

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS  
AMÉRICAS**

**VICERRECTORÍA ACADÉMICA**

**CARRERA DE FARMACIA**

**ELABORACIÓN Y ANÁLISIS DE UNA GUÍA PARA EL  
USO ADECUADO DE LOS ESPECTROFOTÓMETROS  
IR-UV, DEL ESTUDIANTE DE FARMACIA DE LA  
UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS**

**ESTUDIANTE**

**MILDRED ALEXIA CAMACHO FERNÁNDEZ**

**TUTOR:**

**CARLOS MORA RODRÍGUEZ**

**SAN JOSÉ, ABRIL, 2019**

## **Agradecimiento**

En primer lugar, doy gracias a Dios por la vida, el obsequiarme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. Su amor en mi vida es lo que me da fuerzas cada día y me permitió continuar sin tirar la toalla.

Gracias, Dios, por la vida de mis padres, por cada día bendecirme con la dicha de tenerlos y disfrutar al lado de ellos. Son las personas que más me aman y a las que yo más amo. Gracias a mis padres por permitirme conocer de Dios y de su infinito amor.

Gracias, Papi, por estar presente no solo en esta etapa sino en todo momento, brindándome siempre lo mejor para mi persona, por darme la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Esa confianza puesta en mí permitió que logre culminar mi carrera profesional.

Gracias, Mami, por ser el pilar más importante, demostrarme en todo momento su cariño, el gran apoyo para no desistir cuando todo parecía imposible, por siempre estar ahí con sus oraciones y por inculcar en mí el mayor ejemplo de valentía y gran esfuerzo, al no temer a las adversidades, porque Dios está conmigo siempre.

A mis hermanas Katia, Gaudy, Velvet y mi hermano Steven, de todo corazón gracias por su cariño, apoyo incondicional, oraciones, consejos, palabras de aliento, por estar conmigo en todo momento y en especial durante este proceso. Ustedes siempre me acompañan en todos mis sueños y metas. Los amo, y gracias por llenar mi vida de grandes momentos que hemos compartido.

Agradezco a toda mi familia por creer en mí, estar siempre presente. Su amor, aportes y apoyo lograron que este camino, que no ha sido fácil, fuera de motivación en mi vida para lograrlo. Le agradezco de corazón, mi bella familia.

En la vida, es difícil encontrar personas que la iluminen, que con su apoyo se logre alcanzar las metas, quienes, con sus consejos, su amor y una enorme paciencia sacan lo mejor de ti, y por eso no me canso de darle gracias a Dios, el regalarme el privilegio de tenerte en mi vida, gracias por estar ahí siempre, te amo, Fabián.

Agradezco a todos mis amig@s, pero en especial a Kristel Gómez y Pamela Meneses, por ayudarme y apoyarme cuando más las necesité, por no dudar en extenderme su mano en momentos difíciles, lo cual es algo que siempre voy a llevar en el corazón. De verdad, mil gracias, hermanitas, las quiero.

Quiero expresar un gran y sincero agradecimiento al Dr. Carlos Mora Rodríguez, el principal cooperador durante este proceso, quien con su conocimiento, enseñanza y dirección permitió el desarrollo de este trabajo.

Finalmente, doy las gracias a mi universidad por permitirme convertirme en una profesional en lo que más me apasiona. Gracias a los asistentes de laboratorio y a cada profesor, quienes, por su sabiduría, conocimiento, apoyo, me aconsejaron, alentaron y creyeron en la realización de esta tesis.

## **Dedicatoria**

Quiero dedicar esta tesis a los mayores impulsores de mis sueños, por nunca cortarme las alas, mis padres, dueños de mi corazón.

A toda mi familia, pero en especial a Velvet Camacho y Fabián Sánchez, ya que me acompañaron en este arduo recorrido y fueron un soporte muy fuerte en momentos de angustia y desesperación. Sin su cooperación, esfuerzo y dedicación no hubiese sido posible la finalización de este trabajo.

También quiero dedicar esta tesis a todos mis amig@s, futuros colegas, por todos los momentos que pasamos, por esos largos días de estudio juntos, por las tareas y trabajos que realizamos, por todas las veces que me explicaron y por la confianza que depositaron en mí.

## **Pensamiento**

*“Si puedes soñarlo puedes hacerlo, recuerda que todo esto comenzó con un ratón.”*

*Walt Disney*

## Contenido

Contenido .....	6
Contenido de Tablas .....	11
Contenido de ilustraciones .....	12
RESUMEN .....	14
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	15
Planteamiento del Problema .....	15
Objetivos .....	16
Objetivo General.....	16
Objetivos Específicos.....	17
Justificación.....	17
Antecedentes .....	22
Proyecciones.....	25
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	26
Historia del Espectrofotómetro .....	26
Espectrofotómetro .....	31
Definiciones Básicas.....	31
Absorción.....	32
Ángstrom.....	32
Banda Ancha.....	32
Coeficiente de absortividad molar ( $\epsilon$ ).....	32
Difracción.....	32
Espectrofotometría.....	32
Intensidad.....	33
Longitud de Onda.....	33
Nanómetro (nm).....	33

Refracción.....	33
Rejilla de Difracción.....	33
Principios Básicos de Operación del Espectrofotómetro .....	33
Ley de Beer Lambert. ....	36
Componentes del Espectrofotómetro.....	40
Fuente luminosa. ....	40
Monocromador.....	40
Portador de muestras.....	40
Sistema detector.....	41
Sistema de lectura.....	43
Mantenimiento del Espectrofotómetro .....	44
Inspección del Entorno.....	44
Instalación eléctrica.....	44
Lugar de Instalación.....	44
Inspección Visual al Equipo.....	45
Limpieza de Derrames.....	46
Limpieza de Cubetas de Cuarzo.....	46
Cambio de Baterías.....	46
Cambio de Bombillo o Lámpara.....	47
Mantenimiento preventivo.....	47
Buenas Prácticas Para el Uso del Espectrofotómetro.....	48
Algunos Tipos de Espectroscopía .....	49
Espectroscopía de Absorción Atómica.....	49
Espectroscopía de Fluorescencia.....	51
Espectroscopía en el Infrarrojo Medio .....	52
Espectroscopía Ultravioleta-Visible .....	53

	8
Equipo .....	54
Espectrofotómetro Infrarrojo (IR) .....	54
Lo que proporciona el FT-IR es lo siguiente. ....	57
Instrumentos para la Obtención del Espectro IR. ....	58
Disolventes adecuados para el Espectro IR .....	59
Preparación de la Muestra.....	60
Validación. ....	62
Verificación.....	65
Algunos Factores que Impactan el Desempeño de la Medición del IR. ....	65
Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible (UV-Vis) .....	67
Generalidades.....	68
Modos de excitación electrónica.....	69
Espectrometría UV-Vis para la determinación de la concentración de especies químicas ....	70
Partes básicas de un espectrofotómetro .....	70
Tipos de Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible (UV-Vis).....	75
Detección y medición de energía radiante .....	77
Fuentes de la región Uv-Vis .....	78
Aplicaciones cualitativas de la espectroscopía ultravioleta/visible .....	79
Algunos Factores que Impactan el Desempeño de la Medición del UV-Vis .....	81
<b>CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>89</b>
Enfoque .....	89
Método .....	89
Variables.....	90
Instrumentos y Técnicas .....	91
Materiales y equipo .....	91
Técnica por utilizar para realizar el procedimiento de la siguiente investigación .....	92

Fase 1: Caracterización de los Espectrofotómetro IR y UV .....	92
Fase 2: Observación de los Estudiantes Utilizando los Equipos sin el Instructivo .....	92
Fase 3: Consideración de los Errores Cometidos .....	93
Fase 4: Realización del Instructivo.....	93
Fase 5: Evaluación del Instructivo.....	93
Fase 6: Valoración de los Resultados .....	93
<b>CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>94</b>
Describir los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas. ....	94
Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR .....	94
Función de los principales componentes del equipo.....	97
Aplicaciones del equipo Cary 630 FTIR .....	98
Espectrofotómetro UV-Vis-2505 .....	99
Función de los principales componentes del equipo.....	102
Elaborar un instructivo de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas. ....	105
Encabezado general. ....	105
Objetivo. ....	105
Alcance. ....	105
Responsabilidades. ....	106
Definiciones.....	106
Materiales. ....	106
Consideraciones especiales y sus justificaciones. ....	106
Procedimiento.....	106
Documentos relacionados.....	106
Anexos.....	107
Bibliografía.....	107

Verificar la implementación de los instructivos de uso propuestos mediante la aplicación de los mismos a potenciales usuarios de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química la Universidad Internacional de las Américas. ....	108
Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR .....	109
Espectrofotómetro UV-Vis 2505.....	114
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	122
Referencias .....	125
Apéndices .....	127
Apéndice A. Reglamento para el uso del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.....	127
Apéndice B. Hojas de Cotejo empleadas para la evaluación de los usuarios.....	129
Apéndice C. Instructivos de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de química de la Universidad Internacional de las Américas. ....	133

## Contenido de Tablas

Tabla 1. Energía Electromagnética y Longitudes de Onda .....	34
Tabla 2. Espectro Luminoso y Longitud de Onda .....	35
Tabla 3. Ventajas y Desventajas del Sistema Detector .....	41
Tabla 4. Efecto e información de la radiación electromagnética sobre la materia.....	67
Tabla 5. Variables de la investigación .....	90
Tabla 6. Observaciones generadas por los asistentes de laboratorio, estudiantes y profesores durante la aplicación del instructivo de uso básico para el espectrofotómetro Cary IR 630 FTIR.....	113
Tabla 7. Observaciones generadas por los asistentes de laboratorio, estudiantes y profesores durante la aplicación del instructivo de uso básico para el espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505 .....	121

## Contenido de ilustraciones

Ilustración 1. Espectroscopía (1452-1912).....	26
Ilustración 2. Espectroscopía (1916-1936).....	27
Ilustración 3. Espectroscopía (1940-1972).....	28
Ilustración 4. Espectroscopía (1979-2009).....	29
Ilustración 5. Espectroscopía (2001-2015).....	30
Ilustración 6. Espectrofotómetro Clásico .....	31
Ilustración 7. Interacción de la Luz con la Materia.....	36
Ilustración 8. Fenómeno de Absorbancia.....	38
Ilustración 9. Gráfica de Transmitancia .....	39
Ilustración 10. Gráfica de Absorbancia.....	39
Ilustración 11. Componentes del Espectrofotómetro .....	43
Ilustración 12. Espectrofotómetro de absorción atómica de haz individual (Esquema) .....	50
Ilustración 13. Espectrofotómetro de absorción atómica de doble haz (Esquema) .....	51
Ilustración 14. Espectrofotómetro de doble haz típico. (Esquema) .....	54
Ilustración 15. Diagrama de un espectrofotómetro IR .....	55
Ilustración 16. Diseño de un Espectrómetro Simple .....	56
Ilustración 17. Espectro de Frecuencia .....	57
Ilustración 18. Espectrofotómetro IR (Componentes) .....	59
Ilustración 19. Tipos de monocromadores .....	73
Ilustración 20. Efecto de luz espuria .....	84
Ilustración 21. Absortividad molar vs. Absorbancia.....	85
Ilustración 22. Tipos de celdas usados comúnmente .....	87
Ilustración 23. Mesa de trabajo del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR.....	95
Ilustración 24. Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR.....	96
Ilustración 25. Partes del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR.....	96
Ilustración 26. Mesa de trabajo del espectrofotómetro UV-Vis-2505 .....	100
Ilustración 27. Partes del espectrofotómetro UV-Vis-2505 .....	101
Ilustración 28. Detalles exteriores del espectrofotómetro UV-Vis-2505 .....	101
Ilustración 29. Detalles internos del espectrofotómetro UV-Vis-2505.....	102

Ilustración 30. Gráfico del conocimiento y habilidades de los estudiantes sobre el espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR .....	110
Ilustración 31. Gráfico del desempeño de los estudiantes con el instructivo de uso básico para el espectrofotómetro Cary IR 630 FTIR .....	112
Ilustración 32. Gráfico del conocimiento del equipo espectrofotómetro UV-Vis 2505 .....	114
Ilustración 33. Gráfico sin instructivo.....	116
Ilustración 34. Gráfico con instructivo.....	118
Ilustración 35. Gráfico comparativo.....	120

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivos crear un instructivo de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio, para los estudiantes de la Universidad Internacional de las Américas y analizar su implementación.

Para desarrollar la investigación primeramente se examinó el manual que proporciona la empresa fabricante de cada equipo, en el cual se identifican las partes que lo conforman y su funcionamiento, y así obtener una óptima manipulación de los aparatos.

Luego, se diseñaron los instructivos de uso básico de los equipos; ambos se encuentran en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

Para finalizar, se verificó la implementación de los instructivos de uso, propuestos en la hoja de cotejo, formulando la evaluación para el correcto uso de los mismos, por parte de los usuarios, donde los resultados indicaron la urgencia de la implementación de los instructivos básicos para el uso de los equipos, para que sean de utilidad a los usuarios, y así poder minimizar el riesgo de una mala práctica de estos, como se detectó en el instrumento UV-Vis-2505, donde constantemente los usuarios repetían un mismo error al manipularlo y, en el caso del equipo espectro IR Cary 630 FTIR, desconocían totalmente su uso.

El instructivo aportará un conocimiento básico a todas las personas que requieran del uso de estos, permitiéndoles una manipulación eficiente y eficaz del equipo, y no limitarse solamente al conocimiento que se posee actualmente sin la implementación de una guía básica.

En esta investigación se limitó a proveer una información básica de usos para los equipos; un futuro trabajo podría extender el desarrollo para ampliar ese uso.

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### Planteamiento del Problema

En la industria farmacéutica se emplean distintos equipos para realizar un análisis, ya sea en materia prima, producto terminado, estudios de estabilidad, entre otros, que son de gran importancia a la hora de reportar resultados. Por eso, es importante que en la formación universitaria se implemente el uso correcto de estos, para que se conozcan aspectos básicos y ponerlos en práctica para desempeñarse con mayor facilidad en esta área.

Para poder lograr el más alto nivel de exactitud y fiabilidad, es esencial realizar todos los procesos y procedimientos del laboratorio de la mejor forma posible. El laboratorio es un sistema complejo, que implica muchos pasos de actividad y a muchas personas. La complejidad del sistema exige que se lleven a cabo de forma adecuada diversos procesos y procedimientos. Por tanto, el modelo de sistema de gestión de la calidad, que examina todo el sistema, es muy importante para lograr un buen rendimiento en el laboratorio. (OMS, 2016, p. 10).

Con respecto a lo anterior, esta investigación se enfoca en la necesidad de la implementación de los instructivos de uso básico para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, aportando una herramienta útil para los usuarios, de fácil comprensión, mejorando su experiencia en el laboratorio de química, ya que, tanto profesores como estudiantes necesitan una capacitación previa, para asegurar un funcionamiento adecuado de los equipos.

El trabajo de laboratorio es una de las herramientas fundamentales a la hora de enseñar. Brinda la posibilidad de verificar, en forma adecuada, algunos de los fenómenos químicos que se estudian en la teoría, permitiendo que los estudiantes se enfrenten a un aprendizaje desde lo práctico.

Incorporar trabajo de laboratorio dentro de los procesos de enseñanza de la Química es una necesidad que se hace evidente en el momento que se pretende hacer que el estudiante adquiera los conceptos relacionados con esta ciencia y que además le permite acercarse adecuadamente a las competencias básicas en ciencias naturales. (Durango, 2015, p. 14).

El uso correcto de un equipo científico posibilita asegurar y garantizar la calidad de la información obtenida en los análisis que se realicen con el espectrofotómetro. Aunado al manual de gestión de la calidad en el laboratorio, de la Organización Mundial de la Salud, todo laboratorio requiere de una manipulación eficiente y eficaz de los equipos siendo, como requisito fundamental, el cumplimiento de una adecuada gestión de los instrumentos, teniendo un instructivo que permita comprender de una forma clara el funcionamiento de equipo a utilizar. (2016, p. 36).

Esto brindará una buena gestión de la calidad, accediendo el usuario a la manipulación veraz del instrumento, evitando costos de reparación, prolongando la vida útil y reduciendo la interrupción de uso indebido a las averías y fallos, según lo indicado por la Organización Mundial de la Salud. (2016, p. 10).

A causa de la falta de información, los usuarios de la carrera de Farmacia, así como de otras carreras que imparte la Universidad Internacional de la Américas, y que requieren del uso de los espectrofotómetros IR y UV-Vis, desconocen de manera detallada y descriptiva el funcionamiento y las buenas prácticas de uso de este instrumento, siendo esto una debilidad tanto para el estudiante como para la institución.

Esta investigación está dirigida a atender la siguiente interrogante: ¿Al elaborar e implementar un instructivo de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 en el laboratorio de Química, de la Universidad Internación de las Américas, mejorará la manipulación de los equipos por parte de los usuarios?

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

-Analizar la implementación de los instructivos de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química , para los estudiantes de la Universidad Internacional de las Américas.

## **Objetivos Específicos**

-Describir los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

-Elaborar un instructivo de uso básico para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

-Verificar la implementación de los instructivos de uso propuestos mediante la aplicación de los mismos a potenciales usuarios de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química la Universidad Internacional de las Américas.

## **Justificación**

La Universidad Internacional de las Américas cuenta con un laboratorio, equipado con instrumentos de alto valor científico, entre los que destaca el espectrofotómetro:

La palabra espectrofotómetro se deriva de la palabra latina *spectrum*, que significa imagen, y de la palabra griega *phos* o *photos*, que significa luz. El espectrofotómetro, construido mediante procesos avanzados de fabricación, es uno de los principales instrumentos diagnósticos y de investigación desarrollados por el ser humano. Utiliza las propiedades de la luz y su interacción con otras sustancias, para determinar la naturaleza de las mismas. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 107).

Sin embargo, el equipo, descrito anteriormente, no cuenta con un instructivo de implementación por parte de la Universidad, para que los usuarios, que deben trabajar en los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, tengan un guía sobre el manejo, por lo que esta investigación brindará un gran aporte a la institución y a ellos, al contar con una capacitación sobre la adecuada manipulación, permitiendo mejorar el conocimiento de los estudiantes sobre el equipo que se utiliza.

Con la incorporación de estos instructivos se pretende mejorar el uso de estos equipos en las diferentes prácticas de laboratorio, para que los usuarios utilicen una técnica adecuada obteniendo resultados precisos y confiables. Estos instructivos cuentan con lo indicado por el fabricante para operar, mantener y poder trabajar adecuadamente con los equipos, y así evitar que estos sufran daños o que los datos reportados sean irregulares.

Esta investigación tiene como relevancia social el aporte de un instructivo básico sobre el uso correcto, cuidados y mantenimiento de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, ya que a la fecha la Universidad solo imparte una breve explicación de los mismos, dejando a los estudiantes con inseguridades sobre la adecuada manipulación del equipo, lo que puede ocasionar riesgos tanto para la Universidad como para el usuario. (Véase el apéndice A).

La enseñanza de las ciencias y en especial de la química requiere de variedad de actividades y estrategias que permitan que los estudiantes puedan tener un acercamiento efectivo al aprendizaje de esta área mediante la experimentación, como componente práctico de las ciencias; ya que solo se aprende ciencias haciendo ciencia. (Durango, 2015, pp.17-18).

Una de estas estrategias son las prácticas de laboratorio o también conocidas como trabajo práctico, donde el aula de clase se convierte en un ambiente práctico generador de conocimiento, donde se ponen a prueba técnicas de experimentación y se desarrolla el quehacer científico permitiendo resolver situaciones problema de manera grupal o individual. (Durango, 2015, pp.17-18).

Entonces, las prácticas de laboratorio empleadas como una estrategia didáctica permiten establecer una relación directa entre los conceptos teóricos y la práctica, además de lograr que el estudiante desarrolle habilidades y destrezas que contribuirán en su proceso de formación. (Durango, 2015, pp.17-18).

El acercamiento de los estudiantes con los equipos del laboratorio debe ser dirigido por medio de procedimientos fáciles y comprensible en la práctica, asegurando el uso adecuado de los mismos.

Para poder lograr el más alto nivel de exactitud y fiabilidad, es esencial realizar todos los procesos y procedimientos del laboratorio de la mejor forma posible. El laboratorio es un sistema complejo, que implica muchos pasos de actividad y a muchas personas. La complejidad del sistema exige que se lleven a cabo de forma adecuada diversos procesos y procedimientos. Por tanto, el modelo de sistema de gestión de la calidad, que examina todo el sistema, es muy importante para lograr un buen rendimiento en el laboratorio. Además, la gestión de los equipos es uno de los elementos esenciales del sistema de gestión de la calidad. (Organización Mundial de la Salud , 2016, p. 10).

Este instructivo de uso básico está dirigido a los estudiantes y al personal que requieran el uso de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química, en virtud de que el equipo es utilizado tanto por las áreas de Farmacia como por otras carreras de la Universidad, teniendo como finalidad inculcar las sanas prácticas del uso del mismo.

El control de la calidad (CC) es un componente de la gestión de procesos y un elemento clave del sistema de gestión de la calidad. Supervisa los procesos relacionados con la fase analítica del análisis y ayuda a detectar los errores del sistema de análisis. Estos errores podrían producirse a consecuencia de un fallo en el sistema, condiciones ambientales adversas el rendimiento del operador. (Organización Mundial de la Salud, 2016, p. 79).

Para los procedimientos estandarizados, es importante destacar lo que solicita la regulación a la industria como ejemplo para aprender y educar a los usuarios en el seguimiento de procedimientos, manejo de equipos y construcción de documentación. La incorporación de los instructivos desea motivar a la Universidad para la elaboración de documentos sobre los equipos y procedimientos del laboratorio de Química; los cuales forman parte de un Sistema de Gestión de Calidad que refleja las Buenas Prácticas de Laboratorio.

“Cuando todos los procedimientos y procesos del laboratorio se organizan en una estructura comprensible y práctica, aumentan las oportunidades de garantizar que todo se gestiona de forma adecuada.” (OMS, 2016, p.13).

La elaboración de un modelo de sistema de gestión de calidad permite a los usuarios manejar con mayor facilidad la temática y comprender criterios científicos enfocados hacia la calidad. Tanto la Universidad como los estudiantes tendrán el beneficio de contar con un instructivo de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, asegurándose la institución de que los usuarios cuenten con una capacitación sobre el manejo antes, durante y después del uso de este equipo, ya que contarán con una herramienta con la que podrán aclarar dudas. No solamente abarca la manera de utilizarlos, sino de aplicar procedimientos que alarguen la vida útil de los equipos, así como otros aspectos de seguridad que en la actualidad están ausentes.

El desarrollo alcanzado a nivel tecnológico-científico ha incorporado en los equipos infinidad de funciones y modos particulares de operación, que necesariamente conllevan a implementar programas que permitan aportar los recursos para mantener dicho equipamiento en las mejores condiciones de operación. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 13).

La cita, anteriormente descrita, aporta los avances de la tecnología y el cuidado que se debe tener al manipular equipos de valor científico. No obstante, al no contar con un instructivo adecuado, que instruya sobre las funciones y el uso óptimo del equipo, representa un riesgo tanto para el usuario como para la preservación del instrumento.

Al finalizar esta investigación, se pretende implementar un instructivo de uso básico para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, orientando al usuario para alcanzar un mejor desempeño del instrumento.

Antes de analizar muestras de pacientes, es importante evaluar el rendimiento de los nuevos equipos para asegurarse de que están funcionando correctamente con respecto a la exactitud y la precisión. Además, es necesario evaluar los métodos de análisis que utilizan kits o instrumentos de laboratorio para comprobar la capacidad para detectar enfermedades (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo) y para determinar los intervalos normales y los notificables. (Organización Mundial de la Salud, 2016, p. 41).

Con la evaluación del instructivo al aplicarse a los usuarios, se pueden identificar distintas variables, donde las inquietudes que surjan se puedan considerar para incorporarlas y enriquecer de este modo la investigación mediante la retroalimentación.

Es rescatable la importancia del equipo, ya que logra desarrollar habilidades que se aplicarán de manera general en un futuro, siendo el instructivo una guía para el conocimiento y facilidad del uso adecuado, y no un reemplazo del manual original que genera el proveedor del espectrofotómetro.

Es importante que se garantice la calidad en el contexto de desarrollo de medicamentos y de salud pública.

La calidad de un laboratorio se puede definir como la exactitud, fiabilidad y puntualidad de los resultados analíticos notificados. Los resultados analíticos deben ser lo más exactos posible, todos los aspectos de las operaciones analíticas deben ser fiables y la notificación de los resultados debe ser puntual para ser útil en el contexto clínico o de la salud pública. (OMS, 2016, p.10).

Es por ello que los resultados analíticos producidos por los laboratorios relacionados con la salud, dependen de la exactitud de los análisis y de su notificación. “Si los resultados son inexactos, las consecuencias pueden ser muy significativas, entre ellas: tratamientos innecesarios; complicaciones del tratamiento; falta de proporcionar el tratamiento adecuado; retrasos en el diagnóstico correcto y pruebas diagnósticas adicionales e innecesarias.” (OMS, 2016, p.10).

## Antecedentes

Actualmente el espectrofotómetro ha sido uno de los instrumentos más importantes que se han desarrollado en los avances de la biociencia, el cual permiten medir la intensidad de luz absorbida de una muestra, brindando información sobre la longitud de onda y la cantidad de sustancia presente en el objeto a evaluar.

En las últimas décadas se han desarrollado estudios con distintos métodos, usos y aplicaciones del espectrofotómetro, logrando un enfoque en la gran cantidad de áreas en las cuales este instrumento llega a ser muy útil, aumentando la información sobre el mismo a nivel industrial y científico, logrando mayor conocimiento tanto en Farmacia como en otras áreas profesionales.

En el 2013, en México, se realizó una caracterización de la película radiocrómica EBT2 con diferentes sistemas ópticos, elaborada por León, García y Camacho. Se utilizaron tres sistemas ópticos (escáner, espectrofotómetro y láser), y se mencionó que con respecto al espectrofotómetro se encontraron dos picos en 585 nm y 636 nm, siendo este el que posee mayor diferencia, lo que demuestra que tanto el láser como el espectrofotómetro influyen en la incertidumbre total en la determinación de la dosis, y en ambos es posible utilizarlos como sistemas ópticos alternativos para analizar las películas radiocrómica EBT2.

Acosta et al., en el 2014, hablaron sobre el Efecto de las soluciones pigmentantes en el color de dientes tratados con ortodoncia fija: un estudio in vitro, en Colombia, donde realizaron una evaluación de las alteraciones del color dental con tres bebidas oscuras (Coca-Cola, vino tinto y café); el color fue medido antes y después de la exposición a las sustancias con un espectrofotómetro, el cual interpretó tres parámetros de color utilizados por el sistema Commission Internationale de l'Eclairage. Se menciona que se presentaron cambios significativos con la ayuda del espectrofotómetro, donde el color con mayor diferencia fue la Coca-Cola y el menor con el café.

En Colombia, en el 2014, Gutiérrez, Ortiz, Hincapié y Ramírez aportaron sobre la Evaluación in vitro de dos fármacos de uso veterinario frente a patógenos causantes de otitis externa en perros. Su población fue un total de 27 perros con otitis externa, los cuales se aislaron por cepas. Se prepararon soluciones de gentamicina y clotrimazol. En el espectrofotómetro se midió cada 2 horas el crecimiento de microorganismos a una densidad óptica de 660 nm, donde se

logró comprobar, con la ayuda del espectrofotómetro, que la gentamicina, en una dosis de 3 mg/ml, era la adecuada para una correcta inhibición de agentes bacterianos causantes de otitis. Por otra parte, el clotrimazol en 14 mg/ml es óptimo para otitis por levaduras.

En un estudio, en el 2015, en la Universidad Nacional del Nordeste, Argentina, se llevó a cabo una correlación entre los niveles de fosfatasa alcalina salival (FAL) y la profundidad de la bolsa periodontal, realizada por Acuña, Armando, Cuzziol y Juárez, donde utilizaron 90 pacientes, tanto sanos como con periodontitis; las muestras de saliva fueron evaluadas mediante un espectrofotómetro a 520 nm para medir las concentraciones de FAL, y con base en los resultados obtenidos por el espectrofotómetro, se logró mostrar que la destrucción periodontal está relacionada con altos niveles de FAL, y que la misma está relacionada como un potencial marcador de enfermedad periodontal.

Martínez, et al., en el 2015, en Colombia, investigaron sobre la Determinación espectrofotométrica del eritema en psoriasis, que es una enfermedad caracterizada por tres parámetros físicos (eritema, grosor y descamación), en la cual, por medio del espectrofotómetro de reflexión difusa, se observó una relación directamente proporcional entre el grado de eritema y la pendiente de la curva de reflectancia, en una longitud de onda de 600 a 700 nm. Esta técnica permite el estudio, análisis y caracterización de la piel. La población para dicho estudio estuvo formada por 12 pacientes de todas las edades y ambos sexos. Gracias a este método con el espectrofotómetro, se permitió cuantificar las variaciones físicas del eritema y lograr una metodología para el control de los pacientes con eritema en psoriasis.

En la Universidad Nacional de Colombia, Villada y Hormanza, en el 2015, desarrollaron un Análisis simultáneo de la remoción de azul brillante (AB) y rojo 40 (R40) mediante espectrofotometría de derivadas, donde, debido a que la industria alimentaria y textil contienen una gran cantidad de mezcla de colorantes, evaluaron la absorción de la mezcla de colorante R40 y AB sobre la corteza de coco bajo sistema discontinuo, considerando variantes como pH, concentración de colorantes, dosificación de adsorbentes y temperatura, con la ayuda del espectrofotómetro UV-Vis para su cuantificación, dando como resultado que AB presentó menor influencia debido a la presencia del R40, ya que el R40 es 3,7 veces mayor, existiendo AB, gracias a los resultados obtenidos por el espectrofotómetro.

En el mismo año 2016, pero en Cuba, se realizó una investigación sobre el efecto de la combinación de bases nutritivas con el inhibidor sobre la recuperación de salmonelas, donde sus autores, López, Zhurbenko y Rodríguez realizaron una comparación de la promoción de crecimiento bacteriano de seis cepas de *Salmonella* y *Shigella*. El incremento de la biomasa se determinó a través de un espectrofotómetro a 640 nm cada hora, en el cual quedaron demostradas, con la ayuda del espectrofotómetro, las diferencias significativas, y se comprobó que la combinación de bases nutritivas originales con selenito de sodio permite una adecuada recuperación de las especies de salmonelas.

Mientras que, en el 2016, en la Universidad de La Salle, en Colombia, Castro et al. realizaron una Evaluación de la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto: proyecto de aula. Ellos desarrollaron cuatro ensayos con diferentes concentraciones de la solución limpiadora, en comparación con la solución de albúmina, utilizando el espectrofotómetro a una absorbancia de 540 nm, donde se logró observar una disminución en la absorbancia en las soluciones de albúmina tratadas con diferentes concentraciones de solución limpiadora. Con esto se encontró una degradación de proteínas por acción de la solución, y gracias a la ayuda del espectrofotómetro, se consideró de importancia el uso de estas soluciones con actividad proteolítica en la limpieza y cuidado de lentes, por lo que recomendaron su empleo entre los que las utilizaban.

Adicionalmente, Baeza, Ruiz y Carrasco, en el 2016, en Chile, realizaron un Análisis colorimétrico y morfométrico de la flor de *Alstromeria Presliana* (Alstroemeriaceae), en el cual la población comprendía acerca de *A. presliana subsp. presliana* y *A. presliana subsp. Australis*; de estas se analizó el color de los tépalos florales y la morfología, utilizando el espectrofotómetro para el análisis colorimétrico, donde mostró una leve diferencia en el rango de 400-460 nm para *subsp. Presliana*, pero siendo un poco superior para *subsp. Australi*, entre 600-700 nm. Los resultados permiten aportar que con el color y tamaño de los tépalos florales se pueden distinguir las subespecies de *A. presliana*, y los datos colorimétricos obtenidos por el espectrofotómetro pueden aportar nueva información para la delimitación de especies de este y otros géneros.

En el presente año, 2018, Camelino et al. estudiaron sobre la Optimización de un procedimiento para la determinación de oro mediante espectrofotometría UV/VIS, el cual se realizó, mediante el empleo de oro puro disuelto en una solución de agua regia, donde se obtuvieron

los espectros de absorción directa a una longitud de onda de 332 nm, lo que llevó a la determinación cuantitativa de Au en muestras de chatarra electrónica, e indicó que es posible la construcción de una curva-patrón utilizando las longitudes de onda, gracias al espectrofotómetro UV-Vis.

### **Proyecciones**

Implementación de un instructivo básico para una correcta manipulación de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, dirigido a estudiantes, profesores y asistentes de laboratorio así como para otros usuarios.

Esta investigación pretende basar sus resultados en la opinión de los estudiantes de Farmacia que cursen Análisis de Drogas, a los cuales se les capacitará mediante los instructivos de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505. Para así determinar la importancia de una inducción previa a las prácticas de Laboratorio que realizan los estudiantes.

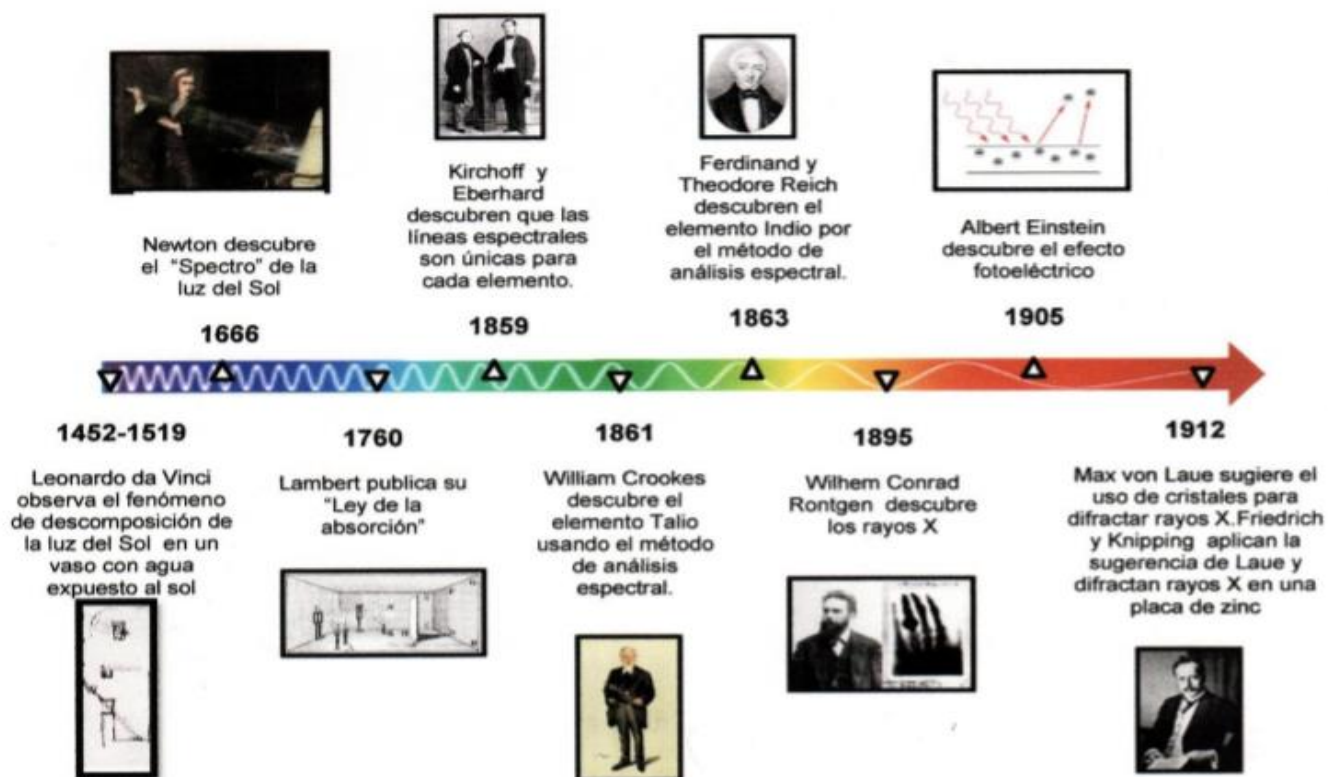
## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

En este capítulo se definen conceptos importantes para comprender en profundidad el tema en estudio, y así lograr fundamentar el análisis de los resultados, por lo cual se realizó una revisión bibliográfica en diferentes fuentes de información.

