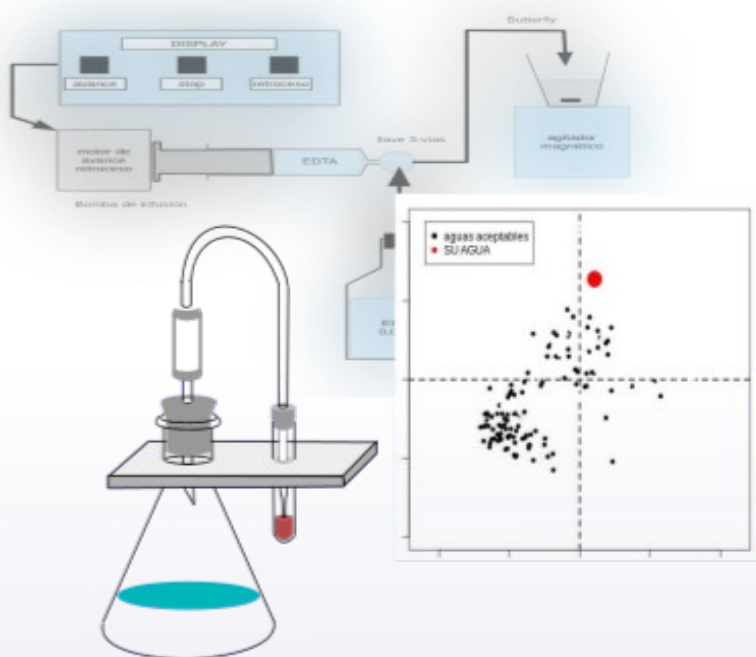


FUNDAMENTOS

TEÓRICO - PRÁCTICOS

PARA AUXILIARES DE LABORATORIO



Editores

Alfredo Rigalli

Maela Lupo

3^{er} Edición



FUNDAMENTOS TEÓRICO – PRÁCTICOS PARA AUXILIARES DE LABORATORIO

Física – Química – Matemática – Estadística – Seguridad en el Laboratorio

3er Edición

Editores

Maela Lupo
Alfredo Rigalli

Autores

Badín, Julieta
Barroso, Santiago
Benitez Cerrudo Mercedes Piedad
Chulibert, María Eugenia
Flores, Héctor Guillermo
García, Héctor Mariano
Giordano, Milagros
Godoy, Romina Belén
Gratarola, Aldana M
Lombarte, Mercedes
Lupión, Patricia Melina
Marzullo, Rosa
Matskeeff Karen Tatiana
Monti, María Sol
Mori, Ignacio Matias
Neira, Melina
Perini, Evelyn Nahir
Poggiani, Agustina
Trajtenberg, Ivo
Vaquero, Silvina Patricia
Whpei, Yamile
Yucra Agreda, Sofia Aylen
Zago, Bernabé

2021

Departamento de Docencia
Centro Universitario de Estudios Medioambientales
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Rosario



Fundamentos teórico prácticos para auxiliares de laboratorio / Alfredo Rigalli ... [et al.]. - 3a edición para el alumno - Rosario : Alfredo Rigalli ; Maela Lupo, 2021.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-987-86-8796-4

1. Técnicas de Laboratorio. 2. Formación Docente. 3. Bioquímica. I. Rigalli, Alfredo.
CDD 540.2

Prohibida la reproducción total o parcial de esta obra, incluida su diseño, tipografía y de portada, en cualquier formato y por cualquier medio mecánico o electrónico, sin expresa autorización del editor.

PRÓLOGOS

PRÓLOGO A LA TERCER EDICIÓN

En el 2007 comienza mi historia junto a mi mentor y maestro el Dr Rigalli, juntos recorrimos un gran camino estudiando el flúor. Desde sus inicios el curso de formación de alumnos para trabajo de laboratorio fue para poder agilizar algunos inconvenientes que teníamos en el Laboratorio de Biología Ósea (LBO) cuando un nuevo estudiante empezaba a colaborar. A medida que fue pasando el tiempo se transformó en un curso esencial y necesario para trabajo de laboratorio. Unos años después junto al Dr Rigalli creamos el Centro Universitario de Estudios Medioambientales (CUEM), para continuar estudiando el flúor pero orientándonos en una temática diferente, la ambiental. Este libro es fruto de ese curso y la infinidad de estudiantes que nos acompañó durante tantos años. Se convirtió en un curso de gran utilidad para el manejo y desempeño de laboratorio, no solo para estudiantes sino para profesionales. Estamos orgullosos del trayecto recorrido y de la formación que el curso y este libro aportan. Y demás está decir que mi camino no hubiera sido tan placentero si hubiese tenido otro maestro. Gracias Dr Rigalli por dejarme “pararme sobre hombros de gigante”. Este libro refleja todo el aprendizaje conjunto, estudiantes y docentes, que año a año colaboran y colaboraron en el CUEM y en el LBO, para no solo aprender sino también, para crear conocimiento.

Maela Lupo

PRÓLOGO A LA SEGUNDA EDICIÓN

En el año 2015 se dictó el primer curso de formación de alumnos ayudantes de investigación. En su momento, fue tomado por un grupo reducido que no solo incluía alumnos, sino profesionales que formaban parte del Laboratorio de Biología Ósea. En ese momento dicté las clases y generé precarios materiales que enviaba a los alumnos por correo electrónico. Solo fueron hojas sueltas, sin compaginación ni registro. El curso se repitió cada año, con nuevos y mejores contenidos, incluyendo como docentes a alumnos de las cohortes anteriores, que a su vez se sumaban a los trabajos de investigación en desarrollo.

El curso justificó la edición de un nuevo material de estudios que en su primer versión se generó en formato electrónico y fue registrado en la Cámara Argentina del Libro. Como una mera consecuencia de los hechos y al año siguiente, surgió la primer edición de este manual en formato impreso, incluyendo alrededor de 20 autores, muchos de ellos fieles colaboradores del laboratorio. Por entonces comenzó a gestarse la creación del Centro Universitario de Estudios Medioambientales (CUEM) y los contenidos fueron orientados a los objetivos de este centro. Este curso inicia cada año en el mes de marzo con aproximadamente una centena de alumnos, obteniendo su diploma alrededor de 30 alumnos. Este manual constituye el material de estudio del curso, dado que los temas desarrollados son en su totalidad aplicaciones realizadas en el CUEM.

Esta segunda edición incorpora nuevos docentes y despide a otros, pero mantiene la misma impronta del primer material: crear en los alumnos conciencia sobre la importancia de los resultados de un trabajo experimental, su impacto en la sociedad, la institución y el centro de investigación. La brújula del libro es la calidad de las mediciones, garantizada por su exactitud, precisión, confiabilidad y repetitividad.

El entusiasmo de los integrantes del CUEM y la responsabilidad que ponen en sus actividades permite anticipar que el curso seguirá vigente por mucho tiempo, a pesar del horario extremo en que se realiza y la rigurosidad del control de asistencia y sus ejercitaciones.

Es fácil pensar en la continuidad del curso y la aparición de nuevas ediciones de este libro cuando la inteligencia, perseverancia y el trabajo se juntan tras un objetivo.

Alfredo Rigalli

PRÓLOGO PRIMER EDICIÓN

El conocimiento se crea de dos maneras básicas: por pensamiento sobre conocimiento existente y por observación y experimentación sobre fenómenos naturales. El Laboratorio de Biología Ósea, el cual dirigí durante casi dos décadas, ha creado conocimiento en diversos campos de la biología y especialmente en el metabolismo óseo y mineral desde aproximadamente 5 décadas. Iniciado por el entusiasmo del Dr. Rodolfo Puche, su primer director y mi mentor, no ha dejado de funcionar a los largo de los años. La participación de profesionales de diferentes áreas ha contribuido a su crecimiento y la formación de recursos humanos de alta calificación ha sido siempre uno de sus objetivos.

Sin embargo no se debe olvidar y por lo contrario resaltar la participación de estudiantes de grado de diversas carreras. Estos colaboradores, muchas veces desde el anonimato fueron y son pilares fundamentales del desarrollo de la parte experimental, cumpliendo tareas rutinarias, sin un sólido fundamento teórico como para comprender cabalmente su valiosa colaboración.

Luego de 30 años de trabajo, acompañado por decenas de alumnos que a lo largo del tiempo se han convertido en propietarios silenciosos de parte de mis conocimientos, decidí organizar un curso para impartir a los colaboradores fundamentos físico-químico-estadístico-matemáticos para que su participación sea mejor comprendida. Así, en el año 2015 se inició un largo curso de dictado quincenal, casi de madrugada para que no interfiriera con las actividades académicas de docentes y alumnos. Y así fue que comenzamos la primer clase una madrugada de primavera de ese año, con los primeros brotes de las plantas, luego de un frío invierno. Como esos brotes, que se fueron desarrollando, los alumnos fueron creciendo, se transformaron en ramas y hojas y dieron flores para la nueva primavera. Como lo manda la biología esa flor se transformó en fruto. Esos colaboradores, que al principio vinieron en búsqueda de un conocimiento han ganado con el esfuerzo y la perseverancia, acompañarme en este pequeño emprendimiento como autores y colaboradores. Como buenos frutos llevan en

su interior una semilla de conocimiento que transferirán a futuros estudiantes que trabajen en este u otro laboratorio.

Tres ediciones del curso y la creación de un nuevo centro de investigación ameritan la impresión de este libro que contribuirá a la consolidación de una filosofía de trabajo, donde la confiabilidad del resultado obtenido, el trabajo en equipo y el constante aprendizaje son algunas de las metas impuestas al grupo de trabajo que compone el Centro Universitario de Estudios Medioambientales de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario.

Trabajar enaltece, da objetivos a la vida, pero hacerlo comprendiendo exactamente qué quiere decir es cada uno del gran engranaje de un laboratorio, entusiasmo mucho más. Espero que este libro sea una buena puerta para que, quienes se inician en la investigación lo hagan comprendiendo los fundamentos de sus trabajos y despierte un espíritu crítico y responsable.

Alfredo Rigalli

CONTENIDOS

PRÓLOGOS.....	4
CONTENIDOS.....	7
AUTORES Y EDITORES.....	9
ACCIDENTES: PREVENCIÓN Y ACCIONES A TOMAR.....	10
FUNDAMENTOS MATEMÁTICOS.....	1
MEDICIONES Y ERRORES.....	8
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....	26
ESTADISTICA INFERENCIAL.....	34
SOLUCIONES.....	50
CURVA DE CALIBRACIÓN.....	65
PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN.....	76
INSTRUMENTAL.....	82
AGUA DESTILADA.....	1
MEDICIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN AGUA.....	9
REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN.....	11
ESCRITURA DE UN TRABAJO REALIZADO.....	23
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	33
CONDUCTIMETRÍA.....	42
ESPECTROSCOPIA.....	45
MEDICIÓN DE AMONIO EN AGUA.....	48
MEDICIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA.....	50
MEDICIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUA.....	55
DETERMINACIÓN DE CLORO LIBRE EN AGUA DE CONSUMO.....	57
MEDICIÓN DE FOSFATO EN AGUA.....	59
MEDICIÓN DE NITRATO Y NITRITO EN AGUA.....	61
MEDICIÓN DE IODO.....	65
MEDICIÓN DE SULFATO EN AGUA.....	68
MEDICIÓN DE NITRÓGENO TOTAL EN AGUA.....	71
MEDICIÓN DE SODIO.....	74
MEDICIÓN DE CALCIO EN AGUA.....	78
MEDICIÓN DE LITIO EN AGUA.....	81
EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES.....	84
GRAVIMETRÍA.....	101
MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES EN AGUA.....	102
POTENCIOMETRÍA.....	105
MEDICIÓN DE FLUORURO.....	106
DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE OXIDO REDUCCIÓN.....	113
MEDIDA DE pH.....	115
VOLUMETRÍA.....	117
MEDICIÓN DE DUREZA TOTAL EN AGUA.....	118

CONTENIDOS

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL.....	122
MEDICIÓN DE CLORURO EN AGUA.....	126
ANÁLISIS DE SUELOS.....	130
ELABORACIÓN Y ANÁLISIS DE COMPOST.....	143

AUTORES Y EDITORES

Los editores y autores de este libro pertenecen al Centro Universitario de Estudios Medioambientales (CUEM) de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario y son docentes del curso teórico práctico para auxiliares de laboratorio, dictado en la mencionada facultad.

EDITORES

Rigalli, Alfredo. Bioquímico y Doctor en Bioquímica. Director del CUEM y docente de Química Biológica en la Facultad de Medicina de la UNR. Investigador del CONICET y del Consejo de Investigaciones de la UNR.

Lupo, Maela. Licenciada en Biotecnología y Doctora en Ciencias Biomédicas. Vicedirectora del CUEM y docente de Química Biológica en la Facultad de Medicina de la UNR.

AUTORES

Badín Julieta. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Barón Carolina. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Barroso Santiago. Estudiante de medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Benitez Cerrudo Mercedes Piedad. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Casagrande María Victoria. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Chulibert María Eugenia. Licenciada en Nutrición. Becaria doctoral del CONICET. Directora del departamento de docencia del CUEM

Digiuni Sabrina. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Flores Héctor Guillermo. Estudiante de Bioquímica en la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR..

Fenoglio Ignacio. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

García Héctor Mariano. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Giordano Milagros. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Godoy Romina Belén. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Gratarola Aldana M. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Lombarte Mercedes. Licenciada en Biotecnología y Doctora en Ciencias Biomédicas. Investigadora del Laboratorio de Biología Ósea y docente de Química Biológica en la Facultad de Medicina de la UNR.

Lupi3n Patricia. Licenciada en Biotecnología. Docente química biológica Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario

Marzullo Rosa. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Matskeeff Karen Tatiana. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Monti María Sol. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Mori Ignacio Matias. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Neira Melina. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR. Directora del departamento de servicios del CUEM.

Perini, Evelyn Nahir. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Pesci Agustina. Estudiante de Licenciatura en Biotecnología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR.

Poggiani Agustina. Estudiante de Medicina. en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario.

Vaquero Silvina Patricia. Estudiante de Medicina. Docente de la Cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas y directora del Departamento de extensión del CUEM.

Trajtenberg Ivo. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR

Whpei Yamile. Estudiante técnico superior en genética. ISTM. Estudiante del postitulo licenciada en tecnología de alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNR.

Yucra Agreda Sofia Aylene. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Zago Bernabé. Estudiante de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

ACCIDENTES: PREVENCIÓN Y ACCIONES A TOMAR

Rigalli A

Los accidentes en un laboratorio no son cosa poca frecuente. Se entiende por una accidente a una alteración en el desarrollo normal de las operaciones que puede repercutir sobre el valor de una medición, la ejecución de un procedimiento, daño de un equipo de laboratorio o riesgo para la integridad física del operario.

Si bien los accidentes no pueden prevenirse en un 100% su efecto puede ser minimizado en la mayoría de los casos contando con protocolos que contemplen las principales fuentes o causantes de accidentes.

La principal causa de accidentes es el desconocimiento en el uso de equipamiento y de acciones a desarrollar en el caso que estos se produzcan.

Reglas básica

- 1- no ejecute ninguna acción en el laboratorio que no se halle escrita en un protocolo revisado por el responsable del laboratorio
- 2- ejecute los protocolos sin saltar ningún paso.
- 3- comente todo aquello que le resultó raro en la ejecución de un protocolo.
- 4- si cree que puede introducir algún cambio en un protocolo siempre consúltelo con su superior.

Prioridad a tener en cuenta sobre el daño por un accidente

- 1- En primer lugar se debe preservar la vida e integridad de las personas involucradas en el trabajo y del público en general.
- 2- El daño en el medio ambiente como consecuencia de un accidente debe ser considerado en segundo lugar
- 3- El equipamiento y las instalaciones pueden sufrir daño como consecuencia de un accidente y el mismo debe ser evaluado y previsto.
- 4- La alteración del objetivo del trabajo así como sus resultados son el último eslabón a ser considerado en un accidente.

A continuación veremos algunas reglas y procedimientos básicos.

CONOCIMIENTO DEL LABORATORIO

El conocimiento de qué se hace en cada sector del laboratorio, sus áreas restringidas y el funcionamiento básico de los equipos es indispensable.

Se debe estar informado de

ACCIDENTES: PREVENCIÓN Y ACCIONES A TOMAR

- 1- Tendido de red eléctrica, seguridad de la misma y disposición de las llaves de corte por sector y general.
- 2- En caso de existir, se debe estar informado sobre la red de gas natural, con sus llaves de corte por sector y general
- 3- El conocimiento de corte de ambas redes fuera del laboratorio, que inhabiliten el edificio es otra exigencia.
- 4- Conocer quien es el responsable máximo del laboratorio, tener rápido acceso a la persona para informar sobre posibles fallas.
- 5- Identificar elementos de seguridad contra incendio, como extintores y otros elementos, así como de sus formas de uso y situaciones en las que deben utilizarse.

PROBLEMAS ELÉCTRICOS

Todos los instrumentos eléctricos deben estar conectados a una red eléctrica segura, protegida por llave térmica y disyuntor. Los mismos deben ser chequeados periódicamente de manera de comprobar su buen funcionamiento.

Para cortar térmicas y disyuntor, evaluar el grado de humedad de sus manos, del suelo, del ambiente en general y sobre todo del disyuntor y la térmica. Disyuntor y térmica pueden apagarse sin necesidad de utilizar las manos directamente, utilizando algún elemento plástico o de madera seca.

Si hay problemas eléctricos trate de no tocar. Si lo hace que no haya agua en el suelo o en la zona de corte.

En caso que exista fuego y se haya iniciado por motivos eléctricos, no debe utilizarse agua para su extinción.

FUEGO

Evaluar su origen

1- si es eléctrico, cortar térmicas correspondiente a sectores y evaluar el corte de llave general

2- si es químico usar extintor o baldes de arena

3- no utilizar agua, salvo que sean papeles o maderas sin compuestos químicos.

4- En espectrofotómetro de absorción atómica, por mal funcionamiento del equipo.

Oprimir el botón rojo de emergencia, luego cerrar llave de acetileno del tubo de acetileno, cerrar el compresor. Evaluar el uso de extintor de incendios.

En caso que no pueda ejecutar las acciones avisar a las personas que están trabajando en el edificio que lo abandonen hasta solucionar el problema.

Avisar a alumnos que puedan estar en aulas del edificio o en pasillo que se retiren del lugar.

DERRAMES DE SUSTANCIAS LÍQUIDAS

Evaluar sus características

1- volumen reducido, colocar papel absorbente, recoger con guantes y disponer en tachos de residuos.

2- volúmenes mayores, contener con arena o aserrín. Juntar con pala utilizando guantes y disponer en bolsas de residuos

3- solventes volátiles: utilizar máscara, evaluar posible riesgo de inflamación. Apagar toda fuente de calor, llama o chispa eléctrica. Desconectar llave general de electricidad. Abrir ventanas y puertas.

4- material radioactivo. Delimitar zona. Absorber con papel absorbente y disponer de acuerdo a este tipo de residuos. Por las actividades que se manejan no existe riesgo de irradiación, pero si de contaminación. Utilizar guantes y ropa adecuada. Si el derrame es en el suelo, no pisar y distribuir

5- No intentar ningún tipo de neutralización de una sustancia con otra, salvo que se cuente con un protocolo escrito sobre dicha situación y se tenga el conocimiento certero de las sustancias derramadas.

UTILIZACIÓN DE GASES

A menudo en un laboratorio se utilizan gases con diferentes propiedades. Se debe estar al tanto básicamente de la presión con que se manejan los mismos, así como la capacidad de los reservorios y la toxicidad o caracter explosivo de los mismos.

No se debe trabajar con un gas si no se conocen sus características, salvo que haga el trabajo con un encargado que reconozca estas características.

Si bien los equipos que trabajan con gases están diseñados y controlados para un trabajo en condiciones seguras, las posibilidades de falla no deben ser desestimadas.

Confíe en el funcionamiento de los equipos pero continuamente vigile manómetros y mangueras.

Si el gas que utiliza es inflamable, aun con buen funcionamiento del equipo evite la presencia de llamas, salvo que el equipo la requiera.

Asesórese que llaves o válvulas debe cerrar en caso de escape de gas.

UTILIZACIÓN DE MATERIAL RADIOACTIVO

El uso de material radioactivo solo está permitido si el cuarto donde se realiza la determinación está aprobado por la autoridad regulatoria Nuclear de la república Argentina y existe un responsable de la seguridad radiológica aprobado por la misma institución. Estas autorizaciones se gestionan para el cuarto todos los años y tienen una tasa anual mientras que el responsable se debe reacreditar cada 5 años. En el cuarto deben existir ambas autorizaciones en forma visible y además en la puerta debe existir

ACCIDENTES: PREVENCIÓN Y ACCIONES A TOMAR

un cartel indicando el riesgo. Las instalaciones para uso de isótopos radioactivos se clasifican en clase I, clase II y clase III, identificadas porque el cartel que se debe hallar en la puerta tendrá una banda roja, amarilla o blanca.

CENTRÍFUGAS

Como se desarrolló en el uso de estos instrumentos, el funcionamiento de éstos implican enormes velocidades y fuerzas gravitatorias que pueden despedir elementos con alto poder destructivo y riesgo para la vida de los operarios.

Las centrífugas no deben vibrar o hacer ruido durante su funcionamiento.

Utilice siempre estos instrumentos con pleno conocimiento de su funcionamiento y colocando el material perfectamente equilibrado.

No opere nunca el instrumento sin su tapa y no abra la misma hasta que haya finalizado el funcionamiento.

Los equipos más nuevos tienen sistemas que impiden su apertura durante el uso, pero los más antiguos no.

PREVENCIÓN DE ACCIDENTES

DERRAMES

- 1- en caso de sustancias muy corrosivas, trabajar en bandejas plásticas
- 2- trabajar con los volúmenes más pequeños posibles.
- 3- retornar botellas de drogas al droguero luego de utilizadas

INCENDIOS

- 1- utilizar la menor cantidad de sustancias inflamables.
- 2- reemplazar sustancias inflamables o metodologías que puedan producirlas por otras que no, de igual o mejor rendimiento.
- 3- evitar el uso de gas
- 4- evitar la presencia de llamas o fuentes de calor o chispas en caso de utilizar sustancias volátiles e inflamables.

ELECTROCUCIÓN

- 1- chequear funcionamiento de disyuntor periódicamente
- 2- utilizar equipos en instalaciones protegidas por llave térmica y disyuntor
- 3- chequear estado del cable de alimentación
- 4- tocar el equipo con el dorso de la mano si se percibe cosquilleo informar
- 5- en lo posible utilizar zapatos de goma
- 6- en lo posible mantenerse parado sin tocar nada más que el equipo durante el funcionamiento
- 7- estar informado de la forma y lugar de corte de alimentación eléctrica por sectores y general.

ACCIDENTES: PREVENCIÓN Y ACCIONES A TOMAR

INHALACIÓN DE SUSTANCIAS VOLÁTILES

- 1- utilizar siempre que sea posible la campana de extracción de gases ubicadas en planta baja, salón de prácticos.
- 2- de ser posible utilizar máscara con filtro
- 3- mantener cerrados los recipientes con sustancias volátiles.
- 4- mantener ventilado el sitio de trabajo.

MATERIAL RADIOACTIVO

- 1- Nunca por ninguna razón trabajar fuera del cuarto habilitado a tal fin
- 2- trabajar siempre sobre la mesada de acero inoxidable
- 3- no introducir material (pipetas, tips, etc) ya hay en el box o debe haber
- 4- no sacar material en uso en dicho box para uso en otros (ej micropipetas, tips, etc)
- 5- Los restos radioactivos líquidos descartarlos en la bacha con corriente de agua.
- 6- Los residuos sólidos de I125 y Ca41 colocarlos en el contenedor de decaimiento por el tiempo estipulado en cada protocolo. Colocarlos en una bolsa con la fecha en que se compró el radioisótopo y cuando debería descartarse. Pasado ese tiempo descartar en residuos comunes.
- 7- una vez eliminada la radioactividad por decaimiento eliminar signo de material radiactivo del tubo
- 8- para restos sólidos de H3 y C14 descartarlos inmediatamente en bolsas de material patogénico.
- 9- Si se derrama un material, informar inmediatamente al responsable de seguridad radiológica. Absorber el material derramado con papel absorbente y colocar en bolsa plástica. Dependiendo del radioisótopo, proceder como se describió en 6.

FUNDAMENTOS MATEMÁTICOS

Rigalli A.

Magnitudes

La ciencia involucra siempre procesos de medición. Llamamos magnitud a una propiedad de algún sistema a la que se puede asignar un valor, a través de un proceso de medición. Por ejemplo, si deseamos conocer la altura promedio de niños de una escuela, deberemos medir la altura de cada uno de ellos. La altura es en este caso la magnitud, a la que se asignará un número en función de una escala y además en este caso tendrá una unidad. Así, por ejemplo la altura de un niño podrá ser 1.3m.

Las magnitudes las podemos clasificar en según diferentes criterios. Una de las clasificaciones divide a las magnitudes en cualitativas y cuantitativas. Otra clasificación divide a las magnitudes en fundamentales y derivadas, y otra división posible es en dimensionales o adimensionales. No son estas las únicas formas de clasificar a las magnitudes. Veremos a continuación cada una de ellas.

Magnitudes cualitativas

Tiene un valor categórico. Pueden o no tener número y unidades.

Ejemplos:

- El color de la solución al realizar una medición de glucosa. Es conocido con la técnica actual que si no hay glucosa la solución permanece incolora, por lo contrario si hay glucosa la solución toma una coloración rosada. Así, podríamos clasificar a las soluciones como: incolora – coloreada, según carezcan o contengan glucosa.
- Una rata según su edad podríamos clasificarla en: joven - adulta.
- Una muestra según su posibilidad de representar fielmente a una población podríamos clasificarla como: representativa - no representativa.
- Si medimos el sexo en individuos de una muestra de animales podremos asignar dos valores: macho y hembra.

Magnitudes cuantitativas

Tienen un número que se asocia a una escala.

Ejemplos:

- La cantidad de cloruro de sodio en un recipiente: 2g.
- El volumen de agua en un recipiente: 3ml de agua destilada.
- La cantidad de glucosa en un dado volumen de solución: 0.3 moles de glucosa.
- El pH de una solución: $\text{pH} = 7.1$.

Las unidades también se pueden clasificar en fundamentales y derivadas.

Magnitudes fundamentales

Son parte del sistema internacional de unidades y se definen todas las demás unidades en función de ellas. A continuación se indica la magnitud, su unidad y entre paréntesis la abreviatura de dicha unidad.

- ◆ longitud: metro (m)
- ◆ masa: kilogramo (kg)
- ◆ tiempo: segundo (s)
- ◆ corriente eléctrica: amperio (a)
- ◆ temperatura: kelvin (k)
- ◆ cantidad de sustancia: mol (mol)
- ◆ intensidad luminosa: candela (cd)

de estas magnitudes básicas es posible obtener cualquier otra unidad de medida.

Magnitudes derivadas

Se expresan en función de las unidades fundamentales.

Ejemplos:

velocidad = $v = \text{longitud}/\text{tiempo}$

volumen = $V = \text{longitud}^3$

Magnitud adimensional

Una magnitud adimensional o magnitud de dimensión uno, es aquella que no tiene una dimensión física conocida, siendo por lo tanto un número puro que permite describir una característica física sin dimensión ni unidad de expresión explícita y que como tal siempre tiene una dimensión de 1, lo que equivale a decir que no tiene unidades.

Las magnitudes adimensionales son aquellas que solo tienen un número y no poseen unidades.

Ejemplo

- pH = 3.

Si bien no tiene unidad su valor está indicando una relación con respecto a valores de pH de otras soluciones. Una solución de pH=3 es más ácida que cualquier otra solución que tenga pH>3.

En algunos casos, las magnitudes son adimensionales pero se les asigna arbitrariamente una unidad. No son comunes, pero puede encontrarlas en su trabajo.

Ejemplo:

- Intensidad de un sonido: 30dB (la unidad decibel no surge de ninguna otra unidad).

Magnitudes dimensionales

Se miden en unidades conocidas que pertenecen al sistema internacional de unidad, como por ejemplo: longitud, masa, cantidad de sustancia, intensidad luminosa, etc. Una medición de estas magnitudes se caracteriza por un número y una unidad.

Ejemplo:

- 3g de glucosa

- 0.5µl de reactivo

Un resumen y ejemplos adicionales

Magnitudes	
Cuantitativas	Cualitativas
3mg de NaCl	sexo: Macho - hembra
10pm	Contextura física: Delgado – obeso
pH = 3	solución: Coloreada - incolora
120m	Representativo–no representativo
60db	Color de ojos

Unidad

Una unidad es una cantidad estandarizada de una determinada magnitud física, definida y aceptada por convención.

Cambio de unidades

Un problema habitual en el laboratorio y que puede llevar a errores es el pasaje de unidades, ya sea para expresar mejor un resultado o para la elección de un instrumentos de medición.

Para proceder con el pasaje de unidades debemos conocer primero los signos de múltiplos y submúltiplos de la unidad, utilizados más comúnmente.

La tabla siguiente muestra los símbolos y la equivalencia respecto de la unidad

símbolo	nombre	equivalencia
p	pico	10^{-12}
n	nano	10^{-9}
µ	micro	10^{-6}
m	mili	10^{-3}
c	centi	10^{-2}
d	deci	10^{-1}
unidad		
K	kilo	10^3
M	mega	10^6
G	giga	10^9

Estos símbolos se colocan delante de una unidad, por ejemplo ml, mg, µV, Gbyte, etc. En los ejemplos las unidades son L, g, V y byte, respectivamente y las unidades derivadas se leen mililitro, miligramo, microvolt y gigabyte.

¿Qué significa y como se interpreta?

Tomemos la primer línea, correspondiente al submúltiplo p (pico).

Supongamos que tenemos 10pm (se lee 10 pico metros), esto equivale a $10 \cdot 10^{-12}$ m, es decir 0.00000000001m.

Veamos otro ejemplo. Cuantos litros son 55 μ L?

La tabla nos indica que μ equivale a 10^{-6} . Por lo tanto 55 μ L equivalen a $55 \cdot 10^{-6}$ L o bien 0.000055 L.

Ejercicios

Hallará las respuestas al pie de la hoja

1) Exprese en V el valor de 25mV.

2) Exprese en g el valor 31.2mg.

Antes de continuar con el tema recordaremos algunas propiedades de la potencia, la notación científica y uso de calculadora. Es frecuente que los números empleados en química son extremadamente grandes o extremadamente pequeños. Es más conveniente expresar tales números en la forma:

$N \cdot 10^n$

Donde N es un número entre 1 y 10, y n es el exponente, a continuación algunos ejemplos de esta forma de representación conocida como notación científica.

Ejemplos:

- $1200000 = 1.2 \cdot 10^6$
- $0.000604 = 6.04 \cdot 10^{-4}$

Un exponente positivo indica la cantidad de veces que se debe multiplicar un número por 10 para dar la larga forma del número.

Ejemplo

$$1.2 \cdot 10^6 = 1.2 \cdot 10 \cdot 10 \cdot 10 \cdot 10 \cdot 10 \cdot 10 = 1200000$$

También es conveniente pensar que el exponente positivo nos indica el número de lugares que debemos correr la coma decimal hacia la izquierda para obtener un número más grande que 1 pero menor que 10.

Ejemplo:

Expresemos 3450 en notación científica. Movemos la coma tres lugares hacia la izquierda se expresa $3.45 \cdot 10^3$.

De la misma manera un exponente negativo nos indica cuantas veces debemos dividir un número entre 10 para dar la forma larga del número.

$$6.04 \cdot 10^{-4} = 6.04 / 10 \cdot 10 \cdot 10 \cdot 10 = 0.000604$$

Por lo tanto es útil pensar que el exponente negativo nos indica cuantas veces debe correrse la coma decimal hacia la derecha para obtener un número más grande que 1 pero menor que 10.

Ejemplo:

0.0048 si movemos el punto decimal tres lugares hacia la derecha se expresa $4.8 \cdot 10^{-3}$

-
- 1 0,025V
 - 2 0,0312g

En el sistema de notación exponencial, cada vez que la coma se corre un lugar hacia la derecha, el exponente disminuye en 1

Ejemplo:

$$4.8 \cdot 10^{-3} = 48 \cdot 10^{-4}$$

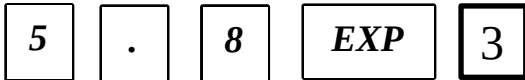
De manera similar, cada vez que se corre la coma hacia la izquierda el exponente aumenta en 1

Ejemplo

$$4.8 \cdot 10^{-3} = 0.48 \cdot 10^{-2}$$

¿Cómo usar la calculadora en notación exponencial?

Muchas calculadoras tienen una tecla marcada EXP o EE, que se utiliza para introducir números en notación exponencial. Para introducir el número: $5.8 \cdot 10^3$ en este tipo de calculadora, la secuencia de tecla es:



En algunas calculadoras la pantalla mostrará 5.8, luego un espacio, seguido por 03, el exponente. En otras, se muestra un pequeño 10 con un exponente 3.

Para introducir un exponente negativo, utilice las teclas +/- . Por ejemplo para introducir el número $8.6 \cdot 10^{-5}$, la secuencia de teclas es:



Operaciones con notación exponencial

Cuando se multiplican números expresados en notación exponencial, los exponentes se suman; cuando se dividen números expresados en notación exponencial, el exponente del denominador se resta al exponente del numerador.

Ejemplo:

- $(5.4 \cdot 10^2) \cdot (2.1 \cdot 10^3) = (5.4 \times 2.1) \cdot (10^{2+3}) = 11 \cdot 10^5 = 1.1 \cdot 10^6$
- $(1.2 \cdot 10^5) \cdot (3.22 \cdot 10^{-3}) = (1.2) \cdot (3.22) \cdot 10^{5+(-3)} = 3.9 \cdot 10^2$
- $3.2 \cdot 10^5 / 6.5 \cdot 10^2 = 3.2 / 6.5 \cdot 10^{5-2} = 0.49 \cdot 10^3 = 4.9 \cdot 10^2$
- $5.7 \cdot 10^7 / 8.5 \cdot 10^{-2} = 5.7 / 8.5 \cdot 10^{7-(-2)} = 0.67 \cdot 10^9 = 6.7 \cdot 10^8$

Ejercicios

Efectué las siguientes operaciones

3) Escriba 67000 en notación exponencial

$$3 \quad 6.7 \cdot 10^4$$

$$4) (3.378 \cdot 10^{-3}) - (4.97 \cdot 10^{-5})$$

$$5) (1.84 \cdot 10^{15}) / (7.45 \cdot 10^{-2})$$

$$6) 900 / 0.003$$

Veamos ahora el paso de unidades, pero donde no deseo llevarlo a la unidad. Para esto se puede utilizar el método del factor 1. ¿Qué significa?.

Sabemos que si multiplicamos un número cualquiera por 1, el resultado no cambia su valor.

El cociente

$$1 \mu\text{L} / 10^{-6}\text{l}$$

tiene el valor 1. ¿Cómo utilizamos esto para el paso de unidades?

La forma más sencilla es expresar primer el número que está con un múltiplo o submúltiplo en la unidad y luego llevarlo al múltiplo o submúltiplo deseado

Ejemplo

deseamos pasar 0.321ml a μl

En primer lugar multiplicamos por el factor de valor 1 mencionado

$$0.321\text{ml} * (10^{-3} \text{l} / 1\text{ml})$$

El número cuya unidad deseo cambiar lo multipliqué por un cociente que tiene la equivalencia entre la unidad y el submúltiplo que quiero cambiar (note que el paréntesis vale 1). Los ml del numerador se simplificará con ml del denominador quedando

$$0.321 * (10^{-3}\text{l})$$

ahora multiplico por la equivalencia entre L y μL , ubicando el cociente de manera que μL me quede en el numerador

$$0.321 * (10^{-3} \text{l}) * (1 \mu\text{l} / 10^{-6}\text{l})$$

si simplificamos l con l y resolvemos la potencia de 10, nos queda

$$0.321 * (10^3) * (1 \mu\text{l})$$

que resulta 321 μl

Ejercicios

realice los pasos de unidades que se detallan a continuación

$$7) \text{Pase } 0.000021\text{kg a mg}$$

$$8) \text{pase } 0.125\text{mV a } \mu\text{V}$$

Un poco de complejidad. Supongamos que tenemos magnitudes derivadas, es decir magnitudes que se calculan a partir de otras.

Ejemplos

- densidad 1.85g/ml

$$4 \quad 3.328 \cdot 10^{-3}$$

$$5 \quad 2.47 \cdot 10^{16}$$

$$6 \quad 3 \cdot 10^5$$

$$7 \quad 21\text{mg}$$

$$8 \quad 125 \mu\text{V}$$

FUNDAMENTOS MATEMÁTICOS

- concentración 0.25moles/L

Ejemplo de paso de unidades. Supongamos que tengo una concentración de 0.2pmoles/ml y la deseo expresar en $\mu\text{moles/dl}$. El procedimiento es el mismo que el explicado anteriormente, utilizando el factor 1. Veamos

$$0.2 \frac{\text{pmol}}{\text{ml}} * \frac{10^{-12} \text{mol}}{1 \text{pmol}} * \frac{1 \mu \text{mol}}{10^{-6} \text{mol}} * \frac{1 \text{ml}}{10^{-3} \text{l}} * \frac{10^{-1} \text{l}}{1 \text{dl}}$$

Simplificamos todas las unidades posibles y operamos con las potencias de 10 quedando

$$0.2 * 10^{-4} \frac{\mu \text{mol}}{\text{dl}} = 2 * 10^{-3} \frac{\mu \text{mol}}{\text{dl}}$$

MEDICIONES Y ERRORES

Rigalli A

Uno de los principales desafíos de un laboratorio es producir un resultado confiable, creíble, reproducible y repetible. Veamos cada uno de estos importantes calificativos de un resultado.

Confiable: el resultado obtenido debe ser utilizado por otros y por nosotros sin ningún tipo de duda, fundado en una buena aplicación de la tecnología, la metodología y los controles de calidad. La confiabilidad del resultado surge del control extremo de equivocaciones, errores aleatorios y errores sistemáticos.

Las equivocaciones o accidentes pueden anticiparse y evitarse, sin embargo, los errores aleatorios pueden disminuirse, pero nunca hacerlos desaparecer. Por su parte, los errores sistemáticos pueden ponerse en evidencia y eliminarse casi por completo.

Creíble: esta característica de un resultado surge en general de una trayectoria de trabajo prolija, que ha superado la mirada crítica de otros, que ha sido discutida a fondo y que los resultados producidos para otros han sido bienvenidos y aceptados.

Repetible: un resultado es repetible si en un mismo día o en el mismo laboratorio, la medición da valores similares.

Reproducible un resultado se dice que es reproducible si al realizar la misma medición en días distintos o en diferentes laboratorios, se obtienen valores similares.

Los resultados de un laboratorio se generan a partir de un proceso de medición.

Medición

El proceso de medición consiste en la comparación del valor de una propiedad de una muestra con un patrón (utilizando un instrumento). La medición indica la relación entre la magnitud de la muestra y la del patrón utilizado. Por ejemplo si un fémur (que es nuestra muestra) pesa 3.1g, indica que su masa es 3.1 veces mayor que 1g (el patrón con el que se compara: en las balanzas del laboratorio). Muchas veces como ocurre en este caso no vemos el patrón de medición, pero está implícito en el instrumento utilizado.

Tipos de mediciones

Hay dos tipos de mediciones

Medición directa

Una medición directa es aquella medición en que se obtiene el valor luego de medir algo con un instrumento. Por ejemplo medir una longitud con una regla, una masa con una balanza, un volumen con una pipeta, etc.

Ejemplo

- ◆ 2.5ml
- ◆ 0.15g
- ◆ 11.12mm

Medición indirecta

Una medición indirecta es aquella que se obtiene por cálculo a partir de otras mediciones directas. Por ejemplo la densidad, que se obtiene del cociente entre una masa y un volumen, ambos medidos de manera directa. Son medidas indirectas la rigidez ósea (cociente entre fuerza y desplazamiento), el módulo de Young (cociente entre tensión y deformación), el área (largo por ancho). También es una medida indirecta el cálculo de la concentración medida por espectrofotometría, ya que lo que se mide es la absorbancia y luego a partir de ésta por un cálculo se obtiene la concentración.

Ejemplo

Si medimos una hoja de papel que tiene 10cm de ancho por 20cm de largo, su área es $10 \times 20 = 200 \text{cm}^2$.

Errores

El error es una parte del proceso de medición, que puede disminuirse pero no anular. No se debe confundir al error de medición con la equivocación. La equivocación es un mal manejo de los instrumentos de medición, un descuido, una mala aplicación del proceso de medición por desconocimiento, desidia o intensión.

Tipos de errores

Los errores se pueden clasificar desde diferente punto de vista. Veamos algunas clasificaciones.

De acuerdo a su forma de cálculo y significado podemos clasificar a los errores en : absoluto y relativo.

Error absoluto

El error absoluto (EA), es la diferencia entre el valor real y el valor medido de una determinada magnitud.

$$EA = \text{valor medido} - \text{valor real}$$

El valor real es siempre un número desconocido y al que deseamos aproximarnos a través de nuestro proceso de medición. Por esta razón el EA absoluto no lo podemos calcular de la manera indicada en el párrafo anterior. El EA se considera igual a la menor división de la escala del instrumento de medición. Por ejemplo una regla milimetrada se puede considerar que tiene un error absoluto de 0.1cm o 1mm. Una balanza cuya pantalla muestra por ejemplo un valor 2.125g al encenderla tiene un error de apreciación o absoluto sería 0.001g o 1mg.

Error relativo

El error relativo (ER) es el cociente entre el error absoluto y el valor de la medición realizada.

$$ER = \frac{EA}{\text{valor medido}}$$

En el caso del error relativo porcentual (ER%) es el error relativo multiplicado por 100.

$$ER = \frac{EA}{\text{valor medido}} * 100$$

El error relativo es menor cuanto menor es la apreciación del instrumento y mayor la medición realizada. Con respecto a la apreciación del instrumento es importante recalcar que una menor apreciación se interpreta como un instrumento que mide con mayor cantidad de cifras significativas. Por ejemplo si tenemos una balanza que muestra en el visor valores como 3.41g y otra muestra 3.4135g. La segunda tiene menor apreciación porque es capaz de medir con más cifras significativas.

Ejemplo:

Si medimos una masa de 2.1g con una balanza de apreciación 0.01g, el error relativo de la medida es

$$ER = \frac{0.01}{2.1} * 100 = 0.48 \%$$

Ejercicio

Busque un instrumento (preferentemente uno que use para medir en sus tareas). Investigue cual es su error de apreciación (apreciación o error absoluto) y calcule el ER % que cometería al hacer una medición. Aun fuera de un laboratorio puede hallar instrumentos de medición: una regla, una jarra para medir masas o volúmenes de alimentos, un velocímetro de un automóvil, el surtidor de combustible de un automóvil o su reloj, por nombrar algunos.

De acuerdo al origen del error se los puede clasificar en aleatorios y sistemáticos. Estos errores son los que debemos controlar y medir en nuestras determinaciones y que tendrán impacto directo sobre la precisión y exactitud de una medición.

Errores aleatorios

Los errores aleatorios surgen de variables que intervienen en el proceso de medición y que en muchos casos son incontrolables o impredecibles:

- ◆ cambios en voltaje eléctrico.
- ◆ humedad ambiente.
- ◆ presión atmosférica.
- ◆ temperatura ambiente.
- ◆ lavado del material.
- ◆ calidad del agua destilada.

Los errores aleatorios pueden producir mediciones de mayor o menor valor que el valor real de la medición y normalmente es el resultado de múltiples factores como los enumerados anteriormente.

Errores sistemáticos

Los errores sistemáticos pueden surgir del funcionamiento de instrumentos, de partes del equipamiento de medición y del propio operador. En general cambian el valor de una medición en más o en menos respecto del valor real. Son algunos :

- ◆ filtro sucio que no deja pasar la luz adecuadamente.
- ◆ envejecimiento de sistema de medida analógicos.
- ◆ envejecimiento de lámparas.
- ◆ balanza descalibrada.
- ◆ testigos en mal estado.
- ◆ cambio de soluciones de diferentes kits de medición.
- ◆ mal uso de los topes de la micropipetas.
- ◆ errores de paralaje al medir un instrumento.
- ◆ mal manejo de unidades de medida.

Dentro de los errores sistemáticos pueden existir los errores conocidos también como sesgo. Puede ocurrir que al medir una variable, el conocimiento previo de los grupos induzca a inclinar los valores hacia un lado en particular. Por ejemplo, si medimos una solución que es ácida y el pH que mide el pHmetro va descendiendo, tendremos tendencia a esperar más tiempo para la medida. En cambio si sabemos que una solución debe ser más alcalina, la lectura la haremos en menor tiempo, intentando tener un valor más elevado. El trabajo a ciegas es recomendable para evitar este tipo de error o bien como en el caso mencionado, fijar un tiempo de lectura y cumplido ese tiempo tomar el número, aun cuando todavía esté variando.

Control de calidad

Algunos conceptos

- ◆ Al realizar una medición aun con el mayor de los cuidados siempre existirá error.
- ◆ Los errores aleatorios pueden generar un valor mayor o menor que el real.
- ◆ Los errores sistemáticos producen un error en la medición que siempre subestima o sobrestima el valor real.
- ◆ Los errores aleatorios pueden minimizarse con buenas prácticas de trabajo, protocolos estandarizados y atención.
- ◆ Los errores sistemáticos deben ser descubiertos y corregidos. Una vez corregidos desaparecen o bien se hacen insignificantes.
- ◆ Tanto o más importante es minimizar el error, como conocer el valor de dicho error.
- ◆ Los errores aleatorios pueden estimarse por el coeficiente de variación (CV%).
- ◆ El error sistemático se evalúa utilizando el valor de las unidades de desvío estándar (UDS) de una medición de espécimen de valor conocido.

- ◆ Otros controles de calidad que se puede utilizar, dependiendo la medición, son los parámetros de las curvas de calibración, ensayos de adición - recuperación y correlaciones entre variables medidas en una misma muestra.

Coefficiente de variación

El coeficiente de variación nos da una idea de los errores aleatorios de la medición y para poder calcularlo se debe hacer cada medición por duplicado. En el proceso se obtendrán dos valores que llamaremos: x_1 y x_2 . El coeficiente de variación se calcula con la siguiente expresión

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto}(x_1 - x_2)}{\text{media}(x_1 : x_2) * 1.41} * 100$$

En general aceptamos una medición si el CV% es menor o igual al 10%, aunque puede cambiarse esta regla para algunos tipos de mediciones si la metodología lo requiere. Si el CV% de una muestra supera el 10% se debe repetir la medición.

Ejemplo:

Supongamos una medida directa de pH. Si tenemos una solución en la que queremos medir el pH debemos hacer dos mediciones de la misma solución. Así, obtendremos dos medidas

$$pH_1 = 5.40$$

$$pH_2 = 5.10$$

Con dichos valores calculamos la media, que llamaremos pHm

$$pH_m = (5.40 + 5.10) / 2 = 5.25$$

Con estos valores calculamos el coeficiente de variación con la fórmula del coeficiente de variación

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto}(pH_1 - pH_2) * 100}{(pH_m * 1.41)}$$

reemplazando los valores obtenemos

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto}(pH_1 - pH_2) * 100}{(pH_m * 1.41)} = \frac{(5.40 - 5.10) * 100}{(5.25 * 1.41)} = 4.05\%$$

para este ejemplo el CV% = 4.05%. La medición es aceptada, ya que el CV% es inferior al 10%. El valor que se informa es pH = 5.25 y si se desea se puede indicar el CV% de la medición, que en general redondeamos hacia el número entero superior. En

este caso sería 5% de error. La regla para informar el error puede variar según la técnica y el laboratorio.

Unidades de desvío estándar

Las unidades de desvío estándar (UDS) son de utilidad para detectar la presencia de errores sistemáticos y se calcula como la diferencia entre el valor de referencia de una muestra llamada quality control y el valor medido promedio surgido de la medición por duplicado, dividido por el desvío estándar de la medida del control de calidad. La fórmula siguiente expresa este cálculo

$$UDS = \frac{\text{valor medido promedio} - \text{valor del quality control}}{\text{desvío estándar del control de calidad}}$$

En general aceptamos una medición si el UDS se halla en el intervalo [-2,2], aunque dicho rango puede ser modificado con fundamentada decisión. Si el valor de UDS cae fuera del rango mencionado se debe repetir todo el lote de determinaciones y está indicando la presencia de un error sistemático, en especial si el valor de UDS se repite en nuevas mediciones.

Aclaración: a lo largo del texto se utiliza "quality control" o "QC" cuando nos referimos al reactivo que utilizamos para realizar el control de calidad. Por su parte cuando utilicemos la palabra control de calidad, nos referiremos al proceso de realizar pruebas para garantizar una correcta medición.

Ejemplo:

Deseamos medir el pH de una dada solución. Para el proceso contamos con un pHmetro y además disponemos de una solución "quality control" que tiene un valor de pH= 5 y un desvío estándar (SD)= 0.2. A la solución QC la medimos como si fuera una muestra y obtendremos dos valores

$$pH_{1QC} = 5.1$$

$$pH_{2QC} = 5.3$$

sacamos el promedio: $pH_{QC} = 5.2$

calculamos el UDS con la ecuación anterior

$$UDS = \frac{\text{valor medido} - \text{valor del QC}}{SD} = \frac{(5.2 - 5)}{0.2} = 1$$

Un UDS=1 me permite afirmar que el QC está dentro del rango esperado y por lo tanto todo el lote de mediciones es aceptado en base a este criterio. Por supuesto la aceptación final de las mediciones dependerá de todos los controles impuestos.

Ensayo de adición-recuperación

Este control se utiliza para detectar posibles interferencias en la medición, debida a algún componente de la muestra donde se realiza la medición. Básicamente el ensayo consiste en medir la variable en una muestra. Luego a dicha muestra se le agrega una

cantidad conocida de la sustancia a medir y se repite la medición de la variable. Con ambas mediciones se calcula la cantidad de la sustancia en la muestra y en la muestra más la adición. Restando el primer valor al segundo nos dará la cantidad adicionada. Si a este valor lo dividimos por el valor adicionado y lo multiplicamos por 100 obtenemos el porcentaje de recuperación (R), el que debe hallarse entre 90-110%, dependiendo las exigencias impuestas en cada técnica

Ejemplo

A continuación veremos un ejemplo sencillo en que evaluemos el CV%, la UDS y R. La medición consiste en obtener la masa de un dado cuerpo. Para ello disponemos de una balanza que es capaz de medir miligramos, un QC que en este caso consiste en una pesa calibrada cuyo peso conocemos con exactitud (1.213g, en este caso) y su desvío estándar tiene el valor 0.005g. En este caso utilizaremos este mismo QC para el ensayo de adición-recuperación.

Para realizar la medición en primer lugar se pesó el QC, por duplicado, obteniendo los siguientes valores:

$$QC1 = 1.214g$$

$$QC2 = 1.208g$$

Luego se colocó el cuerpo sobre la balanza, proceso que repetimos dos veces obteniendo los valores de masas:

$$m1 = 25.518g$$

$$m2 = 25.508g$$

y finalmente se peso el cuerpo simultáneamente con el QC, obteniéndose los siguientes valores

$$A1 = 26.730$$

$$A2 = 26.720$$

Calculo de la masa

$$m = \frac{m1 + m2}{2} = \frac{25.518 + 25.508}{2} = 25.513 g$$

Cálculo de las UDS

Se calcula en primer lugar la media del valor del QC

$$Q_c = \frac{QC1 + QC2}{2} = \frac{1.214 + 1.208}{2} = 1.211$$

Calcular UDS

$$UDS = \frac{\text{valor medido} - \text{valor del QC}}{SD} = \frac{(1.211 - 1.213)}{0.005} = -0.4$$

Cálculo del CV%

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto } (m1 - m2) * 100}{(m * 1.41)} = \frac{(25.518 - 25.508) * 100}{(25.513 * 1.41)} = 0.0277\%$$

Cálculo de la adición recuperación

Se calcula la media de la masa medida más la adición

$$A = \frac{A1 + A2}{2} = \frac{26.730 + 26.720}{2} = 26.725 \text{ g}$$

Calcular recuperación

$$R = \frac{A - m}{A} * 100 = \frac{26.725 - 25.513}{1.213} * 100 = 99.92\%$$

Expresión del resultado

La masa medida es: 25.513g

CV% = 0.0277%

UDS = -0.4

R = 99.92%

Todo indica un buen proceso de medición, con bajo error aleatorio (respaldado en un CV% menor al 10%), errores sistemáticos bajos (garantizado por un bajo valor de UDS, aunque este valor debe ser analizado en perspectiva de mediciones a lo largo del tiempo) y una recuperación dentro del rango adecuado.

Algunas conclusiones sobre los procesos de medición y sus errores. Los errores de medición pueden conducir a mayor trabajo porque puede ocurrir que tenga que repetir todas las determinaciones. Recuerde, si algo le salió mal y trata de arreglar los resultados u ocultar el error:

- ◆ tarde o temprano alguien se dará cuenta.
- ◆ más temprano que tarde verá que tiene que medirlo nuevamente para arribar a conclusiones valederas. Puede ocurrir que ya las muestras hayan sido descartadas.
- ◆ Si el CV% o el UDS le indican que debe realizar nuevamente la medición de una muestra o toda la tanda de determinaciones, acéptelo.
- ◆ Antes de repetir la medición de una muestra o toda la tanda de determinaciones, discuta el tema con sus colegas y en lo posible con su director.

