

## EXPERIMENTAL 1

### Determinación de "cloro activo" en una muestra de agua lavandina mediante titulación yodométrica

#### 1. INTRODUCCIÓN

##### 1.1 El agua lavandina

El agua lavandina es una solución alcalina de **hipoclorito de sodio o calcio** que se utiliza como solución blanqueadora, de limpieza y desinfectante. Su uso está ampliamente difundido tanto en la industria, hospitales y sanatorios, como también en el consumo domiciliario. Su poderosa acción desinfectante de amplio espectro y su bajo costo la han transformado en un producto de consumo masivo.

Se pueden encontrar en el comercio muchas marcas de lavandinas cuyas concentraciones habituales van desde los 20 a los 110 g/L de "**cloro activo**".

La forma más habitual de expresar la concentración de una solución de agua lavandina es como **cloro activo**, la cual se refiere al cloro que dio origen al hipoclorito en solución y que, formando parte del mismo, actúa como oxidante.

La fabricación del hipoclorito sódico tiene lugar al reaccionar el cloro con hidróxido sódico:



siendo el hipoclorito producido el responsable del poder oxidante del cloro:



En función de la concentración de cloro activo, el agua lavandina puede clasificarse como:

**Agua Lavandina común Tipo I:** Es aquella cuyo contenido de cloro activo es como mínimo de 20 g/l y como máximo 40 g/L.

**Agua Lavandina concentrada Tipo II:** Es aquella cuyo contenido de cloro activo es como mínimo de 55 g/l y como máximo 65 g/L.

**Agua Lavandina concentrada Tipo III:** Es aquella cuyo contenido de cloro activo es como mínimo de 85 g/l y como máximo 110 g/L.

**Agua lavandina aditivada:** Es aquella con un valor de cloro activo entre 2.0 a 2.5 % p/p o su equivalente en g/L, conteniendo además sustancias colorantes y/o detergentes y/o aromatizantes y estabilizantes.

Las soluciones de hipoclorito son poco estables, comienzan a descomponerse en cuanto se preparan y continúan haciéndolo hasta llegar a descomponerse totalmente. La estabilidad de estas soluciones depende de cinco factores principales:

- Concentración del hipoclorito.
- Alcalinidad o valor pH de la solución.
- Temperatura de almacenamiento.
- Presencia de impurezas que catalizan la descomposición.

- Exposición a la luz.

Así, las soluciones que contienen baja concentración de hipocloritos se descomponen más lentamente que aquellas que contienen una concentración más elevada, mientras que un pH alcalino da soluciones con mayor estabilidad. Ciertas impurezas, como por ejemplo sales y óxidos metálicos (níquel, cobre, hierro, mercurio, aluminio, plomo, etc) tienen un fuerte efecto catalítico en la descomposición de las soluciones de hipoclorito. Por otro lado, las bajas temperaturas de almacenaje y el uso de recipientes opacos que protejan el producto de la luz, reducen considerablemente su descomposición.

Debido a esta falta de estabilidad las aguas lavandinas tienen un plazo de validez de uso recomendado de 120 días para los tipos común y concentrada y de 180 días para las aditivadas.

Fuera de estos plazos, probablemente, la caída en la concentración del cloro conlleve a que en la dilución de uso no se alcance la concentración mínima necesaria para la eficiencia de este producto, principalmente en cuanto a la desinfección.

Debido a sus características y al importante uso al que está destinado como desinfectante doméstico y hospitalario, el agua lavandina es un producto "**domisanitario**" regulado por la autoridad sanitaria y que debe ser controlado para determinar si cumple con la legislación vigente.

El organismo de regulación es el ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica), quien establece que se admitirán disminuciones del contenido de cloro activo debidas al envejecimiento, que no superen los máximos establecidos en la Tabla 1, en función del lapso transcurrido entre la fecha de envasado indicada en el rótulo y la fecha del análisis.

**TABLA 1. Disminución de cloro activo permitida**

<b>Cloro activo declarado (g/L)</b>	Caída a 30 días (%)	Caída a 60 días (%)	Caída a 90 días (%)	Caída a 120 días (%)
<b>110-81</b>	13	23	29	33
<b>80-55</b>	10	17	21	25
<b>40-20</b>	4	6	8	10

## 1.2 Yodometría

El método utilizado para la determinación de la concentración de cloro activo en muestras de agua lavandina es una titulación de óxido-reducción indirecta: la yodometría. En estas titulaciones se utiliza **yoduro de potasio** en exceso como reactivo intermediario, quien reacciona con el analito para producir una cantidad estequiométrica de **yodo**, el cual es titulado con una solución patrón secundaria de tiosulfato de sodio. La reacción cuantitativa del **tiosulfato** ( $S_2O_3^{2-}$ ) con el yodo es única, obteniéndose como producto **tetrionato** ( $S_4O_6^{2-}$ ).

Los métodos yodométricos son muy utilizados en la valoración de una gran cantidad de analitos oxidantes.

El tiosulfato de sodio puede conseguirse como reactivo analítico pentahidratado:  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ , PF= 248.182. Es una sustancia considerablemente inestable, por lo que sus soluciones deben estandarizarse antes de ser utilizadas frente a una sustancia patrón primaria (spp).

Las spp utilizadas normalmente para la valoración del tiosulfato son:

- $KIO_3$ , PF=214.005 g/mol

- $K_2Cr_2O_7$ , PF= 294.21 g/mol
- $KBrO_3$ , PF= 167.00 g/mol
- Cu metálico, Pat= 63.546 g/mol

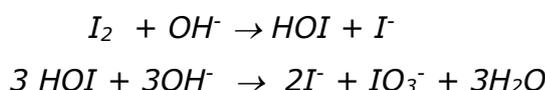
Todos estos compuestos liberan cantidades estequiométricas de yodo cuando se tratan con un exceso de yoduro de potasio.

Las titulaciones yodométricas se realizan en medio débilmente ácido y utilizando almidón como indicador.

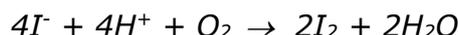
### 1.2.1 Fuente de error en la yodometría

Las titulaciones yodométricas deben llevarse a cabo en condiciones estrictamente controladas, ya que existen diferentes factores que pueden afectar su exactitud:

- Asegurar que el medio no sea alcalino para evitar las reacciones de dismutación del yodo, que ocurren a partir de pH=9:

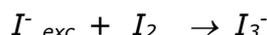


- Controlar que el medio no sea excesivamente ácido, ya que las soluciones ácidas de yoduro son oxidadas por el aire en forma lenta:



Esta reacción es extremadamente lenta en medio neutro, pero la velocidad aumenta con el aumento de la concentración de ión hidrógeno, y es acelerada enormemente por la luz solar directa.

- Preparar la mezcla de titulación justo en el momento previo a realizarla. No debe dejarse nunca el yodo generado en contacto con la atmósfera más tiempo de lo necesario, ya que se pierde significativamente por volatilización.
- Agregar un exceso importante de yoduro de potasio de manera que el yodo generado se encuentre totalmente formando el complejo triyoduro, mucho más estable que el yodo libre.

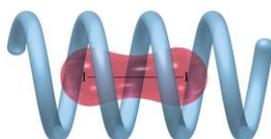


El exceso de ioduro desplaza el equilibrio de izquierda a derecha, colaborando con la estabilidad de la mezcla de titulación.

### 1.2.2 Almidón soluble

Cuando se titulan soluciones incoloras por yodometría, el mismo yodo puede servir como autoindicador, ya que al desaparecer todo el yodo la solución vira de amarillo muy tenue a incolora. Sin embargo, para obtener un viraje más pronunciado en el punto final, puede usarse almidón soluble como indicador. La  $\beta$ -amilosa del almidón soluble reacciona con el yodo formando un complejo de adsorción, intensamente coloreado de azul y visible aún a concentraciones muy bajas (0.01% de yodo). El color azul desaparece al reducirse completamente el yodo a yoduro en el punto final de la titulación.

Complejo de la  $\beta$ -amilosa con el  $I_2$ :



Debe tenerse en cuenta, que si la concentración de yodo en solución es alta, se forma con el almidón un complejo insoluble en agua de color negro que dificulta la visualización del punto final de la titulación. Por esta razón, no debe agregarse este indicador al comenzar la titulación del yodo, sino cerca del punto final, cuando la concentración de yodo es baja, lo que se manifiesta por un color amarillo claro de la mezcla de titulación.

Las ventajas que posee el almidón soluble como indicador son su bajo costo y fácil preparación. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que es inestable en agua y muy susceptible a contaminación, por lo que debe prepararse preferentemente en el momento de utilizarse. Para conservarlo por unos días puede agregarse una pizca de alguna sal de mercurio y guardarse en la heladera.

## 2. OBJETIVO

Determinar la concentración de cloro activo en una muestra de agua lavandina comercial mediante titulación yodométrica.

## 3. PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN PATRON SECUNDARIA DE $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Se recomienda seguir las etapas de la Lista Control N° 2 para los aspectos generales de la preparación.

En particular, se preparará una solución patrón secundario de tiosulfato de sodio 0.05 meq/mL por pesada de una masa de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  p.a y disolución a un volumen determinado. Se determinará su concentración exacta por titulación con una SPP de  $\text{KIO}_3$ .

### 3.1 Cálculos previos

Para calcular la masa de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  a pesar se tendrán en cuenta los siguientes puntos:

- Peso equivalente del  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; según la semirreacción en la que participa frente al yodo.



$$P_{eq} = \frac{2PF}{2} = 248.182 \text{ g / eq}$$

- La concentración deseada para la solución.
- El volumen de la solución a preparar.

Parámetros que se relacionan en la siguiente ecuación:

$$\text{masa}_{\text{sps teórica}} = N_{\text{SPSteórica}} \left[ \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right] \times V_{\text{prep}} [\text{mL}] \times P_{eq} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{meq}} \right]$$

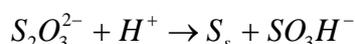
### 3.2 Procedimiento

- Pesar en pesasustancia tipo embudo una masa aproximada a la masa calculada.

- Transferir a un matraz del volumen programado y disolver con agua de laboratorio previamente hervida y enfriada en vaso de precipitado tapado con vidrio de reloj para eliminar el CO<sub>2</sub> disuelto.
- Si luego de disolver la sustancia persiste una ligera turbidez, se deberá filtrar la solución para eliminar el azufre.
- A la solución ya preparada se le añade Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> p.a (s/norma reconocida) sólido de manera de lograr una concentración de 0.01% (m/v), con la finalidad de alcalinizarla levemente para hacerla más estable.

### 3.3 Consideraciones acerca de la estabilidad de la solución de tiosulfato

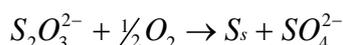
Si el agua destilada utilizada para la preparación del tiosulfato es débilmente ácida por la disolución del CO<sub>2</sub> atmosférico, la solución se vuelve inestable por reacción con los protones dando azufre elemental y sulfito como productos:



A su vez el sulfito se oxida rápidamente a sulfato:



de modo que las soluciones de tiosulfato en contacto con el aire, con el tiempo se descomponen produciendo azufre y sulfato:



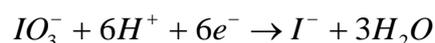
Tanto los microorganismos ambientales que consumen azufre, las tiobacterias, como la exposición de la solución a la luz directa, favorecen este proceso. Por esta razón, las soluciones deben prepararse en condiciones medianamente controladas de esterilidad, alcalinizarse levemente y guardarse en envases oscuros y bien cerrados. También pueden agregarse pequeñas cantidades de bactericidas como benzoatos o sales de mercurio. La solución debe normalizarse antes de ser utilizada y si se presenta turbia debe ser filtrada o desechada.

## 4. PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN PATRON PRIMARIA DE KIO<sub>3</sub>

### 4.1 Cálculos previos

Para calcular la masa de **spp** a pesar se tendrá en cuenta:

- Su peso equivalente, según la semirreacción en la que participa:



$$P_{eq_{KIO_3}} = \frac{PF}{6} = \frac{214.005}{6} = 35.657 \text{ g / eq}$$

- La concentración teórica necesaria de la SPP adecuada para gastar 4/5 de una bureta cargada con la SPS que se va a valorar, teniendo en cuenta la alícuota medida con volpipeta ( $V_{vp}$ ) que se empleará en la titulación:

$$N_{SPP\text{teórica}} = \frac{N_{SPS} \left[ \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right] \times \frac{4}{5} V_{Bureta} [\text{mL}]}{V_{vp} [\text{mL}]}$$

- El volumen de solución a preparar, relacionados en la siguiente ecuación:

$$\text{masa}_{\text{spp teórica}} = N_{SPP\text{teórica}} \left[ \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right] \times V_{\text{prep}} [\text{mL}] \times \text{Peq} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{meq}} \right]$$

#### 4.2 Procedimiento

En general, deben seguirse los pasos de la Lista Control N° 1 para preparación de SPP. En particular, tener en cuenta que la spp se deberá secar en estufa a 105-110 °C por dos horas y enfriarse en desecador antes de ser utilizada.

#### 4.3 Cálculos finales

Calcular la concentración exacta en mol/L (molaridad,  $M_{SPP}$ ) considerando la masa práctica, es decir, la masa pesada, y teniendo en cuenta las incertidumbres de los factores que intervienen en el cálculo, según:

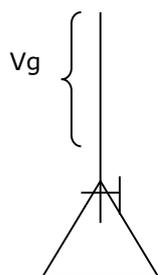
$$N_{SPP\text{ exacta}} (\text{meq/mL}) = \frac{\text{masa práctica} [\text{mg}]}{V_{\text{prep}} [\text{mL}] \times \text{Peq} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{meq}} \right]}$$

### 5. VALORACIÓN DE LA SOLUCIÓN PATRON SECUNDARIA DE $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

#### 5.1 Reactivos

- SPP de  $\text{KIO}_3$
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:8. Diluir 1 volumen de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  comercial dispensando lentamente por las paredes en un erlenmeyer conteniendo 8 volúmenes de agua de laboratorio (contendrá una concentración aproximada a 2 mol/L).
- KI 50% p/V, preparado disolviendo 50 g de KI p.a. en 100 mL de agua de laboratorio. Conservar este reactivo en envase oscuro bien tapado. Evitar contaminación, ya que se oxida fácilmente a yodo.
- Almidón soluble: hacer una pasta con 0.5 g de almidón soluble y una pequeña cantidad de agua. Agregar, agitando, 100 mL de agua en ebullición y hervir la mezcla durante un minuto. La solución debe quedar clara (sin turbidez).

### 5.2 Esquema de titulación



SPS  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

alícuota de SPP de  $\text{KIO}_3$  (Vvp programado)

**2.0** mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:8 (aproximadamente 2 mol/L)

**1.0** mL sol. KI 50 % (m/v)

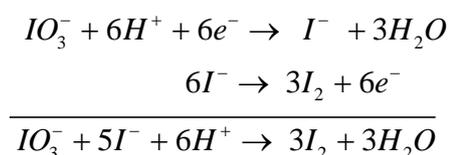
Titular hasta **amarillo tenue**

**0.5** mL de almidón soluble 0.5% (m/v) → **azul**

Continuar la titulación hasta **incoloro**

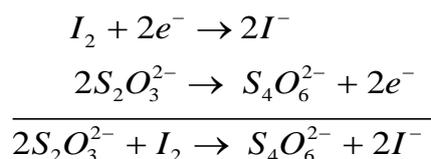
### 5.3 Procedimiento

A la alícuota de la SPP contenida en el erlenmeyer, se la añaden unos mL de agua destilada para aumentar el volumen, una cantidad adecuada de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para lograr el pH apropiado y una cantidad en exceso de solución de reactivo intermediario KI 50 % a los fines de que se produzca la reacción:



El  $\text{I}_2$  liberado se titula luego con el  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  contenido en la bureta agitando continuamente. Cuando el color de la solución titulada pasa de marrón a amarillo tenue, se le agregan unas gotas de solución de almidón soluble hasta observar un color azul, y se continúa titulando hasta el viraje del azul al incoloro.