### Historia del Espectrofotómetro

El renacimiento de las luces de colores se dio entre los años 1452 y 1519, cuando Leonardo da Vinci observó la luz del sol, a través de un vaso con agua, y a partir de ese momento se fueron desarrollando más registros documentales sobre ese fenómeno, tal como se puede apreciar en la ilustración siguiente:

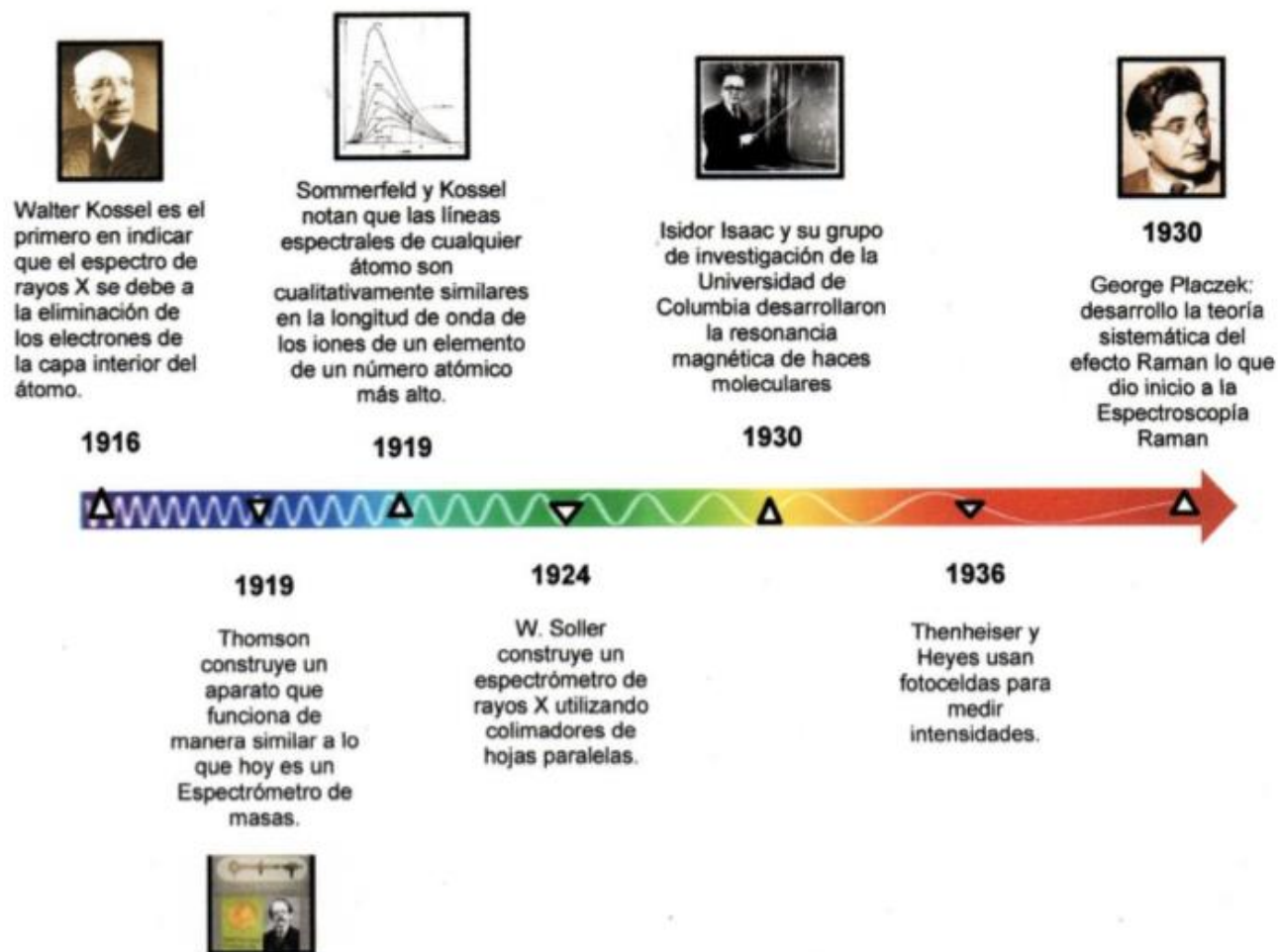
#### Ilustración 1. Espectroscopía (1452-1912)



Nota: González y Montaña, 2015.

Para los años de 1916 a 1936 se dieron hechos relevantes con el espectro de rayos X, tal como lo podemos apreciar en la siguiente imagen:

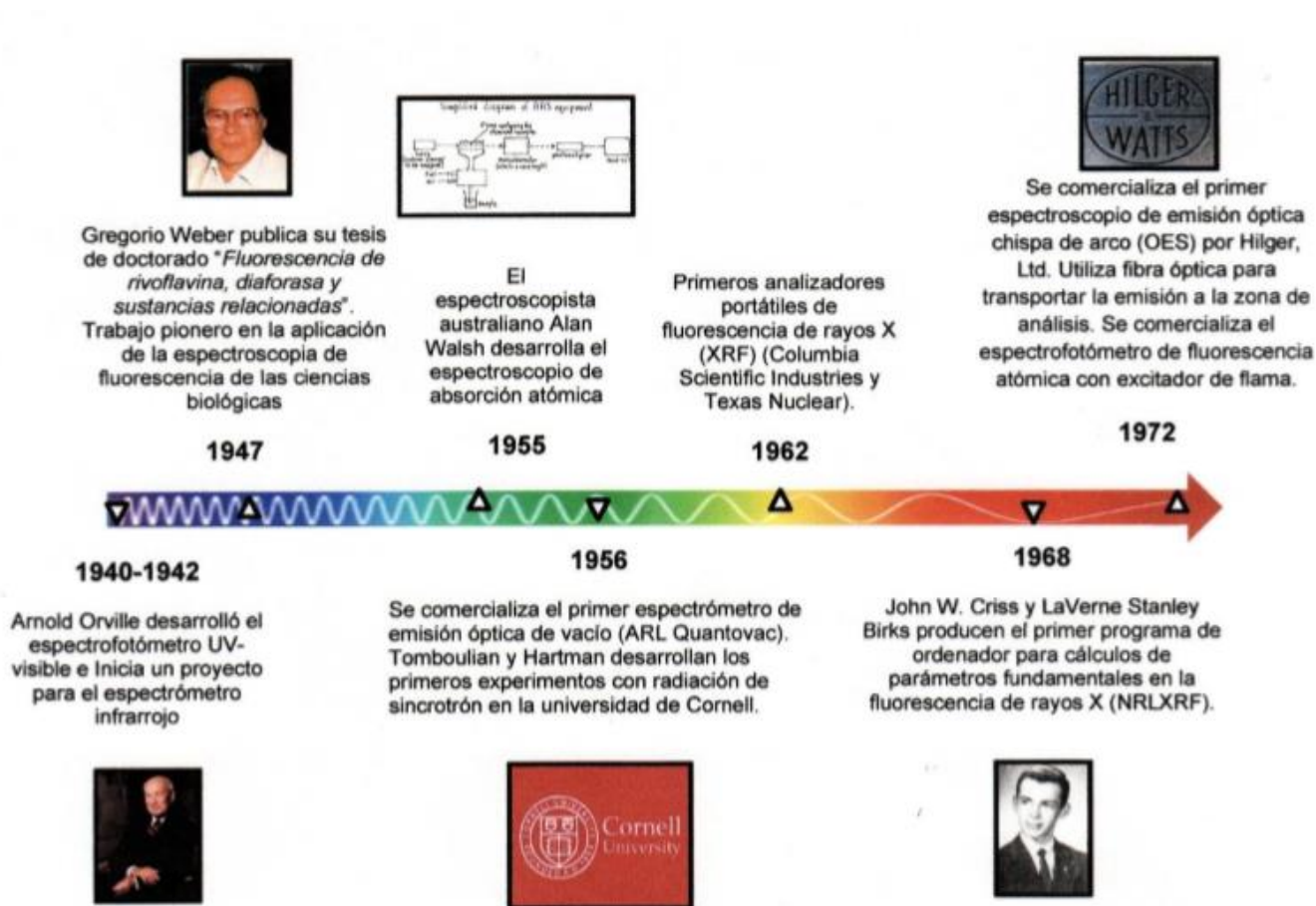
### Ilustración 2. Espectroscopía (1916-1936)



Nota: González y Montaña, 2015.

En los siguientes años, a partir de 1940, los descubrimientos iban en avance, pues se creó el tubo fotomultiplicador, se produjeron rejillas de baldosa, se dio la publicación del trabajo pionero en la aplicación de la espectroscopía de fluorescencia de las ciencias biológicas, llamado “Fluorescencia de riboflavina, diaforasa y sustancias relacionadas”, se desarrolló el primer espectrógrafo de fluorescencia para el estudio de la vitamina B12, entre otros descubrimientos ilustrados a continuación:

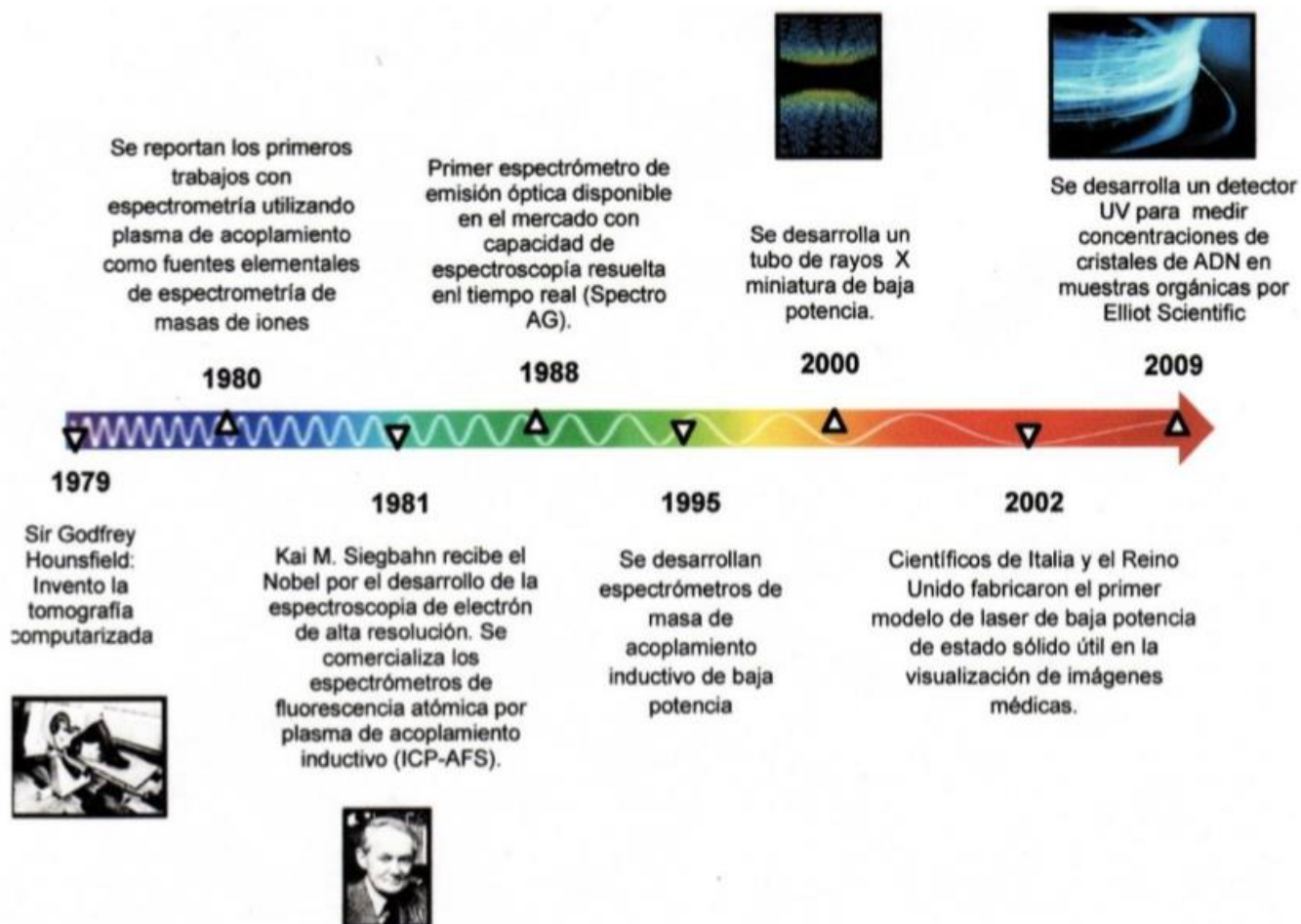
### Ilustración 3. Espectroscopía (1940-1972)



Nota: González y Montaña, 2015.

Durante los años que van de 1979 al 2009 son documentados los primeros trabajos con espectrometría en plasma de acoplamiento, se entrega el Nobel al físico suizo Kai M. Siegbahn, por el desarrollo de la espectroscopía de electrón de alta resolución, se mercantilizan los espectrómetros de fluorescencia atómica por plasma de acoplamiento inductivo, también es creado el primer multi-colector para espectroscopía de masas de ionización termal, y demás hechos relevantes que se detallan en la siguiente imagen:

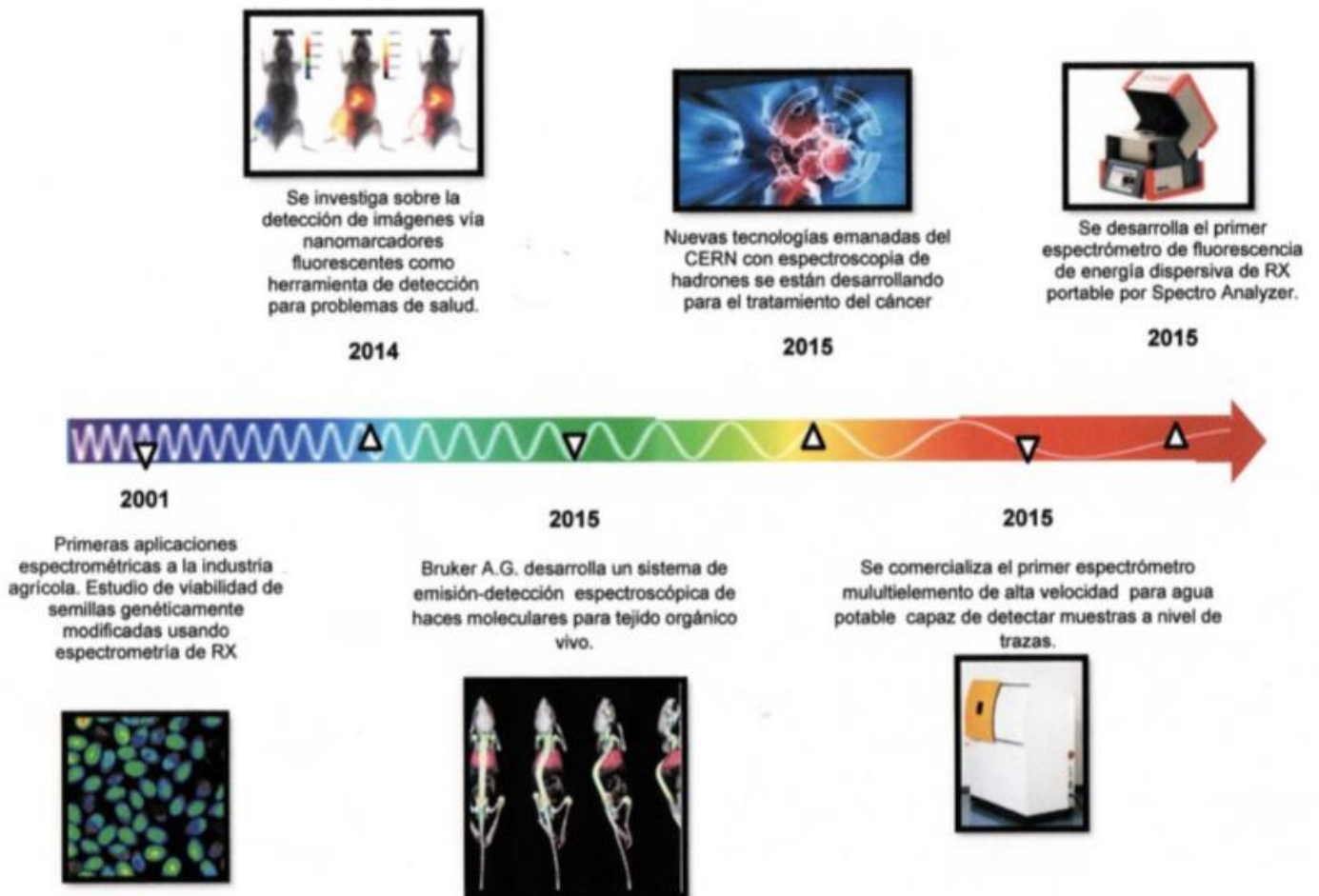
#### Ilustración 4. Espectroscopía (1979-2009)



Nota: González y Montaña, 2015.

En estos últimos años, para los problemas de salud, se ha investigado sobre la detección de imágenes vía nanomarcadores fluorescentes como herramienta de detección; para el tratamiento del cáncer se han desarrollado nuevas tecnologías con espectroscopia de hadrones y, como muestra la imagen siguiente, se incorpora al mercado el primer espectrómetro multielemento de alta velocidad para agua potable, con una capacidad de detectar muestras a nivel de trazas:

**Ilustración 5. Espectroscopía (2001-2015)**



Nota: González y Montaña, 2015.

## Espectrofotómetro

Este equipo tiene como fin medir la concentración de una muestra, logrando así el cumplimiento de análisis cuantitativos.

### Ilustración 6. Espectrofotómetro Clásico



Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

### Definiciones Básicas

Las siguientes definiciones están presentes, con el fin de lograr una mayor comprensión y entendimiento del espectrofotómetro, en la lectura del presente trabajo.

**Absorción.**

Es cuando los átomos o moléculas de una sustancia absorben luz y, dependiendo de la longitud de onda de la luz, se producen diferentes efectos como, por ejemplo, en la luz ultravioleta, que produce órbitas de gran nivel energético a los electrones y, por otra parte, la luz infrarroja causa un efecto de vibración atómica.

**Ángstrom.**

Su símbolo es (Å) y es una unidad de longitud que es igual a  $10^{-10}$  metros. Es muy útil para calcular niveles de radiación X o gama.

**Banda Ancha.**

Es un rango de longitud de onda, transmitida por el monocromador.

**Coefficiente de absortividad molar ( $\epsilon$ ).**

Indica qué tan fuerte la sustancia absorbe luz, de una determinada longitud de onda. Cuando se presenta más de una sustancia absorbente en la muestra, la absorbancia total es la suma de las absorbancias de las diferentes sustancias.

**Difracción.**

Cuando los rayos presentan un movimiento ondulatorio se salen de una línea recta, sin importar que el medio se homogéneo.

**Espectrofotometría.**

Investigación cuantitativa del espectro lumínico. Estudia muestras orgánicas e inorgánicas en ciertas longitudes de onda.

**Intensidad.**

Esta toma en cuenta la energía por unidad de volumen, y es multiplicada por la velocidad con la que se mueve la energía; el resultado contiene dimensiones de energía dividida por área.

**Longitud de Onda.**

Distancia entre dos picos de una onda. La longitud presenta una relación inversa con la frecuencia, que es la cantidad de picos mostrados en un punto, a un tiempo específico.

**Nanómetro (nm).**

Se representa  $10^{-9}$  metros, y es utilizado para calcular longitudes de onda de luz visible o ultravioleta.

**Refracción.**

Es un cambio de direcciones, que es causada cuando un rayo de luz llega a un punto de división de dos medios.

**Rejilla de Difracción.**

Instrumento dispersivo de la luz, formado por unas hendiduras paralelas. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, pp.118-119).

**Principios Básicos de Operación del Espectrofotómetro**

La luz es una forma de energía electromagnética, donde esta en el vacío presenta una velocidad constante (C) y universal alrededor de  $3 \times 10^8$  m/s. En un medio transparente por el que atraviesa la luz; la velocidad por lo general será inferior y podrá calcularse mediante la ecuación:

$$v_0 = \frac{C}{n}$$

En la cual, se representa como:

- $v$  = velocidad a través de la muestra en la que atraviesa la luz.
- $n$  = índice de refracción del medio, se encuentra entre 1.0 y 2.5. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.107).

La energía electromagnética contiene una amplia gama de longitudes de onda. Algunos ejemplos se muestran a continuación:

**Tabla 1. Energía Electromagnética y Longitudes de Onda**

<b>Tipo de energía electromagnética</b>	<b>Rango de la longitud de onda</b>
Ondas de Radio	De pocos metros a pocos kilómetros
Ondas de Radar	1 a 10 cm
Ondas Infrarrojas	1 a 10 micras
Luz Visible	300 a 700 nm (nanómetros)
Rayos X	0,1 a 0,5 Å (Ángstrom)
Rayos gama	Aprox. 0,0012 Å

Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

Cuando la luz pasa por distintos medios, se presentan fenómenos, entre los que se encuentran la reflexión, refracción, difracción, absorción, difusión, polarización y otros usados en diversos instrumentos y dispositivos, por lo que los rangos de longitud de onda que utiliza el espectro luminoso para realizar pruebas de espectrofotometría son:

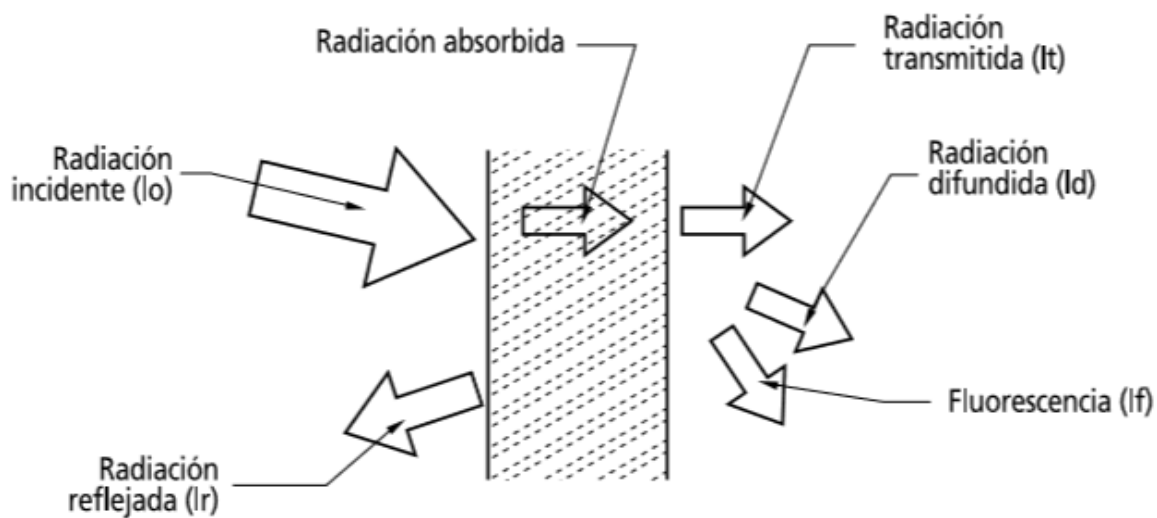
**Tabla 2. Espectro Luminoso y Longitud de Onda**

<b>Región del espectro luminoso</b>	<b>Rango de la longitud de onda</b>
Ultravioleta	10-200 nm
Ultravioleta Cercano	200-280 nm
Luz Visible	380-780 nm
Infrarrojo Cercano	780-3 000 nm
Infrarrojo Medio	3 000-20 000 nm
Infrarrojo Lejano	30 000-300 000 nm

Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

La radiación incidente tiene transformaciones, y esta se divide en varias, ya que una parte se refleja, otra se transmite, mientras que una se difunde y otra parte se absorbe e incide en fenómenos como la fluorescencia, principalmente los fenómenos en los que se basa la espectrofotometría son absorción y la transmisión, pero para comprender cómo se utilizan estos se debe conocer la ley de Beer Lambert. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 109).

## Ilustración 7. Interacción de la Luz con la Materia



Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

### Ley de Beer Lambert.

Se conoce como ley de Beer o Beer Lambert Bouguer. Identifica la relación que hay entre la concentración de la muestra y la intensidad de la luz. En esta ley se presentan dos conceptos, transmitancia (T) y absorbancia (A).

- La (T) es una fracción de la luz incidente, que a una longitud de onda atraviesa una muestra. Se representa por la ecuación:

$$T = \frac{I_t}{I_o}$$

Donde:

- $I_t$  = intensidad de la radiación transmitida.
- $I_o$  = intensidad de la radiación incidente.

Y el porcentaje de transmitancia (%T) se calcula como:

$$\%T = \frac{I_t}{I_o} \times 100$$

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.109).

- La (A) es la concentración de moléculas absorbentes de luz en la muestra y se expresa de la siguiente manera:

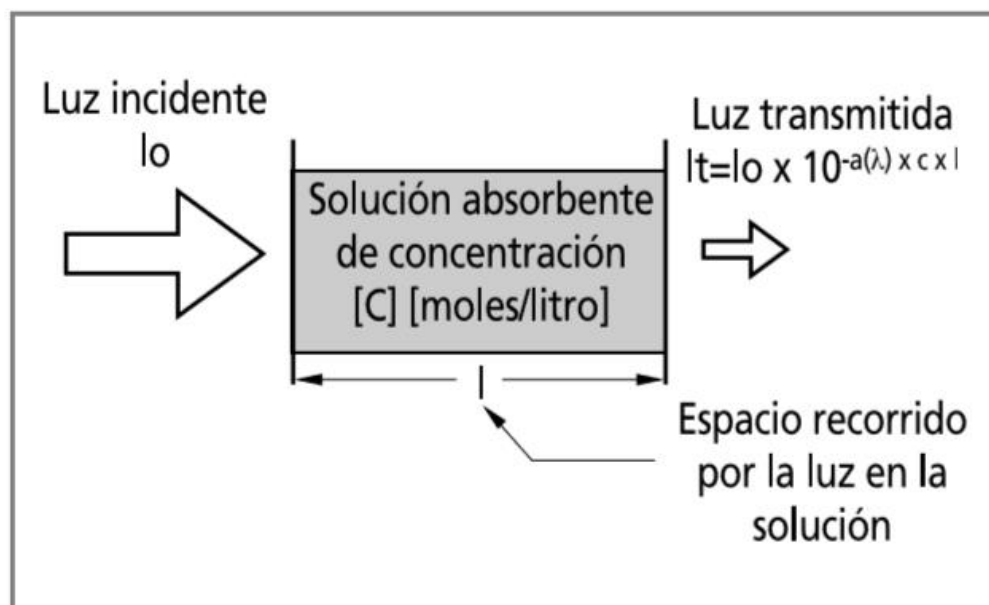
$$A = \varepsilon \times l \times c$$

De manera que:

- A = absorbancia medida.
- $\varepsilon$  = coeficiente de absortividad molar (litros/moles/cm).
- l = distancia de la luz dentro de la muestra.
- c = concentración de la muestra (moles/litros).

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 109).

### Ilustración 8. Fenómeno de Absorbancia



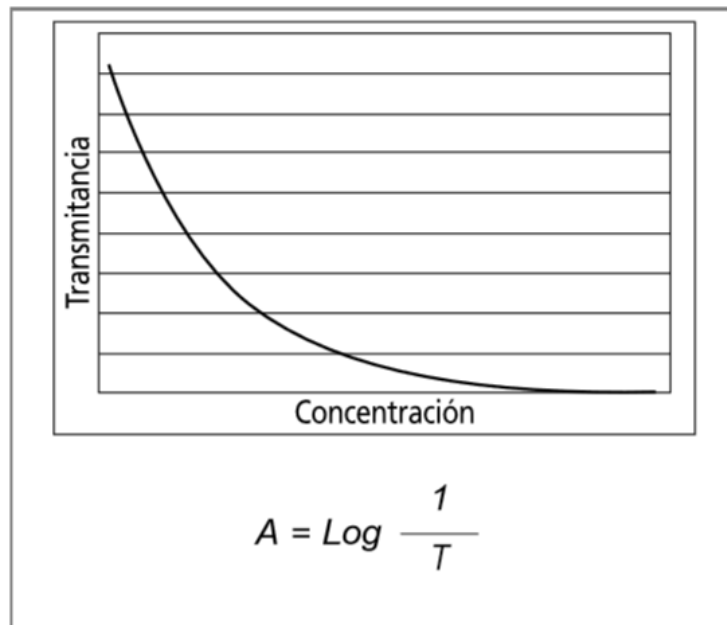
Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

La (A) y la (T) están relacionadas por medio de la ecuación:

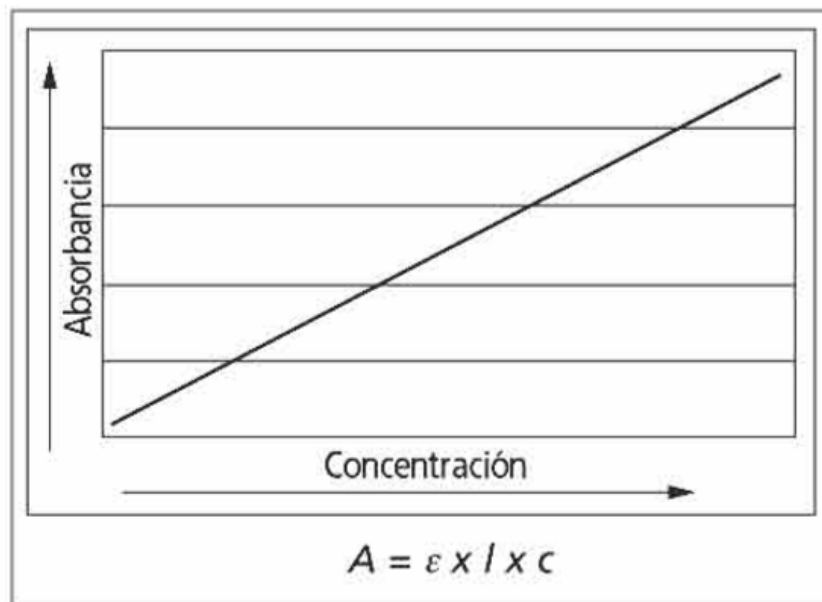
$$A = \log_{10} \frac{1}{T} = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = \text{Log} 10^{\varepsilon x c x l} = \varepsilon x c x l$$

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.109).

Tanto la transmitancia como la absorbancia, ambas generan distintas curvas en función de la concentración con respecto a la ley de Beer, en la que se basa la espectrofotometría, las cuales se presentan en las siguientes ilustraciones:

**Ilustración 9. Gráfica de Transmitancia**

Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

**Ilustración 10. Gráfica de Absorbancia**

Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

## **Componentes del Espectrofotómetro**

Es importante destacar que los componentes que mencionarán son los básicos de un espectrofotómetro en general, los cuales pueden variar por el modelo y tipo de espectrofotómetro. Estos pueden ser incorporados o no por el fabricante. o bien este pueden implementar piezas nuevas y más modernas, gracias al avance tecnológico.

### **Fuente luminosa.**

Por lo general es una lámpara con filamento de tungsteno para luz visible, o de arco de deuterio para luz ultravioleta. También se encuentran lámparas intermitentes de xenón de larga duración, que emiten luz en el rango de la luz visible y ultravioleta. El equipo cuenta con una o varias lámparas, que vienen montadas en una base que permite asegurar una posición específica, para así lograr condiciones de ajuste óptico y enfoque cuando está en uso. La lámpara de tungsteno emite una energía radiante entre los 2600 y 3000 °K (grados Kelvin). (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 111).

### **Monocromador.**

Contiene una rendija o ranura de entrada que limita la radiación lumínica producto de una fuente; presenta varios espejos para pasar la luz a través del sistema óptico; tiene un prisma o una rejilla de difracción que separa longitudes de onda de la radiación lumínica, que tienen como ventaja eliminar la dispersión no lineal, y no son sensibles a los cambios de temperatura. También presenta una rendija de salida, donde se selecciona una longitud de onda con la que se quiere iluminar la muestra. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.111).

### **Portador de muestras.**

Sostiene la muestra que se quiere analizar. Es una celda o cubeta comúnmente rectangular, por lo general de vidrio, pero también hay de plásticos como estireno o poliestireno. Este portador de muestras lo crean los fabricantes dependiendo del tipo de espectrofotómetro y de la muestra que se desea estudiar, en el que podemos encontrar portadores de muestra con microceldas, tubos de

ensayo y otras como celdas de flujo continuo. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 111).

### **Sistema detector.**

Este equipo recibe la energía lumínica de la muestra y la transforma en una señal eléctrica. Esta señal es analizada para que pueda descifrarse por el sistema de lectura. Es fabricado con fotoceldas, fototubos, fotodiodos o fotomultiplicadores, los cuales van a depender de los rangos de longitud de onda, sensibilidad y de velocidad de respuesta; este dispositivo presenta ventajas y desventajas, que se van a mostrar en la siguiente tabla. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.111).

**Tabla 3. Ventajas y Desventajas del Sistema Detector**

Elemento	Ventajas	Desventajas
Fotoceldas	Económicas.	Longitud de onda limitada entre 400 y 750 nm.
	Pequeñas.	Baja sensibilidad a un cambio de intensidad.
	Robustas.	A un cambio de intensidad lumínica presentan una respuesta lenta.
	No necesitan fuentes de energía ni amplificadores de señal.	Se agotan. La señal es muy dependiente de la temperatura.
Fototubos	Sensibles entre los 190-650 nm, y los 600-1000 nm.	Necesitan de calibraciones, conforme a la temperatura del ambiente donde se encuentre el equipo. Se gastan con altos niveles de iluminación.

Fotodiodos	<p>No presentan partes mecánicas móviles.</p> <p>Obtienen datos espectrales de forma simultánea.</p> <p>Rango dinámico amplio.</p> <p>Ofrecen reproducibilidad de la longitud de onda.</p>	
Fotomultiplicadores	Más sensibles que fototubos y fotoceldas.	Si la luz diurna ingresa cuando están trabajando, pueden quemarse.
	Rangos más amplios de longitudes de onda.	Elevado precio.
	Veredictos más rápidos a cambios de intensidad luminosa.	Requieren fuentes de alto voltaje.
	No se agotan como las fotoceldas.	Solo para espectrofotómetros especializados.
	Se pueden fabricar con sensibilidad a la luz dentro del rango de la luz ultravioleta y visible. (A partir de 190 a 900 nm).	

Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

### Sistema de lectura.

Existen dos tipos de sistemas de lectura:

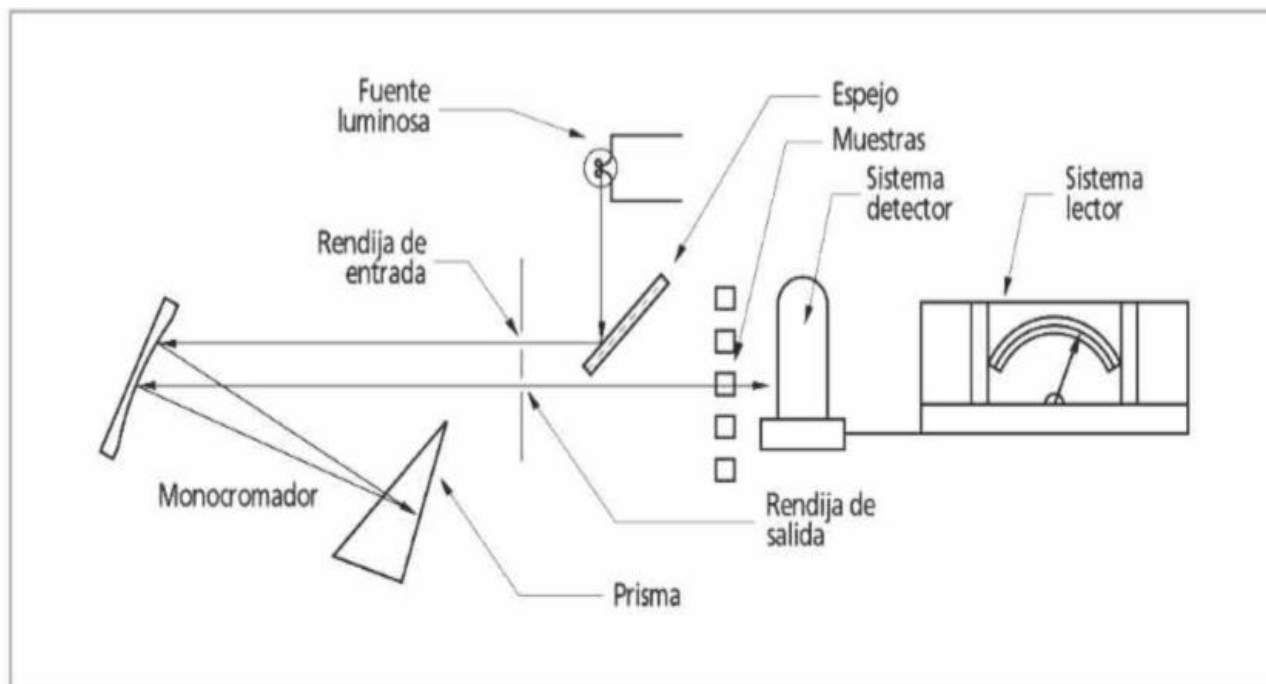
#### *Análogo.*

Presenta la magnitud leída en una escala de lectura; este sistema recibe el nombre de *metros*. Su exactitud depende de la longitud de la escala, número de divisiones que tenga, entre otros factores. Cuantas más divisiones, mayor es su exactitud. Como desventaja es que pueden ser mal leídos, por parte del usuario. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 112).

