



**GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE QUÍMICA AMBIENTAL Y
COMPUTACIONAL
DE LA UNIVERSIDAD DE CARTAGENA**

**INFORME DE PASANTIA
DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ZINC EN DIFERENTES ESPECIES
DE PECES DEL AMAZONA POR ABSORCIÓN ATÓMICA MEDIANTE EL
MÉTODO DE LLAMA.**

CARTAGENA 9 DE MARZO DE 2016



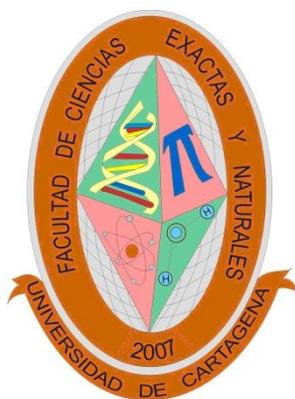
**GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE QUÍMICA AMBIENTAL Y
COMPUTACIONAL
DE LA UNIVERSIDAD DE CARTAGENA**

Laboratorio de Determinación de Metales Pesados en Matrices Ambientales

Trabajo de grado para optar al título de QUÍMICO

JUANCARLOS TEJEDOR BELTRAN

Tutor: AUDREIS PATRICIA GONZALEZ MONTES



UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA
2016



Nota de aceptación:

Firma del Jefe de Departamento Académico

Firma del Director del Programa

Cartagena de Indias D.T. y C. de 9 Marzo de 2016



Tabla de contenido

1	RESUMEN	5
2	INTRODUCCIÓN.....	7
3	OBJETIVOS.....	7
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	7
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
4	DESCRIPCIÓN DE LA PASANTÍA Y DE LAS FUNCIONES ASIGNADAS	8
4.1	MATERIALES Y EQUIPOS	8
4.1.1	EQUIPOS Y ANALISIS	9
4.1.2	REACTIVO.....	8
4.2	SOLUCIONES DE TRABAJO	10
4.3	MUESTRAS	11
4.4	PREPARACIÓN DE MUESTRA	12
4.5	DESARROLLO DE LA METODOLOGIA PARA ANALISIS DE ZINC EN DIFERENTES MUESTRAS DE PECES	12
5	RESULTADOS	16
5.1	RESULTADOS DEL ESTUDIO SOBRE ZIN EN DIFERENTES ESPECIES DE PECES EN EL AMAZONA.....	16
5.2	RESULTADOS DE VALIDACIÓN	15
6	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	22
7	CONCLUSIONES.....	23
8	REFERENCIAS	24
9	ANEXOS	25



1 RESUMEN

El presente informe describe la pasantía realizada en el Laboratorio de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena, como requisito para optar al título de Químico.

Los desechos industriales, la estructura geoquímica y la minería de metales, refinado de minerales, industria de fertilizantes, curtidos, pilas, industria de papel, pesticidas entre otros, crean una fuente potencial de contaminación por metales pesados en el medio acuático. Los peces hacen parte de la dieta humana y no es sorprendente que se hayan llevado a cabo numerosos estudios sobre la bioacumulación de metales en diferentes especies de peces, en diferentes partes del mundo.

Metales como el hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn), son metales esenciales, ya que desempeñan un papel importante en la biología de los sistemas, mientras que el mercurio (Hg), cadmio (Cd) y plomo (Pb), son metales no esenciales, puesto que son tóxicos incluso en trazas pequeñas. Los metales esenciales también pueden producir efectos tóxicos cuando la ingesta de estos es excesivamente elevada. La presencia en los recursos hídricos de metales pesados y sustancias orgánicas complejas, entre otras, han sido responsables de innumerables situaciones de impacto sobre el ecosistema acuático y la salud pública en general.

La primera experiencia de la pasantía estuvo enfocada en la optimización de las condiciones para la preparación de muestras de Zn en los diferentes peces del Amazona. En la optimización de condiciones y equipos requeridos en la preparación de muestra, fueron estudiados, la calibración de micropipetas, el lavado de materiales, la digestión de muestra, la preparación adecuada de soluciones patrón y la obtención de curvas de calibración. Los procedimientos requeridos en la preparación de muestra fueron optimizados durante la primera etapa de la pasantía (anexos 1, 2 y 4). La segunda etapa de la pasantía incluyó el trabajo con el espectrofotómetro de Absorción atómica Thermo ICE 3000. Para la cuantificación y determinación de Zinc en los diferentes especies de peces en el Amazona



fue necesaria la utilización del equipo Thermo ICE 3000 (anexos 3). Como trabajo complementario durante la pasantía fueron desarrolladas destrezas para cuantificar metales en muestras ambientales, de las cuales se manejaron: tejidos de peces (musculo e hígados), bivalvos (chipi chipi).

El trabajo principal de esta pasantía fue la Determinación y cuantificación de Zn en los diferentes especies de peces en el amazona y con Exposición Ambiental. Adquiriendo mayor destreza en el equipo Absorción atómica Thermo ICE 3000. Todo el trabajo de laboratorio fue complementado con la lectura de artículos científicos relacionados con metales pesados. El trabajo de revisión bibliográfica y la redacción de informes permitieron, la adquisición de habilidades en el desarrollo de resúmenes, escritura y lectura científica.



INTRODUCCIÓN

El zinc es un elemento que tiene un peso atómico de 65.37g/at-t y su número atómico es 30 en la tabla periódica.

Su densidad es de 7.14g/cm³, con un punto de fusión de 420°C. Como el Hg (Mercurio) y en menor medida el Cd (cadmio), sus dos vecinos en el grupo IIIb en el que se encuentra, el Zn (Zinc) es considerablemente volátil para hacer un metal pesado. Se trata de un blanco y brillante metal, es dúctil y maleable a 100°C. Se deslucen en presencia de aire a un color gris azulado debido a la formación de una cubierta adherida de un carbonato básico [Zn₂(OH)₂Co⁻³]. Esta capa protege el metal subyacente de posteriores agresiones y constituye la base de su empleo en la galvanización de otros metales para su protección de la corrosión (Bertholf. 1987).

El Zinc es un metal muy reactivo que se combina fácilmente con ácidos no oxidantes liberando hidrogeno y formando las sales de Zn. También disuelve las bases fuertes para formar iones zincatado [(ZnO₂)⁻²]. Reacciona con oxígeno, especialmente durante su calentamiento, produciendo óxido de Zn. Aunque estrictamente hablando no es un metal de transición, puesto que tiene completamente llenos de electrones su orbital 3d, comparte con el cobre y otros metales de transición la tendencia de formar complejos fuertes con ligando orgánicos. No hay duda que esta es la propiedad a la cual es debido, el importante papel biológico asumido por el Zn durante el curso de la evolución (Reilly. 1980).

El Zn forma numerosas aleaciones al combinarse con otros metales, de las cuales el más común es el acero galvanizado o latón, donde el revestimiento extremo de Zn casi puro impide la corrosión superficial debida a la elevada actividad electroquímica del Zn (Bertholf. 1984).