La reacción de titulación es, entonces:



Es importante notar que:



Realizar al menos cuatro titulaciones y registrar los datos en el cuaderno de laboratorio.

Los datos pueden tabularse de la siguiente manera:

Determinación	Vvp (mL)	$N_{\text{SPP}}$ (meq/mL)	Vg (mL)	$N_{\text{SPS}}$ (meq/mL)
1				
2				
3				
4				

### 5.4 Cálculos finales

Para calcular la normalidad exacta de la SPS tener en cuenta los volúmenes leídos en la bureta en cada una de las cuatro determinaciones y las incertidumbres de los datos que intervienen en su cálculo.

$$N_{\text{SPS exacta}} = \frac{V_{vp} [\text{mL}] \times N_{\text{SPP}} [\text{meq/mL}]}{V_g [\text{mL}]}$$

Realizar el tratamiento estadístico adecuado de los datos de la serie y expresar el resultado como:

$$N_{\text{SPS exacta}} = \left( \bar{X} \pm \frac{t.S}{\sqrt{n}} \right) [\text{meq/mL}]$$

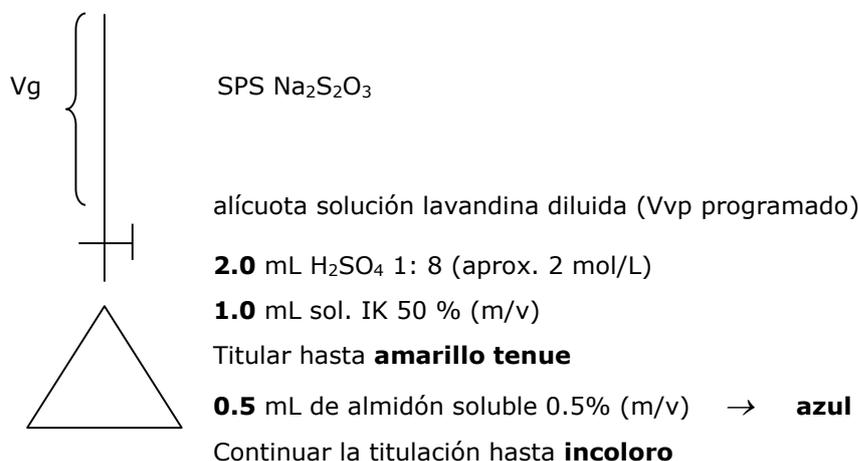
## 6. DETERMINACIÓN DE CLORO ACTIVO EN UNA MUESTRA DE AGUA LAVANDINA

### 6.1 Reactivos

- SPS de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:8 (aproximadamente 2 mol/L)
- KI 50% (m/v)
- Almidón soluble 0.5% (m/v)

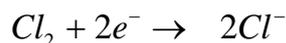
### 6.2 Esquema de titulación

Si es necesario, se diluye la muestra de agua lavandina de acuerdo a las condiciones de trabajo: material volumétrico, concentración del titulante, etc.



### 6.3 Cálculo de la dilución necesaria de la muestra

La dilución adecuada de la muestra deberá calcularse teniendo en cuenta el esquema de titulación para gastar aproximadamente 4/5 del volumen total de la bureta conteniendo la SPS de concentración conocida y la concentración estimada de la muestra. Debe tenerse en cuenta también que el principio activo del agua lavandina, el cloro activo se reduce en la titulación según la siguiente semirreacción:



$$P_{eq}Cl_2 = \frac{PF_{Cl_2}}{2} = 35.5 \text{ g/eq}$$

Por lo que la Normalidad de la muestra concentrada original ( $N_{Mc}$ ) puede calcularse como:

$$N_{Mc} [\text{eq/L}] = Cl_2 \text{ activo} [\text{g/L}] \times \frac{1}{P_{eq} Cl_2 [\text{g/eq}]}$$

La Normalidad de la muestra diluida ( $N_{Md}$ ) a titular debe cumplir el requisito de que en el punto final de la titulación:

$$N_{Md} [\text{meq/mL}] \times V_{vp} [\text{mL}] = N_{SPS} [\text{meq/mL}] \times V_g$$

A partir de esta ecuación puede calcularse entonces la concentración requerida para la solución muestra a valorar en función del esquema analítico empleado.

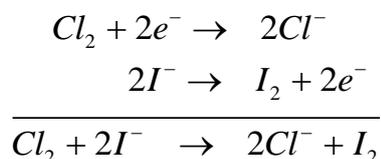
La dilución necesaria de la muestra se obtendrán entonces como:

$$Dil = \frac{N_{Md}/N_{Md}}{N_{Mc}/N_{Md}}$$

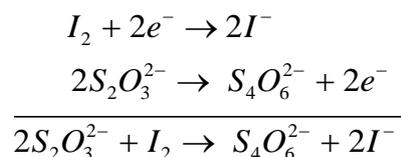
La dilución real de la muestra deberá realizarse con material volumétrico exacto, eligiendo la posibilidad más cercana a la dilución calculada.

#### 6.4 Procedimiento

El cloro activo contenido en la alícuota de muestra diluida se determina agregando unos mL de agua destilada para aumentar el volumen, una cantidad adecuada de  $H_2SO_4$  para lograr el pH apropiado y una cantidad en exceso de solución del reactivo intermediario KI 50 % a los fines de que se produzca la reacción:



El  $I_2$  liberado se titula luego con el  $Na_2S_2O_3$  SPS, de la misma manera que en el caso anterior, siendo, entonces, nuevamente la reacción de titulación:



Es importante notar que:

$$meq S_2O_3^{2-} = meq I_2 = meq Cl_2$$

Realizar al menos cuatro titulaciones y registrar los datos en el cuaderno de laboratorio.

Los datos pueden tabularse de la siguiente manera:

Determinación	Vvp (mL)	N <sub>SPS</sub> (meq/mL)	Vg (mL)	N <sub>Muestra</sub> (meq/mL)	Cloro activo g/L
1					
2					
3					
4					

### 6.5 Cálculos finales

Para calcular la concentración exacta de la muestra tener en cuenta los volúmenes leídos en la bureta en cada una de las cuatro determinaciones y las incertidumbres de los datos que intervienen en su cálculo.

$$\text{Cl}_2 \text{ activo [g/L]} = \frac{Vg \text{ [mL]} \times N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \text{ [meq/mL]}}{Vvp \text{ [mL]}} \times \text{Peq Cl}_2 \text{ [mg/meq]} \times \frac{1}{\text{Dil}} \times \frac{1000 \text{ [mL/L]}}{1000 \text{ [mg/g]}}$$

Realizar el tratamiento estadístico adecuado de los datos de la serie y expresar el resultado como:

$$\text{Cl}_2 \text{ activo [g/L]} = \left( \bar{X} \pm \frac{t.S}{\sqrt{n}} \right) \text{ [g/L]}$$

## ANEXO I:

### Manejo de residuos químicos producidos en el Experimental 1

Residuos generados	Tratamiento
Solución de tiosulfato de sodio	Desechar directamente en la pileta.
Restos de los erlenmeyer conteniendo ácido sulfúrico	Recolectar los residuos de erlenmeyers, vasos y buretas en un recipiente. Llevar a neutralidad controlando con papel tornasol. Diluir al menos 10 veces. Desechar en la pileta.
Lavandina Muestra diluida	Recuperar en bidón como solución limpiadora.

## EXPERIMENTAL 2

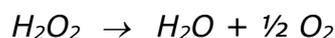
### Determinación de los "volúmenes de O<sub>2</sub>" en una muestra de agua oxigenada por permanganometría

#### 1. INTRODUCCIÓN

##### 1.1 El agua oxigenada

El agua oxigenada es una solución diluida de **peróxido de hidrógeno** en agua que se utiliza en farmacia como desinfectante para heridas y en cosmética como decolorante capilar. Las concentraciones comerciales más habituales son las de 10 y 20 "**volúmenes de oxígeno**". Esta forma de expresar la concentración está relacionada con la capacidad de estas soluciones de generar oxígeno por descomposición y se **define** como "el número de veces que un determinado volumen de solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produce su mismo volumen de O<sub>2</sub> a presión y temperatura normales".

Un litro de una solución de 1.0 mol/L de agua oxigenada puede producir ½ mol de oxígeno gaseoso según la ecuación:

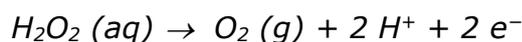


En condiciones normales de presión y temperatura esta cantidad de oxígeno ocupa 11.2L, por lo que puede establecerse la relación:

$$1\text{mol/L} = 11.2 \text{ vol. } O_2$$

En contacto con la sangre o la suciedad, el peróxido de hidrógeno del agua oxigenada se descompone con producción de oxígeno, el que actúa como agente desinfectante.

Por otro lado, el peróxido de hidrógeno es capaz de actuar ya sea como agente oxidante o como reductor, según las semirreacciones en medio ácido que se presentan a continuación:



Las soluciones de agua oxigenada son inestables y tienden a perder potencia con el tiempo, por lo que muchos fabricantes incluyen estabilizantes en su formulación. El control de calidad de estas preparaciones desinfectantes es necesario y obligatorio para asegurar su eficacia dentro del período de validez.

La Farmacopea Nacional Argentina, en su Octava Edición establece que el Método Oficial para la valoración de agua oxigenada de uso medicinal es la titulación de óxido-reducción utilizando permanganato de potasio como reactivo titulante. Además, especifica que la concentración de peróxido de hidrogeno del agua oxigenada debe encontrarse entre el 85.0 y el 115.0 % del valor rotulado.

### **1.2 Permanganometría**

El permanganato de potasio,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{PF}=158.038$ , es una de las sustancias con propiedades oxidantes más empleadas para la preparación de soluciones titulantes. Esto se debe, principalmente, a su bajo costo y su alto potencial de reducción en medio ácido, lo que permite su utilización en la valoración de una gran cantidad de compuestos reductores. Por otro lado, el color de las soluciones de permanganato es tan intenso que puede utilizarse como **autoindicador** en las titulaciones.

El medio de reacción en la titulación tiene que ser lo suficientemente ácido para que se produzca la reducción cuantitativa del permanganato a Mn (II), ya que en medios neutros o alcalinos los productos de reducción pueden ser Mn (III), Mn (IV) o Mn (VI), reacciones que no son cuantitativas.

Una desventaja de este reactivo es su inestabilidad en soluciones acuosas, debido a la tendencia de oxidar al agua con producción de dióxido de manganeso, el que, a su vez, actúa como catalizador de esta descomposición:



La luz, el calor, los ácidos y bases, la materia orgánica y cualquier reductor presente en el polvo del aire o en envases de almacenamiento pueden favorecer también esta descomposición. Incluso el dióxido de manganeso es un contaminante del permanganato de potasio en el grado más puro. Por estas razones, las soluciones que se obtienen con el permanganato de potasio son soluciones patrones secundarias que deben estandarizarse frente a un patrón primario, y conservarse en envases perfectamente limpios y oscuros al abrigo de la luz y el polvo.

Si aparece precipitado en las soluciones, estas deben filtrarse por vidrio poroso y valorarse nuevamente. La filtración del permanganato no puede realizarse con filtros de papel, ya que el mismo tiene comportamiento reductor y favorece la descomposición del reactivo. Es recomendable revalorar las soluciones de permanganato a ser utilizadas como patrón secundario, cada una o dos semanas.

El patrón primario que se utiliza para la normalización del permanganato es el oxalato de sodio,  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ,  $\text{PF}=134.00$  g/mol. La reacción de titulación del oxalato con permanganato en medio ácido tiene la desventaja de ser muy lenta, aún a temperatura elevada, siendo el Mn (II) catalizador de la reacción. Por este motivo, estas titulaciones se hacen agregando unos pocos mililitros de permanganato a una solución caliente de oxalato acidificada y agitando unos segundos hasta que la aparición del Mn (II) en el medio acelera la reacción.

### **2. OBJETIVO**

Determinar la concentración de peróxido de hidrógeno en una muestra de agua oxigenada comercial mediante titulación con permanganato.

### 3. PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN PATRON SECUNDARIA DE $KMnO_4$

Se recomienda seguir las etapas de la Lista Control N° 2 para los aspectos generales de la preparación.

En particular, se preparará una solución patrón secundario de permanganato de potasio 0.05 meq/mL por pesada de una masa de  $KMnO_4$  p.a y disolución a un volumen determinado. Se determinará su concentración exacta por titulación con una SPP de  $Na_2C_2O_4$ .

#### 3.1 Cálculos previos

Para calcular la masa de  $KMnO_4$  a pesar se tendrán en cuenta los siguientes puntos:

- Peso equivalente del  $KMnO_4$ , según la semirreacción en la que participa:



$$P_{eq} = \frac{PF}{5} = \frac{158.038}{5} = 31.608 \text{ g / eq}$$

- La concentración deseada para la solución,
- El volumen de la solución a preparar, relacionados en la siguiente ecuación:

$$\text{masa}_{\text{sps teórica}} = N_{\text{SPSteórica}} \left[ \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right] \times V_{\text{prep}} [\text{mL}] \times P_{eq} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{meq}} \right]$$

#### 3.2 Procedimiento

- Pesar en pesasustancia tipo embudo un ligero exceso respecto a la masa calculada.
- Disolver la sustancia pesada en la totalidad del volumen de agua destilada de la solución.
- Calentar la solución hasta ebullición y mantenerla una hora en caliente a una temperatura próxima a la temperatura de ebullición con el fin de eliminar cualquier sustancia reductora en el medio.
- Filtrar con **filtro de vidrio poroso** para separar el  $MnO_2$ .
- Completar al volumen final con agua hervida para reponer lo perdido por evaporación.
- Envasar en un frasco o botella color caramelo, perfectamente limpia, libre de grasa y con buena tapa.

### 4. PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN PATRON PRIMARIA DE $Na_2C_2O_4$

#### 4.1 Cálculos previos

Para calcular la masa de **spp** a pesar se tendrá en cuenta:

- Su peso equivalente, según la semirreacción en la que participa:  $C_2O_4^{2-} \rightarrow 2CO_2 + 2e^-$

$$P_{eq} Na_2C_2O_4 = \frac{PF}{2} = \frac{134.00}{2} = 67.00 \text{ g / eq}$$

- La concentración teórica necesaria de la SPP adecuada para gastar 4/5 de una bureta cargada con la SPS que se va a valorar, teniendo en cuenta la alícuota medida con volpipeta (Vvp) que se empleará en la titulación:

$$N_{SPP\text{teórica}} = \frac{N_{SPS} \left[ \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right] \times \frac{4}{5} V_{Bureta} [\text{mL}]}{V_{vp} [\text{mL}]}$$

- El volumen de solución a preparar.

Parámetros que se relacionan en la siguiente ecuación:

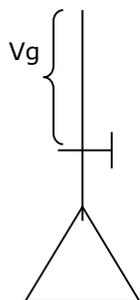
$$\text{masa}_{spp\text{ teórica}} = N_{SPP\text{teórica}} \left[ \frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right] \times V_{\text{prep}} [\text{mL}] \times \text{Peq} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{meq}} \right]$$

## 5. VALORACIÓN DE LA SOLUCIÓN PATRON SECUNDARIA DE KMnO<sub>4</sub>

### 5.1 Reactivos

- SPP de Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:8

### 5.2 Esquema de titulación



SPS KMnO<sub>4</sub>

Vvp Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

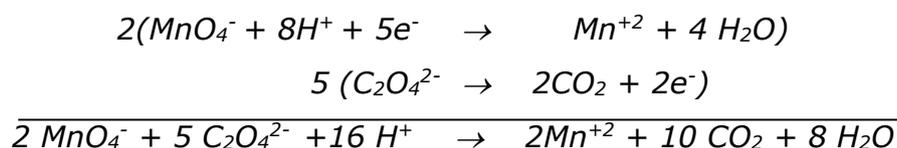
**3.00** mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:8

∅ 80-90 °C

Titular de incoloro → primer tinte rosado

### 5.3 Procedimiento

La reacción de titulación es una reacción de óxido-reducción, en donde el KMnO<sub>4</sub> a ser valorado como SPS es el agente oxidante y el Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> es el agente reductor, en este caso utilizado como SPP. El KMnO<sub>4</sub> actúa como autoindicador:



Se toma la alícuota programada de SPP con volpipeta y se transfiere a un erlenmeyer. Se le añaden unos mL de agua destilada y 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:8 para conseguir el pH de trabajo ácido, y se calienta hasta 80-90 °C. En caliente, se añaden unos dos mililitros de la solución de permanganato y se agita hasta la desaparición del color rosado. Se continúa la titulación lentamente hasta la aparición

del primer tinte rosado permanente.