#### *Digital.*

La magnitud leída la presenta en una pantalla, con forma de caracteres alfanuméricos luminosos. Gracias a esto se cometen menos errores de lectura. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 112).

### Ilustración 11. Componentes del Espectrofotómetro



Nota: Organización Panamericana de la Salud, 2005.

## **Mantenimiento del Espectrofotómetro**

El mantenimiento, que se va a mencionar, es en general para cualquier tipo de espectrofotómetro, por lo que es importante seguir las recomendaciones de los fabricantes para cada modelo específico, ya a que estos son equipos muy costosos, los cuales dependen mucho de la instalación, el ambiente, la utilización que tengan e, incluso, los servicios de electricidad al cual estén expuestos, por lo que las rutinas de mantenimiento tienden a ser complejas, e inclusive algunas se deben realizar por técnicos que recibieron una capacitación específica.

### **Inspección del Entorno.**

Esta es realiza como mínimo de forma anual, en la cual se debe observar el entorno donde está instalado el equipo y ser probado eléctricamente, para verificar la seguridad el usuario. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 113).

### **Instalación eléctrica.**

Debe ser realizada por un técnico especialista, y es importante llevar un control cronológico de los resultados. para tener un correcto seguimiento. Puntos a evaluar:

- Existe un tomacorriente.
- El tomacorriente está en buen estado y no está a una distancia mayor de 1.5 metros del equipo.
- Voltaje adecuado y no varía más del 5% del voltaje indicado en la placa del espectrofotómetro.
- La polaridad del tomacorriente es correcta. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.113).

### **Lugar de Instalación.**

- Revisar que el lugar de instalación cuenta con:
  - ✓ Pasar sin ningún problema los cables de conexión y equipos de apoyo.
  - ✓ Cuando el equipo está en uso, presenta una adecuada ventilación.
- Analizar la calidad del mesón, así como su estado y limpieza.

- Comprobar que el espectrofotómetro no esté cerca de equipos que transmitan vibraciones durante su utilización.
- Evaluar que el entorno no esté afectado con humedad o altas temperaturas. Se considera que la temperatura ambiental correcta, para el uso adecuado, se encuentra entre 10 y 35 °C.
- Verificar que el equipo no reciba radiación solar directa.
- Examinar que donde está ubicado el equipo no existan campos magnéticos o radiación electromagnética.
- El área de instalación debe estar libre de influencia de gases o sustancias corrosivas. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 113).

### **Inspección Visual al Equipo.**

Cada seis meses se debe inspeccionar visualmente el equipo, para comprobar que el estado y calidad están dentro de las especificaciones del fabricante. Hay que tomar en cuenta varios aspectos como:

- La estructura de la mesa de trabajo, donde está el equipo, esté en buen estado.
- Los botones, interruptores de control y los cierres mecánicos deben estar firmemente colocados y que su señalización sea clara.
- Los accesorios tienen que estar limpios, no tener grietas y un óptimo estado funcional.
- Comprobar que se encuentren en buen estado y ajustados, las tuercas, tornillos, abrazaderas y otros.
- Los conectores eléctricos no presenten grietas o rupturas. Revisar que estén unidos de manera correcta a la línea.
- Los cables no deben tener empalmes o estar deteriorados.
- Tanto los cables, como abrazaderas y terminales tienen que estar exentos de polvo, suciedad o corrosión, y estos no deben presentar señales de mal estado.
- Revisar que el sistema de conexión a tierra, tanto interna como externa, sea estandarizado, aprobado, funcional, y esté instalado de manera correcta.
- Verificar que estén libres de polvo, suciedad o corrosión, los interruptores de circuito, portafusibles y los indicadores.

- Evaluar que los componentes eléctricos externos funcionen sin sobrecalentamientos. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 114).

### **Limpieza de Derrames.**

En caso de un derrame en el sistema de portamuestras, se deben seguir los siguientes pasos:

- Apagar el espectrofotómetro y desconectar el cable eléctrico.
- Con una jeringa succionar la mayor cantidad de líquido posible del portamuestras.
- Absorber la cantidad faltante de líquido con un hisopo de algodón.
- Al utilizar un papel especial, se limpia la ventana de la fotocelda.
- Por último, con una tela húmeda con agua destilada, se limpia el exterior del equipo, pantalla, controles y teclado.

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 114).

### **Limpieza de Cubetas de Cuarzo.**

El siguiente procedimiento ayuda a mantener en buenas condiciones las cubetas de cuarzo:

- Con una solución alcalina diluida: NaOH 0.1M y un ácido diluido: HCl 0.1M, se deben lavar las cubetas.
- Remojar las cubetas con agua destilada varias veces, ya que estas deben estar limpias cuando se van a realizar mediciones de absorbancia.
- La limpieza debe ser rigurosa y cuidadosa para las cubetas; incluso algunos fabricantes aconsejan utilizar detergentes especiales para la limpieza de las mismas.

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 114).

### **Cambio de Baterías.**

Múltiples espectrofotómetros usan baterías para mantener datos como fecha y hora. Se aconseja seguir este procedimiento, ya que es parecido en diversos equipos.

- Corroborar que en la pantalla se muestra la indicación de batería baja.

- Apagar el equipo.
- Desconectar el cable eléctrico del espectrofotómetro.
- Retirar las baterías agotadas abriendo el compartimento de las mismas.
- Limpiar los puntos de contacto eléctrico.
- Colocar las baterías nuevas, que deben tener las mismas especificaciones de las originales.
- Cerrar de nuevo el compartimento.
- Conectar nuevamente el equipo.
- Verificar que los datos de fecha y hora sean los correctos; en caso contrario, ajustarlos.

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 115).

### **Cambio de Bombillo o Lámpara.**

Este elemento tiene una vida útil limitada, por lo que es importante tener presente que en alguna circunstancia se debe reemplazar. Cada modelo es diferente, por lo que hay que seguir las indicaciones del fabricante del espectrofotómetro. El proceso más común es el siguiente:

- Revisar que el bombillo no funciona. En los equipos modernos en la pantalla aparece una señal o un código de error. En los más viejos simplemente el bombillo no enciende.
- Apagar el espectrofotómetro.
- Desconectar el cable de electricidad.
- Aflojar los tornillos de la tapa de la lámpara, los que la sujetan y los que sostienen los cables de la conexión eléctrica, pero esta última en algunos espectrofotómetros no es necesario.
- Colocarse guantes para no dejar huellas, y colocar el nuevo bombillo.
- Ajustar todos los tornillos previamente aflojados.
- Conectar el cable de electricidad.
- Encender el equipo e iniciar la recalibración del mismo, establecido por el fabricante.

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.115).

### **Mantenimiento preventivo.**

Se basa en las rutinas y frecuencias recomendadas por el fabricante del espectrofotómetro. Algunas rutinas básicas que pueden ser realizada en el laboratorio son:

- Con una tela especial y húmeda con agua destilada, se aconseja limpiar el equipo externamente, la pantalla y controles.
- Revisar y limpiar el cable de electricidad.
- Examinar que la lámpara esté limpia y en funcionamiento.
- Verificar que la batería esté en buen estado y, en caso contrario, colocar una nueva con las mismas características recomendadas por el fabricante.
- El instrumento debe estar en la configuración operacional.
- Pulsar el interruptor de encendido; esperar 5 minutos y realizar lo siguiente:
  - ✓ Observar que los indicadores funcionan.
  - ✓ El indicador de lectura se mantiene en cero.
  - ✓ La luz de la fuente funciona.
- Comprobar la corriente de electricidad, realizando pruebas.
- Calibrar el panel frontal del equipo siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Medir la sensibilidad del equipo.
- Al seguir la ley de Beer, hacer una prueba.
- Si la calibración resulta exitosa, volver el espectrofotómetro a la configuración inicial.

(Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.116).

### **Buenas Prácticas Para el Uso del Espectrofotómetro**

Según la Organización Panamericana de la Salud, en el 2005, se mencionarán prácticas para el uso correcto del equipo de manera general, por lo que algunos de los siguientes pasos no se realizan para un tipo de espectrofotómetro específico.

- Calibrar el equipo antes de realizar un análisis con una muestra o grupo de las mismas.
- Conservar la tapa del portamuestras cerrada mientras se realiza el proceso de medición.
- No reutilizar las cubetas desechables.
- Usar solo cubetas de cuarzo, en estudios menores de 310 nm.
- En caso de utilizar solventes orgánicos, no usar cubetas de plástico.

- Cuando se preparen estándares, usar la cristalería de boro silicato de alta calidad, y no la cristalería de óxido de sodio, ya que produce resultados incorrectos por el contacto prolongado con los estándares, debido a que estos pueden permearla.
- Con un cuidado riguroso limpiar las cubetas después de su uso y eliminar las que presenten rayones en la parte pulida.
- Los diluyentes no deben tener impurezas y, en la medida de lo posible, usar reactivos de alta calidad.
- Examinar que la muestra en la cubeta no presenta burbujas, ya que causa errores en la lectura.
- Cuando se usan nuevos procedimientos, no todas las sustancias cumplen con la ley de Beer; para esto se deben tomar en cuenta los fenómenos que afectan dicha ley:
  - Altas concentraciones por asociación molecular de especies iónicas.
  - Cambios en la hidratación a bajas concentraciones, que causan modificaciones en la naturaleza de los iones complejos.
  - Cuando las absorciones no siguen esta ley, se debe diseñar una gráfica de estándares conocidos, la cual va a mostrar la relación de la lectura vs. la concentración.

### **Algunos Tipos de Espectroscopía**

Seguidamente, se describen algunos tipos de espectroscopías, que son utilizados en la industria, según la necesidad que se requiera:

#### **Espectroscopía de Absorción Atómica**

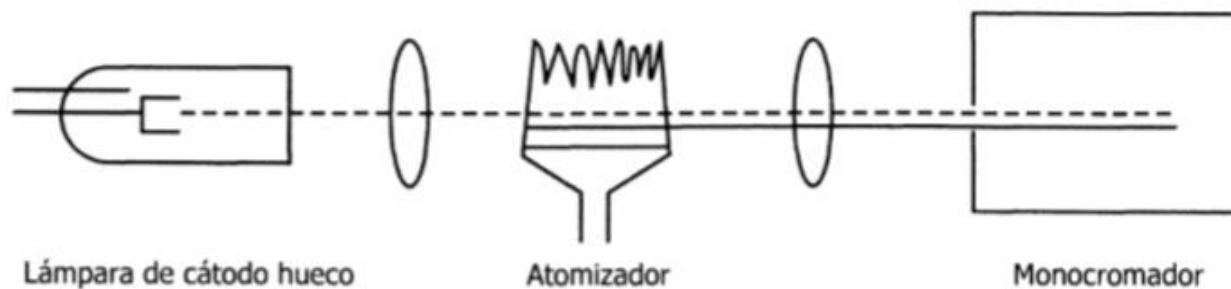
Es un método analítico para la identificación y la cuantificación de elementos, la cual se utiliza en procedimientos que miden la absorbancia de radiación, a una longitud de onda característica por parte de un vapor compuesto de átomos. (USP 38, 2015, p. 698).

Esta técnica utiliza la ley de Beer, la cual indica que la absorbancia óptica de un cromóforo en un disolvente transparente es linealmente proporcional a la concentración del cromóforo, y también a la longitud de paso o camino óptico de la celda de muestra. (USP 38, 2015, p. 1870).

Todos los espectrofotómetros de absorción atómica tienen componentes como: fuentes de líneas, celda de muestra, selector de longitud de onda, sistema de detección y un procesamiento de señal. También se cuenta con un espectrofotómetro de haz individual, donde el haz que proviene de la fuente de líneas que se moldean de forma eléctrica y un amplificador la ajusta a una frecuencia. Este se basa en una fuente de líneas muy estable para mantener la exactitud. (USP 38, 2015, p. 1871).

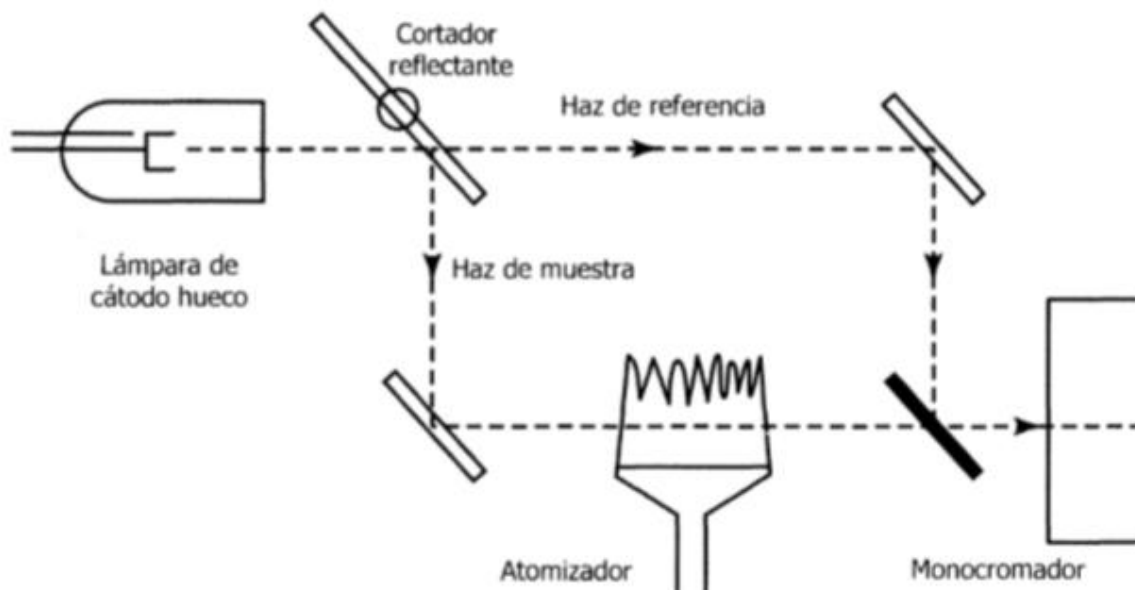
Mientras, el espectrofotómetro de doble haz se divide mediante un espejo cortador reflectante, donde una mitad se dirige a través del atomizador y la otra mitad se dirige alrededor de este. Por lo tanto, la relación entre la señal de la muestra y la señal de referencia se amplifica y se procesa como la lectura de absorbancia, por lo que la estabilidad de un espectrofotómetro de doble haz es superior a la de un espectrofotómetro de haz individual. (USP 38, 2015, p. 1871).

### **Ilustración 12. Espectrofotómetro de absorción atómica de haz individual (Esquema)**



Nota: USP 38, 2015.

### Ilustración 13. Espectrofotómetro de absorción atómica de doble haz (Esquema)



Nota: USP 38, 2015.

### Espectroscopía de Fluorescencia

Este proceso requiere la absorción de luz a una longitud de onda específica, seguida por la emisión de luz; a esta emisión se le conoce como *fluorescencia*. Se diferencia de la espectroscopía de absorción, ya que la linealidad de la fluorescencia puede verse afectada por una variedad de efectos relacionados con la muestra. (USP 38, 2015, p. 702).

Este es un método espectroscópico electrónico, relacionado con la espectroscopía de absorción ultravioleta visible y el infrarrojo cercano, debido a que se trata de un mecanismo que toma en cuenta la luz emitida de las muestras en diferentes direcciones. Su función es que la absorción inicial de un fotón, por parte de una molécula en la muestra, le causa al electrón un estado de excitación, y este vuelve a su estado basal mediante la emisión de un fotón. Si esta emisión es causada en una transición "permitida", que por lo general tarda entre 1 a 10 nanosegundos, se llamará *fluorescencia*. Pero si esta ocurre en una transición "prohibida", la cual tarda entre 1

milisegundo y 1 segundo, se llamará *fosforescencia*; esta por lo general es menos intensa que la fluorescencia. (USP 38, 2015, p. 1880).

Las mediciones actuales de fluorescencia implican irradiar la muestra con el haz, por lo tanto, estos equipos están compuestos por: fuente de luz de excitación, selector de longitud de onda de excitación, dispositivo de muestreo, selector de longitud de onda de emisión y un detector. (USP 38, 2015, p. 1881).

El método de fluorescencia también es llamado exentos de fondo, debido a la poca luz de excitación que alcanza el detector, lo cual hace que la detección de fluorescencia sea altamente sensible, hasta lograr la detección de una sola molécula en algunas ocasiones. Esta detección de fluorescencia puede ser altamente específica, debido a que un fluoróforo tiene un patrón de emisión específico, por lo que la especificidad y la sensibilidad son muy importantes cuando se utiliza este método. (USP 38, 2015, p. 702).

### **Espectroscopía en el Infrarrojo Medio**

Este es un método instrumental que se usa para medir la absorción de la radiación electromagnética sobre el intervalo de onda entre  $4000$  y  $400\text{ cm}^{-1}$ ; en el caso de que se indique algo diferente en un procedimiento, se debe usar la región de  $3800$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ , para tener la seguridad de que se está cumpliendo con las especificaciones de la absorción IR. (USP 38, 2015, p. 709).

Es importante destacar que los modos vibratorios se definen por el movimiento de todos los átomos en una molécula; por lo tanto, cuando un modo vibratorio presenta movimientos de pocos átomos, las frecuencias ocurren en intervalos espectrales, donde estos son más amplios y presentan características de las moléculas. Por esto las bandas fuertes que absorben a números de onda por encima de  $1500\text{ cm}^{-1}$  son frecuencias de grupos funcionales; mientras que las bandas fuertes que absorben por debajo de  $1500\text{ cm}^{-1}$  pueden ser frecuencias de grupos funcionales o bandas de huella dactilar. (USP 38, 2015, p. 709).

Un acoplamiento de segundo orden se refiere como resonancia Fermi, y esta ocurre cuando una banda de sobretono o de combinación se presenta en el mismo número de onda, la cual indica el movimiento de los mismos átomos. En este caso, dicha banda toma intensidad prestada de la

banda fundamental, y las dos bandas presentan una separación de hasta  $40\text{ cm}^{-1}$ ; por lo que cuanto más cerca estén las bandas que interactúan, presentarán mayor separación, y más cercana será la intensidad para las bandas resultantes. (USP 38, 2015, p. 1891).

### **Espectroscopía Ultravioleta-Visible**

En este caso, se presenta una técnica espectroscópica de transición electrónica, en la cual la interacción, entre la radiación incidente y los electrones, da como resultado un estado basal a un estado de energía superior de uno o más de los electrones externos o de unión. (USP 38, 2015, p. 1900).

Las bandas de estos espectros son amplias y sin altos grados de especificidad para la identificación de compuestos. Estas son adecuadas para valoraciones cuantitativas, y son útiles como formas adicionales de identificación. (USP 38, 2015, p. 713).

Es importante destacar que incluso las moléculas más simples tienen un gran número de niveles discretos de energía, y la superposición de las bandas vibratorias en el espectro electrónico causan que los espectros medidos se muestren como un pico ancho en forma de campana. (USP 38, 2015, p. 1900).

Los equipos modernos detectan y miden el cociente de intensidad de la radiación a cierta longitud de onda, en presencia o ausencia de la muestra absorbente, por lo que la dispersión de luz para alcanzar la resolución deseada puede ocurrir antes o después de introducir la muestra. Se debe destacar la importancia de tener cuidado y asegurar que el haz de luz incidente no descomponga la muestra, y debe haber rigurosidad ante cualquier efecto de calentamiento. Todos los instrumentos están compuestos por: fuente continua, monocromador o policromador, área de muestreo y detector. (USP 38, 2015, p. 1902).

#### Ilustración 14. Espectrofotómetro de doble haz típico. (Esquema)



Nota: USP 38, 2015.

### Equipo

A continuación, se detallan las características y las funciones de los espectrofotómetros Infrarrojo y Ultravioleta, ya que estos son los únicos con los que cuenta actualmente la Universidad Internacional de las Américas.

#### Espectrofotómetro Infrarrojo (IR)

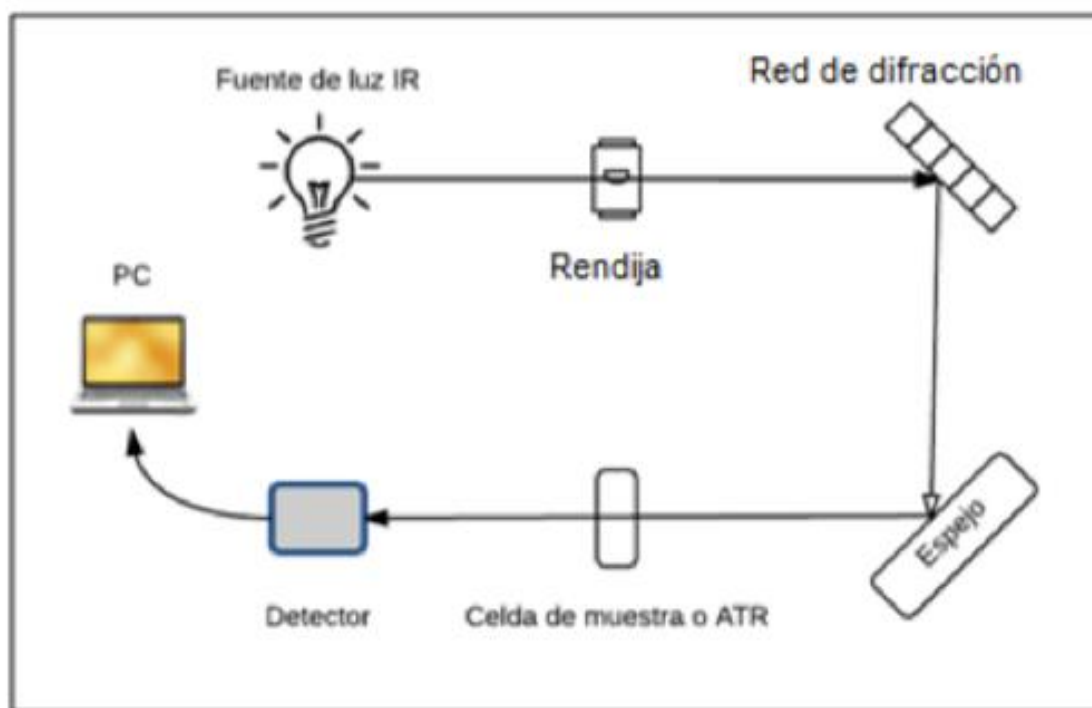
El FT-IR tiene como significado Fourier Transform InfraRed, espectroscopía infrarroja, en la cual la radiación IR pasa a través de una muestra, donde una parte de la radiación infrarroja es absorbida por la muestra y la otra es transmitida, por lo que el espectro resultante representa la absorción y transmisión molecular, creando una huella molecular de la muestra. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 2).

La espectroscopía IR es un método utilizado para el análisis de materiales en el laboratorio durante más de setenta años, ya que un espectro IR representa una huella dactilar de una muestra con picos de absorción, donde estos representan frecuencias de vibraciones entre los enlaces de los átomos que lo forman. Con base en esto, cada material diferente es una combinación única de átomos, por lo que dos compuestos no presentan el mismo espectro IR. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 3).

Estas mediciones se usan como una prueba de identificación, ya que el espectro IR es único para cualquier compuesto químico dado, con la excepción de isómeros ópticos que tienen espectros idénticos en solución. Por lo general, dicho espectro, en presencia de pequeñas cantidades de impurezas, no afecta la muestra que se analizará. (Fernández, Rojas, y Lapo, 2015, p. 41).

Los instrumentos IR originales eran del tipo dispersivo, donde estos separaban las frecuencias individuales de energía; esto se logró mediante el uso de un prisma o rejilla. Un prisma IR funciona igual que un prisma visible, debido a que separa la luz visible en sus colores (frecuencias). Por otra parte, la rejilla es un dispersivo más moderno, el cual logra separar de mejor manera las frecuencias IR. El detector es el que mide la cantidad de energía en cada frecuencia que ha pasado a través de la muestra, logrando así un espectro, que es un gráfico de intensidad frente a frecuencia. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 3).

### Ilustración 15. Diagrama de un espectrofotómetro IR

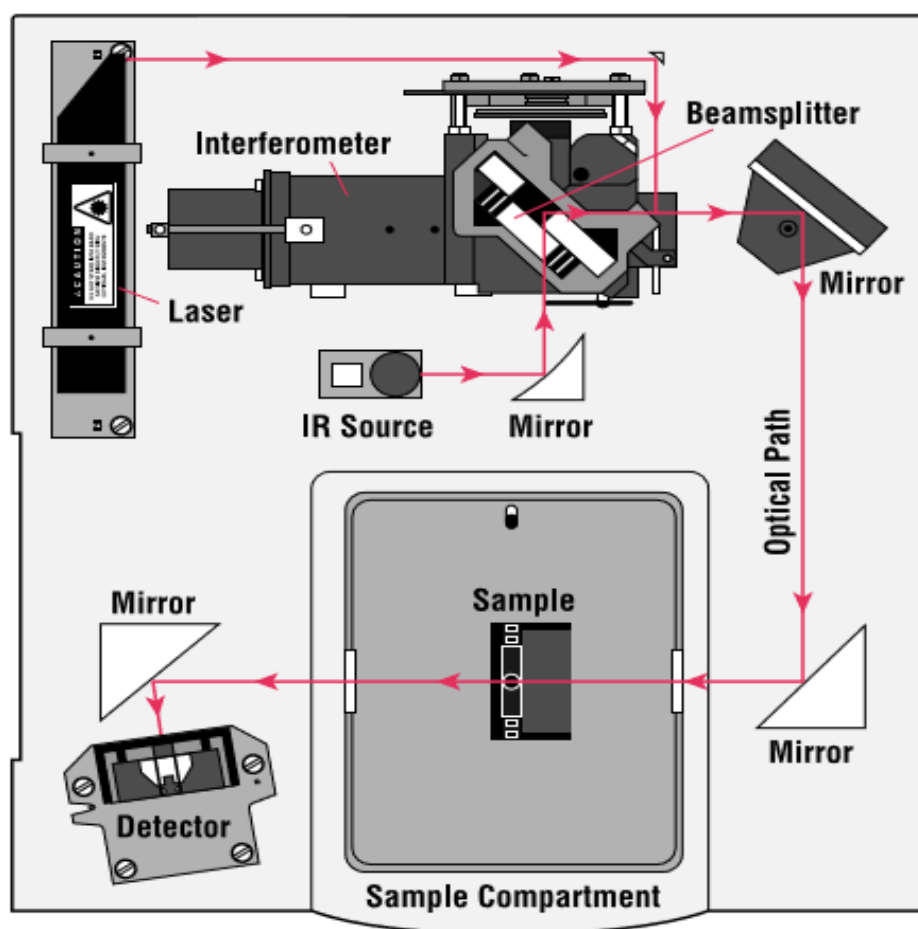


Nota: Fernández, Rojas, y Lapo, 2015.

Este equipo fue diseñado para superar las limitaciones de los instrumentos dispersivos, ya que una de las principales dificultades era el lento proceso de escaneo, por lo que se necesitaba un método para medir todas las frecuencias IR a la vez y no individualmente. Para esto se desarrolló un dispositivo óptico conocido como *interferómetro*, el cual produce una señal única que tiene todas las frecuencias infrarrojas ya codificadas. Esta señal se puede medir rápidamente, por lo general en cuestión de segundos. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 4).

Ya que la trayectoria que un rayo recorre es una longitud fija, mientras que la otra cambia constantemente a medida que se mueve el espejo, la señal que sale del interferómetro es el resultado de que estos dos haces van a interferir entre sí, por lo que se le conoce como *interferograma*. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 4).

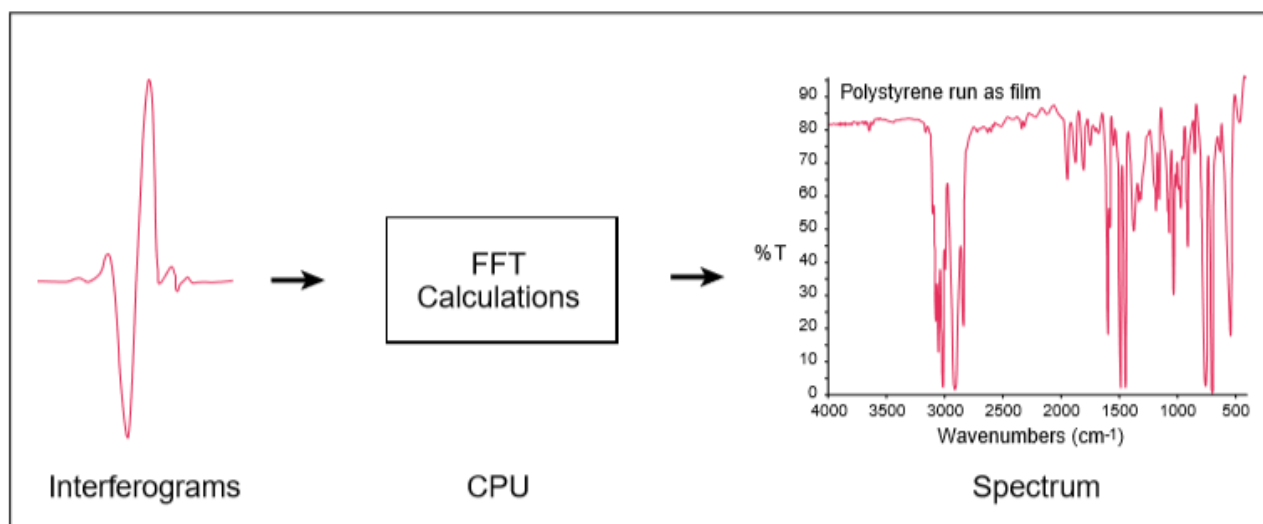
### Ilustración 16. Diseño de un Espectrómetro Simple



Nota: Thermo Nicolet Corporation, 2001.

El usuario necesita un espectro de frecuencia para realizar una identificación, pero la señal de interferograma medida no se puede interpretar inmediatamente, por lo que se cuenta un medio que decodifica las frecuencias individuales, y esto se logra gracias a una conocida técnica matemática denominada *transformación de Fourier*, la cual es realizada por la computadora, que luego le va a mostrar al analista la información espectral deseada para su estudio. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 4).

### Ilustración 17. Espectro de Frecuencia



Nota: Thermo Nicolet Corporation, 2001.

#### Lo que proporciona el FT-IR es lo siguiente.

- La identificación de materiales desconocidos.
- Ayuda a determinar la calidad o la consistencia de una muestra.
- Determina la cantidad de componentes en una mezcla.

(Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 2).

## **Instrumentos para la Obtención del Espectro IR.**

A continuación, se detallan los instrumentos para la obtención del espectro IR:

### ***La fuente.***

La energía infrarroja es emitida desde una fuente brillante de cuerpo negro, donde este rayo pasa a través de una abertura que controla la cantidad de energía que está presente en la muestra.

### ***El interferómetro.***

El haz entra al interferómetro, donde se lleva a cabo la codificación espectral y la señal resultante del interferograma sale del interferómetro.

### ***La muestra.***

El haz ingresa a la muestra, donde se transmite o se refleja fuera de su superficie. En esta parte es donde se absorben las frecuencias específicas de energía únicas para cada muestra.

### ***El detector.***

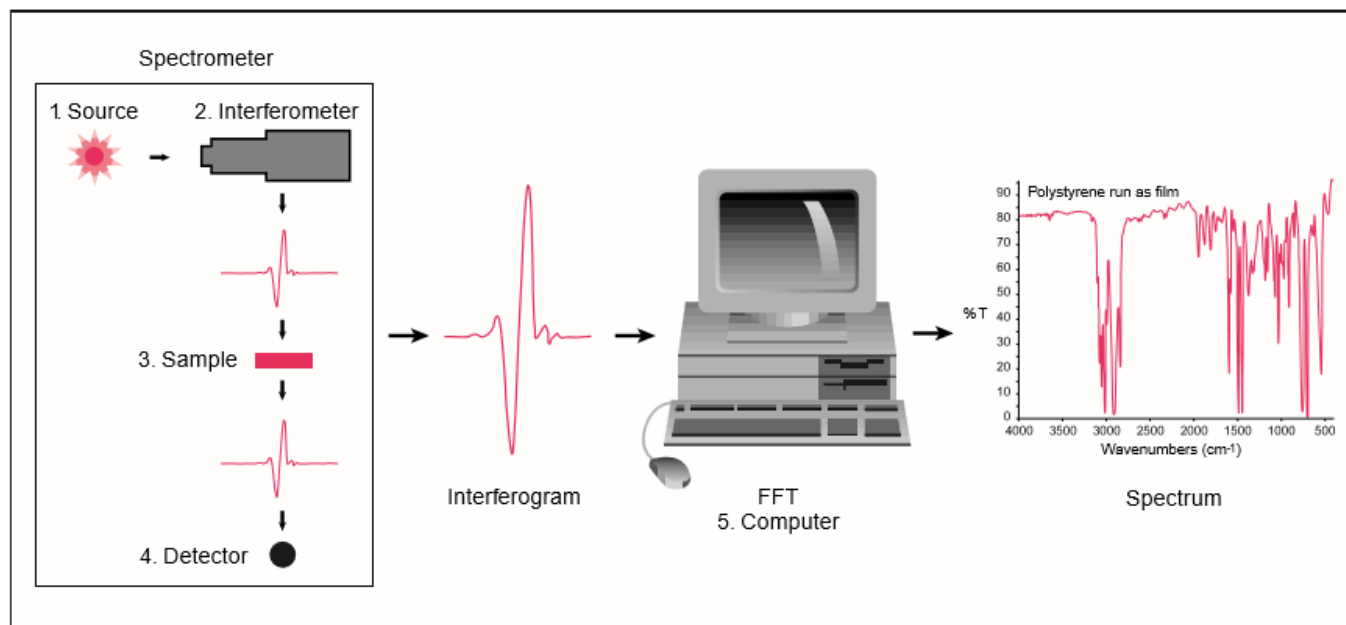
Para una medición final el haz pasa al detector, los cuales están diseñados para medir la señal del interferograma.

### ***La computadora.***

La señal medida es digitalizada y enviada a la computadora, donde se realiza la transformación de Fourie. El espectro IR final se muestra para la interpretación y manipulación del usuario.

(Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 5).

## Ilustración 18. Espectrofotómetro IR (Componentes)



Nota: Thermo Nicolet Corporation, 2001.

### Disolventes adecuados para el Espectro IR

Este disolvente no debe afectar el material en el cual está fabricada la celda de medición, que por lo general es de cloruro de sodio. Este debe ser completamente transparente. Algunos ejemplos de estos son:

- Tetracloruro de carbono, que es prácticamente transparente, de 4000 a 1700 cm<sup>-1</sup>.
- Cloroformo.
- Dibromoetano.
- Disulfuro de carbono, el cual es adecuado como disolvente en 250 cm<sup>-1</sup>.