El Zn aparece en la naturaleza como cinco isótopos estables: 64Zn (48.89%), 66Zn (27.81%), 67 Zn (4.11%), 68 Zn (18.5%) y 70 Zn (0.62%). Se han identificados 6 radioisótopos incluyendo el 62Zn, 63Zn, 65 Zn, 69Zn, 69Zn, 72Zn y 73Zn. De estos 6 radioisótopos solo el 65 Zn, 69Zn y el 63 Zn tienen un tiempo de vida medio suficientemente largo para ser usado como marcadores radioactivos (245 días 13.8 horas y 38 minutos respectivamente) (King y Keen. 1994).

El Zn participa en su estado de oxidación +II en todos los compuestos, en los sistemas biológicos y forma una gran variedad de sales inorgánicas y compuestos de organocinc al combinarse con sustancias orgánicas. El Zn forma complejos con números de coordinación de 4 con una disposición tetraédrica de los ligandos alrededor del metal.

Este elemento compleja fácilmente los aminoácidos, proteínas y nucleótidos (King y Kenn. 1994) tienen afinidad por los grupos tiol e hidroxilo y por ligando que contienen nitrógenos ricos en electrones como donador



3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Analizar, determinar y cuantificar Zinc en diferentes especies de peces en el Amazona.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Llevar a cabo los análisis instrumentales y experimentales para la cuantificación de Zinc en peces del Amazonas por el método de absorción atómica (llama).
- Realizar las determinaciones de zinc por AA por el método de la llama por corrección de fondo con lámpara de deuterio
- Estudiar los niveles de metales pesados en los peces del Amazona.



4 DESCRIPCIÓN DE LA PASANTÍA Y DE LAS FUNCIONES ASIGNADAS

El presente informe describe la pasantía realizada en el Laboratorio de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena. Con el fin de determinar, cuantificar los niveles de metales pesados (Zn) en los peces del Amazona, utilizando técnicas de espectrofotometría de absorción atómica de llama con aire acetileno, para adquirir mayor destreza en el equipo Thermo ICE 3000.

La motivación para realizar este informe es la preocupación de las grandes concentraciones de Zn en los alimentos que el ser humano consume diariamente ya que el medio ambiente está en constante contaminación. El Zn es un metal que el cuerpo humano lo requiere en mínimas concentraciones de forma natural en el aire, agua y suelo, pero las concentraciones están aumentando por causas antropogénicas,

4.1 MATERIALES Y EQUIPOS

4.1.1 Equipos de Análisis

- Equipo de Absorción Atómica, Marca: THERMO, Modelo: ICE3000 AA05124605 v1, 30.
- Digestor microondas, Milestones Start-D.
- Lámpara de cátodo hueco de Zinc.
- Cabina de extracción de gases
- Balanza analítica de sensibilidad 0.1mg OHAUS. E12140. C182020085
- Micropipetas: 10, 100, 1000uL.
- Balones aforados: 10, 50, 1000 mL.

4.1.2 Reactivos

- Solución patrón certificada de Zinc de 1000 mg/kg Merck
- Ácido nítrico (HNO₃) al 65% grado suprapur. Merck



- Agua milli-Q system.
- Gas Acetileno 99.99% de pureza.

4.2 SOLUCIONES DE TRABAJO

Solución stock de Zn de 1 ppm (mg/ L)

- De la solución de Zn de 1000 mg/L, transferir 0.1 mL a un balón aforado de 100 mL. Adicionar un 1mL de ácido nítrico suprapur al 65% y aforar con agua milli-Q. La solución se encuentra a una solución de 1 ppm de Zn.

Solución estándar de Zn de 0,75 ppm (mg/L)

- De la solución patrón de Zn de 1000 mg/L, transferir una alícuota de 0.0375 mL= 37.5 uL a un balos aforado de 50 mL. Adicionar 0.5 mL de ácido nítrico de suprapur al 65%, aforar con agua milli-Q. La solución obtenida se encuentra en una concentración de 0,75ppm de Zn.

Solución de estándar de Zn de 0.5 ppm (mg/L)

- De la solución patrón de Zn de 1000 mg/L, transferir una alícuota de 0.025 mL= 25 uL a un balón aforado de 50 mL. Adicionar 0.5 mL de ácido nítrico de suprapur al 65%, aforar con agua milli-Q. La solución obtenida se encuentra en una concentración de 0,5ppm de Zn.

Solución de estándar de Zn de 0.25 ppm (mg/L)

- De la solución patrón de Zn de 1000 mg/L, transferir una alícuota de 0,0125 mL= 12.5 uL a un balón aforado de 50 mL. Adicionar 0.5 mL de ácido nítrico de suprapur al 65%, aforar con agua milli-Q. La solución obtenida se encuentra en una concentración de 0,25 ppm de Zn.



4.3 MUESTRAS

Para el informe final de este proyecto de investigación es necesario la implementación de la muestras de peces que son prioridades para obtener un resultado viable, en este caso las muestras fueron obtenidas del parque nacional del Amazona donde se capturaron treinta muestras de peces, estos fueron transportados en cava con hielo con el mayor cuidado posible de no maltratar los músculos ni los tejidos de cada uno de ellos, con una temperatura de -4°C . Para poder analizarlo en el laboratorio de la Universidad de Cartagena, donde se le realizaron cortes de los tejidos musculares por encima de la línea lateral y al nivel del inicio de la aleta dorsal debido a que los tejidos musculares son analizados por tener la tendencia de a acumular contaminantes, estos corte se realizaron con un cuchillo limpio de polipropileno. Los músculos se pesaron y se almacenaron posteriormente en viales de vidrio herméticamente cerrados con tapas de Baquelita y se procede hacer una liofilización; la cual consiste en retirar la húmeda que tienen los pescados. Este proceso se hace con tal de retirarle el 80% de la humedad de la muestra una vez retirada la húmeda se procede a hacer una digestión en el microondas milestone start para muestras ambientales equipo Thermo scientific , a la cual se toma 500mg de la muestra posteriormente liofilizada , se le agrega 7ml de Ácido Nítrico concentrado y 1ml de peróxido de hidrogeno se tapan herméticamente a 183°C durante media hora, para que haga la digestión completa y luego se deja enfriar hasta 40°C y se retira de los vasos de teflón para ingresarlos a una cabina de extracción de gases para recolectarlos en un balones de 10ml, para finalmente aforar con agua miliQ, obteniendo así el zinc en forma soluble (Nitrato de Zinc). Luego se toma 1ml de la muestra ya líquida y afora en agua en un balón de 10ml. Para finalizar se ajusta con las condiciones óptimas el equipo de Absorción Atómica con llama de aire acetileno y corrección de fondo de deuterio, acoplado con un automuestreador (se monta el método, se monta la curva y se lee).

Toda el agua utilizada, tanto en la preparación de reactivos, curvas de calibración y blancos de reactivos fue agua miliQ altamente pura. Al mismo tiempo, el material volumétrico de vidrio utilizado en el laboratorio fue de Clase A y los reactivos de Clase Analítica Suprapur.