Ejercicios:

⁹⁾ Se realizó la medición de la concentración de glucosa en dos muestras y un QC, sus valores medidos y el CV% fueron:

muestra 1, glucosa = 1.1g/l, CV% = 4.5

muestra 2, glucosa = 1.8g/l, CV% = 17%

9 Se acepta el valor del lote de medición ya que UDS está en el rango [-2,2], pero se debe repetir la medición de la muestra 2 ya que el CV% es mayor al 10%

UDS= -1

¿Se aceptan las mediciones? ¿Se repite una o las dos?

¹⁰⁾ Se midieron dos muestras siguiendo los protocolos habituales. Los valores obtenidos luego de hacer los cálculos fueron:

muestra 1, glucosa= 1.1g/l, CV%= 4.5

muestra 2, glucosa= 1.8g/l, CV%= 0.17%

UDS= -3

¿Se aceptan las mediciones? ¿Se repite una o las dos?

Errores por exceso y defecto

Ya sabemos que al realizar una medición cometemos errores que pueden ser aleatorios y sistemáticos. Los errores aleatorios pueden dar valores mayores o menores que el real y la magnitud de este error la podemos estimar con CV%. Si bien el CV% no controla el error, el análisis de las curvas de CV% nos irá dando pauta si las modificaciones de nuestro comportamiento y habilidades contribuyen a disminuir dicho error. Por ello es necesario que cada operador lleve una tabla de CV% de los QC que utiliza y en la misma gráfica escriba los cambios introducidos o la percepción de ellos que tiene.

Los errores sistemáticos, introducidos por el operador y la metodología utilizada producen habitualmente errores en un mismo sentido. La identificación de estos errores se realiza por los valores de UDS. La ausencia de errores sistemáticos importantes se demuestra a través de valores de UDS que varían alrededor de cero, oscilando entre valores positivos y negativos que no excedan el rango [-2,2]. Los errores sistemáticos se pueden dividir en errores por exceso (cuando dan un valor mayor que lo real y el UDS es positivo) y por defecto (cuando dan un valor menor a lo real y el UDS toma persistentemente valores negativos)

Ejemplos

◆ Si una pipeta automática tiene un volumen nominal es 10µl, pero al utilizarla coloca 9µl, estaremos cometiendo un error sistemático por defecto.

◆ Si su reloj marca 367 segundos para una determinado evento que dura 365, estará cometiendo un error por exceso.

◆ Si una balanza electrónica, al prenderla mide el valor 0.2g y no la calibramos colocándola a cero, los valores que midamos tendrán 0.2g más que lo real, cometiendo así un error por exceso.

Es importante conocer que un error aleatorio puede conducir a un error sistemático, por exceso o por defecto. Cada vez que realizamos una medición estamos afectados por lo errores aleatorios (que como vimos pueden ser por encima o por debajo del valor real). Supongamos que pesamos una determinada masa de una sustancia para preparar un estándar para una curva de calibración. Si a la hora de pesar, el error aleatorio nos produjo un valor menor, cuando preparemos la solución, este estándar tendrá en realidad menos concentración. Si utilizamos esta solución para hallar la concentración

10 Se rechaza todo el lote ya que el valor de UDS no está en el rango [-2,2].

de una muestra, como la solución estándar tiene asignado un valor que es mayor que el real la medición nos dará un error por exceso.

Advertencia: note que un error por defecto en la pesada, es decir la cantidad de masa colocada es menor que lo que la balanza midió nos dará un error por exceso en las mediciones cuando la utilicemos como testigo.

Veamos otro ejemplo que quizás sirva para aclarar. Supongamos que queremos controlar la duración de algún evento, por ejemplo un partido de fútbol que estamos mirando por TV. La medición la haremos con un reloj. Supongamos que dicho reloj "adelanta", es decir cuando realmente han pasado 15 minutos, el reloj nos dirá que pasaron 16 (por ejemplo). Si controlo el primer tiempo con dicho reloj, y no hubo tiempo adicional, cuanto duró este primer tiempo?. Para todo el mundo duró 45 minutos, pero cuanto duró para nosotros? Habrá durado 48 minutos. Es decir que con este reloj si medimos la duración de un tiempo de fútbol, en esta medición cometimos un error por exceso, es decir medimos algo más prolongado que lo real.

Ahora si con este mismo reloj por ejemplo cargo agua en un bidón a través de una canilla que emite un litro por minuto. La carga del bidón la hago controlando exactamente 16 minutos, cuantos litros tendrá el bidón? Si la canilla emite 1litro/minuto, teóricamente el bidón debería tener 16 litros, pero en realidad, cuando mi reloj dice que pasaron 16 minutos en la realidad pasaron 15min y por lo tanto el bidón tendrá 15 litros, cuando yo creo que tiene 16 litros.

Conclusiones:

- ◆ Un instrumento que tenga un error por exceso puede producir errores por exceso o por defecto en otras magnitudes.
- ◆ Los errores aleatorios pueden conducirme a errores sistemáticos, por exceso o defecto, que luego incidirán sobre otras mediciones de manera de producir errores sistemáticos que podrán ser por exceso o defecto y así sucesivamente.
- ◆ Los errores aleatorios tienen mayor impacto cuando la medición es utilizada para una medición posterior. Por ejemplo como dijimos: pesar algo para luego utilizarlo como testigo o QC de una determinación.

Dado que los errores que afectan una medición son numerosos, los errores sistemáticos pueden sumarse o en algunos casos restarse y hasta anularse. Aquí es donde juega la suerte del laboratorista. Veamos.

Supongamos que queremos preparar una solución estándar de 2000ppm es decir 2000mg/l. Para preparar una solución utilizaremos una balanza para pesar los 2000mg y algún elemento volumétrico para medir el volumen de 1litro

Posibilidad 1: la balanza comete un error por defecto del 5%, es decir cuando me marque 2000mg, en realidad ha pesado 1900mg. Por otra parte si utilicé un probeta que tiene un error por defecto del 5%, es decir cuando creo que coloqué 1000ml (1l), en realidad he colocado 950ml. Por lo tanto cuanto vale la concentración real? $1900\text{mg}/0.950\text{l} = 2000\text{ppm}$

El error por defecto de un instrumento, fue compensado por el error por defecto del otro. Pero veamos otra posibilidad. No siempre tendremos la suerte del laboratorista anterior.

Posibilidad 2: la balanza comete un error por defecto del 5 %, es decir cuando me marque 2000mg, en realidad ha pesado 1900mg. Por otra parte si utilicé un probeta que tiene un error por exceso del 5%, es decir cuando creo que coloqué 1000ml, en realidad he colocado 1050ml. Por lo tanto cuanto vale la concentración real? $1900\text{mg} / 1.05\text{l} = 1809\text{ppm}$. La concentración real de la solución es menor que lo que creo. Pero, ¿Cuál es la concentración que utilizará el operador?. Obviamente, 2000ppm.

Cuando mida una concentración desconocida utilizando este estándar todo me dará más grande que lo real, es decir cometeré siempre errores sistemáticos por exceso. Informaré siempre valores más grandes que los reales.

Ejercicio

¹¹⁾ Suponga que las soluciones estándar no tienen error o bien se han compensado y que los errores aleatorios son mínimos, pero el QC ha sido preparado de manera que el valor medio calculado en base a mediciones es más grande que lo que realmente tiene. Los valores de UDS obtenidos serán positivos o negativos?

Recuerde que muchas veces (y afortunadamente) los errores por exceso y defecto son menores que los aleatorios y por ello no nos afectan demasiado en nuestro trabajo. Pero, como hacemos para que ellos sean pequeños? Pues bien, fácil. Teniendo instrumentos bien calibrados, controlando periódicamente su uso y estando alerta a la hora de medir.

Cuales son los principales momentos en que se pueden originar estos errores?

- ◆ Preparación de las soluciones para una curva de calibración.
- ◆ Preparación de una solución QC.
- ◆ Cambio de un instrumento de medición.

Es recomendable no cambiar todo a la vez.

Propagación de errores

Conocemos que toda medición está asociada a errores y que estos errores pueden minimizarse con buenas prácticas de trabajo. Muchos de los errores aleatorios dependen de nuestra habilidad en el trabajo y otros dependen de las condiciones de experimentación. Aun cuando no podamos controlarlos los errores introducidos por variables ambientales, estacionales o experimentales pueden evaluarse a través de ensayos estadísticos que los involucren en el estudio.

Por ejemplo si prevemos que los resultados de nuestro experimento puede ser influenciados por la estación del año, la temperatura ambiente, el lote de agua destilada, el lote de reactivos utilizados, la camada de animales, etc., estas variables pueden incluirse como variables del experimento y realizarse un análisis de la variancia

11 positivo

que nos permitirá evaluar si realmente es correcto nuestro presentimiento. Veremos el análisis mencionados en capítulos posteriores

El conocimiento del error siempre es importante, siendo clave tenerlo en cuenta para evaluar la magnitud del efecto de nuestros tratamientos. Por ejemplo si la medición de una variable tiene un CV% de 8%, podría ser considerada una buena medición, según criterios estándar manejados en nuestro laboratorio. Sin embargo, si la modificación en un 4% de la variable en un individuo determina un cambio biológico importante, es claro que no podremos considerar 8% como aceptable.

Por ejemplo si realizamos una medición de la concentración de insulina en sangre de dos grupos de ratas, dicha medición tendrá un error aleatorio y sistemático que estimaremos con los valores de CV% y UDS. Si esos valores son utilizados para realizar un análisis e inferir sobre alguna hipótesis, terminando allí nuestro experimento y conclusiones, el error no sufrirá propagación.

Pero, si el valor de insulinemia medida se utiliza para calcular el índice HOMA, que resulta de multiplicar el valor de la insulinemia por el de la glucemia y por una constante, el error de la insulina y el de la glucemia influirán sobre el valor del índice mencionado.

Es decir que cuando se realizan operaciones con valores medidos, los errores de la medición realizada se propagarán a los resultados, afectando a estos en algunos casos de manera dramática.

¿Cómo se propagan los errores?

La propagación de errores puede calcularse conociendo los errores absolutos o los relativos de la medición directa. Si la medición indirecta resulta de la suma o resta de las mediciones directas, el error absoluto de la medición se calcula como la suma de los errores absolutos de cada medición.

Supongamos que medimos de manera directa una variable "a" y otra "b", cada una con su error absoluto: EAa y EAb y con ellas calculamos una variable c, con la siguiente fórmula

$$c = a + b$$

El error absoluto de la medición de "c" se calcula con la fórmula

$$EA_c = EA_a + EA_b$$

lo mismo ocurriría si las mediciones de a y b se utilizarán en una resta

$$c = a - b$$

el error absoluto de la medición indirecta de la variable "d", sería la suma de los errores.

$$EA_d = EA_a + EA_b$$

Si la medición indirecta resulta de producto o cociente de las mediciones directas, el error relativo de la medición se calcula como la suma de los errores relativos de cada medición.

Supongamos que medimos de manera directa una variable "a" y otra "b", cada una con su error absoluto EA_a y EA_b , que nos permite calcular sus errores relativos ER_a y ER_b . Luego con los valores de a y b calculamos una variable indirecta "c"

$$c = a * b$$

El error relativo de c se calcula con la fórmula

$$ER\%c = ER\%a + ER\%b$$

lo mismo ocurriría si las mediciones de a y b se utilizarán en un cociente

$$d = a / b$$

el error relativo de la medición indirecta sería la suma de los errores relativos .

$$ER\%c = ER\%a + ER\%b$$

Ejemplos

- Supongamos que se pesa un recipiente con una balanza cuya apreciación o error absoluto es 1g, siendo el valor obtenido: 95g. En ese recipiente se coloca luego una sustancia y se pesa nuevamente el recipiente pero ahora con una balanza cuya apreciación es 0.1g, ya que la cantidad colocada es muy pequeña, obteniéndose un valor de 95.4g. ¿Cuántos gramos hemos agregado de la sustancia?

El cálculo parece sencillo, solo tendría que restar el último menos el primer valor de pesada

$$\text{cantidad de sustancia} = 95.4 - 95g = 0.4g$$

que error cometimos

Los errores absolutos de las mediciones fueron 1g para la pesada del contenedor y 0.1g para el contenedor más la sustancia.

El error de los 0.4g medidos se propaga como suma de errores ya que el cálculo resultó de una resta de las dos mediciones.

$$\text{error absoluto} = 1 + 0.1 = 1.1g$$

Qué error relativo estamos cometiendo entonces

$$ER\% = 1.1 * 100 / 0.4g = 275\%$$

Si los errores de laboratorio los estimamos por el CV% y aceptamos aquellos menores al 10%, evidentemente estamos muy lejos de una buena medición.

¿Cómo corregiría rápidamente este error?

MEDICIONES Y ERRORES

- Supongamos que se preparó una solución con el objetivo que su concentración fuera 10g/l, para ello pesamos 1g con una balanza de apreciación 0.0001g y utilizamos un probeta de 100ml con un error absoluto de 5ml. ¿Qué error relativo y absoluto cometemos en el valor de la concentración de la solución?

Calculemos!

La concentración surge de dividir la masa por el volumen, como indica la fórmula siguiente.

concentración = masas de soluto en g/ volumen solución en l

para nuestro ejemplo el cálculo numérico sería

$$\text{concentración} = 1\text{g}/0.1\text{l} = 10\text{g/l}$$

Tal cual lo deseamos. Ahora que error tenemos en este valor?

Como la concentración es el cociente de las mediciones, el error relativo en la concentración será la suma de los errores relativos de las mediciones

$$ER \% \text{concentración} = ER \% \text{gramos} + ER \% \text{litros}$$

expresando los errores relativos

$$\frac{(EA \text{ concentración} * 100)}{\text{concentración}} = \frac{(EA \text{ gramos} * 100)}{\text{gramos}} + \frac{(EA \text{ volumen} * 100)}{\text{volumen}}$$

el error relativo sería

$$ER \% \text{concentración} = \frac{0.0001 * 100}{1} + \frac{0.005 * 100}{0.1} = 5.01 \%$$

podemos ver ahora el error absoluto de la medición. Volviendo a la ecuación

$$\frac{(EA \text{ concentración} * 100)}{\text{concentración}} = \frac{(EA \text{ gramos} * 100)}{\text{gramos}} + \frac{(EA \text{ volumen} * 100)}{\text{volumen}}$$

como 100 multiplica a todos los términos podemos suprimirlos

$$\frac{EA \text{ concentración}}{\text{concentración}} = \frac{EA \text{ gramos}}{\text{gramos}} + \frac{EA \text{ volumen}}{\text{volumen}}$$

reemplazando los valores

$$\frac{EA \text{ concentración}}{10} = \frac{0.0001}{1} + \frac{0.005}{0.1}$$

podemos calcular el error absoluto de la concentración

$$EA_{concentración} = \left[\frac{0.0001}{1} + \frac{0.005}{0.1} \right] * 10 = 0.501$$

El error absoluto de la concentración es 0.501. En general se expresan con una sola cifra significativa e informando un valor mayor que el calculado. Por ejemplo, en este caso podríamos decir que el error absoluto de la concentración es 1g/l.

Expresión del resultado

Cuando tenemos magnitudes derivadas, el resultado se debe expresar teniendo en cuenta el error absoluto de la medición.

Ejemplo

En un recipiente colocamos 2.31g (que fueron medidos con una balanza de apreciación 0.01g). Luego agregamos 0.822g de otra sustancia (la balanza utilizada tiene una apreciación de 0.001g) y finalmente se agregaron 5.5 g, pesados con una balanza de apreciación 0.1g.

La masa total es: $2.31 + 0.822 + 5.5 = 8.632$

El error absoluto será la suma de los errores: $0.01 + 0.001 + 0.1 = 0.111$

Siempre el error absoluto se expresa con una sola cifra significativa y se incrementa por encima del valor obtenido a la unidad o 5. En este caso podríamos decir que el EA=0.5. Como el error absoluto tiene una sola cifra significativa, el resultado lo expresaremos como

masa total: 8.6.

No tiene sentido colocar más decimales, cuando el error está en el primer decimal.

Veamos otro ejemplo. Usted desea calcular la concentración de glucosa en una solución, para ello realiza una curva de calibración obteniendo los siguientes resultados

concentración estándares, g/l	absorbancia
0	0
1	110
2	195
3	315

utilizando el software R, se realiza la curva de calibración y se obtiene (los cálculos y códigos siguientes se incluyen para quienes tengan interés en la utilización de R)

datos ingresado

```
> a (datos)
```

```
  x y
```

```
1 0 0
```

```
2 1 110
```

```
3 2 195
```

```
4 3 315
```

realizamos una regresión lineal entre los valores de x e y

```

> abs<-lm(y~x,data=a)
pedimos un detalle de este análisis
> summary(abs)
Call:
lm(formula = y ~ x, data = a)
Residuals:
 1  2  3  4
-0.5  6.5 -11.5  5.5
Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  0.500     8.470   0.059  0.95830
x           103.000     4.528  22.749  0.00193 **
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
Residual standard error: 10.12 on 2 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9962,    Adjusted R-squared:  0.9942
F-statistic: 517.5 on 1 and 2 DF, p-value: 0.001927
    
```

De las tablas anteriores utilizaremos a continuación algunos valores: la pendiente de la recta: 103, cuyo error absoluto es 4.528

Supongamos que midió la absorbancia de una muestra que le dio los valores 203 y 213, al realizarla por duplicado. Tomamos el valor promedio de la medición de absorbancia, que sería 208 y consideramos que el error absoluto es 1, que se desprende del valor de las mediciones realizadas.

¿Cuál es el valor de concentración de glucosa y el error absoluto y relativo?

El valor de concentración surge del siguiente cálculo, que profundizará en capítulos siguientes

concentración = absorbancia muestra/pendiente de la recta = 208/103 = 2.02g/l

El error relativo sería

E% concentración = E% absorbancia + E% pendiente

E% concentración = 1*100/208 + 4.528*100/103 = 4.88%

El error absoluto en la concentración será por lo tanto

EA = ER * valor medido/100 = 4.88 * 2.02/100= 0.0985

que redondeamos a 0.1

Por lo tanto el resultado de la concentración de glucosa será: 2.0g/l, teniendo en cuenta las cifras significativas del EA.

Ejercicios

¹²⁾ Si en un recipiente se colocan 5ml con una pipeta automática cuya apreciación es 0.05ml, 270µl con una micropipeta que mide 100-1000 con apreciación 10µl y 24ml con una pipeta y propipeta con apreciación 0.5ml. ¿Cuál es el volumen final y cuál es el error absoluto y relativo de la medición?

12 29ml EA: 1ml

DetECCIÓN DE EQUIVOCACIONES

Las determinaciones de laboratorio pueden estar asociadas a

◆ Errores: sistemáticos y aleatorios, que ya hemos analizado y como ya sabemos, los errores aleatorios podemos medirlos a través del coeficiente de variación. Por su parte los errores sistemáticos lo podemos controlar con la medida de una solución o muestra "QC" cuya concentración conocemos. Con el valor medido de ésta se calculan las unidades de desvío estándar (UDS). Este valor aceptamos que es bueno si está en el intervalo $[-2,2]$ y oscila aleatoriamente su valor alrededor del cero.

◆ Equivocaciones: Las equivocaciones por su parte son las más difíciles de detectar. En primer lugar definamos qué es una equivocación. Consideramos una equivocación cuando hay una mala maniobra del investigador en sus procedimientos, uso de instrumento, cálculos o análisis.

Ejemplos:

- El medir pH el electrodo debe estar sumergido hasta cierta profundidad en la solución, si no lo hacemos la medida será errónea, pero no podemos endilgar este error al azar o a algo sistemático, fue nuestra desatención o falta de conocimiento.
- Tengo que hacer una curva de calibración, la hago correctamente en cuanto a la medición, pero cuando cargo los valores, en la tabla me equivoco en la concentración de los testigos utilizados, utilizando números que no son los correspondientes.
- Tengo 10 muestras a las que rotulé mal de manera que el rótulo utilizado no tiene una correspondencia unívoca con las muestras. Las mido, pero luego no sabré a qué muestra asignarle el valor. Peor, si lo asigno, estaré dando un valor de medición a una muestra que no corresponde.

Si en todos estos casos me di cuenta, perfecto! Repito todo y desaparece la equivocación.

Ahora bien, como se detectan las equivocaciones?

Lamentablemente no existe método eficiente ni seguro para detectar las equivocaciones, más allá de la atención del investigador y su supervisor. Muchas veces pueden pasar desapercibidos aun al ojo del mejor observador.

Entre investigador y supervisor existe una razón confianza/desconfianza (C/D), generada por el trabajo conjunto. Un investigador gana o pierde la confianza del supervisor en función de su trabajo cotidiano. Muchas veces el investigador puede sentirse molesto si su supervisor le dice "muéstrame como calculó los valores", pensando que ya no le tienen confianza o dudan de su habilidad. Cada uno de estos episodios, si pasan sin error aumentan la relación C/D, lo que conduce a que el supervisor cada vez supervise menos. Quienes conocen esto, tratan de mantener la supervisión, sin perder la confianza en el investigador, pero puede conducir a cansancio y desgaste de la relación.

Los seminarios, donde el investigador debe presentar sus resultados y la forma que los obtuvo es una mecanismo menos desgastante y además está a la vista de más personas.

Sin embargo, en esta instancia pueden saltar algunos errores, pero no otros como los mencionados por uso de un electrodo, rótulo de muestras, etc.

No parece haber otra solución que la discusión continua de resultados de experimentos "desde el cuaderno hasta la presentación en pantalla de proyección"

Algunos consejos para evitar equivocaciones:

- ◆ Si no conoce como pasar de unidades, realizar operaciones matemáticas básicas o la equivalencia entre diferentes unidades, no haga cálculos, solo anote números e indique de donde salieron los mismos. Si no está 100% seguro de qué es lo que mide un instrumento, no lo use. Si no le interesa lo que está haciendo, no lo haga.

- ◆ Anotar en el cuaderno los detalles del experimento a medida que se toman los datos. Por ejemplo, tomé la temperatura ambiente y anótela en el momento.

- ◆ Si construye una curva de calibración, copie las concentraciones de los contenedores de las muestras.

- ◆ Mostrar los resultados obtenidos y el contenido del cuaderno de bitácora lo antes posible al supervisor o superior en la línea de investigación.

- ◆ Leer protocolos, prestando atención a volúmenes, temperaturas, y demás condiciones.

- ◆ Tener claro en la mente el protocolo a utilizar y aun así leer del mismo.

- ◆ Comparar resultados de cada repetición de medición, a través de pendientes de curvas de calibración, valores de pH, voltaje, volúmenes y cualquier medición que le haya dado. Si no coincide o es cercano, cuando debería serlo, discuta con su superior el tema.

- ◆ Llevar curvas de CV% y UDS por investigador para cada determinación, observar periódicamente dichas curvas en la detección de cambios. Discuta las curvas con su superior.

- ◆ Si no es consciente que lo que está haciendo es importante para la humanidad, la ciencia, el laboratorio o usted, no lo haga. Siempre habrá otro con más entusiasmo y cuidado que usted esperando un sitio en el laboratorio.

- ◆ Si nota que su superior le tiene mucha confianza, piense que es usted el que tiene más riesgo que una equivocación tarde más tiempo en descubrirse. Además, si tarda más tiempo en descubrirse, el daño de la misma será mayor. También será mayor su vergüenza si la equivocación fue grosera.

- ◆ Insístale a su superior que mire los resultados. Hágale usted preguntas como:

¿Le parece que los testigos utilizados fueron adecuados?

¿Le parece adecuado el valor de R² de la curva de calibración?

¿Me revisa la ecuación introducida para hacer el cálculo en la planilla?

Me resultan sospechosos los valores de CV% ya que no siguen el comportamiento de mi curva de CV% ¿Por qué no revisamos juntos la planilla?

- ◆ Si su superior no accede a dicho control, siga insistiendo. Si continua el desinterés pueden ocurrir varias cosas:

Le tiene demasiada confianza. Recuerde que es lo peor.

No tiene interés en sus resultados. Dedíquese a otra cosa o busque otro superior

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Chulibert ME

¿Qué es la estadística?

La estadística es una ciencia con base matemática que se encarga de la recolección, análisis e interpretación de datos.

La palabra “estadística” procede del vocablo “Estado”, pues era función principal de los Gobiernos de los Estados establecer registros de población, nacimiento, defunciones, impuestos, cosechas. Su aporte primordial era la cuantificación y hasta la actualidad la Estadística constituye una herramienta del Estado para contar al pueblo.

Los datos se obtienen a partir de unidades experimentales, es decir el objeto de estudio, las mismas pueden ser por ejemplo en el laboratorio un grupo de ratas, seres humanos, tubos con alguna reacción química, muestras de leche, entre otras. Todas las unidades experimentales que comparten una o más características en común reciben el nombre de población. Mientras que el conjunto de unidades experimentales que seleccionamos para realizar nuestro experimento se conoce como muestra, y en base a esa muestra sacaremos las conclusiones respecto de la población que estamos estudiando.

Por otro lado, es de esperar que en la población las características asuman valores distintos (*variabilidad*) y desconocidos (*incertidumbre*), por lo que se las denomina variables. Las variables pueden manifestarse mediante atributos o cualidades, o mediante valores numéricos, por lo cual se las denomina variables cualitativas y variables cuantitativas, respectivamente.

Una vez recolectados los *datos* que expresan comportamientos de variables en una población determinada se puede comenzar con su análisis. Para obtener una visión de ese conjunto y con el fin de describir apropiadamente las diversas características del mismo son útiles las herramientas de la estadística descriptiva, que permite organizar los datos en gráficos o en medidas que los resuman. Las variables cualitativas se establecen utilizando proporciones, razones y tasas, mientras que para las variables cuantitativas se emplean medidas de resumen, ya sean de posición o de dispersión. Una vez que esos datos han pasado por la estadística descriptiva, fueron analizados e interpretados, dejan de ser meramente datos, para transformarse en *información*. Si dicho trabajo se repite durante un período de tiempo constituye un *registro*.

Dentro de las medidas de posición central, o también denominadas de tendencia central encontramos: media o promedio, mediana, moda o modo, y pudiendo no ser centrales siempre encontramos a los cuartiles y los percentiles, que nos dan un valor que se puede tomar como representativo de todos los datos. Mientras que las medidas de dispersión por su parte, cuantifican la separación, la dispersión y la variabilidad de los valores de la distribución respecto al valor central, las mismas son: rango, desvío estándar y varianza. Los percentiles y cuartiles son también indicadores de dispersión de los datos.

Medidas de resumen, posición y tendencia central

Media

La media, también conocida como media aritmética es el promedio de las observaciones, es decir, el cociente entre la suma de todos los datos y el número de ellos. Es la más utilizada, principalmente en distribuciones normales – simétricas. Carece de significado para variables nominales u ordinales. Su principal desventaja es que resulta sensible a cada una de las observaciones. La fórmula para su cálculo se indica en la siguiente ecuación

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

Ejemplo

Iremos ejemplificando cada medida de resumen. Supongamos que hemos medido en nueve individuos el peso corporal, que mostramos en la tabla siguiente

Individuo	peso corporal en kg
1	50
2	75
3	85
4	120
5	58
6	60
7	75
8	60
9	71

Para calcular la media sumamos todos los valores de los pesos y lo dividimos por 9

$$\bar{x} = \frac{50+75+85+120+58+60+75+60+71}{9} = 72.7 \text{ kg}$$

Podríamos decir que en promedio la muestra tiene un peso de 72.7 kg, lo que indica que hay individuos que pesan más y otros menos que ese valor. Bajo ciertas condiciones, este valor sería central a los valores individuales.

Mediana

La mediana es el valor de la variable que ocupa la posición central una vez que los datos han sido ordenados de menor a mayor. De tal forma que el 50% de estos son menores que la mediana y el 50% restante son mayores. Si el número de datos es impar la mediana será el valor central. En cambio si el número de datos es par tomaremos como mediana el promedio de los dos valores centrales. Esta medida divide al grupo de datos en 2 partes iguales y no es sensible al valor de cada medición, sino que se la llama “robusta”, al no influenciarse por datos atípicos, alejados de los valores habituales medidos en una muestra de la población en estudio.

Ejemplo

Utilicemos los mismos datos que ordenamos de menor a mayor peso

Individuo	peso corporal en kg
1	50
5	58
8	60
6	60
9	71
7	75
2	75
3	85
4	120

El individuo número 9 con un peso de 71kg es el valor de la mediana de esta muestra. Cuatro individuos tienen menor y otros cuatro individuos tienen mayor peso que el valor de la mediana. También podemos interpretar el valor de la mediana con un valor, en este caso del peso corporal, por debajo del cual existen la mitad de los individuos y la otra mitad tiene peso mayor a dicho valor.

Moda o Modo

La moda es el valor de la variable que más veces se repite, puede no ser único, por lo que en este caso estaríamos frente a una población bimodal o multimodal. Es donde se concentra la mayor frecuencia de un conjunto de valores y es útil para variables cualitativas. Es más fácil de observar si los datos se ordenan ya sea en forma creciente o decreciente.

Ejemplo

En la muestra que estamos analizando tenemos un caso bimodal, vemos que el valor de peso 60 y 75 aparecen dos veces

Individuo	peso corporal en kg
1	50
5	58
8	60
6	60
9	71
7	75
2	75
3	85
4	120

Cuartilos

Los cuartiles son los tres valores de la variable que dividen a un conjunto de datos ordenados crecientemente en cuatro partes iguales. Q1, Q2 y Q3 determinan los valores correspondientes al 25%, al 50% y al 75% de los datos, respectivamente. Q2 coincide con la mediana. El cuartilo Q1 o 25% es el valor de la variable que deja el 25% de los valores por debajo de él y el 75% por encima.

Ejemplo

Hemos medido el peso corporal en 350 alumnos de una escuela y luego calculamos los cuartiles, siendo los valores Q1: 48kg, Q2: 60kg y Q3: 71kg. ¿Qué indican estos valores?

El valor de Q1: 48kg, nos indica que el 25% de los alumnos pesan menos de 48kg o bien el 75% pesa más de 48kg. De la misma manera interpretamos Q3: 71kg. El 75% de los alumnos pesan menos de 71kg.

Percentilos

Los percentilos son valores de la variable medida en una muestra que separan las unidades experimentales según su valor. Por ejemplo el percentilo 50 es un valor de la variable tal que en la muestra en estudio el 50% de las unidades experimentales tiene mayor valor de la variable y el otro 50% tiene el valor menor que el del percentilo. Se localizan con la siguiente fórmula: $L*(N/100)$

L = frecuencia absoluta acumulada.

N = número del percentil que debemos hallar.

De esta manera veremos que el primer cuartil coincide con el percentil 25, el segundo cuartil con el percentil 50 y el tercer cuartil con el percentil 75.

Medidas de dispersión

Rango

El rango de una muestra de datos es un par de datos que tiene como primer valor el menor valor de la muestra y como segundo valor el mayor valor de la muestra. Calculando la diferencia entre la menor y la mayor de las observaciones de 2 poblaciones puedo determinar cual posee mayor o menor dispersión de sus datos.

Ejemplo

Retomamos el análisis de la tabla con los pesos de los nueve individuos que utilizamos ordenados de menor a mayor

Individuo	peso corporal en kg
1	50
5	58
8	60
6	60
9	71
7	75
2	75
3	85
4	120

El rango en este caso se expresa [50,120], siendo 50 el menor valor y 120 el mayor.

Por otro lado podemos calcular el rango intercuartílico o rango intercuartil que se define como la diferencia entre el tercer cuartil (Q3) y el primer cuartil (Q1), es decir:

$$RQ = Q3 - Q1$$

Ejemplo

Para el caso de los 350 alumnos de una escuela cuyos cuartilos son Q1: 48kg, Q2: 60kg y Q3: 71kg. El RQ es

$$RQ = 71 - 48 = 23$$

Cuanto más grande es el RQ, más dispersos se hallan los valores medidos de la variable.

Variancia

La variancia de una muestra indica cuanto se alejan los valores medidos respecto de la media y se calcula de la siguiente manera: a cada uno de los valores se le resta la media, luego el resultado se eleva al cuadrado, se suman los resultados y se divide por la cantidad de datos menos 1.

$$\sigma^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Ejemplo

Retomamos los datos utilizados cuya media habíamos calculado en el valor 72.7

Individuo	peso corporal en kg
1	50
2	75
3	85
4	120
5	58
6	60
7	75
8	60
9	71

$$\sigma^2 = \frac{(50-72.7)^2 + (75-72.7)^2 + (85-72.7)^2 + (120-72.7)^2 + (58-72.7)^2 + (60-72.7)^2 + (75-72.7)^2 + (60-72.7)^2 + (71-72.7)^2}{8} = 432$$

la variancia toma el valor 432. Si otra muestra tuviera una variancia mayor nos indicaría que estaríamos frente a un grupo de datos que tiene pesos más diferentes que la muestra en cuestión.

Desvío estándar

El desvío estándar se calcula obteniendo la raíz cuadrada positiva de la variancia. El mismo se calcula utilizando una fórmula que se halla incluida en cualquier planilla de cálculo. El desvío estándar informa sobre la dispersión de los datos respecto al valor de la media, cuanto mayor sea su valor, mas dispersos estarán los datos. El desvío estándar tiene la ventaja sobre la varianza que tiene las mismas unidades que la variable y nos indica en promedio cuanto se alejan los valores de la media.

Ejemplo:

para el caso anterior que la varianza tuvo el valor 432kg², el desvío estándar sería la raíz cuadrada de este número, es decir 20.78kg.

Funciones para el cálculo de estadísticas descriptivas

Para calcular las estadísticas antes mencionadas es común utilizar funciones que vienen incluidas en las planillas de cálculos. Para el caso de la planilla Calc de libreOffice las funciones son las siguientes:

media = AVERAGE(...)
 desvío estándar = STDEV(...)
 mediana = MEDIAN(...)
 percentilo 25 o 1er cuartil = QUARTILE(...,1)
 rango = [MAX(), MIN()]

Los puntos entre paréntesis hacen referencia a las celdas de la planilla de cálculo.

Para el cálculo con R se utilizan las siguientes funciones:

mean(...), para calcular la media de una muestra.

sd(...), para calcular el desvío estándar de una muestra.

median(...), para calcular la mediana.

quantile(..., probs=.....), para calcular un percentilo en particular.

range(...), para calcular el rango de los datos, es decir el mayor y el menor valor de una variable en una muestra.

Los puntos entre paréntesis de cada función indican el nombre de la tabla y la columna que deseamos calcular. Por ejemplo: tabla1\$medicion.

Gráficos y tablas

La estadística descriptiva permite representar las características principales de un conjunto de datos a través de tablas, gráficos y medidas de resumen, a continuación se muestran algunos de ellos.

Tabla de frecuencia

A partir de un conjunto de datos es posible construir una tabla de distribución de frecuencias, seguidamente veremos los diferentes pasos para la construcción de la misma.

- ◆ En la primera columna se ordenan de menor a mayor los diferentes valores que tiene la variable en una muestra determinada.
- ◆ En la segunda columna se determina la frecuencia absoluta para cada valor, es decir el número de veces que dicho valor se encuentra en el conjunto de datos.
- ◆ En la tercera columna se calcula la frecuencia absoluta acumulada que es la suma de todas las frecuencias absolutas de los valores de la variable analizada.
- ◆ La cuarta columna contiene la *frecuencia relativa* que se define como el cociente entre la frecuencia absoluta de un valor determinado y el número total de datos. La misma puede expresarse de manera porcentual, para lo cual se debe multiplicar la frecuencia relativa por 100 y así obtener el porcentaje correspondiente. La suma de las frecuencias relativas expresadas en decimales es igual a 1.
- ◆ Finalmente en la quinta columna se calcula la frecuencia relativa acumulada que es la suma de las frecuencias relativas expresadas en porcentaje. La suma de todas las frecuencias relativas acumuladas es igual al 100%.

Considerando por ejemplo datos correspondientes al peso de recién nacidos de 38 semanas de gestación calcularemos todas las frecuencias para finalmente construir una tabla de distribución de frecuencias.

peso en g	frecuencia absoluta	frecuencia absoluta acumulada	frecuencia relativa	frecuencia relativa (%)	frecuencia relativa acumulada
-----------	---------------------	-------------------------------	---------------------	-------------------------	-------------------------------

2000-2250	1	1	0.01	1	1
2251-2500	12	13	0.11	11	12
2501-2750	23	36	0.21	21	33
2751-3000	40	76	0.36	36	69
3001-3250	15	91	0.14	14	83
3251-3500	13	104	0.12	12	95
3501-3750	5	109	0.05	5	100
3750-4000	1	110	0.01	1	101

Histograma

El histograma es una representación gráfica de una variable en forma de barras, para su construcción se traza un eje horizontal donde se representan los valores de la variable y un eje vertical en el que se representa una medida de frecuencia (frecuencia absoluta, frecuencia relativa o frecuencia relativa porcentual). Este tipo de gráfico sirve para obtener una primera vista general de la distribución de la muestra, respecto a una variable cuantitativa y continua, como puede ser el peso, la longitud, entre otras. De esta manera permite observar una tendencia por parte de la muestra por ubicarse hacia una determinada región de valores dentro del espectro de posibles valores que pueda adquirir la variable. Así podemos observar el grado de homogeneidad o por el contrario evidenciar el grado de variabilidad o dispersión de todos los valores de la variable de la muestra. El propósito de un histograma es mostrar la forma de la distribución de los datos.

En la siguiente representación gráfica podemos observar el histograma de los datos presentados anteriormente. Como se puede observar el peso de los recién nacidos que más se presenta es el valor comprendido entre 2750 y 3000g.

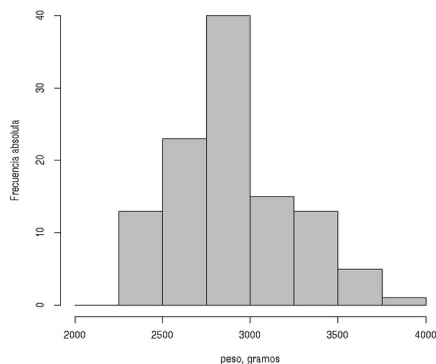


Figura 1. Histograma representando las frecuencias absolutas de la tabla anterior.

Box-plot

El box-plot o gráfico de caja está compuesto por un rectángulo (la caja) y dos brazos (los bigotes), el mismo permite visualizar la distribución de un conjunto de datos. Para su interpretación primero se deben ordenar los datos de menor a mayor, calcular la mediana, el primer y tercer cuartil, y finalmente el rango intercuartílico.

Para la construcción del Box Plot se debe dibujar una escala que cubra el rango de variación de los datos, luego marcar la mediana, primer y tercer cuartil. Dibujar una caja que se extienda entre los cuartiles y marcar en ella la posición de la mediana. Los bigotes, es decir las líneas, se extienden desde la caja hasta los valores máximo y mínimo de la serie de datos, mientras que el rango intercuartílico queda comprendido entre Q1 y Q3.

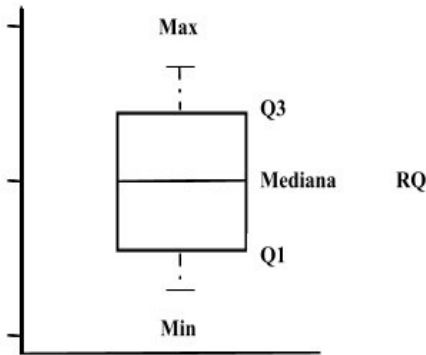


Figura 2. Representación de datos a través de Box plot

Podemos concluir que el gráfico de caja es una de las herramientas de la estadística descriptiva que permite observar como es la dispersión de los datos respecto a la mediana, los percentiles 25 y 75, como así también los valores máximo y mínimo. Es una herramienta muy útil para estudiar la simetría de la distribución de los datos, por lo cual si la mediana no se encuentra en el centro de la caja estaríamos frente a una distribución asimétrica.

ESTADISTICA INFERENCIAL

Chulibert ME

Los siguientes conceptos de estadísticas contienen simplificaciones y lenguajes sin un extremo rigor estadístico con fines de comprensión del tema. Ya vimos algunos conceptos de estadística descriptiva. Cuando tenemos datos de una o más variables de una muestra de individuos, podemos describirla a través de algunas estadísticas como: media, desvío estándar, rango, mediana, etc. En este capítulo nos dedicaremos a estudiar la estadística inferencial.

La estadística inferencial es la parte de la estadística que se ocupa de llegar a establecer una ley o conclusión a partir de los hechos observados. Es decir, estudia cómo arribar a conclusiones generales para toda la población a partir del estudio de una muestra.

Repasemos dos conceptos fundamentales de la estadística: población y muestra.

La población (o universo) es el conjunto de elementos que comparten características en común. La población es definida por el investigador. Por ejemplo: todos los habitantes de la ciudad de Rosario, todos los alumnos de la Facultad de Medicina de la UNR.

La muestra es una porción de la población debido a que estudiar la totalidad de la población resulta en la mayoría de los casos imposible.

La estadística inferencial es la parte de la estadística que permite básicamente comparar si los valores de la variable de una muestra son diferentes o no de los valores de esa misma variable medidos en otra muestra. También permite concluir si los valores de dos o más variables medidas en un mismo individuo tienen o no alguna relación o asociación. No se agotan en estos conceptos los alcances de la estadística inferencial.

Para el análisis estadístico se utilizan programas para tal fin. En este libro utilizaremos un software llamado R de descarga gratuita y libre. El entorno R trabaja con códigos que para cada análisis en particular es diferente. En este libro nos dedicaremos a estudiar qué tipo de test estadístico utilizar en algunos casos y a la interpretación de los resultados pero no estudiaremos cómo funciona el programa R.

Primero que todo necesitamos saber qué tipos de datos tenemos que analizar. Es clave determinar qué tipo de datos tenemos: cualitativos o cuantitativos, independientes o dependientes, ya que los test estadísticos que se aplicarán serán diferentes en cada caso.

Tipos de datos

Los datos son mediciones que se hacen sobre las unidades experimentales de una muestra. La unidad experimental es cada uno de los componentes de la muestra. Por ejemplo si nuestra muestra es un grupo de alumnos obtenida de nuestra población que son los estudiantes de ciencias médicas de la UNR, cada alumno es una unidad experimental.

Los datos se clasifican de diferentes maneras, algunas de las cuales veremos a continuación.

Según su característica

Cualitativos

Expresan alguna característica. Por ejemplo: sexo, ocupación, etnia.

Cuantitativos

Expresan un valor numérico. Por ejemplo: altura, peso, edad, concentración de un metabolito en sangre, longitud. Este tipo de datos pueden clasificarse en discretos o continuos.

Un dato cuantitativo discreto es aquel que puede tomar un valor fijo dentro de un intervalo determinado. Por ejemplo: número de hijos, edad, cantidad de tomas diarias de un medicamento, etc.

Un dato cuantitativo continuo es aquel que puede tomar cualquier valor en el marco de un intervalo predeterminado. Por ejemplo: concentración de calcio, peso, talla, etc.

Se puede transformar una variable cuantitativa en variable cualitativa. Para ello debemos categorizar la variable cuantitativa.

Por ejemplo, tenemos el Índice de Masa Corporal (IMC) como indicador del estado nutricional de un grupo de personas. En el caso que lo tomemos como variable cuantitativa analizaremos el valor numérico en sí: 24.5, 23, 30, 32.5.

Si lo tomamos como variable cualitativa tendríamos que tener rangos de valores que nos indiquen el estado nutricional del paciente, es decir nos dan una cualidad. Una clasificación podría ser la siguiente:

- ◆ <18.5: DESNUTRICIÓN
- ◆ 18.5-24.9: NORMOPESO
- ◆ 25-29.9: SOBREPESO
- ◆ >30: OBESIDAD

Según su naturaleza

Independientes o no apareados

Los datos independientes (también conocidos como datos desapareados o no apareados) corresponden a mediciones realizadas en dos o más grupos diferentes. Ejemplos:

- ◆ Obtenemos datos de presión arterial medidas en dos grupos de pacientes.
- ◆ Medimos la glucemia en 3 grupos de ratones, aplicando tratamientos diferentes a cada grupo.

Dependientes o apareados

Los datos dependientes (también conocidos como apareados) corresponden a mediciones realizadas sobre la misma unidad experimental. El valor de la segunda medición estará siempre condicionado por el valor de la primera.

Ejemplos:

- ◆ Medimos el pH de un grupo de gaseosas a tiempo 0 y a los 30 minutos.
- ◆ Medimos la presión arterial a un grupo de pacientes, administramos una droga y volvemos a medirles la presión al cabo de un tiempo determinado.

Ejercicio

¹³⁾ Obtenemos datos de acidez titulable medidos en dos grupos de gaseosas diferentes. Indicar si la medición corresponde a datos dependientes o independientes.

¹⁴⁾ Obtenemos datos de calcemia medidos en un grupo control y en un grupo tratado con una determinada droga. Respuestas al pie de página

Las pruebas estadísticas nos permiten, en general, contrastar la hipótesis llamada hipótesis nula (HN) con la hipótesis alternativa (HA). La HN es la que plantea que no existe diferencia entre los grupos analizados que sí se busca demostrar con la HA. Cuando aplicamos una prueba o test estadístico llegamos a una conclusión que no estará libre de error, sin embargo será conocido. Es fundamental reducir el error a su mínima expresión posible.

Error de tipo 1 o alfa

El error de tipo 1 o error alfa es la probabilidad de rechazar la HN cuando en realidad es cierta. La probabilidad de cometer este error alfa o tipo 1 es lo que mide el nivel de significación estadística llamado valor de p , habitualmente se expresa como p-value y es el valor que determina si aceptamos o rechazamos la HN. En las ciencias biomédicas en general se fija la probabilidad de este error en un valor de p-value= 0.05 o 0.01. La máxima probabilidad de rechazar incorrectamente la HN será del 5% o del 1%, respectivamente.

Ejemplo

Supongamos que medimos la glucemia (g/L) en dos grupos de ratas (I y II), cuyos valores se encuentran representados en la tabla siguiente:

	grupoI	grupoII
rata1	1.1	1.6
rata2	1.5	1.5
rata3	1.3	1.8
rata4	1.2	1.6
rata5	1.0	1.5
Media	1.22	1.6
SD	0.19	0.12
Variancia	0.037	0.015
Rango	1-1.5	1.5-1.8

13 Independiente

14 independiente

Mediana	1.2	1.6
---------	-----	-----

Las 5 primeras líneas de la tabla tienen los valores de glucemia de cada una de las 5 ratas de cada grupo y los últimos cinco renglones de la tabla tienen algunas de las estadísticas descriptivas que utilizamos a menudo.

Entonces nos hacemos algunas preguntas:

a- ¿Son las glucemias del grupo I diferentes de las del grupo II?

b- ¿Son las glucemias del grupo II mayores que las del grupo I?

Estas preguntas bien pueden originarse porque aplicamos un tratamiento que podría aumentar la glucemia del grupo II o bien porque la media y la mediana del grupo II es a "simple vista" mayor que la del grupo I.

Para poder hacer una comparación utilizando una prueba estadística, primero deberíamos comprobar al menos dos supuestos:

- ◆ test de normalidad.
- ◆ test de homogeneidad de variancias.

El test de normalidad nos indica si la muestra tiene distribución normal o no, mientras que el test de homogeneidad de variancias nos informa si las variancias pueden considerarse homogéneas o no. Si las dos muestras tienen distribución normal y sus variancias son homogéneas se aplicará un tipo de test para dar una respuesta a las dos preguntas formuladas anteriormente. En este caso se utilizarán test estadísticos que llevan el nombre de pruebas paramétricas. Si no se cumple al menos uno de los supuestos se aplicarán otras pruebas, conocidas como pruebas no paramétricas.

Pruebas de normalidad

Podemos utilizar alguna de las dos pruebas estadísticas siguientes:

- ◆ Prueba de Kolmogorov-Smirnov
- ◆ Prueba de Shapiro Wilk

Prueba de Kolmogorov Smirnov

Haciendo referencia a la tabla anterior, aplicamos el test a los grupos I y II.

El código para R es:

```
ks.test(grupoI,pnorm,1.22,0.037).
```

El test incluye el nombre del grupo, su media y variancia. Los códigos son: mean(grupoI) y var(grupoI), respectivamente. Entre los resultados que nos indica el test figura: p-value = 0.3104

¿Cómo se interpreta?

Si p-value es menor que 0.05 concluimos que la muestra no tiene distribución normal. En este caso, el grupo I tiene distribución normal porque el p-value = 0.3104 es mayor que 0.05. Es decir, que para el grupo I se cumple el supuesto de normalidad.

Aplicamos el mismo test para el grupo II de la misma manera, pero utilizando media y variancia de este grupo.

El código para R es:

```
ks.test(grupoII,pnorm,1.6,0.015)
```

p-value = 0.4005

¿Cuál es su conclusión? ¿La muestra II tienen distribución normal? Si el valor de p-value fuera menor a 0.05 no tendría distribución normal. Por lo tanto, podemos decir que la muestra II tiene distribución normal.

Prueba de Shapiro Wilk

Este test sirve para probar supuesto de normalidad a semejanza del test de Kolmogorov Smirnov, aunque éste último puede ser utilizado para probar otras distribuciones de probabilidad.

Se interpreta de la misma manera: si $p < 0.05$ la distribución no es normal, si $p > 0.05$ asumo que la distribución es normal.

El código para R es:

```
shapiro.test(grupoI)
```

p-value = 0.9276

```
shapiro.test(grupoII)
```

p-value = 0.1458

¿Qué opina? ¿Tienen el grupo I y el grupo II distribución normal? Efectivamente, ya que en ambos casos el p-value fue mayor a 0.05.

Pruebas de homogeneidad de variancias

Para evaluar la homogeneidad de variancias, también conocido como supuesto de homocedasticidad, se pueden aplicar tres pruebas estadísticas:

- ◆ Test de Bartlett.
- ◆ Var test.
- ◆ Test de Fligner.

En las tres pruebas si $p < 0.05$ las variancias no son homogéneas. Contrariamente, si $p > 0.05$ las variancias son homogéneas. Puede aplicar cualquiera de los tres test con la salvedad que algunos son para dos variancias y otros para un número mayor.

A continuación se pueden ver los códigos para su aplicación en R y el valor de p-value para los grupos I y II.

Prueba de Bartlett

```
bartlett.test(list(grupoI,grupoII))
```

p-value = 0.4024

Var.test

```
var.test(grupoI,grupoII)
```

p-value = 0.4032

Test de Fligner

```
fligner.test(grupoI,grupoII)
```

p-value = 0.147

¿Son homogéneas las variancias de los grupos I y II? Efectivamente, las tres pruebas lo confirman ya que en los tres casos el valor de p-value fue mayor a 0.05. Recuerde que no es necesario aplicar los tres test, con uno de ellos bastará para inferir sobre la homocedasticidad de los datos.

Dado que para ambos grupos (I y II) se cumple el test de normalidad y las variancias son homogéneas se podrán aplicar test paramétricos para su comparación.

Ejercicio

¹⁵⁾ Supongamos que tenemos dos grupos de animales con dos tratamientos (controles y tratados). Los animales controles tienen una media del peso de 250g y los tratados de 290g. El tratamiento aplicado conceptualmente produciría aumento de peso. Por lo tanto deseamos probar si el peso de los tratados es mayor que el de los controles. Previo a dicha prueba debemos realizar los test de normalidad (Shapiro Wilk) y el de homogeneidad de variancias (Var.test). Los valores de p-value obtenidos fueron:

Shapiro Wilk p-value=0.00014

var.test p-value= 0.07

a. ¿Aplicará una prueba paramétrica o no paramétrica?

b. ¿Por qué?

¹⁶⁾ Medimos la concentración de flúor en partes por millón (ppm) en 11 muestras de agua del río Paraná y 11 muestras de agua del río Carcarañá, se le asignaron los nombres a cada grupo: RPFppm y RCFppm respectivamente. El nombre de la tabla es “tablaf”

muestra	RPFppm	RCFppm
1	3	1
2	8	2
3	11	3
4	4	2
5	5	1
6	9	2
7	3	1
8	2	2
9	8	3
10	7	4
11	5	5
media	5.90	2.36
SD	2.87	1.28

15a- No paramétrica. b- Ya que no se cumple el test de normalidad, el valor de p-value de la prueba de Shapiro fue menor a 0.05.

16Respuestas ejercicio 3

a- Cuantitativos continuos e independientes.

b- Test de Kolmogorov-Smirnov o Test de Shapiro Wilk. shapiro.test(tabla f\$RPFppm).

c- Distribución normal.

d- Distribución normal.

e- Como p-value es menor a 0,05 las variancias no son homogéneas.

f- No paramétrico.

varianza	8.29	1.65
rango	[2-11]	[1-5]
mediana	5	2

- ¿Qué tipos de datos son según su característica y naturaleza?
- ¿Qué test podría utilizar para ver si las muestras pertenecen a una distribución normal o no normal? Escriba el código para R del Test de Shapiro
- Shapiro test RPFppm $p\text{-value}=0.636$ ¿qué tipo de distribución tiene?
- Shapiro test RCFppm $p\text{-value}=0.1259$ ¿qué tipo de distribución tiene?
- El Test de Bartlett $p\text{-value}=0.01784$ ¿Cuál es su conclusión?
- ¿Qué test aplicará para comparar las muestras, paramétrico o no paramétrico?

Comparación de dos muestras de datos cuantitativos

Ahora veremos cómo comparar si dos muestras de datos cuantitativos son diferentes o no. Como vimos anteriormente, primero siempre se deben probar los supuestos de normalidad (con el test de Shapiro Wilk o el de Kolmogorov Smirnov) y el de homogeneidad de variancias (var.test, fligner.test o el bartlett.test). Además debemos preguntarnos si las muestras son apareadas o no.