Es importante destacar que otros disolventes tienen regiones estrechas de transparencia. (Fernández, Rojas, y Lapo, 2015, p. 43).

## **Preparación de la Muestra**

Muchas veces se debe preparar la muestra antes de colocarla en el espectro IR para una adecuada lectura. Las muestras líquidas pueden utilizarse directamente o en una solución adecuada, mientras que las sólidas requieren de distintos métodos o técnicas, por lo que se mencionarán algunas a continuación.

### ***Discos de Bromuro de Potasio (KBr).***

Varios haluros alcalinos en polvo, como el bromuro de potasio, cloruro de potasio o yoduro de cesio se fusionan a una alta presión y forman los discos autoportantes, que son transparentes a la radiación en el infrarrojo medio. El haluro alcalino más común utilizado es el bromuro de potasio seco en polvo de alta pureza, ya que es transparente a una radiación en el IR medio por encima de  $400\text{ cm}^{-1}$ . (USP 38, 2015, p. 710).

La cantidad que se va a tomar debe ser similar al peso por unidad de superficie del disco, con la variación del peso molecular de la sustancia y el tipo de equipo que se está utilizando. Luego la mezcla se somete al vacío a una presión alta, mientras que el disco se sostiene con un soporte adecuado. Algunos factores que implican en discos insatisfactorios son: molienda no adecuada o excesiva, humedad y otras impurezas en el soporte. También la preparación genera ciertas dificultades, como cuando un disco debe ser desechado, ya que una inspección visual muestra la falta de uniformidad, o si se genera en el espectro un 60% sin comprensión estando a una transmitancia de  $2000\text{ cm}^{-1}$ . (Fernández, Rojas, y Lapo, 2015, p. 44).

### ***Suspensiones de Aceite Mineral.***

La más utilizada para el IR es aceite mineral de hidrocarburos saturados (parafina líquida, Nujol). El procedimiento común es colocar 10-20 mg de la muestra en un mortero y moler hasta conseguir un polvo fino. Luego se le adiciona una gota del agente de suspensión al mortero, y se realiza un movimiento rotatorio hasta lograr formar una pasta uniforme, la cual se coloca en el centro de una ventana limpia y transparente para IR, donde se le adiciona una segunda ventana del mismo tamaño, a la parte superior de la suspensión, y se ejerce presión a la suspensión para formar una película delgada y libre de burbujas. (USP 38, 2015, p. 710).

### ***Películas Capilares.***

Si un líquido es no volátil, se puede examinar sin diluirlo, colocando una capa delgada entre dos ventanas iguales y transparentes a la radiación del IR medio. Esta debe estar libre de burbujas y debe cubrir completamente el diámetro del haz del IR que se enfoca sobre la muestra. (USP 38, 2015, p. 711).

### ***Gases.***

La celda tradicional para gas es un vidrio de borosilicato o acero inoxidable, y tiene forma de cilindro de 10 cm de largo, el cual presenta una apertura cerca de 40 mm en cada extremo. Estos extremos están cubiertos con una tapa; esta contiene una ventana transparente para el IR medio y está hecha, por lo general, de bromuro de potasio, selenio de cinc o fluoruro de calcio. (USP 38, 2015, p. 711).

### ***Reflexión Total Atenuada.***

Esta se basa en el fenómeno óptico de la radiación, donde la muestra entra en contacto con el medio de alto índice de refracción como lo es, por ejemplo, el diamante, germanio, selenuro de cinc u otro material adecuado. Se debe aplicar cierta presión en las muestras sólidas para asegurar el contacto, o bien se disuelve la sustancia en el disolvente apropiado, se cubre el elemento de reflexión interna con la muestra y se evapora hasta la sequedad. (USP 38, 2015, p. 711).

En caso de utilizar una cinta adhesiva, para facilitar el contacto de la muestra con el prisma a una presión considerable durante 1-2 minutos, esta debe ser de un adhesivo de caucho natural. En el caso de materiales de plástico, estos pueden ser colocados directamente en el elemento reflectante. Se debe tener una alineación correcta de los accesorios, y el equipo debe ser cuidadosamente controlado. (Fernández, Rojas, y Lapo, 2015, p. 45).

### ***Reflexión Difusa.***

Para esta técnica se debe diluir la muestra con bromuro de potasio o cloruro de potasio, ya que estos diluyentes son transparentes al IR al 90%-99%. La muestra, al ser diluida, tiene como beneficio el reducir las intensidades de las bandas de absorción. (USP 38, 2015, p. 711).

### ***Muestreo Microscópico.***

Al combinar un microscopio de luz a un espectrofotómetro IR medio, se logra obtener espectros a partir de muestras muy pequeñas. Esto se aplica comúnmente a modos de transmitancia o reflectancia; un ejemplo es que esta herramienta es muy útil para datos espectroscópicos de contaminantes en muestras farmacéuticas. (USP 38, 2015, p. 711).

### **Validación.**

Al utilizar un método IR es necesaria la validación, ya que demuestra que la medición es adecuada para el resultado a obtener; esta incluye determinaciones cuantitativas de los componentes principales en un fármaco. Los análisis de la linealidad, el intervalo, la exactitud, la especificidad, la precisión, el límite de detección, el límite de cuantificación y la robustez: estos análisis son requeridos dependiendo de la categoría de la prueba. (USP 38, 2015, p. 711).

### ***Exactitud.***

Esta se determina realizando estudios de recuperación añadiendo concentraciones del analito. En este procedimiento se pueden comparar los resultados que se obtuvieron de la valoración en el IR con los obtenidos de un procedimiento analítico alternativo. (USP 38, 2015, p. 712).

Los criterios de validación que se deben cumplir son:

- Para fármacos: 98,0%-102,0% de recuperación media.
- Valoración de un medicamento: 95,0%-105,0% de recuperación media.
- Análisis de impurezas: 70,0%-150,0% de recuperación media. (USP 38, 2015, p. 712).

***Precisión.***

La precisión se encuentra dividida en:

***Repetibilidad.***

Esta se basa en tres mediciones repetidas de tres soluciones de muestra independientes a diferentes concentraciones. Tres concentraciones deben ser más cercanas para que la repetibilidad sea constante en todo el intervalo de concentración, siendo que la repetibilidad en las tres concentraciones se combina para compararla con los criterios de aceptación, resultando una evaluación donde se miden las concentraciones de seis preparaciones de muestra, que se hacen de manera independiente al 100% de la concentración de prueba de la valoración. (USP 38, 2015, p. 712).

Criterios de validación:

- Fármacos: La desviación estándar relativa es no más del 1,0%.
- Valoración de un medicamento: no puede ser más del 2,0%.
- Análisis de impresas: no más del 20,0%.

(USP 38, 2015, p. 712).

***Precisión intermedia.***

Se deben realizar análisis en diferentes días y con diferentes instrumentos, variando el analista y sus métodos. La estimación se promueve combinando dos factores en un total de seis experimentos. (USP 38, 2015, p. 712).

Criterios de validación:

- Fármacos: La desviación estándar relativa es no más del 1,0%.
- Valoración de un medicamento: no más del 3,0% .
- Análisis de impurezas: no más del 25,0%. (USP 38, 2015, p. 712).

***Especificidad.***

Se debe demostrar la capacidad de seleccionar entre compuestos, cuando las estructuras están relacionadas y que posiblemente puedan estar presentes, para los casos de las pruebas de identificación. Los resultados deben ser positivos a partir de muestras que contengan el analito; no son respuestas positivas los resultados negativos obtenidos de muestras que no contengan el analito. (USP 38, 2015, p. 712).

***Límite de Cuantificación.***

Se estima calculando la desviación estándar de no menos de 6 mediciones repetidas de una solución de blanco; posteriormente se divide por la pendiente de la línea de calibración y multiplicando por 10, llevando una matriz de muestra representativa a la concentración de límite de cuantificación estimada para confirmar la exactitud. (USP 38, 2015, p. 713).

Criterios de validación:

La concentración medida debe ser exacta y precisa a un nivel igual o menor al 50% de la especificación. (USP 38, 2015, p. 712).

***Intervalo.***

Este se lleva a cabo cumpliendo con los requisitos de linealidad, precisión y exactitud. (USP 38, 2015, p. 713).

***Robustez.***

Para el IR medio, es la confiabilidad de una medición analítica, la cual se demuestra mediante cambios en los parámetros experimentales, y esto puede incluir cambios en el procedimiento de preparación de la muestra o cambios en la configuración del hardware, entre otros. (USP 38, 2015, p. 713).

### **Verificación.**

La verificación del procedimiento farmacopeico de IR medio ejecuta algunos parámetros críticos. Si el método que se esté verificando es para propósitos de identificación, el único parámetro será la especificidad. Cuando sean de aplicaciones cuantitativas, se incluyen parámetros de validación adicionales, que generen exactitud, precisión y límite de cuantificación. La importancia del procedimiento IR es demostrar que el método se llevaba a cabo con exactitud, sensibilidad y precisión. (USP 38, 2015, p. 713).

### **Algunos Factores que Impactan el Desempeño de la Medición del IR.**

Las mediciones deben ser exactas, confiables y seguras, por lo que se deben seguir los procedimientos adecuados, según los casos, como se muestran a continuación.

#### ***Exactitud del Número de Onda.***

La alineación del láser, los haces IR en el interferómetro y la divergencia del haz, a través del interferómetro, tal como se observa en el detector IR, son factores que alteran la exactitud del número de ondas. Se deduce que, al conocer el número de onda del rayo láser con exactitud, hace que la escala de número de onda de un espectro medido en un espectrofotómetro FT-IR sea exacta.

A diferencia del haz de la fuente IR, el rayo láser está altamente colimado; esto quiere decir que un haz colimado solo puede obtenerse de una fuente puntual; la fuente y el detector tienen un tamaño finito, por lo que no se puede esperar una exactitud idéntica en el número de ondas del rayo láser y de la escala del número de onda del espectro medido. (USP 38, 2015, p. 1899).

Cuando se da una reducción en el diámetro de la parada jacquinot, se observa un pequeño desplazamiento del número de onda que siempre es menor a 0,25. Cuando el diámetro de una muestra es menor que el diámetro del enfoque del haz en el compartimiento de la muestra o en el accesorio de muestreo, el efecto también es el de resumir la apertura del haz; así se observará un pequeño desplazamiento en la longitud de onda. (USP 38, 2015, p. 1899).

### ***Exactitud Fotométrica.***

La linealidad de la respuesta del detector es uno de los factores principales que afecta la exactitud fotométrica de los espectrofotómetros FT-IR. Generalmente, la respuesta de los bolómetros piroeléctricos varía linealmente con la energía del detector. En el caso de los detectores de telurio de mercurio-cadmio, el que mejor detecta el error fotométrico es la medición de la energía no física en el espectro del haz individual, por debajo del corte del detector. (USP 38, 2015, p. 1899).

### ***Sensibilidad.***

Cuando se miden dos espectros de haz individual exactamente en las mismas condiciones, y se calcula su cociente para producir lo que se conoce como una línea al 100%, se determina la sensibilidad del instrumento. El nivel de ruido en diferentes regiones espectrales se estima como el nivel de ruido entre picos, la discrepancia entre los valores máximos y mínimos en las regiones espectrales seleccionadas, o la raíz cuadrática media del ruido. Esta raíz es la mejor métrica, dado que este cálculo suma todos los datos en la región seleccionada y no solo los dos puntos más desviados. (USP 38, 2015, p. 1900).

### **Linealidad de la ley de Beer**

Si las mediciones son cuantitativas, el espectro se mide a una resolución que sea menos que el doble de comprimido que la banda más reducida en el espectro. Se sugiere usar la función de apodización Norton-Beer media o Happ-Genzel. La absorbancia máxima de las bandas analíticas no es mayor que 1.0 unidades de absorbancia; para una óptima fotométrica, en algunos casos se pueden tolerar valores de absorbancia más altos con ciertas combinaciones de resolución y funciones de apodización. (USP 38, 2015, p. 1888).

### Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

Dentro de los métodos espectrométricos o espectrofotométricos que se emplean al analizar, identificar y cuantificar elementos presentes en distintos medios y sustancias, se encuentra la espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis). A continuación, se realizará un conciso preámbulo sobre los conceptos generales de espectroscopía. La espectroscopía describe la interacción entre la radiación, principalmente la electromagnética, y la materia. Toda radiación electromagnética viene caracterizada por una longitud de onda ( $\lambda$ ), una frecuencia ( $\nu$ ) o una energía (E). (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 43).

Cuando la radiación incide sobre una sustancia, solo un átomo o conjunto de átomos son capaces de absorber la radiación; estos grupos se denominan *cromóforos*, y serán distintos dentro de una misma molécula para cada técnica espectroscópica. Los efectos de la radiación sobre la materia pueden usarse para obtener información sobre la estructura de la misma, y así surgen distintas técnicas espectroscópicas, tal como se indica en la tabla 4. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 43).

**Tabla 4. Efecto e información de la radiación electromagnética sobre la materia**

<b>Técnica espectroscópica</b>	<b>Información obtenida</b>
Rayos X	Estructura total de la molécula incluida la estereoquímica.
Ultravioleta-Visible	Existencia de cromóforos y/o conjugación en la molécula.
Infrarrojo	Grupos funcionales a partir de las absorciones observadas.
Espectrometría de masas	Fórmula molecular y subestructuras a partir de los iones observados.
Resonancia magnética nuclear	Grupos funcionales, subestructuras, conectividades, estereoquímica, etc.

Nota: Litter, Farías y Armienta, 2009.

## Generalidades

La espectroscopía UV-Vis emplea la radiación del espectro electromagnético, cuya longitud de onda está comprendida entre los 100nm y los 800 nm; su efecto sobre la materia es producir transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y moleculares de la sustancia. En esta espectroscopía, las sustancias químicas absorben luz UV-Vis, y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal o fundamental (EF) a uno excitado (EE). (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 44).

La energía de la transición está relacionada con la longitud de onda de la radiación a través de la ecuación de Planck. En general, en los espectros UV-Vis, se observa una señal debida a cada transición electrónica del EF al EE. Los átomos dan líneas agudas, mientras que las moléculas poliatómicas dan señales en forma de bandas, puesto que la absorción de luz involucra también energía suficiente para causar cambios en energía vibracional y rotacional de cada uno de sus estados electrónicos en el EE, tal como ocurre cuando se irradia al EF con luz infrarroja. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 44).

En este caso, se originan líneas de absorción de diferentes intensidades que no se resuelven, con la aparición de un continuo o banda. Para una sustancia determinada, la longitud de onda a la cual se produce el máximo de absorbancia en el espectro se conoce como  $\lambda$  máx. La señal espectral permite, por un lado, identificar algunos grupos funcionales presentes en las moléculas y, por el otro, estimar la concentración de una sustancia. La espectrometría es la técnica espectroscópica usada para evaluar la concentración de una especie y utiliza un instrumento llamado espectrómetro. En el caso de la espectrometría que utiliza fotones (UV-Vis, IR), se suele hablar de espectrofotometría. Para la medición de la intensidad de absorción se usan espectrofotómetros en los cuales se puede medir la absorbancia o la transmitancia, como veremos después. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 45).

### Modos de excitación electrónica

Cuando un fotón UV-Visible de energía adecuada incide sobre una especie absorbente, un electrón es promovido desde el EF al EE. El acto primario de excitación por la luz involucra tres etapas: interacción de la molécula con fotón (UV, visible), fotoexcitación, producción del EE o transición electrónica. La absorción depende de la estructura de las moléculas y es característica para cada sustancia química. En el UV-Vis solo absorben aquellas sustancias que presentan un cromóforo, en el que se encuentra la transición electrónica responsable de una determinada banda espectral y que absorbe la luz. Bajo irradiación UV-Vis pueden ocurrir distintas transiciones electrónicas. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 45).

**Transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ .** Ocurren a longitudes de onda menores a 50 nm. Este tipo de transiciones se dan sobre todo en hidrocarburos que únicamente poseen enlaces  $\sigma$  C-H o C-C. La energía requerida para que tenga lugar esta transición es relativamente grande, y pertenece a la región espectral denominada *ultravioleta de vacío* (UVV). (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 45).

**Transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$ .** Ocurren a longitudes de onda entre 150-200 nm. Corresponden a compuestos que poseen átomos con pares de electrones no compartidos. La energía necesaria para que se produzca esta transición sigue siendo alta (aunque menor que en las  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ), perteneciendo estas a la región espectral UV lejano. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 45).

**Transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  y transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ .** Ocurren a longitudes de onda entre 200-700 nm. La mayoría de las aplicaciones de la espectroscopía UV-Vis están basadas en transiciones que ocurren en esta zona. Se requiere que las especies participantes aporten un sistema de electrones  $\pi$ . Las energías de excitación en las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  son medianamente altas, correspondiendo a las regiones UV lejano y cercano, mientras que las  $n \rightarrow \pi^*$  son algo menores. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 46).

Incluso las moléculas más simples tienen un gran número de niveles discretos de energía, con niveles cercanos adyacentes a ellos ocasionados por la vibración atómica dentro de la molécula. La superposición de estas bandas vibratorias en el espectro electrónico ocasiona que los espectros medidos se presenten como un pico ancho con forma de campana. Como regla general, la mayoría de las moléculas presentan absorbancia en alguna parte de la región UV-Vis. Cuanto más se deslocalicen los electrones p, más

larga será la longitud de onda de la primera banda de absorción, es decir, la banda con la energía más baja y la longitud de onda más larga. (USP 38, 2015, p. 1900).

### **Espectrometría UV-Vis para la determinación de la concentración de especies químicas**

Para las determinaciones analíticas es necesario disponer de un espectrofotómetro UV-Vis; con este equipo se mide el cambio de la absorbancia de un compuesto a diferentes concentraciones de analito por un método estandarizado para la especie en cuestión. Por lo regular, se realiza una curva de calibración, de la cual se puede obtener el coeficiente de absorción molar. La espectrometría UV-Vis se emplea, generalmente, en la determinación cuantitativa de la concentración en solución de especies químicas, como iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados. Muchas de estas involucran un paso de reacción entre la especie y un compuesto que origine un derivado coloreado o absorbente en el UV-Vis. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 49).

### **Partes básicas de un espectrofotómetro**

El equipo cuenta con una fuente de luz (por lo general, una lámpara incandescente de tungsteno) para las longitudes de onda en el rango visible, o una lámpara de arco de deuterio en el ultravioleta, un soporte para la muestra, una red de difracción o monocromador para separar las diferentes longitudes de onda de la luz, y un detector. El detector suele ser un fotodiodo. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 50).

Los fotodiodos se usan con monocromadores que filtran la luz, de modo que una sola longitud de onda alcanza el detector. Un espectrofotómetro puede ser de haz simple o de doble haz. En un instrumento de un solo haz, toda la luz pasa a través de la celda de la muestra. La intensidad incidente  $I_0$  se mide análogamente en ausencia de la muestra. En un instrumento de doble haz, la luz se divide en dos haces antes de llegar a la muestra. Un haz se usa como referencia, y el otro pasa a través de la muestra. Algunos instrumentos de doble haz tienen dos detectores (fotodiodos)

y se pueden medir simultáneamente tanto el haz de referencia como el de la muestra. (USP 38, 2015, pp. 1900-1902).

En otros instrumentos, los dos haces pasan a través de un bloqueador que impide el paso de uno de los haces. El detector alterna entre la medida del haz de muestra y la del haz de referencia. Las muestras se colocan en una celda transparente (cubeta), que suelen ser rectangulares, con un ancho interior de 1 cm ( $l = 1$  en la ecuación de la ley de Lambert-Beer). Las mejores cubetas están hechas con cuarzo de alta calidad, aunque son comunes las de vidrio o plástico. El cristal, el vidrio y la mayoría de los plásticos absorben en el UV, lo que limita su utilidad a las longitudes de onda en el visible. (USP 38, 2015, pp. 1900-1902).

Todas las mediciones modernas UV-Vis implican la detección y medición del cociente de intensidad de la radiación a cierta longitud de onda, en presencia o ausencia de la muestra absorbente. La dispersión de luz, para alcanzar la resolución deseada, puede ocurrir antes o después de introducir la muestra, pero todos los instrumentos UV-Vis comerciales comparten las siguientes características para realizar dichas funciones: fuente continua, monocromador o policromador, área de muestreo y detector. Se debe tener cuidado de asegurar que el haz de luz incidente no degrade la muestra y de minimizar cualquier efecto del calentamiento. Esto es particularmente importante cuando se usan instrumentos de arreglo de diodos, ya que la muestra se irradia a todas las longitudes de onda. (USP 38, 2015, pp. 1900-1902).

### ***Selectores de longitudes de onda.***

Los instrumentos espectroscópicos, que funcionan en las regiones y visibles, generalmente están equipados con uno o más dispositivos, para restringir la radiación que se está midiendo en una banda angosta, que es absorbida o emitida por el analito. Estos dispositivos incrementan, de manera significativa, tanto la selectividad como la sensibilidad de un instrumento. Además, para las mediciones de absorción, las bandas estrechas de radiación disminuyen enormemente la posibilidad de observar desviaciones en la ley de Beer, debidas a la radiación policromática. Muchos instrumentos utilizan un monocromador o un filtro para aislar una banda de la longitud de onda deseada, de tal manera que solo se detecta y mide la banda de interés. Otros utilizan un espectrógrafo para desdoblar, o dispersar, las longitudes de onda, de tal manera que se pueden detectar con un detector multicanal. (Skoog, 2015, p. 693).

### ***Área de muestreo.***

Hay una gran cantidad de tipos de portaceldas, que están diseñados para ajustarse a varias configuraciones de longitud de paso, basándose generalmente en celdas rectangulares convencionales, que incluyen celdas de flujo, sondas de inmersión basadas en fibra óptica, configuraciones de placa de micropocillos y cargadores de muestra automáticos, entre otros. Es importante mencionar que se deben tomar en cuenta aspectos como:

*Volumen de muestreo.*

*Velocidad de medición.*

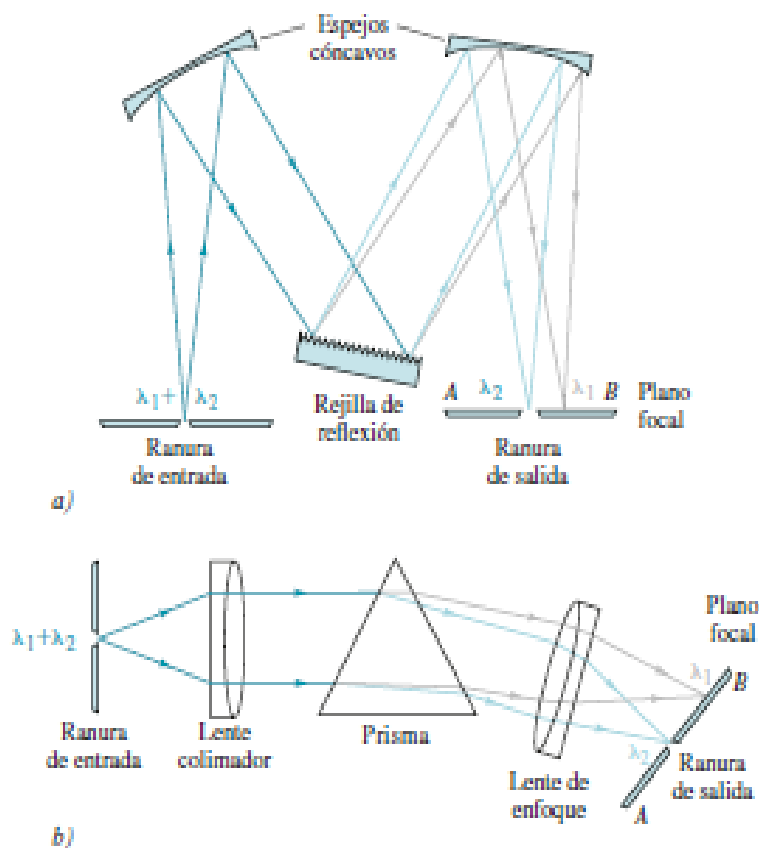
*Reproducibilidad de la presentación de la muestra.*

Esta última es la que garantiza el dispositivo de muestreo para aplicaciones específicas. (USP 38, 2015, p. 1903).

### ***Monocromadores y policromadores.***

Los monocromadores, por lo general, tienen una rejilla de difracción para dispersar la radiación en sus longitudes de onda. Los instrumentos más antiguos utilizaban prismas para este propósito, como se observa en la ilustración 19.

### Ilustración 19. Tipos de monocromadores



Nota: Skoog, 2015.

Donde a) monocromador de rejilla y b) monocromador de prisma.

Al rotar la rejilla, se puede hacer que pasen diferentes longitudes de onda a través de la ranura o rendija de salida. La longitud de onda de salida de un monocromador es continuamente variable en un intervalo espectral considerable. El intervalo de longitudes de onda que deja pasar un monocromador, llamado *pase de banda espectral* o *ancho de banda efectivo*, puede ser menor que 1 nm para instrumentos relativamente caros o de más de 20 nm para sistemas económicos. Debido a la facilidad con que se cambia la longitud de onda en un instrumento basado en monocromadores, estos sistemas se utilizan ampliamente para aplicaciones de barrido espectral, así como para aplicaciones que requieren una longitud de onda fija. (Skoog, 2015, p. 712).

La radiación de una fuente entra al monocromador a través de una estrecha abertura rectangular o ranura. La radiación es colimada después por un espejo cóncavo, que produce un haz paralelo que golpea la superficie de una rejilla de reflexión. La trayectoria de la radiación de longitud de onda más larga, después de que es reflejada de la rejilla, se representa con líneas punteadas; la línea sólida muestra la trayectoria de la longitud de onda más corta. El ancho de banda depende del tamaño y de la calidad del elemento dispersante, los anchos de la ranura y la longitud focal del monocromador. Un monocromador de alta calidad mostrará un ancho de banda efectivo de unos cuantos décimos de nanómetro o menos en la región UV-Vis. (Skoog, 2015, p. 712).

### ***Contenedores de muestras.***

Los contenedores de muestras, que generalmente se llaman *celdas o cubetas*, deben tener ventanas transparentes en la región espectral de interés. Se requiere que los mismos sean de cuarzo o sílice fundida para longitudes de onda menores que 350 nm, y se pueden utilizar en la región visible hasta aproximadamente 3000 nm. El vidrio de silicato se utiliza para la región de 375-2000 nm, debido a su bajo costo en comparación con el cuarzo. Las celdas de plástico también se utilizan en la región visible. El material más común para ventanas es el cloruro de sodio cristalino, que es soluble en agua y en algunos otros disolventes. (Skoog, 2015, p. 730).

Las celdas más óptimas tienen ventanas que son perpendiculares a la dirección del rayo, a fin de minimizar las pérdidas por reflexión. La longitud de trayectoria más común en las celdas, para llevar a cabo estudios en las regiones UV y visible, es de 1 cm. Las celdas con longitudes de trayectoria más grandes y más cortas también se pueden adquirir. Por razones económicas, las celdas cilíndricas se utilizan en algunas ocasiones. (Skoog, 2015, p. 730).

La calidad de los datos espectroscópicos depende de manera crítica en la forma en que se utilizan y mantienen las celdas. Las huellas digitales, la grasa y otros depósitos en las paredes pueden alterar, de manera significativa, las características de transmisión de una celda, por lo que es de suma importancia limpiar minuciosamente las celdas, tanto antes como después de usarlas. Las celdas, por ninguna forma, se deben secar por calor en un horno o sobre una flama, porque esto puede provocar daños físicos o puede alterar la longitud de trayectoria. Es importante que estas deben calibrarse una contra la otra de manera regular, con una disolución absorbente. (Skoog, 2015, p. 730).

### ***Detector***

La USP 38, en el 2015, menciona información sobre el detector:

Los más comunes son los fotoeléctricos, ya que generan una corriente eléctrica que es directamente proporcional a la intensidad de la energía radiante incidente que actúa sobre estos, los cuales pueden presentarse en forma de dispositivos semiconductores fotosensibles, como detectores discretos, arreglos: lineales, bidimensionales o fotomultiplicadores. (p. 1903).

También indica que hay dispositivos semiconductores fotosensibles que incluyen fotodiodos de estado sólido, arreglos de dispositivos de acoplamiento de carga y fototransistores, siendo el silicio el material semiconductor más frecuente, ya que es sensible a longitudes de onda de 400-800 nm. Sin embargo, algunos dispositivos de silicio tienen una sensibilidad extendida, que va desde una longitud de onda de 190 nm hasta longitudes de onda de 1100 nm. Su respuesta dinámica, por lo general, es de cuatro órdenes de magnitud. En el caso de los detectores de arreglos, están diseñados con silicio; por consiguiente, tienen una respuesta de longitud de onda similar. Si el material de los semiconductores es distinto al mencionado, estos pueden proveer una respuesta de longitud de onda de hasta varios micrómetros. (p. 1903).

Por otra parte, destaca que los fotomultiplicadores son detectores al vacío; estos tienen un fotocátodo en el que la energía del fotón libera electrones, que son dirigidos por el campo aplicado hacia las placas sensibles a los electrones. Estos presentan una respuestas de longitud de onda típicas de 160-900 nm, aunque algunos materiales de fotocátodos pueden proveer respuestas a longitudes de onda mayores. La respuesta dinámica de estos es de seis órdenes de magnitud o mayores. (p. 1903).

### **Tipos de Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible (UV-Vis)**

Gracias a los avances de la ciencia, existen múltiples tipos de espectrofotómetro UV-Vis, por lo que se mencionarán los más conocidos, para lograr un mayor conocimiento.

### ***Espectrofotómetro convencional.***

Este equipo enfoca la luz policromática de la fuente en un monocromador. Tiene como componentes principales una ranura de entrada, un elemento que dispersa la luz en sus longitudes de onda componentes (en general una red de difracción), y una ranura de salida, que permite seleccionar la longitud de onda deseada. Esa luz “monocromática” atraviesa la muestra, y llega al detector. Las mediciones fotométricas se hacen con base en la relación entre la intensidad de la luz que alcanza al detector cuando está interpuesta la muestra (I) y cuando no lo está ( $I_0$ ), o cuando está interpuesto un “blanco”. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 49).

El monocromador no selecciona una única longitud de onda, sino un rango, cuya amplitud depende de la calidad (resolución) del mismo. Esta resolución depende fundamentalmente del diseño (montaje) del monocromador, de su distancia focal, y de las dimensiones y densidad de líneas en la red de difracción. Para cambiar la longitud de onda de medición, o para hacer un barrido espectral, se mueve el elemento dispersor o algún espejo por medio de un motor por pasos. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 49).

### ***Espectrofotómetro de arreglo de diodos.***

Este equipo fue introducido a mediados de los años 70, el cual utiliza una óptica invertida respecto del convencional: toda la luz de la fuente atraviesa la muestra, y luego es dispersada en un monocromador que, en lugar de una ranura de salida, tiene en el plano focal un dispositivo que integra en un pequeño circuito varios cientos de detectores tipo fotodiodo de silicio. El número de elementos varía actualmente entre 64 y 4096, siendo los más comunes de 512 y 1024 elementos. Cada elemento del arreglo recibe luz de un rango particular de longitudes de onda, donde una computadora procesa los datos recibidos. Una de sus principales ventajas es que, para obtener un espectro, no se necesita mover ningún elemento, y se obtienen de manera casi instantánea. (Litter, Farías, y Armienta, 2009, p. 49).

Los fotodiodos de silicio se han vuelto muy importantes en años recientes, debido a que se pueden fabricar 1000 o más, lado a lado, en un pequeño chip de silicio, con un ancho de solo 0.02 mm de los diodos individuales. Con uno o dos de los detectores basados en arreglos de diodos colocados a lo largo del plano focal de un monocromador, todas las longitudes de onda que pasan

se pueden monitorear de manera simultánea, lo que hace posible la espectroscopía de alta velocidad. (Skoog, 2015, p. 726).

Si el número de cargas inducidas por luz por unidad de tiempo es grande en comparación con los acarreadores de carga producidos de manera térmica, la corriente en un circuito externo, en condiciones de polarización inversa, está directamente relacionada con la energía de la radiación incidente. Los detectores basados en fotodiodos de silicio responden extremadamente rápido, casi siempre en nanosegundos. Los arreglos de diodos también se pueden obtener de manera comercial con dispositivos de entrada llamados *intensificadores de imagen*, para producir ganancia y permitir la detección de bajos niveles de luz. (Skoog, 2015, p. 712).

### **Detección y medición de energía radiante**

Para obtener información espectroscópica, la energía radiante transmitida, manifestada como fluorescencia, debe ser detectada de cierta manera y convertida en una cantidad medible. Un detector es un dispositivo que identifica, registra o indica un cambio en una de las variables en su ambiente como la presión, temperatura o radiación electromagnética. Algunos ejemplos familiares de detectores influyen en la película fotográfica para indicar la presencia de radiación electromagnética o radioactiva, el puntero de una balanza para indicar diferencias de masa y el nivel de mercurio en un termómetro para indicar temperatura. El ojo humano también es un detector: convierte la radiación visible en una señal eléctrica que pasa al cerebro a través de una cadena de neuronas en el nervio óptico, lo que produce la visión. (Skoog, 2015, p. 712).

En los instrumentos modernos, la información de interés es codificada y procesada como una señal eléctrica. Un transductor convierte las cantidades no eléctricas, como la intensidad de luz, el pH, la masa y la temperatura, en señales eléctricas que pueden ser amplificadas posteriormente, manipuladas y, por último, convertidas en números proporcionales a la magnitud de la cantidad original. (Skoog, 2015, p. 712).

### **Fuentes de la región Uv-Vis**

Es importante mencionar algunos tipos de fuentes de la región ultravioleta visible, que se utilizan a la hora de la medición con el equipo.

#### ***Fuentes continuas en la región ultravioleta/visible.***

Entre las fuentes continuas más utilizadas está la lámpara ordinaria con filamento de tungsteno, que provee una amplia distribución de longitudes de onda de 320 a 2500 nm. Estas lámparas operan a una temperatura que está alrededor de los 2900 K; por lo tanto, producen radiación útil en el intervalo de los 350 a los 2500 nm. Las lámparas de tungsteno/halógeno, también llamadas *lámparas de cuarzo/halógeno*, contienen una pequeña cantidad de yodo dentro de una envoltura de cuarzo que alberga el filamento. El cuarzo permite que el filamento sea operado a temperaturas de aproximadamente 3500 K, lo que hace que produzcan intensidades mayores y que se extienda el intervalo de la lámpara hacia el UV. (Skoog, 2015, p. 707).

Muchos equipos UV-Vis usan la fuente continua, para englobar de manera efectiva las regiones UV y visible. Esta selección de fuente se logra mediante el uso de un espejo o por el movimiento físico de las lámparas. Esta incluye lámpara de tungsteno-halógeno para visible, arco de deuterio para UV y arco de xenón. (USP 38, 2015, p. 1902).

La vida media de una lámpara de tungsteno/halógeno es mayor que la de una lámpara ordinaria de tungsteno, lo cual está limitado por la sublimación del tungsteno del filamento. Estas moléculas difunden de regreso al filamento caliente donde se descomponen, redepositan átomos de W en el filamento y liberan yodo. Estas se usan con mayor frecuencia en la fabricación de instrumentos espectroscópicos, debido a su intervalo amplio de longitudes de onda, que tienen una intensidad mayor y una vida media más larga. (Skoog, 2015, p. 707).

Las lámparas de deuterio, y también las de hidrógeno, se utilizan de manera común para proveer una radiación continua en la región UV. Una lámpara de deuterio está formada por un tubo cilíndrico que contiene deuterio a baja presión, con una ventana de cuarzo a través de la cual sale la radiación. (Skoog, 2015, p. 707).

A la fecha, la mayoría de las lámparas usadas para generar radiación ultravioleta contiene deuterio y son de bajo voltaje, en las que se forma un arco entre un filamento que se calienta,

cubierto de óxido, y un electrodo metálico. Este filamento caliente proporciona electrones para mantener una corriente directa a un potencial de aproximadamente 40 V; se requiere una fuente de potencia o energía regulada para mantener intensidades constantes. Tanto las lámparas de deuterio como las de hidrógeno proporcionan un espectro continuo útil en la región, que va de los 160 a los 375 nm. A pesar de esto, es destacable que la lámpara de deuterio se utiliza más comúnmente que la lámpara de hidrógeno, debido a que esta es más intensa. (Skoog, 2015, p. 708).