Realizar al menos cuatro titulaciones y registrar los datos en el cuaderno de laboratorio.

Los datos pueden tabularse de la siguiente manera:

Determinación	Vvp (mL)	N <sub>SPP</sub> (meq/mL)	Vg (mL)	N <sub>SPS</sub> (meq/mL)
1				
2				
3				
4				

#### 5.4 Cálculos finales

Para calcular la normalidad exacta de la SPS tener en cuenta los volúmenes leídos en la bureta en cada una de las cuatro determinaciones y las incertidumbres de los datos que intervienen en su cálculo.

$$N_{SPS \text{ exacta}} = \frac{Vvp \text{ [mL]} \times N_{SPP} \text{ [meq/mL]}}{Vg \text{ [mL]}}$$

Realizar el tratamiento estadístico adecuado de los datos de la serie y expresar el resultado como:

$$N_{SPS \text{ exacta}} = \left( \bar{X} \pm \frac{t.S}{\sqrt{n}} \right) \text{ [meq/mL]}$$

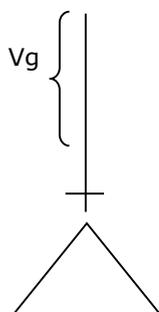
### 6. DETERMINACIÓN DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> EN UNA MUESTRA DE AGUA OXIGENADA

#### 6.1 Reactivos

- SPS de KMnO<sub>4</sub>
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:8

#### 6.2 Esquema de titulación

Si es necesario, se diluye la muestra de agua oxigenada de acuerdo a las condiciones de trabajo: material volumétrico, concentración del titulante, etc.



KMnO<sub>4</sub> de N conocida

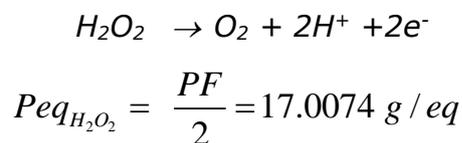
Vvp de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluido

**3.00** mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:8

Titular de incoloro → 1º tinte rosado

### 6.3 Cálculo de la dilución necesaria de la muestra

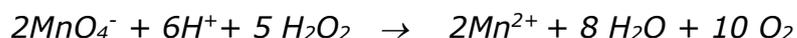
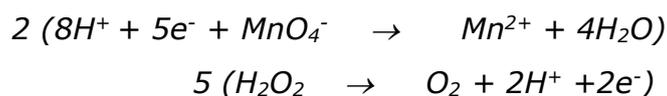
La dilución adecuada de muestra deberá calcularse teniendo en cuenta el esquema de titulación para gastar aproximadamente 4/5 del volumen total de la bureta conteniendo la SPS de concentración conocida y la concentración estimada de la muestra. Para esto debe tenerse en cuenta la semirreacción del peróxido de hidrógeno y su peso equivalente:



La dilución de la muestra deberá realizarse con material volumétrico exacto.

### 6.4 Procedimiento

El peróxido de hidrógeno contenido en la alícuota de muestra diluida se determina agregando unos mL de agua destilada para aumentar el volumen y una cantidad adecuada de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para lograr el pH apropiado, utilizando el comportamiento como autoindicador del permanganato para visualizar el punto final de la reacción de titulación:



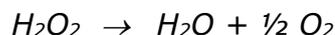
Esta reacción tiene una velocidad adecuada a temperatura ambiente. Realizar al menos cuatro titulaciones y registrar los datos en el cuaderno de laboratorio.

Los datos pueden tabularse de la siguiente manera:

Determinación	Vvp (mL)	N <sub>SPS</sub> (meq/mL)	Vg (mL)	N <sub>Muestra</sub> (meq/mL)	Vol O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g/L)
1						
2						
3						
4						

### 6.5 Cálculos finales

Para calcular la concentración exacta de la muestra tener en cuenta los volúmenes leídos en la bureta en cada una de las cuatro determinaciones y las incertidumbres de los datos que intervienen en su cálculo. Además de considerar e interrelacionar las estequiometrias ya mencionadas:



$$1 \text{ mol/L} = 11.2 \text{ vol. } O_2 / \text{ vol.}$$

Y considerando la semireacción redox:

$$1 \text{ mol/L} = 2 \text{ eq/L} = 11.2 \text{ vol. } O_2 / \text{ vol.}$$

$$\text{Vol } O_2 = \frac{Vg \text{ [mL]} \times N_{KMnO_4} \text{ [meq/mL]}}{Vvp \text{ [mL]}} \times \frac{11.2 \text{ Vol } O_2}{2 \text{ meq/mL}} \times \frac{1}{\text{Dil}}$$

$$H_2O_2 \text{ [g/L]} = \frac{Vg \text{ [mL]} \times N_{KMnO_4} \text{ [meq/mL]}}{Vvp \text{ [mL]}} \times P_{eq_{H_2O_2}} \text{ [mg/meq]} \times \frac{1}{\text{Dil}}$$

## ANEXO II:

### Manejo de residuos químicos producidos en el Experimental 2

Residuos generados	Tratamiento
Permanganato de potasio	Reducir con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> o FeSO <sub>4</sub> en medio ácido hasta desaparición del color violeta. Llevar a neutralidad controlando con papel tornasol. Diluir al menos 10 veces. Desechar a la pileta.
Soluciones de los erlenmeyes conteniendo ácido sulfúrico	Llevar a neutralidad controlando con papel tornasol. Diluir al menos 10 veces. Desechar a la pileta.
Agua oxigenada (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Oxalato de Sodio (Na <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )	Oxidar con KMnO <sub>4</sub> en medio ácido hasta el primer tinte violeta. Llevar a neutralidad controlando con papel tornasol. Diluir al menos 10 veces. Desechar a la pileta.

## (I) DETERMINACIÓN DEL IÓN FLUORURO EN AGUA NATURAL Potenciometría Directa

### Actividades

- ✓ Construcción de la Curva de Calibrado. Graficar  $E_{\text{celda MEDIDO}}$  vs.  $\log [F^-]$  PATRONES.
- ✓ Preparación y acondicionamiento de la muestra con **TISAB**.
- ✓ Determinación potenciométrica directa del ión fluoruro en una muestra de agua.
- ✓ Emplear la Curva de Calibración para hallar la concentración de fluoruro en la muestra.
- ✓ Informar la concentración de fluoruro en las unidades "mol/L" y "ppm".
- ✓ Observar si se cumple con lo establecido por las normas de Calidad de Agua Potable.

### Introducción teórica

En 1975 el Congreso de la Nación Argentina sanciona la Ley N° 21.172 que dispone la fluoración de las aguas de abastecimiento público de todo el país hasta alcanzar el nivel óptimo de flúor. La fluoración es el proceso de añadir flúor (bajo la forma de sales) al agua de consumo con el propósito de reducir la caries dental. Los compuestos usados son el fluoruro sódico, silicofluoruro de sodio y el ácido hexafluorsilícico. La dosis adecuada oscila entre 1 - 2 partes por millón, siendo variable en función de las condiciones climatológicas. La Tabla 1.1 muestra valores encontrados en aguas potables de distintas provincias argentinas.

#### *Niveles de flúor en provincias argentinas*

Provincia	Concentración de flúor en mg/l	Provincia	Concentración de flúor en mg/l
Formosa	0,2 a 1,2	Entre Ríos	0,1 a 1,8
La Pampa	1,0 a 13,0	Córdoba	0,4 a 2,6
Tucumán	0,1 a 0,8	San Juan	0,3 a 1,0
Catamarca	0,26 a 1,84	Misiones	0,1 a 0,5
Chubut	< 0,2 a 1,6	La Rioja	< 0,2 a 3,0
Santa Fe	0,2 a 4,5	Jujuy	< 0,2 a 1,2
Salta	< 0,2 a 0,8	Buenos Aires	< 0,2 a 2,0
San Luis	0,3 a 6,2	Chaco	< 0,2 a 1,9
Corrientes	< 0,2 a 0,7	Río Negro	< 0,2 a 4,4
Santiago del Estero	0,4 a 8,4	Mendoza	0,3 a 1,7
Neuquén	0,1 a 1,5	Santa Cruz	0,1 a 3,5
Tierra del Fuego	0,5 a 1,0	Cdad. Bs. As.	2

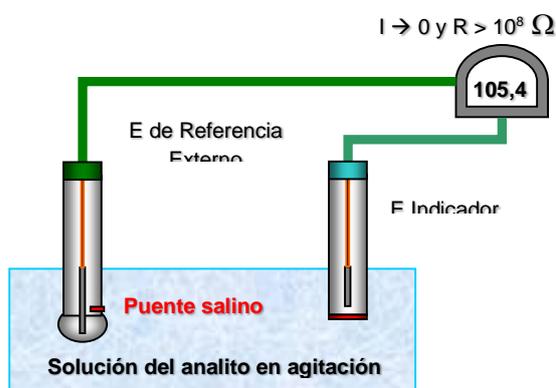
Tabla 1.1

El ANEXO A de la Ley 11220 de la provincia de Santa Fe establece 1,5 mg/L de Fluoruro como Límite Obligatorio, clasificando a los fluoruros como sustancia tóxica inorgánica. Además, el Código Alimentario Argentino fija 2.0 mg/L el contenido límite para aguas minerales. Se debe remarcar, que aún es discutido el beneficio de la fluoración del agua, ya que si no existen estrictos controles en su graduación, se presentarían efectos no deseados sobre todo en la población infantil.

Por otro lado, el flúor y sus derivados fluorurados se encuentran en distintos efluentes industriales. La Tabla 2.2 muestra los resultados del análisis de efluentes de distintos procesos de fabricación, publicados por Chapela E. y sus colaboradores (1999, Aula de Medio Ambiente de Suances, UC), de estos se puede observar que la fabricación del fluoruro de aluminio es uno de los procesos más importantes debido a los mayores caudales y concentraciones generados.

Tabla 2.2. Parámetros característicos de efluentes líquidos en la industria del flúor.

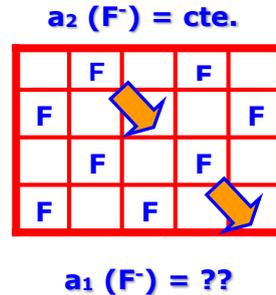
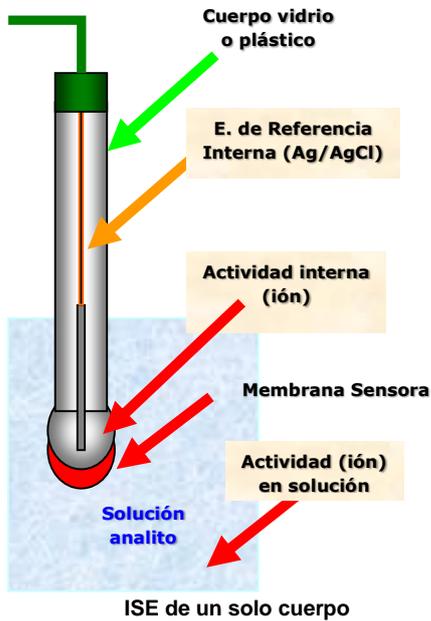
Proceso de fabricación	Unidad generadora	Caudal (m <sup>3</sup> /h)	Temperatura (°C)	PH	[F <sup>-</sup> ] (mg/l)	Sólidos (g/l)
Ácido Fluorhídrico	Venturis finales Hornos	Bajo	23	1,5	300	0
	Venturis redlers	Medio	26	2,5	45	0,3
	Venturis carga anhidrita	Medio	23	8	10	40
Fluoruro de Aluminio	Venturi	Alto	50	1	2000-3000	2,4
Criolita sódica	Torre reactor	Medio	27	5	120	0,05
	Torres calcinación	Alto	40	2,5	170	0,7
	Filtro rotativo	Alto	20	7	40	0,2
Fluoruro sódico	Venturi	Bajo	24	1	350	0
	Sifonados + Filtro	Bajo	22	11	150	1,5
Bi/Polifluoruro Amónico	Depurador Peterson	Bajo	20	1	225	0
Fluoruros Especiales	Conjunto torres de absorción	Bajo	20	2	50	0,15
	Filtros	Bajo	18	1	250 (Cl <sup>-</sup> )	0,05



La potenciometría es una técnica electroanalítica basada en la medida de potenciales. La **potenciometría directa** relaciona la diferencia de potenciales entre dos electrodos sumergidos en la muestra con la actividad (o concentración) del analito. Esta Figura representa el equipo requerido para las determinaciones potenciométricas; el mismo está constituido por una celda potenciométrica

(galvánica) que incluye un **electrodo indicador** (por ejemplo, un electrodo ión selectivo "ISE"), un **electrodo de referencia** y un **potenciómetro**. El electrodo indicador es el electrodo sensible a la actividad (o concentración) del analito. El electrodo de referencia se caracteriza por desarrollar un potencial **conocido** y **constante** independientemente de donde

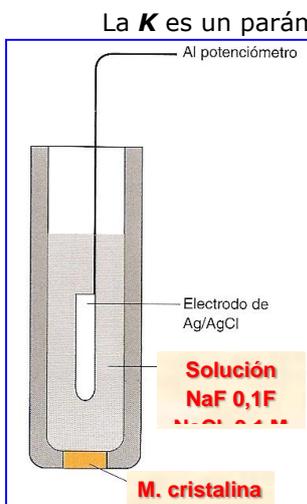
se encuentre sumergido. En consecuencia, la diferencia de potencial establecida entre estos dos electrodos se relaciona directamente con el potencial desarrollado en el electrodo indicador y en última instancia con la concentración del analito.