Supongamos que tenemos mediciones de glucemias (g/L) de dos grupos de ratas (grupoI y grupoII) representados por la siguiente tabla donde se muestran también sus estadísticas descriptivas.

	grupoI	grupoII
	1.1	1.6
	1.5	1.5
	1.3	1.8
	1.2	1.6
	1.0	1.5
media	1.22	1.6
SD	0.19	0.12
variancia	0.037	0.015
rango	1-1.5	1.5-1.8
mediana	1.2	1.6

En este caso tenemos dos muestras no apareadas (o independientes), ya que los valores de la glucemias del grupoI corresponden a datos de un grupo de ratas y el grupoII a mediciones realizadas en otro grupos de ratas.

Según se cumplan los supuestos de:

- ◆ normalidad
- ◆ homocedasticidad (homogeneidad de variancias)
- ◆ y los datos sean o no apareados se utilizan test específicos para probar si las muestras difieren o no.

En general, cuando queremos probar si dos muestras difieren nos referimos a que sus medias o medianas difieren. Por ejemplo, si decimos que con un tratamiento las glucemias son menores en el grupo tratado que en el control, queremos decir que la media es menor en el grupo tratado que en el control.

A continuación se estudiarán los diferentes casos que podemos tener cuando comparamos dos muestras de datos.

Comparación de las medias de dos muestras normales e independientes

Si se cumplen los supuestos de normalidad y homocedasticidad, siendo los datos independientes, se utiliza el siguiente test: t de Student para datos independientes.

El código en R es:

```
t.test(grupoI,grupoII,paired=FALSE,p.value=0.05)
```

Donde grupoI hace referencia a los datos de un grupo y grupoII a los datos de la misma variable pero medidos en el grupoII. Como los datos son independientes o no apareados, la función t.test utilizada tiene el argumento paired en FALSE. Además en el código anterior se fijó el error de tipo 1 en 0.05

Comparación de las medias de dos muestras normales y datos dependientes

Si se cumple normalidad y homocedasticidad, siendo los datos apareados, se utiliza t de Student para datos apareados.

El código en R es:

```
t.test(grupoI,grupoII,paired=TRUE,p.value=0.05)
```

En este caso, sólo ha cambiado el argumento paired a TRUE, debido a que los datos son apareados.

Comparación de medianas de muestras no normales independientes

Si no se cumple alguno de los dos supuestos de normalidad y homocedasticidad y los datos son independientes se utiliza el test de Mann Whitney.

El código en R es:

```
wilcox.test(grupoI,grupoII,paired=FALSE,p.value=0.05)
```

Comparación de medianas de muestras no normales dependientes

Si no se cumple alguno de los dos supuestos de normalidad y homocedasticidad y los datos son apareados se utiliza el test de Wilcoxon.

El código en R es:

```
wilcox.test(grupoI,grupoII,paired=TRUE,p.value=0.05)
```

Ejemplo.

Supongamos que tenemos los datos de glucemias (g/L) de la siguiente tabla. Éstos provienen de dos grupos de ratas independientes. Por lo tanto, el test será para datos independientes o no apareados (paired= FALSE).

grupoI	grupoII
1.1	1.6

1.5	1.5
1.3	1.8
1.2	1.6
1.0	1.5

Comprobamos si grupoI y II tienen distribución normal con el test de Shapiro Wilk:

```
shapiro.test(grupoI)
shapiro-Wilk normality test
p-value = 0.9276
```

Como p-value es mayor a 0.05 aceptamos que es normal.

Lo mismo hacemos con el grupoII:

```
shapiro.test(grupoII)
Shapiro-Wilk normality test
p-value = 0.1458
```

Aceptamos que el grupo II tiene distribución normal porque $p > 0.05$

Veamos ahora la homogeneidad de variancias con var.test:

```
var.test(grupoI, grupoII)
p-value = 0.4032
```

Como $p > 0.05$ aceptamos que las variancias son homogéneas.

Entonces, estamos analizando datos independientes con distribuciones normales y variancias homogéneas, por ende aplicamos t de Student para datos independientes.

El código en R es:

```
t.test(grupoI, grupoII, paired=FALSE, p.value=0.05)
p-value = 0.007824
```

Como $p < 0.05$ decimos que la media del grupo I difiere significativamente de la media del grupo II, con un $p\text{-value} < 0.05$.

Comparación de más de dos muestras de datos

Ahora veremos cómo comparar si tres o más muestras de datos son o no diferentes. Primero se deben probar los supuestos de normalidad para cada muestra (con el test de Shapiro Wilk o el de Kolmogorov Smirnov) y el de homogeneidad de variancias (fligner.test o el bartlett.test). No se puede aplicar var.test ya que esta prueba sólo es aplicable a dos muestras de datos. Además debemos preguntarnos si las muestras son apareadas o no.

Supongamos que tenemos mediciones de glucemias (g/L) de tres grupos de ratas (grupoI, grupoII y grupoIII) representados por la siguiente tabla, donde se muestran también sus estadísticas descriptivas.

	grupoI	grupoII	grupoIII
	1.1	1.6	1.2
	1.5	1.5	2.1
	1.3	1.8	2.2
	1.2	1.6	3.1
	1.0	1.5	1.8

ESTADISTICA INFERENCIAL

media	1.22	1.6	2.08
SD	0.19	0.12	0.69
variancia	0.037	0.015	0.477
rango	1-1.5	1.5-1.8	1.2-3.1
mediana	1.2	1.6	2.1

En este caso tenemos tres muestras no apareadas (o independientes), ya que los valores de glucemias del grupo I corresponden a datos de un grupo de ratas, el grupoII a mediciones realizadas en otro grupos de ratas y lo mismo con el grupoIII. Pero si grupo I correspondiera a la glucemia de un grupo de ratas, y grupoII y III a las glucemias medidas en las mismas ratas en distintos tiempos serían datos apareados.
Para trabajar en R es conveniente organizar los datos de diferente manera:

grupo	glucemia g/l
I	1.1
I	1.5
I	1.3
I	1.2
I	1.0
II	1.6
II	1.5
II	1.8
II	1.6
II	1.5
III	1.2
III	2.1
III	2.2
III	3.1
III	1.8

Según se cumplan los supuestos de:

- ◆ normalidad
- ◆ homocedasticidad
- ◆ y los datos sean o no apareados se utilizan test diferentes para probar si las muestras difieren o no.

Si se cumple normalidad y homocedasticidad, siendo los datos independientes, se pueden utilizar dos análisis que me llevarán a las mismas conclusiones.

Primero construiremos un objeto con los datos de la tabla anterior y a dicho objeto lo llamaremos glucemias

```
> glucemias
  glucemia grupo
1    1.1    I
2    1.5    I
3    1.3    I
4    1.2    I
```

5	1.0	I
6	1.6	II
7	1.5	II
8	1.8	II
9	1.6	II
10	1.5	II
11	1.2	III
12	2.1	III
13	2.2	III
14	3.1	III
15	1.8	III

Los 5 primeros elementos son del grupo I, del 6 al 10 del grupo II y los restantes del grupo III.

Entonces para ver si difieren los grupos se aplica el test de análisis de la variancia a un criterio o factor (ANOVA a un criterio). Es a un criterio porque se analiza un solo factor, y en este caso el tratamiento se ha aplicado a tres niveles: I, II y III.

ANOVA a un criterio con aov y LSD.test

Utilizando R, aplicamos el siguiente código:

```
>anova<-aov(glucemia~grupo,data=glucemias)
pedimos un resumen con la función summary()
> summary(anova).
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
grupo	2	1.857	0.9287	5.267	0.0228 *
Residuals	12	2.116	0.1763		

Como siempre miramos el valor de p (en este caso Pr) y como es menor de 0.05 decimos que los tres grupos no son iguales o que hay diferencia significativa entre ellos.

Una vez que concluimos que existe diferencia entre los grupos nos preguntamos entre qué grupos existe diferencia. Para ello utilizamos una prueba de comparaciones múltiples, entre las que hallamos a la prueba conocida como LSD.test.

El código en R es:

```
lsdanova<-LSD.test(anova,"grupo",p.adj="none")
```

El test nos da lo siguiente:

Groups, Treatments and means

a	III	2.08
ab	II	1.6
b	I	1.22

Esta tabla indica entre qué grupos existe diferencia significativa. Aquellos que comparten al menos una letra igual en la columna Group no son diferentes. Dicho de

otra manera, para poder afirmar que dos grupos son diferentes tienen que tener diferentes entre sí todas las letras de la columna Groups.

Conclusión: las medias de las glucemias del grupo III es diferente de la del grupo I, pero la II no difiere de la III ni la I.

Ejercicio

17) Usted midió la calcemia en 3 grupos de ratas que recibieron 3 dietas diferentes: hipocálcica, normal e hipercálcica. Se midió la calcemia post tratamiento y se desea comprobar si los tratamientos tienen efectos diferentes sobre la misma. Responda las siguientes preguntas.

- a. ¿Podría aplicar la prueba t de Student para datos desapareados habiendo comprobado que pertenecen a poblaciones con distribución normal y variancias homogéneas?
- b. ¿Qué test aplicaría y por qué?
- c. ¿Cuál es la variable, cuál es el factor, cuáles los niveles?
- d. Usted aplicó la función aov y obtuvo un p-value= 0.0023. ¿Cómo se interpreta este resultado?

Tablas de contingencia

Las tablas de contingencia nos permiten presentar datos de frecuencias según dos o más criterios. Cuando se desea investigar si dos variables cualitativas están asociadas, las tablas de contingencia y su análisis a través de la prueba de Chi cuadrado son adecuadas.

Veamos un ejemplo. Tenemos 13 ratas que han sido clasificadas por su condición metabólica: normal (n), anormal (a) y por su condición de edad: joven (j) y adulta (a). La tabla siguiente muestra cada unidad experimental, la tabla tiene el nombre AA, en la columna unidad experimental tenemos el número asignado a cada rata, en la columna condicionmetabolica tenemos identificado este factor con las letras n y a para cada nivel y en la columna condicionedad, figuran los niveles del factor edad identificado con las letra j y a .

Tabla AA

unidadexperimental	condicionmetabolica	condicionedad
1	n	j
2	n	j
3	n	j

17 a- No.

b- Test Anova: por ser datos cuantitativos, se cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad y comparamos más de 2 muestras.

c- Variable: calcemia, factor: dieta, niveles del factor dieta: hipocálcica, normal e hipercálcica.

d- Como el valor de p-value es menor de 0,05, decimos que hay diferencia significativa entre los valores de calcemia de los 3 grupos.

4	n	j
5	n	j
6	a	j
7	n	a
8	a	a
9	a	a
10	a	a
11	a	a
12	a	a
13	a	a

Queremos ver si existe una asociación entre la condición metabólica y la condición edad. Es decir queremos ver si ser normal o anormal está asociado a ser joven o adulta. En otras palabras nos preguntamos si existe la misma probabilidad de tener una condición metabólica normal o anormal según la edad de la rata.

Para esto se construye una tabla de contingencia que haremos a mano:

¿Cuántas ratas jóvenes son normales?: 5

¿Cuántas ratas jóvenes son anormales?: 1

¿Cuántas ratas adultas son normales?: 1

¿Cuántas ratas adultas son anormales?: 6

Se observan más normales entre las jóvenes y más anormales entre las adultas. Es decir, parece haber una asociación entre la condición metabólica y la edad.

Los datos anteriores que obtuvimos contando lo podemos obtener con R con el siguiente código:

```
> table(AA$condicionmetabolica,AA$condicionedad)
```

```
  a  j
a  6  1
n  1  5
```

Para ver asociación hacemos una prueba de Chi cuadrado.

Test Chi cuadrado

Cuando se quiere comparar datos cualitativos el test que se utiliza es el test de Chi cuadrado. Esta prueba estadística busca demostrar asociación o no entre dos variables cualitativas como por ejemplo en este caso la condición metabólica y la edad. Otro ejemplo donde podríamos utilizar este test es para demostrar si existe asociación entre hipertensión y consumo de sal.

El código en R es:

```
> chisq.test(table(AA$condicionmetabolica,AA$condicionedad))
```

Resultados del test:

```
Pearson's Chi-squared test with Yates' continuity correction
data: table(AA$condicionmetabolica, AA$condicionedad)
X-squared = 3.7309, df = 1, p-value = 0.05342
```

En esta prueba como en casi todas las realizadas con algún software de estadística, si $p > 0.05$ concluiremos que no existe asociación entre las variables y si $p < 0.05$ diremos

que si existe dicha asociación. El valor p-value se halla justo en el límite que consideramos para tener en cuenta si existe o no diferencia. En este caso dependerá un poco de nuestro criterio. Supongamos que aceptamos que este valor es significativo, entonces: ¿qué concluimos? Que ser normal o anormal desde el punto de vista metabólico no es independiente de ser joven o adulto. En otras palabras la condición anormal del metabolismo se asocia a ratas adultas, mientras que la condición normal a ratas jóvenes.

Podemos calcular ahora el riesgo relativo de ser anormal entre jóvenes y adulto. El riesgo relativo (RR) es el cociente entre el riesgo del grupo con el factor de riesgo y el grupo de referencia, que no tiene factor de exposición. En este caso el factor de riesgo para que la rata presente una condición metabólica anormal es la edad
 Volvamos a ver la tabla de contingencia:

	a	j
a	6	1
n	1	5

Tenemos 7 adultos y 6 jóvenes.

¿Cuál es el riesgo de ser anormal entre las raas jóvenes? Una de cada 6 ratas jóvenes es anormal. Entonces el cálculo del riesgo se realiza

$$R = 1/6 = 0.16, \text{ o sea } 16\%$$

¿Cuál es el riesgo de ser anormal entre las ratas adultos? Seis de cada 7 ratas adultas son anormales. Entonces calculamos el riesgo para las ratas adultas como

$$R = 6/7 = 0.86 \text{ o sea } 86\%$$

¿Cuál es el riesgo relativo de ratas adultss respecto de ratas jóvenes de padecer la anormalidad metabólica estudiada?

$$RR = 0.86/0.16 = 5.4$$

Existe 5.4 veces más de riesgo de padecer la condición metabólica anormal mencionada entre las ratas adultas que entre las jóvenes.

A modo general se realiza el siguiente planteamiento:

1- Realización de tabla de contingencia:

	Enfermos	Sanos	Total
Expuesto a riesgo	a	b	a+b
No expuestos	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	N

2- A partir de la tabla de contingencia se calcula el riesgo relativo (RR):

$$RR = \frac{a/(a+b)}{c/(c+d)}$$

Interpretación del RR

El $RR=1$ indica que no hay asociación entre la presencia del factor de riesgo y el evento.

El $RR>1$ indica que existe asociación positiva, es decir, que la presencia del factor de riesgo se asocia a una mayor frecuencia de suceder el evento.

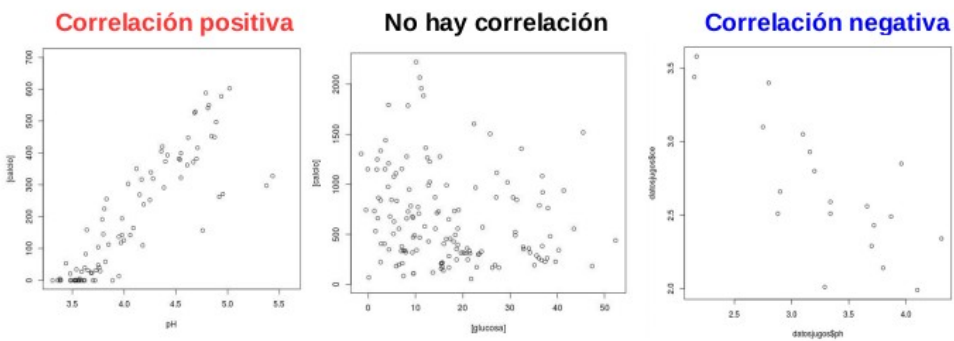
El $RR<1$ indica que existe una asociación negativa, es decir, que no existe factor de riesgo, que lo que existe es un factor protector.

3- Se realiza la prueba de Chi cuadrado para averiguar si existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo expuesto y el grupo no expuesto en función de la aparición de un determinado evento.

Test de correlación

Cuando queremos analizar si existe relación entre dos variables cuantitativas, es decir sí cuando el valor de una aumenta la otra también aumenta o disminuye de manera sistemática se utiliza un test de correlación.

Veamos 3 ejemplos de lo que puede suceder



En la primer gráfica tenemos un ejemplo de correlación positiva, es decir, a medida que los valores de la variable x aumenta, la variable y también aumenta. En la segunda gráfica vemos un ejemplo donde no existe correlación entre las variables. Y en la tercer gráfica observamos un ejemplo de correlación negativa, es decir, a medida que la variable x aumenta, la variable y disminuye.

El análisis de correlación permite hallar una estadística que es el coeficiente de correlación (r). El valor de r se encontrará siempre en el intervalo $[-1,1]$. Cuanto más cercano sea a $+1$ indica una fuerte relación positiva entre las variables estudiadas, es decir cuando una variable aumenta, la otra también lo hace. En este caso se dice que las variables están correlacionadas positivamente. Por su parte un valor de r cercano a -1 también muestra una gran correlación entre las variables, pero de manera inversa, cuando una crece, la otra decrece. En una situación así diremos que las variables se hallan correlacionadas negativamente. Contrariamente, un valor cercano a 0 nos indica falta de correlación entre las variables. Resumiendo:

- ◆ $r = +1$: fuerte correlación positiva, cuando una aumenta la otra también.
- ◆ $r = -1$: fuerte correlación negativa, cuando una crece la otra decrece.
- ◆ $r = 0$: no hay relación entre variables.

El coeficiente de correlación (r) elevado al cuadrado (R-squared, R-cuadrado o r^2) se conoce como coeficiente de determinación y nos indica qué porcentaje de la variación de una variable es explicado por la variación de la otra. Por otra parte en una correlación tendremos un valor de p-value, que será interpretado como en todos los casos. Un valor de $p\text{-value} < 0.05$ nos indica que las variables están correlacionadas de manera significativa, mientras que un $p\text{-value} > 0.05$ indicará falta de correlación.

Veamos la siguiente tabla que muestra valores de viscosidad (visc) y cantidad de proteínas (prot) para diferentes muestras de plasma sanguíneo. Llamamos a la tabla plasma:

plasma	
visc	prot
4	7
3.5	7.5
3.3	7.4
3.1	8
3.4	6.5
4.1	6.6
4.2	7

Si introducimos esta tabla en R podemos analizar la correlación entre las variables visc y prot utilizando la función `cor.test()`. El código en R se escribirá: `cor.test(plasma$visc,plasma$prot)`

Resultados:

$r = -0.598$

p-value: 0.15

Estos resultados se analizan de igual manera que los demás test estadísticos, analizando el valor de p-value y agregamos, además, el valor del coeficiente de correlación: r . Como el valor de r es negativo significa que hay correlación negativa pero como $p > 0.05$ significa que no hay correlación significativa. Podríamos decir que aunque al aumentar las proteínas disminuye la viscosidad, esta correlación no es estadísticamente significativa.

SOLUCIONES

Rigalli A

Las soluciones son sistemas materiales homogéneos, que contienen dentro de un determinado volumen una cantidad de una o más sustancias conocidas como solutos.

Conceptos básicos para la comprensión del tema

Desarrollaremos algunos conceptos básicos para la comprensión del tema

Materia: Todo aquello que ocupa un lugar en el espacio, tiene peso y es perceptible a través de los sentidos.

Ejemplos

- ◆ agua
- ◆ cemento
- ◆ el aire

La materia tiene propiedades fundamentales: inercia, extensión e impenetrabilidad. Otras propiedades cambian de un tipo a otro: brillo, conductividad, dureza, entre otros.

Cuerpo: Es una porción limitada de materia.

Ejemplos

- ◆ una llave
- ◆ un diamante

Los cuerpos tienen volumen y por ende ocupan un lugar en el espacio y tienen masa, determinada por la cantidad de materia. Los cuerpos son tridimensionales extendiéndose a lo alto, largo y ancho. Un vaso de 200ml con 100ml de agua, está lleno, ya que tiene 100ml de aire además de los 100ml de agua. Entendemos por vacío la falta de materia, situación muy poco común en la vida cotidiana.

Sustancia: clase particular de materia de la que están formados los cuerpos. Miremos el ejemplo de las monedas argentinas: las monedas de 25 centavos de los años 1992-1993 se acuñaron en bronce de aluminio pero luego fueron acuñadas en cupro-níquel en 1994 y 1996. Podríamos decir que son cuerpos iguales, ambos formados por materia pero la sustancia que las constituye es diferente, mientras en un caso es bronce y aluminio, en el otro es cobre y níquel.

Las sustancias se clasifican en

Simples: las moléculas que las componen están formadas por un solo tipo de átomos.

Ejemplos:

- ◆ Oxígeno: O_2
- ◆ Ozono: O_3
- ◆ Cobre: Cu

Compuestas: con combinación de dos o más elementos de la tabla periódica.

Ejemplo:

- ◆ H_2O

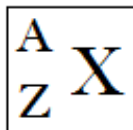


Figura 2. Representación de un elemento en la tabla periódica

Número atómico (Z): indica la cantidad de protones o electrones que tiene un átomo neutro, en el caso de átomos ionizados solo indica la cantidad de protones. Se coloca como subíndice a la izquierda del símbolo del elemento correspondiente.

Ejemplos

- ◆ Los átomos del elemento hidrógeno tienen 1 protón y su $Z = 1$, representándose ${}_1\text{H}$.
- ◆ Los átomos de helio tienen 2 protones y $Z = 2$, representándose ${}_2\text{He}$.
- ◆ Los de litio, 3 protones y $Z = 3$.

Número másico (A): indica el número de neutrones más protones del átomo.

El ${}_{11}\text{Na}^{23}$, tiene $Z=11$, $A=23$. Tiene 11 protones 11 electrones y 12 neutrones.

Isótopos: átomos de igual Z pero diferente A. Poseen cantidad diferente de neutrones, y por lo tanto, difieren en número másico.

Ejemplo

- ◆ ${}_6\text{C}^{12}$ ($Z=6$, $A=12$)
- ◆ ${}_6\text{C}^{14}$ ($Z=6$, $A=14$)

Iones: especie química, ya sea un átomo o una molécula, cargada eléctricamente.

Catión: ion con carga eléctrica positiva, es decir, que ha perdido electrones. Un catión tiene siempre más protones que electrones.

Ejemplo



Anión: ion con carga eléctrica negativa, es decir, que ha ganado electrones. Siempre tiene más electrones que protones.

Estados de agregación de la materia: Por percepción propia notamos que muchas sustancias cambian sus propiedades físicas a merced de cambios en diferentes variables. El ejemplo más conocido es el agua. Sabemos que el hielo, el agua y el vapor están compuestos por la misma sustancia, el H_2O . Los cambios en las fuerzas de atracción o repulsión entre las moléculas determinarán su estado fundamental. Estas diferentes formas que puede adoptar se conocen como estados de agregación de la materia, que son sólido, líquido y gaseoso.

Estado sólido: en este estado de agregación las fuerzas de atracción de las moléculas son mayores que las de repulsión, por lo que los átomos o moléculas se encuentran entrelazados y generalmente formando estructuras cristalinas ordenadas, confiriéndole al cuerpo la capacidad de soportar fuerza de variados valores. Tienen forma definida y densidades relativamente altas. A través de la fusión puede pasar a estado líquido. Esto se da al alcanzar el punto de fusión, por ejemplo el agua a 0°C . En determinados casos puede pasar directamente al estado gaseoso por el proceso de volatilización.

Estado líquido: En este estado de agregación las fuerzas de atracción y repulsión se encuentran equilibradas, por lo que se puede definir un volumen pero no una forma definida, adaptándose al recipiente. Son muy fluidos y cohesivos. Mediante la solidificación, un cuerpo líquido puede volverse sólido si alcanza su punto de solidificación. En cambio al volverse gaseoso es por el proceso de vaporización.

Estado gaseoso: En este estado sus moléculas interactúan débilmente entre sí, predominando las fuerzas de repulsión. Son muy fluidos, susceptibles a la compresión y muy lábiles a los cambios de temperatura y presión. Mediante la condensación un cuerpo gaseoso puede pasar al estado líquido, mientras que al sublimarse pasa directamente al estado sólido sin intermediar como líquido.

Sistema material: es toda porción del universo formada por una o más sustancias.

Existen dos tipos fundamentales de sistemas materiales:

- ◆ Sistema homogéneo: es aquel sistema que presenta propiedades constantes en todos sus puntos. Dentro de estos sistemas tenemos las soluciones.

- ◆ Sistema heterogéneo: es aquel sistema que presenta diferentes propiedades en los diferentes puntos del mismo o está formado por más de una fase. Por ejemplo arena y agua.

Fase: es cada una de las porciones homogéneas de un sistema heterogéneo. Podemos redefinir sistema homogéneo como aquel formado por una sola fase. Sistema heterogéneo es aquel formado por más de una fase.

Componente: es cada una de las sustancias puras que forman un sistema.

Solución

También conocida como disolución, es una mezcla homogénea de un soluto y un solvente. Es común la existencia de soluciones con más de un soluto y/o solvente. Es una mezcla homogénea porque no es posible distinguir el soluto una vez disuelto. Por ejemplo al colocar sal en agua, no es posible distinguir la sal disuelta. En cambio si se coloca arena en agua se observa que la arena se puede distinguir, por esta razón la mezcla no es una solución, considerándose una mezcla heterogénea.

solvente: el agua será el solvente más utilizado y las soluciones se denominan acuosas. Existen soluciones donde el solvente puede ser otro líquido (alcohol, acetona, etc) o puede ser también un gas. En general considerados solvente a la sustancia que se halla en mayor proporción.

Tipos de solutos

Trabajaremos con dos tipos de solutos:

- ◆ *No electrolitos* : son solutos que al colocarlos en agua cada molécula queda como tal sin disociarse (Figura 4, izquierda). Se conocen también como solutos no disociables o no iónicos,

- ◆ *Electrolitos*: se disocian, originando dos o más partículas, llamadas cationes y aniones (Figura 4, derecha). Un compuesto como Na_2SO_4 , al colocarlo en agua se disocia en el

radical ácido: SO_4^- y dos cationes sodio Na^+ . Se los conoce también como solutos *disociables* o *iónicos*.

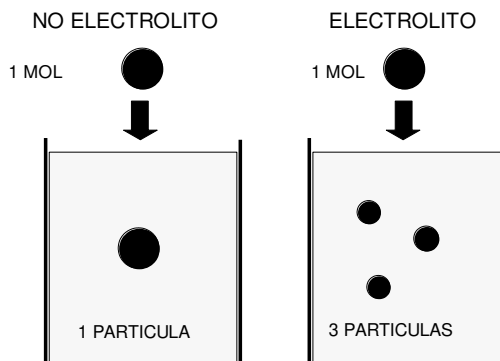


Figura 3. Comportamiento de un no electrolito y un electrolito en un solvente

Por ejemplo: en la Figura 3, izquierda al colocar 1 molécula de un no electrolito en agua, éste queda formando una partícula en solución. En el panel de la derecha de la Figura 3, al colocar una molécula de electrolito en el agua, éste se disocia formándose en este caso 3 partículas. Son electrolitos las sales, ácidos e hidróxidos. Los no electrolitos son compuestos generalmente de naturaleza orgánica como algunos glúcidos y alcoholes.

Peso molecular

Todo soluto tiene un peso molecular. Esto es un dato que hace referencia al tamaño de la molécula del soluto. Se calcula sumando los pesos atómicos de los elementos que componen la molécula. Este dato puede presentarse sin unidades, en gramos, en umas (unidad de masa atómica) o en Dalton (Da) éste último es sinónimo de uma. Si bien ésta última es la forma adecuada, será más común para nosotros el gramo. Ejemplo: El NaCl tiene un PM de 58.5 y la albúmina de 60000. De la comparación de los pesos moleculares, fácilmente deducimos que la molécula de albúmina es más grande que la de cloruro de sodio.

Cantidad de soluto

La cantidad de soluto puede expresarse en diferentes unidades, las más comunes son el gramo, el mol (o molécula gramo) y el equivalente gramo. Hay otras formas que no trataremos acá.

Ejemplos

- NaCl (cloruro de sodio). La fórmula está compuesta por un átomo sodio y uno de cloruro. Al disociarse se forma un catión sodio (Na^+) y un anión cloruro (Cl^-). Es

importante tener presente que siempre que se produzca la disociación de un electrolito, deben coincidir la cantidad de cargas positivas y negativas.

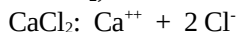


Para el caso del cloruro de sodio, el peso molecular es 58.5.

El peso molecular (en gramo) es igual a 1mol, además es igual a tantos equivalentes como cargas positivas o negativas tiene el soluto al disociarse. A partir de un mol de cloruro de sodio se formaron un sodio (una carga positiva) y un cloruro (una carga negativa) por lo tanto en 58.5 g hay 1 mol y 1equivalente.

58.5g = 1mol = 1equivalente

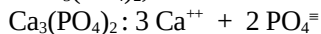
- CaCl_2 , cloruro de calcio, cuyo peso molecular es 111.



A partir de una molécula se formó un catión calcio con dos cargas positivas y dos aniones cloruro cada uno con una carga negativa (se formaron dos cargas positivas y dos negativas), por lo tanto

111g = 1mol = 2 equivalentes

- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, fosfato de calcio, peso molecular 310.



Se han formado 3 cationes calcio y dos aniones fosfato. Los tres iones calcio tienen 6 cargas positivas y los dos iones fosfato 6 cargas negativas, por lo tanto tienen 6 equivalentes. Resumiendo los datos:

310g = 1mol = 6 equivalentes

- Urea, peso molecular 60. Es un no electrolito; al colocar una molécula en agua dará origen a una sola partícula sin carga y por lo tanto en este soluto no se calcula el número de equivalentes. Por lo tanto:

60g = 1mol

Son solutos no disociables: glucosa, manitol, sacarosa y en general todo soluto que no sea sal, ácido o hidróxido.

Concentración

La concentración de una solución es la relación o cociente entre la cantidad de soluto y el volumen de la solución, como lo representa la siguiente fórmula.

$$\text{concentración}[X] = \frac{\text{cantidad de soluto}(m)}{\text{volumen de solución}(V)}$$

que simplificamos

$$[X] = \frac{m}{V}$$

La concentración [X], es un cociente de dos magnitudes: la cantidad de soluto (m) y el volumen (V). Si la solución tiene mucha cantidad de soluto o es chico el volumen de

solución, la concentración será grande. En este caso se dice que se tiene una solución concentrada. En caso contrario, se trata de una solución diluida.

De acuerdo a las unidades de cantidad de soluto que se utilicen, se obtendrán diferentes formas de expresar la concentración.

% P/V o g %

Esta forma de concentración expresa la cantidad de gramos de soluto disueltos en 100ml de solución. También puede expresarse en g/l o ‰, que expresa los gramos de soluto disueltos en 1 litro de solución.

Ejemplo: glucosa 5% (se lee glucosa al 5 por ciento): significa que en 100ml de solución hay disuelto 5g de glucosa.

Ejercicio resuelto

¿Cuántos gramos de Na_2CO_3 necesito para alcanzar una concentración de 12%P/V o lo que es lo mismo 12g/dl, si el volumen es de 150ml?

Ya tenemos la concentración y el volumen, lo que hay que calcular es la masa. Para ello utilizamos la ecuación anterior

$$[X] = \frac{m}{V}$$

y despejamos la masa

$$m = [x] \cdot V$$

$$m = (12/100) \cdot 150$$

$$m = 18\text{g}$$

% P/P

Expresa la cantidad de gramos de soluto en 100g de solución. Esta forma de concentración siempre va acompañada de la densidad de la solución, es decir la masa de solución contenida en 1ml. Por ejemplo el agua tiene una densidad de 1g/cm^3 , esto quiere decir que un cm^3 de agua pesa 1 gramo. La concentración en %P/P se relaciona con el % P/V por la siguiente ecuación:

$$\%P/V = \%P/P * \text{densidad}$$

Molaridad

La molaridad expresa la cantidad de moles de soluto disueltos en 1 litro de solución y su unidad es M.

Ejemplo

- Solución de urea 0.3M (se lee urea 0.3molar): significa que en 1 litro de la solución hay disuelto 0.3moles de urea. Recordemos que 1mol de urea equivale a 60g, o sea que si quisiéramos expresarlo en P/V su concentración sería de 18 g/litro.

Ejercicio resuelto

Calcule la molaridad de una solución de 250ml a la que se le agregó 30g de NaCl.

Primero hay que pasar la masa de gramos a moles.

Si

58.5 g 1mol de NaCl

30g= 0.5mol de NaCl.

Ahora completamos la ecuación: $M = \text{cantidad de moles} / \text{Volumen (litros)}$

$M = 0.5 \text{ moles} / 0.25 \text{ litros} = 2M$

Ejercicio resuelto

¿Cuántos g de NaOH se necesitan para preparar una solución de 350ml de volumen cuya concentración es 2M?

Sabemos que

$$[X] = \frac{m}{V}$$

donde $[X] = 2 \text{ M}$ y $V = 0.35L$

despejamos la masa en moles

$$m = [X] * V$$

$m = 2M * 0.35 \text{ L}$

$m = 0.7 \text{ mol.}$

Ahora hay que pasarlo a gramos

1mol de NaOH 40g

0.7 mol.....= 28g

Normalidad

La normalidad expresa la cantidad de equivalentes de un soluto disueltos en 1 litro de la solución y su unidad se expresa como N:

Ejemplo.

KCl 0.75N (se lee cloruro de potasio 0.75 normal). Es solución contiene en 1 litro de 0.75equivalentes de KCl o lo que es lo mismo 0.75equivalentes de Cl^- y 0.75equivalentes de K^+ .

Ejercicios resuelto

• Calcule la normalidad de una solución que contiene 50g de Na_2CO_3 en 10ml de solución.

Primero calculemos el PM del soluto, conociendo que los pesos atómicos del sodio, carbono y oxígeno son: 23, 12 y 16, respectivamente. $\text{PM} = 23*2 + 12 + 16*3 = 106$.

Debido a que un mol de soluto se disocia en 2 cargas, posee 2 equivalentes.

Entonces si

$106g = 2eq$

$50g = 0.94eq$

$N = m/V$

$$N=0.94\text{eq}/0.1\text{ L}$$

$$N= 9.4N$$

- Calcule la normalidad de una solución que contiene 20g de $\text{Be}(\text{OH})_2$ en 700ml.

Calculamos el PM del soluto: $9+(16+1)*2= 43\text{g}$

Debido a que un mol de soluto se disocia en 2 cargas, posee 2 equivalentes. Entonces si $43\text{g}=2\text{eq}$

$$20\text{g}=0.93\text{eq}$$

$$N=m/V(\text{litro})$$

$$N=0.93\text{eq}/0.7\text{ L}$$

$$N=1.32N$$

ppm

Se lee partes por millón. En general expresamos con esta forma la cantidad de miligramos de una sustancia en un litro de solución. Es una forma muy común de utilizar para expresar la concentración de sustancias en agua.

Ejemplo

NaF 1900ppm, indica que en 1 litro de la solución tenemos disueltos 1900mg de NaF.

Osmolaridad

Representa la cantidad de osmoles disueltos en 1 litro de la solución y su unidad se representa con Osm.

Ejemplo

CaCl_2 0.03Osm (se lee cloruro de calcio 0.03osmolar). Indica que hay 0.03osmoles de soluto en 1 litro de la solución.

Dilución

Realizar una dilución es aplicar un procedimiento en el cual se agrega solvente a una solución ya preparada. Durante la dilución no cambia la cantidad de soluto, pero como aumenta el volumen, se produce una disminución de la concentración.

En un proceso de dilución llamamos solución madre, inicial o concentrada a la que recibe el agregado de solvente, o sea la solución de la cual partimos. La solución que obtenemos después del agregado del solvente, la llamamos solución resultante, final o diluida. El volumen de la solución resultante será igual a la suma del volumen de la solución madre más el volumen de agua agregado. En la Figura 5, 100ml de solución reciben el agregado de 100ml de agua, como se puede ver la solución resultante está más diluida, aunque la cantidad de soluto permaneció constante.

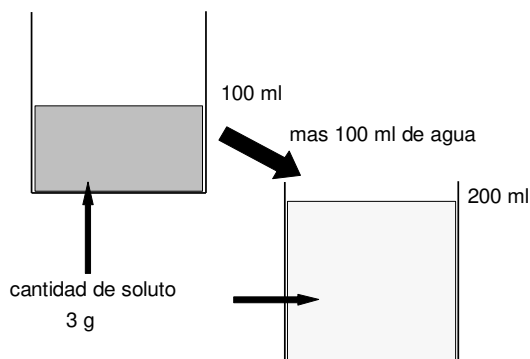


Figura 4. Proceso de dilución de una solución

En el ejemplo anterior se dice que se realizó una dilución al medio o se diluyó dos veces. Se diluye dos veces cuando el volumen de la solución final es el doble de la inicial, en este caso la concentración será la mitad de la inicial. Si se hubiera diluido 7 veces o lo que equivale a hacer una dilución a 1/7, el volumen de la solución final sería 7 veces mayor y la concentración 7 veces menor.

Para calcular el número de diluciones realizadas se pueden aplicar las siguientes ecuaciones

$$\text{número de diluciones} = \frac{\text{volumen solución diluída, } V_{\text{final}}}{\text{volumen de solución madre, } V_{\text{final}}}$$

$$\text{número de diluciones} = \frac{\text{concentración solución madre, } C_{\text{inicial}}}{\text{concentración solución diluída, } C_{\text{final}}}$$

Un método sencillo para calcular volúmenes o concentraciones en problemas de dilución es la aplicación de la fórmula

$$C_{\text{madre}} * V_{\text{madre}} = C_{\text{diluida}} * V_{\text{diluida}}$$

Donde C es la concentración de la solución madre o de la diluída y V el volumen de la madre o la solución diluída. Teniendo 3 datos se puede despejar el tercero.

Fraccionamiento de soluciones

Fraccionar una solución implica tomar una fracción o alícuota de la solución madre. En este caso cada fracción tendrá un volumen y cantidad de soluto menor que la solución madre, pero igual concentración. En el ejemplo de la figura 3.3, a partir de 200ml de solución al 1.5% se toman dos fracciones de 100ml. Si el volumen total contenía 3g ahora cada fracción tendrá 1.5g, siendo menor la cantidad de soluto pero la concentración será la misma.

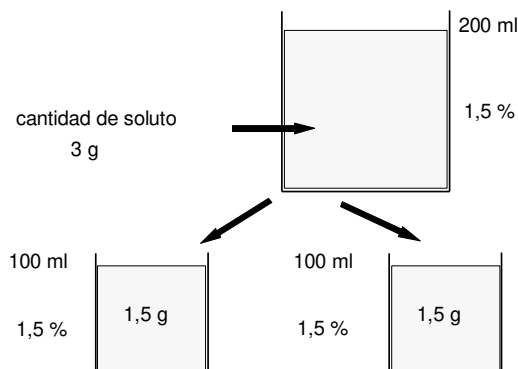


Figura 5. Proceso de fraccionamiento de una solución

Dilución vs disolución: diluir una solución o hacer una dilución es agregar agua a una solución ya preparada. Disolver un soluto o hacer una disolución es agregar solvente a un soluto o bien agregar soluto a un solvente.

Preparación de una solución estándar a partir de patrón primario.

Un patrón primario es una sustancia que tiene composición química conocida, contenido de impurezas analizado y rotulado y además es estable y no higroscópica. Habitualmente cuando preparamos una solución intentamos hacerlo a partir de este tipo de drogas, aunque su costo es mayor que el de otras sustancias.

Pasos para preparar una solución.

- 1- Definir las sustancias que se utilizarán como soluto y solvente
- 2- Definir la exactitud requerida en la concentración
- 3- Definir volumen y concentración de la solución
- 4- Elegir materiales

soluto

solvente

pipetas (necesarias si el soluto ya está en solución)

material volumétrico para la preparación (probeta, matraz aforado, vaso de precipitación)

piseta

balanza

espátula

embudo

estufa

cristalizador

elementos para rotular de manera segura la solución

Ejemplo de preparación de una solución.

Debo preparar un estándar de NaF 1900ppm. Tener en cuenta los siguientes ítems.

◆ Definir sustancia: ver droguero la existencia de la droga: NaF. Puede haber diferentes opciones que se deberá decidir en función del tipo de solución. En este caso se trata de una solución estándar, por lo que la pureza de la droga a utilizar deberá ser considerada.

◆ Definir exactitud de la concentración, en este caso 1900ppm. Las soluciones que actuarán como estándar deben ser preparadas a partir de patrones primarios, es decir drogas de calidad conocida, impurezas detalladas y estabilidad reconocida. En este caso, la solución a preparar actuará como estándar para construir una curva de calibración para medidas de fluoruro en muestras biológicas. La exactitud y precisión debe ser máxima.

◆ Definir volumen. El volumen se preparará en base a tres consideraciones:

¿Cuánto voy a utilizar? Se debe analizar el caso particular de uso. El NaF 1900ppm se utilizará como testigo en una curva de calibración. Supongamos que cada vez que se mide se utilizan 0.2ml. Por lo tanto si preparáramos 100ml tendríamos para 500 determinaciones. Considerando además que a partir de esta solución puedo preparar por dilución los otros estándares, 100ml sería un volumen adecuado. Midiendo 1-2 veces por semana tendríamos solución para 1-2 años.

¿Qué estabilidad tiene la solución preparada? El NaF en agua es estable, aun más en esta concentración ya que el NaF es un inhibidor de vías metabólicas como la glucólisis. Es poco probable que se contamine. Además a pH neutro y en frasco plástico es más estable aun, ya que aunque lentamente el fluoruro puede reaccionar con el vidrio.

¿Qué elementos tengo para prepararla? He decidido preparar 100ml. Dispongo de material adecuado?

◆ Elección del material

la solución actuará como testigo. La pureza de la droga debe ser la máxima y conocida.

Utilizaré matraz aforado

balanza apreciación 0.0001g

recipiente para pesar y espátula

embudo

piseta

agua destilada

recipiente para colocar la solución preparada

elementos de rotulación

estufa

cristalizador

Proceda según se indica en los pasos siguientes:

1- Busque en el droguero la sustancia

2- Observe la pureza

3- Haga los cálculos de la cantidad a pesar

- 4- Coloque una cantidad ligeramente mayor en un cristizador y colóquelo en una estufa durante 1h a 105°C con el fin de eliminar posibles vestigios de agua.
- 5- Retire del horno y pese la cantidad deseada en la balanza adecuada.
- 6- Pase con una piseta con agua a través de un embudo al matraz aforado. El embudo debería tener un vástago que sea más largo que el aforo del matraz utilizado.
- 7- Agregue agua a través del embudo sin mojar las paredes.
- 8- Cuando esté cerca del aforo, retire el embudo sin mojar paredes.
- 9- Afore con pipetas, sin mojar las paredes del vástago del matraz.
- 10- Tape
- 11- Agite por inversión
- 12- Tome el recipiente de almacenaje que debe estar escrupulosamente limpio y seco.
- 13- Coloque un pequeño volumen de la solución en él. Enjuague el recipiente y descarte esa solución.
- 14- Coloque el resto de la solución.
- 15- Rotule claramente con una etiqueta y método que no se borre por contacto con agua.
- 16- Tape y guarde de acuerdo a la conveniencia.

Preparación de soluciones a partir de drogas impuras

Ya se han visto las formas de preparación de soluciones y la forma de obtener una solución ya sea a partir de una droga sólida o de una solución stock.

A continuación desarrollaremos los recaudos a tener a la hora de preparar una solución a partir de una sustancia impura o a partir de drogas de baja estabilidad.

Llamamos droga impura a aquella que tiene un porcentaje de impurezas conocidas, de tal manera que la droga que nos interesa no es el 100% de la masa. Para preparar una solución deberemos tener en cuenta dichas impurezas. Si una droga es impura pero no se conoce su porcentaje de pureza no es apta para la preparación de soluciones, en particular si éstas serán utilizadas como patrones.

Ejemplos

- Preparar 200ml de una solución de NaCl al 2%P/V, a partir de una droga de 98 % de pureza.

¿Qué implica el 98% de pureza?

Indica que cada 100g de la droga solo 98g son de NaCl

Procedamos al cálculo entonces

100ml debemos tener 2g NaCl

como deseo preparar

200ml deberemos tener x = 4g NaCl

La droga que disponemos contienen

98g de NaCl están contenidos en 100g de la droga

4g de NaCl que necesitamos.... estarán contenidos en $x = 4.08g$ de droga

Por lo tanto deberemos pesar 4.08g de la droga, colocarlos en 200ml de solución y de esta manera la solución tendrá una concentración de NaCl del 2% P/V

- Deseamos preparar 500ml de una solución 1%P/V de $MgCl_2$, y lo haremos a partir de una droga de 100% de pureza pero que la sustancia es $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. En este caso la sustancia a utilizar se conoce como hidrato, que es una sustancia que tiene un número conocido de moléculas de agua. En este caso la sustancia se llama cloruro de magnesio hexahidratado

peso molecular del $MgCl_2$: 95

peso molecular del $MgCl_2 \cdot 6H_2O$: 203

100ml debemos tener 1g de $MgCl_2$

500ml tendremos $x = 5g$ de $MgCl_2$

como

95g de $MgCl_2$ están contenidos en 203g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$

5g de $MgCl_2$ estarán contenidos en $x = 10.68g$ de sal hexahidratada

Por lo tanto colocaremos 10.68g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ en 500ml de solución y la misma tendrá una concentración de 1% P/V.

- Deseamos preparar 500ml una solución 0.4% P/V de NaOH y disponemos de una droga cuya pureza no conocemos pero tenemos cierta aproximación. En estos casos se debe preparar la solución y luego titularla con una sustancia de pureza conocida y estable.

Supongamos que partimos de un hidróxido de sodio que aproximadamente es un 80% de pureza.

100mldebemos tener 0.4g de NaOH

500ml tendremos $x = 2g$ de NaOH

teniendo en cuenta la pureza

80g de NaOH estarán en 100g de la droga

2g de NaOH estarán en: 2.5g de droga.

Pesamos entonces 2.5g de la droga y los colocamos en 500ml de solución. De esta manera es aproximadamente 0.4% P/V.

Ahora la titularemos con un patrón primario. Para este caso se suele utilizar el biftalato de potasio. Supongamos que tenemos esta droga con 100% de pureza (peso molecular 204.22)

Nuestra solución tiene 0.4g en 100ml.

La reacción que se produce es

biftalato de potasio + NaOH -----> ftalato de sodio y potasio + agua

204.22g 40g

si quisiéramos hacer reaccionar 1ml de nuestra solución, ¿cuanto biftalato requeriríamos?

100ml de NaOH..... contienen aprox..... 0.4g

1ml contienen $x = 0.004g$
 como
 40g de NaOH reaccionan con 204.22g
 0.004g reaccionarán con $x = 0.020422g$ de biftalato.

Entonces pesamos esa cantidad, la colocamos en un vaso de precipitación y agregamos nuestra solución controlando el volumen, hasta que el $pH = 7$. En ese punto, la reacción habrá sido completa y controlamos el volumen gastado.

Supongamos que gastamos 0.93ml

Entonces

0.93ml tenemos 0.004g
 100ml tendremos $x = 0.43g$
 por ende nuestra solución tiene una concentración de 0.43% P/V

Práctica

¹⁸⁾ Se disuelven 5g de HNO_3 (peso molecular 63) en 3500ml de agua. A esta solución se le agrega agua hasta un volumen final de 7500ml. Calcular la M de la solución final.

¹⁹⁾ Se disuelven 0.55moles de HCl (peso molecular 36.5) en 700ml de agua. Calcular la concentración de la solución final expresada en g% .

²⁰⁾ Calcular la molaridad de la solución que se obtiene al disolver 0.8 equivalentes de $Ca(OH)_2$ en 1500ml de agua. Peso molecular $Ca(OH)_2 = 74$.

²¹⁾ Calcular la Normalidad de la solución que se obtiene al disolver 0.8g de KOH en 500ml de agua. Peso molecular KOH= 56.

²²⁾ Hallar la normalidad de una solución de ácido sulfúrico puro que tiene una densidad de 1.84g/ml y una concentración de 96 %P/P.

18 0,0106 M

19 2.87 g%

20 0,267 M

21 0,029 N

22 36.05 N.

CURVA DE CALIBRACIÓN

Rigalli A

Una curva de calibración es un procedimiento que nos permite hallar una función o ecuación matemática que relaciona dos variables, habitualmente una que se mide en un instrumento (variable dependiente) y otra conocida como la concentración de estándares o patrones (variable independiente). Tiene como objetivo poder conocer el valor de una de ellas midiendo la otra. Habitualmente la función que se utiliza es la ecuación lineal, a través de la cual la relación entre las variables puede ser ajustada por una recta. No es el único tipo de relación que se utiliza, aunque sí el más común. Sin embargo, no siempre hay que hallar esa función ya que hay curvas de calibración incorporadas en ciertos instrumentos, incluso de la vida cotidiana, como por ejemplo un vaso medidor de cocina y una regla, entre otros ejemplos.

Entonces, ¿Por qué algunas técnicas requieren curva de calibración y otra no? La respuesta es sencilla. Si la variable que queremos medir no la podemos medir directamente sino a través de una propiedad relacionada requeriremos una curva de calibración.

Un concepto fundamental para la interpretación y construcción de curvas de calibración es el de solución estándar o patrón, que es una solución con una concentración conocida.

A continuación se explica como se construye una curva de calibración utilizando como ejemplo la construcción de un vaso medidor, Figura 1. Buscamos cuatro recipientes de capacidad conocida, en este caso: 1000, 750, 500 y 250ml, colocamos cada uno en lo que será nuestro jarro medidor y hacemos una marca, indicando dicho volumen, así luego de repetir el proceso con cada uno de los recipientes, nos quedará un jarro medidor.

CURVA DE CALIBRACIÓN

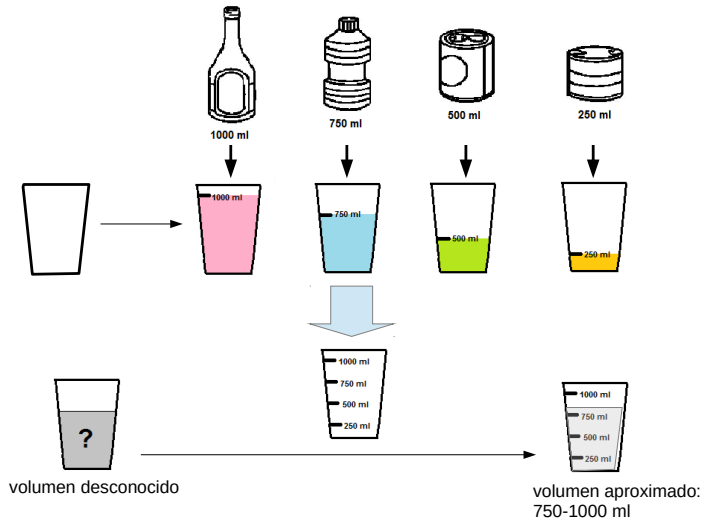


Figura 1. Construcción de un vaso medidor. Proceso de calibración.

De esa forma queda construido un vaso medidor como el que muestra la Figura 1. Ahora podremos calcular el volumen de un recipiente cualquiera volcando su contenido en el vaso graduado. En este caso hay dos propiedades, una que deseamos medir el volumen y otra la altura en el vaso medidor. Es claro que esta altura está relacionada al volumen de manera directa. Los recipientes de volumen conocido serían nuestros estándares, en los cuales ya conocemos su valor. Para obtener el valor de un volumen desconocido vamos a colocar dicho volumen en el vaso medidor que generamos y así conocer el valor de la altura y calcular el volumen correspondiente. En el laboratorio las curvas de calibración se suelen construir cuando realizamos mediciones del tipo:

- ◆ Espectroscópicas: es la medición de una propiedad de la luz, como la absorbancia (cuanta luz absorbe la solución). Ejemplos de medición son Arsénico y Calcio.
- ◆ Potenciométricas: miden un voltaje (por lo general en milivoltios o mV) para estimar una concentración. Ejemplo de esta medición es la de fluoruro.

Ejemplos

- ◆ Curva de calibración para medida de fluoruro. Variable conocida: concentración de fluoruro de los estándares. Variable medida: milivoltios medidos con el electrodo específico para fluoruro.
- ◆ Curva de calibración para medida de calcio por absorción atómica. Variable conocida: concentración de calcio de las soluciones estándar. Variable medida: absorbancia obtenida con el espectrofotómetro de absorción atómica.
- ◆ Curva de calibración para medida de glucosa por espectrofotometría. Variable conocida: concentración de las soluciones estándar. Variable medida: absorbancia.

◆ Curva de calibración para medida de arsénico: variable conocida: concentración de Arsénico de los estándares. Variable medida: absorbancia

Pasos para construir una curva de calibración

1. Preparación de soluciones de concentración conocida, a las que llamamos soluciones estándar o patrón. Generalmente se utilizan entre tres y seis soluciones estándar además del blanco. En un método simplificado, aunque no es recomendable podría utilizarse el blanco y una sola solución patrón.
2. Medición de una propiedad de esa solución: mV, transmitancia o absorbancia. Si bien podría haber otras variables medidas estas son las más comunes.
3. Ajuste de una función a los puntos obtenidos experimentalmente.

Hemos dicho que la función más comúnmente utilizada en la construcción de una curva de calibración es la función lineal. Para obtener esta función utilizamos la regresión lineal que es un método que nos permite obtener la ecuación de una recta que ajuste valores experimentales.

Una línea recta puede representarse matemáticamente por una ecuación que tiene dos parámetros: a: pendiente y b: ordenada al origen. Si nuestros datos son pares de valores (x,y), la ecuación de la recta se escribe

$$y = a * x + b$$

Ecuación 1.

Hay diferentes recursos para obtener la función lineal, el procedimiento se conoce como regresión lineal y se puede hacer con planillas de cálculo o bien utilizando softwares específicos. Existen diferentes planillas de cálculo que se pueden utilizar, por ejemplo EXCEL para usuarios de Windows o bien CALC para usuarios de Linux, aunque no son las únicas disponibles. Entre los software conocidos tenemos R u otro software de manejo de datos estadístico como PRISMA, SigmaPlot, STAT, etc.

A continuación se describe el proceso de construcción de una curva de calibración para una medición de arsénico a través de una técnica espectroscópica, utilizando una planilla de cálculo (EXCEL):

Tenemos muestras de agua de consumo de las cuales necesitamos conocer la concentración de arsénico. Para esto es necesario realizar la curva de calibración la cual tendrá valores estándares de concentración de arsénico que abarquen las concentraciones que suponemos tienen las muestras que deseamos medir. El límite máximo de concentración en agua de consumo permitido por la OMS es de 0.01mg/l o 10ppb. Los estándares que se utilizan habitualmente para la construcción de una curva de calibración son 0ppb, 10ppb, 50ppb, 100ppb y 200ppb.

La técnica utilizada para la medición de arsénico es espectrofotometría visible empleando como reactivo el dietilditiocarbamato de plata (AgDEDTC). Con dicha técnica se obtienen valores de absorbancia que determinan la concentración de arsénico

CURVA DE CALIBRACIÓN

de nuestros estándares con los cuales realizaremos nuestra curva de calibración trabajando en una planilla de cálculo (EXCEL).

Para la construcción de una curva siempre utilizamos la absorbancia porque mantiene una relación lineal con la concentración la cual no es así en la transmitancia. Teniendo en cuenta esto cuando medimos en transmitancia debemos convertirla en absorbancia. La relación entre ambas es de tipo logarítmica inversa.

Absorbancia = $-\log(\text{Transmitancia}/100)$

A continuación se muestra el procedimiento de obtención de los valores de concentración de arsénico para la realización de la curva de calibración. En la tabla siguiente se muestran los valores de concentración de las soluciones estándar para la construcción de la curva de calibración, así como los valores medidos de transmitancia y las absorbancias obtenidas.

<i>Arsénico, ppb</i>	<i>Transmitancia</i>	<i>Absorbancia</i>
0	100	0
10	98	0.009
50	52	0.284
100	38	0.420
200	8	1.097

Utilizando la tabla anterior se construye un gráfico de dispersión con los valores de absorbancia en el eje Y y la concentración de los estándares en ppb, en el eje X. Dentro del gráfico se selecciona agregar línea de tendencia, presentar ecuación y mostrar el valor de R^2 .

Para estos valores la ecuación que nos presenta es: $y = 0.011x + 0.228$

Ahora para saber la concentración de arsénico de nuestras muestras lo que necesito es despejar X de la ecuación: $x = (\text{abs muestra} - 0.228) / 0.011$.

En la tabla siguiente se muestran los valores de transmitancia y absorbancia de dos muestras y la correspondiente concentración de arsénico

<i>Muestras</i>	<i>Transmitancia</i>	<i>Absorbancia</i>	<i>As, ppb</i>
A4	28	0.552	108
A15	63	0.201	43

En nuestro laboratorio, actualmente, el cálculo de la concentración a partir de la medición espectroscópica de la transmitancia se realiza automáticamente en un software creado bajo el entorno de R, en el que solo cargamos los datos de transmitancia de cada muestra medida.

Como otro ejemplo, se explica construcción de una curva de calibración para una medición de flúor por potenciometría utilizando una planilla de cálculo EXCEL. En el ejemplo que se desarrolla tenemos cinco muestras de agua de consumo humano de la provincia de Santa Fe en las que se desea conocer la concentración de fluoruro. Para construir la curva de calibración que permita conocer la concentración de fluoruro de dichas muestras necesitaremos cuatro soluciones estándares con concentraciones que abarquen los valores que sospechamos poseen las muestras a medir. Téngase presente

CURVA DE CALIBRACIÓN

que el límite máximo permitido para agua de consumo es de 1.5ppm. De esta manera los patrones a usar serán: 8 ppm, 1.9ppm, 0.8ppm y 0.19ppm. El instrumento empleado para la medición de fluoruro es un electrodo de ion específico y la técnica se denomina potenciometría directa.

Con el electrodo se miden las 4 soluciones estándares y las 5 muestras de la provincia de Santa Fe. El valor que arroja este instrumento se expresa en milivoltios (mV) y se muestran en la siguiente tabla:

<i>TUBO</i>	<i>mV</i>
<i>8</i>	<i>3197</i>
<i>1.9</i>	<i>3754</i>
<i>0.8</i>	<i>4119</i>
<i>0.19</i>	<i>4568</i>
<i>MUESTRAS</i>	
<i>1</i>	<i>3765</i>
<i>2</i>	<i>4207</i>
<i>3</i>	<i>3271</i>
<i>4</i>	<i>3398</i>
<i>5</i>	<i>3838</i>

Luego, específicamente para el cálculo de la concentración de fluoruro, es necesario calcular el logaritmo de las concentraciones de los estándares, pasando los datos a una planilla de cálculo, Figura 2

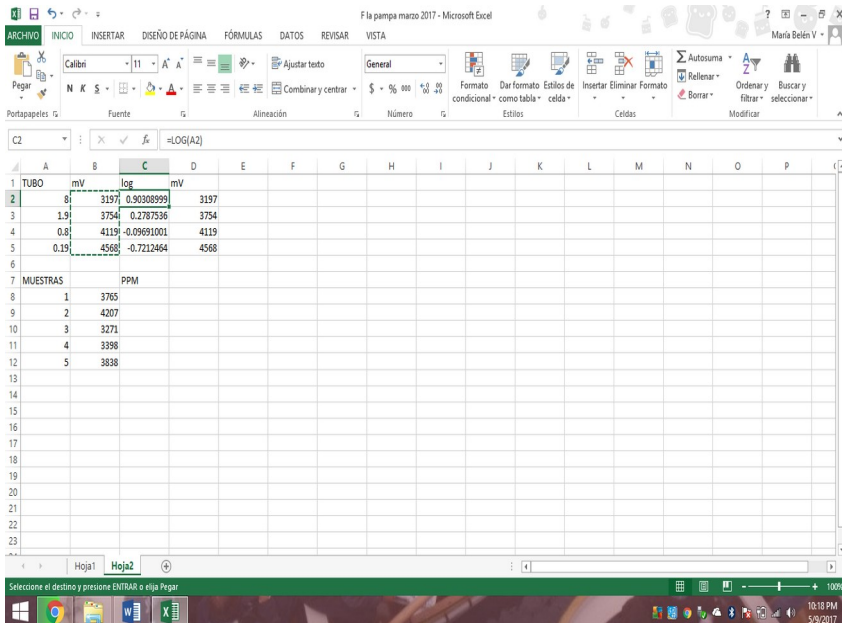


Figura 2. Planilla de cálculo con los datos para calcular la concentración de fluoruro

CURVA DE CALIBRACIÓN

Luego, con los mV medidos en las soluciones estándar y el logaritmo de la concentración de las mismas se construye un gráfico de dispersión, donde el logaritmo de la concentración será el eje x y los mV medidos serán el eje y (lo que explica la disposición en la tabla ya que la columna izquierda representa la x y la derecha al ejeal y). Se seleccionan los valores de las columnas “log” y “mV”; se clickea la pestaña INSERTAR; dentro de los gráficos se elige el gráfico de dispersión, Figura 3.

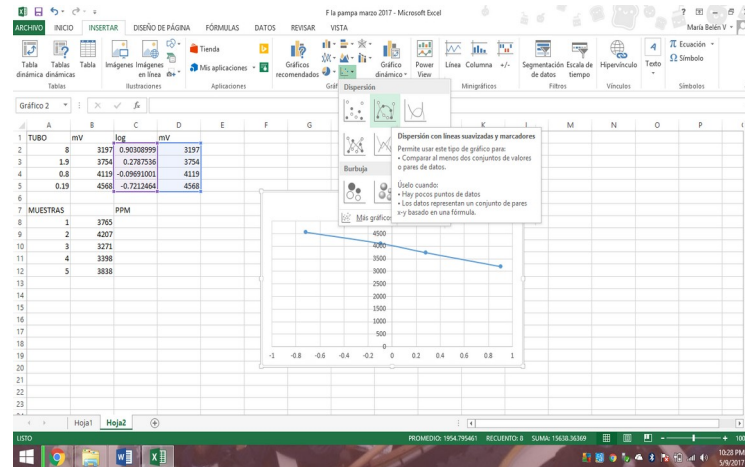


Figura 3. Procedimiento para obtener curva de calibración con excel

Luego a la gráfica se le agrega línea de tendencia y sobre ella se hace click para que aparezca la opción de mostrar ecuación de la gráfica, Figura 4

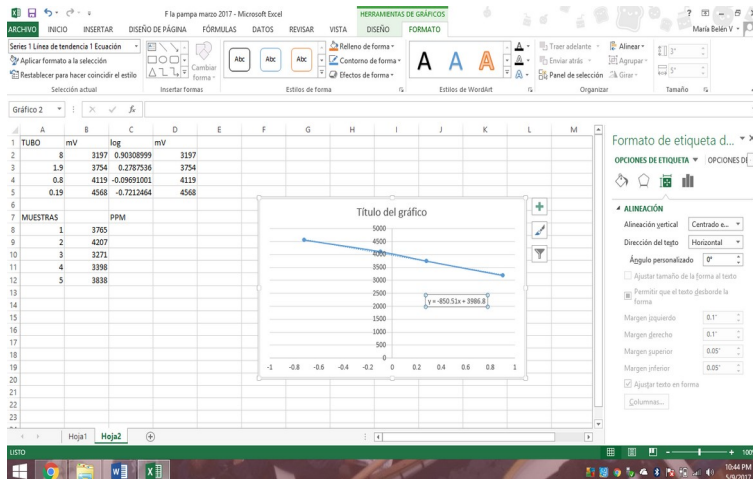


Figura 4. Obtención de ecuación de la recta

La ecuación es: $y = -850.51x + 3986.8$

CURVA DE CALIBRACIÓN

Lo que necesito para conocer la concentración de las muestras es despejar la variable x de la ecuación variando la variable y que son los mV medidos para cada muestra y considerando que de la concentración considerábamos su logaritmo:

$$x=10^{\frac{(y-3986.8)}{(-850.51)}}$$

Esa ecuación la aplicamos en la columna de PPM, Figura 5.

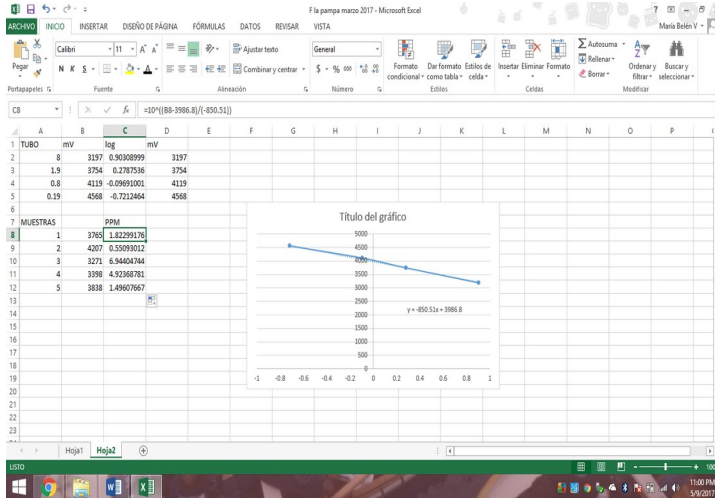


Figura 5. Cálculo de la concentración de soluciones con planilla de cálculo

Por último se expone un ejemplo de una curva de calibración para la medición de calcio. La primera columna muestra la propiedad conocida de los estándares, que es su concentración expresada en $\mu\text{g/ml}$. La segunda columna contiene los valores de transmitancia medida en el equipo (T%). La tercera, muestra la absorbancia que es una variable calculada a partir de la transmitancia y su función es obtener una relación con los $\mu\text{g/ml}$ a través de una función lineal

$\mu\text{g/ml}$	T%	abs	REGRESIÓN LINEAL
0	100	0	pendiente ordenada origen
3	81,5	0,088842391	0,02576082
5	73,1	0,136082623	
10	52,5	0,279840697	
25	25,2	0,598599459	
36	11,2	0,950781977	

Se muestra también el resultado de la regresión lineal: pendiente: 0.0258 y la ordenada al origen, que en este caso es cero.

Interpolación

Se entiende por interpolación al proceso de cálculo de una de las dos variables utilizando valores de la variable medida que caigan en el rango de los valores de los estándares. De

CURVA DE CALIBRACIÓN

hecho en los casos explicados anteriormente para calcular las concentraciones utilizando una curva de calibración hemos realizado interpolaciones. La interpolación en la curva de nuestro ejemplo se realizaría siempre y cuando la absorbancia medida se halle en el rango 0.0888 – 0.95 o la concentración en el rango: 0-36 $\mu\text{g/ml}$.

Si tenemos una solución cuya concentración desconocemos, podemos fácilmente medir su absorbancia. En Figura 6 se explica esta situación. Si el valor medido de absorbancia es por ejemplo 0.8, con este valor interpolamos en la gráfica y obtenemos el valor de la concentración, el cual era desconocido para nosotros.

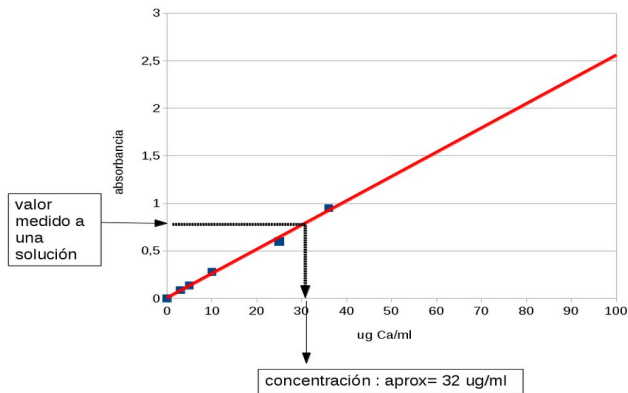


Figura 6. Ejemplo de interpolación para hallar un valor desconocido

Este cálculo puede ser fácilmente hecho sin necesidad de la gráfica sino utilizando los parámetros de la regresión lineal. Pendiente = 0.0258, ordenada al origen= 0
concentración = (absorbancia muestra – ordenada al origen)/pendiente
concentración = (0.8- 0)/0.0258 = 31 $\mu\text{g/ml}$

Extrapolación

La extrapolación es el proceso en el cual calculamos una concentración utilizando valores fuera de la curva de calibración.

Por ejemplo si tuviéramos una absorbancia= 2, el cálculo sería
concentración = (absorbancia muestra – ordenada al origen)/pendiente
concentración = (2- 0)/0.0258 = 77.51 $\mu\text{g/ml}$
y a través de Figura 7 vemos el mismo resultado

CURVA DE CALIBRACIÓN

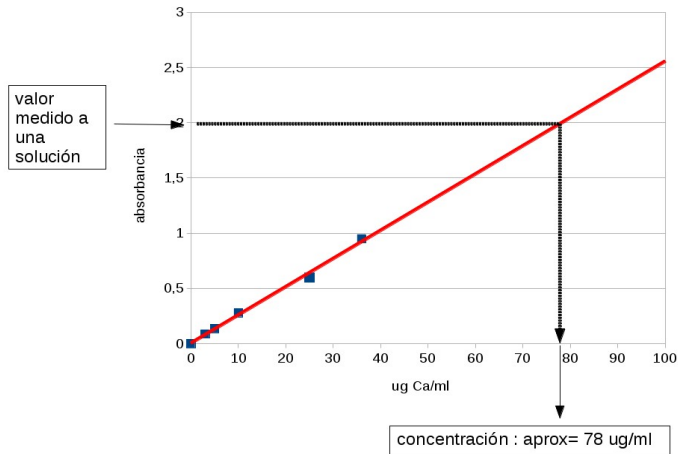


Figura 7. Ejemplo de un caso de extrapolación o cálculo fuera del rango dinámico.

Nos preguntamos cuan correcto es este procedimiento. Al parecer es igual que el aplicado en la interpolación. Sin embargo podríamos tener un gran error, dado que estamos suponiendo que se está siguiendo la misma relación lineal que tenía hasta valores de 36 $\mu\text{g/ml}$. Si dicha relación no fuera así, podríamos estar cometiendo severos errores.

Por ejemplo, en la Figura 8 se muestra una extrapolación pensando en que el comportamiento lineal se mantiene, aun cuando en la realidad no lo fuera. En este caso vemos que la medida asumiendo que el comportamiento se mantiene, sobre-estima el valor real de la solución. También podría haber ocurrido una subestimación si la desviación de la curva hubiera sido hacia abajo de de la recta de calibración.

CURVA DE CALIBRACIÓN

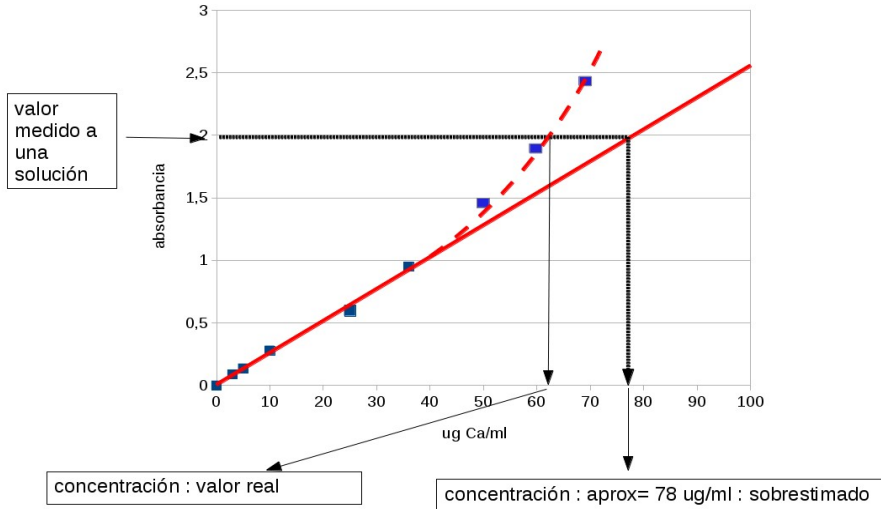


Figura 8. Interpolación con curva lineal, cuando no lo es.

Conclusión: nunca se debe extrapolar. Cuando un valor de absorbancia cae fuera de la curva se debe diluir la muestra o poner menor volumen de manera que la medida caiga en el rango de las absorbancias de los estándares.

Límite de detección

Se entiende por límite de detección el valor de la concentración por debajo del cual la variable medida da siempre un valor constante.

Cuando se realiza una curva de calibración es usual trazar la recta de regresión desde cero. Pero en realidad no sabemos si la variable medida sigue esa relación entre 0 y la menor concentración de los estándares. Para el caso de la curva de calibración para la medición de calcio, la concentración del menor estándar es 3 $\mu\text{g/ml}$, cuya transmitancia es 81% y la absorbancia 0.0888. Por ello si la absorbancia transmitancia de una muestra fuera mayor que 81% o lo que equivale a decir que la absorbancia fuera menor a 0.0888, no se debería calcular la concentración con la fórmula o por interpolación, sino informar el valor como de concentración $< 3 \mu\text{g/ml}$.

Si se deseara medir el real valor se podría proceder de las siguientes maneras.

- ◆ Colocar mayor cantidad de muestra y luego del cálculo tener en cuenta el volumen utilizado
- ◆ Agregar testigos entre el valor 0– 0.0888.

CURVA DE CALIBRACIÓN

- ◆ Concentrar las muestras con alguna metodología acorde a la sustancia a medir.

PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN

Rigalli A

El proceso de medición es una práctica habitual, necesaria y elemental de un trabajo de investigación. Si lo que se estudia no se puede medir por alguna metodología carecerá de posibilidades de análisis. A la hora de realizar una medición nos tenemos que hacer diversas preguntas y hallar rápidamente la respuesta para encarrilar el proceso.

◆ **Característica de la variable que debemos medir**

La variable que mediremos puede ser continua, como por ejemplo la concentración de arsénico en agua, la acidez titulable de una gaseosa, etc. También puede tratarse de una variable cualitativa, como la cantidad de individuos que consumen una determinada gaseosa en una población, la presencia o no de fluorosis, etc.

◆ **El instrumento que disponemos para la medición.** Tener definida la o las variables que mediremos debe ir acompañado de instrumentos adecuados que permitan realizar la medición con la precisión y exactitud requerida. Además de la disponibilidad de un equipo adecuado, tenemos que tener garantizados los insumos que el equipo demande para su uso y los correspondientes controles de calidad de su funcionamiento.

◆ **Cuando medimos una variable cuantitativa los instrumentos pueden utilizar diversas metodologías.** En un laboratorio de investigaciones biológicas las variables más comunes, sus metodologías e instrumentos se listan a continuación:

- concentraciones: técnicas espectroscópicas (espectrofotometría, fotometría de llama, espectroscopía de absorción atómica).
- concentraciones: áreas bajo la curva de cromatografías.
- concentraciones: densidades ópticas de bandas de electroforesis.
- concentraciones: titulaciones.
- concentraciones: potenciometría (electrodos).
- masas: gravimetría (balanzas)
- superficies y longitudes: software manejos de imágenes

◆ **Es importante tener claro qué variable se medirá y que relación guarda con la propiedad que deseo medir.** Por ejemplo si quiero medir la concentración de fluoruro en una solución, mediré el voltaje desarrollado por un electrodo. Si deseo medir la concentración de fosfato en agua, mediré la intensidad de un color desarrollado por un reactivo en presencia de fosfato. Si deseo medir la cantidad de un péptido en una muestra por cromatografía mediré el área bajo la curva de un trazado de voltaje en función del tiempo, etc.

◆ **Interferencias:** es importante considerar si la propiedad que mediremos es específica de la variable que deseamos estudiar. En otras palabras, debemos tener en cuenta si existen interferencias en nuestra medición. Un ejemplo sencillo de las interferencias es el que afrontamos cuando deseamos medir nuestro peso corporal. Al subirnos a una balanza, ésta arroja un valor de nuestro peso. Sin embargo, la balanza también mide la masa de todo otro objeto que tengamos ligado a nuestro cuerpo como vestimenta, reloj,

PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN

etc. En este caso la balanza es inespecífica y no puede medir exclusivamente nuestro peso. Como desarrollamos una metodología para pesarnos y eliminar las interferencias, deberemos proceder en el laboratorio con la técnica a desarrollar o aplicar.

- ◆ Disponibilidad de patrón, testigo o estándar de la sustancia a medir. Siempre que se realiza una medición se compara una propiedad medida en un estándar con la misma propiedad medida en la muestra. Disponer de un estándar, implica tener una sustancia de calidad analítica reconocida y confiable. Dichas sustancias se compran o bien pueden existir en el droguero de nuestro laboratorio. La disponibilidad de una sustancia no garantiza que la misma pueda servir como estándar. No es necesario que sea de alta pureza, sino más bien que su grado de pureza sea perfectamente conocido y que la estabilidad de la sustancia sea alta y conocida. No se puede utilizar como patrón una sustancia que se descompone con el transcurso del tiempo.

- ◆ Conocimiento del rango dinámico en que funciona nuestro equipamiento para medir la propiedad. Es decir entre que valores de variable en cuestión mi equipamiento muestra valores diferentes de la propiedad medida. Por ejemplo una balanza para medir el peso corporal de los pacientes. Supongamos que la escala marca de 0-120kg, es obvio que un paciente de 130kg medirá lo mismo que uno de 140kg. Quizás tampoco esta balanza me sirva para pesar algo que solo tiene una masa de 2g.

- ◆ Límite de detección de la técnica y valor de la variable que deseamos medir. El límite de detección es el menor valor que podemos medir con la metodología seleccionada. En general, si deseamos medir algo que está por debajo del límite, no lo podremos hacer directamente y necesitaremos otras metodologías asociadas.

- ◆ Sensibilidad de la técnica a utilizar y diferencias que puedo alcanzar entre los grupos experimentales que estudiaremos. Cuanto más diferencia haya entre dos valores de la propiedad medida para sus respectivos valores de la variable a medir, mayor es la sensibilidad de la técnica. Habitualmente podemos interpretarlo como el error aleatorio del instrumento. Por ejemplo si nuestro instrumento tiene un error aleatorio del 10% no podremos distinguir valores de la propiedad entre dos grupos si ellos no difieren en más del 10%. En caso que la sensibilidad del instrumento no sea la adecuada para el diseño experimental, se deberá corregir la metodología de trabajo. Para ello existen dos recursos básicos: Por un lado se puede disminuir el error del instrumento, si éste lo permite o se puede aumentar la diferencia entre los grupos experimentales.

Escalado de una técnica de medición

Escalar una técnica es adaptarla para medidas en la que la cantidad de muestra y reactivos utilizados varía, en general de manera proporcional. Cuando deseamos hacer una medición utilizamos un protocolo, que no es otra cosas que un detallado escrito de los pasos a seguir y las cantidades a utilizar de cada reactivo y muestra. Un protocolo equivale a una receta que utilizamos en la cocina para preparar algún sabroso plato. Muchas veces tenemos una receta para preparar un plato y como deseamos hacerlo más chico, utilizamos los mismos elementos, pero modificadas las cantidades de todos ellos

PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN

en una dada proporción. Si bien parece sencillo, no siempre es fácil en el laboratorio. Habitualmente escalamos una técnica de manera de utilizar menores volúmenes por razones de costos, comodidad o simplicidad. Rara vez el escalado se hace de manera de aumentar los volúmenes, aunque puede hacerse en general con el fin de ganar precisión en la medición y disminuir los errores aleatorios.. El escalado habitualmente se realiza manteniendo las relaciones de volúmenes, salvo situaciones muy especiales. A primera vista parecería no existir inconveniente, sin embargo veremos algunas situaciones en las que el escalado puede tornarse dificultoso.

Veamos una técnica comercial común hallada para la medida de glucosa. Esta técnica tiene el siguiente protocolo, planteado para un blanco, testigo y una muestra.

	volumen, μ l	volumen reactivo, ml	absorbancia 505 nm
blanco	0	1	0
testigo 1 (1g/l)	10	1	Abs testigo
muestra	10	1	Abs muestra

En esta sencilla situación no tendremos en cuenta el uso de una curva de calibración, sino que se realiza una regla de tres simple para el cálculo de la concentración de la muestra. De observar el protocolo surge que el volumen final es aproximadamente 1ml. Para la determinación requeríamos micropipetas que puedan medir volúmenes de 10 μ l hasta 1ml y un espectrofotómetro que requiera 1ml o menos de volumen. Queda claro que si las micropipetas disponibles no son capaces de apreciar volúmenes tan pequeños como 10 μ l o tan grandes como 1ml no podremos hacer la medición. Tampoco la podremos hacer si el espectrofotómetro requiere más de 1ml.

Supongamos disponemos de un espectrofotómetro que puede medir volúmenes de 1ml pero también puede medir con volúmenes tan pequeños como 0.2ml y por ende deseamos ajustar la técnica al volumen de 0.2ml. El nuevo protocolo surge directamente de dividir todos los volúmenes por un divisor común, en este caso 5. En esta situación el protocolo resultaría

	volumen, μ l	volumen reactivo, ml	absorbancia 505 nm
blanco	0	0.2	0
testigo 1 (1g/l)	2	0.2	Abs testigo
muestra	2	0.2	Abs muestra

Se nos pueden presentar diversos problemas que discutimos a continuación

◆ Problema 1: equipamiento. Con el escalado propuesto los requerimientos instrumentales son:

- micropipetas que pueda medir 2 μ l o más.
- micropipeta que pueda medir hasta 0.2ml.
- espectrofotómetro con cubeta que pueda medir 0.2ml.
- Si disponemos de dichos equipos, problema 1 solucionado.

PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN

◆ Problema 2: errores y su propagación.

Análisis 1: Cálculo con concentraciones

Analicemos la propagación de errores suponiendo que para calcular la concentración en lugar de una curva de calibración utilizamos solo regla de tres simple directa

Para calcular la concentración de la muestra se puede hacer el siguiente cálculo

Abs testigo 1g/l

Abs muestra $x = 1g/l * \text{abs muestra} / \text{abs testigo}$

En un calculo de este tipo, cuando el valor surge solo de productos y cocientes, el error relativo (E) se calcula como la suma de los errores relativos de los valores involucrados

$$E_{[muestra]} = E_{[testigo]} + E_{Absorbancia\ muestra} + E_{Absorbancia\ testigo}$$

El error relativo del testigo será el mismo independientemente del volumen utilizado

El error relativo de las absorbancias será el mismo ya que depende de la apreciación del instrumento y del valor medido. Si tenemos volúmenes mayores o menores no se vería afectado.

Por lo tanto parece ser que el E_R de la medición no estaría sujeto a problemas de escalado. Sin embargo, esta apreciación surge de pensar que no estamos cometiendo errores en el uso de las micropipetas, lo cual es falso.

Análisis 2: Cálculo con cantidades considerando los volúmenes de muestra y testigos

En la realidad la curva de calibración se debería realizar con las cantidades de testigos y no con las concentraciones. Realicemos nuevamente el cálculo utilizando regla de tres simple. En primer lugar hagamos los cálculos para el protocolo original cuyo volumen final es 1ml

	volumen, µl	volumen reactivo, ml	absorbancia 505 nm
blanco	0	1	0
testigo 1 (1g/l)	10	1	Abs testigo
muestra	10	1	Abs muestra

resolvámoslo de manera general. En primer lugar calculamos los gramos de testigo que se hallan en el segundo tubo

1000ml de testigo 1g/l

vol testigo gramos de testigo = $1g/l * \text{vol testigo} / 1000ml$ (1)

Con las absorbancias de testigo y muestra obtenemos los gramos de muestra en el tubo

abs testigo gramos de testigo

abs muestra gramos de muestra = gramos de testigo * abs muestra/abs testigo (2)

con el volumen de muestra hallamos la concentración de la muestra

vol muestra gramos de muestra

1000ml de muestra concentración muestra = gramos de muestra * 1000ml/vol muestra (3)

combinando todas las expresiones (2) y (3)

PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN

concentración muestra = (gramos de testigo * abs muestra/abs testigo) * 1000ml/ vol muestra (4)
según el cálculo (1)

gramos de testigo = $1\text{g/l} * \text{vol testigo} / 1000\text{ml}$

reemplazando (1) en (4) resulta

concentración muestra = $((1\text{g/l} * \text{vol testigo}/1000\text{ml}) * \text{abs muestra}/\text{abs testigo}) * 1000\text{ml}/\text{vol muestra}$ (5)

reacomodando la ecuación resulta

concentración muestra = $(1\text{g/l} * \text{vol testigo} * \text{abs muestra}) / (\text{abs testigo} * \text{vol muestra})$ (6)

Es decir que para calcular la concentración de la muestra involucramos valores de concentración de testigo

vol testigo

abs muestra

abs testigo

vol muestra

El error de la concentración surgirá de propagar el error. Como la concentración de la muestra surge solamente de productos y cocientes, el error relativo (E) de la concentración de la muestra será la suma de los errores relativos de los términos involucrados en el cálculo

$E(\text{conc muestra}) = E(\text{conc testigo}) + E(\text{vol testigo}) + E(\text{abs muestra}) + E(\text{abs testigo}) + E(\text{vol muestra})$

Si en ambas determinaciones utilizamos el mismo testigo y el mismo espectrofotómetro los E de dichos términos será iguales. Pero, ¿qué ocurre con el los E de los volúmenes?

Supongamos que la concentración del testigo la consideramos con ER=1

El espectrofotómetro mide valores que van de 0.000-1.000. La apreciación sería 0.001 por ende el $E = 0.001 * 100 / \text{Abs medida}$

Supongamos que para el testigo medimos Abs testigo = 0.250 y para la muestra Abs muestra= 0.500

los E serían

$E \text{ abs muestra} = 0.001 * 100 / 0.500 = 0.2\%$

$E \text{ abs testigo} = 0.001 * 100 / 0.250 = 0.4\%$

Si la pipeta utilizada para medir muestra y testigo fue la misma y es una micropipeta de 2-20µl que puede apreciar 1µl

$E \text{ vol muestra} = 1 * 100 / 10 = 10\%$

Reemplazando en la ecuación

$E(\text{conc muestra}) = E(\text{conc testigo}) + E(\text{vol testigo}) + E(\text{abs muestra}) + E(\text{abs testigo}) + ER(\text{ vol muestra})$

$E(\text{conc muestra}) = 1 + 10 + 0.2 + 0.4 + 10 = 21.6\%$

¿Qué ocurriría si utilizamos el protocolo escalado a 5 veces menos de volumen?

	volumen, µl	volumen reactivo, ml	absorbancia 505 nm
blanco	0	0.2	0
testigo 1(1g/l)	2	0.2	Abs testigo
muestra	2	0.2	Abs muestra

Suponiendo que utilizamos el mismo testigo y el mismo espectrofotómetro que permite medir el volumen de 0.2ml, serían los mismos errores para

concentración de testigo: 1%

PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN

$$E \text{ abs muestra} = 0.001 \cdot 100 / 0.500 = 0.2\%$$

$$E \text{ abs testigo} = 0.001 \cdot 100 / 0.250 = 0.4\%$$

¿Qué ocurre con las micropipetas? Supongamos que utilizamos la misma micropipeta

Si la pipeta utilizada para medir muestra y testigo fue la misma y es una micropipeta de 2-2 μ l que puede apreciar 1 μ l

$$E \text{ vol muestra} = 1 \cdot 100 / 2 = 50\%$$

Si ahora calculamos el E de la concentración de la muestra

$$E(\text{conc muestra}) = E(\text{conc testigo}) + E(\text{vol testigo}) + E(\text{abs muestra}) + E(\text{abs testigo}) + E(\text{vol muestra})$$

$$E(\text{conc muestra}) = 1 + 50 + 0.2 + 0.4 + 50 = 101.6\%$$

Conclusión

Al escalar una técnica debemos tener en cuenta al menos dos puntos

- ◆ Que los equipos nos permitan medir los volúmenes o cantidades involucradas.
- ◆ La propagación del error.

INSTRUMENTAL

Giordano M, Zago B

El instrumental de laboratorio es una de las partes claves de todo trabajo de investigación. El conocimiento de su funcionamiento así como su correcto manejo son claves para la correcta realización de un experimento y la confiabilidad de los resultados.

Las balanzas, centrífugas, estufas y micropipetas son elementos básicos de laboratorio que no escapan a ningún proyecto de investigación. Contrariamente otros instrumentos como espectrofotómetros, equipos de electroforesis, electrodos y contadores de centelleo, entre otros, son necesarios pero tienen aplicaciones más específicas.

Debido a esta extensa utilización en los proyectos, estos equipos deben ser controlados periódicamente, dado que su mal funcionamiento afecta al conjunto de las actividades realizadas en un laboratorio.

El instrumental básico del laboratorio se puede clasificar en:

material de vidrio: tubos, balones, Erlenmeyers, matraces

1. Agitadores y Vortex
2. Centrífugas
3. Equipos de medición: espectrómetros, electrodos, balanzas
4. Material volumétrico: probetas, matraces aforados, bombas infusión, pipetas

Dentro de las pipetas tenemos diferentes tipos

- 1- pipetas de vidrio
- 2- pipetas automáticas

Las pipetas de vidrio pueden ser graduadas y aforadas, pudiendo medir volúmenes variables o fijos respectivamente. Con las pipetas automáticas pasa lo mismo, aunque se prefiere las de volumen variable. En el laboratorio habitualmente referimos a las pipetas automáticas como micropipetas.

Micropipetas

Las micropipetas son dispositivos de medida de volumen fijo o regulable. Estos instrumentos permiten dosificar volúmenes muy exactos y con gran rapidez, minimizando las contaminaciones de reactivos y optimizando las actividades. Son instrumentos muy costosos y su correcto uso es clave para que el instrumento tenga una larga vida y los resultados hallados sean confiables.

Básicamente se trata de una especie de jeringa con un botón donde a través de presión se succiona o emite un volumen. Este mismo botón es habitual que sirva para fijar el volumen que se podrá observar en una ventana lateral de la micropipeta. En el otro extremo tiene un sitio donde se coloca una punta de plástico llamada tip, Figura 1.

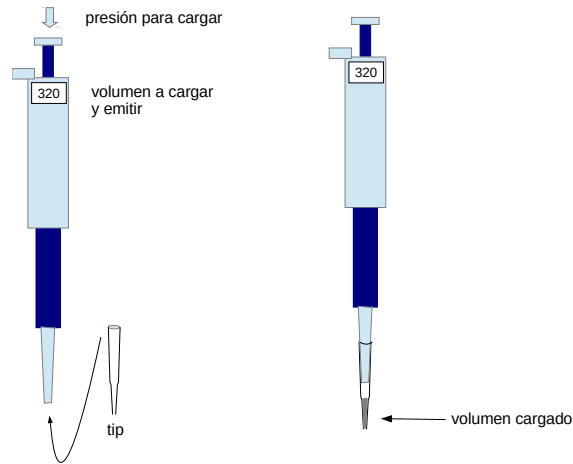


Figura 1. A la izquierda micropipeta esquemática con su tip. A la derecha micropipeta armada con el tip y el volumen de líquido ya cargado para su emisión.

Precauciones para su uso:

- ◆ **Volumen:** al utilizar una micropipeta debe asegurarse que ha interpretado adecuadamente el volumen que emite y qué tip se debe utilizar. El volumen puede estar escrito en el costado o en la parte superior. En algunos casos se indica la unidad y en otros no. Por ejemplo si la indicación es 200-1000, se sobreentiende que el volumen está expresado en microlitros (μl) y es regulable entre esos volúmenes.
- ◆ **Apreciación.** La apreciación es la menor división que puede medir. Para las pipetas de volumen fijo, no existe este valor. Para las de volumen variable sí. En estas pipetas la apreciación se puede observar en la ventana que muestra los números que cambian al girar en un sentido o el contrario, el botón superior, que se utiliza para cargar y para emitir el volumen. Por ejemplo: si al girar el botón, el número cambia de 23 a 24 y la pipeta tenía un rótulo 10-50. Este último nos indica que sirve para emitir volúmenes entre 10 y 50 μl y que la apreciación es 1 μl .
- ◆ **Carga y descarga del volumen.** La mayoría de las micropipetas en uso tiene dos toques al oprimir el botón de la parte superior. Para la carga se deben seguir los siguientes pasos:
 1. Asegurarse de haber elegido la pipeta adecuada al volumen y apreciación.
 2. Asegurarse de haber elegido el tip adecuado y que haya sido bien colocado. Si quedara flojo pueden cometerse errores en el volumen medido.
 3. Destapar el recipiente de donde obtendrá el volumen de líquido a emitir.
 4. Sin haber sumergido el tip en la solución, presionar el botón hasta el primer toque.
 5. Sumergir el tip en la solución. Solo tiene que tomar contacto con la solución el tip.
 6. Observando la posición del tip en la solución, soltar suavemente el botón de manera de absorber la solución, la que quedará en dentro del tip, Figura 1.

7. Retirar la micropipeta con el volumen cargado. Si quedara alguna gota externa de líquido eliminarla tocando el borde interno de la boca del frasco o bien secarla con un papel absorbente. (no tocar con el papel la punta, ya que absorberá parte del contenido interno).

8. Colocar el tip en el recipiente que recibirá el volumen. No tocar la solución existente en el recipiente (Hay situaciones especiales donde si debe hacerse esto). Puede descargarse tocando la pared del recipiente o no, dependiendo de la situación. Asegurarse en cada caso.

9. Presionar lentamente el botón hasta el primer tope. Cuando más viscoso el líquido más lento se debe oprimir el botón.

10. Presionar rápidamente el botón hasta el segundo tope, eliminando el líquido remanente en la punta del tip.

11. Retirar la micropipeta del recipiente, descartar el tip con el botón de eliminación de tip, en caso que la micropipeta lo posea. Sino, eliminarlo manualmente.

◆ Precisión y exactitud de las micropipetas. A diferencia de otros equipos utilizados en el laboratorio, estos no tienen un QC y no se calcula el CV%. ¿Cómo puede ser tratándose de un instrumento tan importante en el laboratorio? Muy sencillo, hay alguien que lo hace por usted a intervalos de tiempo establecidos.

Si usted sospecha que la precisión y/o la exactitud no son las adecuadas, se debe sacar de circulación y comunicar el problema.

Aunque existe un encargado del control de la micropipetas es bueno saber como se hace dicho control.

Cálculo de la precisión. Se utiliza una balanza analítica de apreciación 0.1mg. Para algunos casos especiales podría requerirse otra apreciación.

Se pesa un contenedor vacío y luego se va agregando agua destilada con la micropipeta y se toma cada peso. Se repite este procedimiento al menos cinco veces. Veamos un ejemplo. Supongamos que probamos precisión y exactitud de una micropipeta Boeco 100-1000. En el caso de las micropipetas regulables podemos hacer la prueba para diversos volúmenes, siendo lo más común que se pruebe en un volumen medio, por ejemplo 500ul. Con la balanza obtenemos los siguiente datos y se tiene en cuenta que la densidad del agua es 0.99829 g/ml

	Gramos	Gramos agua	Volumen (ml)
Contenedor vacío	2,6217		
Contenedor + 1 pipeteada	3,1266	0,5049	0.5157
Contenedor + 2 pipeteada	3,6345	0,5079	0.5087
Contenedor + 3 pipeteada	4,1432	0,5087	0.5095
Contenedor + 4 pipeteada	4,6508	0,5076	0.5084
Contenedor + 5 pipeteada	5,1603	0,5095	0.5103
SD			0.00174
Media			0.50852
Precisión (CV%)			0.34241

Exactitud			98.29600
-----------	--	--	----------

En este caso el CV% se calcula como

$$CV\% = \frac{\text{desvío estándar} * 100}{\text{media}}$$

y la exactitud con la fórmula

$$\text{Exactitud} = 100 - \frac{\text{ABS}(\text{volumen elegido} - \text{media} * 1000) * 100}{\text{valor de volumen elegido}}$$

Una micropipeta será considerada apta para su uso si el CV% que estima la precisión es menor al 10% y si la exactitud es superior a 90. En el caso de que una de estas dos no se encuentre dentro de esos parámetros, hay que retirarla de circulación, colocarla en el Kit de Reparación de Micropipetas e informar al director del laboratorio y a los responsables del control, para su posterior revisión.

◆ Cuidados de la micropipeta:

1. No las golpee. Si se le cayó o golpeó la micropipeta, avise al encargado de la calibración o a su superior.
2. Maneje los tips como se debe de acuerdo al lavado o descarte. Si bien el uso y descarte de tips puede variar, actualmente los tips azules y amarillos se descartan luego del uso. Contrariamente los tips blancos tienen recipientes para lavado. En general el descarte o la reutilización de los tips depende de la disponibilidad y costo de los mismos.
3. Aspirar la solución con lentitud con el tip dentro de la misma, y mantener la micropipeta en vertical, ya que el líquido siempre debe quedar en el tip y no llegar hasta la micropipeta. De no ocurrir esto puede introducirse líquido dentro de la micropipeta. En este caso, comuníquelo a su superior o el responsable, ya que este instrumento deberá ser desarmado inmediatamente y limpiado.

²³⁾ Ejercicio

Analice la siguiente tabla de calibración de una micropipeta e indique

- a- Si se trata de una pipeta de volumen fijo o regulable
- b- Si su precisión es aceptable o no
- c- Si su exactitud es aceptable o no.

Temperatura de calibración 20			
Pipeta 10-200ul			
Volumen de calibración elegido 100ul			

23 a- regulable 10-200µl. b- precisión no aceptable, c- exactitud aceptable.

	Gramos	Gramos agua	Volumen (ml)
Contenedor vacío	3,2562		
Contenedor + 1 pipeteada	3,3560	0,0998	0.0999
Contenedor + 2 pipeteada	3,4421	0,0861	0.0862
Contenedor + 3 pipeteada	3,5701	0,1280	0.1282
Contenedor + 4 pipeteada	3,6560	0,0859	0.0860
Contenedor + 5 pipeteada	3,7350	0,0790	0.0791
SD			0.0196
Media			0.0958
Precisión (CV%)			20.4222
Exactitud			95.8800

Balanzas

Las balanzas son instrumentos utilizados para medir masas. Existen en el laboratorio dos tipos de balanzas:

- ◆ **Mecánicas:** su funcionamiento se basa en el principio de fuerzas y palancas, utilizando pesas para su comparación. Las hay manuales y semiautomáticas.
- ◆ **Electrónica:** su funcionamiento está sustentado por un dispositivo conocido como celda de carga que se deforma ante la acción del peso de un cuerpo y genera una respuesta eléctrica.

Precauciones para su uso:

- ◆ Asegúrese primero del error máximo permitido de lo que desea pesar.
- ◆ Elija la balanza adecuada a tal fin, teniendo en cuenta el error máximo que desea aceptar. No siempre es necesario utilizar la balanza de mayor apreciación.
- ◆ Asegúrese del peso máximo permitido de cada balanza. Este valor no debe ser superado por la masa a medir. En caso que por error superó el peso máximo, comunique el acontecimiento a su superior, puede haber dañado la balanza y, más allá del costo que implique repararla, el ocultamiento podría llevar a medidas erróneas por parte de otros integrantes del laboratorio. .
- ◆ En aquellas balanzas que tienen elementos de masa conocida que actuarán como control de calidad, el mismo debe ser pesado dos veces y calculado el UDS y CV%, antes de continuar con las mediciones de las muestras.
- ◆ Deje las balanzas limpias, tapadas o cerradas en los casos que corresponda.

Elección de la balanza adecuada.

En la tabla siguiente se indican tres situaciones de pesadas, indicadas como pesada 1, 2 y 3, el valor en gramos de cada una y el error máximo aceptable. La tabla también tiene

las balanzas disponibles, su carga máxima y su apreciación. ¿Qué balanza utiliza en cada caso?

Pesada			1	2	3
Valor a pesar (en gramos)			0,025	0,758	15,23
Error requerido			<1%	<1%	<1%
Balanza	Carga máxima (g)	Apreciación (g)	Error con cada balanza	Error con cada balanza	Error con cada balanza
Ohaus	2000	1	4000	131,926121372	6,5659881812
Ohaus	200	0,1	400	13,1926121372	0,6565988181
Ohaus	100	0,001	4	0,1319261214	0,0065659882
Ohaus	220	0,0001	0,4	0,0131926121	0,0006565988

Para el pesaje 1, podríamos utilizar la balanza Ohaus de carga máxima 220g, debido a que la masa a pesar (0,025g) no supera la carga máxima (220g) y el error es menor al 1%. Para la pesada 2 sería adecuada la balanza Ohaus de capacidad 100g y para la pesada 3 se podrían utilizar las balanzas Ohaus de capacidades 200. La balanza Ohaus de carga máxima 2000g no es apta para ninguna de las pesadas porque los errores son en todos los casos superiores al 1%.

Elección de un instrumento de medición

Reglas a tener en cuenta:

- ◆ Recordar que al aumentar la apreciación de un instrumento, aumenta su precio y su fragilidad. Por lo tanto, no tenemos que utilizar siempre el de mejor apreciación, sino el acorde al trabajo.
- ◆ La elección de una pipeta está en función en primer lugar de la disponibilidad, luego del volumen a medir y finalmente de la apreciación (que surgirá del análisis de errores).
- ◆ La elección de una balanza está en función de los mismos puntos planteados en el ítem anterior.

Ejemplos:

- Elección de una micropipeta. En la determinación de un contaminante del agua potable, debemos medir un volumen de 0.275ml. Este volumen lo emitiremos utilizando una micropipeta y para la elección disponemos de las micropipetas indicadas en la siguiente tabla, donde se indica marca, volumen total de la misma y su código. En los casos que se indica un rango de volúmenes indica que la micropipeta es regulable y puede emitir volúmenes comprendidos entre ambos extremos.

Marca	Volumen	Código	Apreciación
Paralwall	5-50ul	0152025	1ul

INSTRUMENTAL

Paralwall	10-100ul	0113918	1ul
Paralwall	1000-5000ul	0158987	10ul
Boeco	10-100ul	C029258	1ul
Boeco	100-1000ul	CS52628	5ul
Boeco	200-1000ul	C053284	5ul
Boeco	1-5ml	10005210	0,05ml
DragonLab	5-50ul	YE184AH001349 7	0,5ul
DragonLab	100-1000ul	YE189AL0115977	5ul
DragonLab	100-1000ul	YE189AL0115986	5ul

Analicemos el volumen a medir: 0.275ml.

- La micropipeta tendrá que tener más de 0.275ml= 275µl.
- La micropipeta debería apreciar al menos de a 0.005ml = 5ul

Entonces procedemos

1- Primero seleccionamos por volumen, en base a esto nos quedaríamos con las siguientes micropipetas cuyo volumen es adecuado

marca	volumen	código	apreciación
Boeco	200-1000	C053284	5µl
Boeco	100-1000	CS52628	5µl
DragonLab	100-1000ul	YE189AL0115977	5ul
DragonLab	100-1000ul	YE189AL0115986	5ul

2- Deberemos luego considerar su apreciación. Como en este caso debemos medir 275 ul, deducimos de la tabla anterior que las cuatro son apropiadas.

3- Tener en cuenta el error.

Supongamos que estamos colocando dos reactivos líquidos:

Colocamos 275µl de un reactivo y 5ml de otro

Para medir 5ml utilizamos una pipeta de 1-5ml con apreciación de 0.1ml.

El volumen resultante será teóricamente 5.275ml

¿Cuál será el error en el volumen resultante ? Como el volumen final surge de la suma de ambos volúmenes, el error absoluto será la suma de los errores

error absoluto = 0.1 + 0.005 = 0.105

En este caso el error total de la medición se ve fijado por la pipeta de menor apreciación que es la de volúmenes 1-5ml que tiene una apreciación de 0.1ml. Siempre determina la elección de los materiales aquel instrumento de mayor error.

- Elección de balanza

La tabla siguiente muestra las balanzas disponibles en un laboratorio, donde se indica la marca, la carga máxima y la apreciación

Balanza	Carga máxima (g)	Apreciación (g)
Ohaus	2000	1
Ohaus	200	0,1
Ohaus	100	0,001
Ohaus	220	0,0001

Supongamos que tiene que pesar cenizas óseas obtenidas en un proceso de calcinación y las mismas estarán en el rango 0.01-0.1g. ¿Que balanza utilizaría?

Primer pregunta que debemos hacernos: ¿Con qué error lo quiero hacer? Supongamos que deseamos pesar con un error relativo menor al 1%

Recordemos la fórmula de error relativo de un instrumento en el que conocemos su apreciación.

$$E_R \% = \frac{\text{apreciación instrumento} * 100}{\text{medida a realizar}}$$

para este caso que tenemos un intervalo para la masa a medir, elegimos la balanza para la masa menor: 0.01g. Fijamos además el error en 1%, ya que es el límite superior de error que nos podemos permitir.

$$1 \% = \frac{\text{apreciación instrumento} * 100}{0,01 \text{ g}}$$

Despejando la apreciación instrumento, obtenemos un valor de 0.0001g

¿Cuál es la balanza más adecuada?

La balanza tendrá que poder soportar más de 0.1g y tener una apreciación igual o menor que 0.0001g. Por ende la más adecuada es la balanza Ohaus de 220 g de capacidad y apreciación 0.0001g. Si bien las otras balanzas son adecuadas por el valor de la masa a medir, tienen apreciación que no es aceptable y cometeríamos errores mayores a los permitidos.

Centrífugas e instrumentos de mezcla

Como se desarrolló anteriormente en el capítulo sobre soluciones, los sistemas materiales pueden ser homogéneos o heterogéneos. Estos tipos de sistemas son diariamente enfrentados en el laboratorio con fines diversos: medición de concentración de sus componentes, secado y almacenado, homogeneización etc. Recordemos que los sistemas materiales, habitualmente son mezclas de dos o más sustancias. En algunas situaciones deseamos separar todas o parte de esas sustancias y en otras, nuestra necesidad es mezclarlas.

Para estos fines disponemos de diferentes instrumentos:

- ◆ Para mezclar sustancias, disponemos de vórtex, agitador orbital, agitador vaivén y agitador magnético.
- ◆ Para separar sustancias: disponemos de mecanismos de extracción, destilación, evaporación y sedimentación-decantación. Cada una de las técnicas tiene instrumentos adecuados al fin buscado. Una situación muy común es la separación de sistemas heterogéneos en que la fase dispersa es sólida y la fase dispersante es líquida.

Al mezclar una sustancia sólida con un líquido puede ocurrir que el sólido se disuelva formando una solución, en tal caso separar los sólidos requerirá de la evaporación del solvente. Contrariamente, si el sólido no se disuelve permanecerá como partículas en suspensión. Estas partículas pueden constituir una dispersión grosera, fina o coloidal,

dependiendo del tamaño de las partículas. La separación del sólido, proceso que se conoce como sedimentación se lleva a cabo por la acción de la fuerza de gravedad. En algunos casos especialmente cuando las partículas del sólido son muy pequeñas o la densidad del sólido es muy parecida al solvente, el proceso puede ser muy lento e incompatible con la técnica o trabajo en curso. En estas circunstancias se pueden utilizar centrifugas y ultracentrifugas para lograr la sedimentación. Una centrifuga es un instrumento utilizado para aumentar la fuerza de gravedad sobre las partículas aumentando su velocidad de sedimentación. Si la sedimentación se hace de manera espontánea, simplemente dejando el sistema en reposo, las partículas de sólido solo están expuestas a la fuerza de gravedad, en estas circunstancias decimos que la sedimentación se ha realizado con 1 vez la aceleración de la gravedad, como a esta aceleración se la representa con la letra “g”, decimos que la sedimentación se produjo bajo la acción de una fuerza de 1g (si bien g es la abreviatura de gramo, en estas circunstancias tiene otra interpretación). Si aumentáramos la fuerza g, podríamos decir que la sedimentación se hace a por ejemplo 1000g. Las centrifugas son los elementos que utilizamos para aumentar la fuerza g de un proceso y así acortar el tiempo de sedimentación.