4.4 PREPARACIÓN DE MUESTRA

- En balones de 10 mL previamente lavados siguiendo el (protocolo de lavado de materiales del LQAYC) se transfiere 1 mL de la muestra original y aforar de agua milli-Q.
- Luego que es finalizada la digestión se trasvasa a solución en balones de 10 mL se afora con agua milli- Q y se rotura, para llevar las muestras al equipo se debe diluir la muestra aún más ya que la cantidad de ácidos realmente corroe las el mechero del componente llama.
- La dilución de la digestión fue la siguientes: del balón 10 mL se para músculos de pescados, se tomaron 2 mL y se diluyeron en balones de 10 mL con agua milli-Q.
- Esta dilución es ajustada para que los valores de absorbancia estén dentro de la cueva p reparada.

4.5 DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA PARA ANÁLISIS DE ZINC EN DIFERENTES MUESTRAS DE PECES

Para la determinación Zinc en las diferentes especies de peces recolectadas en el Amazonas se utilizó la técnica de Espectrometría de absorción atómica por llama. Fue empleado el espectrofotómetro de absorción atómica Thermo ICE 3000. Por medio de esta, muchos iones metálicos pueden determinarse fácilmente en niveles de mg/Kg (ppm) lo que se ha convertido en un procedimiento experimental simple relativamente. En la práctica, la técnica se basa en una fuente de átomos elementales o iones que están electrónicamente excitados por la luz monocromática, la absorción que se produce se mide por el instrumento.

El primer problema que debe ser superado, implica el suministro de una fuente de átomos en forma elemental (o iónico elemental). Esto se logra con un nebulizador (**Figura 1**), junto con una llama de aire/acetileno. La primera etapa es la formación de un aerosol de micro-gotas de la solución de analito por medio de un nebulizador. En este proceso, una bomba peristáltica pasa por un suministro continuo de la solución de analito en la trayectoria de un chorro de aire comprimido para producir una fina niebla de gotas diminutas. El aerosol se dirige en camino de una larga y delgada llama de aire acetileno para dar lugar a la atomización del analito. Los gases de combustión se mezclan antes de la combustión (**Figura 2**). La llama está dirigida por una rendija de chorro gas de aproximadamente 10 cm de longitud y 2-3 mm de ancho. El acetileno se quema para proporcionar una temperatura de alrededor de 2000 °C a 2200 °C. Si se requieren temperaturas más altas, las mezclas de gases de combustible acetileno óxido nitroso pueden ser utilizadas. El acetileno y el aire de la espectroscopia atómica de llama se mezclan antes de pasar a través del flujo de gas y es en este punto donde la mezcla de estos se enciende. Es importante dar distancia a los gases de escape, la práctica



de colocar una campana de extracción directamente encima de la chimenea de salida del espectrofotómetro es normal.

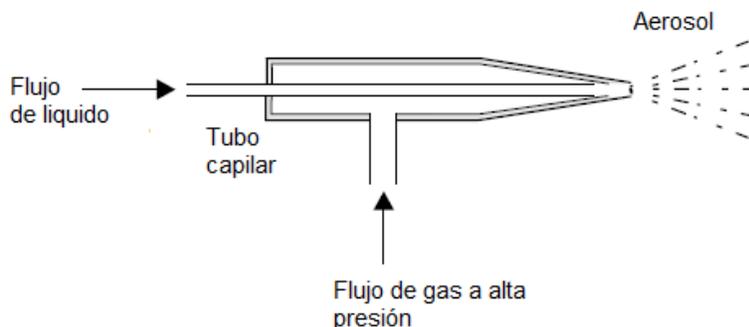


Figura 1: Esquema del nebulizador.

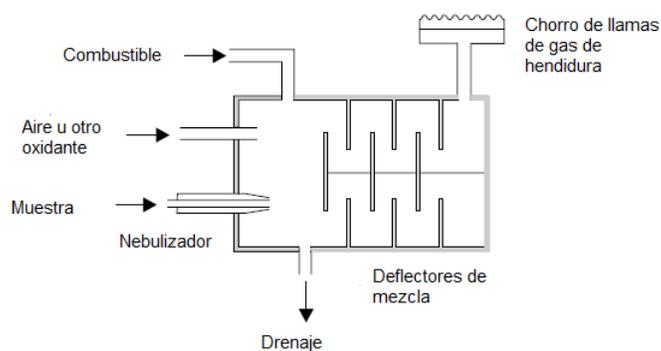


Figura 2: Mezcla de combustible, muestra y oxidante antes de la combustión.

Las gotitas finas del disolvente en la sustancia analizada (que es casi siempre agua) se evaporan muy rápidamente a estas temperaturas. La sal del metal, a su vez se evapora y este se reduce a las altas temperaturas con experiencia dentro de la llama para completar el proceso de atomización. La llama tiene una forma que permite que la radiación incidente que pasa a través de un suministro continuo de la muestra atomizada, (**Figura 3**). Un detector (que es normalmente un tubo fotomultiplicador) se puede controlar la intensidad de la radiación y por lo tanto la absorción.

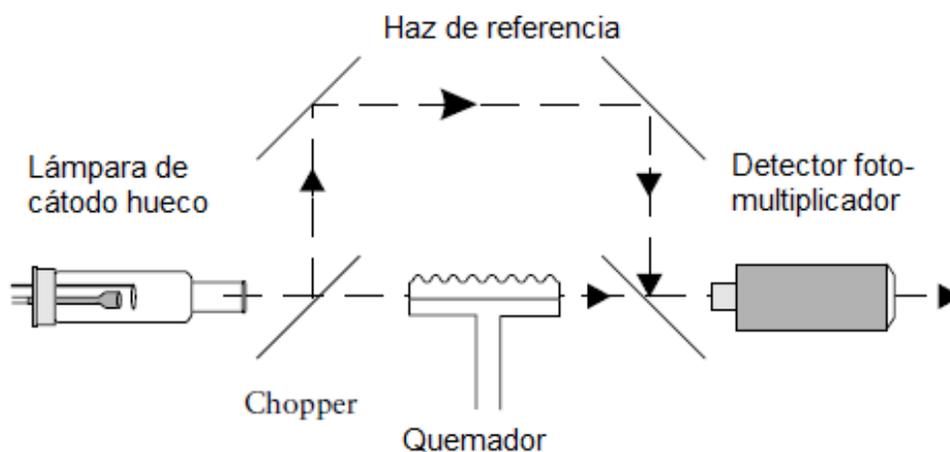


Figura 3: Esquema de la llama del espectrómetro de absorción atómica.

Tabla 1. Condiciones del equipo.

Longitud de onda	213,9nm
Corriente de lámpara	75%
Modo de medida	Absorbancia
Medición de la señal	Altura de pico
Corrección de fondo	Lámpara de deuterio
Rendijas	0.2 nm
Señal	Continua
Tipo de llama	Aire – acetileno
Flujo/combustible	1 L/min
Altura del mechero	7,0
Método	Ajustes cuadrático mínimo cuadrado
Ajuste aceptable	0,995
Unidades de concentración	mg/L
Numero de estándares	4
Numero de muestras	2
Concentraciones de los estándares	0,25-0,50-0,75-1 ppm



Análisis estadísticos de datos

Para el análisis estadístico de datos se calculó la media que es la suma de todas las medidas divididas por el número de medidas.

$$\hat{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Es importante resaltar que la medida más útil que utiliza todos los valores, es la desviación estándar S que se define de la siguiente manera.