En la actualidad se utilizan dos tipos principales de fuente continua: continua y pulsada. La pulsada presenta la lámpara de destellos de xenón; estos sistemas basados en este tipo de lámparas de xenón tienen el beneficio de una sola fuente y una salida de energía mayor, pero son más costosos. (USP 38, 2015, p. 1902).

#### ***Otras fuentes ultravioleta/visible.***

Las fuentes lineales también son importantes para usarse en la región UV/visible. Las lámparas de arco de mercurio de baja presión son fuentes comunes que se utilizan en detectores de cromatografía líquida. La línea dominante emitida por estas fuentes es la línea de Hg de 253.7 nm. Las lámparas de cátodo hueco también son fuentes lineales comunes que se usan de manera específica para la espectroscopía de absorción atómica. Los láseres también se utilizan en muchas aplicaciones espectroscópicas, tanto para longitudes de onda individuales como para barridos. (Skoog, 2015, p. 708).

#### **Aplicaciones cualitativas de la espectroscopía ultravioleta/visible**

Las mediciones espectrofotométricas, realizadas con radiación ultravioleta, son útiles para detectar grupos cromóforos, ya que grandes porciones de las moléculas orgánicas aun más complejas son transparentes a la radiación de longitud de onda mayor que 180 nm; la aparición de una o más bandas de absorción en la región de 200 a 400 nm es un claro indicio de la presencia de grupos insaturados o de átomos como azufre o halógenos. Los espectros UV no tienen estructura fina suficiente para permitir que un analito sea identificado sin posibilidad de error, por lo que los datos de la radiación ultravioleta cualitativos deben ser complementados con otras pruebas químicas o físicas como la de infrarrojo, la de resonancia magnética nuclear y la de espectrometría

de masas, así como de información acerca de la solubilidad y puntos de fusión y ebullición. (Skoog, 2015, p. 746).

### ***Detalles del procedimiento.***

El desarrollo de condiciones, que reproducen la relación entre la absorbancia y la concentración de analito, es el primer paso en los análisis de fotométricos o espectrofotométrico.

### ***Selección de la longitud de onda.***

Para alcanzar la máxima sensibilidad, las mediciones de absorbancia espectrofotométrica normalmente se realizan a la longitud de onda de máxima absorción, porque el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto. Además, la curva de absorción suele ser plana en el punto máximo, lo que conduce al cumplimiento de la ley de Beer y a menor incertidumbre por fallas al reproducir exactamente la selección de la longitud de onda del instrumento. (Skoog, 2015, p. 750).

### ***Variables que influyen sobre la absorción.***

Entre las variables comunes que influyen sobre el espectro de absorción de una sustancia están incluidos la naturaleza del disolvente, el pH de la disolución, la temperatura, las altas concentraciones de electrolito y la presencia de sustancias interferentes. Los efectos de estas variables deben conocerse, y las condiciones para la determinación deben seleccionarse de tal forma que la absorbancia no sea afectada materialmente por pequeñas variaciones no controladas. (Skoog, 2015, p. 750).

### ***Relación entre absorbancia y concentración.***

Los estándares de calibración para un método espectrofotométrico deben aproximarse tan cerca como sea posible a la composición general de las muestras reales, y deben abarcar un intervalo razonable de concentraciones del analito. Para evaluar la relación entre absorbancia y concentración, normalmente se obtiene una curva de calibración de absorbancia contra la

concentración de varios estándares. Es poco común, si es que alguna vez lo es, suponer que la ley de Beer se cumple y, por lo tanto, no es recomendable utilizar un solo estándar para determinar la absorptividad molar. (Skoog, 2015, p. 750).

#### *Método de adición de estándar.*

La composición de los estándares de calibración debe asemejarse a la composición de las muestras que serán analizadas. Esto es válido no solo para la concentración del analito, sino también para las concentraciones de las otras especies químicas presentes en la matriz de la muestra. La aproximación o intento de reproducir la composición de la muestra debe minimizar los efectos de los otros. (Skoog, 2015, p. 750).

### **Algunos Factores que Impactan el Desempeño de la Medición del UV-Vis**

Al seguir los procedimientos adecuados, se lograrán las mediciones exactas, confiables y seguras, como se muestran a continuación:

#### *Límites de la ley de Beer.*

Hay pocas excepciones a la relación lineal entre la absorbancia y la longitud de la trayectoria a una concentración fija, pero es frecuente observar desviaciones de la proporcionalidad directa entre absorbancia y concentración cuando la longitud de la trayectoria es una constante. Algunas de estas desviaciones, llamadas *desviaciones reales*, son fundamentales y representan limitaciones reales a la ley. Otras son resultado del método que utilizamos para medir la absorbancia (desviaciones instrumentales) o de cambios químicos que ocurren cuando cambia la concentración (desviaciones químicas). (Skoog, 2015, p. 690).

La ley de Beer solo describe el comportamiento de la absorción de disoluciones diluidas, y en este sentido es una ley limitante. A concentraciones mayores que 0.01 M, las distancias promedio entre los iones o las moléculas de las especies absorbentes disminuyen, hasta el punto en el que cada partícula afecta la distribución de la carga. El grado de interacción depende de la

concentración; la ocurrencia de este fenómeno provoca desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración. En algunas ocasiones ocurre un efecto similar en las disoluciones diluidas de absorbentes que contienen altas concentraciones de otras especies, en particular de electrolitos. Cuando los iones están muy cerca uno del otro, la absorptividad molar del analito puede ser alterada debido a las interacciones electrostáticas que conducen a desviaciones de la ley de Beer. (Skoog, 2015, p. 690).

### ***Desviaciones químicas.***

Las desviaciones de la ley de Beer aparecen cuando las especies absorbentes experimentan asociación, disociación o reacción con el disolvente, para dar lugar a productos que absorben de manera distinta al analito. El grado de dichas desviaciones puede predecirse a partir de las absorptividades molares de las especies absorbentes y las constantes de equilibrio para estos equilibrios, pero normalmente no tomamos en cuenta estos procesos que afectan al analito; a menudo no es posible corregir las mediciones. Los equilibrios típicos que dan lugar a este efecto incluyen equilibrios monómero-dímero, equilibrios de formación de complejos metálicos donde está presente más de un complejo, equilibrios ácido/base y equilibrios de asociación disolvente-analito. (Skoog, 2015, p. 690).

### ***Desviaciones instrumentales: Ancho de la Banda Espectral.***

Esto es de suma importancia, por el motivo de que los procedimientos espectrofotométricos requieren una buena resolución espectral. Se debe usar el ancho de ranura más estrecho, ya que esta provoca una relación señal-ruido adecuada, debido a que la resolución óptima se logra al maximizar la relación señal-ruido. Si se tiene acceso a un instrumento con ancho de banda variable, la configuración óptima puede definirse como el mayor ancho de banda en el que no se observa una reducción significativa en la intensidad de los picos. (USP 38, 2015, p. 1904).

***Desviaciones instrumentales: Luz Espuria.***

Conocida también como *radiación espuria*, la energía radiante a longitudes de onda diferentes a las indicadas por la configuración del monocromador, y toda la energía radiante que alcanza al detector sin haber pasado a través de la muestra o de las soluciones de referencia, puede ser ocasionada por cualquier radiación dispersada por las irregularidades en el medio de dispersión, que normalmente es una red de dispersión. El uso de esta red holográfica reduce en gran manera los niveles de esta fuente de radiación espuria. Las redes de dispersión pautadas de alta calidad generan un nivel bajo de radiación dispersada. (USP 38, 2015, p. 1905).

En los instrumentos de mayor desempeño, esta radiación puede reducirse mediante el uso de monocromadores dobles o monocromadores de doble paso. De igual forma, es importante mencionar que la luz espuria puede ser ocasionada por:

*Fugas de luz en el sistema.*

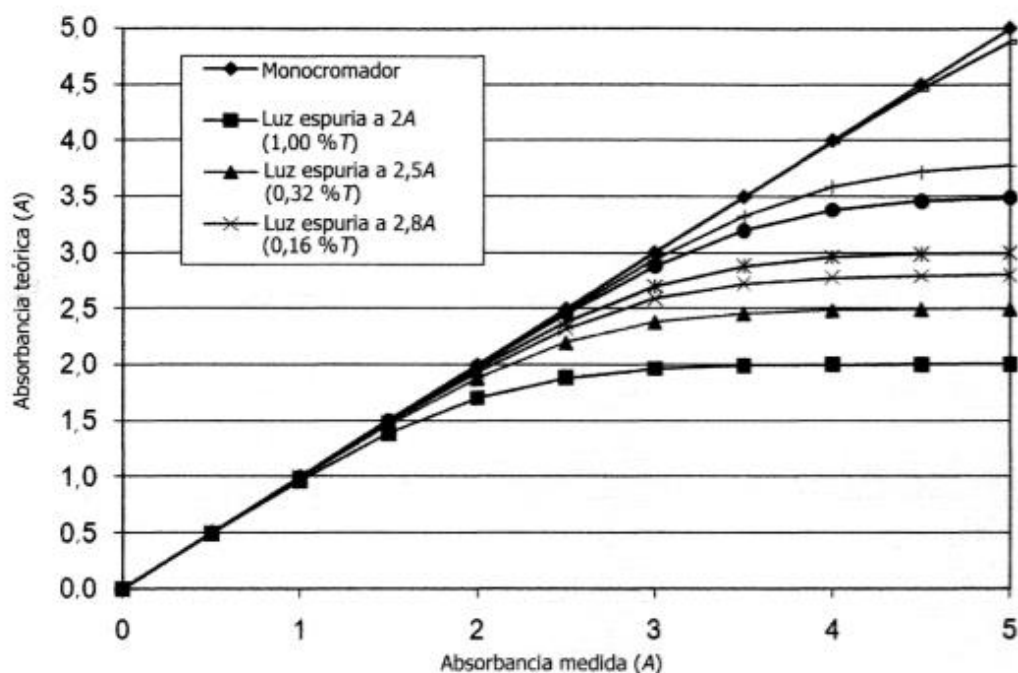
*Calibración incorrecta de la longitud de onda.*

*Alineación óptica incorrecta.*

*Salida reducida de la fuente o respuesta reducida del detector.*

(USP 38, 2015, p. 1905).

## Ilustración 20. Efecto de luz espuria

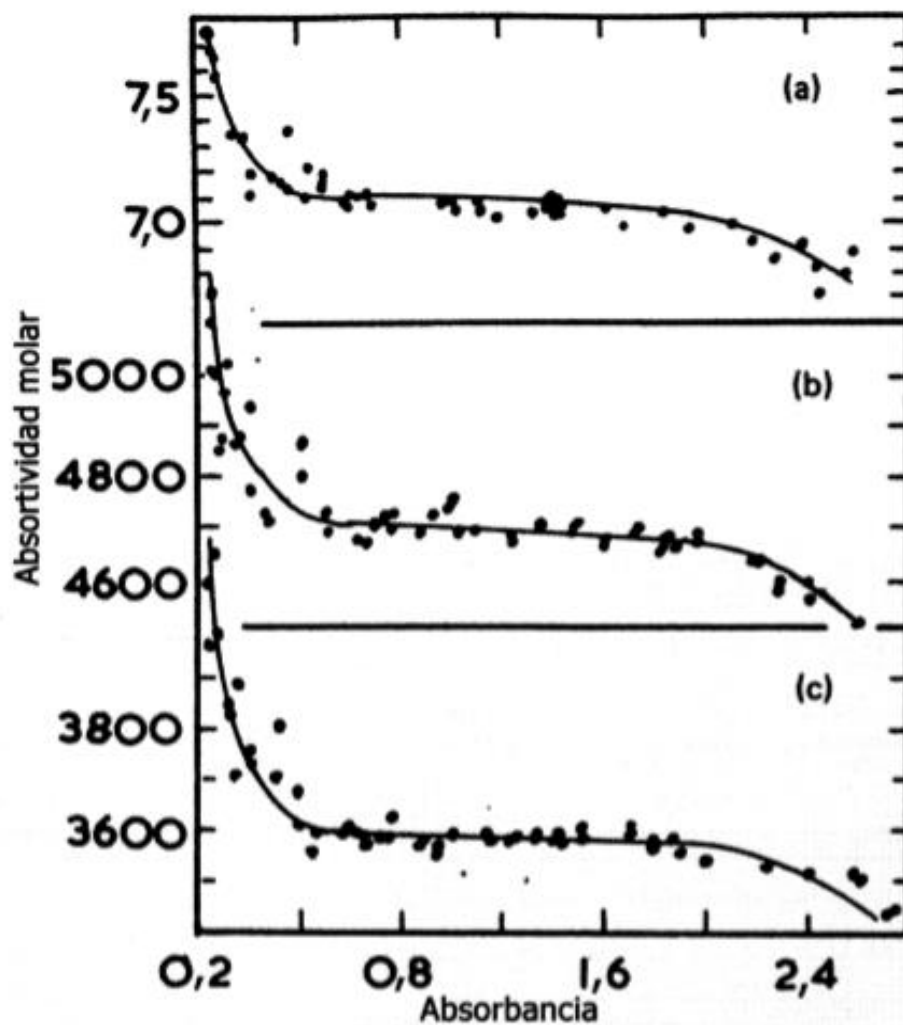


Nota: USP 38, 2015.

### *Desviaciones instrumentales: Intervalo fotométrico de trabajo óptimo*

Este intervalo es de suma importancia para establecer la capacidad de un instrumento dado antes y durante la validación del método. Este procedimiento es tomado en cuenta gracias a que en 1945, Vandenberg et al. intentaron establecer el intervalo de absorbancia óptimo en el que utilizó el espectrofotómetro Beckman DU, en el cual recomendó un enfoque simple en el que las absorbancias molares de varios compuestos se miden a diferentes concentraciones. (USP 38, 2015, p. 1905).

Ilustración 21. Absortividad molar vs. Absorbancia



Nota: USP 38, 2015.

***Desviaciones instrumentales: radiación policromática.***

La ley de Beer aplica estrictamente solo cuando las mediciones son realizadas con fuentes de radiación monocromática. En la práctica, las fuentes policromáticas que tienen una distribución continua de longitudes de onda se utilizan, en conjunto con una rejilla o un filtro, para aislar una banda casi simétrica de longitudes de onda alrededor de la longitud de onda que será empleada. (Skoog, 2015, p. 692).

***Desviaciones instrumentales: la luz errante.***

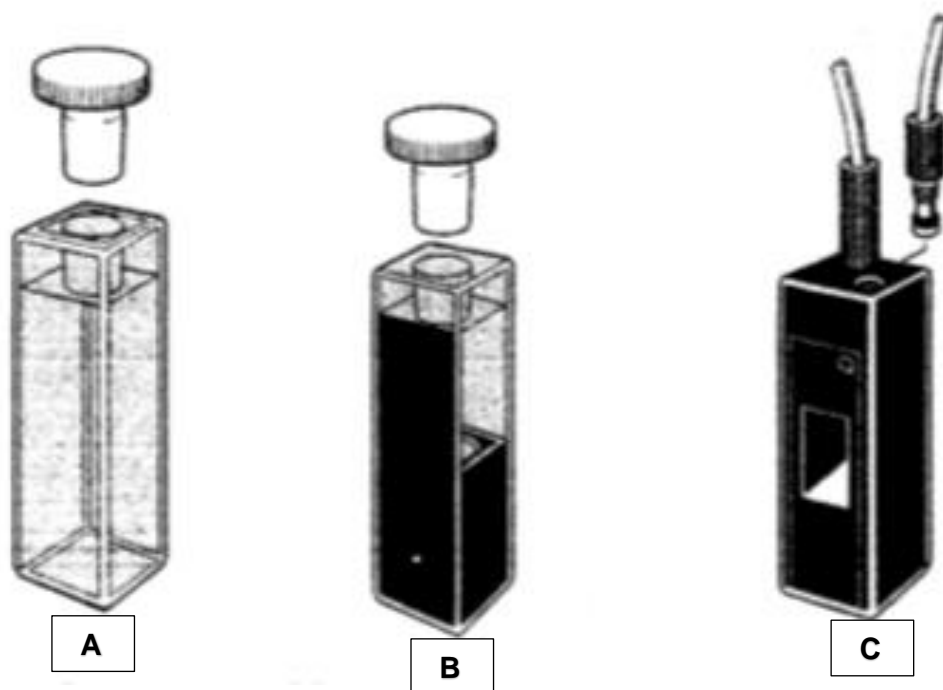
Es conocida también como *radiación esporádica*. Es la radiación del instrumento que está fuera de la banda de la longitud de onda nominal elegida para la determinación. Esta radiación, por lo general, es el resultado de la dispersión y reflexión que ocurre en las superficies de rejillas, lentes o espejos, filtros y ventanas. Las desviaciones causadas por esta luz son más significativas en valores de absorbancia altos. Debido a que los niveles de la radiación esporádica pueden ser tan altos como 0.5% en los instrumentos modernos, los niveles de absorbancia mayores que 2.0 rara vez son medidos, a menos que se tomen precauciones especiales o que se utilicen instrumentos con luz esporádica extremadamente baja. Algunos filtros accesibles muestran desviaciones a la ley de Beer en absorbancias tan bajas como 1.0, debido a los altos niveles de luz esporádica o a la presencia de luz policromática. (Skoog, 2015, p. 692).

***Desviaciones instrumentales: Celdas.***

La longitud de paso de la celda más común es 10 mm, aunque se encuentran también celdas con longitudes de paso de 0,01 a 100 mm. (Véase la ilustración 22). En caso de que la muestra sea de baja absorbancia, se puede obtener una sensibilidad mejor, aumentando la longitud de paso de la celda. (USP 38, 2015, p. 1908).

Los errores en las lecturas de absorción que surgen de las celdas, por lo general, son ocasionados por ventanas sucias que pueden absorber el haz de luz incidente, mientras que las causas de error menos frecuentes son una selección incorrecta del material de la celda para la longitud de onda requerida, falta de repetibilidad del posicionamiento de la celda, diferencias en el espesor de la ventana de la celda, ventanas ópticas no paralelas o impurezas en los materiales de la ventana de la celda. (USP 38, 2015, p. 1908).

## Ilustración 22. Tipos de celdas usados comúnmente



Nota: USP 38, 2015.

Donde A) celdas regulares de 10 mm. B) celdas de bajo volumen. C) celdas de flujo.

Es importante destacar que es conveniente usar una sola celda para todas las mediciones de la referencia y de las muestras. Por lo tanto, cuando se deban analizar varias celdas de muestra contra una celda de referencia, sus características deben ser lo más semejantes posibles, por lo que se recomienda medir los estándares y las muestras al mismo tiempo y en las mismas condiciones, para disminuir el potencial de desviación. La celda de referencia debe contener el mismo disolvente que la celda de muestra, y debe verificarse contra la celda de muestra a todas las longitudes de onda en las que se requieran mediciones. (USP 38, 2015, p. 1909).

Si las celdas que contienen las disoluciones del analito y del blanco no son de la misma longitud de trayectoria y equivalentes en sus características ópticas, se observará una ordenada al origen en la curva de calibración. Este error puede prevenir si se utilizan celdas con las mismas

características o utilizando un método de regresión lineal, para calcular tanto la pendiente como la ordenada al origen de la curva de calibración. Otra forma de evitar el problema de las celdas desiguales en instrumentos de un solo haz es utilizando una misma celda y dejándola en la misma posición. (Skoog, 2015, p. 693).

En las mejores prácticas incluyen usar la misma celda en el haz de referencia con la misma cara incidente a la luz del haz, y nivelando la celda de la muestra en tres ocasiones con la solución muestra antes del llenado final previo a la medición. El uso de celdas de flujo es importante, ya que trata de manera efectiva muchos de estos problemas de manipulación y llenado de las mismas. El contenido en la celda de muestra y la celda de referencia no debe contener burbujas ni partículas. (USP 38, 2015, p. 1909).

Dentro de este apartado es importante destacar que las celdas contaminadas son la mayor fuente de error individual en espectrofotometría, ya que estas nunca deben manipularse tocando las caras ópticas pulidas, y se deben enjuagar. Si estas no se cuidan como corresponde, se deben implementar métodos rigurosos de limpieza, en especial si las celdas no se limpian inmediatamente después de su uso. Si la solución utilizada anteriormente era ácida, simplemente contaminarán las superficies, si son alcalinas pueden grabar todos los tipos de superficies de vidrio, y el grado del daño dependerá del pH y del tiempo de contacto. (USP 38, 2015, p. 1909).

Cuando se limpian las celdas, se debe tener la seguridad de que las caras ópticas no se rayen o quiebren; para esto se encuentran soluciones de limpieza comerciales que se pueden usar, siempre y cuando se diluyan antes de su uso, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Después de una limpieza adecuada, las celdas deben enjuagarse profundamente y con el respectivo cuidado con agua de alta pureza. En caso de que esto no sea eficiente para la limpieza, entonces es recomendable remojarlas en ácido nítrico o ácido clorhídrico concentrado y frío. (USP 38, 2015, p. 1909).

### **CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO**

A continuación, se dará a conocer el tipo de enfoque de la investigación, el método, fuentes de información y las variables que se utilizarán.

#### **Enfoque**

La presente investigación tendrá un enfoque mixto, el cual se define como:

Los métodos mixtos representan un conjunto de procesos sistemáticos, empíricos y críticos de investigación e implican la recolección y el análisis de datos cuantitativos y cualitativos, así como su integración y discusión conjunta, para realizar inferencias producto de toda la información recabada (metainferencias) y lograr un mayor entendimiento del fenómeno bajo estudio (Hernández, Hernández y Baptista, 2014, p. 546).

Debido a la falta de un instructivo por parte de la Universidad Internacional de las Américas, se realizará e implementará uno para el uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química, para dar un uso adecuado y seguro por parte de los estudiantes, profesores y asistentes de laboratorio.

#### **Método**

El método de esta investigación será preexperimental, el cual:

Consiste en administrar un estímulo o tratamiento a un grupo y después aplicar una medición de una o más variables para observar cuál es el nivel del grupo en éstas. Este diseño no cumple con los requisitos de un experimento “puro”. No hay manipulación de la variable independiente (niveles) o grupos de contraste (ni siquiera el mínimo de presencia o ausencia). (Hernández, Fernández y Baptista, 2014, p. 141).

La presente investigación se realizará en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, teniendo como fin la implementación de un instructivo del uso correcto del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

### Variables

Las siguientes variables son indispensables para el desarrollo de un instructivo, que ilustre a los usuarios en el buen uso del equipo:

**Tabla 5. Variables de la investigación**

Variable	Indicador	Definición conceptual y operacional	Definición instrumental
Elaborar un instructivo para el uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, que tenga un lenguaje sencillo y comprensible.	Lenguaje.	El instructivo posee un lenguaje que sea fácil de leer y fácil de comprender, basado en el vocabulario y la redacción utilizados, lo que le permite a la persona dar una buena ejecución del equipo por parte del usuario.	Hoja de observación, donde se evaluará el lenguaje y la comprensión por medio de las siguientes escalas: 1. Sencillo, intermedio y complicado. 2. Técnico o coloquial.
	Comprensión.		
Elaborar un instructivo para el uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, que tenga un orden lógico y cronológico.	Orden cronológico.	El instructivo posee un orden consecutivo y estructurado para realizar los pasos, lo que permite dar una buena ejecución del equipo por parte del usuario.	Hoja de observación, donde se evaluará el orden y la lógica del instructivo con sí o no.
Elaborar un instructivo para el		La persona demostrará los conocimientos que tenga	Hoja de observación:

uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, que pueda ayudar a dar un uso correcto a cualquier persona que requiera el equipo.	Participación de los usuarios.	hasta ese momento sobre el equipo.	donde las evaluadoras anotarán los errores y fallas que demuestren los usuarios al utilizar el equipo.
		La persona demostrará los conocimientos comprendidos posteriormente a la implementación del instructivo para el uso del equipo.	Hoja de observación: donde se verificará si se cumplen de manera correcta los pasos descritos en el instructivo.
	Efectividad.	La persona logró cumplir con el objetivo planteado en las condiciones normales.	
	Eficacia.	La persona logró cumplir con el objetivo planteado en las condiciones ideales.	
	Eficiencia.	Se evalúa la relación entre los resultados alcanzados y los recursos utilizados.	

Nota: Elaboración propia, 2019.

### **Instrumentos y Técnicas**

A continuación, se describirán los instrumentos y técnicas por utilizar para el procedimiento y desarrollo de esta investigación, la cual se llevará a cabo en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

### **Materiales y equipo**

Los instrumentos por utilizar para desarrollar el presente trabajo serán:

- Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR.
- Espectrofotómetro UV-Vis-2505.
- Beakers.

- Toallas de papel.
- Agua destilada.
- Acetona.
- Computadora.
- Impresora.
- Hojas.
- Lapiceros.
- Lápices.

### **Técnica por utilizar para realizar el procedimiento de la siguiente investigación**

Con la finalidad de lograr un adecuado desarrollo de la investigación, se van a describir los instrumentos de recolección y análisis que se van a utilizar, los cuales se realizarán en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

A continuación, se presentan distintas fases con un orden estructural, donde se debe terminar por completo la primera para continuar con la siguiente fase, y así sucesivamente.

#### **Fase 1: Caracterización de los Espectrofotómetro IR y UV**

Investigar las características y funciones básicas de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la UIA; para esto se estudiarán los manuales de cada equipo, con el objetivo de interactuar con ellos y manipularlos adecuadamente. (Véase el apéndice B).

#### **Fase 2: Observación de los Estudiantes Utilizando los Equipos sin el Instructivo**

Observar a los estudiantes de Farmacia utilizando los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química de la UIA, sin uso del instructivo a implementar, con el fin de verificar cuáles son las deficiencias presentadas, para posteriormente elaborar el instructivo, mediante una hoja de cotejo (Véase el apéndice B).

**Fase 3: Consideración de los Errores Cometidos**

Analizar los errores cometidos por los estudiantes y averiguar los motivos del por qué se realizaron los mismos por parte de los involucrados, para tomar las acciones correctivas a la hora de confeccionar el instructivo de uso correcto.

**Fase 4: Realización del Instructivo**

Elaborar un instructivo de uso básico y seguro para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la UIA, contemplando los aportes brindados por los estudiantes en las fases anteriores.

**Fase 5: Evaluación del Instructivo**

Evaluar la implementación del instructivo de uso de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, en los estudiantes del curso de análisis de drogas, en los laboratorios de Química de la UIA, verificando la mejoría en su desempeño al utilizar los equipos y ámbitos de uso correcto, mantenimiento y seguridad.

**Fase 6: Valoración de los Resultados**

Analizar los resultados obtenidos antes y después de la implementación de los instructivos de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química de la UIA.

## **CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

En este capítulo se presentan los resultados e información obtenidos de la investigación realizada y las variables planteadas, con el fin de verificar el cumplimiento de los objetivos específicos.

### **Describir los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.**

En este capítulo de resultados, se exponen las principales funciones de los espectrofotómetro IR Cary 360 FTIR y UV-Vis 2505; ambos equipos están ubicados en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, para el uso didáctico de los estudiantes y profesores de la institución. En el análisis se comprobó que los equipos cumplían con los criterios establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos.

Primeramente, se examinó el manual que proporciona la empresa fabricante de cada equipo, en el cual se identifican las partes que lo conforman y su funcionamiento, y así obtener una óptima manipulación de los aparatos. Con la colaboración del Dr. Carlos Mora Rodríguez se realizó un reconocimiento de los equipos, y se observaron sus principales funciones. Para una mejor comprensión se detallan, por separado, los equipos: los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis 2505.

#### **Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR**

Este equipo es un espectrómetro infrarrojo pequeño, diseñado especialmente para brindar las capacidades de espectrómetros FTIR tradicionales. La técnica utilizada es para la identificación y la cuantificación de compuestos moleculares; la luz infrarroja crea una huella espectral, utilizada para la identificación de estructura molecular de muestra y determinar la cantidad exacta de un compuesto de la mezcla.

Este espectrofotómetro es el primero equipo, de este tipo, que utiliza el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas. Años atrás solo se contaba con la parte

teórica, y los análisis de las muestras no se podían llevar a cabo. Con la incorporación del IR Cary 630 FTIR, los usuarios han podido aumentar sus conocimientos. El uso de este equipo es exclusivo del laboratorio de Química de la Institución; no es resistente al agua, ni está preparado para la intemperie.

Los usuarios pueden hacer uso del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR. En la mesa de trabajo que lo contiene, como se puede observar en la ilustración 23, la computadora está enlazada al espectrofotómetro, y está el material de limpieza del equipo.

**Ilustración 23. Mesa de trabajo del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR**



Nota: Elaboración propia, 2019.

En las ilustraciones 24 y 25 se muestran las partes que conforman el IR Cary 630 FTIR, que son: perilla de la prensa de muestra, visor de muestreo de cristal de diamante, punta de la prensa de muestra plana, punta de la prensa de muestra cóncava, prensa de muestra, botón de encendido/apagado, palanca de liberación del motor; en la parte trasera posee el adaptador de corriente y el adaptador USB.

**Ilustración 24. Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR**



Nota: Elaboracion propia, 2019.

**Ilustración 25. Partes del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR**



Nota: Elaboracion propia, 2019.

### **Función de los principales componentes del equipo.**

A continuación, se van a describir los principales componentes del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR:

#### ***Perilla de la prensa de muestra.***

Es utilizada para subir y bajar la punta de la prensa de la muestra que se esté utilizando. Al girarla en contra de las manecillas del reloj, sube la punta de la prensa y girándola a favor de las manecillas del reloj, baja la punta de la prensa.

#### ***Visor de muestreo de cristal de diamante.***

Permite que la luz infrarroja atraviese la muestra y llegue a un detector, que mide con precisión la cantidad de luz absorbida por la muestra.

#### ***Palanca de retención.***

Esta palanca se encuentra del lado derecho del equipo; se empuja hacia el costado y se desliza el accesorio hacia arriba, para extraerlo de la unidad principal del Cary 630 FTIR. Esta acción se utiliza para cambiar los ocho accesorios disponibles en el mercado, Sin embargo, en la Universidad Internacional de las Américas solo se cuenta con el accesorio ATR de cristal de diamante.

#### ***Punta de la prensa de muestra plana.***

Esta punta es utilizada para las muestras que son sólidas o líquidas.

#### ***Punta de la prensa de muestra cóncava.***

Esta punta es utilizada para las muestras que son semisólidos o líquidos viscosos.

***Fuente de poder.***

Este cable se conecta a un tomacorriente, permitiendo la alimentación de energía al equipo.

***Puerto USB.***

Componente que conecta el espectrofotómetro Cary 630 FTIR con la computadora destinada para el equipo.

***Botón de encendido/apagado.***

Es un botón que, al presionarlo durante dos segundos, enciende el equipo, mostrando una luz verde y al presionarlo en un solo toque, apaga el equipo, mostrando una luz roja.

**Aplicaciones del equipo Cary 630 FTIR**

El equipo espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR está apto para funcionar con los siguientes softwares:

***MicroLab PC.***

Permite editar métodos, revisión de datos, enumerar las muestras realizadas, y el usuario puede nombrar las muestras según su criterio, fáciles de utilizar.

***MicroLab Mobile.***

Presenta las imágenes y las instrucciones que se requieren por el usuario, guiándolo a través de la medición, y no permite la edición de métodos.

***MicroLab Lite.***

Este módulo es utilizado para la revisión de datos y desarrollo de métodos, y no permite coleccionar datos.

### ***MicroLab Quant.***

Es una guía simple para el desarrollo de métodos cuantitativos; crea métodos y modelos que se van a utilizar en el módulo de MicroLab Component de MicroLab PC.

Para efectos didácticos de la Universidad Internacional de las Américas y de esta investigación, se abordó en la aplicación MicroLab PC, ya que el instructivo está elaborado para el uso básico del equipo en relación con dicho módulo, el cual se encuentra instalado en el escritorio de la computadora asignada al Cary 630 FTIR, quedando, a criterio de la institución, el asignar la elaboración de instructivos que incorporen el software adicional, que se implementan en el laboratorio de Química.

### **Espectrofotómetro UV-Vis-2505**

Este equipo es de alto rendimiento y confiabilidad; es un dispositivo analítico, accesible y económico para muchos laboratorios; mide el cambio de absorbancia de un compuesto a diferentes concentraciones de analito; se obtiene el coeficiente de absorción molar mediante la curva de calibración. Es utilizado en la determinación cuantitativa de la concentración en soluciones de especies químicas, como iones metálicos de transición y compuestos orgánicos combinados. Al conectar el equipo a una computadora y a una impresora, permite mostrar los datos de absorbancia y transmitancia. (Litter, Farías y Armienta, 2009, p. 49).

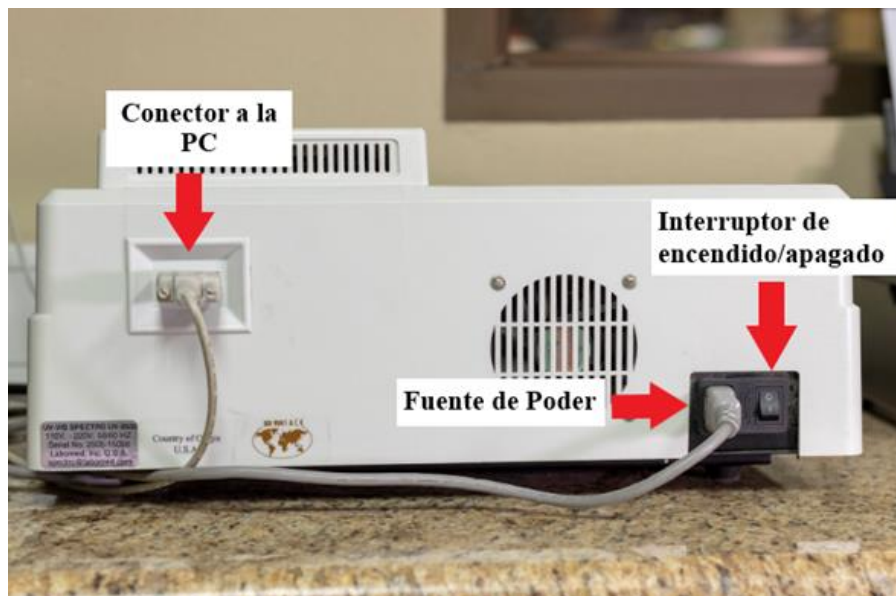
La Universidad Internacional de las Américas mantiene este equipo en el laboratorio de Química; los usuarios pueden acceder a él, como se muestra en la ilustración 26, en una mesa de trabajo apta para el equipo, donde se encontrará el espectrofotómetro UV-Vis-2505, enlazado a una computadora, a su respectiva impresora, las cubetas de cuarzo y el material de limpieza.

Las partes que conforman el espectrofotómetro UV-Vis-2505, como se observan en las ilustraciones 27, 28 y 29, son: el panel de pantalla, la tapa del portador de muestra, la perilla wavelength, el portador de muestras, el carrete de muestra, la cubeta de cuarzo, el conector a la PC, el interruptor de encendido/apagado y la fuente de poder.

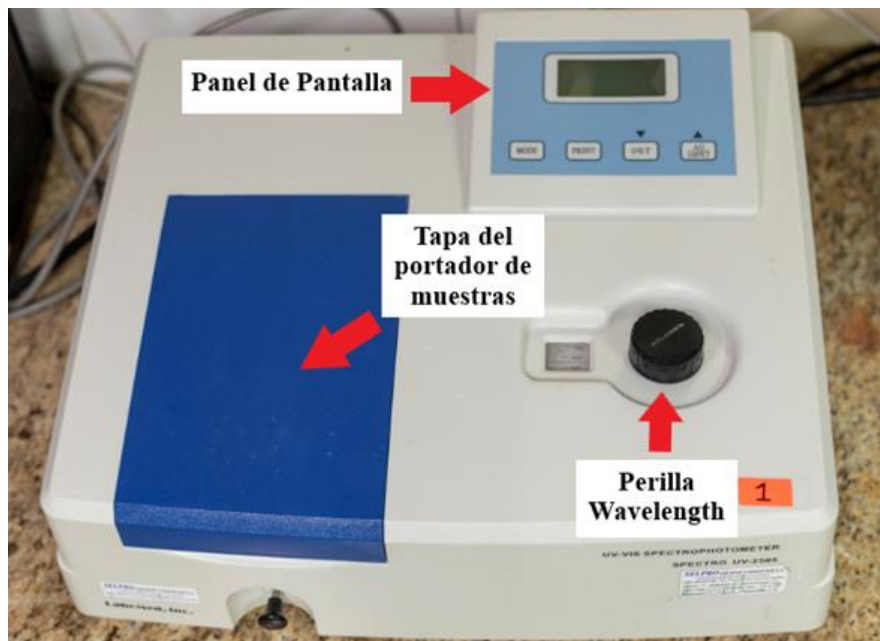
**Ilustración 26. Mesa de trabajo del espectrofotómetro UV-Vis-2505**



Nota: Elaboración propia, 2019.