Cálculo de la fuerza centrífuga

La fuerza centrífuga se expresa habitualmente en el número de veces que supera la fuerza de gravedad y habitualmente se indica con el símbolo xg , donde x es el número de veces que supera a la aceleración de la gravedad indicada con g . Habitualmente cualquier cuerpo está sometido a una aceleración de la gravedad y por lo tanto una fuerza, en este caso llamada peso, que hace que el cuerpo se acelere y caiga hacia la tierra.

En las centrifugas se origina una fuerza sobre las partículas libres, alejándolas del eje de la centrifuga. Así, al colocar un tubo con una solución, las partículas tienden a acelerarse y dirigirse hacia el fondo del tubo.

Esta fuerza se calcula con la siguiente ecuación

$$xg = 0.00112 * \text{radio (en metros)} * \text{rpm}^2$$

xg : es la cantidad de veces mayor que es la fuerza centrífuga respecto de la fuerza de gravedad.

radio: Es la distancia desde el centro o eje de la centrifuga al tubo de centrifuga, medido de manera perpendicular al radio. Debe tener en cuenta que la fuerza centrífuga siempre es mayor en la base del tubo que la superficie del líquido.

rpm: son las revoluciones por minutos que usted fija al realizar el procedimiento.

Ejemplo:

Si tenemos una centrifuga cuyo radio es 10cm (0.1m) y centrifugamos a 5000rpm, ¿Cuántas veces mayor es la aceleración de una partícula comparado con la aceleración de la gravedad?

$$xg = 0.0012 * 0.1m * 5000^2 = 3000g$$

Este valor indica que cuando se realice la centrifugación se aplicarán fuerzas 3000 veces mayor que la aceleración de la gravedad. Para tener una idea de este valor tenga en cuenta que un organismo humano es capaz de soportar fuerzas hasta 10g. Con fuerzas mayores pueden ocurrir eventos que comprometan la vida de una persona. Un ser humano puede estar sometido a valores mayores a 1g por ejemplo en montañas rusas, aviones, autos a elevada velocidad en una curva, etc. Pero nunca llegarán a los valores en los que se llega en una centrífuga de laboratorio y si lo hiciera sería incompatible con la vida.

Las centrífugas básicamente tiene 4 partes:

- ◆ Motor: parte que impulsa el movimiento circular.
 - ◆ Control de velocidad: algunas centrífugas, especialmente las que son para usos múltiples, tiene velocidad variable. Algunas de usos específicos tienen velocidad constante.
 - ◆ Control de tiempo: la mayoría cuenta con un temporizador que permite fijar el tiempo de centrifugado.
 - ◆ Rotor: lugar de la centrífuga en que se colocan los tubos a centrifugar
- Pueden tener otros accesorios dependiendo de la tecnología, como ser sistemas de freno, control de buen funcionamiento, programación de las actividades de centrifugado, enfriamiento, etc.

Tipos de centrífugas

Las centrífugas se puede clasificar según diferentes criterios: el tipo de tubo, el ángulo, la velocidad, de mesada o pie, centrífugas convencionales o ultracentrífugas, etc.

Por el tipo de tubos

ordenados según volumen decreciente, las centrífugas más comunes son

- ◆ Tubos de centrífuga (50 ml o 10 ml)
- ◆ Tubos de Kahn (4 ml)
- ◆ Tubos Eppendorf (1.5 ml)
- ◆ microhematocrito (0.1 ml)

Por el ángulo

- ◆ Ángulo fijo: el tubo permanece en la misma posición y el precipitado se deposita en pared-fondo del tubo
- ◆ Ángulo móvil: el tubo se pone horizontal y el precipitado se deposita en el fondo.

Por la refrigeración

- ◆ Centrífuga refrigerada: permite fijar la temperatura.
- ◆ Sin refrigeración.

Precauciones y modo de uso

Son muy abundantes las precauciones a tener en cuenta a la hora de utilizar una centrífuga y su mal uso puede producir severos accidentes con riesgo para la vida de los usuarios. Siga los siguientes pasos:

- 1- Infórmese a cuantas rpm o a cuantas xg debe centrifugar.
- 2- Haga el cálculo de rpm o xg según corresponda.
- 3- Elija el tipo de tubo según el volumen a centrifugar.
- 4- Elija el tipo de ángulo a utilizar. Esto dependerá de la forma que utilice para extraer la fase líquida. La extracción puede ser por decantación o bien por aspiración.
- 5- Coloque el selector de velocidad en 0.
- 6- Equilibre los tubos. Utilice balanza para centrífuga o balanza acorde al peso. Use tubos para contrapeso con agua. La centrífuga tiene que tener igual peso ubicado en forma diametralmente opuesta.
- 7- Cargue y descargue con la centrífuga apagada y en lo posible desenchufada.
- 8- Coloque los tubos de igual peso diametralmente opuestos.
- 9- Cierre la centrífuga antes de encender. La mayoría de las centrífugas no funciona si no están cerradas.
- 10- Enchufe la centrífuga en fuentes eléctricas seguras con disyuntor y llave térmica.
- 11- Coloque el timer o temporizador en el tiempo deseado de centrífuga.
- 12- Encienda la centrífuga con el botón on-off (si lo tiene), en caso contrario suba la velocidad lentamente hasta el valor deseado (la velocidad está expresada en rpm).
- 13- Espere a que termine el tiempo de centrifugado y se detenga la centrífuga. Nunca abra la centrífuga en funcionamiento! Las partes móviles se mueven a cientos de Km/h!!! Puede sufrir accidentes fatales y amputaciones.
- 14- Apague, desenchufe y espere a que la velocidad llegue a 0.
- 15- Abra la centrífuga, si es que la que dispone no lo hace automáticamente al finalizar el proceso.
- 16- Retire los tubos con cuidado para que no se resuspenda el precipitado.
- 17- Seque y limpie interna y externamente la centrífuga después de usarla.
- 18- Nunca llene los tubos hasta el borde, deje un espacio razonable entre el límite del líquido y la boca del tubo.
- 19- Si el tubo no es suficientemente grande pase a una centrífuga más grande.

Centrífugas disponibles en el laboratorio

DLab 15 y 50ml de ángulo fijo.

Microhematocrito ángulo fijo.

Eppendorf: ángulo fijo.

Problemas de cálculos de velocidad y aceleración gravedad

Problema 1. Usted dispone de una centrífuga de ángulo 10 cm y la centrífuga está operando a 10000 rpm. ¿Cuál es el valor de g?

Resolución: aplicamos la fórmula expuesta anteriormente

$$xg = 0.00112 * \text{radio}(\text{en metros}) * \text{rpm}^2 = 0.00112 * 0,1 * 10000^2 = 11500 g$$

Respuesta: la centrifugación se ha realizado a 11500 veces la aceleración de la gravedad (se suele decir $\times 11500g$). Es decir que la sedimentación de las partículas será ese número de veces más rápido que si se realizara espontáneamente por la gravedad de $\times 1g$.

Problema 2: En un trabajo usted halló que la centrifugación se realiza a 5000 g. Usted dispone de una centrifuga para tubos Eppendorf que tiene un radio fijo de 5 cm. ¿A que velocidad deberá colocarla?

Resolución. Debemos despejar rpm de la fórmula anterior

$$xg = 0.00112 * \text{radio (en metros)} * \text{rpm}^2$$

que resultará

$$\sqrt{\frac{xg}{0.00112 * \text{radio}}} = \text{rpm}$$

Reemplazamos los valores y operamos

$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{xg}{0.00112 * \text{radio}}} = \sqrt{\frac{5000}{0,05 * 0.00112}} = 9449 \text{ rpm}$$

Cálculo de velocidad tangencial

Cuando una centrífuga gira, las partes están sometidas a una fuerza que tiende a alejar las partes del eje. Si una parte ya sea del tubo, la muestra o la propia centrífuga se desprendiera, saldría despedida con elevada velocidad. Estas velocidades son muy elevadas y pueden producir daños materiales y personales incalculables.

Para calcular la velocidad a la que saldría una partícula, expresada en Km/hora debemos aplicar la siguiente fórmula

$$v = 2 * \pi * \text{radio (metros)} * \text{rpm} * 0.06$$

Hagamos un ejemplo

5000 rpm

radio = 10 cm

$$v = 2 * \pi * 0,1 \text{ m} * 5000 \text{ rpm} * 0.06 = 188 \text{ Km/h}$$

Si por alguna causa se desprendiera una parte del rotor de la centrífuga, ésta saldría a una velocidad cercana a los 200 Km/h. Si bien el daño que puede producir dependerá del tamaño de la partícula, es de esperar que el mismo no sea despreciable. Estos problemas se evitan utilizando centrífugas que impiden su uso con la tapa abierta.

AGUA DESTILADA

Flores HG, Monti MS

Introducción.

El agua destilada es considerada un solvente universal y uno de los reactivos más utilizados para trabajos y mediciones en el laboratorio, por lo que mantener su pureza y calidad es fundamental. Controlar mensualmente la pureza o la calidad del agua de laboratorio ayuda a eliminar las desviaciones en los resultados, evitar interferencias o reacciones inesperadas y mejorar la confiabilidad de los resultados.

Actualmente en el laboratorio del Centro Universitario de Estudios Medioambientales, se lleva a cabo el control de calidad de la misma bajo un estricto protocolo. No solo promueve a producir agua pura, sino también la validación de la calidad, el almacenamiento del agua y el mantenimiento del sistema.

Procedimiento para producir agua destilada.

Para obtener agua destilada, el agua de red se somete a un proceso llamado destilación. Es el procedimiento más utilizado para la separación y purificación de líquidos, y es el que se utiliza siempre que se pretende separar un líquido de sus impurezas no volátiles.

La destilación, como proceso, consta de dos fases: en la primera, el líquido pasa a vapor y en la segunda, el vapor se condensa, pasando de nuevo a líquido en un recipiente o contenedor adecuado distinto al de destilación.

Luego de una observación con el director o encargado de laboratorio:

1. Compruebe que las mangueras estén conectadas al destilador según pasos siguientes:

- a. De la parte inferior del refrigerante sale una manguera (rotulada: “agua destilada”) que llevará el agua al depósito del destilador (B3), conectarla en el orificio superior “entrada de agua destilada”
- b. De la parte inferior lateral del refrigerante sale una manguera (rotulada: “ingreso de agua”) que va a la válvula de control de entrada y de allí a la canilla de agua de red. Esta estará siempre conectada.
- c. De la parte superior lateral sale una manguera que queda libre y por ella drena el agua a la red cloacal (rotulada: “a red cloacal”)

2. Compruebe que la tapa superior del destilador esté colocada.
3. Cerrar la llave, parte inferior del tanque.
4. Enchufar el bidón (B3) a la red eléctrica.
5. Enchufar el comando del destilador al dispositivo superior del bidón (B3) de recolección.
6. Enchufar la válvula de control de agua al dispositivo superior del bidón (B3).
7. Comprobar que la llave de suministro de agua esté abierta. En caso contrario abrir suministro de agua a 50-100 ml/min.
8. Dejar 5 min hasta que se cargue el tanque del destilador y comience a salir agua por la manguera que drena a la red cloacal.
9. Oprimir la llave lateral del comando eléctrico, esta se debe iluminar.
10. Oprimir botón verde. Comienza a funcionar.
11. Esperar 5 minutos, si hubiera una falla, sonará una alarma. En dicho caso, oprimir el botón rojo, apagar con llave lateral. Desenchufar y evaluar el problema.
12. Controlar el flujo de agua del destilador. Colocar frasco rotulado “control flujo de agua”, en la manguera a la “red cloacal”, el mismo se debe llenar en 30-45 segundos.
13. El destilador en buen funcionamiento produce 50L/día.
14. Una vez terminada la destilación, oprimir botón rojo y apagar con llave lateral. Desenchufar de la red eléctrica.
15. Cerrar la entrada de agua de la red, pero no desconectar la manguera.

Limpieza de bidones.

- ◆ Desenchufe los cables del bidón que conectan a destilador, válvula y red eléctrica.
- ◆ La limpieza de los bidones rotulados, como también el depósito del destilador, debe ser semestral o cuando sospeche o compruebe mala calidad del agua destilada.
- ◆ Inicie la limpieza de los contenedores cuando tenga todavía al menos 10 litros de agua destilada.
- ◆ Primero empiece con la limpieza del bidón del destilador.
- ◆ Coloque aproximadamente 1 L de hipoclorito de sodio diluido al 10%, déjelo al menos una hora, y haga rotar el bidón acostado de manera que el

hipoclorito de sodio entre en contacto con las paredes. Saque el hipoclorito de sodio y guárdelo para la limpieza de los bidones de las mesadas.

- ◆ Enjuague con el agua corriente al menos 10 veces, aproximadamente 2-3 L por vez acostando el bidón de manera de enjuagar paredes, descarte el agua de enjuague.
- ◆ Enjuague al menos 10 veces, cada vez con un 1L de agua destilada del lote anterior, acostando el recipiente para enjuagar paredes y descarte el agua utilizada.
- ◆ Coloque a funcionar el destilador por media hora, dejando que el destilado se pierda.
- ◆ Colocar la manguera de destilado en el bidón colector y descartar su producción durante 3 intervalos de 30 minutos, enjuagando paredes y fondo del bidón.
- ◆ Luego comience la recolección. Controle que el agua que va acumulando tenga conductividad 0.00mS/cm
- ◆ Limpieza de los bidones de las mesadas de trabajo, se debe hacer con hipoclorito de sodio al 10% por al menos una hora. Enjuagar el container 10 veces con agua corriente y luego 10 veces con agua destilada de la misma manera que se explicó para el depósito.
- ◆ Rotule con fecha, mes y año el proceso realizado.

Prueba de calidad de agua destilada.

El agua destilada debe cumplir ciertos requisitos:

- pH: debe tener un cercano a 7. Utilizando protocolo de medida de pH (disponible en el laboratorio “POE 7”) con pHmetro “N & N”, registrando en el software valores medidos por duplicado y valor de QC.
- Conductividad: debe dar 0 mS/cm, utilizando protocolo disponible (“POE 5”). Registrar en el software valores por duplicado y del QC.
- Materia orgánica: debe dar negativa. Utilizar protocolo disponible en el laboratorio (“POE 12”). Registrando el resultado en el software correspondiente.
- Fosfato: Utilizando reactivos para medida de fosfato en agua, bajo el protocolo disponible en laboratorio (“POE 6”). Debe dar incoloro o un muy tenue color celeste.

Control de calidad del agua destilada

Un foco importante de contaminación son los reactivos que se usan en el laboratorio, siendo el agua destilada uno de ellos, por ello es de suma importancia llevar un control estricto de la calidad del agua destilada. Hay que tener en cuenta que el agua destilada se utiliza además para la preparación del resto de los reactivos, por lo que una mala calidad de ésta, repercutirá en todo el funcionamiento del laboratorio.

El control de calidad nos permite conocer la conductividad, el pH, la presencia de fosfato y materia orgánica.

La conductividad eléctrica del agua refleja la capacidad del agua para conducir corriente eléctrica, y esta está relacionada con la concentración de sales disueltas, en iones con carga positiva y negativa.

El agua destilada, no conduce la corriente eléctrica, por lo tanto si la concentración de iones es negativa, la conductividad tendrá un valor de cero.

En el caso del control de materia orgánica, nos garantiza saber si la presencia de la misma es negativa, la materia orgánica en agua puede estar compuesta por miles de componentes: partículas macroscópicas, coloides o macromoléculas disueltas. Llevar un control de la misma, disuelta en el agua para uso como reactivo, es esencial para establecer sus condiciones físicas y los índices de contaminación del agua

El pH expresa el grado de acidez (debido a la presencia en el agua de ácidos fuertes o a la absorción de CO_2 atmosférico) y basicidad del agua (causada por la presencia de sustancias básicas, principalmente iones CO_3^{2-} y HCO_3^-). Este es un indicador importante en la calidad del agua ya que puede influir en ella produciendo sabores y olores desagradables e interferencias en mediciones.

Y por último, en el caso del fosfato, por las hidrólisis que sufre el anión, las disoluciones acuosas de los iones PO_4^{3-} son fuertemente alcalinas, por ende podría generar intromisiones a futuro en cualquier medición.

Protocolo de medición de conductividad

Materiales.

Conductímetro Hanna 98304

Vasos plásticos para colocar la muestra.

QC de conductividad.

Muestra a analizar, en este caso agua destilada.

Agua destilada para lavar conductímetro y recipientes en cada medición.

Protocolo de medición para conductividad POE 5.

Mediante un conductímetro Hanna 98304, se procede a medir el agua destilada en un recipiente plástico. Se enciende el conductímetro con el botón superior y se sumerge el mismo en ella. El valor indicado en el conductímetro debe ser de 0.00 mSm/cm, ya que el agua destilada no posee iones. Si no fuese de 0.00 puede ocurrir que que no haya utilizado recipientes completamente limpios o el equipo esté descalibrado. Es conveniente lavar bien el conductímetro y recipiente con agua destilada y medir nuevamente. Si el valor perdura aún diferente de 0.00 mSm/cm será conveniente calibrar el instrumento consultando con el supervisor.

En un vaso plástico colocar el estándar de conductividad, una solución de KCl preparada con los cuidados que amerita. Medir la solución por duplicado. Anotar estos valores en su cuaderno de trabajo y llevarlos al software correspondiente, dado que un cambio en la concentración medida del QC o valores del UDS fuera del intervalo de [-2,2] debe despertar sospecha.

Los valores de cada bidón deben ser registrados en el cuaderno correspondiente a “agua destilada”. Luego de la medición, lavar el conductímetro y vasos plásticos con agua destilada. Apagar el conductímetro y proceder al lavado total de instrumentos utilizados.

Protocolo de medición de materia orgánica.

Materiales

Tubos de ensayo.

Micropipetas

Mechero

Protocolo de medición para materia orgánica POE 12.

Control positivo para materia orgánica.

Técnica

a) Colocar 4 mL del agua a investigar, en este caso, agua destilada, en tres tubos de ensayo, cada uno rotulado con su bidón correspondiente.

- b) Agregar 0.4 mL de solución de ácido sulfúrico.
- c) Calentar hasta llegar a ebullición con mechero.
- d) Agregar 0.05 mL de solución de permanganato de potasio 0.008N
- e) La ausencia de materia orgánica se evidencia por la persistencia del color rosado luego de 10 minutos de ebullición.
- f) Registrar en el cuaderno correspondiente a agua destilada, por cada bidón, si la materia orgánica (MO) es positiva (MO+) o negativa (MO-).
- g) Ingresar los datos del cuaderno en el sistema Atlantis 1.0.

Protocolo de medición de fosfato en agua.

Materiales

Micropipetas

Tubos de ensayo

Muestras de agua por cada bidón rotulado como B1, B2, B3.

Control positivo.

Técnica

Protocolo de medición de fosfato POE 6

1. Sacar el kit de fosfato de la heladera, para que los reactivos tomen temperatura.
2. Organizar materiales, agua destilada, testigo y muestras.
3. Organizar en gradilla y rotular tubos Khan.
4. Cargar tubos siguiendo la siguiente tabla.

Tubo	Agua destilada (mL)	Reactivo Diluido (uL)	Reactivo diluido (uL)	II	10 min TA condición
Blanco (control negativo)	1	-	-		Incoloro
Muestra agua B1	1	40	50		Incoloro o tenue color celeste, se considera aceptable
Muestra agua B2	1	40	50		Incoloro o tenue color celeste, se considera aceptable.

AGUA DESTILADA

Muestra agua B3	1	40	50	Incoloro o tenue color celeste, se considera aceptable.
Control positivo T2 (0.2 mL)	0.8	40	50	Azul

Registrar valores en el cuaderno de agua destilada y en el sistema Atlantis 1.0.

Protocolo de medición de pH en agua destilada.

Materiales

pH-metro “pH 0-10; N&N”.

Kit con soluciones patrones de pH 6, 7 y 8 y QC de pH 7.

Piseta con agua destilada.

Muestras de agua por cada bidón (B1, B2 y B3).

Técnica

1. Encienda el pH-metro con la perilla frontal.
2. Retire el electrodo de pH de la solución de KCl 3M y, a continuación, lavarlo con agua destilada.
3. Busque kit con soluciones patrones de pH 6, 7 y 8, además del QC de pH 7. Compruebe que las soluciones no tengan más de un mes de uso. En caso de tener más de un mes de uso, las mismas deberán ser cambiadas.
4. Siguiendo las instrucciones que indica la pantalla, diríjase a “configuración” utilizando los botones del aparato. Seleccione “tiempo de medida”.
5. Indique, utilizando el panel numérico, el tiempo que tardará el electrodo en determinar la medición de pH. Idealmente elegir 10 segundos para dejar estabilizar bien el mismo.
6. Vuelva atrás con el botón que indica una flecha hacia atrás.
7. Diríjase a “calibración” utilizando los botones. Seleccione los puntos con los cuales desea calibrar el pHmetro (idealmente, elegir 3, utilizando los 3 patrones disponibles).
8. Coloque; utilizando los botones, el valor del patrón de pH teórico del primer patrón y sumerja el electrodo, aguardando que el mismo indique

el valor.

9. Enjuagar el electrodo con agua destilada, con ayuda de una piseta.
10. Repetir los pasos 8 y 9 con cada uno de los patrones.
11. Una vez calibrado, diríjase a “medición”.
12. Sumergir el electrodo en la solución QC. Esperar a la estabilización del mismo. Medir y registrar este valor por duplicado.
13. Enjuagar el electrodo con agua destilada.
14. Sumergir la muestra a medir y registrar su valor. Realizar este paso por duplicado. Repetir hasta alcanzar la cantidad total de muestras que desee medir (B1, B2 y B3). Entre cada medición, enjuagar el electrodo. Registrar los valores de cada bidón en el cuaderno correspondiente a “agua destilada”.
15. Al finalizar, lave el electrodo con agua destilada nuevamente.
16. Coloque el electrodo en la solución de KCl 3M y guarde todos los patrones en su lugar.
17. Diríjase a “configuración”. Registre el valor de m y h.
18. Apague y desenchufe el pHmetro.
19. Todos los valores deben ser registrados en el cuaderno destinado a “agua destilada” y luego al sistema Atlantis 1.0.

Precauciones.

El equipo que utilizará implica alto riesgo. Utiliza electricidad y altas temperaturas. Asegúrese de conocer perfectamente su funcionamiento. La calidad del agua obtenida depende del buen uso del equipo y de la limpieza de los recipientes contenedores utilizados.

MEDICIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN AGUA

Benítez Cerrudo MP - Godoy RB - Mori IM

Introducción

La materia orgánica disuelta (MOD) es una compleja y heterogénea mezcla de macromoléculas, cuyos principales componentes en las aguas dulces son sustancias húmicas, carbohidratos y aminoácidos. La MOD en las aguas naturales puede ser originada por la descomposición del material biológico procedente de animales, plantas y microorganismos.

La materia orgánica consiste en millares de componentes, como partículas macroscópicas, coloides o macromoléculas disueltas que pueden causar color, olor, sabor, el desarrollo de microorganismos patógenos o implicar la presencia de materia no biodegradable. Los principales grupos de sustancias orgánicas presentes en el agua residual son proteínas (40-60%), carbohidratos (25-50 %), aceites y grasas (10%).

Soluciones a utilizar

- ◆ Solución de KMnO_4 0.008 N: pesar 0.025 g de KMnO_4 y agregar agua destilada csp 100 ml.
- ◆ Solución de ácido sulfúrico: colocar 80 ml de agua en una probeta, agregar de a gotas y con agitación 6 ml de ácido sulfúrico concentrado pro-análisis y luego completar con agua destilada a 100 ml.
- ◆ Biftalato de potasio (KPH) 0.085 ppm: colocar 2 ml de biftalato de potasio 42.5 mg/100 ml (estándar utilizado para la medición de DQO) en una probeta de 100 ml y agregar agua csp para 100 ml.

Protocolo medición

1. Revisar en Atlantis 1.0 las muestras pendientes a medir.
2. Sacar kit de medición de MOD de la heladera.
3. Organizar: materiales, agua destilada, reactivos y muestras a utilizar.
4. Organizar en gradilla y rotular tubos.
5. Colocar 4 ml de la muestra de agua a investigar la presencia de MOD en tubo de ensayo.
6. Agregar 0.4 ml de solución de ácido sulfúrico.
7. Calentar a la llama con mechero, hasta llegar a ebullición.
8. Agregar 0.05 ml de solución de KMnO_4 0.008 N.

La ausencia de materia orgánica se demuestra por permanencia del color rosado por 10

MEDICIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN AGUA

minutos. Contrariamente, la pérdida del color rosado antes de los 10 min, indica la presencia de materia orgánica.

La medición, además de realizarse sobre las muestras de agua, se realiza sobre dos soluciones a las que llamamos control negativo y control positivo, que fehacientemente podemos afirmar que no tiene y que si tiene MOD, respectivamente. A continuación se describen estos ensayos.

Control negativo

1. Colocar 4 ml de agua destilada.
2. Agregar 0.4 ml de ácido sulfúrico.
3. Calentar a la llama con mechero, hasta llegar a ebullición.
4. Agregar 0.05 ml de solución de KMnO_4 0.008 N
5. Debe permanecer el color rosado por 10 minutos.

Control positivo

1. Colocar 4 ml de KHP 0.085 ppm.
2. Agregar 0.4 ml de ácido sulfúrico.
3. Calentar a la llama con mechero, hasta llegar a ebullición.
4. Agregar 0.05 ml de solución de KMnO_4 0.008 N.
5. Debe desaparecer el color rosado antes de los 10 minutos.

Descarte de soluciones y lavado materiales

Descartar tips amarillos y azules. Descartar el contenido de los tubos de ensayo en la bacha.

Colocar tubos en una bandeja con detergente no iónico y agua de red. Cepillar los tubos y luego enjuagar 10 veces con agua de red y 10 veces con agua destilada. Poner a secar en estufa.

Precauciones

Los reactivos son corrosivos, tener precaución al manejarlos. Es necesario el uso de guantes, guardapolvo y lentes. A la hora de preparar la solución de ácido sulfúrico, agregar el ácido concentrado sobre el agua de manera muy lenta. Durante el procedimiento se utilizan mechero a gas. Informarse de su manejo.

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

Badín J

La investigación científica es un proceso compuesto por una serie de etapas secuenciadas, que se encuentran relacionadas unas con otras y no pueden ser omitidas o alteradas en su orden. De ser así, la resultante de la investigación no sería válida, comparable ni reproducible.

Las etapas que comprende la investigación científica son: la planificación, la ejecución y la divulgación. En el presente capítulo nos enfocaremos exclusivamente en la etapa de planificación.

Desde el ámbito de la metodología de la investigación, se entiende como planificación al proceso de elaboración del plan o proyecto de la investigación a realizar. Debemos en esta etapa especificar qué haremos, cómo lo haremos, dónde lo haremos y cuándo lo llevaremos a cabo. Asimismo, esta etapa se subdivide en distintas subetapas que analizaremos a continuación.

Selección y delimitación del tema

Consiste en realizar la elección de un tema, dentro del infinito campo de conocimientos. Para ello debemos saber que, si el campo a estudiar es muy amplio, como ocurre en el 100% de los casos, debemos delimitar el tema para volverlo tangible. Pongamos como ejemplo el siguiente tema: “*Evaluación de la concentración de múltiples sustancias en agua de consumo*”. Si bien es un tema interesante, plantea un campo inabarcable de conocimientos que no podré estudiar ya que quizás no alcance una vida entera para poder finalizar dicho proyecto. Muchas veces, en nuestro afán de conocer aquello que deseamos estudiar, sugerimos un tema muy amplio e imposible de abarcar. La delimitación de un tema debe hacerse para que nosotros, con nuestro tiempo y recursos, siempre limitados, podamos hacerle frente al mismo a la hora de estudiarlo.

Para ello podemos acotar distintos criterios dentro del tema. Una opción es acotar el tiempo y espacio. Volviendo a nuestro ejemplo anterior podríamos definirlo como: “*Estudio de la concentración de múltiples sustancias en agua de consumo en el barrio Ludeña de la ciudad de Rosario durante el año 2021*”. Si bien ahora el tema es más acotado, la expresión de “múltiples sustancias” no deja claro que es lo que realmente vamos a estudiar. Para ello podemos entonces especificar las mismas: “*Estudio de la concentración de Arsénico y Flúor en agua de consumo en el barrio Ludeña de la ciudad de Rosario durante el año 2021*”

Así, podríamos seguir sumando criterios para delimitar el tema hasta que el mismo sea tangible para su posterior estudio.

Identificación de un problema

Se trata de determinar los aspectos no conocidos dentro del área temática seleccionada que ameriten de una indagación para su solución. Este paso responde a las preguntas

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

que motivan el proyecto: ¿Por qué deseo estudiar dicha problemática? ¿En qué beneficiaría a la comunidad con las conclusiones que pueda obtener de dicho proyecto? ¿Podría traer soluciones a actuales problemas? Por ejemplo: “*Estudio del efecto del consumo crónico de agua con elevadas concentraciones de Arsénico sobre la piel de los consumidores de la localidad de Bell Ville*”. En el ejemplo anterior hemos detectado una problemática: el consumo crónico de arsénico puede predisponer a cáncer de piel y a otras alteraciones cutáneas. Respondiendo a dicha problemática, nos situamos en lugar y tiempo para así poder estudiarla para su posterior análisis.

Una vez planteado el problema a investigar surge la necesidad de tener en cuenta cuatro criterios para evaluarlo. Ellos son:

1. La importancia: ¿La problemática a estudiar es realmente importante para la población? ¿Resolverla traerá algún tipo de beneficio?
2. La posibilidad de ser investigado: sería muy interesante, por ejemplo, conocer la concentración de Arsénico en agua en una región desde el año 1810. Sin embargo, hacerlo es imposible, ya que no podemos retroceder en el tiempo para realizar dichas mediciones (suponiendo que las mismas no existan ya). Por ello es importante plantearnos si realmente es posible investigar aquello que me interesa. Muchas veces, desgraciadamente, el tiempo o los recursos disponibles no son suficientes para estudiar dicha problemática.
3. La viabilidad: ¿Tengo los conocimientos para estudiar dicho tema? ¿Tengo los recursos económicos, humanos e intelectuales para hacerlo? ¿Tengo un lugar físico dónde desarrollar mis estudios? Afortunadamente, la viabilidad del proyecto puede construirse. No debe ser un dato que nos desaliente a estudiar, si no una invitación a la acción para conseguir todo aquello que haga falta para iniciar la investigación.
4. Interés del investigador: este será el motor de la investigación. Si no nos interesa un tema, es posible que el proyecto finalice sin obtener resultados, que nos fatiguemos de la labor diaria y terminemos por abandonarlo inconcluso. Es importante buscar motivación, y gran parte de la misma está en cuán interés despierta en nosotros el objeto de estudio.

Elaboración del proyecto

Se basa en la redacción de un documento que detalla exhaustivamente el plan de trabajo para la posterior ejecución de la investigación, que contará con una serie de pasos propios que deberán ser redactados con claridad, coherencia y utilizando lenguaje científico. Será nuestro plan de acción.

Debemos plantearnos:

1. ¿Qué hacer?: Especificar tareas a realizar. Siguiendo con nuestro ejemplo anterior: Compra o preparación de los reactivos necesarios para la determinación de Arsénico en agua. Elaboración de un protocolo de medición para dicha sustancia. Puesta a punto de la técnica, etc.

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

2. ¿Cómo hacerlo?: Elaborar un plan con las herramientas necesarias para responder a las preguntas anteriores: ¿Dónde conseguiré los insumos necesarios para la determinación? ¿Podré reunirme con algún experto en dicha determinación para elaborar el protocolo de la medición?
3. ¿Cuándo hacerlo?: Establecer un calendario en el cual cumplir cada una de las fases del plan termina de organizar el plan de acción. Debemos intentar seguir este calendario al pie de la letra para así llegar a obtener resultados en el tiempo estipulado. Tener en cuenta que los tiempos de la investigación a veces son más lentos de lo que uno desea, por lo cual los plazos no deben ser extremadamente exigentes en todos los casos. Es de crucial importancia para todo grupo de investigación plantearse metas para la ejecución del proyecto de investigación, establecer un cronograma, teniendo en cuenta desde la redacción del proyecto hasta la recolección de los datos, debido a que de esa manera, irán cumpliendo objetivos según fechas esperadas y los autores del mismo se entusiasmarán con el trabajo y no resultará en un estancamiento de las actividades, que podría llevar al fracaso del trabajo.

Así, debemos seguir construyendo nuestro plan, pensando en todo aquello que necesitamos, la mano de obra humana que será necesaria, la financiación del proyecto, la utilidad que le daremos a cada una de las instancias de investigación, etc.

En resumen, el plan nos ayuda a organizarnos y ser claros para luego concluir nuestros objetivos.

Proyecto de investigación

Un proyecto de investigación es un documento base del investigador, que especifica con el máximo posible de detalle, precisión y claridad el plan de investigación científica que le permiten al científico, orientarse para la ejecución del trabajo. Incluye sus aspectos y pasos fundamentales, colocados en tiempo y espacio. Es a su vez, conocido como protocolo de investigación. Este nos invita a poner en palabras por escrito, todo aquello que previamente ya pensamos para así hacerlo tangible.

Objetivos de la redacción de un proyecto

1. Orientar al investigador y a otras personas en el proceso de ejecución del estudio: será nuestro manual de instrucciones a seguir, nuestro plan de acción. Nos desliga de la improvisación, ya que todo está planeado previamente.
2. Obtener el aval de personas e instituciones.
3. Obtener la aprobación o financiamiento para su ejecución.

Partes de un proyecto de investigación

Título

Es aquel conjunto de palabras que especifica de forma breve, llamativa y completa, las variables, la unidad de análisis, el tiempo y espacio en el cual se llevará a cabo el

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

estudio. Según diversas convocatorias se establecen como máximo la utilización de 25 palabras. Se deben evitar los títulos demasiado generales, así como el uso de siglas, abreviaturas y palabras ambiguas. Ejemplo: *Prevalencia del uso de psicofármacos en estudiantes de Medicina de la Universidad Nacional de Rosario, en el año 2018*. Como podrán notar, la delimitación del tema nos ayuda mucho a la hora de luego ponerle un título a nuestro proyecto.

Autores

Serán autores del proyecto de investigación, todas aquellas personas que contribuyan activamente en el trabajo intelectual, detallado en la introducción del capítulo, como así también en la ejecución de las tareas para la obtención de datos. Por lo general, el director del proyecto se coloca al final y subrayado y el investigador principal en primer lugar. Si todos los investigadores tuvieran igual peso en el proyecto, puede optarse por colocarlos en orden alfabético.

Asesores

Serán asesores del proyecto de investigación, aquellos profesionales que tuviesen un título de grado y sean estudiosos del tema en cuestión. Asimismo, se establece como límite máximo, según diversas convocatorias, dos asesores por proyecto de investigación. Es de absoluta importancia que los profesionales que participen en calidad de asesores, mantengan actualizados, capacitados, entusiasmados y activos a los autores del proyecto. Según el tipo de convocatoria puede o no requerirse de asesores.

Resumen

El resumen es la carta de presentación del proyecto por lo cual es importante redactarlo con coherencia y claridad y ser lo más concreto posible, ya que no debe exceder las 250 palabras. Este número puede ser variable según la convocatoria a la que se presente el proyecto. Debe hacer una breve referencia al tema que se va a investigar y debe contener de manera acotada y estructurada el planteamiento del problema, los objetivos del estudio y el método que se utilizará para dar respuesta a los objetivos de la investigación, así como una corta mención de los resultados esperables. No incluye habitualmente referencias bibliográficas, aunque pueden mencionarse antecedentes, sin incluir la cita.

Lugar de trabajo

Constituye el sitio donde se desarrolla el proyecto de investigación, siendo éste el lugar donde se realizó la planificación o la ejecución de las tareas pertinentes. Puede ser un

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

lugar o múltiples, cuando el desarrollo del proyecto involucre personas o instalaciones de diferentes sitios.

Marco teórico

Parte del proyecto de investigación, también conocida como introducción, donde se detalla y especifica con claridad el tema a investigar y todos los conocimientos hasta la actualidad sobre el mismo. A la hora de redactar esta parte del proyecto, deberemos entender que la misma es la primera impresión que tendrá cualquier persona cuando comience a leer el proyecto, es decir, será la sección que determinará la continuidad de la lectura y el interés abocado en ello.

Este apartado requiere mucho estudio previo de nuestra parte, ya que intentará resumir los conocimientos previos que existen en la literatura de nuestro tema de trabajo. Todo marco teórico deberá contener los conocimientos más relevantes del tema en estudio y también deberá justificar la importancia de la investigación propuesta, refiriéndose a los aportes que harán los futuros resultados al área del tema estudiado.

Para la redacción, se deberá conocer la metodología de la búsqueda bibliográfica, la cual se entiende como aquél proceso de pesquisar en bases de datos específicas sobre el tema en cuestión, pudiendo realizar búsquedas delimitadas y personalizadas según los intereses del investigador.

Objetivos

Sección en la cual se definen los propósitos generales y también los de orden específico o particular. Los objetivos deben estar completamente relacionados al problema de investigación y enfocarse en el propósito que se quiere conseguir con el estudio del mismo.

Materiales y métodos

En esta parte se redacta el diseño metodológico elegido para el proyecto, el cual podrá ser observacional, analítico o experimental con sus propias herramientas para la recolección de datos, tema que no trataremos específicamente en este capítulo. Asimismo, se justifican los motivos de la metodología elegida, su pertinencia, precisión y sensibilidad.

Se especifica, y explica detalladamente la metodología concreta que se utilizará para alcanzar los objetivos, indicando los métodos, instrumentos, técnicas, procedimientos, etc., que se van a emplear para la recolección de datos, como así también el análisis de datos que se hará una vez finalizada la ejecución de las técnicas.

Posteriormente, se describe la pertinencia, la calidad y el tamaño de la muestra que se va a utilizar. Asimismo, se deberán indicar las interacciones que se van a mantener con otros grupos y centros de investigación y contemplar los posibles problemas éticos, de

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

protección de datos, confidencialidad y seguridad que la ejecución del proyecto pueda conllevar.

En esta parte del proyecto será de crucial importancia redactar de manera clara y completa los recursos necesarios para llevar a cabo la investigación, para poder permitir una exhaustiva evaluación de las necesidades y prácticas que se deberán financiar o aprobar para su realización respectivamente.

Por ejemplo, a modo de resumen, un extracto de los Materiales y métodos de un proyecto de investigación:

“Las 250 muestras serán obtenidas de voluntarios que acerquen las mismas a nuestro centro de investigación previa difusión por redes sociales. Posteriormente serán ingresadas en nuestra base de datos llamada “Atlantis 1.0” utilizando un código alfanumérico para poder realizar las determinaciones a ciego. Se emplearán técnicas gravimétricas para la determinación de los sólidos solubles totales y de Cloruro y técnicas conductimétricas para la determinación de conductividad eléctrica. Dichos datos serán cargados en nuestra base de datos para su posterior análisis utilizando test de análisis de los componentes principales”.

Resultados esperados

En esta sección del proyecto, se colocarán según las búsquedas bibliográficas realizadas, los resultados que se esperan obtener a la hora de la realización del proyecto, de acuerdo a lo revisado en estudios relacionados al tema de investigación. Experimentos exploratorios previos realizados por los autores del proyecto o por otros investigadores, pueden también ser de utilidad para especular sobre los resultados esperados.

Factibilidad

En esta parte se detallan de manera completa las capacidades con las que cuenta el equipo para desarrollar el proyecto, las instalaciones y equipamientos disponibles, así como aquellos que se pretenden adquirir durante el desarrollo del proyecto.

Limitaciones

Es muy importante, detallar las posibles dificultades y limitaciones de carácter metodológico que puedan existir en el desarrollo del proyecto, y las alternativas que se tienen previstas.

Bibliografía

En esta última parte del proyecto se deberá colocar en orden según la aparición en la redacción, todas aquellas citas que hayan sido extraídas de artículos originales durante la búsqueda bibliográfica. La forma de citar la bibliografía dependerá del lugar donde

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

se presente el proyecto para ser evaluado y aprobado, ya que cada centro de convocatoria se rige por normas internacionales o nacionales determinadas. Las citas bibliográficas además de trabajos científicos publicados en journals podrán incluir trabajos científicos que forman parte de tesis de postgrado, que se hallan en repositorios hipermediales de instituciones educativas o de investigación o bases de datos de internet con control adecuado, entre otras.

Presentación del proyecto

Un proyecto de investigación siempre se debe presentar frente a una autoridad o institución. Ésta a través de sus dependencias, lo evaluará, aprobará o no y autorizará la ejecución del proyecto. En general existe una fecha límite para presentación de proyectos en una convocatoria. Existen casos especiales que se llaman de "ventanilla permanente" en que los proyectos pueden presentarse en cualquier momento, pero son los casos menos comunes.

Una vez finalizada la redacción del proyecto, habiendo respetado cada una de las partes detalladas anteriormente, debemos elevar el mismo a las autoridades pertinentes para su aprobación. Cada proyecto debe ser sometido a una minuciosa evaluación por dependencias o autoridades que estén capacitadas para aprobar o rechazar la realización de la investigación en cuestión, ya sea por motivos de incumplimiento de normas éticas, normas de bioseguridad o porque simplemente el proyecto planteado no tiene una justificación adecuada, según lo que espera obtener y los gastos que conllevará realizarlo. Específicamente nos estamos refiriendo al Comité de Ética, el cual tiene como propósito evaluar la investigación, contribuir a salvaguardar la dignidad, derechos, seguridad y bienestar de todos los participantes actuales y potenciales de la investigación. Los comités de ética deben estar constituidos de tal forma que aseguren una revisión y evaluación competente de todos los aspectos éticos de los proyectos de investigación para que el logro de sus metas se hallen libre de sesgos e influencias que pudieren afectar su independencia. Para ello, resulta imprescindible que sean multidisciplinarios y multisectoriales en su composición, incluyendo expertos científicos relevantes, balanceados en edad y sexo y personas que representen los intereses y preocupaciones de la comunidad, incluyendo – entre otros – médicos, abogados, estadísticos, paramédicos, religiosos y pacientes.

Una vez obtenida la aprobación de las autoridades del lugar donde se llevará a cabo la investigación, como así también el financiamiento de entidades civiles a las cuales se les haya presentado el proyecto y la aprobación del Comité de Ética, podremos llevar adelante el plan de trabajo. En general se recibirá un copia de una resolución con la aprobación del proyecto. En la Figura 1 se muestra a modo de ejemplo una resolución de autorización de un Proyecto por autoridades de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR. Como se verá figura en el mismo el proyecto presentado, las aprobaciones de la comisión de bioética y la de bioseguridad.

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN



2018 - "Año del Centenario de la Reforma Universitaria"
2018 - "Año del Cincuentenario de la Universidad Nacional de Rosario"
Expediente N° 44487/0082

ROSARIO, 12 de marzo de 2018

VISTO: las presentes actuaciones por las que la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de esta Casa de Estudios eleva a consideración el proyecto de investigación titulado: "1MED493 - ESTUDIO DEL EFECTO DE DIFERENTES CONTAMINANTES Y COMPONENTES NORMALES DEL AGUA DE CONSUMO SOBRE LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA";

QUE, el Proyecto de referencia se realizará en Dependencias de la Facultad de Ciencia Médicas; y

CONSIDERANDO:

QUE, la Comisión de Bioética de esta Facultad considera que el proyecto es adecuado desde el punto de vista ético;

QUE, el Proyecto en cuestión cuenta con la opinión favorable del Comité de Bioseguridad, según consta a fs. 28 de estos actuados;

POR ELLO,

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

RESUELVE:

ARTICULO 1°.- Autorizar la realización del Proyecto de Investigación titulado: "1MED493 - ESTUDIO DEL EFECTO DE DIFERENTES CONTAMINANTES Y COMPONENTES NORMALES DEL AGUA DE CONSUMO SOBRE LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA", dirigido por el Dr. Alfredo RIGALLI (DNI N° 13.409.868) por los motivos enunciados precedentemente.-

ARTICULO 2°.- Regístrese, comuníquese y gírese a la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación, que notificará fehacientemente al interesado. Cumplido, archívese.-

RESOLUCION N° 5092/2018

Figura 1.

Si bien, en este capítulo se presenta un modelo básico y completo de la redacción de un proyecto de investigación, en muchas ocasiones las universidades o fuentes de financiamiento tienen sus propias reglamentaciones para la presentación del proyecto. Dichas reglamentaciones deben seguirse al pie de la letra y, si en ellas el espacio es demasiado estrecho como para desarrollar todos los temas planteados en el presente capítulo, es conveniente contar con dos versiones: una que se adecue a las reglamentaciones de la institución a la que se presentará el proyecto y otra, más desarrollada que permita hacer una síntesis de la planificación global del trabajo. En resumen, a la hora de redactar un proyecto de investigación debemos saber que no podemos olvidar de preguntarnos:

1. ¿Qué es lo que pretendemos investigar? – incluyendo el detalle de cuáles serán las preguntas y conceptos que orientarán la investigación, y cuáles son las

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

hipótesis en que se apoyará el trabajo;

2. ¿Cuáles son los objetivos de nuestra investigación?
3. ¿Cuál es la importancia del tema?
4. ¿Cuáles son las partes principales del problema?
5. ¿De qué manera - con qué métodos y técnicas - nos proponemos hacer el trabajo?
6. ¿Qué resultados esperamos encontrar?
7. ¿Durante cuánto tiempo y en qué orden se desarrollarán las actividades propuestas?

Para finalizar el capítulo, una pequeña reflexión: investigar es un proceso muchas veces difícil, en el cual podemos encontrar muchos obstáculos y en todos los casos requiere un arduo trabajo por parte de todo el equipo de investigación, sin embargo, el disfrute que obtenemos en la labor diaria y más aún cuando obtenemos resultados, reivindican nuestro interés, pasión y motivación para seguir adelante con este y futuros proyectos. Los animamos a hacerse preguntas, plantearse escenarios y pensar, ya que este es siempre el motor de los más grandes descubrimientos. Es muy común escuchar a estudiantes de pregrado decir que la investigación es solo para genios, personas inteligentes o simplemente que no es para ellos porque es una actividad difícil e inalcanzable. Pero esto no es así: las investigaciones más brillantes nacen de interrogantes propios, de experiencias individuales o grupales, de lectura crítica de bibliografía, de observaciones de la vida cotidiana, de problemas del vivir diario. Se debe saber que todo aquel que desee ingresar al ámbito de la investigación, solo debe buscar y encontrar un asesoramiento adecuado y emprender camino. En un principio, las ideas pueden ser generales y poco delimitadas, lo que mejorará con un exhaustivo análisis y la ayuda de expertos en el tema en cuestión.

Presentación de un proyecto de investigación como alumno

Podemos decir que es casi imposible que un alumno presente un proyecto de investigación por sus propios medios. Un proyecto de investigación necesita un director que habitualmente se requiere sea un investigador con experiencia. Existen obviamente proyectos unipersonales donde quien lo ejecutará actúa también de director, pero solo será en caso de investigadores formados y es igualmente raro un proyecto llevado adelante por una sola persona.

En la Facultad de Ciencias Médicas de Rosario existe un programa de ejecución anual de formación de recursos humanos en investigación en que se pueden presentar alumnos que tengan regular o aprobada la materia Metodología de la Investigación, tengan un director, y un tema de investigación enmarcado en un proyecto aprobado.

Para inscribirse en el programa, el alumno debe presentar la siguiente documentación, que podría cambiar de año a año.

1- formulario de proyecto: donde constará el proyecto con las partes indicadas anteriormente

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

2- formulario de antecedentes, con datos personales del alumno y antecedentes como asistencia a cursos, año de la carrera, conocimiento de idiomas, etc.

3- formulario de antecedentes del director

4- formulario de bioseguridad. Donde dará respuesta a una serie de interrogantes. Se colocará en este formulario sobre el manejo de sustancias tóxicas, riesgo microbiológico, etc

5- constancia de alumno regular y certificado analítico.

Existen dos tipos de becas:

1- Iniciación en la investigación, para aquellos alumnos que se presentan por primera vez y tiene que cumplir los 5 ítems indicados en la presentación

2- Perfeccionamiento en la investigación, para quienes ya tuvieron becas de iniciación y deben cumplir los ítems indicados con excepción de los puntos 2 y 3.

Existe un período de tiempo, habitualmente a principio del año académico en que se hacen estas presentaciones.

En la Figura 2 se muestra la portada de un proyecto presentado en el programa que estamos describiendo

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO



SECRETARÍA DE CIENCIA TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN

PROGRAMA DE FORMACIÓN Y PERFECCIONAMIENTO EN INVESTIGACIÓN

Resolución C.D. N° 2518/2014

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PLANILLA INSCRIPCIÓN AÑO 2021

1. DENOMINACIÓN DEL PROYECTO:

Desarrollo y validación de un modelo matemático para la corrección por temperatura de las mediciones de ORP en agua de consumo

1.1. IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO DE REFERENCIA:

N° DE RESOLUCIÓN DE ACREDITACIÓN / AUTORIZACIÓN: : Res 5092/2018

ORGANISMO DE ACREDITACIÓN: Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario

DENOMINACIÓN DEL PROYECTO DE REFERENCIA: Estudio de diferentes contaminantes y componentes normales del agua de consumo sobre la homeostasis de la glucosa.

1.2. BECARIO


Apellido y Nombre:	Badin Julieta
Domicilio particular:	Friuli 478
Domicilio laboral:	Santa Fe 3100
Teléfono:	3415808584
E-mail:	julietbadin9@gmail.com
Firma:	

Figura 2.

Presentación de un informe final de proyecto

Todos los proyectos, luego de su ejecución son evaluados. Para ello se presenta un informe final. En proyectos de varios años también puede haber informes de avance. Nos referiremos al informe final que debe un alumno presentar luego de ejecutar una beca anual en el programa de formación de recursos humanos en investigación de la FCM-UNR. En este informe se debe incluir

- 1- autor
- 2- director

REDACCIÓN de PROYECTO e INFORME DE INVESTIGACIÓN

3- descripción de las tareas realizadas

4- resultados hallados

5- divulgación realizada, es decir presentaciones a congresos o publicaciones.

En la Figura 3 se muestra la primer página de un informe anual presentado por el alumno luego de la ejecución del proyecto.

		
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS		
SECRETARÍA DE CIENCIA TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN		
PROGRAMA DE FORMACIÓN Y PERFECCIONAMIENTO EN INVESTIGACIÓN Resolución C.D. N° 2519/2014		
INFORME FINAL PROYECTO DE INVESTIGACION AÑO 2020		
TIPO DE INFORME FINAL		
INICIACIÓN		PERFECCIONAMIENTO X
1. DENOMINACIÓN DEL PROYECTO:		
Variabilidad de las determinaciones de Potencial Redox (ORP) en agua de consumo según la temperatura.		
1.1. IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO DE REFERENCIA:		
N° DE RESOLUCION DE ACREDITACION / AUTORIZACIÓN: Res 5092/2018		
ORGANISMO DE ACREDITACION: Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.		
DENOMINACION DEL PROYECTO DE REFERENCIA: Estudio de diferentes contaminantes y componentes normales del agua de consumo sobre la homeostasis de la glucosa.		
1.2. BECARIO		
Apellido y Nombre:	Badin, Julieta.	
Domicilio particular:	Friuli 478	
Domicilio laboral:	Santa Fe 3100	
Teléfono:	3415808584	
E-mail:	julietbadin9@gmail.com	
Firma:		
1.3. DIRECTOR DEL PROYECTO		
Apellido y Nombre:	Rigalli Alfredo	
Domicilio laboral:	Santa Fe 3100	
Teléfono:	341-227 4408	
E-mail:	angalli@unr.edu.ar	
Firma:		

Figura 3.

ESCRITURA DE UN TRABAJO REALIZADO

Vaquero SP

Dentro del extenso camino de generación del conocimiento nos vamos enfrentando -a lo largo del proceso- con diferentes desafíos, que se han ido tratando en los sucesivos capítulos de este libro. Si quisiéramos encontrar la situación que da inicio a este proceso de síntesis del conocimiento podríamos adjudicárselo al momento en que se presenta un interrogante. A partir de esta duda comenzamos a buscar en la bibliografía aquello que se sabe actualmente sobre esta problemática, sin embargo, muchas veces no encontramos las respuestas. En estas situaciones en las que el conocimiento no nos permita resolver esta vicisitud tendremos la oportunidad de intentar darle una respuesta desde la ciencia y desde nuestra propia iniciativa. Para lograrlo llevamos a cabo básicamente tres procesos en los cuales partiendo desde la teoría, pasaremos a la práctica para, en última instancia, reformular la teoría. En un primer momento, diseñamos un plan de trabajo (proyecto de investigación), luego lo ejecutamos (experimentación) y por último analizamos los resultados de esta ejecución para sintetizar nuevo conocimiento (conclusión).

Una vez que hemos realizado el análisis de los resultados del proyecto de investigación, estaremos en condiciones de dedicarnos al siguiente paso que es el de la divulgación. Este paso es igual de importante que los anteriores, ya que el conocimiento científico -para ser considerado como tal- debe ser socializado. Se puede decir que la investigación se completa al ser publicada en una revista científica. Solo así será conocida por la comunidad, sus resultados podrán ser discutidos y podrá, eventualmente, contribuir al proceso de expansión de las fronteras del conocimiento. Los hallazgos serán, en consecuencia, patrimonio de la comunidad científica y del público en general. También contribuye a la socialización de los resultados, pero sobre todo al mejoramiento de nuestro trabajo, a partir de la crítica calificada, la presentación en eventos científicos como jornadas y congresos.

Existen diversas formas de divulgar los resultados de las investigaciones realizadas. En este capítulo nos ocuparemos de la escritura de un artículo original para su posterior publicación en una revista científica.

La finalidad principal de un artículo es comunicar los resultados de una manera clara, precisa y concisa. Para escribirlos no requerimos de dones especiales, sino ciertas destrezas y habilidades creativas que son posibles de adquirir rápidamente si se persiguen con constancia y voluntad.

Comenzaremos con una breve descripción del artículo original, el cual podemos decir que es un escrito elaborado por los autores de un trabajo, en el que se describen los resultados de dicha investigación, de una forma tal que el lector tenga la posibilidad de comprender los objetivos que se plantearon los autores, la metodología utilizada para cumplir con los mismos, los resultados obtenidos y el significado que podría tener este aporte al conocimiento. Un artículo original debería tener la información necesaria para

que otro investigador, si lo desea, pueda reproducir el trabajo en otro laboratorio, en las mismas o diferentes condiciones. Este artículo consta de diferentes apartados que detallaremos a continuación.

Partes de un artículo original

Título

Este primer apartado debe ser completo pero a la vez conciso y claro, evitando exceso de preposiciones y artículos. Algunos autores aconsejan que el número de palabras no sea mayor a 15, otros sugieren 25 como tope máximo. Sin embargo la cantidad máxima de palabras quedará siempre, en último término, sujeta al reglamento de la revista elegida para realizar la publicación. Como regla general, el título no debe incluir fórmulas, nombres patentados, abreviaturas ni acrónimos. Es recomendable definir un título provisorio al iniciar la redacción y elaborar el definitivo luego de completar la escritura del artículo. Si bien las regulaciones dependerán de cada revista, se recomiendan los títulos neutros evitando el sensacionalismo. Supongamos que nuestro trabajo de investigación consistió en evaluar el efecto de una droga X sobre la hipertensión, hallando que la administración de la misma logra reducir la presión. Podríamos elaborar diferentes títulos, pero veamos dos extremos:

X: la droga que salvará a la humanidad de la muerte por hipertensión.

Efecto de la sustancia X sobre la presión sanguínea.

Es claro el sensacionalismo del primero y la neutralidad del segundo. Un interesado deberá leer el trabajo para enterarse del efecto de X sobre los valores de la presión sanguínea, de haberse utilizado el segundo.

Autores

Son aquellos que asumen la responsabilidad intelectual del trabajo. En general aparecen en orden según la magnitud de su contribución a la investigación, se coloca: Apellido, Nombre e Inicial del segundo nombre. La decisión final del formato quedará sujeta al reglamento de la revista elegida. En general se considera autor aquella persona que fue indispensable para la concreción del trabajo, al menos en algún aspecto relacionado al proyecto. Como regla general en las ciencias biomédicas, quien ocupa el primer lugar es la persona que ha realizado mayores aportes en lo referente al trabajo experimental y quien está en última posición, el responsable desde el punto de vista de coordinación y aporte de la idea original. Se interpreta que quien ocupa el último lugar es el director del grupo de investigación que realizó el proyecto.

Resumen

Es una breve reseña, cuya extensión suele ser de 250 palabras, aunque puede ser estipulada por el reglamento de la revista elegida para la publicación. En general, se escriben en el idioma de origen y en inglés. En esta sección del trabajo se debe hacer referencia a la información fundamental de cada apartado del trabajo completo, es

ESCRITURA DE UN TRABAJO REALIZADO

decir, escribiremos una porción de la introducción, los objetivos, un resumen de la metodología utilizada, los resultados más importantes y una breve conclusión. En general el lector lee el título, si este es interesante lee el resumen; si este contiene la información que está buscando, se dispondrá a leer el artículo. Por lo que es fundamental que en estos dos apartados intentemos cautivar a los lectores.

Habitualmente, al final del resumen se incluyen las palabras claves. Estas, regularmente, incluyen los temas estudiados de mayor a menor importancia y sirven para etiquetar el artículo en buscadores. En general son de 3 a 10 palabras, separadas por comas, en inglés y en el idioma propio del artículo, aunque como siempre la última palabra la tienen las instrucciones a los autores de la revista elegida. Se sugiere corroborar su existencia en el MeSH (Medical Subject Headings o Encabezados de Temas Médicos), el cual es un amplio vocabulario terminológico controlado para publicaciones de artículos y libros de ciencia, creado por la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos, accesible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>.

Este apartado no incluye referencias bibliográficas, debe ser escrito en tiempo verbal pasado y se recomienda construirlo al terminar del escribir el artículo.

Introducción

Describe la etapa conceptual o teórica de la investigación, permite al lector conocer el problema general de la misma, para que pueda comprender cómo este nuevo conocimiento se puede engranar en aquel que ya existe o, dicho de otra manera, por qué motivo se ha hecho esta investigación. Debe ser lo suficientemente extensa como para permitir presentar las definiciones de los conceptos más importantes de la problemática, qué sucede con esta en diferentes partes del mundo, cuál es la situación en nuestro medio, y culminará dándole un rumbo al trabajo realizado a partir de la presentación de los objetivos del mismo. En algunas revistas se solicita la presentación de los objetivos como un apartado individual. Es de mucha utilidad, para construir esta sección, leer las revisiones más recientes sobre el tema en cuestión. Este apartado debe ser escrito en tiempo verbal presente.

Materiales y Métodos

En este apartado se debe responder la pregunta: ¿cómo se hizo? Se expone una serie de pasos, técnicas e instrumentos que se fueron utilizando y llevando a cabo para conseguir nuestros resultados. Se especificará el lugar físico donde se ha realizado el experimento o la investigación, el período de tiempo, el diseño metodológico utilizado, las características del objeto de estudio (criterios de inclusión y exclusión), la forma en que se seleccionó la muestra, las variables analizadas, y los equipamientos y técnicas que se han utilizado. En el caso de haber administrado alguna sustancia o medicamento, se indicarán las dosis y vías de administración, como así también calidad y marcas comerciales de las sustancias utilizadas. Se detallan los equipos empleados, marcas comerciales y modelos así como las sustancias químicas, su origen y calidad

analítica. El análisis estadístico realizado y el software utilizado es descripto también en esta sección.

La finalidad principal de este apartado es permitir que otros investigadores puedan comprender nuestro accionar de tal forma que les permita repetir la experiencia y comprobar la validez de nuestros resultados.

También se debe especificar aquí qué comité de bioética evaluó y aprobó nuestro protocolo de trabajo.

Resultados

Aquí se expone el fruto de nuestra experimentación. Los resultados deben mostrarse en el texto de forma breve y clara. En esta sección no debemos interpretarlos, solamente exponerlos. Para esto podremos utilizar diferentes herramientas como tablas, gráficos y figuras que permitan la claridad y el entendimiento de los datos. En general, los resultados se muestran utilizando estadísticas descriptivas como media, desvío estándar, mediana, rango, percentilos, etc. Todas las tablas y figuras se citarán en el texto del artículo, comentando los datos más relevantes, de manera que sea posible comprender lo más importante de los resultados, sin que sea imprescindible consultarlo y evitando la duplicación de los resultados, es decir comentar en diferentes modalidades los mismos datos. Debemos seleccionar los resultados y mostrarlos de tal forma que den respuesta a los objetivos. Los resultados relevantes que contradigan nuestra hipótesis o que sean contradictorios con el conocimiento previo también deben comunicarse. Los resultados deben ir acompañados de las correspondientes pruebas estadísticas, indicando información como la probabilidad de error de tipo I, más conocida como *p-value* o simplemente el valor de *p* del ensayo realizado.

En cuanto a la elección de la utilización de una tabla o gráfico existen diferentes factores a tener en cuenta. Las tablas permitirán mostrar de forma más adecuada los valores numéricos exactos, mientras que en un gráfico se observan mejor las tendencias de los datos, asociaciones o patrones, o bien la falta de los mismos.

Las figuras nos permiten mostrar procesos complejos o imágenes que serían muy difíciles de describir con palabras. Las mismas deben tener una leyenda explicativa, un título o la referencia numérica que figure en el texto. Esta sección se escribe en tiempo verbal pasado.

Conclusión y discusión

Muchos autores coinciden en que esta es la sección más compleja de elaborar y organizar, donde se pone a prueba todo lo que el investigador ha aprendido acerca de la escritura de un artículo. Aquí los autores deben interpretar y comentar los resultados en relación a los objetivos planteados originalmente, la hipótesis y al estado de conocimiento actual sobre el tema, confrontando los hallazgos del trabajo con otros trabajos relacionados.

Se puede exponer la propia interpretación sobre el tema y la contrastación de nuestras conclusiones con las de otros autores. Es de buena práctica incluir aquí las limitaciones

ESCRITURA DE UN TRABAJO REALIZADO

del estudio; debiendo explicitar si se debieron a falta de presupuesto, a número limitado de sujetos de experimentación (animales, pacientes), a instrumental no suficientemente sofisticado y cómo afectan estas limitaciones el significado y el impacto del trabajo. Se permite comentar la posible aplicación práctica de los resultados o la posible utilidad de los mismos. También se puede esbozar una problemática que surja de este trabajo para responder en futuras investigaciones. Esta sección se escribirá en tiempo verbal presente, aunque no es excluyente.

Agradecimientos

Apartado donde exclusivamente se nombra a las instituciones y personas quienes sin ser autores o coautores en sentido estricto han permitido o participado de forma material, financiera o intelectual a la investigación.

Conflictos de interés

Se considera como conflicto de interés a aquellas condiciones en las cuales el juicio del autor tiende a estar influenciado por un interés secundario, como pudiera ser el interés monetario por la colaboración económica de alguna entidad interesada. En el caso en que se considere que no existe un conflicto se puede colocar la siguiente frase: los autores declaran no tener conflictos de intereses. Existe conflicto de intereses, por ejemplo, si el trabajo habla de la bondad de un fármaco y el autor recibió alguna ayuda de una empresa que fabrica dicho fármaco, como ser sueldo, pasajes a congresos, compra de equipamiento o insumos para llevar adelante la investigación.

Bibliografía

Aquí se enumeran las referencias que han sido directamente citadas en el texto, siguiendo un orden y una serie de normas establecidas por la revista en la cual se pretende publicar el artículo.

El formato en el que se escribe una cita que suele emplear la mayoría de las revistas son los Requerimientos de Uniformidad para Manuscritos Enviados a Revistas Biomédicas: escribir y editar para publicaciones biomédicas, cuyo texto se encuentra disponible en Internet en el siguiente enlace: https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

En la mayoría de las revistas del área biológica se utilizan las normas de citación de Vancouver, las cuales se pueden encontrar en la siguiente dirección de internet: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/histologia/normas-vancouver-buma-2013-guia-breve.pdf>.

La bibliografía se presentará al final del artículo, escrita en orden según su aparición en el texto, con la correspondiente numeración correlativa.

Datos originales

Con más frecuencia las revistas de publicaciones científicas requieren la inclusión de tablas con los datos originales, que complementarán las estadísticas descriptivas incluidas en la sección de resultados.

Otros aspectos a tener presente

Para finalizar este apartado resulta interesante comentar acerca del proceso de evaluación por el que suelen transcurrir los artículos originales. Este es ejecutado por pares investigadores, especializados en el tema en cuestión, los cuales se ocuparán de evaluar cada sección que comentamos anteriormente. En el caso en que los evaluadores consideren pertinente podrán sugerir correcciones, recomendaciones de modificaciones y podrán rechazar la publicación del mismo si estiman que no reúne las condiciones necesarias. Los pares evaluadores son designados por el comité editorial de cada revista elegida para la publicación.

Previo a la escritura del trabajo es siempre una buena práctica presentar los resultados en congresos y jornadas. Allí atravesará un proceso de evaluación que, aunque menos riguroso, es útil y necesario para perfeccionar nuestro trabajo.

Debemos recordar que cada evento y revista tiene sus propias normas y hay que adaptarse a las mismas cuando uno quiera enviar su trabajo a evaluar.

Recomendaciones finales

Establecer el hábito de la lectura para ampliar y perfeccionar el vocabulario. Establecer un horario fijo del día destinado a la escritura, para ir construyendo poco a poco nuestro artículo y permitir que al pasar los días nuestro cerebro vaya analizando y reelaborando nuestro escrito, permitiendo así un mejor resultado. Planificar un tiempo estipulado de escritura para que la misma no se extienda eternamente. Por último, es conveniente concentrarse, en un primer momento, en plasmar las ideas principales y troncales del artículo y no en la corrección del formato, en la cual podremos detenernos al final del proceso de escritura.

Uso de recursos disponibles

Los actuales procesadores de texto son un recurso importante para ahorrar tiempo y aumentar la eficiencia en la escritura. Aquí presentamos algunos consejos y recursos.

- ◆ Al escribir un texto se debe seleccionar el tipo de letra a utilizar y el tamaño del mismo. Los formatos recomendados son Arial 10 o Times New Roman 12.
- ◆ Es conveniente no abusar del formato, solo negrita para algunos títulos o, bien, subrayado.
- ◆ En caso de estar preparando un trabajo no utilizar justificación completa, sangrías ni tabuladores. También es recomendable trabajar a un espacio sin separación especial entre párrafos. Se debe elegir los niveles de títulos y subtítulos, los que permitirán luego hacer una tabla de contenidos en forma automática.

ESCRITURA DE UN TRABAJO REALIZADO

- ◆ Al tener el escrito finalizado, es conveniente seleccionar todo el documento colocar justificación completa e introducir entre párrafos una separación mínima para su mejor lectura y aspecto.
- ◆ Si se desea introducir número de página se debe hacer un encabezado o un pie de página dependiendo si el número irá arriba o abajo.
- ◆ En el texto se irán introduciendo referencias bibliográficas a medida que se vaya citando información de otras fuentes, las que normalmente se colocan como nota al final del documento, con el formato correspondiente (como explicamos más arriba en este mismo capítulo).
- ◆ Algunas aclaraciones que no se desea que estén en el texto se pueden colocar como notas al pie.
- ◆ Las referencias cruzadas son una herramienta útil ya que permiten citar dos veces a una misma referencia bibliográfica o hacer alusión a figuras, tablas, gráficos, etc.
- ◆ Las tablas se insertan con la herramienta "insertar tabla". Se debe elegir el número de filas y columnas, pudiéndose unir algunas celdas para escribir título, detalles, etc. Para numerar la tabla se debe posicionar sobre ella, oprimir el botón derecho y colocar insert caption. De esta manera la tabla tendrá un número que actuará como un vínculo pudiendo hacerse referencias cruzadas.
- ◆ Para insertar una figura, utilice insertar figura y luego inserte la explicación de la figura.
- ◆ El anclaje de los objetos (por ejemplo figuras) es un punto importante para la correcta visualización y ubicación de los mismos en el texto. Existen diferentes formas de anclaje: "al párrafo", "a la hoja", "al carácter". El anclaje al párrafo determina que el objeto se mueva con el párrafo; el anclaje a la hoja deja el objeto en el mismo lugar aun cuando se mueva el texto, y el anclaje al carácter hace que el objeto se mueva con el texto sin cambiar de posición respecto de este. Esta última opción es la recomendable en documentos complejos con muchas gráficas.
- ◆ Hipervínculos en el documento es una herramienta que permite hacer vínculos a figuras, fórmulas, tablas, etc. Al hacer *click* en el hipervínculo nos desplazamos automáticamente a un sitio determinado.
- ◆ Las secciones son útiles cuando se desean hacer documentos grandes a partir de otros más pequeños o bien para introducir en el encabezamiento del documento algún texto, como por ejemplo las secciones o apartados del mismo.
- ◆ Existen diferentes niveles de títulos que se fijan con la herramienta correspondiente. Son útiles ya que permiten luego hacer una tabla de contenidos (o índice), introducir en el encabezamiento o pie de página de las secciones del documento.
- ◆ Los índices alfabéticos tienen las palabras más importante de nuestro documento y la página donde se hallan, de esta manera en documentos grandes facilita la búsqueda.
- ◆ Las tablas de contenidos habitualmente se hallan al inicio de documentos grandes y permiten visualizar los diferentes niveles de títulos y, si se desea, se pueden colocar como hipervínculo de manera que al hacer *click* se acceda a la sección.

- ◆ La cursiva se utilizará cuando se escriban palabras, frases o terminologías específicas en idiomas diferentes al del artículo (latín, inglés, etc).

La elección de la revista

La elección de una revista tiene varias facetas. Por supuesto que intentaremos siempre publicarla en la mejor revista del mundo, sin embargo debemos prestar atención a ciertos puntos para evitar pérdidas de tiempo. En primer lugar, debemos conocer que en la mayoría de los casos, lo más común es que nos rechacen el trabajo, para lo cual es bueno estar preparado.

El primer punto a tener en cuenta es la temática de la revista. Existen miles de revistas que publican diversos temas, en la mayoría de los casos muy específicos. El título de la revista nos orientará para seleccionarla. Por ejemplo si nuestro trabajo se ha desarrollado sobre un tema de nutrición será más adecuado publicarla en el British Journal of Nutrition que en la revista Endocrinology. Luego de elegir por el título es adecuado buscar y leer el "scope" de la revista que es donde nos indican qué tipo de trabajos reciben y a que lectores está orientada. Si nos equivocamos de revista ya sea por su título o scope, seguramente el editor nos informará de ello, indicándonos que busquemos otra revista.

Una vez seleccionadas todas las revistas posibles por su "scope" deberemos decidir si lo haremos en revistas sin costo o en una en la que se paga para publicar. Debemos saber que normalmente en las revistas pagas, una publicación cuesta varios miles de dólares.

Otra cosa a tener en cuenta es el factor de impacto, que es un número que habla de la calidad de la revista. Además, existe el factor H que da una información similar, aunque algo diferente. Lo importante es saber que cuanto mayor es el factor de impacto o el factor H, mejor es la revista, pero también más difícil será que el trabajo sea aceptado debido a la gran cantidad de interesados en publicar en ella. El factor H y el factor de impacto de alguna manera nos indican cuántas personas ven un trabajo publicado en dicha revista.

Un buen sitio para la búsqueda de revistas de publicación es el portal SJR (Scimago Journals and Country rank), que es de acceso libre en el siguiente link: <https://www.scimagojr.com>, por el que se accede a una amplia base de datos de la editorial Elsevier y su aplicación Scopus. Allí se puede colocar una palabra posible de la revista, por ejemplo: nutrition y buscará revistas con ese nombre.

En la Figura 1 se muestra la búsqueda realizada

ESCRITURA DE UN TRABAJO REALIZADO

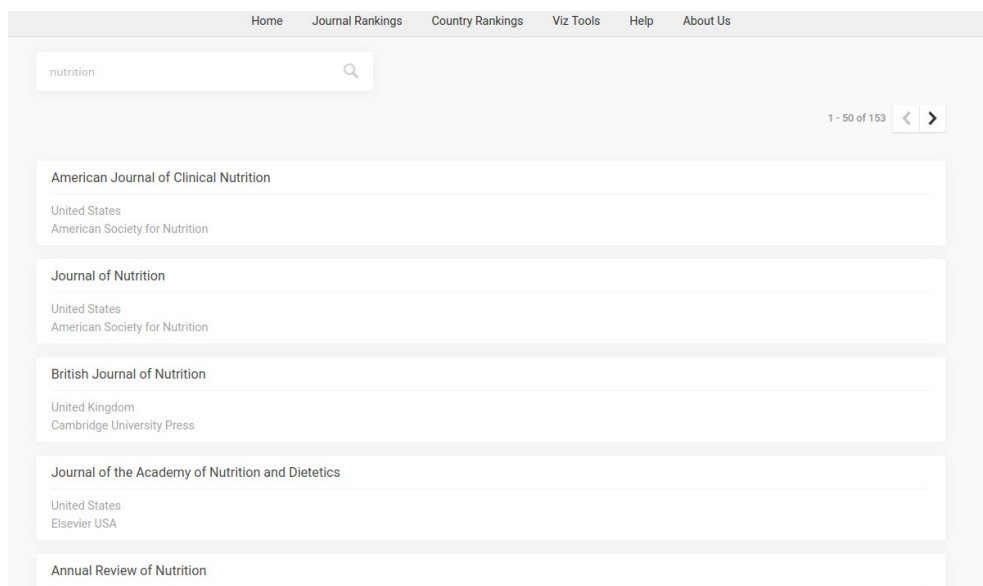


Figura 1.

y en la Figura 2 se muestra el acceso a la primera de ellas donde se observan varios detalles y links entre ellos el H index o Factor H, número que cuanto más grande indica que más lectores de la revista citan sus trabajos. H index habla de la calidad de los trabajos publicados. Aunque obviamente aspiraremos a publicar en el mayor H index, hay que mantener siempre los pies sobre la tierra y ser críticos de la calidad de nuestros trabajos.

American Journal of Clinical Nutrition

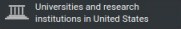
COUNTRY	SUBJECT AREA AND CATEGORY	PUBLISHER	H-INDEX
United States 	Medicine — Medicine (miscellaneous) Nursing Nutrition and Dietetics	American Society for Nutrition	336
PUBLICATION TYPE	ISSN	COVERAGE	INFORMATION
Journals	00029165, 19383207	1952-2020	Homepage How to publish in this journal christopher.duggan@childrens.harvard.edu

Figura 2.

Presentación de trabajos in extenso en congresos

En la mayoría de los congresos se requiere la presentación de un resumen del trabajo que se expondrá, sin embargo en algunos, especialmente aquellos en que presentan trabajos los estudiantes se solicita un trabajo "in extenso". Este trabajo básicamente consta de las partes de un trabajo para publicar en un journal, como se explicó anteriormente.

En general en los congresos los trabajos pueden optar a premios en diferentes áreas. Para adjudicar el premio existe en el congreso un comité académico que designa jurados que lo evalúan. Esta evaluación dependerá del tipo de congreso. Haciendo referencia a congresos organizados por asociaciones como ACRES (Asociación Científica Rosarina de Estudiantes de la Salud) o al COCAEM (Congreso Científico Argentino de Estudiantes de Medicina), la evaluación consta de tres partes:

Evaluación del formato de presentación por parte del comité académico.

Evaluación de la calidad científica, realizado por jurados designados por el comité científico

Evaluación de la exposición, habitualmente a cargo de los mismo revisores de la etapa 2.

Contrariamente a lo que se podría pensar, en muchos congresos internacionales, hay menos requerimientos y evaluaciones que en congresos locales o de estudiantes.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Todo trabajo de investigación tiene al menos los siguientes pasos

- ◆ Observación de un fenómeno natural que llama nuestra atención y reclama el entendimiento y explicación.
- ◆ Formulación de una hipótesis.
- ◆ Planteo de objetivos.
- ◆ Diseño de los materiales, métodos y experimentos para probar nuestra hipótesis.
- ◆ Realización de los experimentos y obtención de datos.
- ◆ Visualización de los datos.
- ◆ Análisis de los resultados.
- ◆ Elaboración de conclusiones aceptación de la hipótesis o refutación de la misma.
- ◆ Conclusiones y discusión de los resultados en el entorno del conocimiento existente.

En este capítulo veremos la forma de mostrar los resultados obtenidos de un trabajo experimental. La forma que utilizaremos para presentar los resultados experimentales dependerá de los propios resultados.

En general se utilizan estadísticas descriptivas para mostrar nuestros resultados y asociamos a ellas el significado estadístico de la diferencia, si lo hubiere, utilizando el error de tipo I.

Puntos a tener en cuenta:

- ◆ ¿Los datos son medidas de una variable continua o categórica?

Si los datos corresponden a variables continuas deberemos primero ver si la distribución de la misma corresponde a una población normal o no (ver punto 2). Si los datos corresponden a una distribución categórica, lo más adecuado será mostrar porcentajes, razones o proporciones.

- ◆ Si los datos corresponden a una variable continua ¿tienen distribución normal o no?

Si los datos tienen distribución normal es común que representemos la media \pm desvío estándar. En cambio si no se puede afirmar que la distribución de probabilidad es normal se recurre a graficar la mediana, el rango y los cuartiles.

A continuación veremos un la secuencia de pasos a aplicar.

Ejemplos

- Supongamos las siguientes tablas de datos, que corresponden a medidas de la concentración de fluoruro en orina de dos grupos diferentes de animales. En este caso tratamos con muestras independientes.

fluorppm1	fluorppm2
3	1
8	2
11	3
4	2
5	1
9	2
3	1
2	2
8	3

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

7	4
5	5

Veamos la secuencia de pasos para el análisis de los datos y su forma de presentación de los resultados surgidos del mismo

1- Primero aplicamos un test para evaluar la normalidad de los datos

2- Se pueden considerar muestras de poblaciones normales?

SI: entonces se debe calcular la media y SD y graficar utilizando barras, puntos, etc

NO: entonces calcular mediana, rango y cuartiles y graficar con cajas y bigotes.

3- Se pueden considerar muestras de poblaciones normales? calcular diferencias entre grupos

SI: aplicar t de Student para datos independientes

NO: aplicar test de Mann Whitney

A continuación veremos códigos que se puede aplicar si se utiliza el software R

Evaluación de la normalidad de la distribución de probabilidad. Para ello podemos utilizar el test de Shapiro Wilk. Este test se aplica a cada columna de la tabla de datos, la que llamamos presentacionresultados1