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

Para visualizar la distribución de los datos es empleado el histograma de frecuencia; ahora bien si se desea saber qué tipo de simetría presenta nuestra distribución de datos fue empleado el skewness. El skewness (a_3) es un indicador que permite establecer el grado de simetría que presenta una distribución de datos; si $a_3=0$ existe el mismo número de datos a la derecha que a la izquierda de la media. Si $a_3 > 0$ decimos que hay simetría positiva, es decir la distribución de datos tiene cola a la derecha; si $a_3 < 0$ la distribución tiene simetría negativa o cola a la izquierda es más larga. Que se calcula de la siguiente manera.

$$a_3 = \frac{1}{n} \sum \left(\frac{x_i - \hat{x}}{s} \right)^3$$

Dónde:

a_3 = skewness

n = número de datos

s = desviación estándar



5 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS DEL ESTUDIO SOBRE ZINC EN DIFERENTES ESPECIES DE PECES EN EL AMAZONA.

Los resultados de absorbancia en función de la concentración para las muestras de estándar de Zn aparecen resumidos en la figura 4. Para la elaboración de esta curva de calibración, se empleó soluciones patrones preparadas a partir de soluciones estándar de Zn del metal estudiado y blancos de cada una de las matrices a analizada.

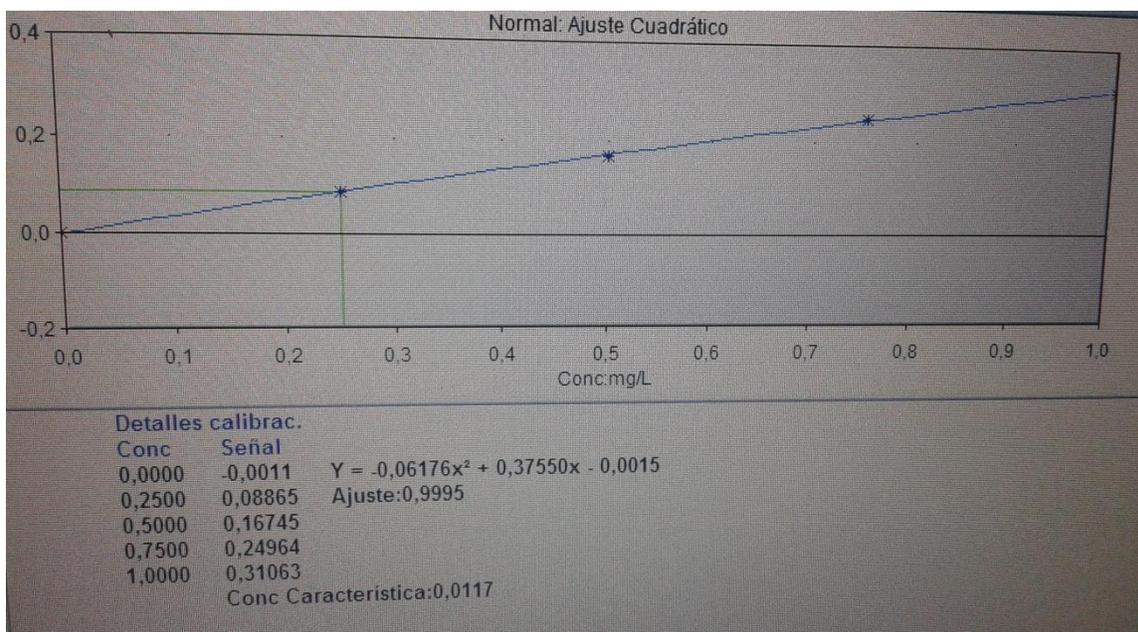


Figura 4. Resultados de absorbancia en función de la concentración para muestras de adición de estándar analizados con el espectrómetro de absorción atómica Thermo ICE 3000. Las curvas obtenidas muestran comportamiento lineal de la absorbancia en función de la concentración de Zn para las muestras por adición de estándar.



5.2 RESULTADOS DE VALIDACIÓN

Linealidad en las curva de calibración

Para la evaluación del método analítico a emplearse en la determinación de Zn en peces del Amazona, se procedió en primera instancia a realizar curvas de Calibración en un rango de 0,25 ppm- 1 ppm.

Las curva de calibración para el Zn (Figura 5) mostro linealidad ya que obtuvo un coeficiente de correlación de 0,9995.

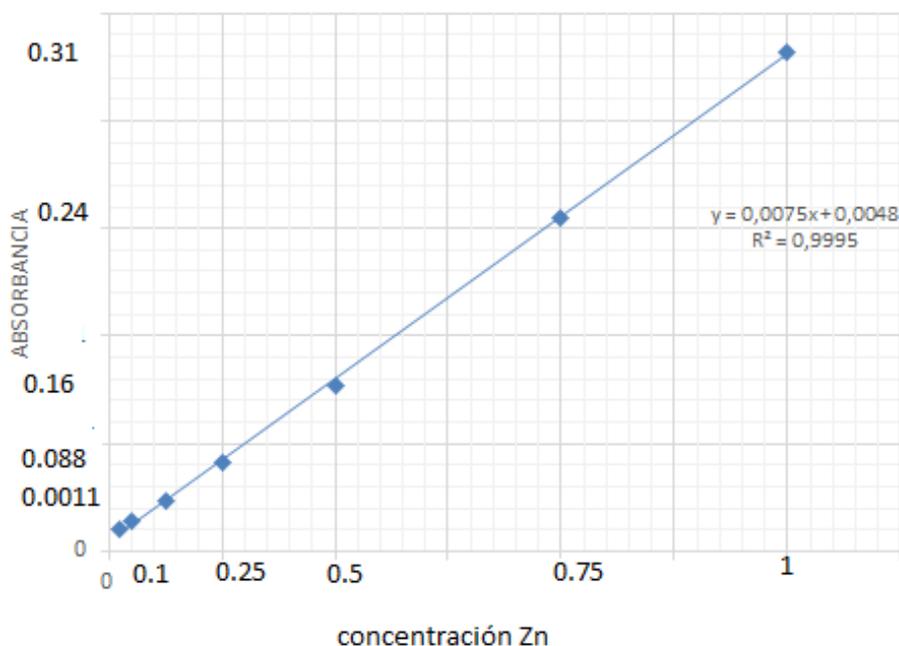


Figura 5. Linealidad en las curva de calibración

Límite de detección

El límite de detección del Zn encontrado a través de los análisis realizados mostró un valor de 0,68 Zn



Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación se determinó aplicando la fórmula según Villegas *et al.* (1998) para obtener la Concentración mínima del analito que podía determinarse con un nivel de exactitud y precisión aceptable. Para la determinación del Zn se obtuvo un límite de cuantificación alto (2,27ppm),

Tabla 2. Parámetros de calidad para la evaluación del método para determinación de Zn por Absorción atómica.

Parámetros	Zn
Rango lineal (ppm)	0,25 ppm – 1 ppm
Coeficiente de correlación ®	0,9995
Límite de detección (ppb)	0,68
Límite de cuantificación (ppb)	2,27
Precisión (% CV)	9,77%
Exactitud (%)	-

Tabla 3. Resultado de la pendiente y los valores de absorbancia del blanco para diferentes curvas realizadas durante 11 semanas de determinación de Zinc en peces por absorción atómica.

