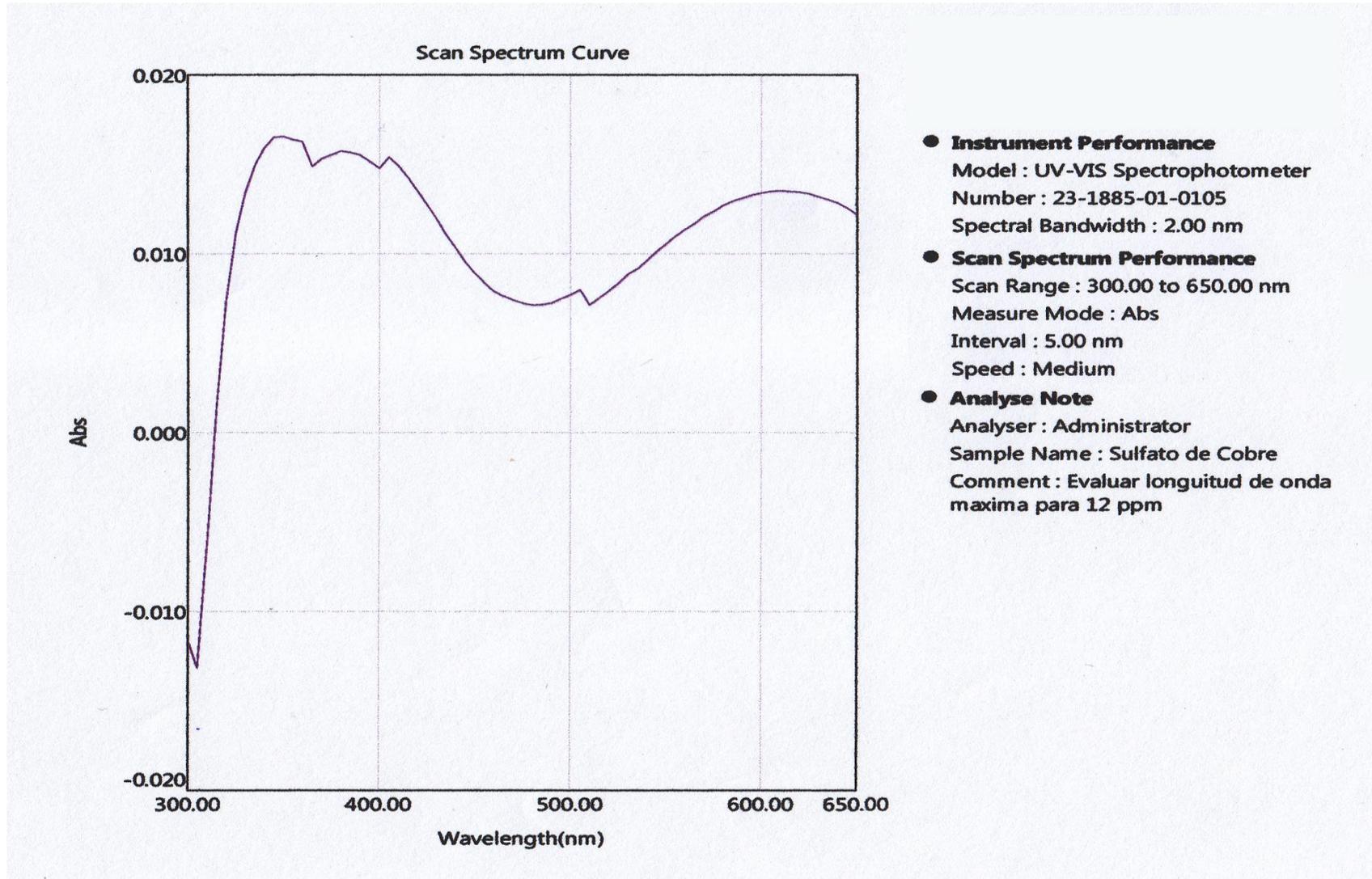
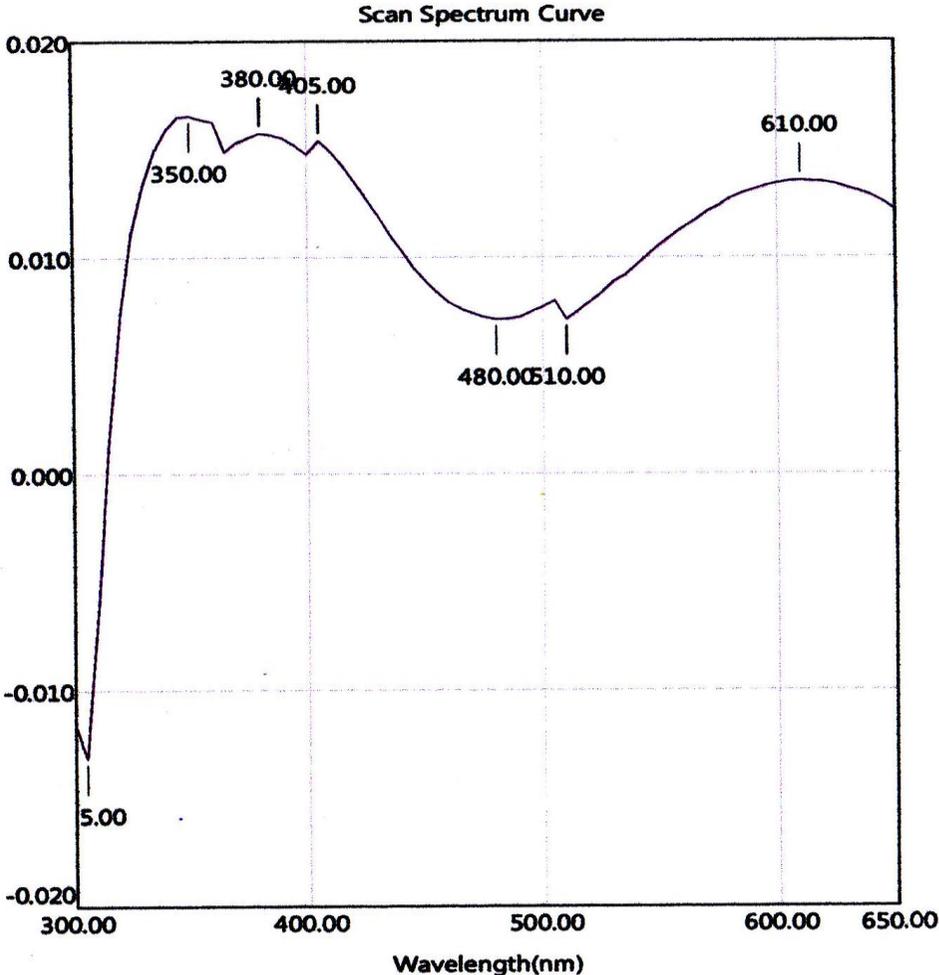


Figura N° 10: λ_{max} para la solución sulfato de cobre es de 350 nm

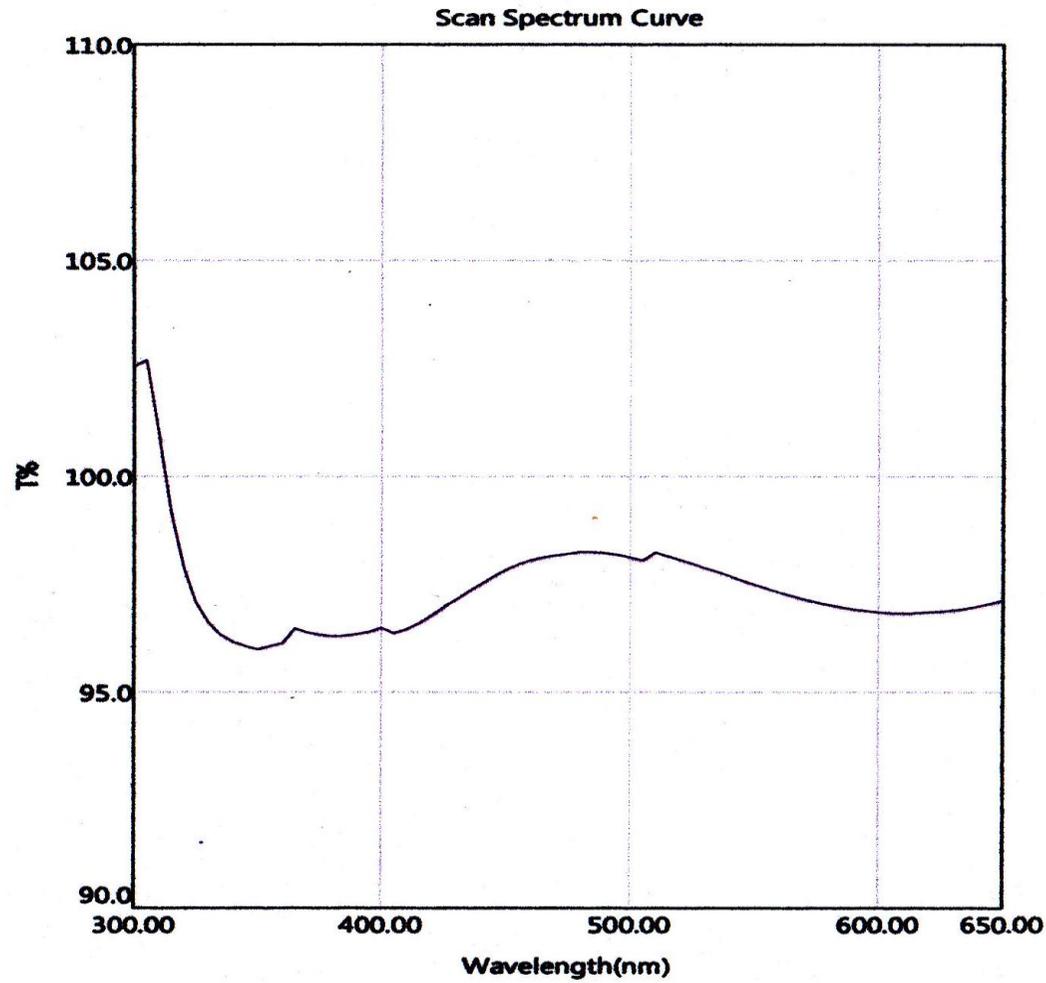


- **Instrument Performance**
 Model : UV-VIS Spectrophotometer
 Number : 23-1885-01-0105
 Spectral Bandwidth : 2.00 nm
- **Scan Spectrum Performance**
 Scan Range : 300.00 to 650.00 nm
 Measure Mode : Abs
 Interval : 5.00 nm
 Speed : Medium