```
> shapiro.test(presentacionresultados1$fluorppm1)
```

```
Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: uno$fluorppm1
```

```
W = 0.94937, p-value = 0.636
```

El valor de p-value mayor a 0.05 nos está indicando que podemos aceptar que la distribución de probabilidad es normal.

Ahora aplicamos el test a la segunda columna

```
> shapiro.test(presentacionresultados1$fluorppm2)
```

```
Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: uno$fluorppm2
```

```
W = 0.88654, p-value = 0.1259
```

Aceptamos que la distribución de probabilidad del grupo fluorppm2 es normal ya que p-value fue mayor a 0.05.

Calculamos las medias y los desvío estándar de cada grupo

```
> mean(presentacionresultados1$fluorppm1)
```

```
[1] 5.909091
```

```
> mean(presentacionresultados1$fluorppm2)
```

```
[1] 2.363636
```

```
> sd(presentacionresultados1$fluorppm1)
```

```
[1] 2.879394
```

```
> sd(presentacionresultados1$fluorppm2)
```

```
[1] 1.286291
```

Donde vemos que la media del grupo fluorppm1 es mayor que la del grupo fluorppm2.

¿Pero, realmente es mayor?. Para dar una conclusión válida aplicamos la prueba t de Student para datos independientes que nos dirá si son o no diferentes y con que error damos dicha afirmación.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

```
> t.test(presentacionresultados1$fluorppm1,presentacionresultados1$fluorppm2)
```

Welch Two Sample t-test

data: uno\$fluorppm1 and uno\$fluorppm2

t = 3.7287, df = 13.838, p-value = 0.002288

alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0

95 percent confidence interval:

1.503829 5.587081

sample estimates:

mean of x mean of y

5.909091 2.363636

El valor de p-value menor a 0.05 nos está indicando que nuestra observación fue acertada. Podemos concluir que la fluoremia del grupo fluorppm1 es mayor que la del grupo fluorppm2 con una probabilidad de error tipo I de 0.002288.

Expresión del resultado: La concentración de flúor en el fluorppm1 (5.90 ± 2.88) fue significativamente mayor que la concentración de flúor en el grupo fluorppm2 (2.36 ± 1.29), $p < 0.05$, t de Student datos independientes. La cantidad de cifras decimales que se coloquen en el resultado final dependerá de la apreciación de los instrumentos utilizado y de la propagación de los errores si la medida fuera indirecta.

También podemos mostrar los resultados con la siguiente gráfica

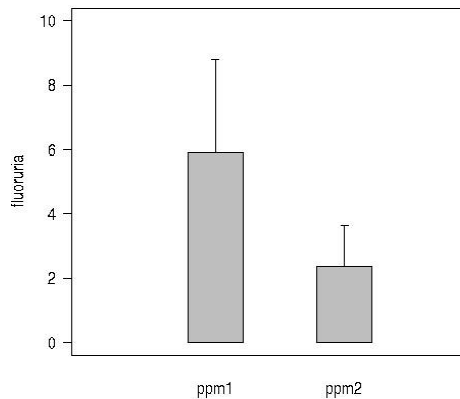
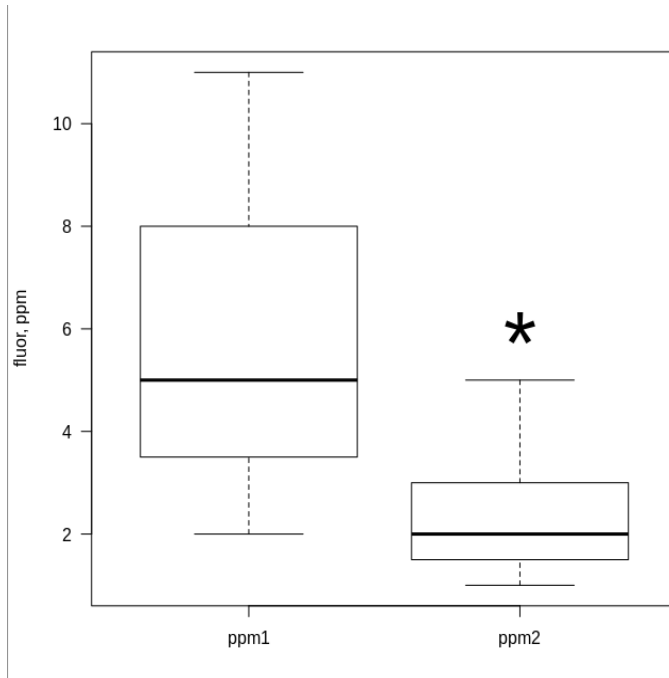


Figura 1. Fluoruria en animales con tratamientos ppm1 y ppm2. La parte superior de la barra representa la media de cada grupo y el largo de la línea sobre barra representa el desvío estándar. Diferencias significativas entre los grupos, t de Student. $p < 0,05$.

Si los datos no hubieran tenido distribución normal mostraríamos los datos utilizando mediana, rango y percentilos 25 y 75%, como muestra la figura siguiente.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS



*Figura 2. Concentración de fluoruro en orina de animales tratados con ppm1 y ppm2. El límite superior e inferior de la caja representan los percentilos 75 y 25% respectivamente. La línea horizontal interna de la caja representa la mediana y los línea de punto representan el máximo y mínimo valor medido de flúor. * representa diferencias significativas respecto de ppm1, test de Mann Whitney, $p < 0,05$*

- A continuación analizaremos las medidas de la concentración de flúor en orina de un mismo grupo de animales luego de aplicar dos tratamientos diferentes. En este caso estamos en presencia de datos dependientes. Tenemos los datos en forma de la tabla siguiente, que se hallan en el espacio de trabajo de R con el nombre presentacionresultados2

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

rata	fluor	tratamiento
1	3	ppm1
2	8	ppm1
3	11	ppm1
4	4	ppm1
5	5	ppm1
6	9	ppm1
7	3	ppm1
8	2	ppm1
9	8	ppm1
10	7	ppm1
11	5	ppm1
1	1	ppm2
2	2	ppm2
3	3	ppm2
4	2	ppm2
5	1	ppm2
6	2	ppm2
7	1	ppm2
8	2	ppm2
9	3	ppm2
10	4	ppm2
11	5	ppm2

Secuencia de análisis, comparación y gráfica

1- Test de normalidad

2- Se pueden considerar muestras de poblaciones normales?

SI: calcular media y SD y graficar

NO: calcular mediana, rango y cuartiles y graficar

3- Se pueden considerar muestras de poblaciones normales? calcular diferencias entre grupos

SI: aplicar t de Student datos dependientes

NO: aplicar test de Wilcoxon

Procedemos a ejecutar en R la secuencia de pasos indicados. Primero probamos la normalidad de ambos tipos de datos

>

```
shapiro.test(presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento=='ppm1'])
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento == "ppm1"]
```

```
W = 0.94937, p-value = 0.636
```

>

```
shapiro.test(presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento=='ppm2'])
```

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Shapiro-Wilk normality test

```
data: presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento == "ppm2"]
```

```
W = 0.88654, p-value = 0.1259
```

En ambos test de normalidad, el valor de p-value fue mayor que 0.05 por lo que aceptamos que las muestras tienen distribución normal.

Calculamos medias de cada tratamiento

```
> mean(presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento=='ppm1'])
```

```
[1] 5.909091
```

```
> mean(presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento=='ppm2'])
```

```
[1] 2.363636
```

A primera vista el valor medio de la fluoruria con el tratamiento ppm2 tiene un valor menor de fluoruria que con el tratamiento ppm1. Hacemos un análisis de t de Student para datos apareados, para corroborar si la observación es acertada o no.

```
>
```

```
t.test(presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento=="ppm1"], presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento=="ppm2"], paired=TRUE)
```

Paired t-test

```
data: presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento == "ppm1"] and presentacionresultados2$fluor[presentacionresultados2$tratamiento == "ppm2"]
```

```
t = 4.3603, df = 10, p-value = 0.00142
```

```
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
```

```
95 percent confidence interval:
```

```
1.733720 5.357189
```

```
sample estimates:
```

```
mean of the differences
```

```
3.545455
```

El valor de p-value menor a 0.05 nos permite concluir que luego de aplicar el tratamiento ppm2 la fluoruria descendió en cada animal respecto del valor al haberse aplicado el tratamiento ppm1

Entonces haremos la gráfica y mostramos los resultados. En este caso como lo que queremos mostrar es que en cada animal se observó un descenso se puede utilizar una gráfica de puntos individuales que mostrará el comportamiento de la fluoruria para cada animal de experimentación

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

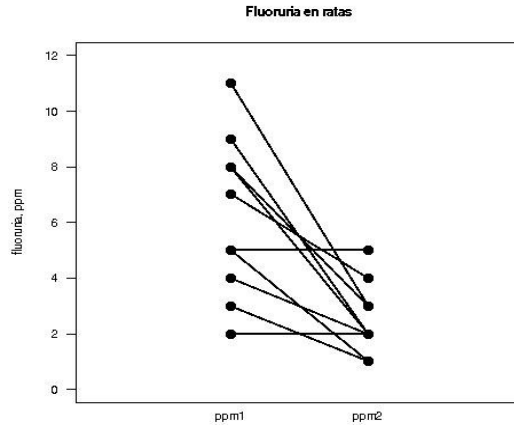


Figura 3.. Descenso de la fluoruria en ratas luego de aplicar los tratamientos con agua de bebida en concentración ppm2 por 30 días a cada animal ($n=11$). t de Student para datos apareados. $p<0,01$.

- En este ejemplo vemos la medida de la concentración de flúor en orina a lo largo del tiempo en una animal de experimentación

t	ppm
0	3
1	8
2	11
3	4
4	5
5	9
6	3
7	2
8	8
9	7
10	5

Secuencia de análisis, comparación y gráfica

1- Test de normalidad. En este caso no podemos probar este supuesto. Pero como sabemos por experimentos anteriores que la fluoruria sigue una distribución normal, podemos aferrarnos a ese conocimiento.

2- Graficamos los datos en un gráfico de dispersión del tipo y vs x .

3- Podemos hacer un análisis de regresión lineal o no lineal y graficar la línea que representa a los puntos individuales.

4- Ensayo de correlación. Según se haya considerado la muestras como normal o no se correlación de Pearson o de Spearman. En este caso hacemos una correlación de Pearson

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

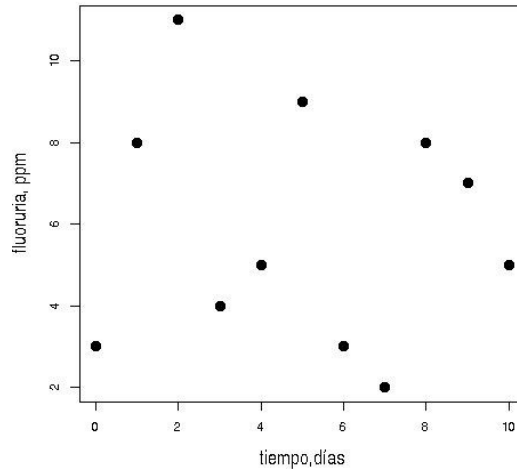


Figura 4. Fluoruria en un animal de experimentación a lo largo de 10 días de observación.

Los datos experimentales no muestran una tendencia de los valores de fluoruria a lo largo del tiempo, observación que comprobamos con un análisis de correlación

```
> cor.test(presentacionresultados3$t,presentacionresultados3$ppm)
Pearson's product-moment correlation
```