Semana	Pendiente	ABS	0
4	0,0065	ABS	0,0073
5	0,004	ABS	0,0044
6	0,0080	ABS	0,0089
7	0,007	ABS	0,0081
8	0,005	ABS	0,008
9	0,0080	ABS	0,0076
10	0,0074	ABS	0,0071
11	0,0085	ABS	0,0083
12	0,0087	ABS	0,0044



13	0,0074	ABS	0,0067
14	0,0085	ABS	0,0046
15	0,0085	ABS	0,0046
Promedio m	0,0072	SD Blanco	0,00666

Promedio muestras: 0.0014822907 y su absorbancia: 0.001699376

Tabla 4. Análisis de 30 muestras de Zn en peces del Amazona

Numero	Código	µg/dL
1	MAMF-01	- 0,68
2	MAMF-02	18,30
3	MAMF-03	- 0,82
4	MAMF-04	16,60
5	MAMF-05	7,70
6	MAMF-06	11,59
7	MAMF-07	9,38
8	MAMF-08	9,95
9	MAMF-09	12,74
10	MAMF-010	12,70
11	MAMF-011	10, 20
12	MAMF-012	9,73
13	MAMF-013	11,86
14	MAMF-014	15,29
15	MAMF-015	14,88
16	MAMF-016	11,79
17	MAMF-017	9,63
18	MAMF-018	10,31
19	MAMF-019	11,65
20	MAMF-020	13,16
21	MAMF-021	15,16
22	MAMF-022	13,08



23	MAMF-023	17,01
24	MAMF-024	12,37
25	MAMF-025	13,16
26	MAMF-026	15,02
27	MAMF-027	11,15
28	MAMF-028	10,83
29	MAMF-029	9,85
30	MAMF-030	10,07

Los niveles de Zinc para 30 muestras de peces del Amazona oscilan entre 0.25 $\mu\text{g/dL}$ a 1 $\mu\text{g/dL}$ con un valor medio de 0.0072 $\mu\text{g/dL}$ y una desviación estándar de 0,00169 $\mu\text{g/dL}$; el 85% de los peces del Amazona tenían niveles de Zinc inferiores a 2 $\mu\text{g/dL}$ y el 14% entre 2 $\mu\text{g/dL}$ y 5 $\mu\text{g/dL}$.

Numero	código	$\mu\text{g/dL}$
1	319	2,48
2	320	2,22
3	321	7,84
4	322	1,90
5	323	1,42
6	324	8,58
7	325	15,75
8	326	5,43
9	327	5,90
10	328	1,11
11	329	3,07
12	330	0,70
13	331	3,66
14	332	15,09



15	333	22,23
16	334	20,94
17	335	15,06
18	336	2,58
19	337	2,57
20	338	2,13
21	339	3,41
22	340	1,47
23	341	2,30
24	342	3,05
25	343	2,03
26	344	1,83
27	345	1,01
28	346	1,62
29	347	2,11
30	348	3,78



6 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ESCALA DE TIEMPO	1°				2°				3°				4°				5°				6°			
SEMANAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
ACTIVIDAD																								
Realización del Anteproyecto	X	X	X	X																				
Revisión de literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Manejo y Calibración de equipos			X	X	X	X																		
Análisis espectroscópicos							X	X	X		X	X	X	X					X	X	X	X		
Análisis estadístico				X	X					X			X						X				X	
Lavado de materiales y digestiones				X			X				X			X		X			X			X		



Creación y redacción de protocolo						X	X																
Informe de Avances										X													
Validación de métodos					X	x																	
Preparación de soluciones y curvas de calibración				X			X			X			X		X			X			X		
Presentación y revisión informe final																				X	X	X	X



7 CONCLUSIONES

La realización de los análisis para la determinación y cuantificación de Zinc en los diferentes especies de peces en el Amazona se desarrolló utilizando la técnica de Absorción Atómica con el método de llama y corrección de fondo de lámpara de Deuterio. Mediante múltiples ensayos con curva de calibración, se optimizaron las condiciones instrumentales y experimentales para la cuantificación de Zinc en los peces del Amazona por método de absorción atómica Thermo ICE 3000.

Para determinar los niveles de Zinc en los diferente especies de peces del amazona con 30 muestras de peces con exposición ambiental a metales pesados como Zinc en la región del Amazona, se utilizó la técnica de adición de estándar mediante de ensayo de cuerva de calibración, arrojando un comportamiento lineal de la absorbancia en función de la concentración de Zinc.

Con la culminación de estas pasantías se llevaron a cabo cada uno de los objetivos planteados, con el fin de ponerlos en práctica en cualquier parte donde se desee desempeñar esta profesión. Los conocimientos adquiridos se aplicaron correctamente con un buen desempeño y disponibilidad a la hora de realizar cada actividad. Aprendí a tener siempre limpio y agradable el lugar de trabajo, así como también un buen ambiente laboral sano y respetuoso con cada uno de mis compañeros de trabajo. Se reportaron de manera oportuna, verídica y eficazmente los protocolos que se realizaron durante mi instancia en el laboratorio. Finalmente se cumplieron a total cabalidad con las políticas de manejo del laboratorio aportando las mejores referencias para dejar en alto el nombre de la universidad de Cartagena y el mío propio teniendo en cuenta la formación integral que recibí de esta.



8 REFERENCIAS

ACOSTA, V.; LODEIROS, C.; SENIOR, W.; MARTÍNEZ, G. (2002). *Niveles de metales pesados en sedimentos superficiales en tres zonas litorales de Venezuela.*

DONGAN, SAGLAMTIMU, AND KUMBUR (2010). *Metals (Hg, Pb, Cu, and Zn) Biocumulation in sedemnt, fish and human scalp hair: case study from the city of Mersin along the southern coast of Turkey.*

CACADOR. A; VALLE, C; CATARINO, F. (1996) Accumulation of Zn, Pb, Cu, Cr, and Ni sediments beetuueen roots of the tagus estuary salt marshes, Portugal.

SHCUMATCHER,M;DOMINGO,J;LLOBET,JCORBELLA,J. (1995). Variations of heavery metals in wáter,rediments and biota from the delta of the Ebro River,Spain .

T.M.FLORENCE, G.E.BATLEY. (1957)*Determination of the chemical forms of trace metals in natural waters, with special reference to copper, lead, cadmium and zinc*

A.J.F.C. LICHTENFELS, G. LORENZI-FILHO, E.T. GUIMARÃES, M. MACCHIONE, P.H.N. SALDIVA. *Effects of water pollution on the gill apparatus of fish.*

SILENE DE CARVALHO COSTA; SANDRA MARIA,HARTZ. (2002) *Brasil. Evaluation of trace metals (cadmium, chromium, copper and zinc) in tissues of a commercially important fish (Leporinus obtusidens) from Guaíba Lake, Southern Brazil.* Braz. arch. biol. technol. vol.52 no.1 Curitiba Jan.