Un **ISE** para el **ión fluoruro** está formado en su parte sensora por una membrana que consiste de un cristal de Fluoruro de Lantano ( $LaF_3$ ) que se ha dopado con fluoruro de europio ( $EuF_2$ ) para mejorar su conductividad al generar huecos en la red cristalina, por donde el  $F^-$  podría moverse. La membrana se sella al final de un tubo plástico que

contiene un electrodo de **referencia interno** y una solución de concentración constante de fluoruro. La diferencia de potencial de este electrodo, refleja la distribución desigual del ión de interés a través del **límite** que representa la membrana. El **Potencial Límite** se generará siempre que dicha membrana separe **dos** soluciones de **diferentes actividades** iónicas. Ya que este potencial límite es monitoreado respecto del electrodo de **referencia interno**; el **potencial resultante** de este electrodo medido frente al electrodo de **referencia externo** se podrá relacionar con la actividad del ión de interés. La siguiente ecuación representa la diferencia de potencial medida:

$$\Delta E_{MEDIDA} = E_{INDICADOR} - E_{REF\ EXT} \pm E_J = k \pm \frac{59.2mV}{n} \times \log a(ión)$$



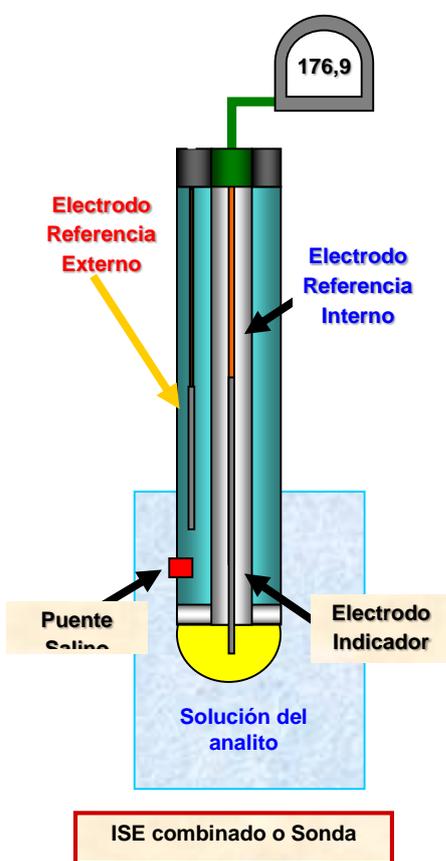
La **K** es un parámetro que además de incluir una serie de térmicos constantes incluye al **Potencial de Unión líquida** (generado principalmente en el Puente Salino). El valor de **K** se debe determinar **empíricamente** durante la **etapa de calibración** mediante el empleo de soluciones patrones o testigos (denominados, calibradores); y se debe **garantizar** su **constancia** durante la **etapa de medida** de la **muestra**. Esta figura muestra el ISE **combinado o sonda** sensible al ión Fluoruro, que se utilizará en **este TP**; esta denominación implica que los dos electrodos necesarios para constituir la celda potenciométrica están formando un **solo cuerpo** que será conectado directamente al potenciómetro. Recordar que es el mismo diseño que presenta la sonda combinada sensible a los protones usada en el TP de Preparación de Soluciones Reguladoras.

Es importante tener en cuenta que la **teoría** de los electrodos de membrana es bastante compleja y los comportamientos difieren para cada tipo de ISE. No es necesario que el ión hacia el cual el electrodo es sensible, sea transportado a través de la membrana o que el mismo tenga una movilidad particular. *Lo que ocurre en la membrana es una combinación de un proceso de intercambio iónico en la interfaz solución-membrana y el desplazamiento de diferentes iones (que puede ser el ión de interés u otro) dentro de la misma.*

En potenciometría directa, las **Curvas de Calibraciones** se construyen graficando las diferencias de potenciales medidas a partir de soluciones patrones (o calibradores) versus el logaritmo de la concentración del ión.

$$\Delta E_{\text{CELDA MEDIDA}} = E_{\text{INDICADOR}} - E_{\text{REF EXT}} \pm E_J = k - \frac{59.2\text{mV}}{n} \times \log a_{(F^-)}$$

Estas curvas son basadas teniendo en cuenta el siguiente concepto: el coeficiente de actividad de un ión de una determinada carga, es fuertemente influenciado por la fuerza iónica del medio en que se encuentra, de acuerdo a la ecuación de Debye Hückel.



No obstante, como generalmente la **fuerza iónica** de una muestra es **desconocida**, se recurre a la **adición** de un electrolito soporte (inerte) en **alta concentración** tanto a los calibradores como a la muestra a analizar, tratando de mantener aproximadamente la misma fuerza iónica entre los calibradores y las muestras.

En el laboratorio esto se lleva a cabo por la adición tanto a los calibradores como a las muestras de **Soluciones Ajustadoras de Fuerza Iónica Total (TISAB)**. Estas soluciones generalmente están constituidas de un **electrolito inerte** (con el anión y el catión de movilidad similares), por un **buffer** (ya que la mayoría de los electrodos ion-selectivos requieren del control de pH) y por **enmascarantes** de potenciales interferentes.

Bajo estas condiciones los coeficientes de actividad **no** se podrían calcular mediante la ecuación de Debye Hückel. No obstante, se *supone* que se mantienen *constantes* dentro del *periodo determinación*, tanto para los *calibradores* como para

la(s) muestra(s). Así, si se supone que los coeficientes de actividad tanto de los calibradores como del analito **son los mismos**, y en consecuencia se pueden incluirse dentro de la **K** que forma parte de la ecuación que define la respuesta del electrodo selectivo.

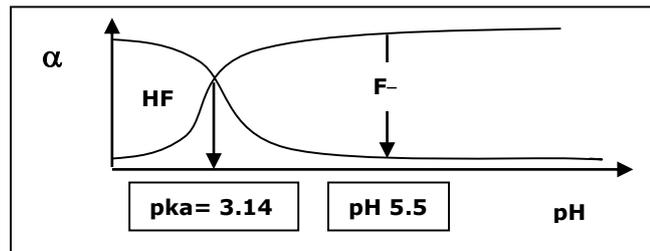
$$\text{Si } a_{(F^-)} = \gamma_{(F^-)} \times [F^-]$$

$$\Delta E_{\text{CELDA MEDIDA}} = k - \frac{59.2\text{mV}}{n} \times \log \gamma_{(F^-)} - \frac{59.2\text{mV}}{n} \times \log [F^-]$$

$$\text{Si } -\frac{59.2\text{mV}}{n} \times \log \gamma_{(F^-)} = \text{constante} \Rightarrow \Delta E_{\text{CELDA MEDIDA}} = K - \frac{59.2\text{mV}}{n} \times \log [F^-]$$

Las condiciones experimentales necesarias para la determinación de Fluoruro mediante un ISE en muestras de agua natural son:

- Rango útil de pH : **5 – 8** ver Diagrama de Distribución de Especies
- pH óptimo = 5.50 donde la relación molar de la especies **F<sup>-</sup>/FH** tiene un valor de **> 99%**



pH ácido existe la especie FH no es reconocido por el ISE

pH alcalino existe como especie interferente el oxidrilo OH<sup>-</sup>

- Las muestras de aguas naturales y potables pueden presentar cationes trivalentes Al(III) y Fe(III) que pueden formar complejos estables con el ión fluoruro. En consecuencia, se consideran interferentes en su determinación, ya que si no se eliminan de la muestra el ión fluoruro no se encontraría libre y no podría ser reconocido por el ISE.

### ACTIVIDADES EXPERIMENTALES

**Muestra para el análisis:** Muestra de agua natural

#### I) Construcción de la Curva de Calibrado. Determinación potenciométrica del ión F<sup>-</sup>

1. Preparar por dilución distintas soluciones patrones o calibradores de fluoruro de sodio de concentraciones conocidas, a partir de una solución patrón de fluoruro, **ver esquema**.
2. Tomar un **volumen** de cada una de las soluciones calibradoras y adicionarle **el mismo volumen** de la solución **TISAB**. Los componentes de la TISAB son una solución de NaCl 1 mol/L (electrolito inerte), un buffer de pH 5.50 (ácido acético 0.25 mol/L y acetato de sodio 0.75 mol/L) y una solución de citrato de sodio 0.001 mol/L (enmascarante de interferencias).
3. Medir la  $\Delta E_{\text{CELDA}}$  para cada una de las soluciones calibradoras usando la sonda ISE.
4. Graficar sobre papel semilogarítmico ( $\Delta E_{\text{CELDA MEDIDA}}$  mV vs. C) o sobre papel milimetrado ( $\Delta E_{\text{CELDA MEDIDA}}$  mV vs. pF<sup>-</sup> o  $-\log F^-$ ) y también utilizando un graficador electrónico.

5. Hallar la ecuación de la recta de regresión a partir de un graficador electrónico.

$$\Rightarrow \Delta E_{CELDA\ MEDIDA} = K - \frac{59.2mV}{n} \times \log [F^-] \Rightarrow \Delta E_C = K_{Re\ gresión} - Pend_{Re\ gresión} \times \log [F^-]$$

6. Tomar un **volumen** de la **muestra de agua** y adicionarle **el mismo volumen** de la solución **TISAB**.

7. Medir la  $\Delta E_{CELDA}$  de la **muestra de agua** usando la sonda ISE.

8. Hallar la concentración del ión fluoruro a partir de la ecuación de la recta de regresión obtenida a partir de la curva de calibrado. Informar el Resultado.

### Esquema

Se dispone de una Solución Patrón de **fluoruro de sodio (0.5007 ± 0.0005) mol/L**. Se realizarán 8 diluciones **INDEPENDIENTES** de acuerdo a los datos de la Tabla:

Dilución	1° Dil 1/20000	2° Dil 1/10000	3° Dil 1/5000	4° Dil 1/500	5° Dil 1/50	6° Dil 1/10	7° Dil 1/5	8° Dil 1/2
mp ó vp	50 µL	100 µL	200 µL	1.00 mL	1.00 mL	10.00 mL	10.00 mL	25.00 mL
ma (mL)	1000.00	1000.00	1000.00	500.00	50.00	100.00	50.00	50.00
(mol/L)	0.000025	0.00005	0.0001	0.001	0.010	0.050	0.100	0.250
(ppm F <sup>-</sup> )	0.5	0.95	1.9	19	190	950	1900	4750

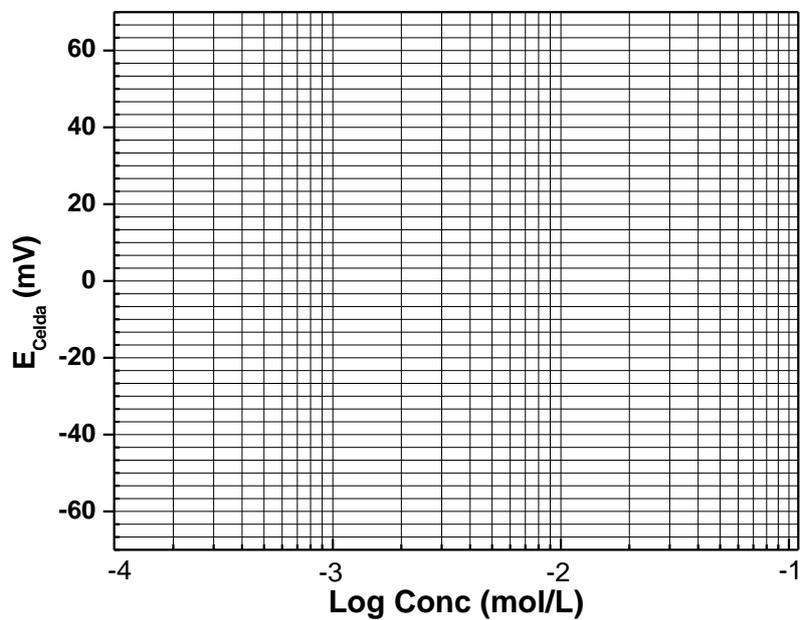
Abreviaturas: vp = pipeta volumétrica; ma = matraz aforado; mp = micropipeta

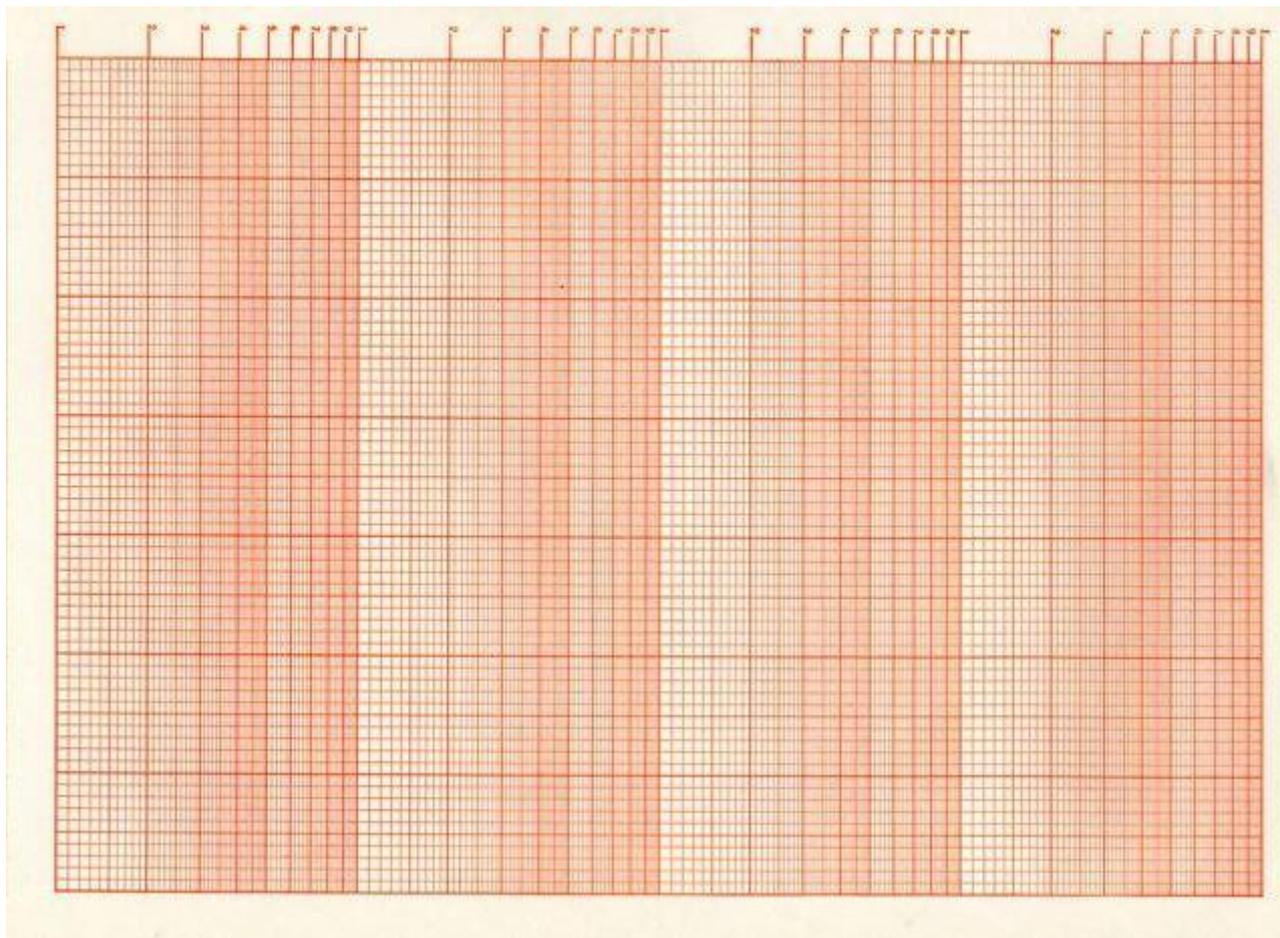
### Esquema para la medición del E de celda

Tubo	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7	Tubo 8
Calibrador o muestra [mL]	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
TISAB I [mL]	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Conc. Final [mol/L]	0.000025	0.00005	0.0001	0.001	0.010	0.050	0.100	0.250
Log Conc.								
$\Delta E_{celda}$ [mV]							-	-
$E_c$ Muestra [mV]	-	-	-	-	-	-		

Graficar en papel Semilog y también utilizar programas informáticos, por ej. Excel.

### Curva Calibración Fluoruro





**II) Discutir sobre las ventajas y limitaciones de la potenciometría directa.**

***Ventajas de un método potenciométrico***

- Rapidez para la determinación de un gran número muestras; ya que solo requiere de la etapa de calibración y generalmente, no se requiere de etapas previas de pretratamiento de la muestra, solo basta con el acondicionamiento con la apropiada TISAB.
- Relativamente económico y de fácil manipulación.
- Potencialmente automatizable para realizar monitoreos continuos.
- Puede determinar un amplio rango de concentraciones.
- Puede aplicarse para trabajo de laboratorio o de campo.
- Puede medir actividad o concentración de iones dependiendo del acondicionamiento que se le da a la muestra.
- Puede utilizarse para medir soluciones turbias o coloreadas.

***Limitaciones de un método potenciométrico***

- La variabilidad del potencial de unión líquida limita la exactitud y precisión (una fluctuación de  $\pm 1$  mV ocasiona una incertidumbre del 4% para un método que determine un ion monovalente y un 8% para un ion divalente).
- Si no se controla la Fuerza Iónica de manera que tenga un valor similar entre patrones y muestras, se genera fluctuaciones del potencial de unión líquida.
- La respuesta puede sufrir de derivas por recubrimiento de las membranas.
- Se puede cometer errores si la temperatura de los patrones difiere a la de las muestras.