```
data: presentacionresultados3$t and presentacionresultados3$ppm
```

```
t = -0.28399, df = 9, p-value = 0.7828
```

```
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
```

```
95 percent confidence interval:
```

```
-0.6569760 0.5359309
```

```
sample estimates:
```

```
cor
```

```
-0.09424213
```

El valor de p-value mayor a 0.05 confirma la falta de correlación entre las variables medidas.

- En el ejemplo siguiente analizaremos un caso en se realizó un diagnóstico de fluorosis en animales, clasificándolos en dos categorías que indicamos con SI: si presentó la enfermedad o NO: si no tiene signos de fluorosis. Además a los animales se los dividió aleatoriamente en dos tratamiento, que indicamos como T1 o T2. Así, cada animal tendrá dos magnitudes cualitativas medidas: tratamiento y fluorosis.

Los resultados de este experimento se muestran en la siguiente tabla de doble entrada, en que se indica el número de animales que cumplen cada combinación de categorías

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

de las dos variables. Podemos ver que 20 animales que recibieron el tratamiento T1, presentaron fluorosis.

tabla	SI	NO
T1	20	5
T2	2	31

Secuencia de análisis, comparación y gráfica

1- Se pueden mostrar los resultados en forma de barras o tortas.

2- Se pueden comparar los resultados con test de proporciones o Chi cuadrado.

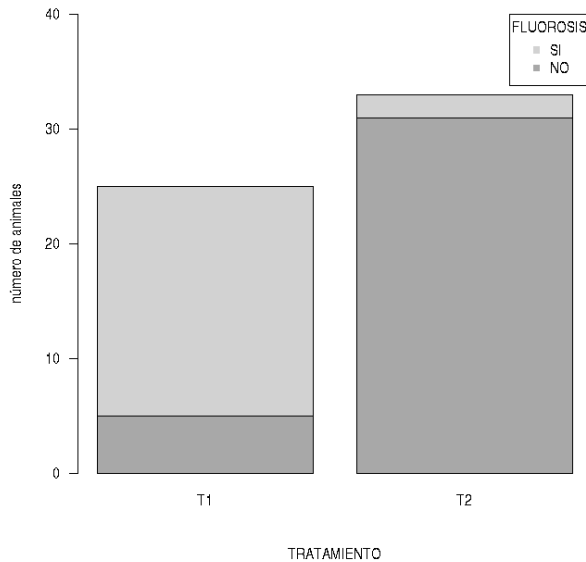


Figura 5. Número de animales con y sin fluorosis luego de aplicar los tratamientos T1 ($n=25$) y T2 ($n=33$). $\text{Chisq.test } p < 0,05$.

La gráfica anterior como podemos ver muestra todos los resultados del experimento incluyendo su análisis estadístico.

CONDUCTIMETRÍA

Badín J

La conductimetría es una técnica que mide la capacidad que tiene una muestra para conducir la corriente eléctrica y la variable medida lleva el nombre de conductividad. Esta conductividad guarda una estrecha relación con la concentración de sustancias que poseen cargas, es decir con el contenido de sustancias iónicas. La conductividad depende directamente de dos factores: la cantidad de iones presentes en la solución y de la viscosidad de la misma. Hay que considerar además que si hablamos de soluciones acuosas, la viscosidad varía con la temperatura, por lo cual este es otro factor a tener en cuenta a la hora de realizar mediciones. En el laboratorio, se efectúan mediciones de conductividad en tierras y agua, siguiendo ambas mediciones un procedimiento basado en los mismos fundamentos. Este tipo de técnicas se basan en la interacción de un electrodo y la carga eléctrica presente en una solución. Se utiliza en esta medición un instrumento llamado conductímetro, que consta de un electrodo capaz de medir el flujo de iones de la solución. La unidad de medida para la conductividad eléctrica es el Siemens (Sm). El instrumento utilizado mide la conductividad en mSm/cm o $\mu\text{Sm/cm}$. Así, se puede enfrentar una muestra de agua cuya conductividad sea por ejemplo 0.135 mSm/cm o 135 $\mu\text{Sm/cm}$.



Medida de la conductividad eléctrica del agua

Materiales y reactivos

- ◆ Conductímetro Hanna 98304
- ◆ Vasos plásticos para colocar la muestra (de aproximadamente 30ml de volumen total)
- ◆ Agua destilada
- ◆ Termómetro
- ◆ QC conductividad.

Procedimiento

1- Previo a realizar las mediciones medir la temperatura ambiente con el termómetro y registrarla con el objetivo de detectar posibles alteraciones en la viscosidad de las muestras.

2- En un recipiente plástico colocar agua destilada. Encender el conductímetro con el botón superior y sumergirlo en ella. El valor indicado en el conductímetro debe ser de 0.0mSm/cm, ya que el agua destilada no posee iones. Si no fuese de 0.0mSm/cm, puede ocurrir que no se hayan utilizados recipientes completamente limpios o el equipo esté descalibrado. Es conveniente lavar bien el conductímetro y recipiente con agua

destilada y medir nuevamente. Si el valor perdura aun diferente de 0.0mSm/cm será conveniente calibrar el instrumento consultando con su supervisor.

3- En un vaso plástico colocar el estándar de conductividad, una solución de KCl preparada con los cuidados que demanda la preparación de patrón de medición. Medir la solución por duplicado. Anotar estos valores para posteriormente contrastar la conductividad medida y la conductividad teórica del QC y cálculo de las UDS. Un cambio en la conductividad medida del QC o valores de UDS fuera del intervalo [-2,2] debe despertar alguna sospecha. El estándar utilizado es una solución de KCl 0.01 mol/L que tiene una conductividad eléctrica de 1.41 mS/cm a 25°C.

4- Lavar el conductímetro y vasos plásticos con agua destilada. Es conveniente sumergir el conductímetro en agua destilada entre muestra y muestra: siempre que sea distinto de cero, debemos lavar mejor el instrumento.

5- Colocar una de las muestras en un vaso plástico de medida y sumergir el conductímetro, tomando la medición de conductividad. Repetir la medición dos veces. En caso de tener el volumen de muestra suficiente debe hacerse en dos vasos de medida distintos. En caso de no tenerlo, puede repetirse la medición en el mismo volumen de muestra. Anotar el valor obtenido y su duplicado, dejándolo registrado en el cuaderno correspondiente.

6- Lavar el electrodo del conductímetro y vaso con agua destilada luego de la medición de cada muestra. Es conveniente sumergir el conductímetro en agua destilada entre muestra y muestra: siempre que sea distinto de cero, debemos lavar mejor el instrumento.

7- Repetir el procedimiento para todas las muestras a medir.

8- Al finalizar la medición de las muestras, lavar correctamente los vasos de medida y el electrodo del conductímetro.

9- Apagar el conductímetro y proceder al lavado y guardado de los materiales utilizados.

Conductividad eléctrica en suelos

No es posible medir la conductividad eléctrica así como el pH de los suelos directamente sobre la muestra de suelo seco. Ambos procedimientos requieren de la preparación de una suspensión con agua destilada.

Procedimiento para preparar la suspensión:

1- Pesar 5g de suelo que fue previamente secado a 40°C, en un tubo de centrifuga de 50ml.

2- Agregar agua destilada a temperatura ambiente hasta 25ml.

3- Agitar 5min y dejar reposar entre 40min de manera de obtener un sobrenadante límpido. Si es necesario puede realizarse una centrifugación para acelerar el proceso.

4- Una vez obtenido el sobrenadante, se mide la conductividad siguiendo el mismo protocolo que para la medición de conductividad en agua.

Precauciones

El conductímetro es un instrumento muy costoso. Debemos cuidar que ninguna solución acuosa sobrepase el límite máximo indicado en el instrumento.

ESPECTROSCOPIA

Generalidades

Vivimos en un mundo lleno de colores: arcoiris, selvas, océanos, etc. La tierra es el lugar más colorido que conocemos, rojo, amarillo y azul son unas de las primeras palabras que aprendemos. Pero hay una razón por la que nuestro mundo se ve tan increíble. Cuando vemos colores no solo vemos belleza si no que estamos apreciando uno de los procesos más complejos de la naturaleza. En este capítulo veremos una breve introducción sobre la fascinante ciencia detrás de la espectrofotometría y de su lenguaje a través de los colores del universo.

Para introducirnos en la historia de los colores debemos remontarnos a la antigüedad, a los griegos, desde los tiempos de Homero, 850 a.C., quien recoge las creencias populares en los textos de la *Ilíada* y la *Odisea*. A lo largo de la historia la luz fue muchas veces concebida como un corpúsculo y otras veces como una onda. Desde la teoría granular propuesta por Platón y desarrollada por Demócrito, la teoría dinámica propuesta por Aristóteles, teoría corpuscular de Newton y Einstein a la teoría ondulatoria de Huygens, Fresnel y Maxwell.

Sin embargo, aunque la teoría ondulatoria gozaba de credibilidad y tenía eminentes seguidores no explicaba la polarización de la luz ni la existencia de distintos colores. Es el físico y matemático inglés Sir Isaac Newton²⁴ que da un paso de gigante en su interpretación, en 1665 descompone con un prisma la luz blanca, encuentra que los colores están caracterizados por índices de refracción distintos y al atravesar al prisma se dispersan en direcciones diferentes.

La luz visible es la única porción del espectro electromagnético que podemos percibir con el sentido de la visión. Durante toda la vida, los ojos se han basado en esta estrecha banda de radiación electromagnética para recoger información del mundo. La luz visible contiene importantes indicios científicos que revelan las propiedades ocultas de los objetos en todo el universo. Pequeños desfasajes de energía en longitudes de onda específicas pueden detectar la condición física y la composición de la materia estelar e interestelar. Los ojos humanos no son lo suficientemente sensibles para detectar estas variaciones de la onda electromagnética, pero si los instrumentos científicos. La ciencia puede conocer la composición de una sustancia por la forma en que sus partículas dispersan la luz visible. La atmósfera de la tierra, por ejemplo, normalmente se ve azul ya que contiene moléculas de nitrógeno y oxígeno que tienen el tamaño adecuado para dispersar la energía con la longitud de onda de la luz azul.

²⁴Entre 1670 y 1672 trabajó intensamente en problemas relacionados con la óptica y la naturaleza de la luz. Newton demostró que la luz blanca estaba formada por una banda de colores (rojo, naranja, amarillo, verde, cian, azul y violeta) que podían separarse por medio de un prisma.

En 1704, Newton escribió su obra más importante sobre óptica, *Opticks*, en la que exponía sus teorías y la naturaleza corpuscular de la luz, así como un estudio detallado sobre fenómenos como la refracción, la reflexión y la dispersión de la luz.

La ciencia logra obtener información de la materia a través de diversas técnicas entre ellas la espectroscopía. Esta rama de la ciencia basa fundamentalmente su funcionamiento en la capacidad que tiene la materia de absorber ciertas longitudes de onda de la luz, tanto visible como de otros sitios del espectro, como lo son la radiación infrarroja y ultravioleta.

La espectroscopía tiene diferentes formas de realizarse de acuerdo a la forma en que se mide y emite la radiación utilizada. Así, en principio y adaptado a este manual dividimos a la espectroscopía en:

- ◆ visible: utiliza luz visible.
- ◆ ultravioleta: utiliza radiación ultravioleta.
- ◆ infrarroja: utiliza radiación infrarroja.

De acuerdo a la forma de generar y medir la interacción de la radiación con la materia, la espectroscopía se clasifica en:

- ◆ fotometría de llama.
- ◆ espectrofotometría.
- ◆ espectroscopía de absorción atómica.
- ◆ fotolorimetría.

Fotometría de llama

En esta técnica se somete a una sustancia a una fuente de alta temperatura, habitualmente una llama. En este proceso los electrones que componen el átomo absorben energía y luego la liberan en forma de luz. El análisis de esta luz emitida permite medir concentraciones de la sustancia en cuestión en un medio acuoso.

Espectrofotometría

En la espectrofotometría se irradia a una sustancia que se halla en solución con radiación de una longitud de onda que permite la absorción por parte de la sustancia. Cuanto mayor es la concentración de la sustancia mayor será la absorción de radiación. La relación entre la intensidad de la luz que incide y la que sale luego de la interacción se la llama transmitancia, variable que guarda una proporción con la concentración de la sustancia. La radiación utilizada puede ser visible, ultravioleta o infrarroja.

Espectroscopía de absorción atómica

La espectroscopía de absorción atómica es una técnica espectroscópica en la que una sustancia se expone a una fuente de elevada temperatura, habitualmente una llama. A la sustancia en esas condiciones se la irradia con luz originada por una lámpara que contiene el mismo átomo que se desea medir. Esta luz atraviesa los átomos de la muestra que se desea medir, los que se hallan al estado gaseoso por ser volatizada la muestra en una llama de elevada temperatura. Solo los átomos de interés absorben la

radiación proveniente de la lámpara y esta absorción es proporcional a la concentración de la muestra.

Fotolorimetría

Es similar a la espectrofotometría pero solo utiliza luz visible. Se irradia a la muestra con luz de un dado color y se mide la transmitancia como se explicó anteriormente.

En los capítulos siguientes se desarrollarán técnicas espectroscópicas aplicadas a la medición de diferentes sustancias. Las técnicas presentadas corresponden a mediciones comunes en un análisis de agua, sin embargo la espectroscopia puede aplicarse a infinidad de sustancias.

MEDICIÓN DE AMONIO EN AGUA

Flores HG - Garcia HM- Monti MS

Introducción

El ión amonio (NH_4^+) es un compuesto orgánico, producto de la descomposición de compuestos nitrogenados, por medio de bacterias que se ubican en capas superficiales del suelo y que se encuentra en muy baja concentración en el agua de consumo humano. También pueden generarse incrementos de esta sustancia como producto de diferentes procesos industriales, vertidos urbanos y actividades agropecuarias que se vuelcan a las diferentes fuentes acuíferas. El exceso de amonio, junto a otros compuestos nitrogenados en el agua provoca que las plantas y otros microorganismos crezcan. Cuando estos mueren, se descomponen, llenando el agua de malos olores y un aspecto nauseabundo, disminuyendo su calidad, además, consumen una gran cantidad del oxígeno disuelto y las aguas dejan de ser aptas para el consumo de los seres vivos. La ley provincial de Santa Fe 11.220 fija como límite recomendado y máximos 0.05 y 0.5ppm, respectivamente. La medición de este ion se realiza mediante espectrofotometría con diferentes tipos de reactivos. A continuación se describirá la metodología para la medición de amonio con el método del fenato.

Fundamentos del método

El amonio reacciona con el fenol e hipoclorito de sodio en medio alcalino produciendo azul de indofenol, tornando la solución azulada en función de la concentración de amonio presente. La técnica incorpora el agregado de citrato para eliminar las posibles interferencias por Ca y Mg.

Protocolo de medición

- 1- Retire de la heladera los reactivos y solamente las muestras que va a medir.
- 2- Haga un protocolo para saber con precisión que solución tiene cada pocillo.
- 3- Cargue los estándares, muestras, QC y el ensayo de adición-recuperación M(-) y M(+), siguiendo cada línea de la tabla siguiente

	Solución Stock (ul)	QC (ul)	H ₂ O destilada (ul)	Muestra (ul)	Fenol (ul)	Nitroprusiat o de Na (ul)	Solucion oxidante (ul)	mg N
Blanco	0	0	860	0	36	36	90	0
T1	10	0	850	0	36	36	90	0
T2	30	0	830	0	36	36	90	0,003

MEDICIÓN DE AMONIO EN AGUA

T3	55	0	815	0	36	36	90	0,0055
QC	0	40	820	0	36	36	90	0.002
Muestra	0	0	0	860	36	36	90	
M(-)	0	0	10	850	36	36	90	
M(+)	9	0	0	850	36	36	90	

4- Para la generación del color, colocar la gradilla en el agitador de gradillas y al abrigo de la luz por 30 minutos.

5- Lleve las muestras al espectrofotómetro y realice la medición de absorbancia.

6- Registre los datos y cárguelos en el software.

Soluciones a utilizar

- ◆ Solución de fenol: 11.1 ml Fenol y alcohol etílico 95% csp 100ml.
- ◆ Nitroprusiato de sodio 0.5%P/V: Colocar 0.5g de nitroprusiato de sodio y agregar agua destilada csp 100 ml. Mantener la solución en frasco color caramelo.
- ◆ Citrato alcalino: 200g citrato trisódico, 10g de Na(OH) y agua destilada csp 1000ml.
- ◆ Solucion Stock de NH_4^+ de 1000mg N/litro: pesar 3.819g de cloruro de amonio anhidro y agregar agua destilada csp 1000 ml.
- ◆ Solución oxidante: 400 μl H_2O destilada, 95 μl de nitroprusiato de sodio al 0.5%P/V, 5 μl de hipoclorito de sodio (solución comercial). Esta solución debe ser preparada en el momento a realizar la determinación

Precauciones

Conservar las muestras en heladera desde la recepción y hasta el momento de la medición. Los reactivos deben ir a la heladera y solo sacarlos de esta cuando vamos a realizar la medición. Como todo procedimiento de medición en el laboratorio, debemos trabajar con guantes, guardapolvo y pelo recogido, extremando medidas de higiene. Cuando debamos preparar nuevamente los reactivos, tenemos que extremar el cuidado en la preparación de las soluciones, ya que de hacerse de manera incorrecta, estaremos arrastrando errores en las futuras mediciones.

MEDICIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA

Neira M - Vaquero S

Introducción

El arsénico fue descubierto aproximadamente en el año 1250. Su nombre deriva de la palabra griega *arsenikon*, que significa masculino. Los romanos, en cambio, lo llamaron oropimente, del latín *auripigmentum*, por su característico color amarillo. Desde la antigüedad se conoce que, a dosis muy bajas, podría tener usos terapéuticos, no obstante también es bien conocido su poder letal. Los griegos curaban algunas enfermedades sanguíneas, cutáneas y nerviosas con trióxido de arsénico. A principios del siglo XX, para curar la sífilis eran utilizados los derivados organometálicos del arsénico, tales como arsenamina y neoarsenamina.



Cabe destacar que, a lo largo de la historia, este mineral fue utilizado para el tratamiento de patologías tan diversas como asma, reumatismo, neuralgias, anorexia, paludismo, tuberculosis, por citar solamente algunas.

El arsénico es un elemento metaloide, vale decir que comparte características de metales y no metales, con número atómico 33, peso atómico 74.922, que presenta diferentes estados de oxidación. Aparece en la naturaleza de manera ubicua, encontrándose en atmósfera, rocas, suelos, hidrosfera y biosfera; por lo que la contaminación natural es muy frecuente, ocasionada por meteorización, actividad biológica y emisiones volcánicas. Sin embargo, no debemos olvidar la contaminación antrópica, que es aquella producida por el ser humano, a través de actividad minera, pesticidas, herbicidas, etc.

Si bien el arsénico se asocia con la muerte, es un elemento esencial para la vida y su deficiencia puede dar lugar a diversas complicaciones. La ingesta diaria de 12 a 15 μg puede obtenerse sin problemas con la dieta diaria de carnes, pescados, vegetales y cereales, siendo los peces y crustáceos los que más contenido de arsénico presentan, generalmente en forma de arsenobetaína, menos tóxica que el arsénico inorgánico. Se ha demostrado que el arsénico influye en la formación de metabolitos a partir de la arginina y la metionina. En forma de arsenato puede actuar como activador enzimático, sustituyendo a los fosfatos. En forma de arsenito actúa como inhibidor, influye sobre enzimas que reaccionan con grupos sulfhidrilo. Otra función del arsénico es la regulación de la expresión génica, induciendo la producción celular de determinadas proteínas vinculadas al estrés. La presencia de arsénico en el agua puede deberse a la disolución del mineral presente en los suelos y cuencas hidrográficas por donde fluye antes de su captación para el consumo humano, aunque como se mencionara anteriormente, la contaminación por vía antrópica no es despreciable.

MEDICIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA

Este mineral puede presentarse en forma de arsenito (AsO_2^-) o arseniato (AsO_4^{3-}), siendo este último más abundante. El arsenito, además de ser más difícil de remover del agua, es más tóxico para el ser humano.

La Organización Mundial de la Salud (O.M.S) estableció como límite máximo para el agua de consumo, una concentración de 0.01ppm o lo que es lo mismo que 10ppb. El consumo crónico de este elemento puede causar un cuadro conocido como hidroarsenicismo, caracterizado típicamente por hiperqueratosis palmar y plantar, aunque también son frecuentes la aparición de alteraciones del metabolismo glucídico y cáncer, entre otras entidades patológicas.

El arsénico ingresa al organismo principalmente por ingesta o inhalación, llegando al epitelio del tracto digestivo, del aparato respiratorio y/o de la piel, desde donde alcanza el torrente sanguíneo tras su absorción. Por vía sanguínea es transportado al resto del organismo, donde puede producir daños graves y permanentes.

Luego de 24h de su absorción, este metaloide puede ser encontrado en hígado, bazo, piel, pulmones y riñones, sitios en los que se acumula por su fácil reacción con proteínas, fundamentalmente a nivel cutáneo, produciendo la típica hiperqueratosis.

Como cualquier otro elemento, cuando la ingesta supera a la excreción, se acumula. En el caso del arsénico, esta acumulación se produce, fundamentalmente, en cabello y uñas.

Los efectos tóxicos varían dependiendo de diversos factores, tales como la dieta, el metabolismo y la genética, entre otros. Las personas con mayor riesgo de desarrollar hidroarsenicismo son aquellas que presentan una baja metilación del arsénico y los niños, debido a su mayor grado de división celular y su menor metabolismo con respecto a los adultos. El mejor biomarcador de absorción de arsénico es la orina, pudiendo medirse hasta 10 días después de la exposición. Si bien en cabello y uñas puede medirse hasta 12 meses posteriores a la exposición, este dato es poco específico. La exposición a grandes cantidades, de manera aguda, afecta la vía digestiva, generando un cuadro gastrointestinal típico que cursa con vómitos, diarrea y dolor abdominal, acompañado de deshidratación. A nivel neurológico, el efecto más frecuente es la pérdida de sensibilidad, evidenciable una a dos semanas posteriores a la exposición. El consumo prolongado, a bajas dosis y repetitivo se acompaña de síntomas tales como fatiga, leucopenia, alteraciones cutáneas, hipertensión, anemia y gastroenteritis. Al ser síntomas generales, comunes a diversas entidades patológicas, es fundamental el seguimiento y la búsqueda de la fuente de contaminación.

Fundamento de la técnica

El método empleado en nuestro laboratorio es la técnica espectrofotométrica que utiliza dietilditiocarbamato de plata (AgDEDTC) y se basa en tres etapas. En la primera, se reduce el arsénico V a arsénico III utilizando yoduro y sales de estaño II. En la segunda el arsénico III se reduce a arsina en un medio ácido, usando zinc como reductor. La arsina es un compuesto gaseoso que se desprende en la solución y en una tercer etapa

MEDICIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA

reacciona con el AgDEDTC disuelto en piridina y forma un compuesto coloreado, que se mide en el espectrofotómetro.

Protocolo de medición de arsénico

Se utilizan como reactivos: 5ml de HCl concentrado, 2ml KI 0.1N, 0.5ml SnCl₂0.3N, 2g Zn, 0.005g AgDEDTC y 1ml de piridina por determinación. Todas las muestras se procesan por duplicado, por control de calidad.

El equipo para la formación de la arsina consta de un matraz Erlenmeyer, tubo de Khan corto con tapa, perfus con conector soporte de material plástico y tip de micropipeta como elemento burbujeador, Figura 1. Luego del proceso los tubos de Khan con el compuesto coloreado son medidos directamente en el espectrofotómetro a 540nm de longitud de onda, obteniéndose el valor de su transmitancia.

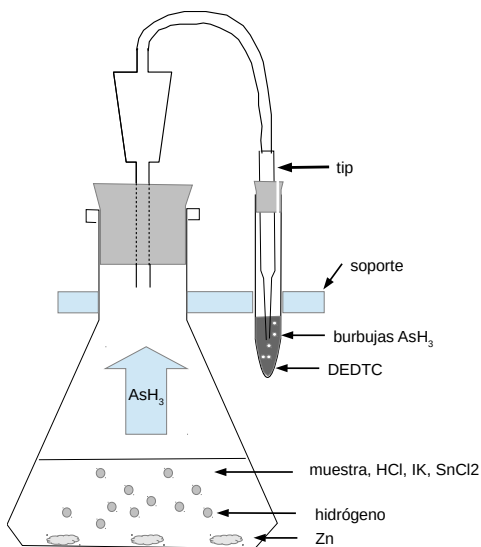


Figura 1. Equipo de generación de arsina

Es necesaria la realización de una curva de calibración. En este caso, se procede como se muestra en la siguiente tabla, en la que se indica también la solución QC (quality control) utilizada, las muestras y los ensayos de recuperación (M+adición):

Estándar, µg/l	Volumen, µl	Solución, µg/l	agua, ml	muestra, ml	IK,ml	SnCl ₂ ,ml	HCl, ml	Zn, g
0	0	0	50		2	0.5	5	2
10	50	10000	50		2	0.5	5	2
50	250	10000	50		2	0.5	5	2
100	500	10000	50		2	0.5	5	2
200	1000	10000	49		2	0.5	5	2
QC	200	12500	50		2	0.5	5	2
Ma	-	-	-	50	2	0.5	5	2
Ma+adición	100	12500	-	50	2	0.5	5	2
M	-	-	-	50	2	0.5	5	2

Ma: representa una muestra que se procesa en el lote y sobre la que se realiza el análisis de recuperación.

Para minimizar errores, se debe pesar el AgDEDTC de todos los tubos (0.005g por tubo) y aforar con piridina, teniendo en cuenta que se emplea 1ml de piridina por tubo. Para homogeneizar correctamente, se agita utilizando un vortex.

Se utiliza una probeta para medir 50ml de agua de las muestras y se trasvasa al Erlenmeyer. Esto se repite para el duplicado. Entre muestras, se enjuaga la probeta con agua destilada y posteriormente con el agua de la muestra siguiente. Al matraz Erlenmeyer, conteniendo el agua de la muestra a analizar, se le agregan los reactivos (HCl, KI y SnCl₂) y se agita manualmente.

Luego se coloca en cada tubo de Khan 1ml de la solución de AgDEDTC con piridina.

El zinc se agrega con el objetivo de generar hidrógeno que favorece la formación de arsina. El soporte de telgopor permite mantener unidos el matraz y el tubo de Khan, ayudando al perfus conector a servir de paso para la arsina. Cuando el dispositivo esté armado correctamente se observarán burbujas en la solución de AgDEDTC con piridina. Debe controlarse que, efectivamente, el contenido de todos los tubos burbujee, acción que se mantiene por aproximadamente 8 horas.

Concluido el burbujeo, se retiran los tubos de Khan del soporte que los sostenía y se tapan, para ser medidos en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 540nm, que dará la transmitancia de la muestra, y que luego de transformarse a absorbancia permite obtener la concentración de arsénico en cada muestra de agua, por interpolación con los valores hallados con la curva de calibración.

Descarte de reactivos

El HCl, KI, SnCl₂ y Zn contenidos en los Erlenmeyer, se descartan en la bacha, haciendo pasar el contenido por un colador que retendrá el Zn que no reaccionó.

La solución de AgDEDTC con piridina debe descartarse en un envase rotulado para tal fin y recibirá un tratamiento especial, siendo eliminado por una empresa encargada de disponer los residuos que contienen materiales tóxicos.

Limpieza del material

Matraz Erlenmeyer: su contenido se desecha en la bacha. Se lava con detergente no iónico y se enjuaga 10 veces con agua de red y 10 con agua destilada. Al ser un amaterial volumétrico no debe secarse en estufa.

Tapón de goma y perfus: se limpia con un papel embebido en alcohol y se guarda en un recipiente ad-hoc.

Tubos de Khan y tapas: se dejan en un recipiente con alcohol por 48 horas como mínimo, para disolver la piridina. Luego se lavan con cepillo eléctrico y detergente no iónico y se enjuaga igual que todo el material de laboratorio. Se puede secar en estufa.

Tips: los utilizados en las micropipetas se descartan, por contener reactivos. Los tips utilizados en el dispositivo de burbujeo se dejan en otro recipiente con alcohol por una semana. Se los procesa luego con un lavador ultrasónico tres veces con agua de red y tres con agua destilada.

Elementos de bioseguridad

Se utilizan guantes de látex descartables, guardapolvo y guantes de nitrilo al trabajar con piridina, por ser un solvente que afecta el látex de los guantes comunes. Debido a que se emplean solventes volátiles se trabaja bajo una campana con extractor y el ambiente debe estar ventilado correctamente.

MEDICIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUA

Neira M

Introducción

La demanda química de oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno disuelto consumido por un agua durante la oxidación por vía química provocada por un agente químico fuertemente oxidante. Mide la capacidad de consumo de un oxidante químico y se expresa en ppm de O₂. Es usada para la cuantificación de la materia orgánica total. Elevadas cantidades de DQO indicarían presencia de materia orgánica. La medición de DQO en agua se realiza por un técnica colorimétrica.

Protocolo medición DQO

- 1- Sacar kit de medición de DQO de la heladera, para que los reactivos tomen temperatura y prender platina a 150°C.
- 2- Organizar: materiales, agua destiladas, testigos, QC, reactivos y muestras a utilizar.
- 3- Organizar en gradilla y rotular tubos.
- 4- Cargar tubos siguiendo la siguiente tabla:

	[O ₂], mg/l	H ₂ O, µl	Testigos o QC	Muestras, µl	Sol. Digestión	H ₂ SO ₄ , µl
BLANCO	0	500	-	-	300	700
T1	100	400	100	-	300	700
T2	200	300	200	-	300	700
T3	300	200	300	-	300	700
QC	250	-	500	-	300	700
M + H ₂ O _d	??	100	-	400	300	700
M + T	??	-	100	400	300	700
MUESTRAS	??	-	-	500	300	700

- 5- Homogeneizar en vortex durante 3s.
- 6- Colocar tubos en bloque de aluminio y calentar en platina 2 h a 150°C.
- 7- Luego de dejar enfriar, centrifugar a 6000rpm durante 10min. (colocar en cada canasta de la centrifuga los canastos con algodón y de ser necesario equilibrar el peso de las mismas con agua destilada)
- 8- Medir transmitancia en espectrofotómetro.

Descarte de soluciones y lavado materiales

- ◆ Descartar Tips amarillos y azules.
- ◆ Colocar en tupper con HCl los tubos 48h (para evitar contaminación en futuras determinaciones).
- ◆ Enjuagar 10 veces con agua de canilla.

MEDICIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUA

- ◆ Enjuagar 10 veces con agua destilada.
- ◆ Poner a secar en estufa.
- ◆ Lavar tapas en lavador ultrasónico.

Precauciones

Los reactivos son corrosivos, tener precaución al manejarlos. Es necesario el uso de guantes y guardapolvo.

Se utiliza platina a 150°C, tener precaución con quemaduras. Utilizar guante para altas temperaturas.

Al preparar la solución de digestión colocar primero agua y luego el ácido sulfúrico gota a gota. No invertir el orden o agregar el sulfúrico de otra manera que no sea gota a gota.

Soluciones a utilizar

◆ Solución de digestión: Tomar una probeta de 100ml. Colocar aproximadamente 50ml de H₂O destilada. Agregar 1.0216g de K₂Cr₂O₇, si es necesario secar previamente 2h a 150°C. Agregar 3.33g de Hg(NO₃)₂ (nitrato mercúrico), si es necesario secar previamente 2h a 150°C. Agregar gota a gota 16.7ml de H₂SO₄ concentrado. Todo el proceso hacerlo con agitación. Aforar con agua destilada a 100ml. Si durante el preparado se eleva mucho la temperatura espaciar el agregado de gotas del ácido sulfúrico.

◆ Reactivo de ácido sulfúrico: Tomar una probeta de 100ml, agregar 1.18g de AgNO₃ y aforar a 100ml con H₂SO₄ concentrado. Mezclar en agitador magnético durante al menos 1h.

◆ Ftalato ácido de potasio (KHP). Esta solución es el estándar de la medición. Utilizar un matraz aforado de 100ml. Pesar 42.5mg de ftalato ácido de potasio previamente secado durante 1h a 120°C. Agregar agua destilada y aforar. Esta solución tiene un contenido teórico de DQO de 500mg/l y es estable por 3 meses mientras se mantenga refrigerada.

Preparación de los estándares para la curva de calibración. Se hacen 3 diluciones a diferente concentración cada vez que se mide para realizar una curva de calibración. (100ppm, 200ppm, 300ppm, QC=250ppm)

DETERMINACIÓN DE CLORO LIBRE EN AGUA DE CONSUMO

Barón C

Introducción

La desinfección del agua es un proceso que consiste en la reducción de microorganismos patógenos para el ser humano hasta alcanzar un nivel que no represente un peligro para la salud, uno de los procesos más utilizados para tal fin es la cloración (adición al agua de cloro elemental o sus derivados). La finalidad principal de la cloración es la desinfección microbiana. No obstante, el cloro actúa también como oxidante y puede eliminar o ayudar a eliminar algunas sustancias químicas. Pero también puede originar subproductos de la desinfección al reaccionar el cloro con los fenoles y otros compuestos orgánicos presentes en el agua, produciendo cloraminas y compuestos organoclorados que pueden provocar efectos adversos sobre la salud y alterar las propiedades organolépticas del agua. La cantidad de cloro añadida al agua debe ser tal que permita una óptima desinfección sin generar altas concentraciones de subproductos de desinfección. Las normas internacionales para agua potable indican como límites permisibles de cloro de 0.4 a 0.8 mg/l en la red de distribución en las tomas domiciliarias. El código alimentario argentino establece un valor deseable mayor a 0.2 mg/l y la ley provincial establece un rango deseable de 0.2 a 0.5 mg/l y un límite superior de 1.2 mg/l.

Formas y reacciones de cloro: el cloro aplicado al agua en su forma molecular o hipoclorito inicialmente se hidroliza para formar cloro libre que consiste en cloro acuoso molecular, ácido hipocloroso e ión hipoclorito. La proporción relativa de estas formas de cloro libre depende del pH y la temperatura. En el pH de la mayoría de las aguas, predominarán el ácido hipocloroso y el ion hipoclorito. El cloro libre reacciona fácilmente con el amoníaco y ciertos compuestos nitrogenados para formar el cloro combinado. Con el amoníaco, el cloro reacciona para formar las cloraminas: monocloramina, dicloramina y tricloruro de nitrógeno. La presencia y las concentraciones de estas formas combinadas dependen principalmente del pH, la temperatura, la relación inicial de cloro a nitrógeno, la demanda absoluta de cloro y el tiempo de reacción. Tanto el cloro libre como el combinado pueden estar presentes simultáneamente. El cloro combinado en los suministros de agua se puede formar en el tratamiento de aguas crudas que contienen amoníaco o mediante la adición de amoníaco o sales de amonio. Los efluentes de aguas residuales clorados, así como ciertos efluentes industriales clorados, normalmente solo contienen cloro combinado.

Fundamentación de la técnica

El cloro reacciona con la DPD y genera un color rojizo, el color desarrollado es proporcional a la concentración de cloro libre.

DETERMINACIÓN DE CLORO LIBRE EN AGUA DE CONSUMO

Protocolo de medición

Tanto para aguas de red como de pozo se utiliza un método espectrofotométrico por reacción del cloro libre con N, N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) produciendo color rojo, que se mide a 515nm con un espectrofotómetro. En aguas de pozo primero se realiza una desinfección doméstica por agrega de 1 gota de lavandina al 1% por cada litro de agua, según recomendaciones de la OMS o 2 gotas de lavandina comercial, 2.5% según indica la etiqueta de ésta.

Materiales y equipos:

- ◆ Frascos de vidrio color caramelo.
- ◆ Gradilla para tubos Khan.
- ◆ Tubos Khan.
- ◆ Micropipetas y tips.
- ◆ Guantes.
- ◆ Espectrofotómetro.
- ◆ Papel absorbente.

Pasos:

1. Preparación de los estándares, solución amortiguadora de fosfatos y DPD.
2. Cargar solución amortiguadora de fosfatos en todos los tubos a utilizar: 130µl.
3. Cargar DPD en todos los tubos: 130µl.
4. Preparación de curva de calibración: blanco (agua destilada), S1 (4mg/l), S2 (2 mg/l), S3 (1 mg/l), S4 (0,5 mg/l), S5 (0,25 mg/l), S6 (0,1 mg/l): 2,7ml.
5. Cargar muestras de agua para medición: 2,7ml.
6. Colocar cada uno de los tubos en el espectrofotómetro para su medición.
7. Leer el resultado y anotarlo en el cuaderno de trabajo

MEDICIÓN DE FOSFATO EN AGUA

Neira M

Introducción

El fosfato es un componente esencial para la vida. Integra moléculas de gran importancia como ATP, ADP, ADN, ARN, fosfolípidos, etc. Interviene en diversos procesos biológicos como en la formación y mantenimiento de la estructura de huesos y dientes, control de la actividad enzimática y efectos de hormonas, entre otras. El fosfato es incorporado en el organismo humano con los alimentos y es un componente habitual, aunque en baja concentración en el agua de consumo.



El fósforo se halla en aguas naturales y residuales como fosfatos. El ortofosfato es el principal constituyente de muchos productos de limpieza, agregándose al agua cuando se los utiliza. El ortofosfato se aplica a tierras de cultivo agrícola o residencial como fertilizantes, y son arrastrados luego por las aguas de lluvia hacia los cursos de aguas superficiales o profundos. Los fosfatos orgánicos se forman principalmente por procesos biológicos, y se aportan a las aguas con los desechos corporales y residuos de alimentos. Elevadas cantidades de fosfatos en el agua, si bien no son perjudiciales en sí mismo para la salud, favorecen el crecimiento de algas.

La ley 11.220 regula las aguas de consumo en la Provincia de Santa Fe, recomienda como límite máximo 0.53mg de fosfato/litro y establece como límite obligatorio: 6.89mg de fosfato/litro.

La medición de fosfato en agua se realiza por un técnica colorimétrica, aunque existen técnicas espectrofotométricas que miden en el rango ultravioleta.

Fundamentos del método

La técnica colorimétrica utiliza dos reactivos que llamaremos reactivo I y reactivo II. El reactivo I contiene molibdato de amonio que reacciona con el fosfato para formar ácido molibdofosfórico. Luego éste se reduce a azul de molibdeno con cloruro de estañoso, el que se halla en el reactivo II. La concentración de este compuesto formado es proporcional a la absorbancia medida a 630nm. Construyendo una curva de calibración con soluciones de fosfato de concentración conocida se puede calcular la concentración de fosfato en muestras de agua.

Protocolo medición

- 1- Sacar el kit de fosfato de la heladera, para que los reactivos tomen temperatura.
- 2- Organizar materiales, agua destilada, testigos, solución control de calidad, reactivos, muestras
- 3- Organizar en gradilla y rotular tubos Khan.

MEDICIÓN DE FOSFATO EN AGUA

4- Cargar tubos siguiendo la siguiente tabla

5- El reactivo II se halla concentrado y debe ser diluido 10 veces. Calcular el volumen requerido según la cantidad de tubos y realizar la dilución indicada.

	[PO ₄ ³⁻], mg/l	H ₂ O, ml	testigos o QC, ml	muestras, ml	reactivo I, µl	reactivo II, µl
BLANCO	0	2	-	-	80	100
T 1	0.5	-	2	-	80	100
T 2	1	-	2	-	80	100
T 3	2	-	2	-	80	100
T 4	5	-	2	-	80	100
QC	2.4	-	-	-	80	100
M + T4	??	-	0.15	1.85	80	100
MUESTRAS	??	-	-	2	80	100

Precauciones

Tratamiento de los tubos con HCl diluido para eliminar fosfatos que pudieran estar unidos al vidrio. Luego lavar con agua corriente y agua destilada.

Trabajar con guantes, guardapolvo y pelo recogido, extremando medidas de higiene. Se extrema el cuidado en la preparación de las soluciones y su conservación.

Soluciones a utilizar

◆ Solucion stock: 240mg PO₄³⁻/L

Preparación

1- Buscar en la base de datos (droguero), y anotar los número de las posibles drogas a usar. En nuestro caso utilizamos KH₂PO₄ de calidad analítica.

2- Secar una cantidad aproximada a la que necesito de KH₂PO₄ durante 24h a 105°C.

3- Calcular cantidad de KH₂PO₄ necesaria:

1000ml ----- 240mg PO₄³⁻

100ml ----- x= 24mg PO₄³⁻

95mg PO₄³⁻ ----- 136.05mg KH₂PO₄

24mg PO₄³⁻ ----- x= 34.37mg KH₂PO₄ = 0.03437g

4- Pesar el KH₂PO₄ necesario: 0.03437g

5- Colocar la masa pesada en un matraz aforado de 100ml

6- Aforar a 100ml con agua destilada

7- Guardar en un frasco y rotular.

◆ Solución control de calidad o QC: 2.4mg PO₄³⁻/l

Para preparar la solución se diluye 100 veces la solución Stock.

◆ Testigos

Realizar diluciones correspondientes de la solución stock para obtener testigos con las siguientes concentraciones: 0.5ppm, 1ppm, 2ppm, 5ppm.

MEDICIÓN DE NITRATO Y NITRITO EN AGUA

Whpei Y

Introducción

El nitrato y nitrito son especies iónicas naturales que forman parte del ciclo del nitrógeno en la naturaleza. Las aguas superficiales o profundas pueden tener nitrato que rara vez superan 5-10 mg/L. La contaminación por fertilizantes, excretas de animales, descarga de desechos cloacales o industriales puede hacer aumentar este valor. Los nitritos también son formados biológicamente por la acción de bacterias nitrificantes (género *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*) que se encuentran en el suelo, oxidando el amoníaco a nitrito y otro grupo de bacterias lo oxida a nitrato. Una de las causas de la toxicidad del nitrato es su transformación a nitrito que puede ocurrir en el organismo, transformando la hemoglobina en metahemoglobina, causando metahemoglobinemia, una enfermedad que se caracteriza por la pérdida en la capacidad de transporte de oxígeno en sangre.

La formación de nitritos además se puede combinar con aminas y amidas (comúnmente derivadas de alimentos) para formar nitrosaminas, algunas de las cuales se consideran carcinógenas. Otra cuestión importante, es que la exposición a nitratos puede asociarse con la disfunción de la glándula tiroidea, provocando cambios patológicos en la misma, como su relación con la existencia de hipotiroidismo y posible cáncer de la glándula tiroidea. En casos extremos puede producir la muerte.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Código Alimentario Argentino capítulo XII, establecen un límite obligatorio, siendo para el nitrato de 45mg/L y para el nitrito de 0.1 mg/L, las aguas que superan los 45 mg/L se aconsejan no ser utilizadas para el consumo. Según la Ley 11220 que rige en la Provincia de Santa Fe, Argentina se establece un límite recomendado para el nitrato de 25mg/L y para el nitrito de 0.1 mg/L.

Fundamentos de la técnica

En esta determinación se mide el nitrito y nitrato. En cada muestra vamos a medir el contenido de nitrito con los reactivos Griess I y Griess II y en otro volumen de la misma muestra se agrega sulfato de hidracina que reduce el nitrato a nitrito, el que se mide luego con los reactivos mencionados. La concentración de nitrato se obtiene por diferencia entre la medición con y sin el agregado de hidracina.

Protocolo de medición de nitrato y nitrito

- Iniciar el software ATLANTIS e identificar las que deben medirse.

MEDICIÓN DE NITRATO Y NITRITO EN AGUA

- Retirar el kit nitrato-nitrato que se almacena en la heladera.
- Controlar que el volumen de solución sea adecuado para realizar la medición
- Retirar las muestras de agua a medir que se almacenan en heladera.
- Armar protocolo en cuaderno correspondiente
- Controlar y preparar todo el material necesario a utilizar
- Colocar solución de trabajo para hacer curva de calibración por duplicado
- Colocar QC por duplicado
- Colocar las muestras de agua según se indica en protocolo: 1300 ul de muestra a tubos de nitrato y 200 ul a tubo de nitrato (deberán quedar 4 tubos por cada muestra)
- Colocar en los tubos de nitrato 100 ul de solución buffer y 40 ml de solución reductora.
- Dejar 2 min a temperatura ambiente
- Colocar a todos los tubos 400 ul del reactivo Griess I y luego 400 ul del reactivo Griess II.
- Llevar todos los tubos a un volumen final de 2100 ul con agua destilada, agregando el volumen de agua destilada que corresponda en cada caso

	Solución de trabajo 0,005 mg/ml (ul)	QC nitrito/nitrato 2.307mg/l (ul)	muestra (ul)	buffer (ul)	sol reductora (ul)	2 min TA	griess I (ul)	griess II (ul)	agua (ul)	20 min TA	T520	umol NO2 en cada tubo
B	-	-	-	--	-	2 min TA	400	400	1300	20 min TA		0
T1	50	-	-	-	-	2 min TA	400	400	1250	20 min TA		0.0036
T2	200	-	-	-	-	2 min TA	400	400	1100	20 min TA		0.0145
T3	400	-	-	-	-	2 min TA	400	400	900	20 min		0.0290

MEDICIÓN DE NITRATO Y NITRITO EN AGUA

										TA		
QC	-	400	-	-	-	2 min TA	400	400	900	20 min TA		
Muestra NO 2	-	-	1300	-	-	2 min TA	400	400	-	20 min TA		
Muestra NO 3	-	-	200	100	40	2 min TA	400	400	960	20 min TA		

- Pasar todos los tubos por el vortex.
- Esperar 20 min a temperatura ambiente.
- Colocar el selector de longitudes de onda del Espectrofotómetro en 520 nm.
- Calibrar el espectrofotómetro a 0 y 100% d
- Medir la transmitancia de cada tubo en el espectrofotómetro.
- Cargar los datos de porcentaje de transmitancia en ATLANTIS

Soluciones a utilizar

- h) Solución madre NaNO_2 : 0.05 g de NaNO_2 en un volumen final de 100 ml, con agua destilada.
- i) Solución trabajo NaNO_2 : Diluir 1 ml de solución madre de NaNO_2 en volumen final de 100 ml con agua destilada
- j) Solución A: 24 ml de fenol y agregar agua destilada csp 500ml.
- k) Solución B: NaOH 0.35 mol/l
- l) Solución Buffer: Mezclar partes iguales de solución A y B. Se debe calcular el volumen a utilizar de esta solución, en función del número de muestras, recordando que se utilizan 200 μl por cada muestra, en los tubos que se adicionará sulfato de hidracina.
- m) Solución C: 0.1 g sulfato de cobre pentahidratado en agua csp 1000 ml.
- n) Solución D: 0.0448 g de hidracina ($\text{N}_2\text{H}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$), 0.025 ml H_2SO_4 98% P/P densidad 1.84 g/ml y agregado de agua destilada csp 10 ml. Preparar en probeta. La hidracina es líquida, pero se pesa colocando la probeta en balanza y agregando volumen hasta alcanzar el peso deseado

MEDICIÓN DE NITRATO Y NITRITO EN AGUA

- o) Solución reductora: se mezclan partes iguales de las soluciones C y D. Se debe calcular el volumen a preparar en función del número de muestras recordando que se utilizan 80 μ l por muestra.
- p) QC nitrito/nitrato: mezclar 0.4607 ml NaNO_2 0.5 g/l y agregado de agua destilada csp 100 ml
- q) Griess I: Para preparar 200 ml, mezclamos 0.066 g de ácido sulfanílico + 40 ml de ácido acético glacial y 200 ml de agua destilada (mezclar los reactivos anteriores y disolver en agua caliente, colocar en frasco caramelo y dejarlo en la heladera).
- r) Griess II: Para preparar 200 ml, agregar 0.118 g α -naftilamina, 23.6 ml de agua caliente y 200 ml de ácido acético glacial (filtrar si es necesario, colocar en frasco caramelo en la heladera)

Precauciones

Las muestras de aguas que recibimos siempre deben permanecer en la heladera hasta el momento de la medición, al igual que el kit de reactivos. Controlar que los volúmenes de cada recipiente sean los adecuados. Utilizamos material de bioseguridad para nuestra protección y evitar accidentes, ya que trabajamos con reactivos volátiles y corrosivos, dentro de los cuales están: guardapolvo, guantes de látex, lentes, barbijo y campana de extracción de gases. Se recomienda anotar el número de serie de las micropipetas que se utilizan para mejorar control y estandarización de la medición.

MEDICIÓN DE IODO

Poggiani A - Yucra Agreda SA

Introducción

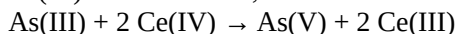
El yodo o yodo es un elemento químico de símbolo I y número atómico 53 situado en el grupo de los halógenos de la tabla periódica de los elementos. Su peso atómico es 126,904. Es un elemento esencial para el desarrollo humano y animal, presente en el organismo en pequeñas cantidades, principalmente en la glándula tiroidea. Su principal función es la síntesis de las hormonas tiroideas.

Precauciones

Para la determinación se utilizará un espectrofotómetro y micropipetas. Asegurarse de conocer su funcionamiento. La determinación está bajo control de calidad. Realizar determinaciones de estándares y muestras por duplicado. Utilizar tubos de vidrios, tratados con HCl, bien lavados con por lo menos 10 enjuagues con agua destilada.

Fundamento de la técnica

Pequeñas cantidades de yodo, en forma de yoduro (I^-), pueden detectarse usando el efecto catalítico de esta especie sobre la reacción de oxidación-reducción entre los iones Ce(IV) y As(III) en medio ácido, conocida como reacción de *Sandell-Kolthoff*



El yoduro acelera esta reacción que puede transcurrir en 1 minuto (dependiendo de la cantidad de yoduro presente). La cuantificación de yodo se lleva a cabo sabiendo que el tiempo en que transcurre la reacción es inversamente proporcional a la cantidad de yodo presente en la muestra.

El ión Ce(IV) en disolución ofrece una coloración amarilla, mientras que el ion reducido Ce(III) disuelto origina disoluciones incoloras. De esta forma, se registra el descenso de la coloración de la disolución de Ce(IV) en presencia de yoduro, que actúa como catalizador de la reacción. A mayor concentración de yoduro presente, más brusco será el descenso en la absorbancia que se puede medir a 400 nm con un espectrofotómetro. Se establece así una relación lineal entre la velocidad de descenso de la absorbancia a 400 nm y la concentración de yoduro presente.

Reactivos

- ◆ Disolución de ácido sulfúrico/ácido clorhídrico (0.35 M / 0.065 M).
- ◆ Disolución de Ce(IV) 5×10^{-3} M. Preparada a partir de nitrato cérico amónico $((NH_4)_2Ce(NO_3)_6)$ en ácido sulfúrico al 5% (v/v).
- ◆ Disolución de As(III) 6×10^{-2} M. Preparada a partir de óxido arsenioso (As_2O_3) en agua (es necesario adicionar aproximadamente 1,5 g de hidróxido potásico para facilitar la disolución del óxido).

- ◆ Patrón de ioduro de 1000 mg/L. preparada a partir de ioduro de potasio.
- ◆ Patrón de ioduro de 10 mg/L. Preparar en agua a partir del patrón de ioduro de 1000 mg/l. Enrasar con agua.
- ◆ Disoluciones patrón de la curva de calibración
Concentraciones: 200, 400, 600, 800 y 1000 µg/L (ppb) por dilución de la de 10 mg/L.

Protocolo de medición

1. Se llena la celda de referencia del espectrofotómetro con 1.5 ml de agua y se realiza el ajuste del espectrofotómetro a 0 y 100% de transmitancia
2. A continuación, en tubo se añaden en este orden, 250 µl de la disolución de ácido sulfúrico/ácido clorhídrico y 250 µl de la disolución de As(III).
3. Tras adicionar 250 µl de la disolución de Ce(IV) se activa el cronómetro y se dejan transcurrir 1.5 minutos.
4. Adicionar la disolución de ioduro y dejar reposar la mezcla durante 30 segundos.
5. Colocar el tubo en el espectrofotómetro, registrando a 400 nm la absorbancia durante 1 minuto. Registrar valores a tiempo 0, 30 y 60 segundos. Este procedimiento se repite para cada uno de los puntos de la curva de calibración, por duplicado.
6. Luego se continua con las muestras procediendo de la misma manera que con los testigos.
7. Se añaden EN ESTE ORDEN 250 µl de la disolución de ácido sulfúrico/ácido clorhídrico y 250 µl de la disolución de As(III).
8. Tras adicionar 250 µl de la disolución de Ce(IV) se activa el cronómetro y se dejan transcurrir 1,5 minutos.
9. Adicionar el volumen de la muestra. Dejar reposar la mezcla durante 30 segundos.
10. Colocar el tubo en el espectrofotómetro, registrando a 400 nm la absorbancia durante 1 minuto. Registrar valores a tiempo 0, 30 y 60 segundos.

patron/muestra (µg I/L)	Agua, µl	H ₂ SO ₄ /HCl, µl	As(III), µl	Ce(IV), µl	patrón o muestra, µl
0	1500	250	250	250	250
200	1500	250	250	250	250
400	1500	250	250	250	250
600	1500	250	250	250	250
800	1500	250	250	250	250
1000	1500	250	250	250	250
muestra	1500	250	250	250	250

MEDICIÓN DE IODO

MEDICIÓN DE SULFATO EN AGUA

Neira M - Vaquero SP

Introducción

El sulfato se libera al agua procedente de residuos industriales y mediante precipitación desde la atmósfera por arrastre de gases con azufre por el agua de lluvia. Las concentraciones más altas suelen encontrarse en aguas subterráneas y provienen de fuentes naturales aportados por minerales que lo contienen. También es parte del proceso de floculación, incorporándose como sulfato de aluminio durante la potabilización del agua. Concentraciones de sulfatos mayores a 400ppm inciden en el sabor y aroma del agua, y contribuyen a la corrosión de cañerías. Niveles mayores a 1000ppm tendrían efectos catárticos. La ley 11.220 regula las aguas de consumo en la Provincia de Santa Fe, recomienda un valor menor a 200mg de sulfato/L y como límite obligatorio: 400mg de sulfato/L. La medición de sulfato en agua se puede realizar por turbidimetría o bien utilizando una técnica radiométrica, utilizando el isótopo radioactivo ^{133}Ba .



Método radiométrico

Fundamentos del método

La técnica se fundamenta en la precipitación del sulfato de una solución con el catión bario en forma de BaCl_2 que contiene trazas de ^{133}Ba , que es un isótopo radiactivo que emite radiación gama y puede ser medida utilizando un contador de centelleo sólido. Al tratar una muestra de agua con la solución conteniendo bario, se forma sulfato de bario insoluble que se deposita en el fondo del tubo y que contiene ^{133}Ba . La radioactividad en el precipitado es proporcional a la cantidad de sulfato de la muestra.

Protocolo de medición de sulfato

- 1- Organizar: materiales, H_2O destilada, testigos, QC, reactivo con ^{133}Ba y muestras.
- 2- Organizar en gradilla y rotular tubos Eppendorf.
- 3- Cargar Eppendorf por duplicado siguiendo el protocolo: (el último paso es sacar la solución con bario radiactivo del bunker de plomo para su uso y posterior guardado, evitando exponerse innecesariamente a la radiación).

	$[\text{SO}_4]$, mg/l	H_2O , μl	testigos/QC, μl	Muestras, μl	Reactivo, μl
BLANCO	0	500	-	-	100
T 1	100	400	100	-	100
T 2	500	400	100	-	100
T 3	1000	400	100	-	100
QC	400	400	100	-	100
M + H_2O d	??	100	-	400	100
M + T1	??	-	100	400	100

MEDICIÓN DE SULFATO EN AGUA

MUESTRAS	??	0-450	-	50-500	100
----------	----	-------	---	--------	-----

d- Tapar Eppendorf y homogeneizar en vortex 3s.

e- Dejar reposar 1h a temperatura ambiente.

f- Centrifugar 15min a 10500rpm.

g- Dejar reposar 3 días para aumentar la adherencia del precipitado a las paredes del tubo Eppendorf.

h- Aspirar sobrenadante y descartar en pileta sin sifón con abundante agua.

i- Medir la radioactividad del precipitado de cada tubo Eppendorf en un contador de centelleo sólido en cuentas por minuto (cpm).

j- Cargar datos obtenidos en Software Atlantis 1.0.

k- Desecho Residuos Radiactivos: El residuo líquido se desecha en pileta con abundante agua corriente, evitando salpicaduras. Abrir la canilla de manera que el chorro de agua no produzca proyecciones. Los tubos con material radiactivo se colocarán en una bolsa roja de residuos patogénicos y se desecharán sin almacenamiento dado que la vida media del ^{133}Ba es aproximadamente 10 años.

Precauciones y Accidentes

Esta técnica utiliza ^{133}Ba que es un isótopo radiactivo emisor gamma con fotones de alta energía. Si bien las actividades que se utilizan no sobrepasarán las dosis anuales permitidas de radiación se deben seguir precisamente las instrucciones de las normativas vigentes.

Es recomendable trabajar dentro de una bandeja de bordes bajos o sobre mesada de metal o cubierta con papel film y papel absorbente.

Guardar solución de trabajo que contiene ^{133}Ba en un bunker de plomo de espesor recomendados, y solo sacarla del mismo en el momento del cargado. Evitar exponerse a la radiación innecesariamente.

Derrame de material radiactivo: Si ocurren en la bandeja de trabajo, juntar los papeles absorbentes y descartarlos en bolsa de residuos patogénicos. Tratar como residuo sólido. Si ocurrió fuera de bandeja, en mesada o suelo. Delimitar la zona. Descartar los materiales utilizados como residuo sólido. Limpiar hasta que la medida en contador gama de papeles utilizados no discrepe del fondo.

Las mujeres embarazadas no pueden realizar esta metodología, aunque la dosis equivalente de radiación anual sea la adecuada.

Soluciones a utilizar

◆ Solución stock SO_4 9600ppm

1- Secar 2g aproximadamente de Na_2SO_4 a 105°C 24h.

2- Pesar 1.4205g de Na_2SO_4 a partir de la droga secada 24h.

3- colocar la cantidad pesada en un matraz aforado y aforar a 100ml con H_2O destilada.

Realizar diluciones correspondientes para la preparación de testigos y QC: testigos: 100ppm, 500ppm, 1000ppm, QC: 400ppm.

MEDICIÓN DE SULFATO EN AGUA

◆ solución de trabajo: 1% P/V $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HCl 0.6M y 1.000.000 cuentas de ^{133}Ba para un volumen final de 100ml.

1-Marcar 100ml en recipiente que se guardará la solución. (Para no contaminar probetas)

2- Pesar 1g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (sin secar en estufa).

3- Agregar 5.17ml HCl 36% P/P $\delta=1.18\text{g/ml}$.

4- Agregar ^{133}Ba de manera que 100 μl contenga 1000 cuentas.

5- Aforar con H_2O destilada a 100ml (Según la marca que se hizo en paso 1).

Importante: 0.1ml de la solución de trabajo debe tener aproximadamente 1000cpm al contarla en un contador de centelleo sólido.

MEDICIÓN DE NITRÓGENO TOTAL EN AGUA

Matskeeff KT - Godoy RB

Introducción

El nitrógeno es un gas incoloro e inodoro que se encuentra formando parte de la atmósfera en un 78% de la misma. Es un elemento esencial para los seres vivos ya que participa en diversas funciones metabólicas y forma parte de distintos compuestos como las, proteínas, péptidos y ácidos nucleicos. Abunda en el aire, suelo y agua, transformándose constantemente a través de un ciclo y asumiendo diferentes estados de oxidación.

El nitrógeno contenido en la materia orgánica, denominado nitrógeno orgánico, junto con el amonio y amoniaco, constituyen el nitrógeno total por Kjeldahl, que es determinado en agua a través de la técnica de Kjeldahl. La técnica no requiere de equipamiento sofisticado y se adapta con facilidad a los análisis de rutina de un gran número de muestras. La importancia biológica de determinar estas formas del nitrógeno radica en que, como se mencionó previamente, dicho elemento sufre diversas transformaciones en la naturaleza pudiendo conducir, a partir de procesos como la amonificación y la nitrificación, a la formación de nitrito. El mismo, cuando es ingerido en altas concentraciones a través del agua de bebida, puede oxidar el ion ferroso contenido en la hemoglobina de los glóbulos rojos a ion férrico provocando una incapacidad en éstos últimos de transportar oxígeno hacia los tejidos, conduciendo a la metahemoglobinemia, una patología potencialmente grave, caracterizada principalmente por cianosis.

Fundamentos del método