K. S. CHUNG. (1980)*The acute toxicity of four heavy metals (Cd⁺⁺, Cr⁺⁺⁺, Cu⁺⁺, and Zn⁺⁺) to the juvenile spotted brown shrimp (Penaeus brasiliensis)* Bol. Inst. Oceanogr. vol.29 no.2 São Paulo.

<http://es.scribd.com/doc/131438874/calibracion-micropipetas15/06/2015>

http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portalIG/home_9/recursos/01_general/contenidos/laboratorios/guiasyfichas/25022008/manualdelimpiezaydesinfeccion.pdf.20/08/2015.



facultad de ciencias exactas y naturales
Departamento academica
Programa de química
Campus de zarragocilla. Telefax (095)

Anexo 1.

Grupo De Investigacion De Quimica Ambiental Y Computacional



Calibración de Micropipetas

Tejedor Beltrán Juan Carlos ¹.

González Montes Audreis ²

(1) Estudiante (2) Asesora

**Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de
Química**

Cartagena de Indias D. T. Y C.

18 de marzo del 2014

RESUMEN: La calibración de micro pipetas por el método gravimétrico consiste en la carga con agua destilada del instrumento y la posterior descarga en un recipiente abierto. Uno de los errores más frecuentes en este método es el provocado por la evaporación. El objetivo del presente trabajo es cuantificar dicho error y evaluar modificaciones al método gravimétrico convencional que permitan disminuirlo [1]

PALABRAS CLAVES: calibración, estándares, métodos, gravimetría

ABSTRACT: micropipettes calibration by gravimetric method consists in loading the instrument with distilled water and the subsequent unloading into an open container. One of the most frequent errors in this method is caused by evaporation. The aim of this study is to quantify the error and evaluate modifications to the conventional gravimetric method allowing decrease



KEYWORDS: calibration, standards, methods, gravimetry

INTRODUCCIÓN: El método más sencillo y que requiere de menor equipamiento para calibrar micro pipetas es el de gravimetría. Dicho método consiste en descargar con la micropipeta un líquido de densidad conocida (generalmente agua destilada) en un recipiente cuya masa es medida antes y después de la descarga. Conociendo la masa del líquido y su densidad puede calcularse el volumen descargado. Los factores que tienen mayor influencia en la incertidumbre de calibración por este método pueden ser el tipo de construcción del instrumento (pistón-cilindro defectuoso, desgaste, etcétera), el propio método (diferencias en la presión de descarga, variaciones en la temperatura y otras condiciones del ensayo) y errores sistemáticos como la evaporación de la descarga de agua en el recipiente de pesaje o calibración de la balanza, entre otros.

El objetivo de este estudio es cuantificar la influencia de la evaporación en los resultados de calibración. Para minimizar la incidencia de la evaporación pueden utilizarse dispositivos disponibles en el mercado que mantienen una atmósfera saturada de humedad en el recipiente de pesada o saturar el ambiente interior de la balanza donde se realiza la descarga. Para cuantificar los efectos de la evaporación en cualquier condición es posible realizar la descarga en condiciones estándar de la temperatura y humedad, y registrar la lectura de la balanza a distintos tiempos. Con estos valores se realiza la regresión lineal y se obtiene el valor de masa correspondiente a tiempo cero, es decir, en el momento exacto que se realiza la descarga, cuando el efecto por evaporación puede suponerse nulo. Este método permite cuantificar, y por lo tanto corregir, los errores por evaporación, pero incrementa significativamente el tiempo de ensayo y agrega otras fuentes de incertidumbre, como lo es la deriva de la balanza, la medida de tiempo, etcétera. La alternativa que se propone es utilizar un medio de descarga que disminuya la evaporación de modo que no sea necesario efectuar la corrección por el método de extrapolación. El medio seleccionado es aceite vegetal, el cual por su menor densidad que el agua ocluye la gota de descarga y disminuye así la evaporación [1]

MATERIALES:



- Balanza analítica marca OHAUS capacidad máxima de 210g
- Micropipetas de (0.5-10 uL ; marca NICHIPET EX PLUS) / (10-100 uL; marca NICHIPET EX) / (100-1000 uL; marca THERMOS CIENTIFIC)
- Agua destilada
- Recipiente plástico
- Termómetro

PARTE EXPERIMENTAL

- Primero que todo se toma la temperatura ambiente inicial antes de hacer cualquier pesada
- Se coloca el recipiente en la balanza analítica y se aplica la respectiva tara
- Se pipetea con agua destilada y se vierte en el recipiente de pesada tomando el valor
- Se hacen 4 repeticiones de 4 volumen distintos para cada Micropipetas
- Por último se harán los cálculos necesarios (ver anexos #1) para poder hallar el porcentaje de error

Anexos # 2



pipeta 0,5-10 ul							
	masa (mg)	Promedio(mg)	Desviación	%Variación	Densidad	M/D	% Error
1ul	0,7	0,675	0,05	7,40740741	0,997	0,67703109	- 32,2968907
1	0,7						
	0,7						
	0,6						
5ul	4,8	4,825	0,12583057	2,60788754	0,997	4,83951856	- 3,20962889
5	4,7						
	5						
	4,8						
10ul	9,6	9,85	0,28867513	2,93071203	0,997	9,87963892	- 1,20361083
10	10,1						
	10,1						
	9,6						
3ul	2,8	2,8	0,08164966	2,91605922	0,997	2,80842528	- 6,38582414
3	2,9						
	2,7						
	2,8						



pipeta 10-100 ul							
	Masa (mg)	Promedio(mg)	Desviación	% Variación	Densidad	M/D	% Error
10ul	10,3	10,55	0,19148542	1,81502769	0,997	10,5817452	5,81745236
10	10,7						
	10,7						
	10,5						
50ul	50,6	50,275	0,32015621	0,63680997	0,997	50,4262788	0,85255767
50	50,5						
	50						
	50						
30ul	30,3	30,325	0,25	0,82440231	0,997	30,4162487	1,38749582
30	30						
	30,4						
	30,6						
100ul	99	99,25	0,19148542	0,19293241	0,997	99,5486459	0,45135406
100	99,2						
	99,4						
	99,4						



pipeta 100-1000 ul							
	Masa (mg)	Promedio(mg)	Desviación	% variación	densidad	M/D	% ERROR
100ul	97,4	97,85	0,3	97,4	0,997	98,1444333	-1,8555667
100	98						
	98						
	98						
500ul	500,9	500,475	0,6751543	500,9	0,997	501,980943	0,39618857
500	501,2						
	499,9						
	499,9						
300ul	299,5	299,7	0,29439203	299,5	0,997	300,601805	0,20060181
300	299,4						
	299,9						
	300						
1000ul	993,7	994,425	0,8845903	993,7	0,997	997,417252	0,25827482
1000	995,5						
	993,7						
	994,8						



CONCLUSIÓN

Según los resultados obtenidos podemos concluir que para hacer mediciones es recomendable tomar los volúmenes más grandes con las pipetas más pequeñas ya que el porcentaje de error es mayor cuando tomamos volúmenes más pequeños; cabe destacar también que es mejor repetir las mediciones ya que el analista no tenía ni las destrezas ni habilidades a la hora de realizar el procedimiento.



Anexo 3.