## (II) DETERMINACIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO EN BLANQUEADOR PARA TELAS

### Titulación Potenciométrica

#### Actividades experimentales

**Muestra para el análisis:** blanqueador para telas constituido por una solución de ácido oxálico en una concentración rotulada de **12.5 g  $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$  / 100 mL**.

En el presente trabajo práctico se determinará la concentración de  $H_2C_2O_4$  en una solución de blanqueador para telas, mediante una titulación ácido base utilizando la detección potenciométrica para el punto final (“potenciometría indirecta”). Los límites de concentración aceptados para la solución no deben ser menores al **90.0%** y mayores al **110.0%**.

#### Procedimiento:

##### 1) **Etapas previas a la medición:** preparación de la muestra

Ajustar la concentración de la muestra a las condiciones de trabajo, preparando una dilución adecuada de la muestra, a partir de la cual se tomará una alícuota para su titulación. Para calcular la dilución a realizar y la alícuota a tomar, se debe tener en cuenta la concentración de la muestra informada por el fabricante, y que se dispone de una bureta de 10.00 mL y de una SPS de NaOH aproximadamente  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$ . (Datos:  $PF_{H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O} = 126.07$ ).

##### 2) **Etapas de medición determinativa**

- a- Cargar una bureta con la SPS de NaOH aprox.  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$  (de concentración exacta).
- b- Tomar una alícuota de la muestra diluida y colocarla en el vaso de precipitado de 100 mL.
- c- Colocar el vaso de precipitado sobre un agitador magnético y sumergir la barra magnética.
- d- Sumergir el electrodo combinado sensible a protones en el líquido contenido en el vaso de precipitado, previamente enjuagado con agua destilada. Cuidar que los elementos del sensor y la junta de unión líquida del electrodo de referencia estén totalmente sumergidos.
- e- Ajustar la agitación de manera tal que la lectura del potencial de celda en la escala de mV sea estable.
- f- Titular adicionando el titulante en volúmenes de 1-2 mL hasta llegar a 1 mL antes del punto de equivalencia estimado. En las cercanías del punto de equivalencia adicionar incrementos de volumen de 0.05 o 0.10 mL. Si se desconoce la concentración de la muestra, y por ende el volumen de equivalencia, se puede realizar una primera titulación

de exploración tentativa para determinarlo. Posteriormente, realizar el número de titulaciones necesarias.

- g- Registrar la lectura del potencial de celda para cada volumen adicionado y construir una tabla  $E_c$  vs. Volumen de titulante adicionado.

### 3) Etapa posterior a la medición determinativa

- Obtener el volumen del punto final (~ volumen de equivalencia) por el método de la segunda derivada.

Titulante (mL)	$E_{Celda}$ (mV)	$\Delta E / \Delta V$	$\Delta^2 E / \Delta V^2$
5.00	59	No	No
20.00	135	5	5
25.00	275	28	320
25.10	281	60	-200
25.20	285	40	6000
<b>25.30</b>	<b>349</b>	<b>640</b>	<b>6600</b>
<b>25.40</b>	<b>479</b>	<b>1300</b>	<b>-11500</b>
25.50	494	150	-200
25.60	507	130	-700
25.70	513	60	

De los valores tabulados se puede ver que la segunda derivada será igual a cero en algún punto entre 25.30 y 25.40 mL. Para el cálculo de los valores de la segunda derivada se hace la aproximación de que  $\Delta^2 E / \Delta V^2 = \delta^2 E / \delta V^2$ . El volumen de equivalencia resulta:

$$V_{equivalencia} = 25.30 + 0.10 \frac{6600}{6600 + 11500} = 25.34 \text{ mL}$$

- Calcular la concentración de  $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$  en la muestra según:

$$g\% (m/v) = \frac{V_{eq} N_{SPS}}{V_{alícuota}} \times P_{eq} \times \frac{1}{Dil} \times \frac{L}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL}$$

- Determinar el porcentaje de la dosis declarada en el rótulo:

$$\% \text{ Dosis rotulada} = \frac{\text{Concentración hallada}}{\text{Concentración rotulada}} \times 100$$

**Actividad complementaria:** Comparación de sistemas de visualización del punto final

Debido a que se trata de una titulación ácido base, la determinación del punto final se puede realizar utilizando un indicador colorimétrico conveniente. En este caso, debido a que durante el equilibrio entre la muestra y el titulante NaOH el salto de la curva de titulación ocurre entre los valores de pH 6.56 y 10.04, se puede seguir la titulación con el indicador rojo fenol.

**Procedimiento:**

**1) Etapa previa:** preparación de la muestra

Utilizar la misma solución preparada para la determinación potenciométrica.

**2) Etapa de medición determinativa**

- a- Cargar una bureta con la SPS de NaOH aprox.  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$  (de concentración exacta).
- b- Tomar una alícuota de muestra diluida y colocarla en un erlenmeyer.
- c- Titular adicionando el titulante en volúmenes de 1-2 mL hasta llegar a 1 mL antes del punto de equivalencia estimado. En las cercanías del punto de equivalencia adicionar incrementos de volumen menores. Si se desconoce la concentración de la muestra, y por ende el volumen de equivalencia, se puede realizar una primera titulación de exploración tentativa para determinarlo. Posteriormente, realizar el número de titulaciones necesarias.

**3) Etapa posterior a la medición**

- Obtener el volumen de punto final.
- Calcular la concentración de  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en la muestra según:

$$\text{g\% (m/v)} = \frac{V_{\text{eq}} N_{\text{SPS}}}{V_{\text{alícuota}}} \times P_{\text{eq}} \times \frac{1}{\text{Dil}} \times \frac{L}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL}$$

- Realizar la comparación de métodos.

Para realizar la comparación de métodos se deben tener en cuenta las siguientes suposiciones:

Dos muestras independientes (A y B) de distribución aproximadamente normal.

- Hipótesis:

- Nula:  $H_0: \mu = \mu_0$
- Alternativa:  $H_1$
- Dos colas:  $\mu \neq \mu_0$  y una cola:  $\mu > \mu_0$  y  $\mu < \mu_0$

En primera lugar, se debe comprobar el supuesto de igualdad de varianzas, por lo que se realiza una prueba  $F$  mediante:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad \text{siendo } s_1 > s_2$$

$$F_{(n_1-1), (n_2-1), \alpha}$$

Si existe igualdad de varianzas, posteriormente se calcula un valor de  $t$  según:

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{s_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

donde:

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_1^2 + (n_2 - 1) s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Se compara con un  $t$  de tablas:  $t_{(n_1+n_2-2), \alpha}$

Por otra parte, si **NO** existe igualdad de varianzas, el test  $t$  adopta la forma de:

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$$\text{grados de libertad} = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2}{n_1 + 1} + \frac{\left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{n_2 + 1}} - 2$$

Se compara con un  $t$  de tablas:  $t_{(\text{grados de libertad calculados}), \alpha}$

Luego de realizar la experimentación correspondiente, realizar la comparación entre métodos para extraer conclusiones acerca de si ambos métodos proporcionan valores similares o no, con una confianza del 95 %.

## TRABAJO PRÁCTICO Nº 9:

### Análisis de ácido salicílico en efluentes

1. Introducción	2
2. Objetivo	2
3. Metodología	2
3.1. <u>Características y propiedades del analito</u>	2
3.2. <u>Reacción de identificación cualitativa</u>	3
4. Actividades experimentales	3
4.1. <u>Evaluación de la presencia de AS</u>	3
4.2. <u>Preconcentración de AS en agua mediante extracción en fase sólida</u>	4
4.2.1. <u>Etapa I</u>	4
4.2.2. <u>Etapa II</u>	5
4.2.3. <u>Cálculo del factor de preconcentración</u>	6
4.3. <u>Preconcentración de AS mediante extracción líquido-líquido</u>	6
4.3.1. <u>Análisis de las condiciones experimentales: cálculos previos y definición del sistema</u>	6
4.3.2. <u>Etapa de preconcentración (Figura 6) e identificación</u>	7
4.3.3. <u>Cálculo del factor de preconcentración</u>	7
4.4. <u>Análisis de resultados</u>	8

## 1. INTRODUCCIÓN

El agua que ingresa a las plantas potabilizadoras puede contener una gran cantidad de contaminantes provenientes de la agroindustria y la actividad humana, tales como surfactantes, fármacos, productos de cuidado personal y aditivos de combustibles. Actualmente, el desconocimiento del efecto que la exposición crónica a estos productos podría generar sobre las personas genera gran preocupación en los organismos relacionados con la salud humana.

Generalmente es necesario someter una dada muestra a una etapa de preprocesamiento con el objetivo de caracterizarla en términos de su composición. La extracción es una de las técnicas más utilizadas con este fin, y consiste en el pasaje de un soluto de una fase a otra. Usualmente se emplea con el objetivo de separar el analito de la matriz o eliminar de la matriz componentes que podrían actuar como interferentes en un análisis posterior.

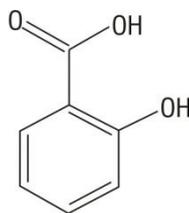
En algunos casos, debido a la baja concentración del analito de interés, al proceso de extracción puede asociarse un proceso de preconcentración. La preconcentración se aplica con el objetivo de incrementar la concentración del analito para alcanzar un nivel de concentración acorde al sistema de detección. La preconcentración de analitos ocurre cuando el volumen de elución es menor al volumen original de muestra analizado. El factor de preconcentración obtenido es la relación entre el volumen del eluido y el volumen original de la muestra.

La extracción en fase sólida (EFS) se basa en la partición de los compuestos entre una fase líquida (muestra) y una fase sólida (extractante o sorbente), gobernada por fuerzas intermoleculares entre ambas fases. Los compuestos a ser extraídos deben tener mayor afinidad por la fase sólida que por la matriz de la muestra. La retención puede involucrar fuerzas polares, no-polares, de intercambio iónico o interacciones de afinidad. El analito retenido es posteriormente eluido con un pequeño volumen de solvente de elución proporcionando extractos concentrados. La correcta elección del sorbente depende de la naturaleza del analito que se desea extraer y de las características de los componentes de la muestra.

Por otro lado, en un proceso de extracción líquido-líquido se utilizan dos solventes inmiscible entre sí, entre los que el soluto se distribuye siguiendo la ley de distribución de Nernst. Su distribución entre ambas fases estará en relación tanto a sus propiedades fisicoquímicas, como a las de la matriz de la muestra y el solvente. Para poder mejorar el proceso de extracción, considerando que una especie neutra (o sin carga) tiene mayor afinidad por el solvente orgánico y una especie cargada tiene mayor afinidad por la fase acuosa, se pueden adicionar reactivos auxiliares, como ligandos de metales, o se puede ajustar el pH de la fase acuosa.

El ácido salicílico (AS, Figura 1) es un principio activo clave utilizado en muchos productos farmacéuticos, lo que favorece su presencia en efluentes. Un efluente es un líquido residual que fluye de una instalación como, por ejemplo, un hospital, una industria o una planta de tratamiento.

Figura 1: Estructura del ácido salicílico.



## 2. OBJETIVO

Aplicar métodos de extracción y preconcentración (EFS y líquido-líquido) para determinar AS presente como contaminante en agua potable mediante una reacción colorimétrica.

## 3. METODOLOGÍA

### 3.1. Características y propiedades del analito

El AS es un ácido orgánico simple (ácido 2-hidroxibenzoico), producto metabólico de la aspirina. Se trata de un sólido incoloro que suele cristalizar en forma de agujas, tiene buena solubilidad en etanol y éter, posee

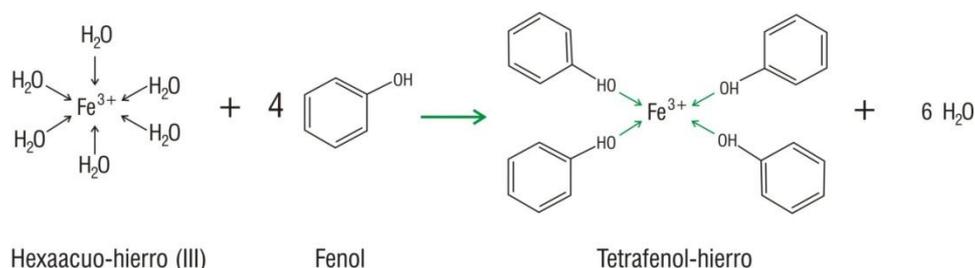
un peso fórmula de 138.12 g/mol y un pKa de 2.97.

3.2. Reacción de identificación cualitativa

Considerando que el AS contiene en su molécula un grupo fenol (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH), para su identificación se utilizará una reacción colorimétrica denominada prueba del cloruro férrico (FeCl<sub>3</sub>), que permite determinar la presencia o ausencia de fenoles en una muestra en particular.

La prueba del FeCl<sub>3</sub> se fundamenta en que los fenoles forman el complejo tetrafenol-hierro con el Fe (III), que es intensamente coloreado (Figura 2). Su coloración está relacionada con el pH de la muestra, siendo violeta a pH ácido. Para determinar la presencia del grupo fenol, se agregan unas gotas de solución diluida de FeCl<sub>3</sub> a la muestra incógnita disuelta en agua, o en una mezcla de agua y etanol. La formación de una coloración roja, azul o púrpura indica la presencia de fenoles.

Figura 2: Reacción entre el fenol y el FeCl<sub>3</sub>. Estructura del complejo tetrafenol-hierro.



4. ACTIVIDADES EXPERIMENTALES

4.1. Evaluación de la presencia de AS

Se evaluará la presencia de AS en dos muestras de agua (A y B) mediante una reacción colorimétrica cuyo límite de detección, determinado en nuestro laboratorio, es de 2.0 mg L<sup>-1</sup>. El procedimiento experimental se describe en la siguiente tabla y en la Figura 3:

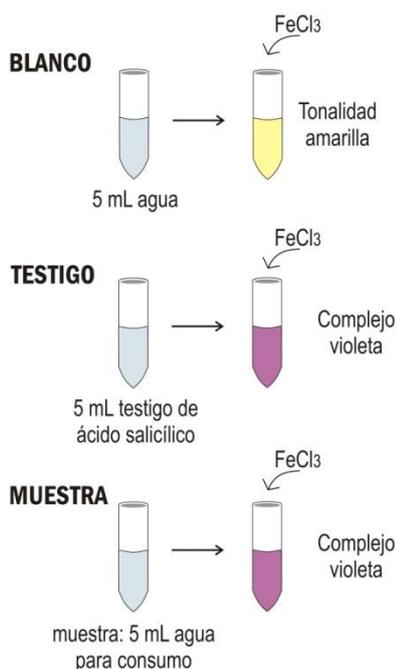
Tubo	Blanco	Testigo	Muestra A	Muestra B
Agua destilada	5 mL			
Testigo de AS (15 mg L <sup>-1</sup> )		5 mL		
Muestra A			5 mL	
Muestra B				5 mL
Reactivo FeCl <sub>3</sub>	3 gotas	3 gotas	3 gotas	3 gotas

Interpretación de resultados:

- ✓ Ensayo negativo: cuando la intensidad del color obtenido sea similar a la del ensayo blanco.
- ✓ Ensayo positivo: cuando la intensidad del color obtenido sea mayor a la del ensayo blanco y la coloración sea similar a la del testigo.

Un resultado negativo en la determinación de la presencia del grupo fenol por el método colorimétrico indica que el analito está ausente en la muestra o que la cantidad de analito presente es menor al límite de detección del método (2.0 mg L<sup>-1</sup>). Por lo tanto, las muestras que resulten negativas en la determinación colorimétrica directa se someterán a un paso de preconcentración.

Figura 3: Secuencia experimental de la reacción de identificación directa del grupo fenol.