● **Analyse Note**
 Analyser ; Administrator
 Sample Name : Sulfato de Cobre
 Comment : Evaluar longitud de onda maxima para 12 ppm

| No. | P/V | Wavelength(nm) | Abs |
|-----|--------|----------------|--------|
| 1 | Peak | 610.00 | 0.014 |
| 2 | Peak | 405.00 | 0.015 |
| 3 | Peak | 380.00 | 0.016 |
| 4 | Peak | 350.00 | 0.017 |
| 1 | Valley | 510.00 | 0.007 |
| 2 | Valley | 480.00 | 0.007 |
| 3 | Valley | 305.00 | -0.013 |

Figura N° 11: Tramitancia vs λ_{\max} para la solución sulfato de cobre



- **Instrument Performance**
Model : UV-VIS Spectrophotometer
Number : 23-1885-01-0105
Spectral Bandwidth : 2.00 nm
- **Scan Spectrum Performance**
Scan Range : 300.00 to 650.00 nm
Measure Mode : T%
Interval : 5.00 nm
Speed : Medium
- **Analyse Note**
Analyser : Administrator
Sample Name : Sulfato de cobre
Comment : Evaluar longitud de onda maxima para 12 ppm

Figura N° 12: λ_{\max} para la solución sulfato de cobre es de 350 nm

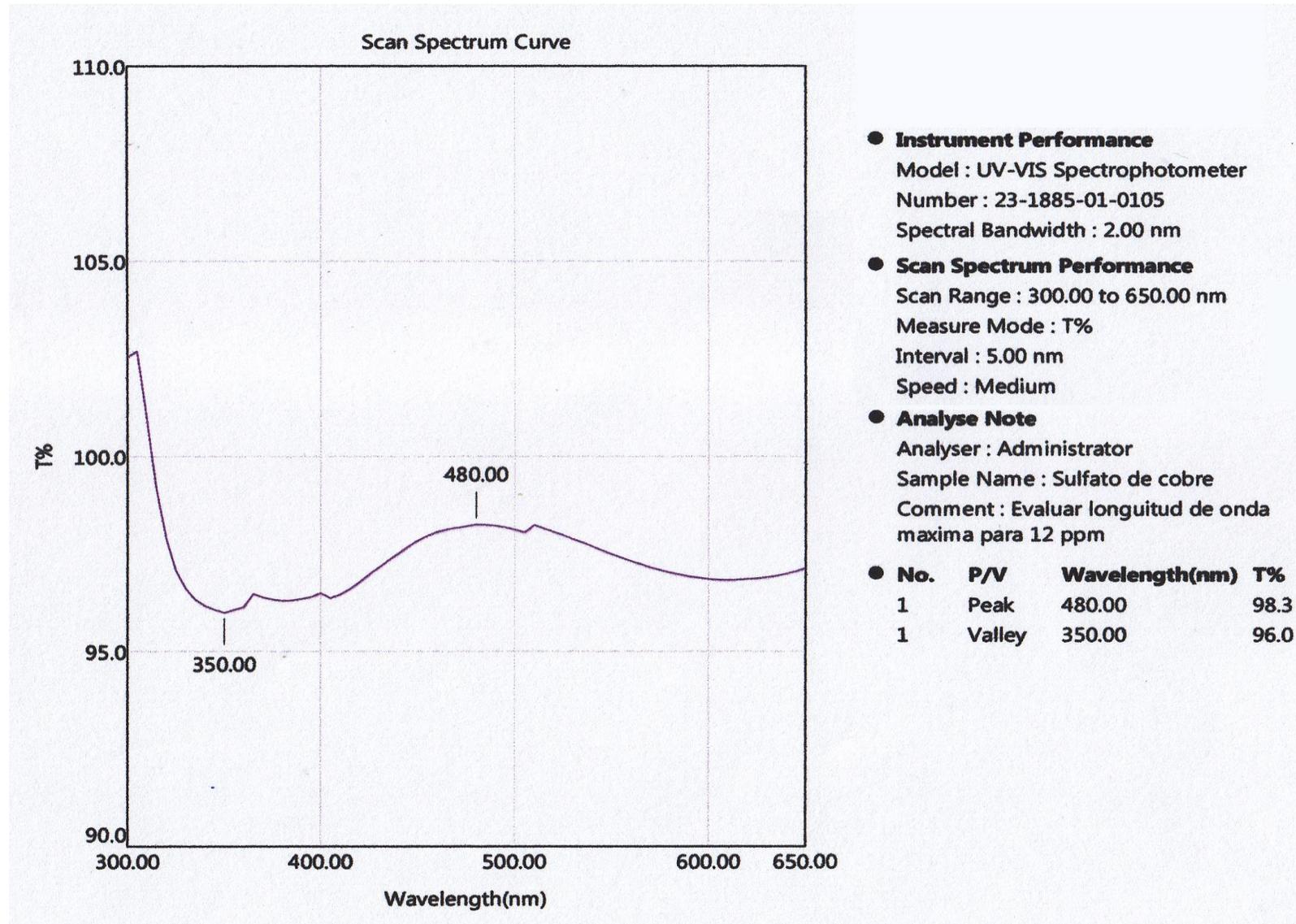
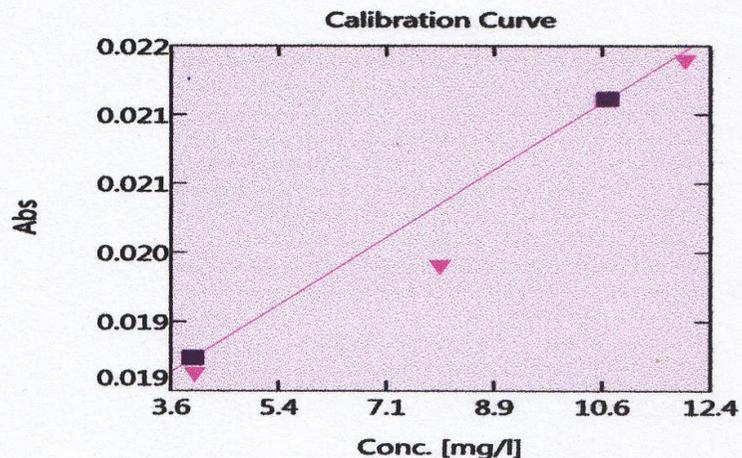


Figura N° 13: Valor de la muestra desconocida para la solución sulfato de cobre, a 350 nm



● **Instrument Performance**

Model : UV-VIS Spectrophotometer
 Number : 23-1885-01-0105
 Spectral Bandwidth : 2.00 nm

● **Analyse Note**

Analysers : Administrator
 Sample Name : Curva patron de CuSO4
 Comment : Determinacion de muestras desconocidas (Blanco y 02 muestras desconocidas)

● **Calibration Curve**

Measure Mode: Single wavelength
 Curve Evaluate: None
 Principle: Abs = f(Conc)
 Order of Curve: 1st
 Equation: Abs = K1*(Conc) + K0
 Calibration Method: Concentrator
 K0: 0.01733
 K1: 0.00037
 R: 0.9820
 Repetition: None
 AutoChange Cell: No
 Quality: []
 Zero Intercept: No
 Blank: No
 BlankValue: No
 Measure Wavelength : 350.0nm