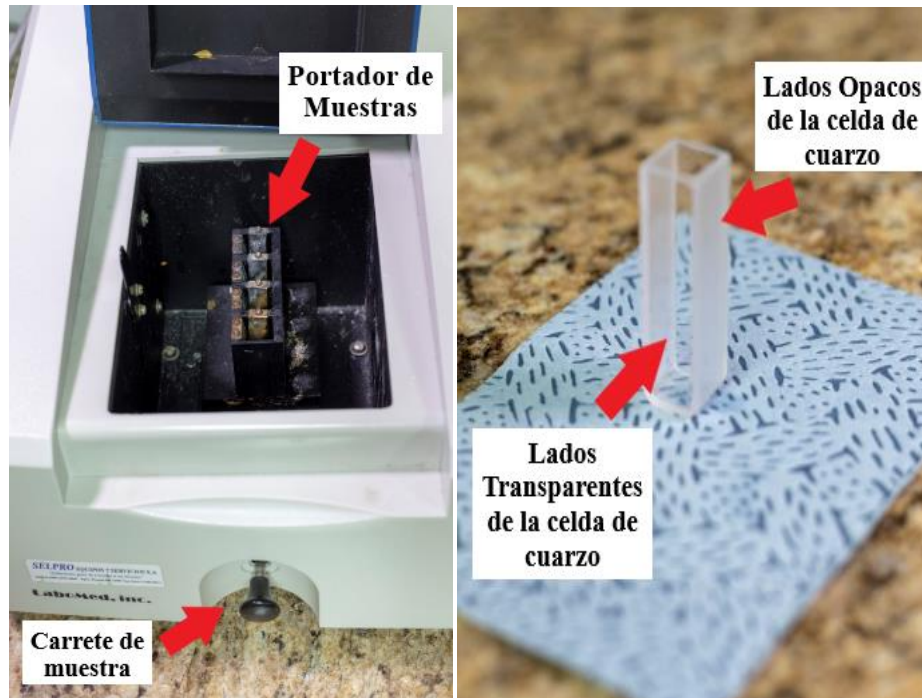
**Ilustración 27. Partes del espectrofotómetro UV-Vis-2505**

Nota: Elaboracion propia, 2019.

**Ilustración 28. Detalles exteriores del espectrofotómetro UV-Vis-2505**

Nota: Elaboracion propia, 2019.

### Ilustración 29. Detalles internos del espectrofotómetro UV-Vis-2505



Nota: Elaboración propia, 2019.

#### **Función de los principales componentes del equipo.**

Se detallan las funciones principales de los componentes del espectrofotómetro UV-Vis-2505:

##### ***Panel de pantalla.***

Consta de una pantalla que muestra los datos requeridos; contiene el siguiente menú de selección:

##### ***MODE.***

Permite seleccionar el estatus de Absorbancia (A), Transmitancia (T), Concentración (C), Factor de la pendiente (F). Para efectos didácticos de la Universidad Internacional de las Américas, solo se emplea el modo de la Absorbancia (A).

##### ***PRINT.***

Permite la impresión de los datos.

*/0%.*

Esta función se emplea en el estatus de Transmitancia (T).

*/AO 100%.*

Esta función se emplea en los estatus de Absorbancia (A) y Transmitancia (T).

***Tapa del portador de muestra.***

Tapa que protege el portador de muestras, evitando el ingreso de luz y polvo.

***Perilla Wavelength.***

Esta perilla gradúa manualmente la longitud de onda que se requiere, al girarla a favor y en contra de las manecillas del reloj.

***Portador de muestras.***

Porta las celdas de cuarzo con la sustancia a analizar, para que el haz de luz pase a través de esta.

***Carrete de muestra.***

Selecciona la muestra a evaluar, tirando y empujando suavemente del carrete.

***Conector a la PC.***

Componente que conecta el espectrofotómetro UV-Vis-2505, con la computadora destinada para el equipo.

***Interruptor de encendido/apagado.***

Interruptor de alimentación, con dos indicaciones ON, el equipo está encendido y OFF, el equipo queda en estado de apagado.

***Fuente de poder.***

Este cable se conecta a un tomacorriente, permitiéndole la alimentación de energía al equipo.

***Toallas para cubeta.***

Toallas desechables especiales, que no rayan la celda de cuarzo y no desprende pelusa.

***Cubeta de cuarzo.***

Cubeta pequeña de cuarzo, sellada en un extremo, que mantiene la muestra durante el experimento; presenta dos extremos opacos, los cuales permiten la manipulación de la misma, y dos transparentes, que permiten que atraviese el haz de luz a la celda. Debe estar libre de impurezas para que no se vean afectados los resultados de la muestra.

***Recipiente para desechos.***

Recipiente utilizado para colocar los desechos del análisis, evitando derrames cerca del espectrofotómetro UV-Vis-2505.

## **Elaborar un instructivo de uso básico de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.**

En este capítulo se desarrolló el instructivo para el uso de los espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505; ambos equipos se encuentran en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, utilizados con fines didácticos por los usuarios.

Con las descripciones de los equipos se diseñaron los instructivos de uso, según el siguiente formato: encabezado general, objetivo, alcance, responsabilidades, definiciones, materiales, consideraciones especiales y sus justificaciones, procedimiento, documentos relacionados, anexos y biografía. Bajo la supervisión y aprobación del Dr. Carlos Mora, se elaboraron los instructivos de uso básico para los equipos de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

Se procede con la definición de cada uno de los puntos contenidos en el diseño de los instructivos básicos para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, ambos por separado.

### **Encabezado general.**

Detalla la información del instructivo del equipo que se va a utilizar, así como la institución a la que pertenece; indica el número de páginas del documento, fecha oficial del uso del instructivo, persona responsable de su diseño. No reemplaza a ningún otro documento, ya que es el primero que se confecciona.

### **Objetivo.**

Establecer el correcto uso del instructivo, para orientar a una buena manipulación del usuario de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

### **Alcance.**

Señala el rango de aplicación del instructivo, para el uso de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

**Responsabilidades.**

Señala las obligaciones de los usuarios al momento de implementar el uso del instructivo para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

**Definiciones.**

Describe los conceptos básicos para la correcta aplicación de los instructivos elaborados para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

**Materiales.**

Señala los instrumentos que se utilizarán en la manipulación de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, para su adecuada conservación.

**Consideraciones especiales y sus justificaciones.**

Se describen las buenas prácticas que se deben de cumplir en el cuidado de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, lo que permite maximizar la vida útil de los instrumentos.

**Procedimiento.**

Se señalan las acciones en orden cronológico para la buena manipulación de los equipos y su adecuada limpieza.

**Documentos relacionados.**

Se hace referencia al manual de uso del fabricante de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.

**Anexos.**

Se adjunta información necesaria para la comprensión y el aprovechamiento del instructivo de uso.

**Bibliografía.**

Referencias utilizadas como fuente de información para la redacción y las citas de contenidos importantes que se desarrollan en el instructivo.

Dado lo anteriores, se diseñó y elaboró el instructivos básico de uso, limpieza y mantenimiento para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505. Por consiguiente, se implementó el uso de los instructivos en el laboratorio de Química, de la Universidad Internacional de las Américas, los cuales cumplen con las especificaciones supra citadas y con las generalidades necesarias para que los equipos sean usados de manera eficiente y acertada, con directrices de limpieza para su buen mantenimiento. (Véase el apéndice C).

**Verificar la implementación de los instructivos de uso propuestos mediante la aplicación de los mismos a potenciales usuarios de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química la Universidad Internacional de las Américas.**

Se verificó la implementación de los instructivos de uso, propuestos en la hoja de cotejo, formulando la evaluación para el correcto uso de los mismos, por parte de los usuarios que utilizan el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas. Para obtener los resultados se aplicó a una muestra de 10 personas, para el equipo espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR y otra muestra con la misma cantidad de personas para el equipo UV-Vis-2505, entre ellas estudiantes, profesores y asistentes de laboratorio.

Antes de implementar la hoja de cotejo a los usuarios del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, se le consultó a cada uno de los usuarios el conocimiento que tenían sobre el uso de los equipos, y el tiempo dedicado a cada persona fue aproximadamente de 15 minutos, para el equipo espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR y un tiempo aproximado de 25 minutos para el equipo UV-Vis-2505; los resultados obtenidos serán detallados por cada equipo separadamente.

Los resultados indicaron la urgencia de la implementación de los instructivos básicos para el uso de los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química, de la Universidad Internacional de las Américas, para que sean de utilidad a los usuarios, y así poder minimizar el riesgo de una mala práctica de estos, como se detectó en el instrumento UV-Vis-2505, donde constantemente los usuarios repetían un mismo error al manipularlo y, en el caso del equipo espectro IR Cary 630 FTIR, desconocían totalmente su uso. Aunado a lo anterior, el instructivo aportará un conocimiento básico a todas las personas que requieran del uso de estos, permitiéndoles una manipulación eficiente y eficaz del equipo.

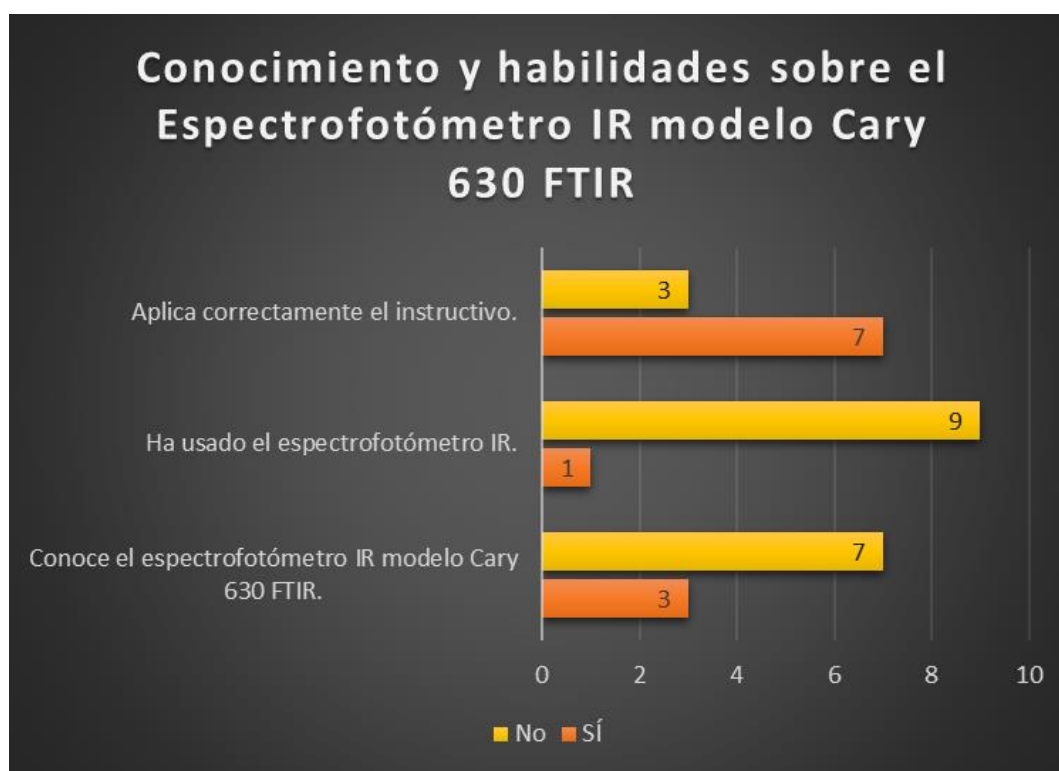
### **Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR**

El objetivo de construir una lista de cotejo para poder indagar sobre información acerca del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR, se realizó con el fin de obtener datos certeros y concretos acerca de la manipulación de este equipo en las instalaciones de la Universidad Internacional de las Américas, específicamente en el laboratorio de Química.

En los resultados que surgieron al aplicar la lista de cotejo a un grupo definido de 10 personas de la comunidad universitaria, se obtuvo que el 90% de los consultados indicó no haber utilizado este instrumento; para lograr determinar el conocimiento y habilidades que poseen sobre este equipo, se muestra un dato estadístico acerca de que el 70% de los usuarios de esta herramienta aplicaron correctamente el instructivo, de esta forma determinando que solamente el 1% ha usado el espectrofotómetro IR Cary 630, y otro 3% afirma conocer el Cary 630 FTIR, tal como se muestra en la gráfica de la ilustración 30.

Dentro de lo cual se logró determinar, de manera general, por medio de la aplicación correcta del instructivo, que los principales puntos de fallo se encuentran en que algunas de las personas que utilizaron la herramienta no leyeron adecuadamente el instructivo; no hubo comprensión de algún punto o detalle en específico, y en ocasiones surgió sentimiento de preocupación, debido a que no sabían utilizar correctamente el equipo, y esto les generaba temor en causarle algún daño; este último como el más significativo, ya que la muestra de personas que han utilizado el el espectrofotómetro IR Cary 630 es muy reducida.

**Ilustración 30. Gráfico del conocimiento y habilidades de los estudiantes sobre el espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Con respecto a la ilustración 31, sobre el desempeño de los usuarios, a quienes se les evaluó mediante la lista de cotejo establecida para el uso del espectrofotómetro IR Cary 630, un 100% del grupo seleccionado de la comunidad universitaria sí verificó adecuadamente que el equipo IR estuviera conectado tanto a la fuente de poder como a la computadora asignada al equipo.

Por otro lado, se pudo observar cómo otro 100% de los usuarios cotejados encendió de forma correcta el sistema del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas denominado Cary 630, el 80%, siguió los pasos definidos para limpiar correctamente el visor de muestreo de cristal de diamante del instrumento, y otro 100% ingresó a la aplicación de MICROLAB PC correctamente.

Adicionalmente, un 70% del grupo seleccionado de personas verificó que, en la pantalla superior izquierda, se mostrara el status READY de color verde en la herramienta; se observó cómo el 100% colocó la muestra seleccionada correctamente en el visor de cristal, y un 90% acató las instrucciones de manera correcta al colocar la muestra según su estado físico.

Dado que solo el 60% de las personas siguió los pasos de forma adecuada para ver los detalles de los análisis que brinda el software MICROLAB PC, y siendo esta función de suma importancia para la ampliación de los conocimientos sobre los resultados de los análisis, y que permiten aportar datos relevantes para las investigaciones, se procedió a mejorar la redacción del instructivo, con el fin de que sea más entendible en la aplicación de este proceso, para un desarrollo más detallado y resultados más certeros del estudio implementado.

Con respecto a la salida de la aplicación del sistema, el 100% cumplió con los procedimientos establecidos de una forma adecuada y correcta, el 90% del grupo al que se le aplicó la lista de cotejo procedió con la limpieza del visor de muestreo de cristal de diamante al concluir el análisis; además, se comprobó que el 100% del grupo de personas consultado apagó el sistema Cary 630 de la forma establecida al concluir con el uso del instrumento.

Se logró determinar que, dentro de los errores con mayor grado de repetición, se encontró que las personas que utilizan el espectrofotómetro IR Cary 630 no siguen los pasos de la forma adecuada cuando quieren ver los detalles, y adicional a esto, con mayor grado de reincidencia, se encontró que los usuarios no verifican en la pantalla superior izquierda de la aplicación MICROLAB PC adecuadamente el STATUS READY en color verde.

Añadido a lo comentado en el párrafo anterior, se determinó que al no verificar que el STATUS READY esté en color verde y al mostrarse en otro color, indica que el software de MICROLAB PC está presentando un problema general. La aplicación tiene la opción de validar cuál es el problema que presenta el equipo y, en caso de que este sea de mayor gravedad, indica que se debe poner en contacto con el proveedor; de no verificarse el problema mencionado, los resultados del análisis no serían confiables.

### Ilustración 31. Gráfico del desempeño de los estudiantes con el instructivo de uso básico para el espectrofotómetro Cary IR 630 FTIR



Nota: Elaboración propia, 2019.

Los estudiantes, profesores y asistentes de laboratorio de la comunidad de la Universidad Internacional de las Américas realizaron observaciones puntuales, en lo que consideraron que se podría mejorar el instructivo básico que se estaba planteando y creando, para la utilización del espectrofotómetro de laboratorio de Química.

Dentro de las ideas aportadas por los usuarios como mejoras que creían convenientes, se procede a detallar puntualmente cada una de estas en la tabla 6 de observaciones. Las mismas fueron tomadas en cuenta y fueron aplicadas en el instructivo de uso básico, para así facilitar el entendimiento e implementación del equipo espectrofotómetro Cary IR 630 FTIR.

Todas estas observaciones son de gran importancia para mejorar el desarrollo y la elaboración de este proyecto, para así tener una orientación fundamentada en la muestra de personas cotejadas en cómo describir, de la manera más adecuada posible, una eficiente implementación del instructivo básico.

**Tabla 6. Observaciones generadas por los asistentes de laboratorio, estudiantes y profesores durante la aplicación del instructivo de uso básico para el espectrofotómetro Cary IR 630 FTIR**

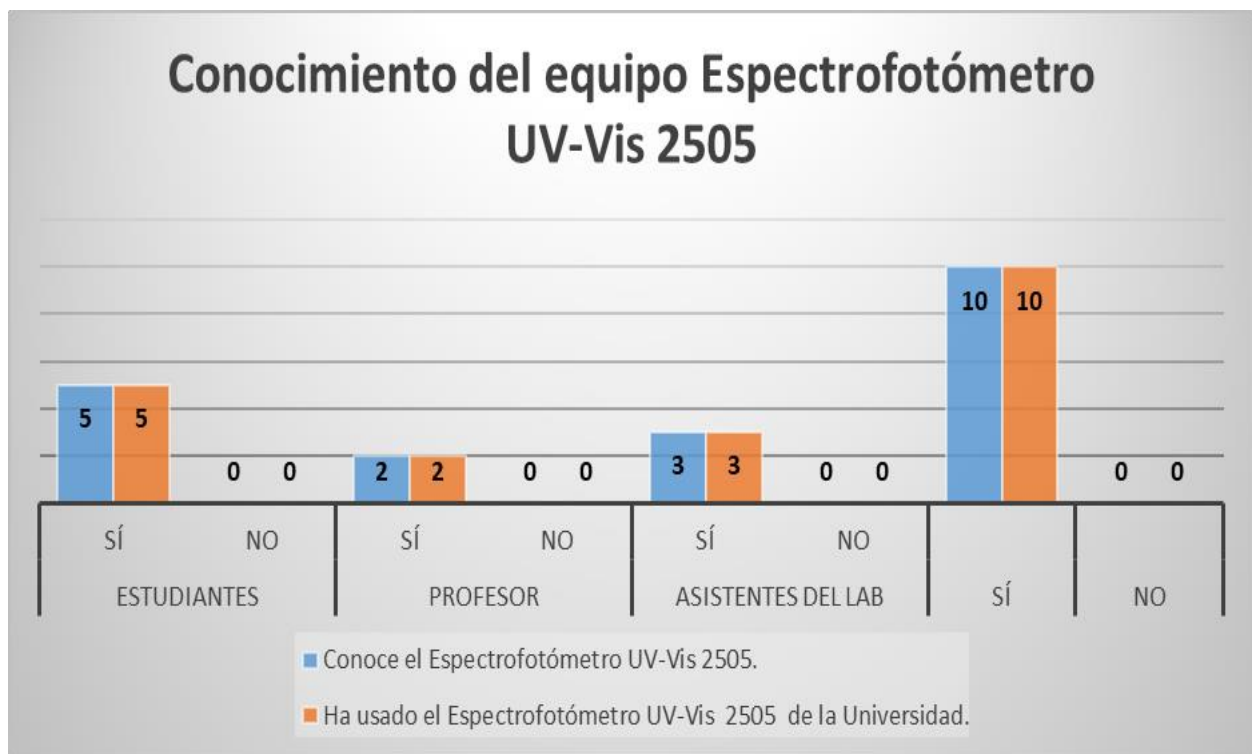
<b>Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR</b>	
<b>Observaciones</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agregar un punto que indique cómo se limpia el visor de muestreo de cristal de diamante.</li> <li>• En el punto 7.3, agregar que espere hasta que la luz LED quede iluminada de forma fija en color verde.</li> <li>• Incluir un punto que compruebe que la computadora destinada para el equipo está encendida.</li> <li>• Agregar que el método a utilizar debe ser establecido en la práctica de laboratorio. De no ser especificado, se debe utilizar el Método: Prueba.</li> <li>• Especificar para qué se utilizan ambas puntas de la prensa de muestra.</li> <li>• Separar el punto 7.16 para facilitar el entendimiento.</li> <li>• En el 7.17 cambiar a: girar si es a favor o en contra de las manecillas del reloj, para evitar confusiones.</li> <li>• En el punto 7.24 especificar que la información se puede obtener sobre cada pico que se desea.</li> <li>• Agregar que se puede acceder a los resultados anteriores haciendo clic en la opción correspondiente.</li> </ul>

Nota: Elaboración propia, 2019.

### Espectrofotómetro UV-Vis 2505

Cuando se les realizó la consulta a estudiantes, profesores y asistentes de laboratorio sobre si poseen conocimiento del Espectrofotómetro UV-Vis 2505, y si han utilizado este mismo perteneciente a la Universidad Internacional de las Américas, se obtuvo la respuesta de las personas mencionadas anteriormente, que sí tenían el debido conocimiento y, además, afirmaron que habían desarrollado la respectiva implementación, mostrándose, de esta manera, una respuesta positiva ante la interrogante planteada, para así definir estadísticamente un 100% de afirmación con un sí a la lista de cotejo formulada. (Véase la ilustración 32).

**Ilustración 32. Gráfico del conocimiento del equipo espectrofotómetro UV-Vis 2505**



Nota: Elaboración propia, 2019.

En lo que respecta a la observación del uso actual del espectrofotómetro UV-Vis 2505, sin tener un instructivo de guía, permitió reportar una serie de hallazgos de importancia visualizados, tales como: el 40% de los usuarios no ubicaron el interruptor de encendido/apagado en la parte posterior del equipo, como correspondía realizarse.

Los resultados obtenidos de los análisis pueden variar de un estatus a otro, y el 100% de los usuarios no verifican el estatus A (absorbancia), siendo este el que se emplea de forma didáctica para el uso del equipo, a excepción de que la práctica requiera otro estatus, así como el 20% de los usuarios no graduaron la longitud de onda en el equipo, alterando los resultados del análisis. El 80% de los usuarios no comprueban que el equipo esté activado en la computadora, por medio del panel de pantalla del espectro UV-Vis, en el que se indica las letras PC.

Es importante resaltar que los usuarios procedían a ajustar a Zero el equipo, pero no se realizaba la misma práctica con el software de la aplicación a utilizar, o viceversa, y al no estar ambos puntos importantes en Zero, antes de la ejecución de los análisis, se verían afectados los resultados del trabajo que se ejecuta en el espectro UV-Vis.

Otro 30% de los usuarios del instrumento colocaron las muestras en las celdas con algún tipo de impurezas, ya que no realizaron con anticipación los enjuagues que correspondían realizarse para una adecuada utilización del espectrofotómetro.

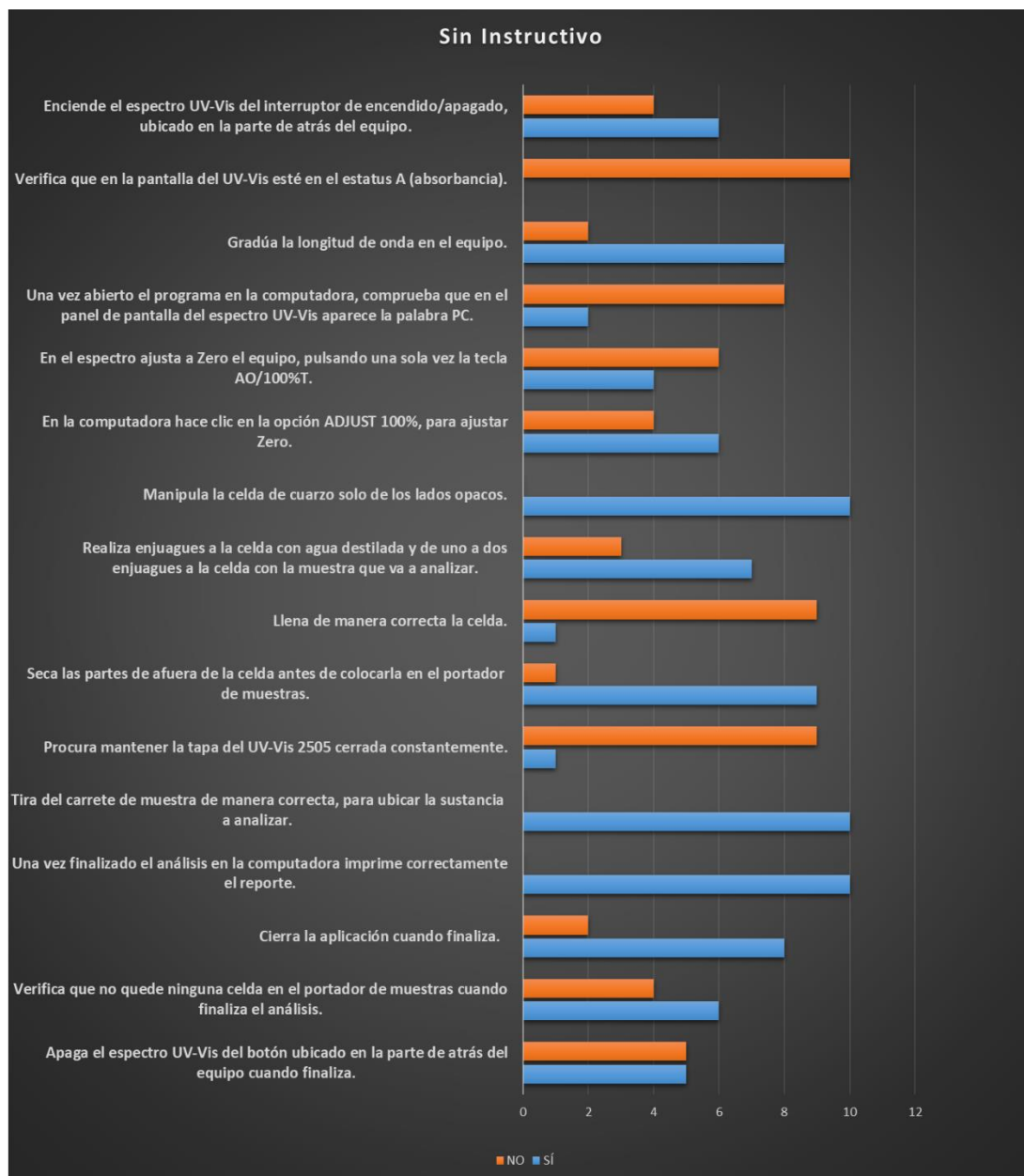
Es importante resaltar que el 90% de los usuarios definidos, de alguna manera, desconocen el límite de colocación de la sustancia dentro de la celda respectiva, representando esta un hecho de gran importancia, ya que, si se llega al tope de la celda, puede causar derrames dentro del equipo y, por otro lado, si se coloca menos sustancia de la requerida, el haz de luz emitido puede no pasar a través de ella.

Es manifiesto que el 90% no tiene el hábito de manipular correctamente la tapa del UV-Vis, dado que la mayoría del tiempo la mantenían abierta, siendo lo correcto cerrarla para evitar cualquier tipo de alteración de la muestra.

Una vez realizados los procedimientos correspondientes, se determina al finalizar los trabajos con el espectro UV-Vis, que el 20% de los usuarios no cierran de una manera correctamente la aplicación, un 50% de los cotejados no apaga el espectro UV-Vis como debe hacerse, y el 40% deja celdas de cuarzo en el portador de muestra.

El apego a las prácticas anteriormente citadas debe ser de acatamiento obligatorio, ya que puede reducir la variabilidad introducida por las celdas. Hay que limpiar cuidadosamente las celdas antes de su uso y almacenarlas, de tal manera que se evite la contaminación cuando no se estén usando. (USP 38, 2015, p. 1908).

**Ilustración 33. Gráfico sin instructivo**



Nota: Elaboración propia, 2019.

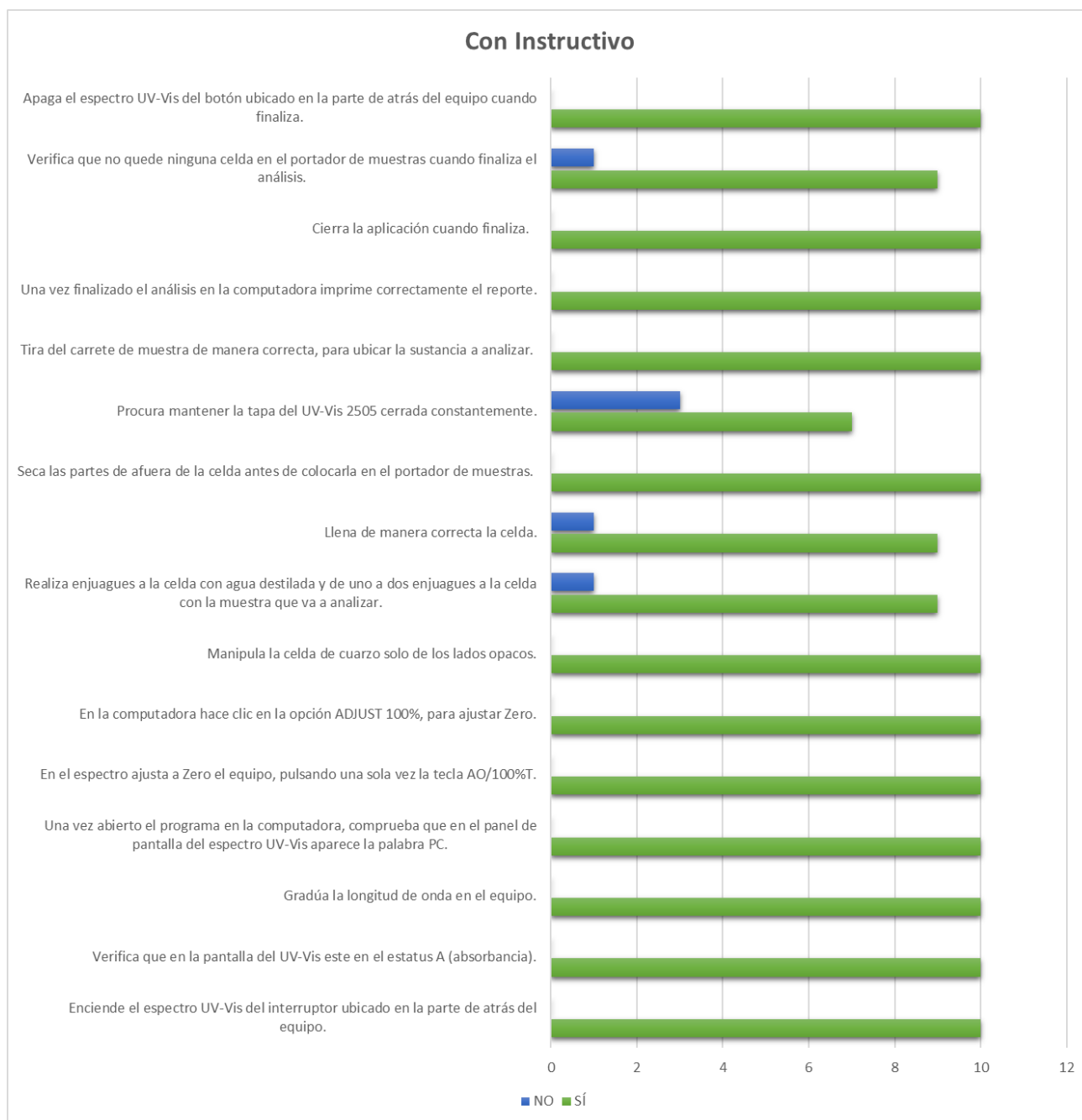
Mediante la lista de cotejo que se formuló entre el grupo seleccionado de estudiantes, profesores y asistentes de laboratorio para la debida y estructurada forma planteada de manipulación del Espectrofotómetro UV-Vis 2505, las interrogantes planteadas a estas personas, de las cuales se hace mención en líneas anteriores, les permitieron a los usuarios de esta herramienta tener una guía de una forma más efectiva y de mayor entendimiento, según se puede confirmar mediante el gráfico de barras detallado en la ilustración 34, y que en este mismo se logra visualizar una reducción significativa en los errores cometidos, para la adecuada implementación que se le debe dar al equipo.

Lo descrito anteriormente evidencia la gran importancia de valorar, estudiar y definir un correcto procedimiento que pueda ser de gran apoyo y de fácil entendimiento para la comunidad universitaria, que requiera la utilización del equipo con los fines de su conveniencia, agilizando así su tiempo de implementación, mejorando la operación del instrumento y una obtención de resultados más certeros, debido a que con este instructivo se establece una forma más eficiente y estructurada de emplear.

Finalmente, mediante la aplicación del instructivo a la comunidad universitaria, se alcanza a evidenciar que, dentro de los errores puntuales cometidos en al menos una ocasión, están los siguientes: “¿Verifica que no quede ninguna celda en el portador de muestras cuando finaliza el análisis?”, “¿Procura mantener la tapa del UV-Vis 2505 cerrada constantemente?”, “¿Llena de manera correcta la celda?” y “¿Realiza enjuagues a la celda con agua destilada y de unos a dos enjuagues a la celda con la muestra que se va a analizar?”.

Las anomalías en la operación del equipo son persistentes, aun implementando el instructivo definido para tal función entre las personas que manipulan el instrumento y detallando específicamente por qué pudo suceder la inconsistencia, se obtiene o se define que estos fallos se relacionan con que algunos de los empleadores llegan de una forma muy apresurada a realizar los trabajos que requieren; a su vez, no leen de la forma más adecuada el instructivo; otro usuario del equipo también declaró tener confusión en la redacción de uno de los ítemes. Las observaciones realizadas en este trabajo de investigación permiten mejorar y definir un instructivo básico de aplicación para el laboratorio de Química, de la Universidad Internacional de las Américas.

### Ilustración 34. Gráfico con instructivo



Nota: Elaboración propia, 2019.

Con la información recabada en la ilustración 35, se confirman los objetivos planteados inicialmente en este trabajo de investigación, al buscar implementar un instructivo básico para la utilización del espectrofotómetro UV-Vis, el cual servirá de aprendizaje y corrección de errores en el momento de que los usuarios manipulen el equipo, siendo así de gran utilidad en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

Con este instructivo se lograron reducir significativamente las anomalías cometidas en la manipulación del equipo, lo que permitió poner al alcance de las personas un mayor aprendizaje para el correcto uso del espectro UV-Vis.

Al facilitar el entendimiento para la comunidad universitaria por medio del instructivo básico, se logró también ir mejorando los resultados de las muestras evaluadas en el equipo, proporcionando resultados más certeros y confiables.

Se puede observar cómo, dentro de las mejoras cuantiosas, hay una variación significativa en la pregunta 1 de la lista de cotejo, valorando un antes sin una guía y un presente con el instructivo básico, donde inicialmente en él, antes, 4 de las 10 personas valoradas no realizaron el primer proceso de encendido/apagado del interruptor adecuadamente.