**REACCIÓN de IDENTIFICACIÓN del grupo FENOL****4.2. Preconcentración de AS en agua mediante extracción en fase sólida**

Se analizará la factibilidad de uso de los siguientes cartuchos comerciales teniendo en cuenta el tipo de sorbente que contienen, la capacidad y el tipo de analito a investigar:

1. Oasis®MCX, 30  $\mu\text{m}$
2. Oasis®MAZ, 30  $\mu\text{m}$
3. Strata-X

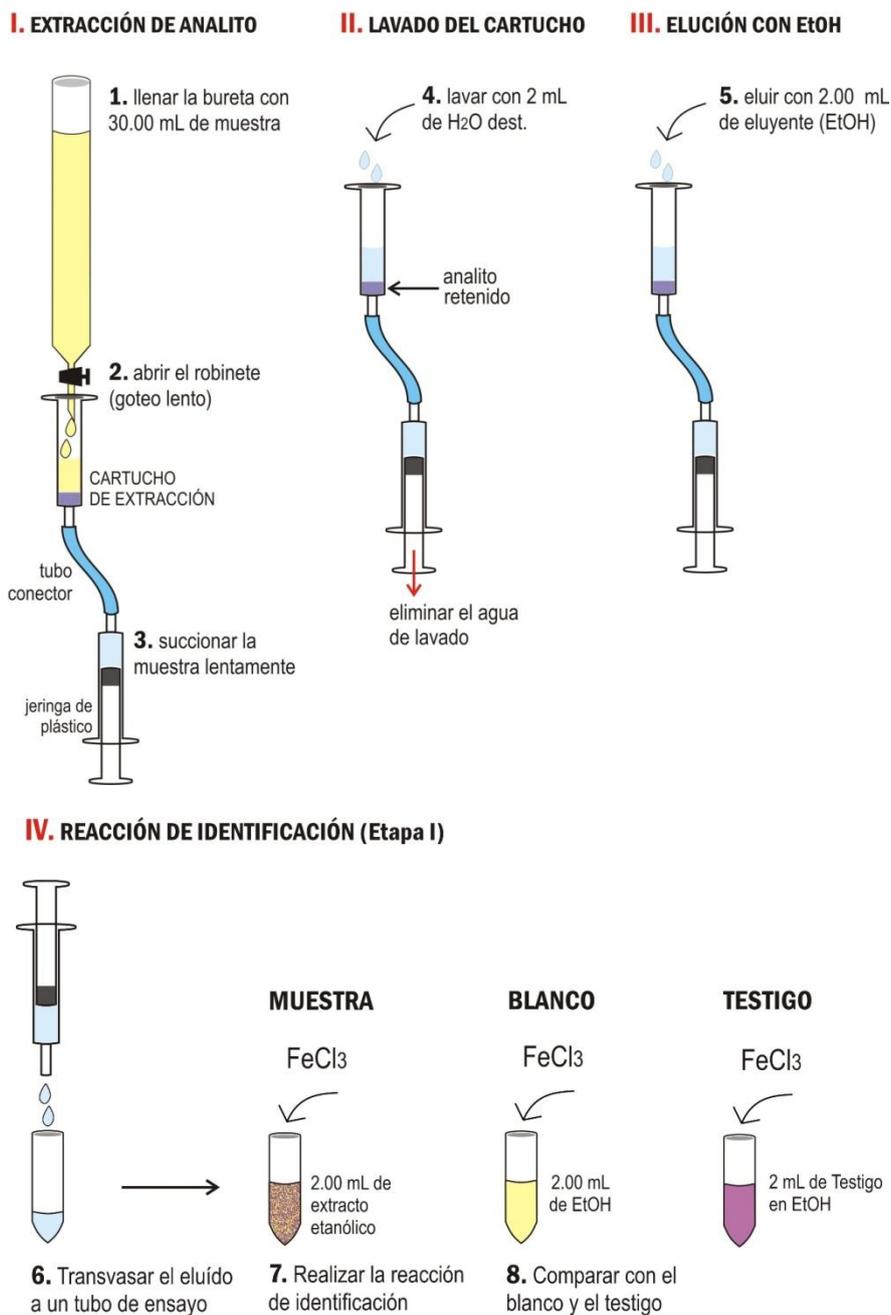
Se realizarán dos extracciones empleando alícuotas de 30.00 mL de muestra en cada una. Se evaluará la necesidad de acondicionar la muestra según el sorbente seleccionado. En la primera extracción se realizará la identificación del AS sobre el extracto etanólico, mientras que en la segunda extracción se evaporará el extracto etanólico y se resuspenderá el sólido extraído en agua, para luego realizar la identificación correspondiente.

**4.2.1. Etapa I (Figura 4)**

1. Acondicionamiento del cartucho: pasar por el cartucho 2 mL etanol ( $\text{EtOH}$ ).
2. Equilibrado: pasar por el cartucho 2 mL de agua destilada acidificada ( $\text{pH}=1.50$ ). Mediante solvatación se prepara al sorbente para que la interacción con los analitos sea reproducible.
3. Carga de muestra: pasar por el cartucho 30.00 mL de la muestra que resultó negativa en la identificación con  $\text{FeCl}_3$  (ver esquema). La velocidad de flujo debe ser lo suficientemente lenta como para favorecer la interacción del analito con el sorbente. Para evitar el taponamiento del relleno es necesario que la muestra esté limpia, sin partículas ni materiales en suspensión y libre de todo tipo de material interferente.
4. Lavado: pasar por el cartucho 2 mL de agua destilada acidificada ( $\text{pH}=1.50$ ) para eliminar los compuestos no deseados o retenidos débilmente.
5. Elución: colocar en la jeringa (que tiene retenido el AS) 2.00 mL de  $\text{EtOH}$  medidos con pipeta aforada. El  $\text{EtOH}$  rompe las interacciones entre el analito y el sorbente dejando retenidas las impurezas que no pudieron eliminarse en el paso de lavado.
6. Transvasar el eluido a un tubo de ensayo.
7. Realizar la reacción de identificación de AS agregando 3 gotas de  $\text{FeCl}_3$ .
8. Realizar la comparación de la coloración obtenida para la muestra, el testigo y el blanco, y extraer

conclusiones.

Figura 4: Etapa I



#### 4.2.2. Etapa II (Figura 5)

Repetir los pasos 1 al 5 del protocolo anterior y continuar con el paso siguiente:

9. Colocar el eluido en un frasco de vidrio
10. Realizar la evaporación del EtOH sobre una manta calefactora.
11. Resuspender el residuo con 2.00 mL de agua acidificada (pH=1.50) y transvasar a un tubo de ensayo.
12. Realizar la reacción de identificación de AS agregando 3 gotas de FeCl<sub>3</sub>.
13. Realizar la comparación de la coloración obtenida para la muestra, el testigo y el blanco, y extraer conclusiones.

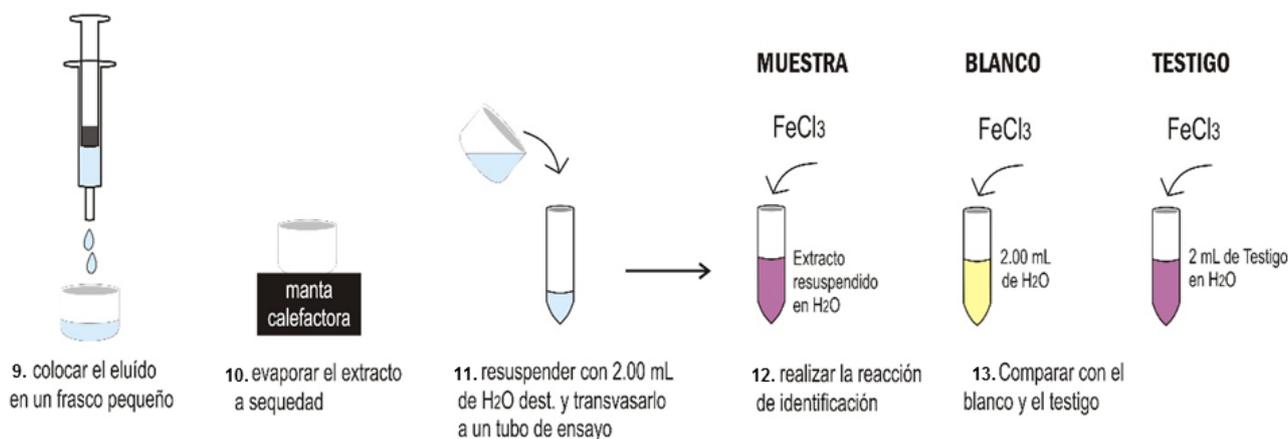
La solución testigo se preparará de la siguiente manera: colocar en un frasco de vidrio 2.00 mL de una

**solución testigo** conteniendo 30 mg L<sup>-1</sup> de AS disuelto en EtOH. Evaporar todo el contenido del frasco sobre una manta calefactora. Una vez terminada la evaporación, resuspender el residuo con 2.00 mL de agua destilada acidificada (pH=1.50) y adicionar 3 gotas de FeCl<sub>3</sub>.

La solución blanco se preparará de la siguiente manera: colocar en un frasco de vidrio 2.00 mL de **agua destilada acidificada** (pH=1.50) y adicionar 3 gotas de FeCl<sub>3</sub>.

Figura 5: Etapa II

**IV. REACCIÓN DE IDENTIFICACIÓN (Etapa II)**



4.2.3. Cálculo del factor de preconcentración

Obtener el factor de preconcentración teniendo en cuenta el volumen de muestra utilizado y el volumen de etanol utilizado en la etapa de elución según:

$$= \frac{\text{Volumen muestra}}{\text{Volumen eluido}}$$

4.3. Preconcentración de AS mediante extracción líquido-líquido

Se analizará la factibilidad de uso de los siguientes solventes, teniendo en cuenta la K<sub>D</sub> (constante de distribución), el pH de la muestra y el pKa del analito (2.97). Posteriormente se seleccionará el solvente de extracción y se definirán las condiciones de trabajo para realizar la extracción.

Solvente	Densidad	K <sub>D</sub>
Hexano	0.655	1.25
Tolueno	0.867	35.25
Cloroformo	1.49	63.33

4.3.1. Análisis de las condiciones experimentales: cálculos previos y definición del sistema

Se deberán considerar los siguientes requisitos:

- Volumen de muestra (V<sub>ac</sub>): 5.00 mL
- Número de extracciones (n): 1
- Volumen de solvente (V<sub>org</sub>): una vez seleccionado el solvente, se determinará el volumen a utilizar teniendo en cuenta que solo el 5% del analito puede permanecer en la fase acuosa al finalizar la extracción.

Entonces, para el cálculo del volumen de solvente considerar que, en fase acuosa, la relación entre los moles iniciales (x<sub>i</sub>) y los finales (x<sub>f</sub>) debe ser 0.05:

$$\frac{x_f}{x_i} = 0.05$$

Para el caso del cloroformo, el volumen de solvente que se necesita es:

$$x_f = x_i \left( \frac{V_{ac}}{K_D V_{org} + V_{ac}} \right)^n$$

$$\frac{x_f}{x_i} = \left( \frac{V_{ac}}{K_D V_{org} + V_{ac}} \right)^n$$

$$0.05 = \left( \frac{5.00 \text{ mL}}{63.33 \times V_{org} + 5.00 \text{ mL}} \right)^1$$

$$0.05 \times (63.33 \times V_{org} + 5.00 \text{ mL}) = 5.00 \text{ mL}$$

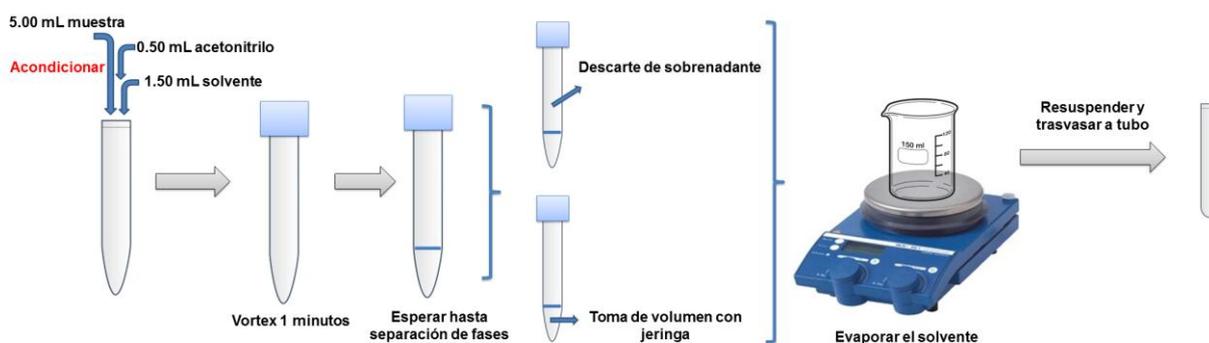
$$3.1665 \times V_{org} = 5.00 \text{ mL} - 0.25 \text{ mL}$$

$$V_{org} = 1.49 \text{ mL}$$

#### 4.3.2. Etapa de preconcentración (Figura 6) e identificación

1. Tomar 5.00 mL de solución muestra, trasvasarla a un tubo de centrifuga y de ser necesario acondicionarla.
2. Agregar el volumen calculado de solvente extractante y 500 µL de acetonitrilo para aumentar la superficie de contacto durante la extracción.
3. Agitar en vórtex durante 1 minuto.
4. Centrifugar o esperar hasta que la separación de fases sea completa.
5. Trasvasar la fase orgánica a un vaso de precipitado o frasco.
6. Evaporar sobre manta calefactora.
7. Resuspender en 300 µL de agua acidificada (pH=1.50).
8. Trasvasar a un tubo de Khan.
9. Realizar la reacción de identificación de AS agregando 3 gotas de FeCl<sub>3</sub>

**Figura 6:** Extracción líquido-líquido



#### 4.3.3. Cálculo del factor de preconcentración

Obtener el factor de preconcentración teniendo en cuenta el volumen de muestra utilizado y el volumen de agua acidificada utilizada durante la resuspensión según:

$$= \frac{\text{Volumen muestra}}{\text{Volumen eluido}}$$

*4.4. Análisis de resultados*

Evaluar las ventajas y desventajas de los métodos utilizados, y compararlos teniendo en cuenta volúmenes de muestra y solventes empleados, tiempos de análisis, toxicidad de reactivos, etc.

## INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS CUALITATIVO

### REACCIÓN QUÍMICA PARA EL ANÁLISIS CUALITATIVO

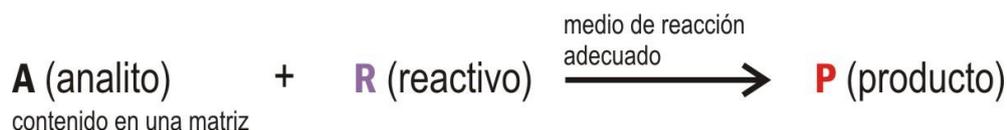
#### 1. OBJETIVOS

1. Conocer las propiedades analíticas de una **reacción de identificación**
2. Conocer la clasificación de **reactivos** para el análisis cualitativo
3. Aplicar y comprender la diferencia entre Ensayo **Blanco**, Ensayo **Testigo** y Ensayo **controles**
4. Comprender los conceptos de **Sensibilidad y Selectividad** de una reacción de identificación y discutir alternativas para optimizarlas.
5. Determinar experimentalmente los **Límites de identificación** y **Concentración límite** de una reacción de reconocimiento
6. Tener presente la existencia de **interferencias** en una reacción de reconocimiento y evaluar distintas alternativas técnicas para su **eliminación**
7. Conocer y aplicar el concepto de **ensayo límite** para el Control de Calidad de agua de laboratorio

#### 2. INTRODUCCIÓN

La Química Analítica se divide en **Cualitativa** y **Cuantitativa**. La primera tiene por objeto el reconocimiento o identificación de los elementos o de los grupos químicos presentes en una muestra, es decir, hay o no hay, existe o no existe y de esta manera obtenemos una **respuesta positiva o negativa**. En ensayos cuantitativos queremos determinar la cantidad del analito que estamos buscando y sus posibles relaciones químicas e incluso estructurales.