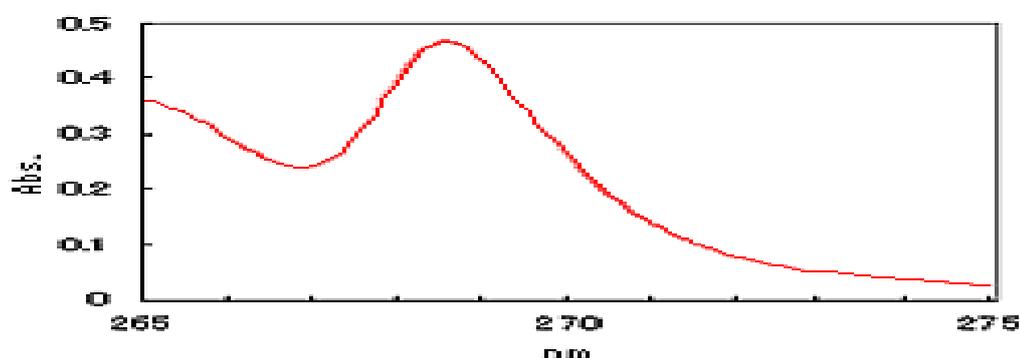
| No. | ID | Type | Conc [mg/l] | Abs | 350.00 nm |
|-----|-----------|----------|-------------|-------|-----------|
| 1 | Standard1 | Standard | 4.0000 | 0.019 | 0.019 |
| 2 | Standard2 | Standard | 8.0000 | 0.020 | 0.020 |
| 3 | Standard3 | Standard | 12.0000 | 0.022 | 0.022 |
| No. | ID | Type | Conc [mg/l] | Abs | 350.00 nm |
| 1 | Unknown6 | Unknown | N.D | 0.017 | 0.017 |
| 2 | Unknown8 | Unknown | 4.4440 | 0.019 | 0.019 |
| 3 | Unknown10 | Unknown | 9.7780 | 0.021 | 0.021 |

ANEXOS

ESPECTROFOTÓMETRO UV-VIS • UNICO

- EQUIPO DE ALTA RESOLUCIÓN

Contando con la más alta resolución en su especie (1 nm), el UV-VIS satisface fácilmente los estándares requeridos por la Farmacopea, en cuanto a resolución de longitud de onda. Además, al utilizar una red holográfica con ángulo de blaze junto con un montaje óptico tipo Czerny-Turner, el resultado es un sistema óptico compacto y de alta transmisibilidad. También la luz espuria, la repetibilidad de la longitud de onda y la estabilidad de la línea de base se han mejorado hasta alcanzar los requerimientos de los usuarios



Toluene/hexane solution
Materials on the EP list are analyzed
by UV in a confirmation test.
Red line: UV-1800/resolution:1 nm

Figura N° 14: espectro para la mezcla tolueno/hexano

- COMPACTO

De un ancho de tan solo 450 mm, el UV-1800 es uno de los instrumentos más compactos en su especie, lo que permite su instalación en espacios reducidos. Comparado con el UV-1700, el espacio requerido ha sido disminuido en un 15%, y el ancho ha sido reducido en un 20%.

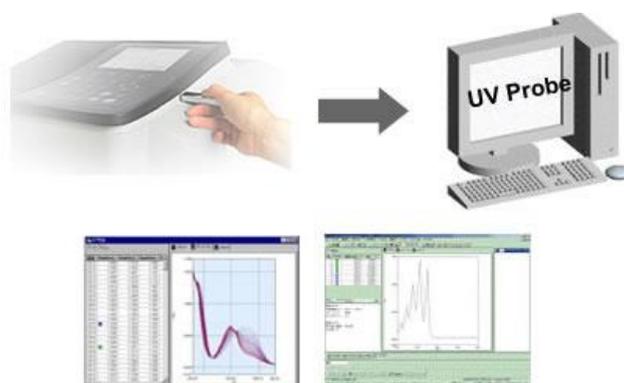


Figura N° 15: lectura del espectro para la mezcla tolueno/hexano

- **FACIL MANEJO**

Una memoria USB puede conectarse directamente al UV-1800. Los usuarios ahora pueden analizar los datos en una PC utilizando el software UV-Probe. Además, los datos de los espectros y de las curvas obtenidas en función del tiempo pueden exponerse y exportarse a una planilla de cálculo comercial. Se puede imprimir con impresoras que soporten códigos de control PCL, por ejemplo:

HP Business Inkjet 1200

HP Photosmart D5160

El software UV-Probe es un componente estándar del instrumento y permite controlar el UV-1800 desde una computadora. (Se necesita de un cable USB para conectar el equipo a la computadora.)

- **FUNCIONES DE SEGURIDAD**

Las funciones de seguridad del UV-1800 permiten restringir las funciones de acuerdo con la capacidad del usuario.

- **FUNCIONES DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**

El UV-VISIBLE ofrece compatibilidad con 9 ítems: exactitud de longitud de onda, repetibilidad de longitud de onda, resolución, luz espuria, exactitud fotométrica, repetibilidad fotométrica, uniformidad de la línea de base, estabilidad de la línea de base, y nivel de ruido.

- **MANTENIMIENTO**

El tiempo de operación de la lámpara de deuterio (D2) y de la lámpara de halógeno (WI) puede grabarse y ser exhibido. En consecuencia, el tiempo previsto para reemplazar las lámparas puede constatarse al realizar las inspecciones periódicas, minimizando el tiempo de inactividad.

- **MODOS DE MEDICION**

Equipado en forma estándar con diversos modos de medición, el UV-1800 permite realizar una gran variedad de aplicaciones, incluyendo cuantificaciones fotométricas y de proteínas.

- **MODO FOTOMÉTRICO**

Mide la absorbancia o la transmitancia tanto en una longitud de onda constante como en múltiples longitudes de onda (hasta 8). En las mediciones con múltiples longitudes de onda, pueden realizarse cálculos sobre los datos obtenidos en hasta cuatro diferentes longitudes, incluyendo el cálculo de la diferencia entre (o la proporción de) las mediciones obtenidas en dos longitudes distintas.

- **MODO ESPECTRO**

Obtiene los espectros de la muestra escaneando la longitud de onda. Los cambios en la muestra pueden monitorearse realizando repetidos escaneos. También pueden realizarse operaciones de procesamiento de datos, tales como el agrandamiento o la reducción de los espectros obtenidos, detección de los picos, cálculos de área, etc.

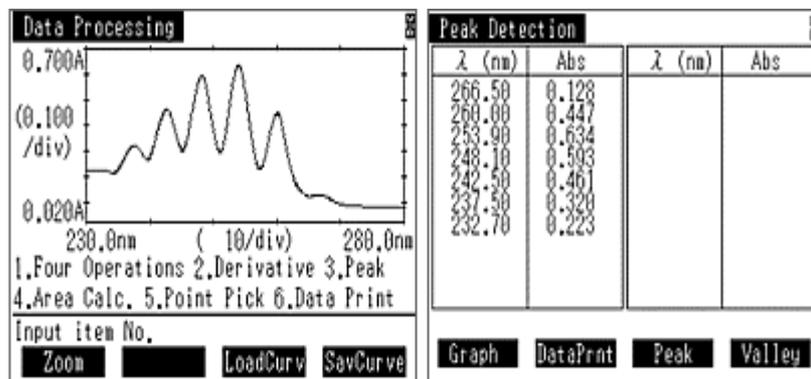


Figura N° 16: espectro en función de la longitud de onda

- **MODO CUANTITATIVO**

Genera curvas de calibración a partir del análisis de soluciones estándares y las utiliza para calcular la concentración en muestras incógnitas. Es posible generar diferentes curvas de calibración (facto K y basadas en regresión de 1er a 3er orden) a partir varias combinaciones de longitudes de onda (1 a 3 longitudes de onda y sus derivadas).

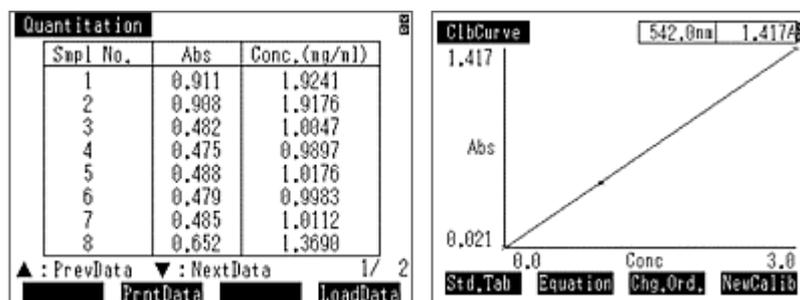


Figura N° 17: lectura de la concentración desconocida

- **MODO CINÉTICO**

Mide el cambio en la absorbancia en función del tiempo, y de ese modo obtiene los valores de la actividad enzimática. Pueden seleccionarse el método cinético de medición o el método de medición de la constante de velocidad. Utilizar este modo en combinación con un soporte multi-celdas MMC-1600/1600C (serie 8/16) o un posicionador de celdas CPS-240A (6 celdas) permite un análisis consecutivo de múltiples muestras.

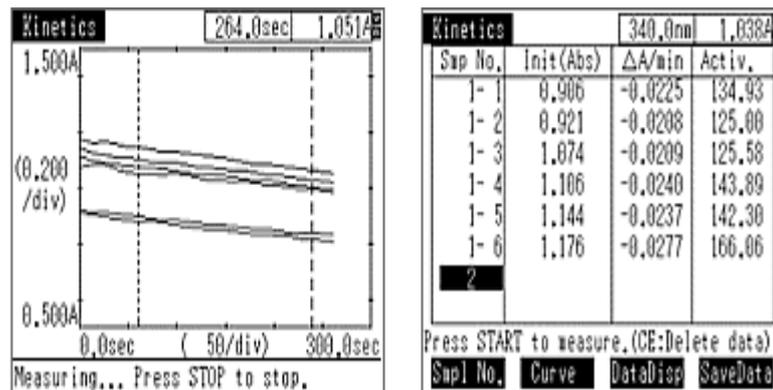


Figura N° 18: lectura del espectro para una reacción cinética

MEDIO BIOMÉTRICO (ESTÁNDAR)

Permite un análisis de AND y proteínas, utilizando los siguientes métodos de cuantificación:

- Cuantificación de ácido nucleico (cuantifica ADN o proteínas utilizando la absorbancia a 260/230 nm o 260/280 nm).
- Cuantificación de proteínas
- Método Lowry
- Método BCA (usando ácido bicinconínico)
- Método CBB (usando Coomassie Brilliant Blue G-250)
- Método Biuret
- Método de absorción UV (medición directa a 280 nm)

ESPECTROMETRÍA UV-VISIBLE (III): APLICACIONES EN QUÍMICA

1. Determinación del pK de un indicador

Como se sabe, existen unos compuestos que tienen la propiedad de cambiar de **color** en función del pH de la disolución en la que se encuentran. Por esa característica se utilizan para detectar el punto de equivalencia en las volumetrías ácido-base. Se llaman **indicadores de pH**.