Grupo De Investigacion De Quimica Ambiental Y Computacional

Protocolo de lavado de materiales

Tejedor Beltran Juan Carlos, González Montes Audreis.

Universidad de Cartagena

Cartagena de Indias D. T. Y C.

Marzo del 2014

1. Objetivos

Establecer la forma de llevar a cabo el lavado del material de vidrio y de otros materiales de uso general para asegurar su conservación en óptimas condiciones y reducir errores en los análisis debido a posible contaminación.

2. Alcance

Aplica a todo el material de vidrio y otros materiales de uso general utilizados en el LABORATORIO ANALISIS DE METALES PESADOS.

3. Introducción

El material de vidrio es el de más uso en el laboratorio y por ello su utilización y limpieza inadecuadas inciden directamente sobre los resultados de los análisis ocasionando errores significativos y arriesgando la seguridad de quienes lo manipulan. Para desarrollar correctamente cualquier trabajo en el laboratorio es necesario mantener siempre limpio el material y la mesa de trabajo. El material debe estar limpio y seco antes de empezar el experimento.

La limpieza del material se debe realizar inmediatamente después de cada operación ya que es mucho más fácil.



Para limpiar un objeto, en primer lugar se quitan los residuos (que se tiran en el recipiente adecuado) con una espátula o varilla y después se limpia con el disolvente apropiado. El agua con jabón es uno de los mejores métodos de limpieza. Ocasionalmente, se utilizan ácidos, bases o disolventes orgánicos para eliminar todos los residuos difíciles. No colocar el material de vidrio en contacto con ácidos antes de haberlos enjuagado totalmente con detergente, ya que se puede dar lugar a la formación de película de grasa.

La última operación de lavado consiste en enjuagar todo el material con agua desionizada. El material limpio se seca en un soporte adecuado inclinado o vertical, colocando el material boca abajo, o bien se utiliza una estufa de secado. En este último caso el material debe ser introducido en la estufa **sin tapones ni llaves**.

Nunca se debe introducir material volumétrico ni de plástico en la estufa

Existen otros métodos para lavar el material que comportan la utilización de agentes más agresivos (ácidos, bases, agua regia, mezcla crómica, potasa alcohólica, etc.). En caso de tener un residuo intratable consultar en la literatura como removerlo.



4. Procedimiento

Lavado de materiales (plástico y vidrio)

1. Desechar el contenido del material en los frascos destinados

2. Enjuagar los materiales con abundante agua del grifo

3. Retirar rotulo con alcohol

4. Lavar los materiales con jabón Extran al 10% dejar en remojo por 1 hora y enjuagar con abundante agua del grifo

5. Enjuagar con hidróxido de sodio al 4% para eliminar la grasa.
Inyectar la solución en los balones hasta un poco antes del aforo, tapar, agitar suavemente (en dirección opuesta a la cara) y dejar reposar 2 horas, pasadas las dos horas agitar suavemente, votar la solución y luego enjuagar con agua desionizada 2 veces. Luego, con los recipientes parcialmente llenos,

6. Enjuagar con HNO_3 al 10% para remover los diferentes metales.
Inyectando aproximadamente 5 o 10 mL de la solución (dependiendo del volumen del balón), tapar, agitar suavemente y dejar reposar 24 horas.



7. Purgar el material con HNO_3 al 65%

Pasada las 24 horas trasvasar el ácido a un recipiente para reutilizarlo y luego purgar los valones con 250 μL HNO_3 al 65%, luego enjuagar con agua desionizada 4 veces con ayuda del frasco lavador. Por último escurrir el material sobre servilletas de papel.

5. RECOMENDACIONES:

Realizar el procedimiento de lavado con guantes de nitrilo y gafas de seguridad, el manejo de ácidos y bases realizarlo bajo la cabina de extracción de gases.

- La manipulación de ácido nítrico, ácido sulfúrico, mezcla sulfocrómica y de álcalis (soda) debe hacerse en forma muy cuidadosa ya que es de alto riesgo y al contacto con la piel producen quemaduras graves dependiendo del tiempo de contacto y de la zona afectada. Igualmente, estas sustancias destruyen rápidamente los materiales como papel, tela y otros.
- Realizar las reacciones exotérmicas como la dilución de H_2SO_4 o Hidróxidos alcalinos siempre bajo agitación y refrigeración y en recipientes apropiados como por ejemplo beakers o erlenmeyers. Nunca utilizar balones volumétricos o probetas graduadas.

Las soluciones de ácido y de base indicadas anteriormente prepararlas con agua desionizada.

- Manejar estas soluciones con mucho cuidado ya que son fuertemente corrosivas e irritantes. Renovar estas soluciones según el uso.
- Al enjuagar o lavar pipetas, probetas, buretas o balones tener cuidado de no golpear los picos contra la pileta o el grifo. La mayoría se rompen de esta manera.

Nota: tener especial cuidado con el NaOH ya que al contacto con la piel puede quemarla y usted puede no sentir ninguna señal solamente hasta cuando ya tenga la lesión.



Grupo De Investigacion De Quimica Ambiental Y Computacional



Verificaciones Iniciales para Llama

Tejedor Beltrán Juan Carlos ¹.

González Montes Audreis ²

(1) Estudiante (2) Asesora

Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de

Química

Cartagena de Indias D. T. Y C.

07 julio del 2014

1. Encender palancas
2. Encender instrumento y computador
3. Abrir software y crear archivo nuevo de trabajo
4. Instalar lámpara
 - Encender lámpara
 - Ingresar serial si es nueva la lámpara
5. Abrir cilindros y chequear presión de gases en el punto de trabajo
 - Acetileno 9 psi, chequear que el cilindro este por encima de 100 psi
 - Óxido nitroso 40, psi encender calentador
 - Verificar trampa de agua de compresor
6. Chequeo de nivel de desechos
7. Quemador limpio
8. Manguera de drenaje conectada



9. Cargar o crear método (si se utiliza llama óxido nitroso –acetileno, cargar un método que use aire –acetileno primero)
10. Configurar óptica
11. alinear quemador si es necesario
12. Encender compresor y extractor
 - Verificar aire 30 psi
 - Verificar trampa de agua de compresor
13. Encender llama
14. Configurar llama
15. Hacer auto cero
16. Verificar absorbancia con patrón de chequeo
17. Si es necesario realizar ajustes
 - Profundidad de quemador
 - Angulo del quemador
 - Esfera de impacto (solo con aire acetileno)
 - Altura del quemador
 - Flujo de gas
18. Establecer donde se guardaran los datos

Recomendaciones: si el metal a leer usa óxido nitroso-acetileno retornar al paso 9 y omitir el paso 17 primer ítems (no ajustar esfera de impacto)

19. Correr análisis

APAGADO

20. Cerrar suministro de gas
21. Purgar gases(encender extractores)
22. Apagar lámparas
23. Cerrar software
24. Apagar instrument



Grupo De Investigacion De Quimica Ambiental Y Computacional

Verificaciones Iniciales para VP 100

Tejedor Beltrán Juan Calos ¹

González Montes Audreis ²

(1) Estudiante (2) Asesora



**Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de
Química
Cartagena de Indias D. T. Y C.
07 julio del 2014**

Para el uso de este instrumento es necesario tener previamente preparados los reactivos.