La Química Analítica Cualitativa estudia los medios para poder **detectar o identificar** los componentes químicos de una muestra y para ello se basa en **reacciones químicas**. Estas reacciones químicas originan fenómenos fácilmente observables que, de alguna manera se relacionan con la sustancia que se analiza.



Existen determinados requisitos que debe satisfacer una reacción analítica para que pueda ser empleada en el análisis cualitativo.

**Observable:** que existan cambios físicos notorios (color, olor, precipitación, etc.) que nos ayuden a deducir la presencia de la sustancia en estudio.

**Sensible:** expresa la cantidad o concentración mínima de una sustancia que se puede identificar con una determinada reacción analítica.

**Selectiva:** se refiere a la capacidad del método para medir un analito en particular en presencia de interferencias de otros componentes de similar característica (IUPAC Recommendations 2001). En la bibliografía se puede encontrar indistintamente (como sinónimos) el uso del término **selectivo** y **específico**. En las reacciones químicas el término "específico" hace referencia a una reacción que ocurre sólo con la sustancia de interés; lo cual es un concepto bastante absoluto, que en la práctica es poco probable que suceda. La IUPAC recomienda el uso del término **SELECTIVIDAD** en lugar de especificidad. **Otros requisitos:** reproducible/repetible (que presente baja desviación estándar en ensayos repetidos) y segura (**fiabilidad**).

## **Reactivo químico**

Sustancia o agente que provoca un cambio en las propiedades de las sustancias objeto de análisis, al reaccionar químicamente. Los cambios que podemos observar son la aparición de un precipitado, el desprendimiento de gas, un cambio de color o su desaparición, o cualquier otro fenómeno o transformación suficientemente rápido y perceptible.

Los reactivos químicos se clasifican en:

**a- Reactivos Generales:** comunes a varias especies químicas y se emplean para separaciones en grupos iónicos.

**b- Reactivos Especiales:** actúan sobre pocas especies químicas y se emplean para ensayos de identificación y reconocimiento. Los reactivos pueden presentar un grado de "selectividad" en relación a la cantidad de especies que son capaces de identificar. Un reactivo es selectivo cuando tiene un grado de preferencia con algunas especies a determinar.

## **Tipos de ensayos en el análisis cualitativo**

Para poder inferir sobre la presencia o ausencia del analito en una muestra son necesarios los siguientes ensayos: ensayo en blanco, ensayo testigo, ensayo de la muestra y ensayo control para las muestras negativas.

**1. Ensayo Blanco:** Contiene todo lo necesario para que suceda la reacción de identificación (reactivos), pero se reemplaza la muestra por una solución similar a su matriz y que no contenga el analito. El objetivo es evaluar si los reactivos presentan algún tipo de reacción visible, como señal de fondo (color, precipitado, etc.). Además permite evaluar si los reactivos están contaminados con el analito que se investiga o con algún otro tipo de sustancia o interferencia que pueda dar positiva la reacción.

**2. Ensayo testigo:** Contiene una solución estándar del analito y los reactivos. Permite verificar la reacción correcta positiva.

**3. Ensayo muestra:** Contiene un volumen determinado de muestra y los reactivos. Evalúa la presencia o ausencia del analito mediante comparación con el ensayo testigo. Una muestra que contiene analito será **positiva** y dará como resultado la misma reacción observable que el testigo. Pero en una muestra que sea **negativa** no significa necesariamente que no exista analito en la muestra, ya que puede contener una cantidad menor a la concentración límite de la reacción.

**4. Ensayo Control:** Consiste en adicionar una cantidad de testigo a un ensayo de muestra que dio negativo (contiene testigo + muestra negativa + reactivos). Este ensayo evalúa la presencia de sustancias en la muestra que puedan interferir en la reacción de identificación. La presencia de testigo garantiza la reacción positiva. Si existiera una interferencia en la muestra, el resultado del ensayo será negativo.

### Sensibilidad y Selectividad

Una reacción analítica está caracterizada en cuanto a su calidad por dos conceptos fundamentales: la **sensibilidad** y la **selectividad**. La sensibilidad hace referencia a la cantidad o concentración mínima de especie química detectable en un ensayo; la selectividad se relaciona con la presencia de interferencias de especies químicas en la detección de otras.

La sensibilidad expresa la cantidad o concentración mínima de una sustancia que se puede identificar con una determinada reacción. Se puede cuantificar mediante dos parámetros: Límite de identificación y Concentración límite.

El **Límite de Identificación (LI)** es la mínima *cantidad de sustancia* expresada en microgramos ( $\mu\text{g}=10^{-6}\text{g}$ ), que es capaz de detectarse en el ensayo y se expresa por:  $X / S$  donde  $X$  corresponde a los  $\mu\text{g}$  de sustancia detectados y  $S$  es una letra que corresponde al soporte utilizado siendo: Placa de toque (**A**), Papel de filtro (**B**), Microtubo (**C**), Macrotubo (**D**) y Bajo microscopio (**M**).

La **Concentración límite o Dilución límite: ( $D_L$ )** es la mínima *concentración* de una sustancia expresada en gramos por unidad de volumen (mL) a la cual un ensayo resulta aún positivo. Podemos decir entonces que:

$$D_L = \frac{LI (\mu\text{g})}{V (\text{mL})} 10^{-6} (\text{g} / \mu\text{g})$$

donde:  $V$  es el volumen empleado según el soporte (expresado en mL). Los volúmenes utilizados según cada soporte son: Microtubo (1 mL), Placa de toque (0.03 mL - 0.05 mL), Macrotubo (5 mL) y Papel de filtro (0.3 mL). "**Tanto la concentración límite, como el límite de identificación deben informarse especificando el soporte en el cual fueron determinados**".

En general  $D_L$  puede expresarse también como **pDL** donde **pDL = - log  $D_L$** .

La nomenclatura que se usa es **X (S)** y donde  $X$  y  $S$  tienen igual significado que antes, e  $y$  es el volumen del soporte en mL.

Las reacciones se clasifican en función a su **sensibilidad** en: muy sensibles ( $pD_L > 5$ ), sensibles ( $pD_L = 4 - 5$ ) y poco sensibles ( $pD_L < 4$ ).

### Interferencias

En muchas muestras, sobre todas muestras biológicas o complejas, el analito a investigar no se encuentra sólo, sino que está acompañado de numerosos compuestos, no necesariamente conocidos. Estas sustancias pueden actuar como **interferencias** en la reacción analítica.

El término interferencia analítica es usado para indicar "el efecto de una sustancia sobre algún paso en la determinación de un analito". El analito es el componente que se intenta medir en una muestra; la interferencia es un componente de la muestra, distinto al analito, que altera el resultado final de la identificación.

Las interferencias se clasifican en:

**Interferencia Positiva:** la sustancia extraña que acompaña a la que se investiga, produce una reacción cuyos resultados son similares a los producidos por el analito que se investiga.

**Interferencia Negativa:** Son sustancias que reaccionan con el analito o el reactivo de reconocimiento retrasando o inhibiendo la reacción de identificación.

**Interferencia de Enmascaramiento:** se refiere a aquellas sustancias que, estando presentes en la solución enmascaran la reacción, impidiendo en forma inequívoca la visualización de la respuesta. Esto puede ser debido a que reaccionan con el mismo reactivo que la sustancia de interés produciendo precipitados o productos coloreados que impiden ver la respuesta del analito.

Las interferencias son una de las mayores causas de errores analíticos ya que muy pocos métodos pueden ser considerados libres de todo tipo de interferencias. Por este motivo es necesario eliminarlas de la matriz de la muestra. El proceso de eliminación puede llevarse a cabo de dos maneras:

**Químicamente:** Usando agentes enmascarantes (sustancia que reacciona con el interferente para formar una especie que no produce la misma señal del analito). Se consigue mediante un cambio en el estado de oxidación, formación de complejos y un ajuste de pH (sin llegar a la precipitación).

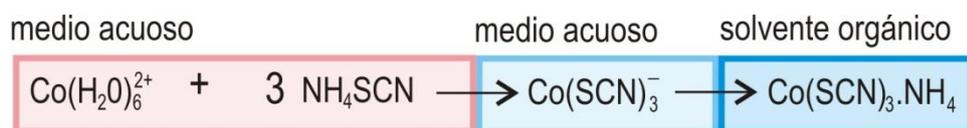
**Físicamente:** separándolas antes de la determinación, empleando metodologías como precipitación fraccionada, extracción, cromatografía, destilación, etc. En la actualidad se emplean metodologías basadas en extracciones en fase líquida y sólida, como extracción en fase sólida, microextracción en fase sólida (discos, cartuchos, dispersión de partículas), microextracción líquido-líquido, etc.

## EXPERIMENTAL (I)

**Determinar la presencia del ión cobalto en tres muestras incógnitas, mediante una reacción de reconocimiento o identificación de dicho catión.**

**Reacción de identificación o reconocimiento del cobalto:**

**El catión  $\text{Co}^{2+}$  en medio acuoso da soluciones de color rosada debido a la presencia de  $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ , que con el tiocianato de amonio produce un color azul intenso debido a la formación de complejos de coordinación, fundamentalmente de las especies  $\text{NH}_4\text{Co}(\text{SCN})_3$ . Estos complejos pueden ser extraídos en acetato de etilo, aumentando la sensibilidad. Mediante esta reacción se estudiarán distintos conceptos en relación a una Reacción de Identificación.**



El acetato de etilo es un solvente orgánico que tiene menor densidad que el agua y por lo tanto forma una capa orgánica en la parte superior. En dicha capa se forma el par iónico  $\text{NH}_4^+\text{Co}(\text{SCN})_3^-$  y coloreará la misma de azul, si es que en la muestra hay  $\text{Co}^{2+}$  en cantidad detectable por este ensayo.

**Reactivos a emplear:**  $\text{NH}_4\text{SCN}$  0.5 mol/L, Solución testigo de  $\text{Co}(\text{SO}_4)$  0.05 mol/L, Solvente acetato de etilo. **Datos:** L.I.: 0.5  $\mu\text{g}$  de  $\text{Co}^{2+}$  en placa de toque;  $D_L$ : 1/100.000;  $pD_L = 5$ .

El procedimiento se resume en la tabla siguiente:

**Tabla experimental 1**

Tubo	Ensayo	Agua destilada	Testigo de $\text{Co}^{2+}$	Muestra	Reactivo: $\text{NH}_4\text{SCN}$	Acetato de etilo	Resultado esperado
1	Blanco	0.5 mL	-		0.5 mL	1 mL	
2	Testigo	-	0.5 mL		0.5 mL	1 mL	
3	Muestra A			0.5 mL	0.5 mL	1 mL	
4	Muestra B			0.5 mL	0.5 mL	1 mL	
5	Muestra C			0.5 mL	0.5 mL	1 mL	
6	Muestra D			0.5 mL	0.5 mL	1 mL	
7	Control		0.5 mL	0.5 mL (muestra negativa)	0.5 mL	1 mL	

#### Ensayo control:

El agregado de testigo asegura la presencia de Co, por lo que si no hay ninguna sustancia que interfiera, debería verse la capa orgánica azul, y la acuosa rosada. Si, en cambio, alguna sustancia interfiere se observará un resultado diferente al esperado (reacción retardada, inhibida o enmascarada). En este caso puede optarse por tratar de eliminar dicha interferencia por algún método, o bien intentar detectar Co utilizando otra metodología.

#### Factores que afectan la Reacción de Identificación

**1.** Condiciones del medio: si el medio acuoso es extremadamente ácido se formará el ácido tiocianico ( $\text{HSCN}$ ) quedando la especie  $\text{SCN}^-$  poco disponible para formar el complejo  $\text{Co}(\text{SCN})_3^-$ .

**2.** La presencia de complejantes del ión cobalto como el EDTA, evitan que el analito reaccione con el reactivo, debido a la formación del complejo  $\text{Co}(\text{EDTA})$  más estable que el  $\text{Co}(\text{SCN})_3^-$ . Una alternativa para lograr la eliminación del EDTA podría ser la adición de un catión que forme un complejo más estable con dicho anión de manera que libere al catión cobalto.

**3.** Presencia de agentes enmascarantes de la reacción de identificación (por ejemplo cationes que forman complejos tiocianatos aniónicos como  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Bi}^{3+}$ ,  $\text{V}^{4+}$ ,  $\text{Ti}^{4+}$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ , entre otros).

El  $\text{Fe}^{3+}$  reacciona con el reactivo  $\text{SCN}^-$  produciendo complejos de color rojo intenso. Dependiendo de la concentración de  $\text{SCN}^-$  pueden formarse complejos desde el  $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$  hasta el  $\text{Fe}(\text{SCN})_6^{3-}$ . El color rojo intenso formado no permite ver el resultado de la reacción de identificación del  $\text{Co}^{2+}$ .

Una de las alternativas para eliminar la interferencia del  $\text{Fe}^{3+}$  es cambiar su estado de oxidación. Al adicionar ácido ascórbico a la muestra, éste se oxida reduciendo el hierro de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , así vuelve a formarse el color azul del complejo entre el  $\text{Co}^{2+}$  y el tiocianato, eliminándose la interferencia.



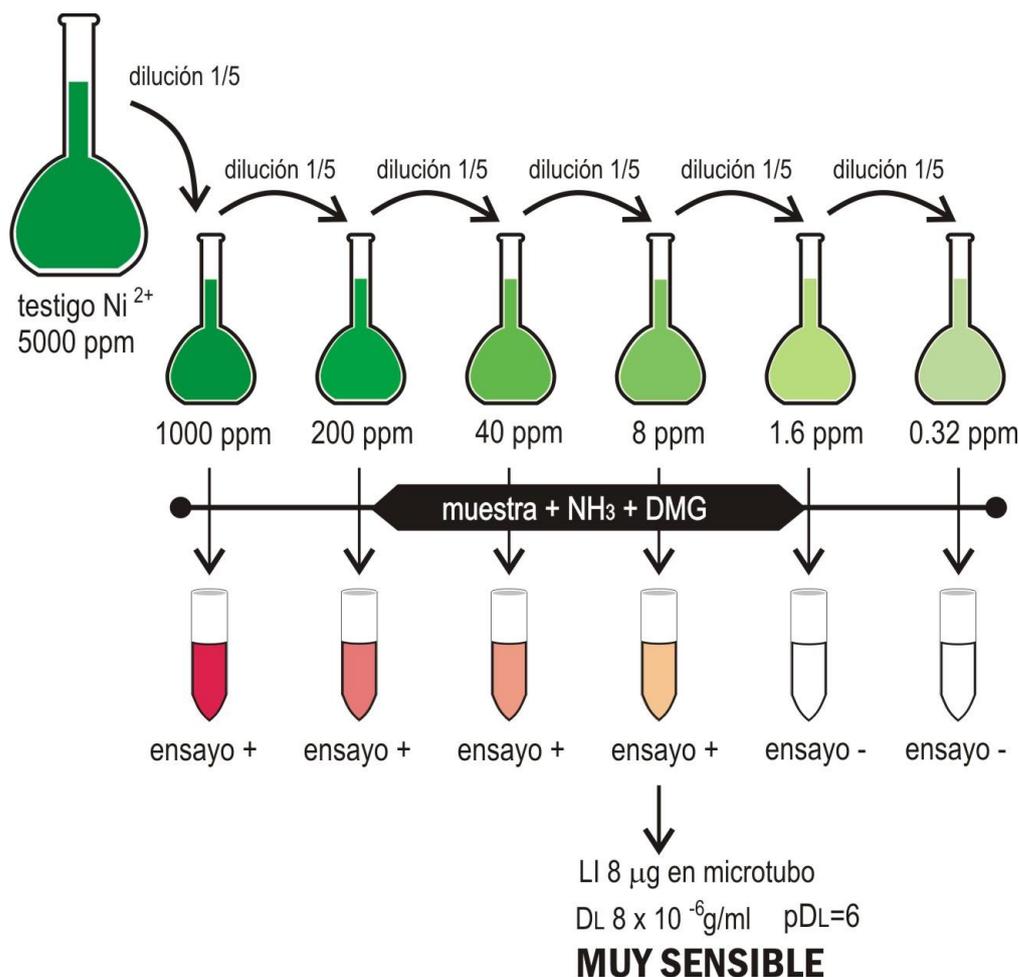
### EXPERIMENTAL (III)

#### Determinación de la sensibilidad de una reacción en distintos soportes.

La determinación de la **Concentración límite** y del **Límite de Identificación** se realizan ensayando una reacción de identificación o de reconocimiento de un determinado analito por medio de un reactivo que puede ser específico o no. Para ello se parte de una solución de concentración conocida de la sustancia que se investiga a la que se le realizan sucesivas diluciones. De cada dilución se toma una alícuota, determinada por el soporte sobre el cual se realizará el ensayo (tubos de hemólisis, tubos de ensayo, placas de toque, papel de filtro o microscopio) y se realiza la reacción de identificación del analito.