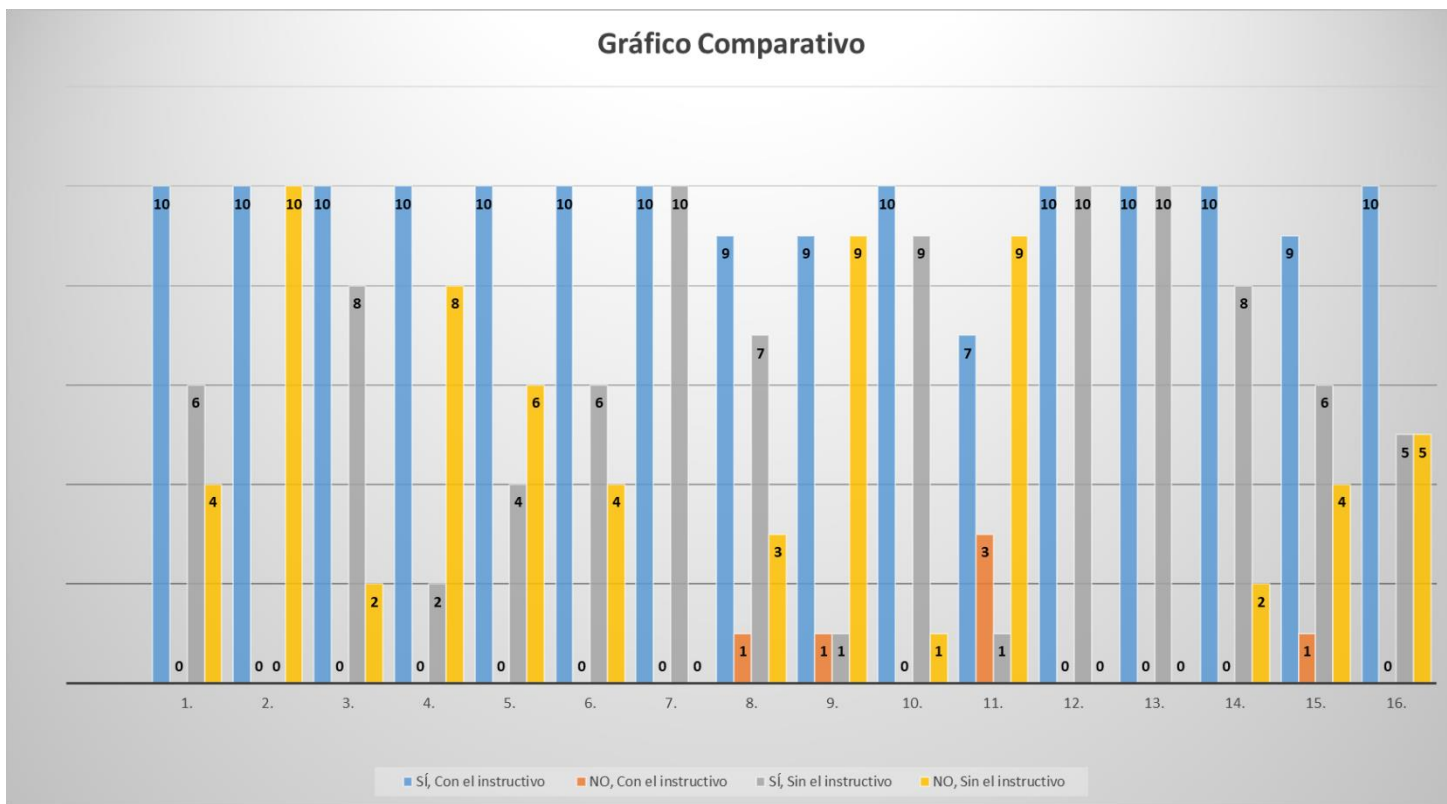
Otro de los aportes más positivos se puede denotar en la pregunta 5, donde en un antes sin instructivo, 4 de las personas no cometieron el error de no ajustar a Zero el instrumento, y posteriormente a haber aplicado el instructivo básico se obtuvo una respuesta del 100% en cuanto a las personas que realizaron el respectivo ajuste.

Pero el ejemplo más representativo del mejoramiento sustancial, que hubo al implementar el instructivo básico para la utilización del espectrofotómetro, se puede observar en la pregunta 2, la cual detalla que, sin el instructivo, ninguna de las personas verificó que estuviese en la pantalla el estatus A (absorbancia), y posterior a la implementación del instructivo básico, se obtuvo el dato de que el 100% de las personas sí verificó el dato pertinente.

Adicional a los ejemplos anteriores mencionados, podemos afirmar que en los ítemes del instructivo de cotejo donde no hubo movimiento, es debido a que el 100% del proceso fue realizado de forma correcta, utilizando el instructivo o sin este, y en los puntos en que sí existió una variante, estos fueron con tendencia a la mejora.

De las preguntas realizadas, el 18,75% no obtuvo variación, mientras que el restante 81.25% representó mejoras al proceso existente para la utilización del espectro mediante la implementación del instructivo básico, establecido en este trabajo de investigación.

**Ilustración 35. Gráfico comparativo**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Se presentaron observaciones por parte de los usuarios para el uso del instructivo básico espectrofotómetro UV-Vis, las cuales se tomaron en cuenta para mejorar la redacción logrando una mayor comprensión del mismo; a su vez, aportaron información valiosa que fue incorporada para las mejoras realizadas.

**Tabla 7. Observaciones generadas por los asistentes de laboratorio, estudiantes y profesores durante la aplicación del instructivo de uso básico para el espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505**

<b>Espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505</b>	
<b>Observaciones</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mencionar que, para efectos didácticos de la universidad, solo se emplea el modo de A (absorbancia).</li> <li>• Agregar, en el punto 7.5, que la longitud de onda que va a utilizar varía, según la práctica designada.</li> <li>• En el punto 7.16 especificar cuántos enjuagues hay con agua destilada.</li> <li>• Indicar, en un punto, que en la celda no pueden quedar burbujas.</li> <li>• Especificar que se utilice una toalla en varias ocasiones, para evitar desperdicios.</li> <li>• En el punto 7.21.2, corregir que son cuatro muestras por turno para analizar.</li> <li>• Agregar, en el punto 7.24, la palabra suavemente.</li> <li>• Indicar que la computadora de este equipo no se puede apagar.</li> </ul>

Nota: Elaboración propia, 2019.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este capítulo tiene, como propósito, mostrar las conclusiones y recomendaciones obtenidas a lo largo de este trabajo, para la implementación de un instructivo básico de uso en los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, del laboratorio de Química, de la Universidad Internacional de las Américas.

- ✓ Se identifican las principales funciones, componentes y consideraciones específicas de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.
- ✓ Se elaboraron los instructivos de uso básico para cada uno de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, sobre su uso, limpieza y mantenimiento, por medio de un formato oficial para la documentación del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.
- ✓ Al aportar un instructivo de uso básico garantiza el uso correcto, una limpieza óptima y un mantenimiento adecuado, ya que estos les aportan a los usuarios seguridad en el buen uso de estos, permitiendo que la alta manipulación no deteriore con prontitud los espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.
- ✓ Se determinó que la ausencia de un instructivo de uso básico para los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de Química, repercute en el correcto funcionamiento de estos, afectando la garantía de los instrumentos.
- ✓ Se determinó que también existe preocupación y temor, por parte de los usuarios del instrumento IR Cary 630 FTIR, que en alguna ocasión, debido a la falta que existía de un adecuado instructivo, pudieran causarle daños a corto o largo plazo al equipo, lo que podría verse representado en la ausencia de este, o bien en algún costo económico para el usuario.
- ✓ Al poner en práctica los instructivos de uso básico, se reflejó la persistencia de algunos errores, cometidos por los estudiantes en la premura con la que llegan a realizar los trabajos de laboratorio y la falta de una lectura adecuada del mismo; no así con los profesores y los asistentes de laboratorio, quienes demostraban un detenimiento en la lectura y cuidado al ejecutar los pasos.

- ✓ A través de la incorporación de los instructivos básicos para los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505, en el laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, se permiten mejorar los tiempos de los usuarios en el uso de los equipos, generando confianza en la manipulación de estos, fortaleciendo su uso y ampliando sus conocimientos.

Es de suma importancia aportar algunas recomendaciones que pueden ser de acatamiento e implementación para futuros trabajos:

- ❖ El instructivo desarrollado en esta investigación se limitó a proveer una información básica de usos para los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y espectrofotómetro UV-Vis-2505; un futuro trabajo podría extender el desarrollo para ampliar ese uso.
- ❖ De lo manifiesto al implementar los instructivos, surgieron recomendaciones por parte de los profesores, estudiantes y asistentes de laboratorio, que se incorporaron al formular los instructivos de uso básico, limpieza y mantenimiento para los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.
- ❖ Al realizarse este trabajo de investigación y crearse un adecuado instructivo básico de utilización, genera bienestar y motivación dentro la comunidad universitaria, ya que existe una guía básica a seguir, la cual le facilita la implementación para futuros proyectos.
- ❖ Es necesario promover la importancia de usar el instructivo básico, diseñado para los equipos espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y el UV-Vis-2505, del laboratorio de Química, de la Universidad Internacional de las Américas, y no limitarse solamente al conocimiento que se posee actualmente sin la implementación de una guía básica.
- ❖ Queda a criterio del profesor ampliar o implementar nuevas prácticas que sean de provecho en el uso de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505.
- ❖ Al contar, la Universidad Internacional de las Américas, con instructivos para el uso de los equipos de laboratorio, permite gestionar un mayor conocimiento para los usuarios, cumpliendo con los estándares solicitados por el Sistema Nacional de

Acreditación de la Educación Superior (SINAES), lo que constituye una ventaja competitiva, ya que la UIA es una universidad consolidada dentro del mercado.

## Referencias

- Acosta, A. et al. (2014). Efecto de las soluciones pigmentantes en el color de dientes tratados con ortodoncia fija: un estudio in vitro. *Revista Nacional de Odontología* , 9.
- Acuña, M., Armando, C., Cuzziol, F. y Juárez, R. (2015). Correlación entre los niveles de fosfatasa alcalina salival y la profundidad de la bolsa periodontal. *Revista Nacional de Odontología*, 13.
- Baeza, C., Ruiz, E. y Carrasco, P. (2016). Análisis Colorimétrico y Morfométrico de la Flor de *Alstromeria Presliana* (Alstroemeriaceae). *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 21.
- Camelino, S. et al. (2018). Optimización de un procedimiento para la determinación de oro mediante espectrofotometría UV/Vis. *Revista Materia*, 7.
- Castro, J. et al. (2016). Evaluación de la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto: proyecto de aula. *Cienc. Tecnol. Salud Vis. Ocul.*, 9.
- Durango, P. (2015). *Las Prácticas de Laboratorio Como Una Estrategia Didáctica Alternativa Para Desarrollar las Competencias Básicas en el Proceso de Enseñanza-Aprendizaje de la Química*. Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Fernández, L., Rojas, L. y Lapo, B. (2015). *Desarrollos Experimentales en Análisis Instrumental*. Universidad Técnica de Machala; Ecuador: UTMACH.
- González, M. y Montaña, L. (2015). La espectroscopía y su tecnología: Un repaso histórico y su importancia para el siglo XX. *Revista Latinoamericana de Física Educativa*, 14.
- Gutiérrez, L., Ortiz, C., Hincapié, J. y Ramírez, L. (2014). Evaluación in vitro de Dos Fármacos de Uso Veterinario frente a Patógenos Causantes de Otitis Externa en Perros. *Rev. Inv. Vet. Perú* , 8.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación*. México: McGraw-Hill.

- León, E., García, O. y Camacho, M. (2013). Caracterización de la película radiocrómica EBT2 con diferentes sistemas ópticos. Arch. Neurocién., 7.
- Litter, M., Farías, S. y Armienta, M. (2009). Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. Argentina: CYTED.
- López, Y., Zhurbenko, R. y Rodríguez, C. (2016). Efecto de la combinación de bases nutritivas con el inhibidor sobre la recuperación de salmonelas. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 13.
- Martínez, C. et al. (2015). Determinación espectrofotométrica del eritema en psoriasis. Rev. Asoc. Colomb. Dermatol., 7.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). Sistema de gestión de calidad en el laboratorio. Francia: Organización Mundial de la Salud.
- Salud, O. P. (2005). Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio. Washington, D. C.: Organización Mundial de la Salud.
- Skoog, D. (2015). Fundamentos de Química Analítica (Novena edición). México: Cengage Learning Editores, S.A. de C.V.
- Thermo Nicolet Corporation. (2001). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. Verona, Italia: Thermo Nicolet Corporation.
- United States Pharmacopeia. (2015). Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38 NF 33. Estados Unidos: United States Pharmacopeia, 2015.
- Villada, Y. y Hormanza, A. (2015). Análisis simultáneo de la remoción de azul brillante y rojo 40 mediante espectrofotometría de derivadas. Ingeniería y Desarrollo, 22.

## Apéndices

### Apéndice A. Reglamento para el uso del laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas

#### REGLAMENTO PARA EL USO DEL LABORATORIO DE QUÍMICA

- Localizar los dispositivos de seguridad, extintores, lavaojos, ducha de seguridad, salidas de emergencias. La zona de seguridad del laboratorio está ubicada en el parque bajo techo, en la parte de la salida de vehículos.
- Revisar los afiches de medidas en caso de un posible accidente, que se encuentran visibles en los laboratorios.
- No ingerir alimentos y bebidas.
- **Utilice correctamente la vestimenta de seguridad requerida. En caso de portar vestimenta inadecuada (Falta de medias altas, de gabacha, gafas de seguridad, zapatos que cubran totalmente el pie), se le notificará que debe retirarse del laboratorio. La seguridad el estudiante es primero.**
- Las personas que usan cabello largo deberán recogerlo con cola (Hombre o mujer).
- Trabajar de manera ordenada y seria en el laboratorio, mantener mesas y/o áreas de trabajo limpias y ordenadas. Anótese en las bitácoras para uso de los equipos del laboratorio.
- No deben de ingresar al laboratorio personas ajenas a las matriculadas en el curso.
- Asegúrese de desechar los residuos químicos en los recipientes debidamente identificados DEBAJO DE LAS CAPILLAS DE GAS, no deseche residuos en las pilas, tanto químicos como residuos biodegradables como cascaras o hojas.
- En caso de causar algún daño o en caso de fallo en equipos o instrumentos deberán informarlo inmediatamente a los encargados del laboratorio y de resultar responsables, hacerse cargo de la reparación de los mismos.
- En caso de quebrar algún instrumento debe cancelar el precio total del mismo en su próxima matrícula, este cobro se realizará por medio de boleta.
- En caso de no reportar el daño en los instrumentos, el costo total del mismo deberá asumirlo el grupo, la Dirección de Carrera, notificará las disposiciones a seguir.
- Utilice correctamente los reactivos químicos dispuestos para su práctica, asegúrese de que estén bien cerrados y no los mezcle ni desordene. En caso de derrame informe a los encargados del laboratorio.
- En caso de necesitar algún material adicional, informe al personal del laboratorio.
- Los reactivos químicos siempre deben quedar en la mesa de reactivos donde los encontraron, no en balanzas ni cuarto de equipos. En caso de encontrar reactivos fuera de su lugar, se le notificará al profesor y a la dirección de carrera en caso de que persista la situación *(En especial los cursos de Industrial)*.

- Revise la cristalería asignada, sino está conforme con la cristalería asignada, repórtelo inmediatamente. Cualquier cristalería que sufra daños bajo su responsabilidad será cobrada, y a pagar en su próxima matrícula. Regrese la cristalería limpia.
- El préstamo de gabachas o lentes de seguridad, es exclusivamente para estudiantes del laboratorio de química.
- **EL ESTUDIANTE QUE NO CUMPLA CON ESTAS DISPOSICIONES DE SEGURIDAD SERÁ RETIRADO DEL LABORATORIO, CON AVISO PREVIO A LA DIRECCIÓN DE CARRERA.**

#### EN CASO DE ACCIDENTE:

*El laboratorio de química es un lugar con posibles riesgos de accidente, cuide su salud y la de sus compañeras, trabaje de manera ordenada, No juegue ni corra, acate las recomendaciones y No realice ninguna acción innecesaria sin consultar.*

- ✚ Informe inmediatamente al profesor y personal del laboratorio.
- ✚ Siga los procedimientos de "EN CASO DE ACCIDENTES" que se encuentra visiblemente en los laboratorios, asesorados por el personal del laboratorio que se encuentra capacitado para atención de emergencias.
- ✚ Mantenga la calma, y espere a la unidad médica, para ser trasladados al centro médico más cercano, en caso de ser necesario.

#### USO DE LOS CASILLEROS

- ✓ Ningún estudiante puede ingresar al laboratorio con bolsos, bultos, únicamente con los materiales necesarios.
- ✓ Cada uno de los estudiantes puede hacer uso de los casilleros en el turno del laboratorio matriculado. Terminada la práctica, cada estudiante debe retirar sus pertenencias, de manera que el espacio quede habilitado para el siguiente curso/ estudiante, caso contrario el laboratorio de química está autorizado en cortar candados y no está obligado a reponer, ya que, es responsabilidad de cada estudiante desocupar el casillero.
- ✓ A cada estudiante se le asignará un número de casillero, para cada curso. Recomendación anote su número de casillero en la bitácora del curso.
- ✓ El tiempo de uso del casillero es UNICAMENTE en el turno matriculado.
- ✓ Cada estudiante debe portar su candado, de lo contrario queda bajo su responsabilidad el cuidado de sus pertenencias.
- ✓ El laboratorio de química no se hace responsable por objetos perdidos u olvidados.

## Apéndice B. Hojas de Cotejo empleadas para la evaluación de los usuarios

### Lista de cotejo

Equipo: Espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR

Encargado de la aplicación: Mildred Camacho Fernández

Estudiante \_\_\_\_\_ Profesor \_\_\_\_\_ Asistente de laboratorio \_\_\_\_\_ Otro usuario \_\_\_\_\_

<b>Indicador</b>	<b>SÍ</b>	<b>NO</b>
Conoce el espectrofotómetro IR modelo Cary 630 FTIR.		
Ha usado el espectrofotómetro IR Cary 630 de la Universidad.		
Verifica que el equipo IR esté conectado a la fuente de poder y que el cable USB esté conectado a la computadora asignada.		
Enciende correctamente el sistema Cary 630.		
Limpia el visor de muestreo de cristal de diamante siguiendo los pasos.		
Ingresa en el ícono MICROLAB PC.		
Verifica que, en la pantalla superior izquierda, el Status muestra la palabra READY de color verde.		
Coloca la muestra en el visor de cristal, correctamente.		
Según el tipo de muestra (sólida o líquida), acata las instrucciones de manera correcta.		

Sigue los pasos de forma adecuada si quiere ver los detalles.		
Sale de la aplicación de manera apropiada.		
Limpia el visor de muestreo de cristal de diamante al concluir el análisis.		
Apaga el sistema Cary 630 al concluir el análisis.		
Aplica correctamente el instructivo.		

Observaciones: \_\_\_\_\_

## Lista de cotejo

Equipo: Espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505

Encargado de la aplicación: Mildred Camacho Fernández

Estudiante \_\_\_\_\_ Profesor \_\_\_\_\_ Asistente de laboratorio \_\_\_\_\_ Otro usuario \_\_\_\_\_

<b>Indicador</b>	<b>SÍ</b>	<b>NO</b>
Conoce el Espectrofotómetro UV-Vis 2505.		
Ha utilizado el espectrofotómetro UV-Vis de la Universidad.		
Verifica que el espectrofotómetro UV-Vis 2505 esté conectado a su fuente de poder.		
Enciende el espectro UV-Vis del interruptor de encendido/apagado, ubicado en la parte de atrás del equipo.		
Verifica que la pantalla del UV-Vis esté en el estatus A (absorbancia).		
Gradúa la longitud de onda en el equipo.		
Una vez abierto el programa en la computadora, comprueba que en el panel de pantalla del espectrofotómetro UV-Vis aparece la palabra PC.		
En el espectro ajusta a Zero el equipo, pulsando una sola vez la tecla AO/100%T.		
Manipula la celda de cuarzo solo de los lados opacos.		
Realiza enjuagues a la celda con agua destilada y de uno a dos enjuagues a la celda con la muestra que va a analizar.		
Llena de manera correcta la celda.		
Seca las partes de afuera de la celda antes de colocarla en el portador de muestras.		

Procura mantener la tapa del UV-Vis 2505 cerrada constantemente.		
En la computadora, hace clic en la opción ADJUST 100%, para ajustar Zero.		
Tira del carrete se muestra de manera correcta, para ubicar la sustancia a analizar.		
Una vez finalizado el análisis en la computadora imprime correctamente el reporte.		
Cierra la aplicación cuando finaliza.		
Verifica que no quede ninguna celda en el portador de muestras cuando finaliza el análisis.		
Apaga el espectro UV-Vis del botón ubicado en la parte de atrás del equipo cuando finaliza.		

Observaciones: \_\_\_\_\_

## Apéndice C. Instructivos de los espectrofotómetros IR Cary 630 FTIR y UV-Vis-2505 del laboratorio de química de la Universidad Internacional de las Américas.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 1 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

### 1. OBJETIVO

Establecer los pasos a seguir para el correcto uso del espectrofotómetro IR modelo Cary 630 FTIR, del Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, conforme a lo establecido por las Buenas Prácticas de Laboratorio vigentes.

### 2. ALCANCE

Este instructivo aplica para todas las pruebas o prácticas de laboratorio que requieran del uso del espectrofotómetro IR modelo Cary 630 FTIR, del Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

### 3. RESPONSABILIDADES

- 3.1 Estudiantes: realizar la prueba o práctica de laboratorio implementando el uso de este instructivo.
- 3.2 Profesor: implementar y velar por el cumplimiento de este instructivo.
- 3.3 Jefe o Coordinador del laboratorio: garantizar el cumplimiento de este instructivo.

### 4. DEFINICIONES

- 4.1 Espectrofotómetro: mide la concentración de una muestra, logrando así el cumplimiento de análisis cuantitativos.
- 4.2 FTIR: Fourier Transform InfraRed, espectroscopía infrarroja. La radiación IR pasa a través de una muestra. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 2).
- 4.3 Muestra: el haz ingresa a la muestra, donde se transmite o se refleja fuera de la superficie de la muestra. En esta parte es donde se absorben las frecuencias específicas de energía únicas para cada muestra. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 5).
- 4.4 Interferómetro: el haz entra al interferómetro, donde se lleva a cabo la codificación espectral, y la señal resultante del interferograma sale del interferómetro. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 5).

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 2 de 23
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

4.5 El detector: para una medición final, el haz pasa al detector, los cuales están diseñados para medir la señal del interferograma. (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p. 5).

## 5. MATERIALES

### 5.1 Limpieza y uso del equipo

- 5.1.1 Pañuelo desechable de papel.
- 5.1.2 Acetona.


### 5.2 Otros materiales y equipos

- 5.2.1 Los establecidos en la práctica de laboratorio.

## 6. CONSIDERACIONES ESPECIALES Y SUS JUSTIFICACIONES

6.1 A pesar de que es un equipo que se adquirió nuevo de fábrica y sus especificaciones permiten cumplir el objetivo para el cual fue adquirido, en la actualidad ya se emplean equipos más modernos. A continuación, se citan varias recomendaciones y su justificación.

- 6.1.1 Mantenga el equipo en un lugar firme.
- 6.1.2 El laboratorio debe mantenerse en una temperatura entre 20-21°C.
- 6.1.3 El Cary 630 FTIR debe mantenerse limpio.
- 6.1.4 Primero: conecte el cable de alimentación en el sistema de espectrómetro; segundo: conecte el cable en el tomacorriente; conservando este orden evitará daños al equipo o problemas en el arranque.
- 6.1.5 Mantenga los cables en orden y alejados de una mala manipulación, para evitar daños en el aparato.
- 6.1.6 Conserve el sello del espectrómetro, para mantener la garantía del equipo; la limpieza de las superficies interiores le corresponde a un especialista.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 3 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

- 6.1.7 La persona, responsable de limpiar la parte exterior del Cary 630, debe desconectar el cable de corriente y proceder a limpiarlo con un paño suave y húmedo con agua.
- 6.1.8 El Cary 630 FTIR no debe ser sumergido en agua.
- 6.1.9 El área de lectura del ATR es de aproximadamente 0.5 mm de grosor, por lo que puede agrietarse en condiciones de presión extrema con la punta de la prensa de muestra.


## 7. PROCEDIMIENTO

- 7.1 Anótese en la bitácora para el control del uso del infrarrojo, proporcionada por el laboratorio de Química. (Véase la ilustración 1).

**Ilustración 1. Bitácora para el control del uso del infrarrojo**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 4 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.2 Verifique que el equipo esté conectado a la fuente de poder y que el cable USB esté conectado a la computadora asignada por el Laboratorio de Química. (Véase la ilustración 2).

#### Ilustración 2. Fuente de poder y cable USB



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.3 Encienda el sistema Cary 630, del botón ubicado en la parte superior izquierda; manténgalo presionado durante dos segundos. Espere hasta que la luz LED quede iluminada de forma fija en color verde. (Véase la ilustración 3).

#### Ilustración 3. Botón de encendido y apagado



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 5 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

- 7.4 Espere un periodo de 5 minutos, mientras el equipo calienta; transcurrido este tiempo, puede empezar a utilizarlo.
- 7.5 Compruebe que la computadora destinada para el equipo está encendida; de lo contrario, enciéndala. (Véase la ilustración 4).

#### Ilustración 4. Espectrofotómetro IR y su computadora



Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.6 Proceda a limpiar el visor de muestreo de cristal de diamante, con un pañuelo desechable de papel y acetona. Utilice los productos suministrados por el laboratorio de Química, para evitar rayar el visor de cristal. (Véase la ilustración 5).

#### Ilustración 5. Material de limpieza



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 6 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.7 Coloque una pequeña cantidad de acetona en el pañuelo desechable de papel y limpie el visor de muestreo de cristal de diamante, con movimientos circulares.

7.8 En la computadora destinada para el equipo, ingrese en el ícono MICROLAB PC. (Véase la ilustración 6).

**Ilustración 6. Ícono MicroLab PC**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.9 Una vez abierta la aplicación, verifique que el USERNAME se encuentre en Laboratorio de Química. En caso de no estarlo, selecciónelo. (Véase la ilustración 7).

**Ilustración 7. Username**

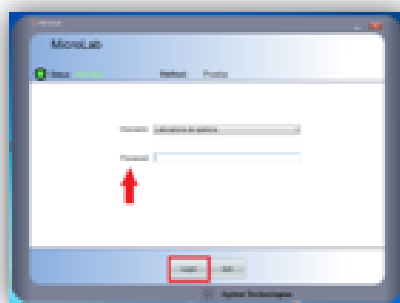


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 7 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.10 Ingrese la contraseña de acceso, suministrada por la persona encargada del laboratorio de Química, y haga clic con el botón izquierdo del mouse en la opción LOGIN. (Véase la ilustración 8).

**Ilustración 8. Contraseña de acceso y login**

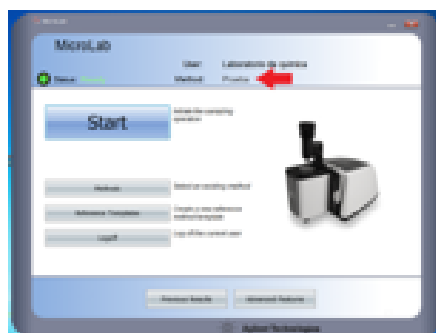


Nota: Elaboración propia, 2019.

7.11 En la parte superior derecha de la pantalla confirme que el METHOD se encuentra en PRUEBA. En caso contrario, véase el anexo 9.1. (Véase la ilustración 9).

NOTA: El *method* a utilizar debe ser establecido en la práctica de laboratorio. De no ser especificado, se debe utilizar el Method: Prueba.

**Ilustración 9. Method: Prueba**

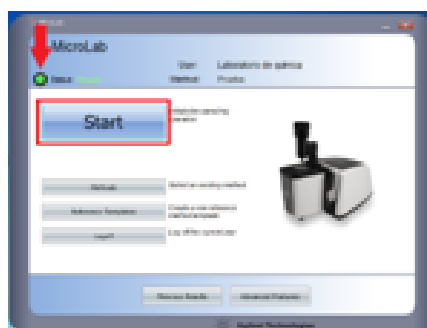


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 8 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

- 7.12 Si en la pantalla superior izquierda, el Status es de color verde, seleccione el comando START. En caso contrario, véase el anexo 9.3. (Véase la ilustración 10).

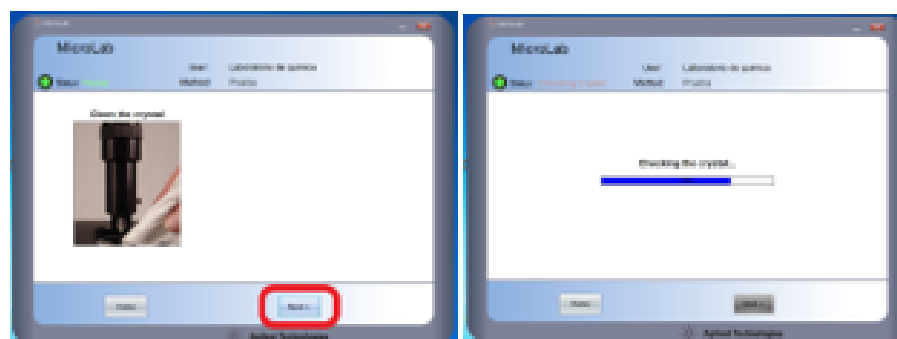
#### Ilustración 10. Ready y Start




Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.13 En la computadora, confirme que ya se ha limpiado el cristal, dándole un clic a la opción NEXT. (Véase la ilustración 11).
- 7.14 La barra de color azul significa que se está comprobando que el visor de cristal de diamante está limpio. (Véase la ilustración 11).

#### Ilustración 11. Next



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 9 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.15 **NOTA:** En el espectrofotómetro IR Cary 630 compruebe que:

7.15.1 La punta de la prensa de muestra es la correcta, dependiendo del tipo de muestra que va a analizar, tomando en cuenta que:

7.15.1.1 Si es un **SÓLIDO** o un **LIQUIDO**: utilice la punta de la prensa de muestra que es **PLANA**. (Véase la ilustración 12).


7.15.1.2 Si es un **SEMISÓLIDO** o un **LIQUIDO VISCOSO**: utilice la punta de la prensa de muestra que es **CONCAVA**. (Véase la ilustración 12).

7.15.2 Para cambiar una punta de la prensa de muestra por otra, véase el anexo 9.4.

#### Ilustración 12. Puntas de la prensa de muestra



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 10 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.16 Coloque una pequeña cantidad del material que se medirá en el cristal de diamante.

Asegúrese de:

- 7.16.1 Poner la muestra en el soporte y alineada correctamente, para que el haz infrarrojo pase a través de esta. (Véase la ilustración 13).

**Ilustración 13. Muestra alineada en el visor de cristal**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.17 Proceda a bajar la perilla de la prensa de muestra, girándola a favor de las manecillas del reloj. La punta de la prensa de muestra puede quebrar el visor de muestreo de cristal de diamante, por lo que debe tomar en cuenta lo siguiente:

- 7.17.1 Si la muestra es líquida: baje la perilla cerca de la muestra, sin tocarla, para que no se disperse en el cristal.
- 7.17.2 Si la muestra es sólida, semisólida o un líquido viscoso: baje la perilla hasta escuchar un clic (la punta de la muestra, si va a tocar la sustancia a analizar). Tome en cuenta que cuando escucha el clic, suspenda el movimiento y no continúe ejerciendo presión.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 11 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.18 En la computadora, seleccione la opción NEXT. (Véase la ilustración 14).

**Ilustración 14. Opción Next**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.19 En el espacio SAMPLE ID, digite el nombre que le asignará a la muestra. (Véase la ilustración 15).

**Ilustración 15. Sample ID**

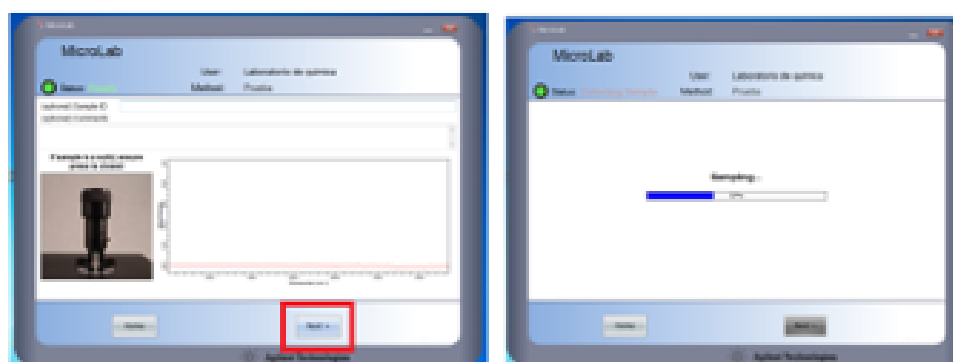


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 12 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

7.20 Seleccione la opción NEXT. La barra color azul le avisa que el análisis se está efectuando. (Véase la ilustración 16).

**Ilustración 16. Next y barra azul**

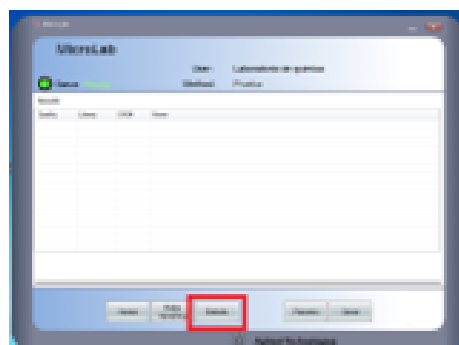


Nota: Elaboración propia, 2019.

7.21 Se genera el reporte del análisis en PDF, el cual puede ser impreso.

7.22 Si requiere los detalles del análisis, en la aplicación MICROLAB PC, seleccione la opción DETAILS. (Véase la ilustración 17).

**Ilustración 17. Opción Details**

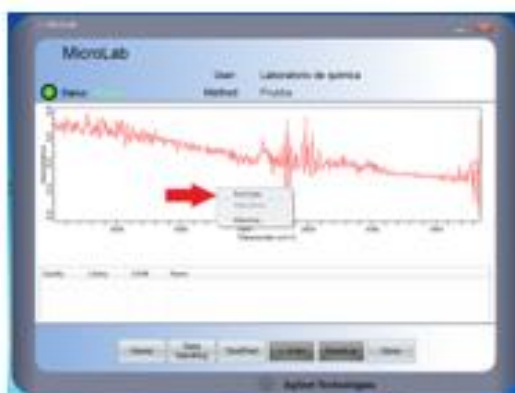


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 13 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

- 7.23 Haga clic con el botón derecho del mouse en el espectro IR, seleccionando PICK PEAKS. (Véase la ilustración 18).

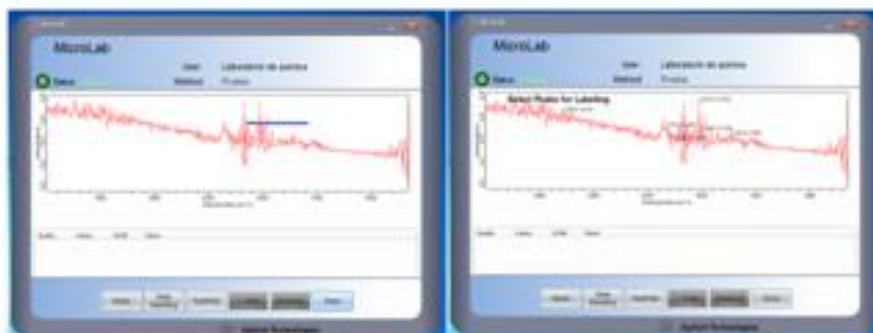
#### Ilustración 18. Pick Peaks



Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.24 Presione el botón izquierdo del mouse y sin soltarlo arrástrelo (formando una línea de color azul) sobre cada pico que desea obtener la información. Este espectro IR detallado no se puede imprimir; por favor, tome las previsiones del caso. (Véase la ilustración 19).