1. Encender instrumento y computador
2. Abrir software
3. Instalar lámpara
 - Encender lámpara
 - Ingresar serial si es nueva la lámpara
4. Abrir cilindro de nitrógeno y chequear presión a 5 psi en el punto de trabajo
5. Si se usara calentamiento, abrir cilindro de acetileno y chequear 9 psi en el punto de trabajo
6. Chequeo de nivel de desechos (para evitar derrame)
7. Quemador limpio (si se trabaja con calentamiento)
8. Manguera de drenaje conectada (para evitar derrames)
9. Cargar o crear método
10. Configurar óptica (si corrección de fondo si aplica inicialmente)
11. Instalar y alinear celdas
 - Ajustar altura si es necesario
 - Ajustar profundidad si es necesario



- Ajustar quemador si es necesario
12. Configurar óptica (con corrección de fondo si aplica)
 13. Ubicar reactivos
 14. Arrancar VP 100
 15. Verificar flujo de reactivos y muestra
 16. Encender extractor
 17. Encender compresor(si aplica) y verificar trampa de agua
 18. Quitar primero celda T del camino óptico si se usa calentamiento
 19. Encender llama (si aplica)
 20. Configurar llama (si aplica)
 21. Posicionar celda T (si aplica)
 22. Hacer auto cero
 23. Verificar absorbancia como patrón de chequeo
 24. Realizar ajustes para mayor absorbancia
 - Ajustar flujo de gas de arrastre (nitrógeno)si es necesario
 - Ajustar flujo de combustible si es necesario
 - Ajustar velocidad de bomba peristáltica si es necesario
 25. Establecer donde se guardaran los datos
 26. Correr análisis

Para apagar llama:

27. Quitar primero celda T del camino óptico
28. Apagar llama (esperar que se enfríe si se va a retirar)
29. Realizar limpieza de mangueras al finalizar análisis

APAGADO:

30. Cerrar suministro de gas
31. Purgar gases (encender extractor)
32. Apagar lámparas
33. Cerrar software
34. Apagar instrumento



Anexo 5.

Grupo De Investigacion De Quimica Ambiental Y Computacional

Protocolo de digestión en el microondas milestone para muestras ambientales



Tejedor Beltran Juan Carlos ¹.

González Montes Audreis ²

(1) Estudiante (2) Asesora

**Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de
Química**

Cartagena de Indias D. T. Y C.

10 junio del 2014

1. Materiales previamente lavado (ver protocolo de lavado de materiales del **GQAC**)
2. Secar todos los materiales a utilizar
3. Marcar o rotular las chaquetas de los vasos para digestión con lápiz 2B



4. Pesar en una Balanza Analítica Pionner de Ohaus ,con capacidad 65 g a 210 g y una Sensibilidad de ± 0.0001 g los vasos para digestión; luego se tara



5. Pesar aproximadamente 500 mg ; según requiera la matriz a analizar



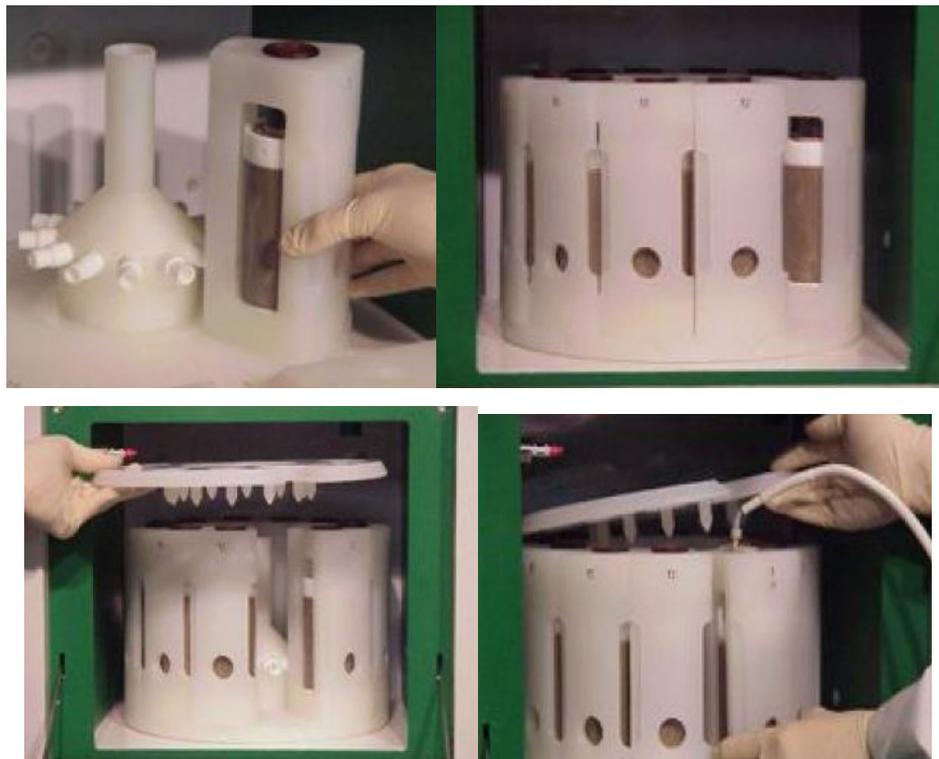
6. Llevamos los vasos a la campana de extracción BIOBASE para agregar los respectivos reactivos
7. Agregamos aproximadamente 7mL HNO_3 al 65% suprapur y 1 mL H_2O_2 al 30% suprapur dependiendo de la matriz a analizar (ver Cookbook del microondas milestone)



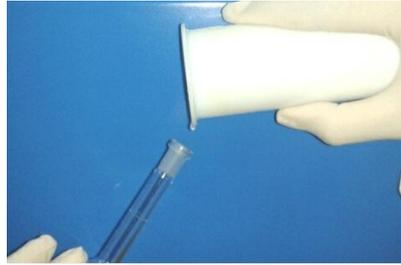
8. Sellamos o tapamos herméticamente los vasos para la digestión y con la ayuda de una llave de torsión de 10 -60 N/m presionamos hasta sellar completamente.



9. Una vez sellado se procede a colocar los vasos simétricamente en el plato de rotor de el microondas milestone; teniendo en cuenta la inserción de la termocupla en el vaso de referencia y luego se le coloca la tapa de seguridad superior.



- 10.** Programar la temperatura y tiempo de digestión según lo requiera la matriz a analizar (ver Cookbook del microondas milestone)
- 11.** Esperar una hora aproximadamente hasta disminuir la temperatura a $\pm 30^{\circ} \text{C}$
- 12.** Sacamos los vasos del microondas y los colocamos nuevamente en la cabina de extracción BIOBASE
- 13.** Destapamos con ayuda del torque de torsión de 10 -60 N/m y trasvasamos cuidadosamente en balones aforados de $10 \pm 0,025 \text{ mL}$



- 14.** Enjuagamos los vasos de digestión con agua destilada para recuperar cualquier cantidad de muestra restante



- 15.** Por ultimo procedemos a aforar con agua mili Q hasta completar su volumen.