La razón de que cambien de color con el pH es que, dependiendo de la **concentración de protones** en el medio, estos compuestos *estarán preferentemente en una u otra forma química*, estando estas formas en equilibrio. Por ejemplo, el indicador conocido como **azul de bromofenol** (4,4'-(1,1-dióxido-3H-2,1-benzoxatíol-3,3-diil) bis(2,6-dibromofenol)) presenta las formas en función del pH que se observan en la figura 5.1:

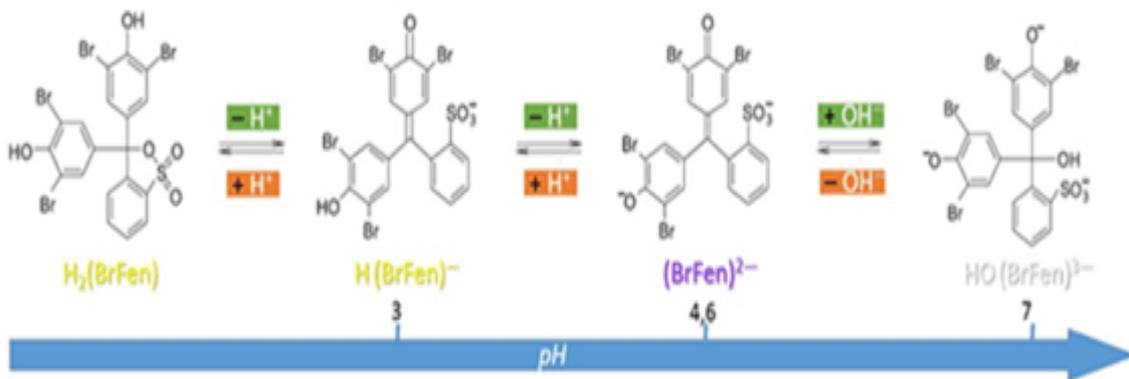


Figura N° 19: lectura del espectro para el azul de bromofenol

A valores bajos de pH (menores de 3) este compuesto presenta color amarillo en disolución acuosa; pero a pH superior a 4,6 es claramente azul, y si se sigue subiendo el pH, a partir de aproximadamente 7 este azul se va “destiñendo” hasta que la disolución se vuelve transparente.

La razón de este comportamiento hay que buscarla en los equilibrios de protonación del azul de bromofenol. A pHs muy bajos está completamente protonado, en la forma que podríamos representar simplificada como $H_2(\text{BrFen})$. Pero si se añade una base el compuesto se comporta como un ácido y cede, primero, un protón, convirtiéndose en $H(\text{BrFen})^-$, y después, en medios menos ácidos, otro, y pasa a $(\text{BrFen})^{2-}$. Finalmente, a pHs alcalinos el $(\text{BrFen})^{2-}$ reacciona directamente con los OH^- y se convierte en $HO(\text{BrFen})^{3-}$.

La razón de que cada una de las formas en que se presenta este compuesto según el pH tenga colores diferentes es que la *pérdida/ganancia de protones o grupos hidroxilo puede modificar las energías de los orbitales moleculares*, de modo que las separaciones

energéticas que se esquematizan en la figura 5.4 se alterarían. Por lo tanto, cambiaría la energía de los fotones absorbidos y, consiguientemente, su longitud de onda. En este caso, como se ha dicho, la especie $\text{H}(\text{BrFen})^-$ es amarilla y la especie $(\text{BrFen})^{2-}$ es azul.

2. Espectrofotometría Uv-Visible de indicadores de pH

Los **indicadores de pH** que se emplean habitualmente son compuestos *coloreados*, es decir, que presentan absorciones en la región del visible, ya que así nuestro ojo puede observar el cambio de pH que nos interesa seguir (por ejemplo, en el punto de equivalencia de una valoración ácido-base). También podrían emplearse indicadores que absorban solo en la región ultravioleta; bastaría disponer del detector adecuado. Pero en lo que sigue supondremos que tratamos con indicadores que cambian de *color* con el pH. Los indicadores que se usan habitualmente son *ácidos o bases orgánicos débiles*. Sea un indicador ácido que representaremos por **HInd**. Si disolvemos esta sustancia en agua se disociará en parte según el siguiente equilibrio:



HInd es, como se ha dicho, un ácido, e **Ind⁻** es su *base conjugada*. Supongamos que agregamos a la disolución *otro* ácido. Este aumentará la concentración de protones, **[H₃O⁺]**, lo que provocará el desplazamiento del equilibrio [5.4] hacia la izquierda, según predice el principio de Le Châtelier. Se formará más **HInd** a costa de **Ind⁻**. Por el contrario, si añadimos a la disolución del indicador una base, el equilibrio se desplazará en sentido contrario. Como caso particular de lo explicado anteriormente imaginemos que tenemos una disolución de un **ácido inorgánico fuerte** que no tiene color (es decir, que *no presenta ninguna absorción en la región visible*; por ejemplo, el HCl) a la que agregamos *unas gotas* del indicador **HInd**, que es un ácido orgánico débil con un color para la forma **HInd** y otro para la forma **Ind⁻**. En un medio tan ácido *prácticamente todo el indicador estará en la forma HInd* (es decir, el equilibrio del indicador [5.4] estará completamente desplazado hacia la izquierda) y la disolución tendrá el color de la especie **HInd**. Si se registra entonces el espectro UV-Visible de la disolución, *lo que se obtendrá esencialmente será el espectro de la especie química HInd*.

Por el contrario, si tenemos una disolución de una **base fuerte** no coloreada, como el **NaOH**, y le añadimos unas gotas de indicador **HInd**, en un medio tan alcalino este reaccionará completamente y prácticamente todo él estará en la forma **Ind⁻**. Si se registra el espectro de esa disolución, corresponderá al de dicha especie **Ind⁻**, que será *diferente al de HInd* porque el hecho de que el color de **Ind⁻** sea distinto al de **HInd** es precisamente una prueba de que *la forma de absorber la radiación por parte de Ind⁻ es diferente a la de HInd*. La figura 5.8 ilustra gráficamente lo

que se acaba de explicar para el caso de un indicador de pH típico. En ella se muestran, *superpuestos*, los espectros del indicador a dos valores de pH extremos. A pH muy bajos el espectro que se obtendría (el rojo) sería el de la especie **HInd**; a pH muy altos, el de la especie **Ind⁻**.

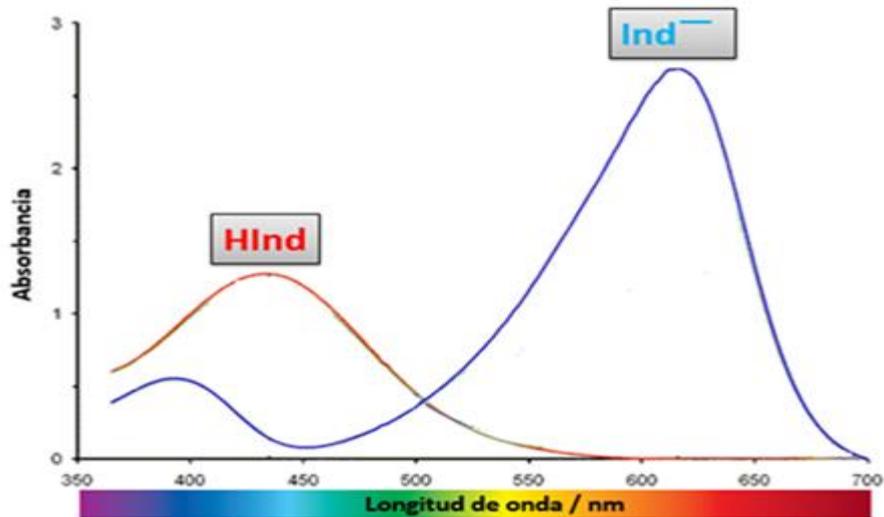


Figura N° 20: lectura del espectro para un indicador medio ácido/alcalino

Ahora bien, ¿cómo serían los espectros registrados a pHs intermedios? A esos pH existirían en disolución *las dos formas del indicador*, **HInd** e **Ind⁻**, dependiendo sus proporciones relativas del pH. Como cada espectro al fin y al cabo es una función matemática, el espectro a pHs intermedios sería una combinación lineal de los espectros a pHs extremos. En esa combinación, a pHs bajos tendría más contribución el espectro de la especie **HInd**; a pHs altos, el de **Ind⁻**. Este razonamiento permite entender la figura 5.9, en la que se han superpuesto 9 espectros del indicador a otros tantos pHs.