#### Metodología experimental

Se dispondrá de una solución de  $Ni^{2+}$  de concentración perfectamente conocida (5000 ppm) a la que se le realizarán **6** diluciones **1/5** con material volumétrico exacto, y luego, a cada dilución se le realizará la reacción de identificación de  $Ni^{2+}$  con la dimetilglioxima (**DMG**), reactivo orgánico que en presencia de  $NH_3$  reacciona específicamente con el  $Ni^{2+}$ , dando un precipitado característico por su color rojo intenso, que permite visualizar la señal analítica a muy bajas concentraciones de  $Ni^{2+}$ . En el siguiente esquema se muestra un ejemplo con la metodología experimental.

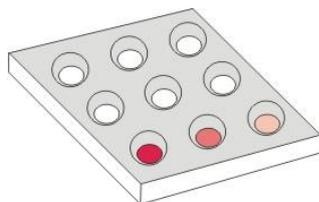


**1. Ensayo en tubo de hemólisis o microtubo:**

Colocar en seis tubos de hemólisis 1 mL de la serie de diluciones de la solución de  $Ni^{2+}$ . Añadir a cada tubo **2 gotas** de  $NH_3$  3 eq/L y **5 gotas** de **DMG** 1 %. Esperar de 2 a 5 minutos, observar los resultados y tabular.

**2. Ensayo en placa de toque:**

Colocar en cada una de las cavidades (numeradas al costado) de la placa de toque 0.05 mL de la serie de diluciones de la solución de  $Ni^{2+}$ . Añadir a cada cavidad **1 gota** de  $NH_3$  3 eq/L y **1 gota** de **DMG** 1 %, mezclar moviendo cuidadosamente la placa, esperar de 2 a 5 minutos, observar los resultados y tabularlos.



**3. Calcular:** el Límite de Identificación (LI) y la Concentración límite ( $D_L$ ).

**INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS CUALITATIVO**  
**ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL AGUA**

**AGUA GRADO REACTIVO - AGUA DE LABORATORIO**

- 1. Primera materia prima:** El agua por ser la primera materia prima del laboratorio bioquímico y biotecnológico precisa de una fiscalización constante en un programa de control de calidad específico.
- 2. Usos:** Los principales usos del agua de alta pureza en el laboratorio de bioquímica y de biotecnología, que mantenga sus propiedades constantemente, son los siguientes: preparación de reactivos y soluciones reguladoras, procedimientos analíticos (HPLC y A. Atómica por ej.), preparación patrones analíticos de cultivos celulares, de medios bacteriológicos, etc.
- 3. Normas de calidad:** Existen entidades que fijan los *límites de impurezas* para el agua de laboratorio establecidos como **límites máximos**. En la siguiente tabla se especifican los parámetros usualmente medidos con sus valores máximos permitidos en base a las normas y calidad de agua deseada.

**Abreviaturas incluidas en la tabla:**

**ASTM** American Society for Testing and Materials

**ACS** American Chemical Society para los Laboratorios generales.

**NCCLS** National Committee for Clinical Laboratory Standards

**CAP** College of American Pathologists (Laboratorios de Análisis Clínicos)

**USP** United States Pharmacopoeia

Los números romanos I, II, III y IV, en la siguiente tabla, hacen referencia a distintas calidades de agua destinadas a usos diferenciales.

Parámetro	ACS≈CAP	CAP/NCCLS			ASTM			
	II	I	II	III	I	II	III	IV
CO <sub>2</sub> (mg/L)	-	3	3	3	-	-	-	-
pH	-	6.0	6.0	6.0	-	-	6.2	5.0
	-	7.0	7.0	7.0	-	-	7.5	8.0
Dureza	-	-	-	-	-	-	-	-
Sodio (mg/L)	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-
Amoníaco (mg/L)	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-
Silicatos (mg/L)	0.01	0.01	0.01	0.01	-	-	-	-
Metales pesados (mg/L)	0.01	0.01	0.01	0.01	-	-	-	-
Materias totales (mg/L)	-	-	-	-	0.1	0.1	1.0	2.0
Reducción al								
Permanganato (en min)	60	60	60	60	60	60	10	10
Bacterias (UFC/mL)	-	10	3	3	*	*	*	-
Conductividad (μS/cm)	2.0	0.1	2.0	5.0	0.06	1.0	1.0	5.0
Resistividad (MΩ x cm)	0.5	10	0.5	0.2	16.66	1.0	1.0	0.2

\* significa Tipo A = 0; Tipo B < 10; Tipo C < 100

#### 4. Pureza del agua de laboratorio

La pureza del agua ha sido definida de muy diversas maneras, pero un concepto de apreciable valor para esta definición, indica que **agua de alta pureza** es aquella que ha sido destilada o desionizada, de modo que su **resistividad** es de **500 000 Ω** (o **2.0 μΩ/cm** de conductividad) o más alta.

Grado de pureza	Conductividad máxima (μ S)	Concentración de electrolitos aprox. (mg/L)
Pura	10	2-5
Muy pura	1	0.2-0.5
Ultra pura	0.1	0.01-0.02
Teóricamente pura	0.055 ≅ 18.2 MΩ de resistividad	0.00

**5. Contaminantes que puede tener el agua y que es necesario eliminar para obtener el agua de laboratorio:**

- MATERIAL INORGANICO DISUELTO: Bicarbonato; Calcio; Carbonatos; Cloruros; Magnesio; Metales pesados; Aluminio; Cobre; Hierro; Manganeso; Cadmio; Mercurio; Silicio; Sodio; Potasio; Sulfato.
- GASES IONIZADOS DISUELTOS.
- MATERIAL ORGANICO DISUELTO.
- MICROORGANISMOS

**6. Métodos de obtención del agua grado reactivo:**

Aún cuando algunos métodos de purificación de agua son especialmente efectivos para eliminar un tipo de impureza, no es posible contar con ninguno que los elimine todos al nivel requerido para aplicaciones críticas. Es necesario utilizar una **combinación de tecnologías**. Cada uno de los seis principales métodos de purificación de agua tienen sus ventajas y desventajas. Para obtener agua tipo I, II y III (según el CAP y NCCLS) se pueden citar los siguientes métodos: **a)** Destilación **b)** Intercambio Iónico **c)** Osmosis inversa **d)** Filtración: Ultrafiltración. Microfiltración **e)** Adsorción **f)** Combinación de diversas tecnologías: ósmosis inversa, ultrafiltración, etc.

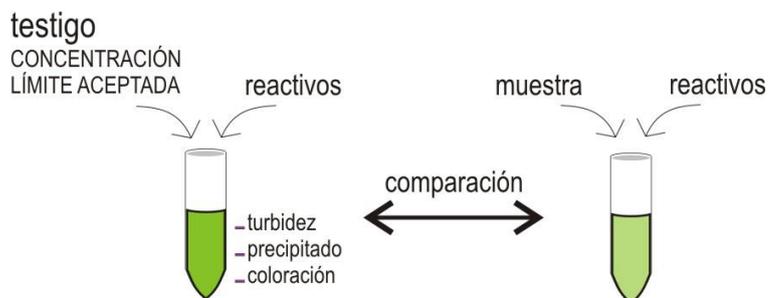
**EXPERIMENTAL (IV)**

**CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PARA LABORATORIO**

Se aplicarán **ensayos límites** para determinar la presencia o ausencia de determinados iones en una muestra de agua.

En un ensayo límite se aplica la reacción de identificación del analito que se desea determinar a dos tubos: un tubo denominado **testigo** que contiene una solución estándar o patrón del analito a una concentración correspondiente a la máxima permitida (ciertos autores a esta concentración la denominan Limite Umbral). Y el otro tubo contendrá la **muestra**. Las señales visuales de ambos tubos se comparan. Para que una muestra cumpla con un ensayo límite su señal debe ser menor en intensidad que la del testigo.

**ENSAYO LÍMITE**



Las determinaciones siguientes han sido extraídas de la **Farmacopea USP 25**

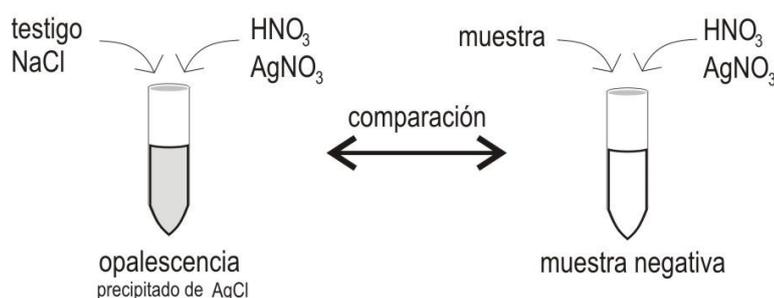
- **pH:** debe estar entre 5.0 y 7.0. Se determina potenciométricamente en una solución preparada por adición de 0.3 mL de solución saturada de KCl a 100 mL de agua.

- **Cloruros:**

*Testigo:* adicionar a 5.0 mL de solución de NaCl 9.5 ppm, 2 gotas de ácido nítrico 2 mol/L y 1.0 mL de AgNO<sub>3</sub> 0.2 mol/L. El anión Cl<sup>-</sup> con el catión Ag<sup>+</sup> en medio ácido forman el precipitado AgCl de color blanco.

*Muestra:* adicionar a 5.0 mL de muestra 2 gotas de ácido nítrico 2 mol/L y 1.0 mL de AgNO<sub>3</sub> 0.2 mol/L. Si se produce opalescencia, su intensidad debe ser menor que la del testigo.

**ENSAYO LÍMITE para cloruro**



- **Sulfatos:**

*Testigo:* adicionar a 5.0 mL de solución de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 338.0 ppm, 0.1 mL de BaCl<sub>2</sub> 12 g% (p/v). El anión SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> con el catión Ba<sup>2+</sup> forman el precipitado BaSO<sub>4</sub> de color blanco.

*Muestra:* adicionar a 5.0 mL de muestra 0.1 mL de BaCl<sub>2</sub> 12 g% (p/v). Si se produce turbidez, su intensidad debe ser menor que la del testigo.

- **Amonio**

*Testigo:* adicionar a 5.0 mL de solución de NH<sub>4</sub>Cl 6.0 ppm, 1.0 mL de reactivo de Nessler. El amoníaco liberado de la reacción produce con el reactivo una coloración amarilla, amarilla naranja, amarilla parda o un precipitado de color amarillo naranja o rojo pardo, según la cantidad de amoníaco desprendida. En este caso se observará una coloración amarilla intensa.

*Muestra:* adicionar a 5.0 mL de agua 1.0 mL de reactivo de Nessler. El color amarillo que se produzca en forma inmediata no debe ser más oscuro que el del control que se realizó con el testigo.

- **Calcio:**

*Testigo:* adicionar a 5.0 mL de CaCl<sub>2</sub> 835.4 ppm, 2.0 mL de NH<sub>4</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 3.5 g% (p/v). El anión C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup> con el catión Ca<sup>2+</sup> forman el precipitado CaC<sub>2</sub>O<sub>4</sub> de color blanco.

*Muestra:* adicionar a 5.0 mL de muestra 2.0 mL de NH<sub>4</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 3.5 g% (p/v). La solución debe permanecer clara.

- **CO<sub>2</sub>:** adicionar a 10.0 mL de muestra 2.5 mL de Ca(OH)<sub>2</sub> 0.3 g% (p/v). La mezcla debe permanecer clara.

- **Metales pesados:** ajustar el pH de la muestra de agua a 3 ó 4 con ácido acético 1eq/L y

adicionar 10 mL de H<sub>2</sub>S recién preparado. Dejar reposar 10 minutos. El color del líquido cuando se observa sobre una superficie blanca no debe ser más oscuro que el de la mezcla formada por 50 mL de la misma agua con la misma cantidad de ácido acético 1 eq/L.

- **Sustancias oxidables:**

*Testigo:* adicionar a 5.0 mL de Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 673.0 ppm, 0.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4 eq/L y calentar. Agregar 1 gota de KMnO<sub>4</sub> 0.05 eq/L y mantener en calentamiento suave de 5 a 10 minutos. *El C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup> reduce al KMnO<sub>4</sub> decolorando la solución rosada en medio sulfúrico y en caliente.*

*Muestra:* adicionar a 5.0 mL de muestra, 0.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4 eq/L y calentar. Agregar 1 gota de KMnO<sub>4</sub> 0.05 eq/L y mantener en calentamiento suave de 5 a 10 minutos. *El color rosado no debe desaparecer completamente.*

- **Conductividad:** calibrar el conductímetro con solución patrón de KCl como fue explicado y realizado. Enjuagar la celda varias veces con agua destilada. Medir la conductividad.
- **Sólidos totales:** por evaporación cuidadosa en una cápsula de un volumen determinado de agua (ej. 100.00 mL) y secado en estufa a 105°C.

## **INFORME DE RESULTADO**

Para que la **muestra de agua** analizada sea aceptada debe cumplir **con cada uno** de los ensayos especificados en la norma que se desea cumplir (en este caso **Farmacopea USP 25**)

## **CUIDADOS A TENER EN EL LABORATORIO**

En este TP se usarán muchos reactivos, y si en el laboratorio trabajan muchas personas, la siguiente es una norma que obligatoriamente se respetará:

- ♦ NO PONER en un reactivo una pipeta que haya sido usada en otro, de esta manera no se contaminará; por eso,
- ♦ la pipeta de cada reactivo se dejará siempre a la DERECHA del mismo y su botella NO SE CAMBIARÁ nunca de lugar
- ♦ Ante cualquier duda sobre si una pipeta pertenece o no a un determinado reactivo, DEBE REEMPLAZARSE por otra.

## ANEXO II

### Manejo de residuos químicos producidos en el Trabajo Práctico

Residuos generados	Tratamiento
Solvente orgánico no halogenado (acetato de etilo)	Recolectar con una pipeta pasteur la fase orgánica de cada tubo de hemólisis empleado en las reacciones de identificación de Co y desecharlos en el bidón rotulado "solventes orgánicos no halogenados"
Metal pesado (cobalto y níquel)	La fase acuosa resultante de las reacciones de identificación de Co, junto con todos los desechos que contengan níquel (matraces y tubos de hemólisis) desecharlos en el bidón rotulado "Metales pesados".
Soluciones acuosas diluidas de: Ácidos Fuertes ( $\text{HNO}_3$ ) y Sales ( $\text{NaCl}$ , $\text{AgNO}_3$ , $\text{NaSO}_4$ , $\text{BaCl}_2$ )	Recolectar los residuos de los tubos de ensayos en un recipiente. Llevar a neutralidad controlando con papel tornasol. Diluir al menos 2 veces. Desechar a la pileta.