#### Ilustración 19. Espectro IR detallado



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 14 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

- 7.25 Puede hacer zoom sobre cualquier parte del espectro; realice:
- 7.25.1 Con el mouse, haga clic en el gráfico y resalte la parte que desee. La pantalla cambiará inmediatamente, ampliándose.
  - 7.25.2 Para volver al espectro completo, haga clic derecho en un gráfico y elija Deshacer zoom.
- 7.26 NOTA: En la computadora:
- 7.26.1 Si en el espectro actual se muestran detalles de un espectro anterior, debe quitarlos para poder ver de forma clara los detalles del nuevo espectro IR, haciendo lo siguiente:
    - 7.26.1.1 Haga clic con el botón derecho del mouse en el espectro IR, seleccionando CLEAR PEAK LABELS.
    - 7.26.1.2 Repita los pasos 7.23 y 7.24, para poder ver de forma clara los detalles del espectro IR que está analizando.
  - 7.27 En la computadora, presione con el clic izquierdo del mouse la opción DONE. (Véase la ilustración 20).

#### Ilustración 20. Opción Done



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR.	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 15 de 23
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

**7.28 Si desea colocar otra muestra:**

7.28.1 Retire la perilla de la prensa de muestra girándola en contra de las manecillas del reloj.

7.28.2 Limpie el visor de muestreo de cristal de diamante con un pañuelo desechable de papel y acetona.

7.28.3 Repita los pasos desde el punto 7.13.

**7.29 Si desea salir del programa realice los siguientes pasos:**

7.29.1 Presione con un clic a la palabra HOME.

7.29.2 Presione con un clic a la palabra LOGOFF.

7.29.3 Presione con un clic la palabra EXIT.

7.29.4 Presione con un clic la palabra OK.

7.30 En el equipo, retire la perilla de la prensa de muestra girándola en contra de las manecillas del reloj.

7.31 Proceda a limpiar el visor de muestreo de cristal de diamante, con un pañuelo desechable de papel y acetona, siempre utilizando los productos suministrados por el laboratorio de Química.

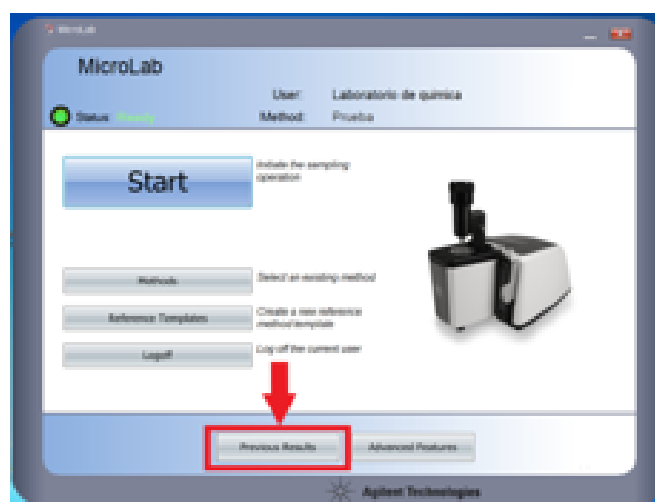
7.32 Apague el sistema Cary 630, del botón ubicado en la parte superior izquierda, presionándolo una sola vez.

7.33 Verifique que la luz LED quede iluminada de forma fija en color rojo.

7.34 **NOTA:** Una vez finalizado el análisis, en la pantalla de inicio puede acceder a los resultados anteriores haciendo clic en la opción PREVIOUS RESULTS. (Véase la ilustración 21). Seguido aparecerá una pantalla, que enumera las muestras realizadas. Para más detalles véase el anexo 9.5.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 16 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

**Ilustración 21. Previous Results**



Nota: Elaboración propia, 2019.

## 8. DOCUMENTOS RELACIONADOS

8.1. Manual de uso del fabricante del equipo.

## 9. ANEXOS

9.1 Cuando Method NO se encuentra en prueba.

9.2 Si desea crear un nuevo método para la aplicación MicroLab PC.

9.3 El estatus NO es de color verde.

9.4 Cómo cambiar una punta de la prensa de muestra por otra.

9.5 Detalles sobre resultados anteriores.

9.6 Imágenes adicionales.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

Thermo Nicolet Corporation. (2001). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. Verona, Italia: Thermo Nicolet Corporation.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 17 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

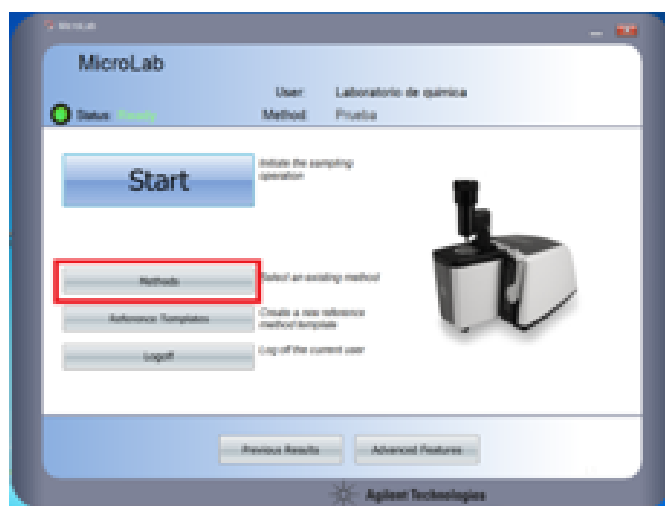
## ANEXOS

### 9.1 Cuando Method NO se encuentra en prueba

El estatus Method puede variar según lo establecidos en la práctica de laboratorio. Para cambiar de un método a otro, siga los siguientes pasos:

1. En la página inicial, ingrese al ícono Methods, para seleccionar un método ya existente. (Véase la ilustración 22).

#### Ilustración 22. Ícono Methods

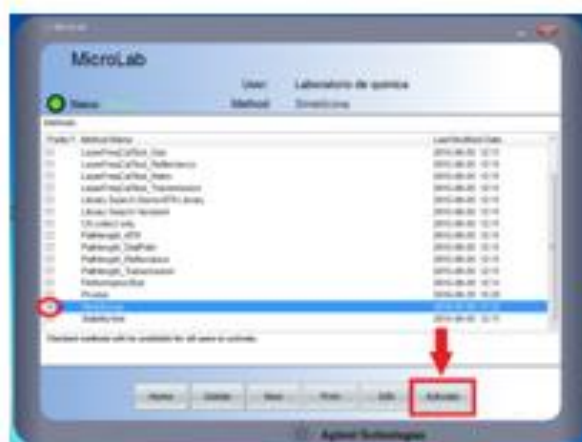


Nota: Elaboración propia, 2019.

2. Se muestra una lista de los métodos creados para la aplicación de software MicroLab PC.
3. Seleccione el método que requiere, dando clic en el cuadro ubicado al lado izquierdo de la pantalla, donde aparecerá un signo de visto (☑) y seguido haga clic en la opción ACTIVATE. (Véase la ilustración 23).

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 18 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

**Ilustración 23. Lista de métodos**



Nota: Elaboración propia, 2019.

## 9.2 Si desea crear un nuevo método para la aplicación MicroLab PC

1. En la página inicial, ingrese al ícono Reference Templates. (Véase la ilustración 24).

**Ilustración 24. Ícono Reference Templates**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 19 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

- Haga clic en el ícono NEW. (Véase la ilustración 25).

**Ilustración 25. Ícono New**

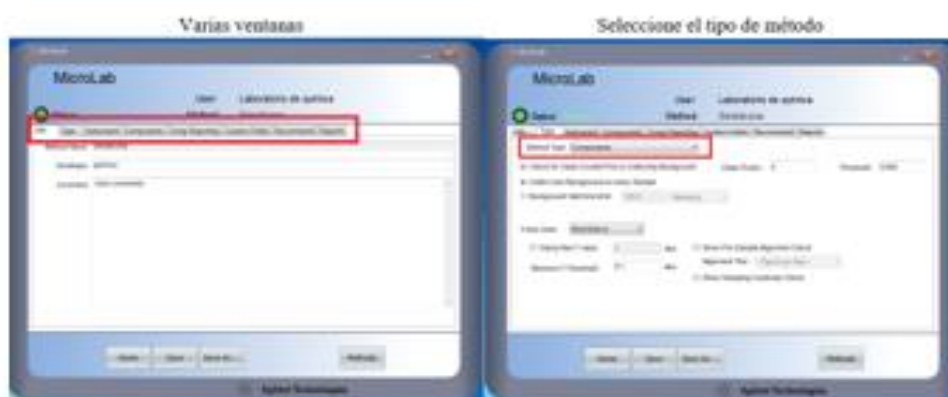


Nota: Elaboración propia, 2019.

- Se muestra una pantalla con varias ventanas, en las cuales el usuario, que desea crear un nuevo método, las va llenando con la información que desea.

NOTA: Estas ventanas varían dependiendo del tipo de método que seleccione. (Véase la ilustración 26).

**Ilustración 26. Ventanas y tipo de método**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 20 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

### 9.3 El estatus NO es de color verde


Si el color que presenta es amarillo o rojo, presione clic en Advanced Features y seleccione una de las opciones para identificar el problema. (Véase la ilustración 27).

#### Ilustración 27. Opción Advanced Features



Nota: Elaboración propia, 2019.

NOTA: En caso de no resolver el problema, la luz continuará roja o amarilla; póngase en contacto con el proveedor del equipo para obtener ayuda.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 21 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

#### 9.4 Cómo cambiar una punta de la prensa de muestra por otra

1. Retire la punta de la prensa de muestra que está colocada frente al visor de cristal, girándola a favor de las manecillas del reloj. (Véase la ilustración 28).

##### Ilustración 28. Punta de la prensa de muestra



Nota: Elaboración propia, 2019.

2. Desenrosque la punta de la prensa de muestra que va a requerir, ubicada a un costado de la prensa de muestra. (Véase la ilustración 29).

##### Ilustración 29. Ubicación de punta de la prensa de muestra a requerir



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 22 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

3. Enrosque la punta que **NO** va a utilizar a un costado de la prensa de muestra, para evitar perderla.
4. Coloque la punta con la que desea realizar el análisis, girándola en contra de las manecillas del reloj, hasta que ajuste por completo. **EVITE AJUSTAR DEMASIADO.**

### 9.5 Detalles sobre resultados anteriores.

La lista de los análisis está descrita por: el nombre que le asignó a la muestra, la fecha y hora respectiva que realizó el análisis.

En la pantalla, donde se observa la lista de los análisis que se han efectuado, haga clic en la muestra que desea. Una vez seleccionada, se presentan distintas opciones de la parte inferior de la pantalla, en la cual puede generar nuevamente el reporte en PDF, e incluso puede ver los detalles del espectro IR y marcar nuevos picos si lo desea, activando la opción de Pick Peaks, descrita anteriormente en el procedimiento.


### 9.6 Imágenes adicionales

Las siguientes imágenes tienen como objetivo ampliar la información didáctica:

#### Ilustración 30. Detalles del equipo



Nota: Elaboración Propia (2019)

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro IR Cary 630 FTIR	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 23 de 23
	Reemplaza a: Ninguno

**Ilustración 31. Detalles del equipo**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 1 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

## 1. OBJETIVO

Establecer los pasos a seguir para el correcto uso del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505 del Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas, conforme a lo establecido por las Buenas Prácticas de Laboratorio vigentes.

## 2. ALCANCE

Este instructivo aplica para todas las pruebas o prácticas de laboratorio que requieran del uso del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505 de Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas.

## 3. RESPONSABILIDADES

- 3.1 Estudiantes: realizar la prueba o práctica de laboratorio implementando el uso de este instructivo.
- 3.2 Profesor: implementar y velar por el cumplimiento de este instructivo.
- 3.3 Jefe o Coordinador del laboratorio: garantizar el cumplimiento de este instructivo.

## 4. DEFINICIONES

- 4.1 Espectrofotometría: investigación cuantitativa del espectro lumínico. Estudia muestras orgánicas e inorgánicas en ciertas longitudes de onda. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, pp.118-119).
- 4.2 Ley de Beer Lambert: identifica la relación que hay entre la concentración de la muestra y la intensidad de la luz. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.109).
- 4.3 Transmitancia: es una fracción de la luz incidente, que a una longitud de onda atraviesa una muestra. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.109).
- 4.4 Absorbancia: es la concentración de moléculas absorbentes de luz en la muestra. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p.109).
- 4.5 Portador de muestras: sostiene la muestra que se quiere analizar. Es una celda o cubeta comúnmente rectangular. Este portador de muestras lo crean los fabricantes, dependiendo

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 2 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

del tipo de espectrofotómetro y de la muestra que se desea estudiar. (Organización Panamericana de la Salud, 2005, p. 111).

## 5. MATERIALES

### 5.1 Limpieza y uso del equipo

- 5.1.1 Toallas desechables de papel especial.
- 5.1.2 Agua destilada.
- 5.1.3 Recipiente para desechos.
- 5.1.4 Celda de cuarzo.


### 5.2 Otros materiales y equipos

- 5.2.1 Los establecidos en la práctica de laboratorio.

## 6. CONSIDERACIONES ESPECIALES Y SUS JUSTIFICACIONES

6.1 A pesar de que es un equipo que se adquirió nuevo de fábrica y sus especificaciones permiten cumplir el objetivo para el cual fue adquirido, su diseño es muy básico y utiliza tecnología que en la actualidad ya no se emplea en equipos más modernos. A continuación, se citan varias recomendaciones y su justificación.

- 6.1.1 Mantenga el equipo en un lugar firme, nivelado y evitar las vibraciones fuertes.
- 6.1.2 Mantenga el espectro con iluminación moderada y lejos de la luz solar.
- 6.1.3 El laboratorio debe mantenerse en una temperatura entre 20-21 °C.
- 6.1.4 El espectrofotómetro UV-Vis 2505, en caso de estar apagado, debe estar cubierto con el cobertor respectivo del equipo.
- 6.1.5 El UV-Vis 2505 debe estar lejos de campos magnéticos fuertes, campos eléctricos y dispositivos eléctricos que generan ondas de alta frecuencia.
- 6.1.6 Evite utilizar el instrumento en lugares con sulfuro de hidrógeno, ácido sulfuroso, flúor u otros gases corrosivos.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 3 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

- 6.1.7 El espectrofotómetro UV-Vis 2505 debe mantenerse limpio.
- 6.1.8 La limpieza de la superficie interior del equipo le corresponde a un especialista.
- 6.1.9 La persona, encargada de limpiar la parte exterior del UV-Vis 2505, debe apagar el equipo y proceder a limpiarlo con un paño suave y húmedo con agua.
- 6.1.10 Evite provocar derrames cerca del equipo o en la parte interna del mismo.
- 6.1.11 Rango de medición de la transmitancia (T): 0.0%~100.0%.
- 6.1.12 Rango de medición de la absorbancia (A): 0.000~1.999.
- 6.1.13 El mayor error permisible de la transmitancia (T):  $\pm 0.5\%$ .
- 6.1.14 La celda para la lectura de la muestra en el equipo es de un material delicado, por lo que debe manipularse con cuidado.

## 7. PROCEDIMIENTO

- 7.1 Anótese en la bitácora de uso del espectrofotómetro UV-Vis, proporcionada por el laboratorio de Química. (Véase la figura 1).

Figura 1. Bitácora de uso del espectrofotómetro UV-Vis

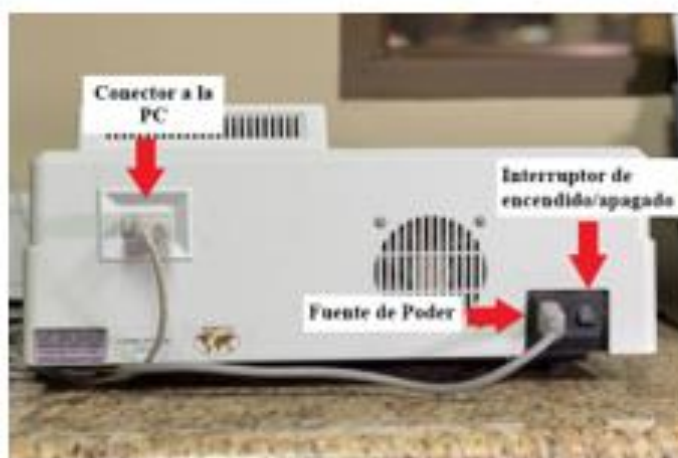


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 4 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

- 7.2 Verifique que el espectrofotómetro UV-Vis 2505 esté conectado a su fuente de poder y al conector de la PC. (Véase la figura 2).
- 7.3 Encienda el UV-Vis 2505 del botón ubicado en la parte inferior izquierda, detrás del equipo. (Véase la figura 2).

**Figura 2. Parte trasera del equipo**



Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.4 Espere un periodo de 20 minutos, mientras que la lámpara halógena de tungsteno calienta; transcurrido este tiempo, puede empezar a utilizarlo.
- 7.5 En la parte superior del espectrofotómetro UV-Vis, en el panel de pantalla presione la tecla MODE en varias ocasiones si es necesario, hasta que en la pantalla del UV-Vis esté en el estatus A (absorbancia). Para más información, véase el anexo 9.1.
- 7.5.1 Para efectos didácticos de la universidad, solo se emplea el modo de A (absorbancia). (Véase la figura 3).

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 5 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

**Figura 3. Panel de Pantalla**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.6 En el equipo UV-Vis 2505 debe graduar, de manera manual, la longitud de onda que va a utilizar, designada en la práctica, por medio de la perilla Wavelength de color negro, ubicada en la parte inferior derecha, girándola a favor o en contra de las manecillas del reloj. (Véase la figura 4).

**Figura 4. Perilla Wavelength**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 6 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

7.7 Compruebe que la computadora destinada para el equipo está encendida; de lo contrario, enciéndala.

7.8 Verifique que la impresora destinada para el equipo está encendida y que tiene hojas en blanco; en caso de no tener hojas debe informar a los asistentes de laboratorio.

7.9 En la computadora, ingrese en el ícono UVWin7. (Véase la figura 5).

**Figura 5. Ícono UVWin7**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.10 Una vez abierto el programa en la computadora, compruebe que en el panel de pantalla del espectrofotómetro UV-Vis aparece la palabra PC. (Véase la figura 6).

7.11 En el espectrofotómetro UV-Vis 2505, ajuste Zero el equipo, pulsando una sola vez la tecla AO/100%T. (Véase la figura 6).

**Figura 6. Palabra PC y tecla AO/100%T**

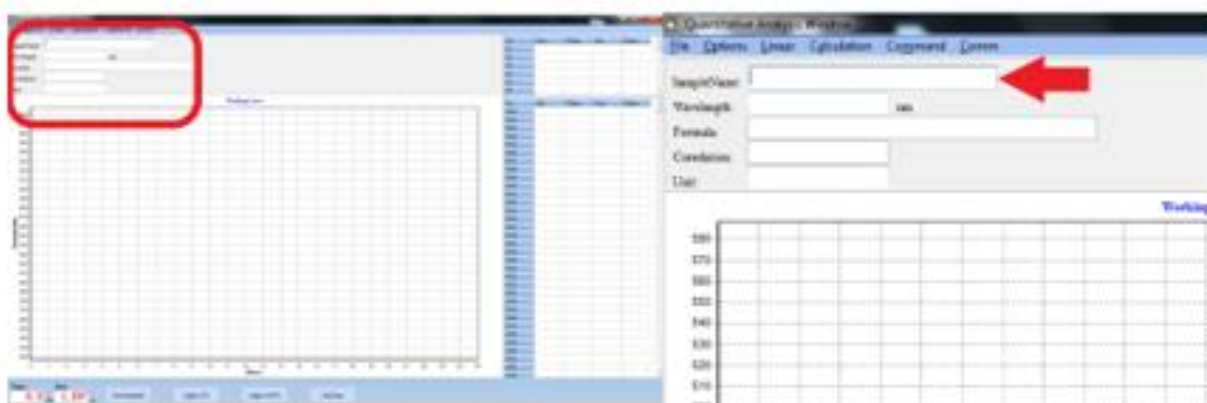


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 7 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

7.12 En la computadora en el espacio SampleName, digite el nombre que le asignará a la muestra. (Véase la figura 7).

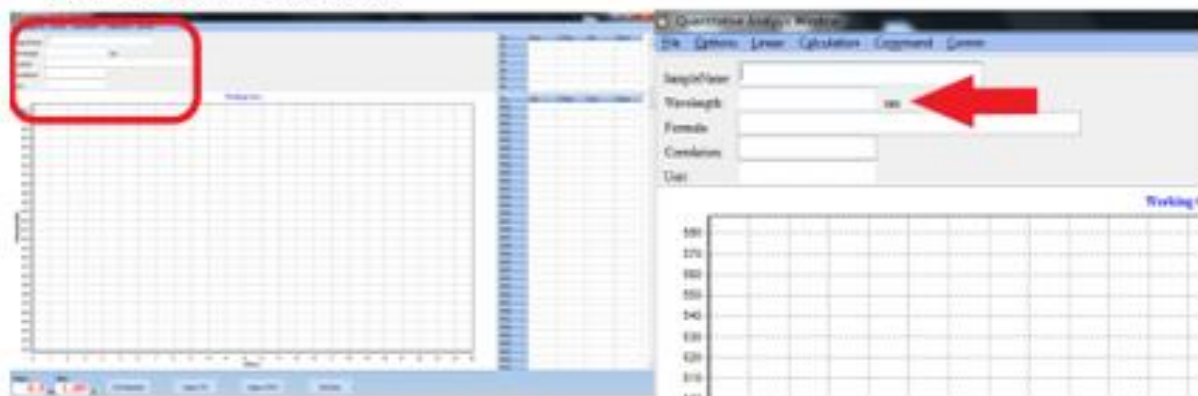
**Figura 7. Espacio SampleName**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.13 En el espacio Wavelength, digite la longitud de onda (nm) en la que realizará la lectura. (Véase la figura 8).

**Figura 8. Espacio Wavelength**

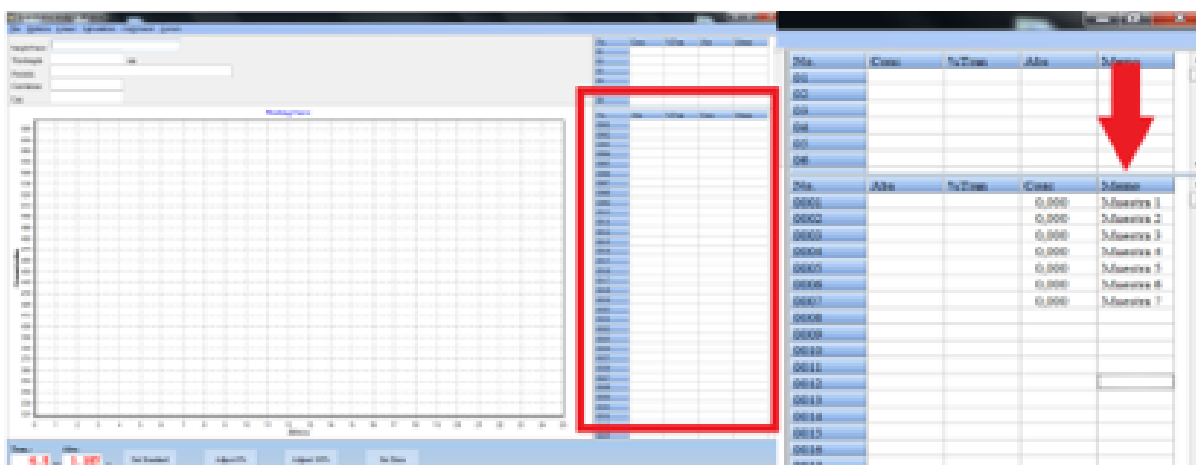


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 8 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

- 7.14 En el espacio Memo, ubicado al lado derecho de la pantalla, coloque, de forma descendente, el número de muestras que va a analizar (blanco, muestra 1, muestra 2, ...). (Véase la figura 9).

**Figura 9. Espacio Memo**



Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.15 Tome una celda de cuarzo, ubicadas en un recipiente proporcionado por el laboratorio de Química, llamado *cestas de cuarzo*. Tenga en cuenta:
- 7.15.1 Debe manipular la celda de cuarzo SOLO de los lados opacos, ya que las partes transparentes son por donde pasa el haz de luz. (Véase la figura 10).
  - 7.15.2 Cuando va a manipular la celda, mantenga siempre cerca el recipiente para desechos proporcionado por la universidad, para evitar derrames cerca del equipo. (Véase la figura 10).
- 7.16 Proceda a realizarle de dos a tres enjuagues a la celda con agua destilada.
- 7.17 Realice de uno a dos enjuagues a la celda con la muestra que va a analizar.
- 7.18 Vierta, en la celda de cuarzo, la muestra que se va a analizar y procure:
- 7.18.1 Agregue la muestra en la celda llenando un poco más de la mitad de esta. (Véase la figura 10).

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 9 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

7.18.2 No llene demasiado la celda, ya que puede causar derrames dentro del equipo.

7.18.3 En la parte interna de la celda no pueden quedar burbujas, ya que pueden interferir con la lectura de la muestra, por lo que debe retirar la muestra y realizar nuevamente de uno a dos enjuagues con la sustancia que está utilizando.


7.19 Seque las partes de afuera de la celda, con una toalla desechable especial. Utilice los productos suministrados por el laboratorio de Química, para evitar rayar la celda y no dejar pelusa. Tome en cuenta lo siguiente:

7.19.1 Utilice una toalla en varias ocasiones, aprovechando al máximo la misma. (Véase la figura 10).

**Figura 10. Secuencias de figuras**

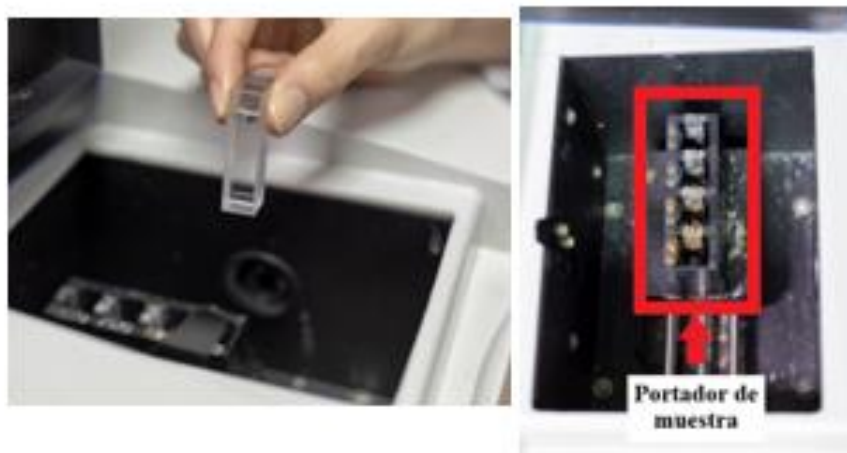


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 10 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

- 7.20 Abra la tapa de color azul del espectrofotómetro UV-Vis 2505, ubicada en la parte izquierda del equipo.
- 7.21 Coloque la muestra en el portador de muestras. Siga:
- 7.21.1 El haz de luz atraviesa la celda, por lo que debe colocar las partes transparentes de la misma en la dirección correcta. (Véase la figura 11).
- 7.21.2 Se pueden agregar un máximo de cuatro muestras por turno para analizar. (Véase la figura 11).
- 7.21.3 Procure mantener la tapa del UV-Vis 2505 cerrada constantemente, ya que el ingreso de luz afecta la muestra, alterando su lectura.

**Figura 11. Portador de muestras**



Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.22 **NOTA:** Si la primera muestra que va a analizar es un BLANCO (establecido en la práctica de laboratorio); por ejemplo: agua destilada, tome en cuenta:
- 7.22.1 Haga clic en la opción ADJUST 100%, para ajustar Zero en la computadora, y espere unos segundos hasta que aparezcan los números de color rojo en Tran y Abs lo siguiente: Tran.: 100,0 % y Abs: 0,000 A. (Véase la figura 12).

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 11 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

**Figura 12. Opción Adjust 100%**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.23 En la computadora haga clic en la opción GET DATA, para obtener los valores de la muestra, las cuales se van reflejando en la parte derecha de la pantalla. (Véase la figura 13).

**Figura 13. Opción Get Data**



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 12 de 18
	Reemplaza a: Ninguno


7.24 En caso de colocar más de una muestra a la vez, tire **SUAVEMENTE** del carrete de muestra de color negro, que se encuentra en la parte frontal del espectro UV-Vis hasta escuchar un clic, para ubicar la muestra deseada. Repita el paso 7.23. (Véase la figura 14).

**Figura 14. Carrete de muestra**

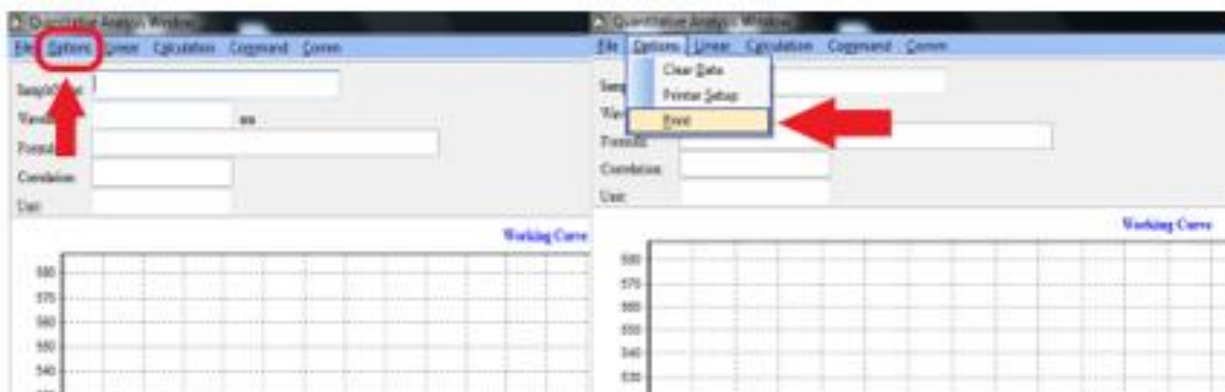


Nota: Elaboración propia, 2019.

- 7.25 En caso de colocar nuevamente otras muestras en un mismo análisis, realice lo siguiente:
- 7.25.1 Empuje suavemente el carrete de muestra para colocarlo en su posición original.
  - 7.25.2 Abra la tapa de color azul del espectrofotómetro UV-Vis 2505.
  - 7.25.3 Retire la celda de cuarzo del portador de muestras, manipulándola **SOLO** de los lados opacos; en caso de presentar varias muestras en el portador retire una celda a la vez.
  - 7.25.4 Cierre la tapa de color azul del UV-Vis 2505.
  - 7.25.5 Repita los pasos desde el 7.15.
- 7.26 Una vez finalizado el análisis en la computadora, haga clic en **OPTIONS**, ubicada en la parte superior izquierda de la pantalla y seleccione **PRINT**. (Véase la figura 15).

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 13 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

**Figura 15. Options**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.27 Se genera un informe Print Preview, el cual visualiza el reporte. (Véase la figura 16).

**Figura 16. Print Preview**

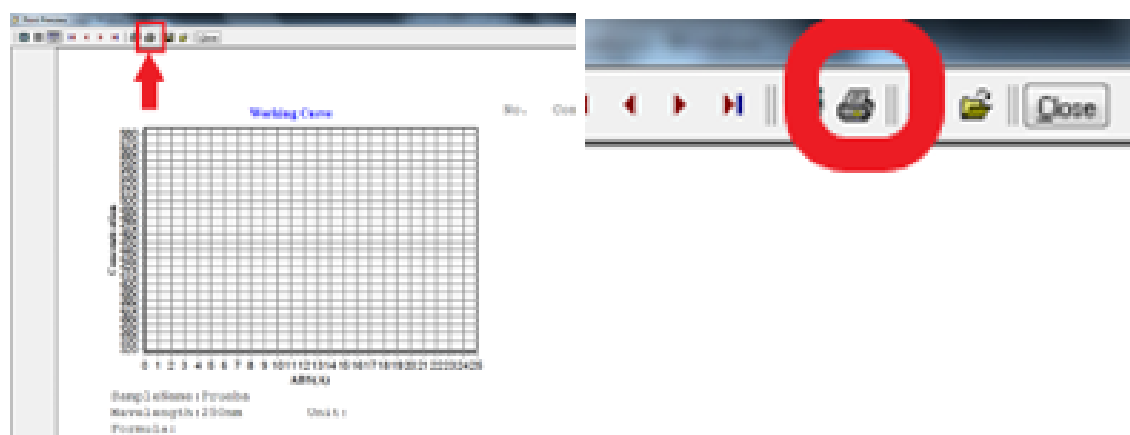


Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 14 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

7.28 Este informe se imprime dando clic en el ícono de una impresora ubicada en la parte superior de la aplicación. (Véase la figura 17).

**Figura 17. Impresora en la aplicación**



Nota: Elaboración propia, 2019.

7.29 Una vez impreso el reporte, cierre la aplicación Print Preview dando clic en equis ubicada en la parte superior derecha.

7.30 En el espectrofotómetro UV-Vis 2505, realice lo siguiente:

7.30.1 Abra la tapa de color azul del UV-Vis 2505.

7.30.2 Retire la celda de cuarzo manipulándola SOLO de los lados opacos, del portador de muestras; en caso de presentar varias muestras en el portador retire una celda a la vez.

7.30.3 Procure mantener la tapa del UV-Vis 2505 cerrada constantemente.

7.30.4 Deseche el contenido de la celda en el recipiente para desechos, proporcionado por el laboratorio de Química.

7.30.5 Proceda a realizarle enjuagues a la celda con agua destilada. Mantenga siempre cerca el recipiente para desechos, para evitar derrames cerca del equipo.

7.30.6 Coloque la celda de cuarzo en el recipiente llamado *cajetera de cuarzo*.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
	Página: 15 de 18
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Reemplaza a: Ninguno

7.30.7 Verifique que el carrete de muestra de color negro, ubicado en la parte frontal del espectro UV-Vis, esté en su posición original. En caso contrario posicione, empujando suavemente del mismo.

7.31 Para cerrar la aplicación UVWin7 haga clic en la equis, ubicada en la parte superior derecha.

7.32 Apague el espectro UV-Vis 2505 del botón ubicado en la parte inferior izquierda, detrás del equipo.

7.33 NO apague la computadora de este equipo, ya que se desconfigura la programación de la impresora.

RECOMENDACIÓN: Es preferible usar una sola celda para todas las mediciones de la referencia y de las muestras. (USP 38, 2015, p. 1909).

## 8. DOCUMENTOS RELACIONADOS

8.1. Manual de uso del fabricante del equipo.

## 9. ANEXOS

9.1 Tipos de estatus en el espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505.

9.2 Definición de las teclas en el panel de pantalla.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

Salud, O. P. (2005). Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio. Washington, D. C.: Organización Mundial de la Salud.

United States Pharmacopeia. (2015). Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38 NF 33. Estados Unidos: United States Pharmacopeia, 2015.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 16 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

## ANEXO

### 9.1 Tipos de estatus en el espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505

- La tecla MODE permite seleccionar el estatus dependiendo de la práctica designada:
  - A: Absorbancia (Abs)
  - T: Transmitancia (Trans)
  - C: Concentración (Conc.)
  - F: Factor de la pendiente (Factor)
- El estatus (F) ya viene configurado por el fabricante; en caso de querer modificarlo, utilice el manual de uso del fabricante del equipo.
- Para efectos didácticos de la Universidad Internacional de las Américas, solo se emplea el modo de Absorbancia (A) ya que este brinda la información de (A) como de la (T). (Véase la figura 18).

Figura 18. Tecla MODE y estatus seleccionado



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 17 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

## 9.2 Definición de las teclas en el panel de pantalla

1. La tecla PRINT permite la impresión de los datos de la PC a la impresora correspondiente. (Véase la figura 19).

Figura 19. Tecla PRINT



Nota: Elaboración propia, 2019.

2. Esta tecla 0%T se utiliza para ajustar Zero el equipo, pero solo se emplea en el estatus de Transmitancia (T). (Véase la figura 20).

Figura 20. Tecla 0%T



Nota: Elaboración propia, 2019.

Universidad Internacional de las Américas	
Instructivo	
Título: Uso Básico del espectrofotómetro UV-Vis modelo 2505	Rige desde: Mayo, 2019
Realizado por: Mildred Camacho Fernández	Página: 18 de 18
	Reemplaza a: Ninguno

3. La tecla AO 100% se emplea en los estatus de Absorbancia (A) y Transmitancia (T), y se utiliza para ajustar Zero el equipo. (Véase la figura 21).

**Figura 21. Tecla AO 100%**



Nota: Elaboración propia, 2019.