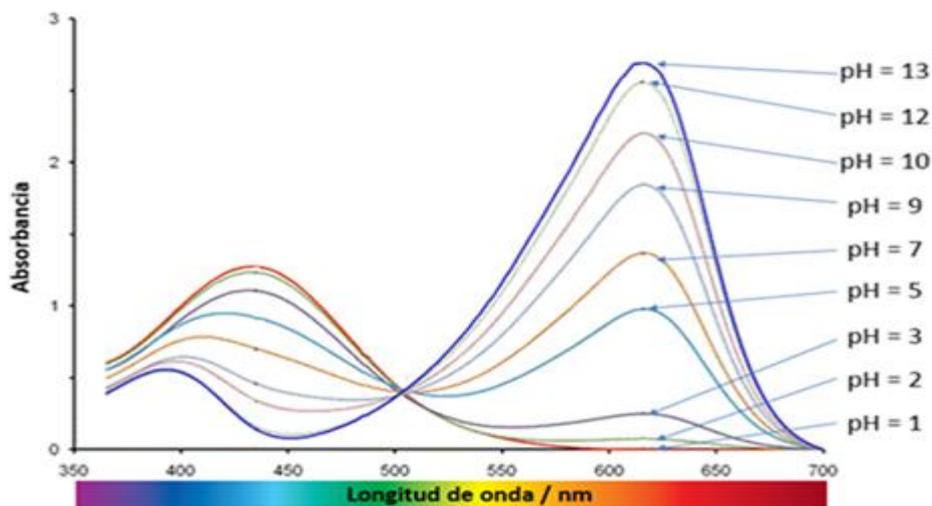


Figura N° 21: lectura del espectro, a través de su longitud de onda

Nótese en la superposición de espectros de la figura 5.9 que hay un punto (aproximadamente a 500 nm) en el que la *absorbancia de todos los espectros coincide*. Se llama **isosbético**. Un punto isosbético es un valor de la longitud de onda para el que la absorbancia de una muestra se mantiene constante, aunque se modifiquen algunas variables como, en este caso, el pH. Su aparición denota la *existencia de un equilibrio químico entre distintas especies* (en nuestro caso, entre **HInd** e **Ind⁻**).

3. Determinación del pK_a de un indicador ácido/base

Todas estas consideraciones nos van a permitir entender cómo se puede **determinar por espectrometría UV-Vis la constante de acidez de un indicador ácido débil**, que es el objetivo principal de esta práctica.

El equilibrio de disociación del ácido **HInd** [5.4] tiene la siguiente expresión de la constante de equilibrio, K_a :

$$K_a = \frac{(a_{H_3O^+}) (a_{Ind^-})}{a_{HInd} a_{H_2O}} \quad [5.5]$$

donde las a son las **actividades** de las especies en disolución. Si las disoluciones están suficientemente diluidas, las actividades de las especies ácida y básica del indicador pueden sustituirse en buena aproximación por sus concentraciones (c). Por otro lado, la actividad del agua puede considerarse igual a 1. Entonces, la expresión [5.5] se puede transformar en:

$$K_a \cong \frac{(c_{H_3O^+}) (c_{Ind^-})}{c_{HInd}} \quad [5.6]$$

Tomando logaritmos y teniendo en cuenta sus propiedades y las definiciones de pK_a y pH ($pK_a = -\log K_a$; $pH = -\log (a_{H_3O^+})$) se llega fácilmente a:

$$pK_a \cong pH + \log (c_{HInd} / c_{Ind^-}) \quad [5.7]$$

Y de aquí a

$$\log (c_{Ind^-} / c_{HInd}) \cong pH - pK_a \quad [5.8]$$

Por lo tanto, si disponemos de una serie de disoluciones de indicador cada una a un valor de **pH** bien conocido, y en cada disolución i podemos determinar la relación de concentraciones $(c_{Ind^-}) / (c_{HInd,i})$ (en el apartado siguiente se explica cómo obtener este valor espectrométricamente), la representación gráfica de los valores de $\log [(c_{Ind^-}) / (c_{HInd,i})]$ frente a los **pH_i** debería proporcionarnos una recta cuya **ordenada en el origen** sería igual a **-pK_a**.

Ahora bien, téngase en cuenta que la expresión [5.8] también se puede escribir así (por una simple reordenación de términos):

$$\text{pH} \cong \log (c_{\text{Ind}^-}/c_{\text{HInd}}) + \text{p}K_a \quad [5.8']$$

Por lo tanto, otra opción es representar los valores de pH_i frente a los de $\log [(c_{\text{Ind}^-,i})/(c_{\text{HInd},i})]$, lo que igualmente nos permitirá hallar el valor de $\text{p}K_a$.

Podríamos pensar que, como [5.8'] se ha obtenido directamente de [5.8], debería obtenerse el mismo valor de $\text{p}K_a$ por ambas vías. Pero no tiene por qué ser así, y de hecho, no suele serlo. Si a la variable $\log (c_{\text{Ind}^-}/c_{\text{HInd}})$ la llamamos y y a la variable pH la llamamos x , el ajuste por mínimos cuadrados de los datos siguiendo la ecuación [5.8] es una *regresión de y sobre x*, pero el ajuste según [5.8'] es una *regresión de x sobre y*. En el primer caso, la variable independiente o predictora es el pH y entendemos que su valor determina físicamente al de $\log (c_{\text{Ind}^-}/c_{\text{HInd}})$; en el segundo es lo contrario.

En general, cuando se tratan datos experimentales, ambas rectas ajustadas van a ser diferentes (es decir, no se van a poder transformar una en otra algebraicamente) porque los residuos que se minimizan en cada caso son distintos. El que una vía sea más apropiada que otra depende de varias circunstancias, y entre ellas los errores de ambas variables (cuanto menores sean estos, más parecidas serán las $\text{p}K_a$ encontradas por ambas vías). Pero en el caso particular de este experimento, se puede demostrar (puede verse más abajo, en el Apéndice A1) que es más probable obtener mejores valores del $\text{p}K_a$ empleando la ecuación [5.8']. De todos modos, si los errores no son importantes, no debería haber una excesiva diferencia. Y, como suele ser habitual en estos casos, lo recomendable es calcular la media de los $\text{p}K_a$ logrados por ambos procedimientos, teniendo en cuenta que para conocer su error absoluto habrá que aplicar la regla de la propagación del error en una suma.

4. Medida espectrofotométrica de la relación de concentración $c_{\text{Ind}^-}/c_{\text{HInd}}$

Como se acaba de explicar, la determinación del $\text{p}K_a$ de un indicador pasa por representar gráficamente la expresión [5.8] y/o la [5.8']. Pero ¿cómo podemos medir la relación de concentraciones $(c_{\text{Ind}^-})/(c_{\text{HInd}})$ que aparece en ellas? **Espectrofotométricamente**. Veámoslo.

Llamaremos:

- A_{HInd} a la absorbancia medida a una longitud de onda determinada, λ_0 , de una disolución del indicador a un pH *muy ácido*, en la que, por tanto, prácticamente solo habrá especie HInd ;
- A_{Ind^-} a la absorbancia medida a la misma longitud de onda, λ_0 , de una disolución del indicador a un pH *muy básico*, en la que, por tanto, prácticamente solo habrá especie Ind^- ;

- **A** a la absorbancia, medidas a la longitud de onda λ_0 , de una disolución de pH intermedio.

Se puede demostrar (ver más abajo el Apéndice 2) la siguiente igualdad:

$$C_{\text{Ind}^-}/C_{\text{HInd}} = (A_{\text{HInd}} - A) / (A - A_{\text{Ind}^-}) \quad [5.9]$$

gracias a la cual la expresión [5.8] se transforma en:

$$\log [(A_{\text{HInd}} - A) / (A - A_{\text{Ind}^-})] \cong \text{pH} - \text{p}K_a \quad [5.10]$$

o en:

$$\text{pH} \cong \log [(A_{\text{HInd}} - A) / (A - A_{\text{Ind}^-})] + \text{p}K_a \quad [5.10']$$

Por lo tanto, el $\text{p}K_a$ del indicador se puede determinar espectrofotométricamente por el siguiente procedimiento:

1. Se preparan dos disoluciones del indicador, añadiendo a la primera un ácido fuerte y a la segunda una base fuerte. Se registran los espectros de ambas disoluciones. A la vista de ambos espectros **se elige una longitud de onda, λ_0 , para la que se observe que la absorbancia de la especie ácida del indicador, A_{HInd} , difiera mucho de la absorbancia de la especie básica, A_{Ind^-}** (la finalidad de esta elección es minimizar errores).
2. Con ayuda de **tampones**, se preparan varias disoluciones del indicador a **pHs intermedios** (pH_i) que se miden exactamente con un pHmetro, se registran sus espectros y **se miden las absorbancias A_i** en los i espectros realizados siempre a la misma longitud de onda, λ_0 , seleccionada en el paso anterior.
3. Se representan gráficamente los valores **$\log [(A_{\text{HInd}} - A_i) / (A_i - A_{\text{Ind}^-})]$** frente a los correspondientes **pH_i** , según la ecuación [5.10], y después los de **pH_i** frente a los de **$\log [(A_{\text{HInd}} - A_i) / (A_i - A_{\text{Ind}^-})]$** , según la [5.10']. Se calcula **$\text{p}K_a$** por ambas vías y se hace la media.

5. $\text{p}K_a$ e intervalo de cambio de color de un indicador

Dado el equilibrio de un indicador de pH en disolución (considerando que es un ácido débil):



la relación entre las concentraciones de las especies HInd e Ind^- y su dependencia del pH viene dada por la ecuación de **Henderson-Hasselbalch** [2.3], que se puede escribir así:

$$\text{p}K_a \cong \text{pH} + \log ([\text{HInd}]/[\text{Ind}^-]) \quad [5.11]$$

Si en dicha expresión hacemos $[\text{HInd}] = [\text{Ind}^-]$ llegamos a:

$$pK_a \cong pH \quad [5.12]$$

No es difícil interpretar este resultado: el pK_a del indicador es el valor de pH de la disolución para el cual la concentración de HInd coincide con la de Ind⁻. Por ello, a pHs menores que el pK_a predominará la forma **HInd** del indicador, y por lo tanto *el color de esta forma*, y a pHs mayores que el pK_a predominará la forma **Ind⁻** y por consiguiente su color.

Cuando el pH es igual al pK_a , el color de la disolución debería verse como la mezcla de los colores de ambas especies. ¿Qué pH debería tener la disolución para que se perciba claramente de un color o de otro? Se admite que cuando la concentración de una de las especies es 10 veces superior a la de la otra, el color de la primera no debería verse enmascarado por el de la segunda. Veamos cómo traducir esto a términos matemáticos.

Supongamos que $[HInd] = 10 [Ind^-]$. Sustituyendo en la ecuación [5.11] obtenemos: $pK_a \cong pH + 1$. Pero si $[Ind^-] = 10 [HInd]$, llegaríamos a $pK_a \cong pH - 1$. Reordenando ambas expresiones y combinándolas:

$$pH \cong pK_a \pm 1 \quad [5.13]$$

Es decir, se admite que existe un intervalo de pH aproximadamente igual al valor del pK_a más y menos una unidad dentro del cual el color del indicador no es claramente el de una forma u otra, sino una mezcla de ambos.

Cuando se hace una valoración ácido-base que quiera seguirse mediante un indicador ácido base, este debe escogerse de modo que el pH en el punto de equivalencia coincida lo mejor posible con el pK_a del indicador.

En https://en.wikipedia.org/wiki/PH_indicator: se puede encontrar un gráfico que contiene un buen número de indicadores, sus intervalos de viraje y los colores de ambas formas, ácida y básica.

6. Apéndice A1: ¿log [(A_{HInd}-A)/(A-A_{Ind-})] frente a pH o a la inversa?

Supongamos que existe una relación lineal entre dos variables experimentales x e y . Si se representan gráficamente los valores de y frente a los de x y aplicamos el método de mínimos cuadrados, encontraremos una recta que será la que mejor represente el hábito lineal de los puntos. Supongamos que esa recta tiene por ecuación:

$$y = mx + n \quad [A1.1]$$

donde m es la pendiente y n es la ordenada en el origen.

Como se sabe, x es la variable independiente (el *predictor*) e y es la dependiente. Pero podríamos razonar al revés: considerar que y es la variable independiente y x la dependiente. Si, de acuerdo con este criterio, representamos X frente a Y , y ajustamos por mínimos cuadrados, obtendremos una nueva recta cuya ecuación sería:

$$x = m'y + n' \quad [A1.1']$$

Podría pensarse que la expresión [A1.1'] es equivalente a la [A1.1], es decir, que la segunda se obtiene algebraicamente de la primera por el simple procedimiento de despejar de ella x . Si se trabaja con datos *matemáticos*, es decir, que *obedezcan exactamente* la ecuación [A1.1], entonces la [A1.1'] podría derivarse directamente de [A1.1]. Pero cuando se manejan datos experimentales, que *siempre adolecen de error*, esto no se cumple, si bien se estará más cerca del cumplimiento cuanto más pequeños sean esos errores. La razón es que la *regresión de y sobre x* representada por la ecuación [A1.1] se ajusta basándose en los residuos de y , pero la *regresión de x sobre y* [A1.1'] se basa en los de x . Lo normal es que unos y otros sean diferentes. Las rectas [A1.1] y [A1.1'] no serán, entonces, equivalentes.

Consideremos de nuevo la ecuación matemática de la recta [A1.1]:

$$Y = mx + n \quad [A1.1]$$

Recordemos que m es la pendiente y n la ordenada en el origen de esa recta. Cabe también hablar de una **abscisa en el origen**, es decir, del valor de x cuando y vale 0 (podemos llamarlo x_0). Lógicamente, dicha abscisa en el origen es $x_0 = -n/m$, es decir, el *cociente cambiado de signo entre la ordenada en el origen y la pendiente*.

Si de la recta [A1.1] despejamos x obtendremos:

$$x = (1/m)y - n/m \quad [A1.2]$$

En realidad, ambas rectas, [A1.1] y [A1.2] son la misma, pues no hemos hecho más que una transformación algebraica. Simplemente, en la primera es la y la que está escrita como variable dependiente, y en la otra es la x . Dicho de otro modo, en [A1.1] es la y la que representamos en el eje de ordenadas y la x en el de abscisas. Pero en [A1.1'] sería, al contrario: la x iría en ordenadas y la y en abscisas.

Teniendo en cuenta [A1.1'], haciendo $x = 0$ encontramos que la *abscisa en el origen* de esta recta es: $y_0 = (1/m).n / (1/m) = n$. Por lo tanto, al igual que en la recta anterior, la abscisa en el origen también es el cociente cambiado de signo entre la ordenada en el origen y la pendiente.

Es decir, podemos comprobar que:

- *la abscisa en el origen de la recta de y frente a x ([A1.1]) ($x_0 = -n/m$) coincide con la ordenada en el origen de la recta de x frente a y ([A1.2]);*
- *y viceversa: la abscisa en el origen de la recta de x frente a y ([A1.2]) ($y_0 = n$), coincide con la ordenada en el origen de la recta de y frente a x ([A1.1])*

Esto sucede así porque la ecuación [A1.2] se ha obtenido algebraicamente de la [A1.1]. Es decir, en realidad *ambas ecuaciones son la misma, pero presentadas de distinto modo*. Por ello, los pares de valores (x, y) que satisfacen la primera ecuación satisfacen también la segunda, y lo hacen de forma exacta.

Pero si trabajamos con **datos experimentales**, el cumplimiento de las dos conclusiones que hemos obtenido es solo aproximado, aunque estas serán tanto más válidas cuanto menores sean los errores experimentales cometidos. Es decir, cuando trabajamos con datos experimentales podemos hacer una *regresión de y sobre x* y obtendríamos una recta ajustada del tipo [A1.1]. Y también podemos hacer una *regresión de x sobre y* para obtener otra del tipo [A1.1']. Pero ambas no serán equivalentes; una no se podrá deducir algebraicamente de otra. Esto se debe a que cada recta se obtiene como *un ajuste que tiene en cuenta los errores experimentales*.

Como hemos dicho más arriba, para calcular el pK_a de un indicador podemos emplear una de estas dos ecuaciones:

$$\log [(A_{HIInd} - A) / (A - A_{IInd-})] \cong pH - pK_a \quad [5.10]$$

$$pH \cong \log [(A_{HIInd} - A) / (A - A_{IInd-})] + pK_a \quad [5.10']$$

Para simplificar la terminología, vamos a llamar A a $[(A_{HIInd} - A) / (A - A_{IInd-})]$, de modo que las expresiones anteriores queden convertidas en.

$$\text{Log } A \cong pH - pK_a \quad [A1.3]$$

$$pH \cong \log A + pK_a \quad [A1.3']$$

Si nos basamos en la primera ecuación, la representación gráfica de **loga** frente al **pH** debería darnos una recta. Ajustada por mínimos cuadrados, la **ordenada en el origen** que encontremos sería igual a $-pK_a$. Pero nótese que también podría calcularse pK_a *por la abscisa en el origen* de esa recta. Efectivamente, si en [A1.3] hacemos $\log A = 0$, obtenemos $(pH)_0 = pK_a$. Es decir, el valor del pK_a es el que se mide donde la recta corta al eje de los pH. Esta argumentación se ilustra en la figura A1.1:

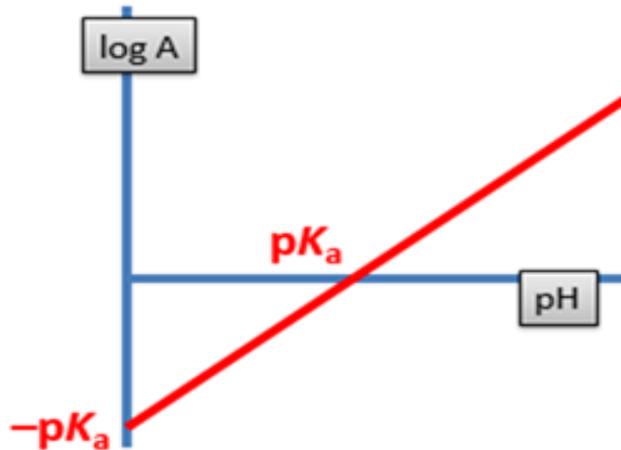


Figura N° 22: lectura de coordenadas para $-pK_a$

Análogamente se puede razonar con la segunda recta. Si nos basamos en la ecuación [A1.3'], la representación gráfica del **pH** frente a **log A** debería darnos *otra recta*, la cual, ajustada por mínimos cuadrados, daría una **ordenada en el origen** que sería el valor de **pK_a**, como se muestra en la figura A1.2. Pero, haciendo $pH = 0$ llegamos a $(\log A)_0 = -pK_a$. Por tanto, queda demostrado que **pK_a** también se puede obtener a partir de la **abscisa en el origen** de esta otra recta. Lo ilustramos mediante la figura A1.2:

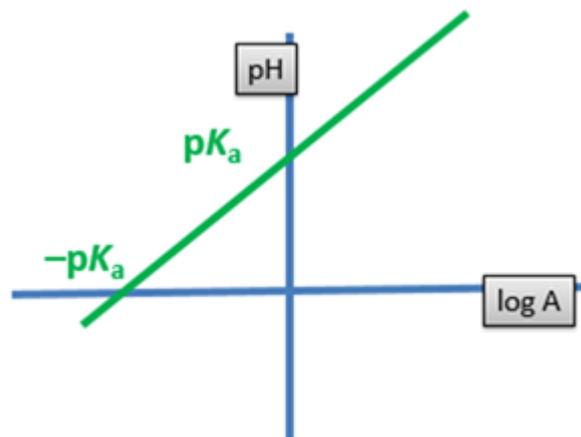


Figura N° 23: lectura de coordenadas para **pH**

Resumiendo: *pK_a se puede calcular a partir tanto de la ordenada en el origen como de la abscisa en el origen.* Además, puede hacerse el cálculo en ambas rectas: la de la regresión de $\log A$ frente a pH y la de la regresión de pH frente a $\log A$. No tiene ningún misterio que esto sea así: la razón que lo explica es el hecho de que *las rectas teóricas [A1.3] y [A1.3'] tienen ambas pendientes iguales a 1.*

Ahora bien, en la práctica, y debido a los errores experimentales, esto no va a ser así. Normalmente, en el ajuste, tanto de la regresión

directa como de la inversa, se van a obtener pendientes diferentes de 1 (si bien su producto va a ser próximo a 1).

Como las pendientes no son 1, si queremos calcular los pK_a por las abscisas en el origen (no por las ordenadas en el origen), debemos hacerlo teniendo en cuenta lo que hemos averiguado en la sección II: que para ambas regresiones, estas abscisas en el origen se calculan *dividiendo la ordenada en el origen de la recta ajusta entre la pendiente y cambiando de signo*.

Las figuras A1.1 y A1.2 ilustran, pues, que el pK_a se puede calcular tanto por la ordenada en el origen como por la abscisa en el origen. Pero, ¿cuál es el mejor método?

Cuando se emplea la regresión directa (log A frente a pH), la incertidumbre en la pendiente debida a errores experimentales se puede visualizar aproximadamente como lo ilustra la figura A1.3:

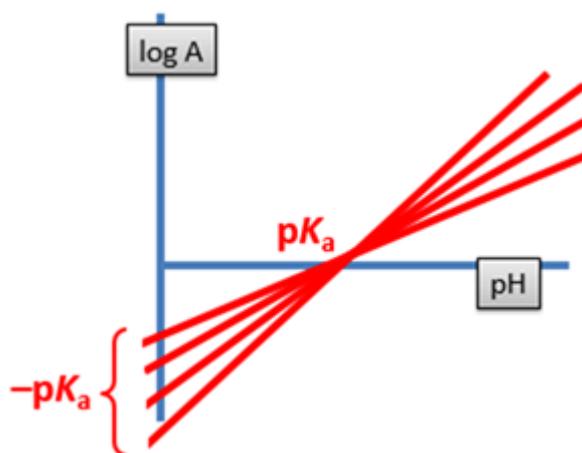


Figura N° 24: lectura de coordenadas para pK_a

Por lo tanto, en la regresión directa el valor probablemente más útil será el de la abscisa en el origen (es decir, ordenada en el origen dividida por pendiente, cambiando el signo del resultado), ya que la figura muestra que la abscisa en el origen sufre menos variaciones que la ordenada en el origen al variar en la pendiente.

Sin embargo, en la regresión inversa (pH frente a log A), los errores en la pendiente provocan esto:

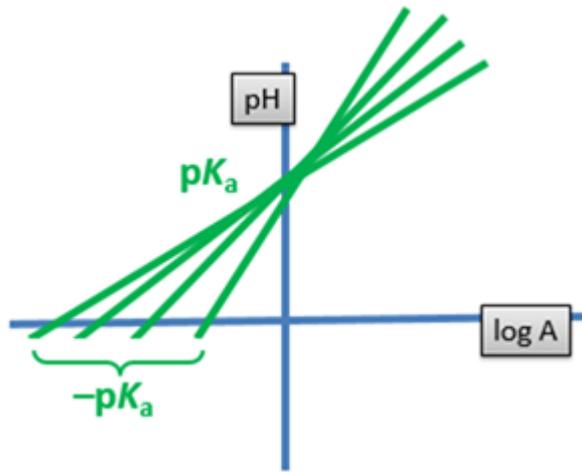


Figura N° 25: lectura de coordenadas para $-pK_a$

Es fácil entender que en este caso el valor más fiable lo va a dar, muy probablemente, la *ordenada en el origen*, pues ese punto queda más cerca del centro de gravedad de la recta y, por ello, se mantiene más constante con los cambios de la pendiente que la abscisa en el origen.

En resumen:

- Si se representa **log A** frente a **pH**, lo más recomendable es obtener el pK_a a partir de la *abscisa en el origen* de la recta ajustada, que se calcula dividiendo la ordenada en el origen entre la pendiente y cambiando de signo.
- Si se representa **pH** frente a **log A**, lo mejor es calcular pK_a simplemente como la *ordenada en el origen* de la recta ajustada.

Esto tiene relación con lo demostrado en II: la abscisa en el origen de la regresión de **log A** frente a **pH** va a ser *parecida* a la ordenada en el origen de la regresión de **pH** frente a **log A**.

7. Apéndice A2: Demostración de la igualdad $(c_{A^-,i})/(c_{HA,i}) = (A_{HA} - A_i) / (A_i - A_{A^-})$

La **ley de aditividad de las absorbancias** establece que cuando hay varias especies en disolución (en el caso ideal de que no interaccionen) debería cumplirse, para cada espectro i :

$$A_i = (A_{HA,i}) + (A_{A^-,i})$$

Donde A_i es la absorbancia de la mezcla de ambas especies, HA y A^- , medida en el espectro i a la longitud de onda λ elegida. Aplicando la **ley de Beer** a $A_{HA,i}$ y $A_{A^-,i}$

$$A_i = (c_{HA,i})(\epsilon_{HA})l + (c_{A^-,i})(\epsilon_{A^-})l$$

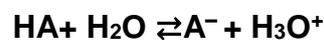
Los valores ϵ_{HA} y ϵ_{A^-} no llevan el subíndice i porque son teóricamente constantes; es decir, son iguales en todos y cada uno de los espectros realizados con independencia de la proporción relativa de las especies AH y A^- en la disolución correspondiente.

Por otro lado, para los dos espectros de las disoluciones de pHs extremos la aplicación de la **ley de Beer** es:

$$\begin{aligned} A_{HA} &= (C_{HA}) (\epsilon_{HA}) l \\ A_{A^-} &= (C_{A^-}) (\epsilon_{A^-}) l \end{aligned}$$

ya que en la disolución de pH muy ácido solo existe la especie HA y en la de pH muy básico solo la especie A^- .

Dada la estequiometría del equilibrio



en todas las disoluciones se ha de cumplir esta relación:

$$(C_{HA,i}) + (C_{A^-,i}) = c$$

es decir, la suma de las concentraciones de ambas especies HA y A^- será siempre una constante que llamaremos c (concentración total) independientemente de la proporción relativa de HA y A^- en cada una de las disoluciones que hemos preparado. En particular, en las disoluciones de pHs extremos la expresión anterior se convierte en:

$$\begin{aligned} C_{HA} &= c \\ C_{A^-} &= c \end{aligned}$$

Sustituyendo estos valores de C_{HA} y C_{A^-} en las expresiones

$$\begin{aligned} A_{HA} &= (C_{HA}) (\epsilon_{HA}) l \\ A_{A^-} &= (C_{A^-}) (\epsilon_{A^-}) l \end{aligned}$$

llegamos a estas otras:

$$\begin{aligned} A_{HA} &= c (\epsilon_{HA}) l \\ A_{A^-} &= c (\epsilon_{A^-}) l \end{aligned}$$

que se pueden escribir también como:

$$\begin{aligned} (\epsilon_{HA}) l &= A_{HA} / c \\ (\epsilon_{A^-}) l &= A_{A^-} / c \end{aligned}$$

Sustituyendo los anteriores valores $(\epsilon_{HA}) l$ y $(\epsilon_{A^-}) l$ en

$$A_i = (C_{HA,i})(\epsilon_{HA}) l + (C_{A^-,i})(\epsilon_{A^-}) l$$

obtenemos:

$$A_i = (c_{HA,i})(A_{HA}/c) + (c_{A^-,i})(A_{A^-}/c)$$

Multiplicando todo por c:

$$A_i c = (c_{HA,i}) A_{HA} + (c_{A^-,i}) A_{A^-}$$

Sustituyendo en la anterior igualdad el valor de c expresado en

$$(c_{HA,i}) + (c_{A^-,i}) = c$$

obtenemos:

$$A_i [(c_{HA,i}) + (c_{A^-,i})] = (c_{HA,i}) A_{HA} + (c_{A^-,i}) A_{A^-}$$

Basta dividir todos los miembros de la igualdad anterior por $(c_{HA,i})$ y reordenar para llegar sin dificultades a:

$$(c_{A^-,i})/(c_{HA,i}) = (A_{HA} - A_i) / (A_i - A_{A^-})$$

APLICACIONES ANALÍTICAS DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

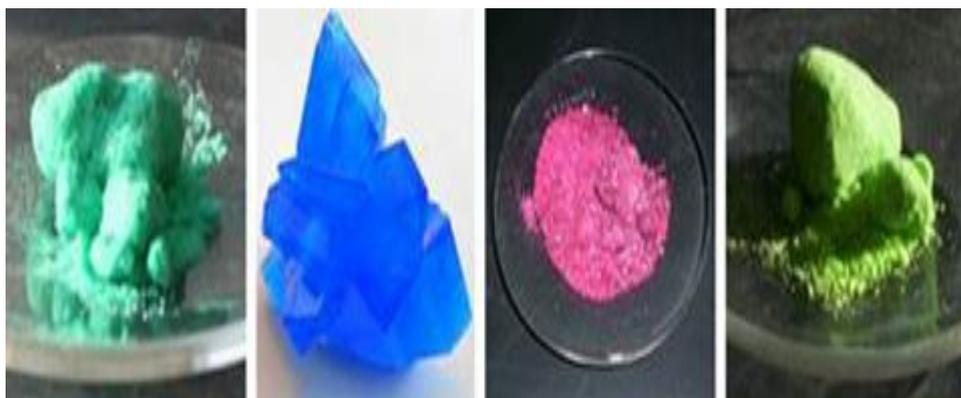


Figura N° 26: el cobre en distintas sales

La **espectrometría de absorción UV-vis** tiene infinidad de aplicaciones en Química Analítica. Muchas sustancias absorben radiación visible o ultravioleta característica, es decir, tienen *espectros de absorción* específicos que aporta información esencial para identificarlas. (En la figura anterior se muestran de izquierda a derecha las sales $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; sus distintos colores indican distintas absorciones de radiación). Las correspondientes absorbancias medidas en el espectro de absorción de una sustancia cumple, en general, la **ley de Beer**:

$$A = \epsilon c l$$

Donde A es la **absorbancia**, que es una medida de la cantidad de luz que puede absorber el analito; ϵ es el llamado **coeficiente de absorción molar**, que depende de la **longitud de onda** a la que se mide la absorbancia; c es la **concentración** de la especie absorbente cuando está en disolución y l es la **longitud del camino óptico** que recorre la radiación dentro de la muestra, que normalmente es 1 cm ya que esta es la anchura estándar de las cubetas que se utilizan.

Cabe destacar un procedimiento especial para determinar la concentración de un analito en disolución: la **valoración fotométrica**, consistente en detectar el punto de equivalencia de una valoración por medidas de absorbancia UV-Vis, siendo la técnica especialmente adecuada cuando no se produce un cambio de color visible por el ojo, pero sí un cambio de absorción detectable por un espectrofotómetro UV-Vis.

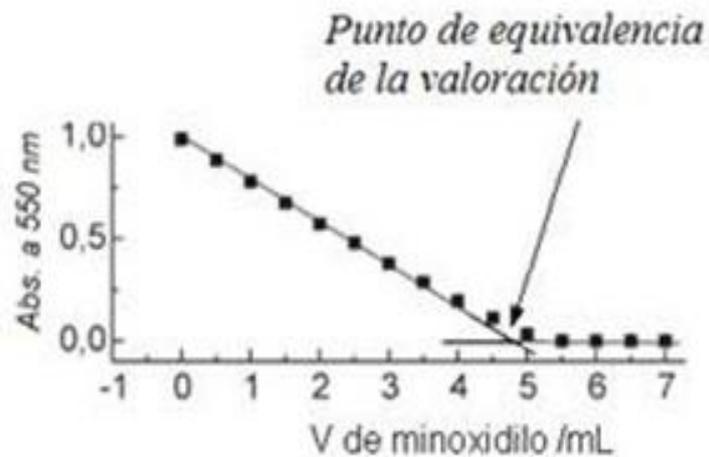
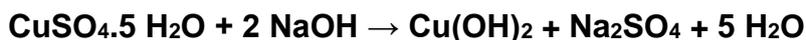


Figura N° 27: valoración fotométrica

Una valoración fotométrica consiste en ir añadiendo reactivo valorante a la disolución que contiene el analito que queremos determinar, el cual se sabe que presenta una banda de absorción de determinada longitud de onda. Al ir reaccionando el valorante con el analito, este último va desapareciendo y la absorbancia de la banda que estamos siguiendo disminuye. Es muy fácil saber cuándo la reacción ha terminado (es decir, cuando el analito se ha consumido) porque desde ese momento la absorbancia se mantiene constante, aunque añadamos más valorante).

HIDROXIDO DE COBRE (II)



Introducción

Es un polvo cristalino de color azul claro. Es un compuesto insoluble que se obtiene por precipitación de sales solubles con hidróxidos alcalinos. Este compuesto no es termodinámicamente estable.

La forma estable es el óxido: CuO, que se obtiene a pH muy básico. Con el fin de impedir la formación de este último y estabilizar el Cu(OH)₂, la síntesis implica una etapa intermedia de formación del [Cu(NH₃)₄]²⁺

Reactivos

- Sulfato de cobre pentahidratado CuSO₄·5H₂O
- Amoníaco NH₃
- Hidróxido sódico NaOH

Peligrosidad

Los compuestos de cobre, son especialmente nocivos.

Además, el manejo de NH₃, aconseja el uso de vitrina.

Experimental

Se disuelven 8 g de CuSO₄·5H₂O en 30 cm³ de H₂O y se calienta la disolución a 70°C.

Adicionando cuidadosamente una disolución de NH₃ al 10%, se forma un precipitado verde de sal básica: Cu₂SO₄(OH)₂.

A continuación, se sigue adicionando cuidadosamente más disolución de NH₃ al 10% hasta que se deja de observar dicho precipitado, originando un color azul intenso debido al complejo [Cu(NH₃)₄]²⁺.

A continuación, se añade una disolución con la cantidad teórica de NaOH en la mínima cantidad de H₂O para formar el Cu(OH)₂.

Se forma un precipitado de forma coloidal, ya que retiene grandes cantidades de agua. Se deja depositar, y se filtra y se lava varias veces con agua caliente. Se pasa a un vidrio de reloj y se seca en la estufa, a una temperatura inferior a la de su descomposición. Finalmente se calcula el rendimiento.

Ensayos complementarios

1. Toma una pequeña cantidad del Cu(OH)₂ obtenido y añádele 5 cm³ de disolución acuosa de NH₃. Explica lo ocurrido.
2. Calienta a ebullición, con cuidado, una suspensión en agua del hidróxido obtenido. Interpreta lo observado.
3. Toma una pequeña cantidad del Cu(OH)₂ obtenido y añádele 2 cm³ de ácido acético. Explica lo ocurrido.

Preguntas

- ¿Por qué es necesaria la adición previa de amoníaco para la obtención del hidróxido de cobre?
- ¿Qué impurezas puede contener el $\text{Cu}(\text{OH})_2$ obtenido?
- ¿Cómo se pueden eliminar?
- ¿Qué estructura tiene el $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$? ¿Podría tomar 2 moléculas de NH_3 más?
- ¿Puede el Cu^{2+} formar compuestos con índice de coordinación 6?
¿En qué condiciones?

ACETATO DE COBRE (II) MONOHIDRATADO



Introducción

El Cu(II) es el estado de oxidación más importante del cobre. Forma sales sencillas con la mayoría de los aniones, generalmente solubles en agua, y el color azul de las disoluciones se debe al ión $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$

Dichas sales frecuentemente cristalizan como hidratos. El $[\text{Cu}(\text{OOCCH}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]_2$ forma cristales verdes azulados solubles en agua. Contiene una molécula de agua de cristalización que pierde por calentamiento a 100°C en vacío para dar el acetato anhidro.

Reactivos y peligrosidad

- Hidróxido de cobre (II) Cu(OH)_2
- Ácido acético CH_3COOH al 8%

Peligrosidad

Los compuestos de cobre no son especialmente tóxicos. No obstante, tanto su manejo como fundamentalmente al operar con ácidos concentrados, álcalis, etc., deben mantenerse todas las precauciones.

Experimental

Se tratan 2 g de Cu(OH)_2 con ácido acético al 8% hasta su disolución. Se concentra la disolución hasta que cristalice el acetato de cobre (II).

Se separan los cristales por filtración en placa filtrante y se secan al aire o en desecador.

Ensayos complementarios

- Disolver un poco de producto en 4 cm^3 de agua y añadir unas gotas de NaOH 2 M. Repartir en dos tubos de ensayo la suspensión obtenida anteriormente. Uno de ellos calentarlo a ebullición y en el otro añadir NaOH concentrado y calentar suavemente. Interpretar lo observado.
- Disolver un poco de producto en agua y añadir disolución de KI .

Cuestiones

1. ¿Cómo es la estructura del compuesto?
2. Explicar el efecto que tiene la configuración electrónica del Cu (II) sobre la estructura de sus compuestos.
3. Los compuestos de Cu (II) son coloreados, sin embargo, los de Cu(I) generalmente no presentan color. Dar una explicación.
4. ¿Qué propiedades magnéticas presentará el compuesto?