La técnica de Kjeldahl comienza con la etapa de digestión durante la cual la materia orgánica hallada en la solución se descompone por la acción del ácido sulfúrico concentrado y otros catalizadores presentes en el reactivo, dando como resultado la obtención de sales de amonio, dióxido de carbono y agua. Este procedimiento se lleva a cabo con escalones de temperatura. En un primer calentamiento se evapora el agua y comienza la oxidación de la materia orgánica. En el siguiente escalón se produce la oxidación de toda la materia orgánica y transformación del nitrógeno orgánico en amonio. El amonio generado en este proceso se mide luego por la reacción de Nessler y el contenido de amonio obtenido se conoce como nitrógeno total por Kjeldahl.

Protocolo de medición de nitrógeno total

- 1- Colocar en tubos de ensayo 10 ml de cada muestra de agua y 1 ml del reactivo de Kjeldahl.
- 2- Ensayo de adición (se realiza sobre una de las muestras a procesar)

MEDICIÓN DE NITRÓGENO TOTAL EN AGUA

Sin adición: Colocar 10 ml de la muestra de agua en tubo de ensayo + 1 ml de reactivo de Kjeldahl

Con adición: Colocar 10 ml de la misma muestra en tubo + 0,1 ml QC 50 mg N/l + 1 ml de reactivo de Kjeldahl.

Procesar ambas en microkjeldahl como las demás muestras y luego medir con reactivo de Nessler.

3- Agitar las muestras en el vortex.

4- Colocar los tubos cargados en el microkjeldahl, ponerlo en el punto 4,5 del dimmer y colocar la pinza amperometrica en el cable del dimmer a 200 Amper. Observar que el resultado sea de 1.6 Amper si se encienden los dos calentadores o 0.8 A si es solo uno.

5- Dejar debajo de la campana durante 24 horas hasta que se evapore todo el agua y se observen humos blancos. Mantener durante el proceso el extractor prendido, de ser necesario utilice un timer.

6- Calentar a 2 Amper durante 30 minutos si usa dos calentadores o 1 A si usa uno solo.

7- Calentar al máximo (3,6 Amper) durante 60 minutos con 2 calentadores o 1.8 A con uno solo.

8- Apagar el microkjeldahl y dejar enfriar las muestras durante 3 minutos (sin que se solidifique el contenido).

9- Agregar 2,5 ml de agua destilada en cada tubo de ensayo para dilución de las muestras y pasarlos por el vortex.

10- Trasvasar el contenido a los tubos que deben tener una capacidad mayor a 3 ml.

11- Hacer la reacción de Nessler:

a- Colocar en Tubos de Khan los siguientes componentes:

Tubo	stock o muestra, µl	agua, µl	reactivo Nessler, µl	Agitar 30 min	Abs 412 nm
B	0	1000	40	Si	
T1	10	995	40	Si	
T2	15	985	40	Si	
T3	30	970	40	Si	
QC	20	980	40	Si	
muestra	500	500	40	Si	

12- Agitar en vortex y dejar 30 minutos a temperatura ambiente.

13- Leer transmitancia a 412 nm en Turner llevando a 100% con agua destilada

MEDICIÓN DE NITRÓGENO TOTAL EN AGUA

Soluciones a utilizar

Reactivo de Kjeldahl: Disolver 134g de sulfato de potasio (K_2SO_4) y 7,3g de sulfato de cobre ($CuSO_4$) en 800ml con agua. Adicionarle 134 g de ácido sulfúrico concentrado y agregar agua csp 1000ml. No refrigerarla para prevenir su cristalización.

- ◆ Reactivo de Nessler: Disolver 10 g de ioduro de potasio (KI) en 10 ml de agua y agregar lentamente, agitando, una solución saturada de cloruro mercúrico ($HgCl_2$) hasta que un leve precipitado rojo permanezca sin disolverse. A esta mezcla, agregar una solución de 30g de hidróxido de potasio (KOH) en 60ml de agua previamente enfriada en baño de hielo. Luego agregar 1ml adicional de la solución saturada de cloruro mercúrico. Diluir con agua a 200ml. Dejar que el precipitado sedimente y extraer el líquido transparente.
- ◆ Solución stock de amonio de 1000mg N/l. Esta solución se diluye a 100mg N/l.
- ◆ Realizar diluciones del stock de amonio para obtener testigos con las siguientes concentraciones: 0.0005 ppm, 0.00125 ppm y 0.0025 ppm.

Precauciones

La determinación utiliza elementos con alta temperatura y corriente eléctrica. Asegúrese de que el equipo se conecte a una red protegida con disyuntor, llave térmica y descarga a tierra. Se utiliza reactivo que contiene ácido sulfúrico concentrado, maneje con cuidados habituales para esta sustancia y cualquier sustancia (guantes, lentes y propipetas). Evite el contacto del reactivo de Kjeldahl con papeles y telas ya que los destruirá. No se coloque en la línea del eje de los tubos ya que pueden tener proyecciones. Para evitar proyecciones respete estrictamente el amperaje (corriente eléctrica) del equipo. Recordar apagar la campana al finalizar, desactivar el timer y apagar la pinza amperometrica.

MEDICIÓN DE SODIO

Barroso S - Chulibert ME - Fenoglio I

Introducción

El sodio es un catión habitual en el agua de consumo que no implica riesgo para la salud. Sin embargo altas concentraciones de sodio puede proporcionar al agua sabor desagradable o convertirse en una fuente de sodio importante que se suma a la ingesta. La ley 11.200 recomienda un valor menor a 100mg/l y un límite obligatorio de 200mg/l. Existen diferentes técnicas de medición como la fotometría de llama y la espectroscopía de absorción atómica.

Fundamento

La fotometría de llama se basa en que los átomos de numerosos elementos metálicos con suficiente energía emiten luz de longitudes de ondas (λ) que son específicas de cada elemento. La luz visible es naturalmente blanca, pero en realidad está formada de múltiples colores superpuestos, clásicos del arcoiris. En general los átomos emiten luz de uno solo de estos colores.

El fotómetro de llama está compuesto por una aguja por donde se aspira la muestra en un sistema de vacío generado por una burbuja de vidrio por donde pasa aire comprimido. La muestra es conducida hasta una chimenea en donde hay fuego, que descompone la sustancia en fragmentos simples de átomos libres. Además, la reacción química de la llama es una fuente que brinda energía al átomo el cual luego libera el exceso de la misma en forma de luz de un color o longitud de onda característico.

Una vez que el átomo emite el exceso de energía en forma de radiación, ésta es filtrada por un monocromador el cual se encuentra incorporado en el artefacto.

Hagamos un experimento: si utilizamos un prisma y hacemos pasar un haz de luz ordinaria por él, veremos que en uno de sus extremos la luz se descompone, un experimento mundialmente conocido y apreciado además en la cotidianidad de la vida al observar un arcoiris el cual se produce por el mismo principio (las gotas de aguas en suspensión en la atmósfera refractan la luz descomponiéndola en sus diferentes longitudes de onda). Gracias a este fenómeno podemos aprovecharlo y sacar información.

Si tomamos el mismo prisma y descomponemos un haz de luz ordinaria y sobre las luces diferentes colores colocamos hojas recién podadas, veremos que en determinado momento sólo pasaran las longitudes de ondas de color verde. Esto se debe a que las células de las hojas cuentan con moléculas llamadas clorofila A, B y carotenoides las cuales tienen la capacidad de absorber todas las longitudes de ondas y utilizarlas para generar azúcares que almacenan la energía solar mediante un proceso denominado reacción luminosa. Las longitudes de ondas que no fueron absorbidas son aquellas

longitudes que se corresponden a los tonos verdes y por lo tanto son reflejadas llegando a nuestros ojos y por esa razón percibimos a las hojas de color verde.

De la misma manera podemos utilizar este fenómeno para aislar las longitudes de ondas que queremos estudiar. Existen monocromadores que son sistemas ópticos que solo dejan pasar una determinada longitud de onda.

De la misma manera, el fotómetro cuenta con un monocromador que solo deja pasar una determinada longitud de onda, la cual es específica para el sodio (Na, $\lambda=589\text{nm}$) y potasio (K, $\lambda=405\text{nm}$). De esta manera logramos filtrar toda longitud de onda que no nos interesa medir y concentrarnos en aquella que es generada por el metal en cuestión, al pasar solo los fotones de energía de sodio o potasio son captados por una fotocélula que tiene la capacidad de medir la intensidad luminosa, la cual luego es convertida a energía eléctrica y hace mover la aguja del instrumento de medida.

La energía en la fotometría de emisión de llama se suministra en forma de calor o energía térmica (llama). Una determinada cantidad o quantum de la energía térmica es absorbida por un electrón de una órbita. Ese electrón excitado pasa a una órbita de energía superior más inestable, volviendo casi inmediatamente a su estado basal y emitiendo ese quantum de energía en forma de un fotón de una λ dada. En la llama sólo el 1% de los átomos presentes experimentan esa transmisión y emisión de energía, siendo sus máximos representantes los elementos Na y K. Cada elemento emite luz de un color determinado

◆ Na: Amarillo

◆ K: Violeta

Los átomos metálicos como el Na, K y otros, emiten luz característica al ser sometidos a calentamiento. Las [ondas](#) electromagnéticas de alta frecuencia tienen una longitud de onda corta y mucha energía mientras que las ondas de baja frecuencia tienen grandes longitudes de onda y poca energía. Como se puede apreciar el Na tiene una longitud de onda de 589 nm. Por lo tanto, al tener mayor longitud de onda que el K, tiene menor frecuencia y energía. Esta relación se puede demostrar utilizando la ecuación de Planck. Esta ecuación plantea que la energía (E) de una radiación se puede calcular como el producto de la frecuencia (f) por la constante de Planck (h) o bien como el producto de la constante de Planck por la velocidad de la luz (c) dividido por la longitud de onda, cuyas relaciones quedan expresadas en la siguiente ecuación.

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

Una vez comprendido esto, recordemos algunos conceptos: La fotometría de llama es una metodología que nos permite conocer la cantidad de sustancia que existe en una solución mediante una medición indirecta por lo que debemos generar testigos o patrones de concentraciones conocidas para poder cargar al instrumento y tener contra qué comparar las muestras.

Protocolo de medición

Solución stock NaCl 3.26g/l. Preparación: Colocar una cantidad adecuada de NaCl de calidad pro análisis durante 1h a 105°C. Inmediatamente pesar a partir de esta cantidad 0.326g de NaCl y disolverlos en 100ml de solución utilizando agua destilada.

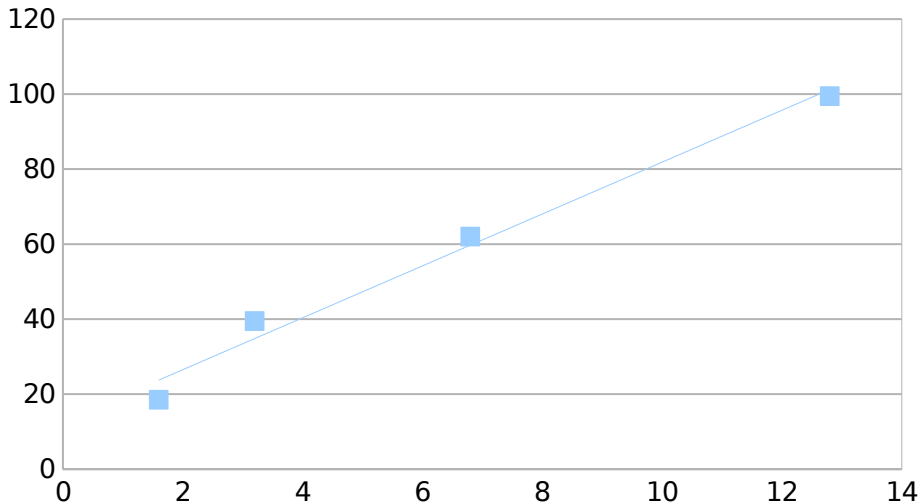
A partir de esta solución stock se preparan diferentes diluciones que se indican a continuación

dilución	ml de stock	agua	concentración final mg Na/l
1/100	1	csp 100ml	12.8
1/200	0.5	csp 100ml	6.8
1/400	0.25	csp 100ml	3.2
1/800	0.125	csp 100ml	1.6

Una vez preparados estos testigos se utilizan para calibrar el fotómetro de llama. Para ello se coloca cada testigo en el instrumento y se calibra midiendo los valores de absorbancia. La tabla siguiente muestra valores ilustrativos obtenidos para la curva de calibración, control de calidad y muestra, en una medición con sus valores de absorbancia, concentración de sodio en mg/L y CV% correspondiente. Con la absorbancia promedio y los mg/L de cada solución se construye la curva de calibración. La condición OK indica que la medición cumple con los requerimientos de control de calidad impuestos.

muestra	mg/l	abs	abs'	abs promedio	CV%	Condición
agua	0	0	0	0		
1/100	12.8	99	100	99.5	0.7	OK
1/200	6.8	63	61	62	2.3	OK
1/400	3.2	39	40	39.5	1.8	OK
1/800	1.6	18	19	18.5	3.8	OK
QC	6.92	61	60	60.5	1.2	OK
muestra	?	48	52	50	5.7	OK

La curva de calibración que se muestra a continuación tiene la ecuación que nos permitirá calcular la concentración ($f(x) = 6.92 * x + 12.67$) y el coeficiente de correlación que nos indica la bondad del ajuste de los datos.



Luego para medir la concentración de una solución en particular, se procesa de la misma manera y se calcula la concentración utilizando la ecuación que arroja la curva de calibración.

Por ejemplo si para una muestra se obtuvo un valor de absorbancia promedio de 50, para calcular su concentración aplicamos la ecuación y despejamos el valor de concentración, que en nuestro caso es la "x".

$$f(x) = 6.92 * x + 12.67$$

$$50 = 6.92 * x + 12.67$$

$$x = 5.39 \text{ mg/l}$$

Medición de sodio en alimentos

En este caso, previo a la medición propiamente dicha a través del fotómetro de llama, se toman muestras de los alimentos y se procede al calcinado en una mufla a 550°C durante 6 horas en crisoles de porcelana. Pasado ese tiempo se dejan enfriar y se agrega ácido clorhídrico para lograr la disolución. Se ajusta a un volumen final con agua destilada y finalmente la solución puede ser medida en el fotómetro de llama. Siempre se debe constatar el peso de los crisoles vacíos, los que poseen la muestra sin calcinar y los que tienen la muestra calcinada, antes de la incorporación del ácido. Finalmente, los datos

se cargan en un software del entorno R para su posterior análisis.

MEDICIÓN DE CALCIO EN AGUA

Neira M

Introducción

El calcio es un metal que al estado de catión divalente participa en diversas funciones biológicas: formación y mantenimiento de huesos y dientes, contracción muscular, entre otras. Lo incorporamos con los alimentos y es un componente habitual, en bajas concentraciones, en el agua de consumo. Elevadas concentraciones de iones de calcio contribuye a la formación de sarro en cañerías y electrodomésticos, aunque éste no constituye un riesgo para la salud y su efecto no pasa de un deterioro del aspecto estético de los mismos. Sin embargo a nivel de cañerías puede resultar costoso, debido a que muchas veces dificulta el flujo de agua y requiere su reemplazo. El efecto es más notorio en cañerías de agua caliente. La ley 11.220 regula las aguas de consumo en la Provincia de Santa Fe, establece como límite recomendado 100mg de calcio/litro y como límite obligatorio: 250mg de calcio/litro. La medición de calcio en agua se puede realizar por diversas técnicas como la volumetría con EDTA como titulante, la fotometría de llama o la espectroscopía de absorción atómica. Esta última es la que discutiremos a continuación.

Fundamentos del método

Cada muestra acuosa conteniendo el catión calcio en solución, es introducida por aspiración dentro del equipo donde es atomizada y transformada luego en gas al introducirse en la llama. Una lámpara que emite una radiación con longitud de onda específica para el catión calcio se hace incidir sobre la llama y esta radiación es absorbida por los átomos de calcio en estado gaseoso. Se mide la cantidad de radiación absorbida, la cual es proporcional a la concentración de calcio de la solución. Se procesan simultáneamente con las muestras soluciones patrón y controles de calidad, con los que se obtiene la concentración de calcio en cada muestra.

Protocolo de medición de calcio en agua

- 1- Organizar materiales, agua destilada, soluciones patrón, solución QC, muestras.
- 2- Acomodar en gradilla y rotular tubos.
- 3- Cargar tubos siguiendo la siguiente tabla:

	[Ca], mg/l	blanco, ml	testigos, ml	QC, ml	Muestra, ml	SrCl ₂ 2%, ml
BLANCO	0	2	-		-	-
T 1	1	-	2		-	-
T 2	3	-	2		-	-
T 3	5	-	2		-	-
T 4	10	-	2		-	-
T 5	25	-	2		-	-
T 6	36	-	2		-	-
T 7	50	-	2		-	-

MEDICIÓN DE CALCIO EN AGUA

QC	25	-	-	2	-	-
MUESTRAS	??	-	-		1.8	0.2

4- Tapar tubos y homogeneizar en vortex 3s.

5- Seleccionar los parámetros de medición específicos para el calcio: corriente de la lámpara, atenuación, ganancias del equipo, longitud de onda óptima, presiones de aires y acetileno.

6- Colocar los testigos uno a continuación del otro en el catéter de aspiración y registrar el valor de transmitancia.

7- Colocar las muestras una tras otra de la misma manera que los testigos y registrar valores de transmitancia.

8- Al finalizar las mediciones seguir instrucciones para apagado y limpieza del equipo.

Soluciones a utilizar

◆ Soluciones stock de Calcio 1000ppm, preparada a partir de CaCO_3 sólido

Secar 1g de CaCO_3 aprox. durante 1h a 105°C .

Pesar 0.625g de CaCO_3 y colocar en un matraz aforado de 250ml.

Agregar HCl concentrado gota a gota hasta que cese el burbujeo y se disuelva el sólido.

Aforar con H_2O a 250ml.

Guardar en un frasco y rotular.

◆ Solución SrCl_2 20% P/V a partir de SrCl_2 sólido.

◆ Testigos:

Realizar diluciones correspondientes de la solución stock para obtener testigos según la siguiente tabla:

	Ca 1000mg/l, ml	SrCl_2 20% P/V, ml	H_2O , csp 100ml	[Ca] en solución final, mg/l
Blanco	0.00	10		0
Estándar 1	0.1	10		1
Estándar 2	0.3	10		3
Estándar 3	0.5	10		5
Estándar 4	1	10		10
Estándar 5	2.5	10		25
Estándar 6	3.6	10		36
Estándar 7	5	10		50
QC	2.5	10		25

Descarte y lavado materiales

Descartar tips amarillos y azules.

Cepillar tubos Khan y tapas con detergentes no iónico.

Enjuagar 10 veces con agua de canilla.

Enjuagar 10 veces con agua destilada.

Poner a secar en estufa.

Precauciones

La metodología incluye el uso de una mezcla de acetileno y aire comprimido la que es extremadamente explosiva.

Seguir la metodología de uso de las perillas de control de flujo de los gases de manera adecuada según este protocolo.

Mantener la puerta abierta del recinto de medida de manera de evitar la acumulación de gases.

Asegurarse de conocer el funcionamiento del equipo y de los procedimientos que se deben realizar al momento de accidentes.

Quitar la traba de seguridad del extintor de incendios y activar la válvula de control de acetileno antes de comenzar con el procedimiento.

MEDICIÓN DE LITIO EN AGUA

Giordano M - Zago B

Introducción

El litio es el tercer elemento en la tabla periódica, perteneciendo al grupo IA, junto con el hidrógeno, sodio, potasio y otros elementos. Su presencia en el planeta Tierra es de aproximadamente 18 ppm, y se encuentra formando parte de rocas y minerales (silicatos, mica, granito, pegmatita), mayoritariamente en los suelos, pero nunca libre. El 85% de las reservas se encuentran en Argentina, Perú, Chile y Bolivia, principalmente en el salar de Atacama.

Su uso más habitual es:

- Como fármaco para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas (demencia, depresión, etc), situación en la que se administra en forma de comprimidos que muestran efecto terapéutico si la concentración sanguínea se mantiene entre 5 a 10 ppm. Efectos tóxicos e inclusive la muerte puede sobrevenir con concentraciones sanguíneas mayores a 25 ppm.

- Jabones
- Baterías (gran control en los efluentes de las fábricas)
- Cerámicos y vidrio
- Cosméticos
- Armas nucleares

En agua de bebida oscila entre 0.5 a 200 ppb, por lo cual es prácticamente despreciable y no hay un límite impuesto por la OMS. Se han hecho estudios que relacionan la ingesta crónica entre esos valores y han encontrado asociación entre mayor número de suicidios y depresión a menor concentración de litio en el agua, hay otros que no han encontrado dicha asociación.

La medición de litio en agua se puede realizar mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica.

Fundamentos del método

Si bien la lámpara de litio utilizada en el proceso de medición tienen una longitud de onda determinada que se utiliza para la medición, en el equipo que se utiliza para una mejor calibración se debe realizar un barrido de longitudes de onda para elegir la de mayor absorción.

Las muestras en las que se desea medir la concentración de litio, son aspiradas por el equipo, donde van a ser desintegradas y posteriormente transformadas en gas al introducirse en la llama.

Para su medición se utiliza una lámpara, específica para litio, que emite una radiación con una longitud de onda particular, que en este caso es de 628.5nm, la cual se obtuvo a partir de un barrido de longitudes de onda cuyo fin era obtener la de mayor absorción.

MEDICIÓN DE LITIO EN AGUA

Esta radiación va a actuar junto con la llama y va a ser absorbida por los átomos de litio en estado gaseoso. Se mide la cantidad de radiación absorbida, la cual es proporcional a la concentración de litio de la solución. Se procesan simultáneamente con las muestras soluciones patrón y controles de calidad, con los que se obtiene la concentración de litio en cada muestra.

El hidróxido de estroncio puede ser un interferente, como también otros iones, por lo cual se le adiciona a la muestra y a los estándares cloruro de potasio (de concentración 50 g/l de K), para eliminar las interferencias.

Protocolo de Medición de Litio

Organizar materiales, agua destilada, testigos, solución QC y muestras.

Acomodar en gradilla y rotular tubos.

Cargar tubos siguiendo la siguiente tabla:

	[LiCl] ppm	blanco, ml	testigos, ml	QC, ml	Muestra, ml
BLANCO	0	2	-		-
T 1	0,01	-	2		-
T 2	0,1	-	2		-
T 3	1	-	2		-
T 4	10	-	2		-
QC	5	-	-	2	-
MUESTRA S	??	-	-		1.8

Tapar tubos y homogeneizar en vortex 3s.

Seleccionar los parámetros de medición específicos para el litio: corriente de la lámpara, atenuación, ganancias del equipo, longitud de onda óptima, presiones de aires y acetileno.

Colocar los testigos uno a continuación del otro en el catéter de aspiración y registrar el valor de transmitancia.

Colocar las muestras una tras otra de la misma manera que los testigos y registrar valores de transmitancia.

Al finalizar las mediciones seguir instrucciones para apagado y limpieza del equipo.

Cargar los datos en Atlantis

Descarte y lavado de materiales

- ◆ Descartar tips amarillos y azules.
- ◆ Cepillar tips blancos, matraces, embudo y tapas con detergente no iónico.
- ◆ Enjuagar 10 veces con agua de canilla.
- ◆ Enjuagar 10 veces con agua destilada.

- ◆ Dejar secar.

Precauciones

La metodología incluye el uso de una mezcla de acetileno y aire comprimido la que es extremadamente explosiva. Seguir la metodología de uso de las perillas de control de flujo de los gases de manera adecuada según este protocolo.

Mantener la puerta abierta del recinto de medida de manera de evitar la acumulación de gases. Asegurarse de conocer el funcionamiento del equipo y de los procedimientos que se deben realizar al momento de accidentes. Quitar la traba de seguridad del extintor de incendios y activar la válvula de control de acetileno antes de comenzar con el procedimiento.

Soluciones a utilizar

Solución stock de LiCl 100ppm

Colocar 61.10 mg de LiCl (peso molecular 42.39) secado previamente a 105°C en un volumen final de 100ml con agua destilada

Testigos: 0.01ppm, 0.1ppm, 1 ppm, 10ppm a partir de la solución stock de LiCl de 100ppm. En todos los casos se proceden siguiendo los pasos:

1. Se coloca en un matraz aforado la cantidad necesaria de cloruro de litio
2. Se agrega agua destilada en cantidad suficiente para alcanzar los 100ml
3. Se tapa el matraz y se mezcla con cuidado tratando de no derramar líquido.

Realizar diluciones correspondientes de la solución stock para obtener testigos según la siguiente tabla:

	Stock LiCl 100ppm	Agua destilada csp 100ml
Blanco	-	
Testigo 1	0,01 ml	
Testigo 2	0,1 ml	
Testigo 3	1 ml	
Testigo 4	10 ml	
QC	5 ml	

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

Chulibert ME -Lupi3n PM

La experimentaci3n con animales es una pr3ctica habitual en las ciencias biom3dicas. Cualquier trabajo de experimentaci3n que se vaya a realizar en seres humanos requiere en primer lugar la pr3ctica en animales. Los modelos animales son variados, pudiendo ser en principio cualquier especie, sin embargo algunas de ellas son preferidas en ciertos experimentos por m3s de una raz3n: costo, facilidad para el estudio, disponibilidad, alta tasa de reproducci3n, similitud con el humano, etc. La rata y el rat3n son las especies m3s utilizadas por su bajo costo de producci3n y mantenimiento comparado con otras especies, la alta tasa de reproducci3n que permite disponer de un alto n3mero de animales y gran cantidad de informaci3n y t3cnicas descriptas para su aplicaci3n.

La clasificaci3n de los experimentos con animales no es sencilla y en algunos casos son combinaciones. Brevemente, podemos clasificar a los experimentos con animales en trabajos *in vivo*, es decir utilizando al animal en su conjunto y como lo dice la metodolog3a, estando el animal vivo. Tambi3n se pueden realizar experimentos *ex vivo*, en que el animal se utiliza luego de haber producido la eutanasia. Por 3ltimo los experimentos *in vitro*, son trabajos en que se utilizan estructuras provenientes de un animal pero su desarrollo se realiza fuera del animal como ser placas de cultivos, tubos, etc. No son los 3nicos tipos de experimentos, pero es v3lida como una divisi3n sencilla. En este cap3tulo se describir3n algunas metodolog3as aplicadas *in vivo* al estudio del efecto del fluoruro sobre la memoria y el aprendizaje en ratas.

Es muy importante tener presente que todo proyecto de investigaci3n debe estar evaluado por personas externas al grupo y avalado por una instituci3n. En el caso de trabajo con animales y seres humanos adem3s debe contarse con la evaluaci3n de un comit3 de Bio3tica que se expida respecto al proyecto. El comit3 de Bio3tica es una agrupaci3n de personas de diferentes3rdenes entre los que puede haber investigadores de diversas3reas, docentes, abogados, etc. que evaluar3n el proyecto en funci3n de las legislaciones vigentes y las posibilidades aceptadas y aceptables de trabajos con animales. Este comit3 eval3a fundamentalmente la necesidad del estudio, las posibles pr3cticas que impliquen dolor o sufrimientos, el m3todo de eutanasia en caso de requerirse y los tratamientos aplicados, entre muchos diversos aspectos.

Bienestar animal

En Argentina desde el a3o 1954 se encuentra en vigencia la ley 14.346, que establece penas para las personas que maltraten o hagan v3ctimas de actos de crueldad a los animales. Protege sus derechos, instaurando, para la investigaci3n cient3fica, que ser3n considerados actos de crueldad: experimentar con animales de grado superior al indispensable para la experiencia y abandonar a los animales utilizados en experimentaci3n.

Para este mismo año Burch y Russel, dos científicos británicos, comenzaron a desarrollar técnicas de laboratorio para mejorar desde un aspecto ético el trabajo con animales: las denominan “las 3 R” que se describen a continuación:

1- Reducción: consiste en aplicar una metodología estadística avanzada que impulse la publicación de resultados para que no se repitan experimentos innecesarios. Esto genera una reducción que permite asegurar la validez científica, sin pérdida de precisión y nunca a expensas de mayor dolor y sufrimiento.

2- Refinamiento: consiste en métodos que alivian o minimizan el dolor (analgésico-anestésico) y la angustia para mantener el bienestar del animal, y también técnicas e instrumentos que permitan analizar muestras cada vez más pequeñas, para reducir el daño.

3. Reemplazo: consiste en buscar alternativas al uso de animales, varía desde la eliminación total de los animales en los estudios, hasta aplicar el lema de las 3Rs. Este reemplazo puede ser: relativo o absoluto. El primero se basa sustitución de animales conscientes por NO conscientes y el segundo en la sustitución de animales por cultivos celulares y modelos matemáticos computarizados, entre otros recursos disponibles para la ciencia.

Por último, se agregó una 4R: Reciclaje, que apunta a utilizar animales de experimentación más de una vez para varios fines.

Experimentos *in vivo*

Introducción

El metabolismo glucídico es afectado por la presencia de fluoruro, un contaminante habitual del agua de consumo. Aun cuando en muchos países está controlado su contenido en aguas de red, la alta concentración de este ion en aguas de pozo pasa desapercibida por no causar sabor desagradable. En la provincia de Santa Fe es elevado el porcentaje de pozos que superan 1.5 ppm, límite establecido por la Organización Mundial de la Salud y el Código Alimentario Argentino. Algunos trabajos han demostrado que niños que consumen agua con elevada concentración de fluoruro, presentan un menor coeficiente intelectual que otros que habitan en zonas libres o con menor concentración de este ion. Por otra parte, se ha demostrado que el ingreso de glucosa al cerebro es menor en presencia de fluoruro, lo cual podría ser causa de un efecto negativo sobre las funciones de este órgano, principalmente la memoria y el aprendizaje.

La captación de glucosa por el sistema nervioso se puede evaluar por diversos mecanismos, en este libro se explicarán dos métodos: la perfusión de cerebro y la estimación del consumo de glucosa a través de valores de glucemia e insulinemia y la aplicación de un modelo matemático que describe la homeostasis del sistema glucosa-insulina. Por otra parte la evaluación de la memoria y el aprendizaje en ratas puede

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

realizarse a través de diversos mecanismos. Con este objetivo se seleccionó el test nado que mide el aprendizaje y memoria espacial en ratas.

Cuidado de animales

Todos los experimentos que involucran animales se llevan a cabo bajo las normas internacionales de cuidado y uso de animales de laboratorio. En este experimento se utilizaron ratas hembras Sprague-Dawley de 21 días. Durante los experimentos los animales se mantuvieron con ciclo luz-oscuridad (12h-12h) y con temperatura entre 23-25°C en contenedores con cama de viruta de madera y extracción de aire. Semanalmente se controló el peso corporal y estado general del animal, registrándose: movilidad, agresividad, consumo de alimento y agua, hábitos de limpieza y letargia. El peso corporal se determinó semanalmente con una balanza de 1g de apreciación y el crecimiento se evaluó por comparación con curvas de crecimiento de ratas normales de la misma línea y sexo

Test de nado

Introducción

Para evaluar el efecto del fluoruro sobre la memoria y aprendizaje se realizan dos tratamientos que se explican brevemente en la siguiente figura.

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

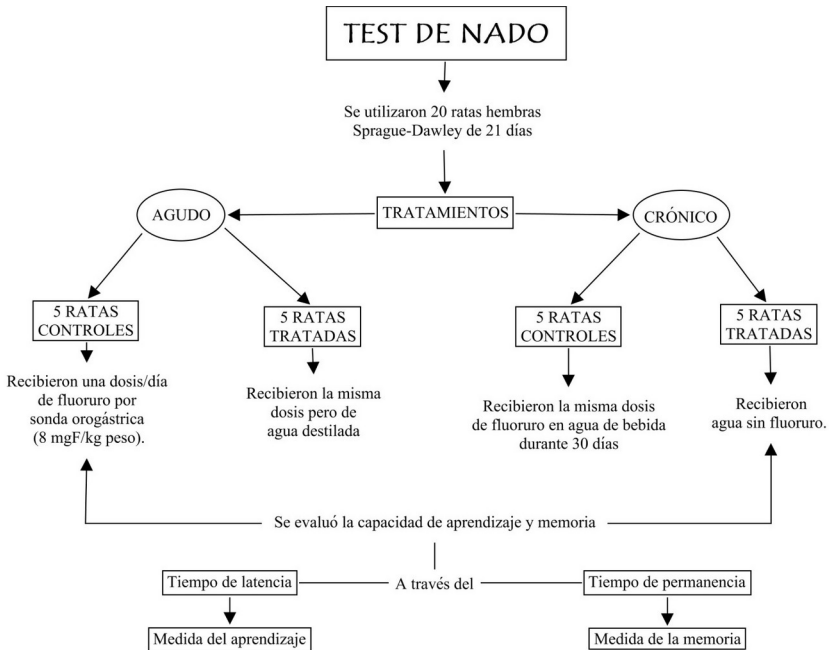


Figura 1. Representación esquemática de los experimentos en que se evaluó memoria y aprendizaje en ratas luego del tratamiento con fluoruro

Uno de los tratamientos consistió en administrar fluoruro por sonda orogastrica y medir inmediatamente el aprendizaje y la memoria, experimentos que llamamos agudo. En el grupo de ratas tratadas se midió aprendizaje y memoria luego de administrar una dosis oral de fluoruro y en el grupo control se midió aprendizaje y memoria luego de la administración de placebo. En el tratamiento que llamamos crónico, los animales recibieron fluoruro durante 30 días en el agua de bebida y al final del mismo se aplicó el test de nado para evaluar el aprendizaje y la memoria.

A través del test de nado de Morris se evaluó el aprendizaje de referencia espacial y la capacidad de memoria, tanto en ratas controles, como en aquellas tratadas con NaF. El sistema consiste en un tanque de 200cm de diámetro, 35 cm de profundidad con agua a 27°C. Dicho tanque fue ubicado en el bioterio del laboratorio siempre en la misma posición, y se lo dividió en cuatro cuadrantes iguales. En uno de ellos se colocó una plataforma de escape sobre la cual se puede parar el animal y dejar de nadar. La plataforma tiene 10cm de diámetro y se halla a 2cm por debajo de la superficie del agua. Esta plataforma está de forma permanente en el tanque durante las pruebas de aprendizaje, en el cual se mide el tiempo que le toma a la rata para encontrar la plataforma. Este tiempo se denomina tiempo de latencia y su cambio de nado a nado es indicativa del aprendizaje. En general la rata halla la plataforma en menos tiempo cada vez que realiza el nado. La disminución de este tiempo es medida de aprendizaje. En los experimentos en que se evalúa

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

memoria, la plataforma es retirada y se mide cuanto tiempo permanece la rata en el cuadrante en que se hallaba la plataforma. Cuanto más largo es este tiempo, indica que la rata tiene más memoria sobre dónde estaba ubicada la plataforma.

Se llevaron a cabo ensayos de aprendizaje cada 60min 3 veces por día durante 5 días consecutivos y el tiempo de latencia se midió con un cronómetro tomando el tiempo entre que la rata se coloca en el agua y encuentra la plataforma. Las experiencias fueron filmadas durante el tiempo de ejecución y sobre los vídeos obtenidos se repitieron las mediciones de ser necesario.

Para la medida de memoria se filma el experimento que tiene una duración de 90s y sobre el vídeo se realiza la medición del tiempo de permanencia

Antes de ambos experimentos se pesaron las ratas y se les administró por sonda orogástrica una dosis de fluoruro de sodio o agua destilada a las ratas tratadas y controles, respectivamente. Como se evalúa el efecto del fluoruro sobre el aprendizaje pero debido al consumo crónico de este ion, los animales recibieron fluoruro de sodio en el agua de bebida.

Medida del tiempo de latencia

Para la medida del tiempo de latencia se aplica el siguiente protocolo

- 1- Llenar el tanque con agua como se describió
- 2- Colocar la plataforma en uno de los cuadrantes.
- 3- Encender la cámara de grabación de vídeo.
- 4- Ubica a la rata en el cuadrante opuesto e iniciar el cronómetro.
- 5- Detener el cronómetro cuando rata encuentra la plataforma y sube a ella
- 6- Repetir el procedimiento 3 veces en un mismo día con intervalo de 1h entre prueba y prueba. En el primer nado, si la rata no logra encontrar la plataforma se la deja nadar durante un tiempo de 90s como máximo (por bienestar animal), luego de esos 90s se la guía hacia la plataforma para que tenga ubicación espacial de esta.
- 7- Repetir el punto 6 en 5 días consecutivos.
- 8- Se analizan los tiempo de latencia comparando su valor entre los tratamientos aplicados y a lo largo de los 5 días

Medida del tiempo de permanencia

Se aplica el siguiente protocolo de trabajo

- 1- Llenar el tanque como se indicó anteriormente
- 2- Retirar la plataforma
- 3 - Encender cámara de vídeo
- 4- Colocar la rata en el mismo cuadrante que en el test de nado.
- 5- Encender el cronómetro y permitir el nado durante 90s.
- 6- Detener el vídeo y retirar la rata.
- 7- Obtener el tiempo de permanencia, midiendo en el vídeo la cantidad de segundos que la rata permaneció en el cuadrante que contuvo la plataforma durante el test de aprendizaje.

Resultados del experimento agudo

No se halló diferencia en los tiempo de latencia entre animales que recibieron fluoruro y los controles.

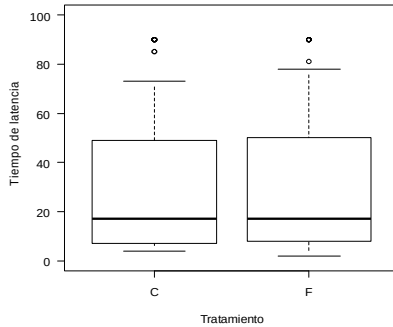


Figura 2. Tiempo de latencia en ratas luego de una dosis de fluoruro. C: controles, F:tratados con fluoruro. Test de Mann Whitney, $p > 0,05$.

Sin embargo se observó un menor tiempo de permanencia en los animales que recibieron fluoruro. Estos resultados estarían indicando que el fluoruro no produciría cambios en el aprendizaje espacial en las ratas, pero disminuiría su capacidad de memoria espacial.

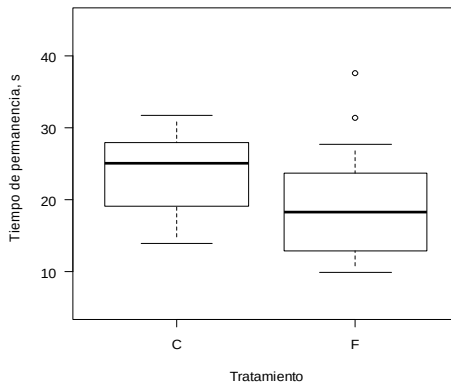


Figura 3. Tiempo de permanencia en ratas luego de una dosis de fluoruro. C: controles, F:tratados con fluoruro. Test de Mann Whitney, $p < 0,05$.

Medida de la captación de glucosa por sistema nervioso

Una sobrecarga oral de glucosa junto con la aplicación de un modelo matemático, permite conocer diversos aspectos del sistema glucosa insulina, como la secreción de insulina, captación de glucosa por tejidos dependientes e independientes de insulina, degradación de insulina, etc. Luego de la sobrecarga de glucosa se realizan mediciones de glucemia e insulinemia tanto en ratas tratadas con fluoruro como en los controles que recibieron fluoruro. La figura siguiente esquematiza el procedimiento.

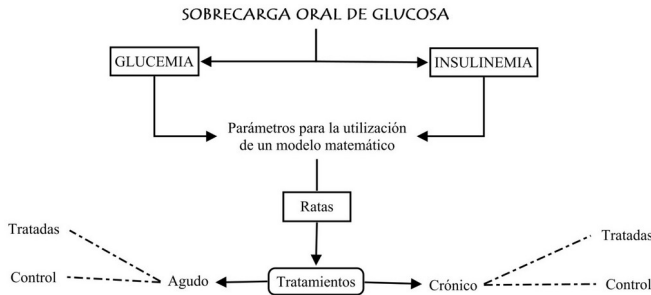


Figura 4. Representación esquemática del experimento para medida de la captación de glucosa por sistema nervioso aplicando un modelo matemático

De esta manera se obtienen parámetros para emplearlos luego en un modelo matemático. Entre los parámetros del modelo es de interés en este estudio aquel que representa la velocidad de consumo de glucosa por tejidos independientes de insulina, que se asume mayormente representa al tejido nervioso. Este parámetro se define dentro del modelo con el nombre k_3 . Una disminución en esta constante estaría indicando una menor captación de glucosa por el sistema nervioso. En la figura siguiente se muestra esquemáticamente el modelo matemático aplicado

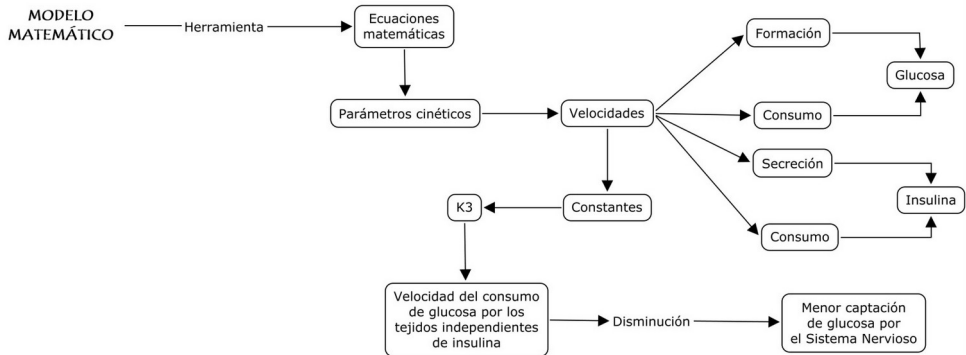


Figura 5. Modelo matemático para el cálculo del consumo de glucosa por sistemas independientes de insulina.

Protocolo de ejecución del experimento

Se utilizaron 10 ratas hembras Sprague Dawley sanas con un ayuno 8-12h a las que se les administró 1.5ml/100g de peso corporal de solución de glucosa por sonda orogástrica. Se tomaron muestras de sangre durante 6h a través de un corte longitudinal de 1-2mm en el extremo caudal lateral de la cola. De esta manera se obtuvieron 100µl de sangre en capilares heparinizados, los que se centrifugaron durante 5min para separar el plasma de los glóbulos y se obtuvieron 50µl que se utilizaron para la medición de glucemia e insulinemia.

Medición de glucemia

La medición de glucemia se realiza por espectrofotometría, siguiendo los pasos que se describen.

Se realiza una curva de calibración que consta de un blanco (B) y tres soluciones estándar (S1-S3) de concentración conocida. Además se procesa una solución control de calidad y las muestras de plasma. Todos los tubos se realizan por duplicado.

tubo	agua, µl	estándar, µl	QC, µl	muestra, µl	reactivo, µl
Blanco	20	-	-	-	300
S1	20	2.5	-	-	300
S2	20	5	-	-	300
S3	20	7.5	-	-	300
QC	20	-	2.5	-	300
muestra	20	-	-	5	300

Cada tubo se incuba 10min a temperatura ambiente y se mide la absorbancia a 505 nm, calculándose la concentración de glucosa por interpolación de los valores de absorbancia de las muestras y la curva de calibración obtenida con las soluciones estándar.

La determinación es específica ya que la glucosa que se halla en los estándares y en las muestras es oxidada específicamente por una enzima que se halla presente en el reactivo agregado y transforma a la glucosa en ácido glucónico y en H₂O₂. Luego los productos de la primera reacción son oxidados por la otro de los componentes del reactivo formando un compuesto cuya absorbancia es proporcional a la concentración de glucosa y se mide en un espectrofotómetro a 505 nm.

Medición de insulina

La insulina se midió utilizando un radioinmunoensayo (RIA) que estima la concentración de la hormona en una solución en función de la radiación emitida. Para esta determinación se requiere un laboratorio específico y habilitado para tal fin. Se utiliza un kit que tiene los siguientes reactivos:

- ◆ Estándares: Insulina de rata de 10, 5, 2.5, 1.25, 0.635 ng/ml.
- ◆ Anticuerpo primario o antihormona generado en cobayo.
- ◆ Anticuerpo secundario contra IgG de cobayo generado en cabra.
- ◆ Hormona marcada con un isótopo radioactivo: I¹²⁵, el cual emite radiación electromagnética de tipo gamma que puede ser medida. Se entiende por marcación de una molécula al proceso por el cual se le agrega un átomo con características radioactivas, es decir que emite radiación. Dos isótopos son átomos de igual cantidad de protones pero diferente masa.

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

- ◆ Reactivo precipitante: hace que la hormona unida al anticuerpo quede adherida al fondo del tubo.
- ◆ Buffer, como amortiguador de pH.

Pasos

- 1- Extracción de sangre del animal en estudio con heparina como anticoagulante en tubos capilares para hematocrito.
- 2- Centrifugación de la muestra sanguínea para la obtención de plasma.
- 3- Corte de los capilares a la altura del "buffy coat" (asi se llama la zona donde quedan los leucocitos, entre el plasma y los eritrocitos), utilizando un disco diamantado motorizado.
- 4- Carga de 20µl de agua destilada en tubos de determinación.
- 5- Carga de 25µl de plasma.
- 6- Carga de reactivos según el orden mostrado en la siguiente tabla

tubo	volumen,µl	Buffer,µl	Insulina marcada, µl	Anticuerpo, µl	vortex	4°C 24hs	precipitante, µl	Vortex	4°C 20min
NSB	-	50	25	-	SI	SI	250	SI	SI
BO	-	25	25	25			250		
S0	25	-	25	25			250		
S1	25	-	25	25			250		
S2	25	-	25	25			250		
S3	25	-	25	25			250		
S4	25	-	25	25			250		
S5	25	-	25	25			250		
QC1	25	-	25	25			250		
QC2	25	-	25	25			250		
Muestra	25	-	25	25			250		

- 7- Centrifugación de las muestras durante 20min a máxima velocidad.
- 8- Decantar el sobrenadante.
- 9- Dejar los tubos invertidos sobre una gradilla con plástico y papel absorbente para eliminar restos de material radiactivo. Antes de medir si quedara líquido en las paredes del tubo, eliminarlo con hisopo de algodón.
- 10- Medir la radiactividad de cada tubo en un contador de centelleo sólido que determina la cantidad de fotones de radiación gamma de cada tubo, la cual guarda una relación inversa con la concentración de insulina de la muestra. La radiactividad se mide en cuentas por minuto (cpm). El número de fotones emitidos y la energía son directamente proporcionales a las cuentas por minuto. Las determinaciones de glucosa e insulina se realizaron por duplicado y se sometieron a control de calidad. Los errores aleatorios fueron estimados por el coeficiente de variación. Los errores sistemáticos fueron controlados a través de las unidades de desvío estándar del QC.

Fundamentos del método

En los tubos que colocamos estándares, muestras y solución QC hay insulina de dos orígenes diferentes: una es la que se encuentra en el plasma, los estándares y el QC y es llamada insulina fría. La otra, es la insulina marcada con un isótopo radiactivo, en este caso

el I^{125} . Ante la presencia de anticuerpos (anti-insulina de rata) las insulinas competirán para unirse a éstos. Primero, se agregan las soluciones que tienen insulina fría y luego se agrega la insulina marcada. A continuación se agrega el anticuerpo primario. La insulina fría y marcada competirán por el anticuerpo, habiendo más insulina fría unida al anticuerpo cuanto mayor sea la concentración de la solución. Luego se agrega un reactivo que contiene un anticuerpo que se unirá al anticuerpo anti insulina y hará que precipite. Por esta razón, cuanto mayor sea la concentración de insulina de una muestra, menor será la radioactividad del precipitados.

Nociones de radioactividad

En el laboratorio la radiación que se maneja es mínima y por lo tanto no se requiere uso de vestimenta específica o protecciones especiales, excepto la utilización de guantes, guardapolvo y lentes, como en cualquier práctica de laboratorio. El kit para la medida de insulina tiene una actividad total de 5uCi. La responsabilidad por la seguridad radiológica de una instalación recae en la entidad responsable que es el la Facultad de Ciencias Médicas, siendo el decano el responsable. Éste designa a una persona de la institución sobre la que recae la responsabilidad de la seguridad radiológica que debe ser aprobada por la Autoridad Regulatoria Nuclear de la República Argentina (ARN). El laboratorio debe constar con un habilitación denominada registro de operación que se renueva cada año y un permiso individual del responsable de la seguridad radiológica que se renueva cada 5 años. Si alguno de los dos permisos caducó no se puede operar con material radiactivo. Las instalaciones para trabajo con material radiactivo se clasifican en clase I, clase II y clase III según el riesgo radiológico y la complejidad tecnológica asociada. La instalación para los trabajos descriptos caen dentro de instalaciones de clase III.

El isótopo utilizado para la medición de insulina es I^{125} , que tiene una vida media de 60 días. El kit se debe utilizar con cierta urgencia porque el isótopo a medida que pasa el tiempo pierde radioactividad por el proceso natural de decaimiento radiactivo. Al tener menos cuenta aumenta el error, aunque podemos medir más tiempo, pero sería poco práctico. Además se produce radiólisis de la insulina marcada, lo que puede alterar la competencia.

Todo material que estuvo en contacto con radioactividad debe descartarse en un contenedor específico para tal fin, excepto el sobrenadante que se descarta en la pileta con abundante corriente de agua.

Perfusión de cerebro

La perfusión es una práctica habitual en trabajos con animales y consiste en infundir a través de una arteria una solución conocida como buffer de perfusión, recolectando el mismo a través de una vena luego de haber irrigado un determinado sector. En este caso se realizará una perfusión por arteria carótica y recuperando la solución o perfusato por vena yugular. En el territorio irrigado queda comprendido el cerebro además de otras estructuras. La perfusión de cerebro de manera totalmente independiente de otros órganos o tejidos exige procesos quirúrgicos muy sofisticados y aun no se ha hallado descripción del mismo. La diferencia entre la cantidad de glucosa que se infunde con el buffer de perfusión y la cantidad que se halla en el perfusato permite evaluar la captación de glucosa por el tejido

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

nervioso. La perfusión se realiza con buffers de concentración conocida de glucosa con y sin fluoruro. El buffer utilizado tiene la siguiente composición y pH=7.4

solutos	concentración
NaCl	115mmol/l
KCl	4.7mmol/l
CaCl ₂	2.56mmol/l
MgCl ₂	1.2mmol/l
KH ₂ PO ₄	1.2mmol/l
NaHCO ₃	25mmol/l
albúmina sérica bovina	10g/l
glucosa	3.3mmol/l
NaF	0 - 20µmol/l
carbógeno(O ₂ -CO ₂)	5%

Protocolo quirúrgico

- 1- Mantener al animal en ayuna de 12h
- 2- Aplicar el protocolo de anestesia general aceptado.
- 3- En posición decúbito dorsal rasura la zona a intervenir.
- 4- Cateterizar arteria carótida izquierda.
- 5- Clampear vena yugular externa izquierda.
- 6- Clampear arteria carótida derecha.
- 7- Cateterizar vena yugular externa derecha.
- 8- Comenzar perfusión en primer lugar con buffer sin NaF, a través de un catéter colocado en arteria carótida izquierda, y se recolecta el perfusato a través del catéter ubicado en vena yugular externa derecha.
- 9- Luego de 15 minutos de perfusión sin fluoruro, se cambia al buffer con NaF.
- 10- Medir el volumen de perfusato recogido y la concentración de glucosa en cada tubo. Con dichos valores se estimará la glucosa que ingresa y sale del territorio perfundido, calculándose así el consumo de glucosa.

Experimentos *in vitro*

Efecto de fracciones proteicas sobre la desmineralización del esmalte

Fundamentos

La caries dental es una enfermedad que junto con la erosión dental representan a las patologías orales cuya prevalencia sigue en aumento. Los productos lácteos son fuente de péptidos con actividad benéfica para la salud oral, cuyo efecto es atribuido al alto contenido de iones calcio y fosfato y de péptidos derivados de la caseína. Los caseinofosfopéptidos (CPP) son fracciones peptídicas derivadas de las caseínas de la leche con actividad anticariogénica debido a que tienen la capacidad de estabilizar el fosfato de calcio en la superficie del esmalte dental, previniendo así la desmineralización y promoviendo la remineralización del mismo. La mayoría de ellos, contienen una secuencia con tres residuos fosfoserina seguida de dos ácidos

glutámicos. Las cadenas laterales negativas correspondientes a los grupos fosfato son las responsables de la unión a minerales, especialmente al calcio.

El kéfir es una masa biótica simbiótica que combina bacterias probióticas, levaduras, lípidos y proteínas. Se encuentra envuelto en una matriz polisacárida (Glucosa-Galactosa 1:1) denominada kefirán. Posee una riqueza variada de microorganismos, siendo los más destacados: *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyce kéfir*. Al kéfir se le han atribuido numerosos beneficios probióticos como la regeneración parcial de la flora intestinal, y otros como la participación en la digestión de lactosa, pre-digestión de proteínas de la leche con la consecuente formación de CPP con importante acción biológica, regulación del tránsito intestinal, estimulación y regulación del sistema inmune y estimulación de la remineralización dental, entre otros. Son escasos los estudios que investigaron la presencia y acción de los CPP generados en la leche tratada con kéfir sobre procesos como la caries dental, la erosión dental y la absorción de calcio.

Experimentos recientes llevados a cabo en nuestro laboratorio demostraron que la exposición *in vitro* del esmalte dental a leche tratada con kéfir previno la desmineralización del esmalte. El efecto protector del kéfir se evidencia por una superficie menos erosionada que la tratada con solución de pH 4.5, aún a igualdad de pH.

A continuación se describe la identificación de los CPP y su papel en la desmineralización dental. Los objetivos de este trabajo fueron: Identificar el peso molecular de las fracciones peptídicas presentes en leche tratada con kéfir e identificar la o las fracciones proteicas que tienen efecto protector sobre el esmalte dental en condiciones de desmineralización.

Materiales y métodos

A continuación se realiza una breve descripción de los experimentos realizados. Luego del tratamiento de leche con kéfir, se obtuvo el sobrenadante del preparado y se realizó un fraccionamiento proteico utilizando cromatografía de exclusión molecular. Se obtuvieron diversas fracciones proteicas y se compararon las mismas con las obtenidas con el sobrenadante de leche sin tratar con kéfir. A tal fin se expusieron molares de rata a diversas soluciones: saliva artificial (SA: control negativo de desmineralización), ácido láctico (AL: control positivo), las fracciones obtenidas: fracción 1 (F1), fracción 2 (F2) y fracción 3 (F3) y el sobrenadante de leche tratada con kéfir (SK). Para evaluar el proceso de desmineralización se evaluó el cambio en la densidad mineral de los molares.

A continuación se describen en detalle las técnicas y procedimientos utilizados.

Obtención de fracciones peptídicas

El tratamiento de la leche con kéfir se realizó durante 150min a 37°C. Se utilizó kéfir obtenido en locales de ventas de este tipo de productos y de consumo libre. Se separaron los péptidos y proteínas presentes en el sobrenadante de leche de vaca tratada con kéfir utilizando cromatografía de exclusión molecular con una columna de

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

Sephadex G25. El equipo utilizado dispone de un detector UV que mide la absorbancia producida al fluir la muestra, valores que fueron procesados en el software BAS1.0. Luego, a partir de los datos obtenidos se calcularon los volúmenes de elución de cada fracción, el peso molecular y el porcentaje que representa cada fracción respecto del total utilizando un software de diseño propio que funciona en el entorno R. De la misma manera se separaron las fracciones proteicas del sobrenadante de leche sin tratamiento con kéfir.

Las fracciones obtenidas fueron guardados a -20°C para su análisis. Utilizando la misma columna se procesaron patrones de peso molecular que permitieron calcular los pesos moleculares (albúmina sérica bovina, tripsina, insulina, fenilalanina) de cada fracción de péptidos de los sobrenadantes. Con el volumen de elución (V_e) y el volumen muerto de la columna (V_0) se calculó la constante de elución (K_{av}) y a partir de la regresión entre el logaritmo del peso molecular de los patrones y el valor de K_{av} se obtuvo el peso molecular de cada fracción peptídica. Se obtuvieron cinco fracciones proteicas en el sobrenadante de leche tratada con kéfir (SK) y seis fracciones en la leche sin tratamiento. En SK las fracciones se denominaron: F1, F2, F3, F4 y F5. En el sobrenadante de leche sin tratamiento se hallaron fracciones coincidentes en peso molecular con las mencionadas (que se nombraron de la misma manera: F1, F2, F3, F4, F5) y una fracción proteica diferente: Fd. El efecto de algunas de estas fracciones sobre el proceso de desmineralización del esmalte se evaluó sobre molares de rata como se detalla a continuación.

Efecto de los péptidos sobre el esmalte dental

Para evaluar el efecto de los péptidos sobre el proceso de desmineralización dental se utilizaron molares de ratas Sprague Dawley hembras provenientes de grupo controles de experimentos realizados con anterioridad. Las muestras fueron divididas aleatoriamente en 6 grupos. Cada espécimen se sumergió en $500\mu\text{l}$ de solución durante 72h a 4°C con 15min de agitación cada una hora. Cada solución se evaluó sobre 6 dientes y el experimento se repitió 2 veces en idénticas condiciones. Todas las soluciones utilizadas (excepto SA) tuvieron ácido láctico 0.1M para garantizar que tengan la misma acidez. La tabla siguiente muestra las características de cada solución y su abreviatura.

Grupo	Abreviatura
saliva artificial: control negativo de desmineralización	SA
ácido láctico 0.1M: control positivo de desmineralización	AL
fracción 1	F1
fracción 2	F2
fracción 3	F3
sobrenadante de leche tratada con kéfir	SK

Se midió la densidad mineral (dm) de los molares antes (t_0) y después (t_F) del tratamiento con las soluciones descriptas. Con dichos valores se calculó la razón de desmineralización (R) entre la dm a t_F y la dm a t_0 . Se interpreta un valor de $R < 1$ como desmineralización y $R \geq 1$ ausencia de desmineralización. Para la medida de la

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

dm se tomaron radiografías de los molares simultáneamente con un patrón conteniendo 8, 19, 29, 41, 52mg Ca/cm². Las mediciones se realizaron con un software específico (ImageJ) utilizando imágenes digitales de las radiografías obtenidas con un equipo de rayos X de 70KV.

Análisis estadístico

La comparación de los valores de R entre los grupos se realizó con ANOVA a un criterio, con un nivel de significación del 5% y el post test LSD Bonferroni. Previamente se evaluó la homocedasticidad y la normalidad de las muestras utilizando test de Bartlett y Shapiro Wilk, respectivamente. Experimentos previos permitieron anticipar que 6 molares por cada solución serían suficientes para el ensayo (test de potencia, pwr, R).

Resultados

Las Figura 6 muestran cromatogramas representativos de leche y leche tratada con kéfir, respectivamente. Se observa la ausencia de la fracción Fd en el sobrenadante de leche tratada con kéfir y un incremento de la fracción F1.

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

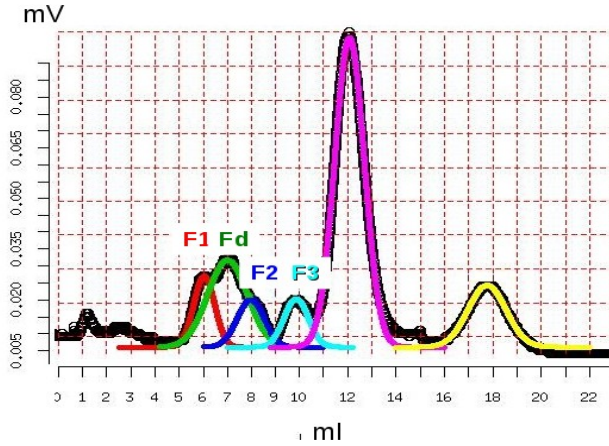


Figura 6. Cromatograma de sobrenadante de leche. Las líneas continuas muestran la función de ajuste de cada fracción obtenida como se detalló en materiales y métodos.

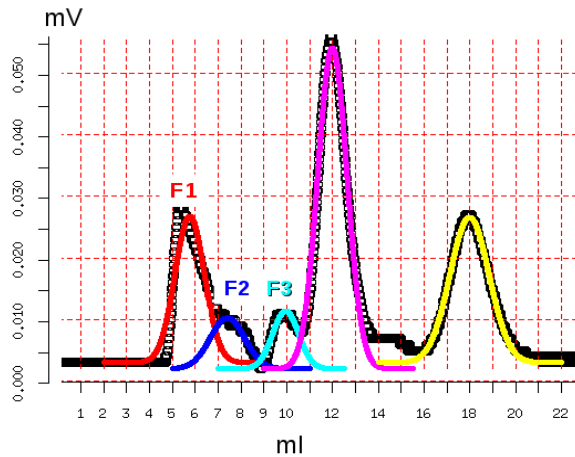


Figura 7. Cromatograma de sobrenadante de leche tratada con kéfir. Las líneas continuas muestran la función de ajuste de cada fracción obtenida como se detalló en materiales y métodos.

La tabla I muestra los valores de los pesos moleculares de cada una de las fracciones obtenidas. No se hallaron diferencias significativas en los pesos moleculares de las fracciones halladas. Sin embargo, una de las fracciones encontradas en la leche sin tratar (Fd) no se halló en la leche tratada con kéfir.

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

Tabla I: pesos moleculares (KDa) de las fracciones obtenidas de leche y leche tratada con kéfir luego de fraccionarlas por FPLC (media±SD)

fracción	leche	leche + kéfir
F1	96.5±16.0	95.2±8.9
Fd	53.0±5.8	-----
F2	28.8±0.8	30.8±2.2
F3	9.7±0.5	9.8±0.8
F4	2.7±0.2	2.8±0.2
F5	0.1±0.01	0.1±0.01

Se observó un efecto desmineralizante del AL y F2 con respecto a la SA. Contrariamente las fracciones F1, F3 y SK no mostraron diferencia respecto de SA y demostraron tener efecto inhibitorio de la desmineralización provocada por el medio ácido. La tabla II muestra los valores de R obtenidos.

Tabla II: Razón de desmineralización (R) en los diferentes grupos experimentales. Los resultados se muestran como media±SD. * indica diferencia $p < 0.05$ respecto de SA, # indica diferencia $p < 0.05$ respecto de AL, ANOVA, post test LSD Bonferroni.

Grupo	R
SA: saliva artificial: control negativo de desmineralización	0.95±0.30#
AL: ácido láctico 0.1M: control positivo de desmineralización	0.64±0.12*
F1	1.01±0.39#
F2	0.72±0.16*
F3	1.04±0.13#
SK: sobrenadante de leche tratada con kéfir	0.98±0.24#

Discusión y conclusiones

Las leches fermentadas poseen péptidos a los cuales se les atribuyeron diferentes propiedades biológicas, entre ellas la inhibición de la desmineralización del esmalte dental. En la leche tratada con kéfir se identificaron péptidos pero su efecto sobre el proceso de desmineralización no ha sido aún comprobado. En un trabajo previo de este grupo se comparó el efecto del sobrenadante de leche y el de leche tratada con kéfir sobre la desmineralización del esmalte inducida por pH ácido sobre dientes bovinos. En este trabajo se demostró que si bien el sobrenadante de leche no tenía efecto inhibitorio de la desmineralización, sí presentó dicho efecto el sobrenadante de leche tratada con kéfir. Por dicha razón en este trabajo sólo se evaluó éste último y las fracciones proteicas obtenidas a partir de él.

En la leche sin tratamiento se encontraron 6 fracciones peptídicas por cromatografía de exclusión molecular, cuyos pesos moleculares se indican en la tabla I. El tratamiento de la leche con kéfir presentó 5 fracciones, no hallándose la fracción que llamamos Fd. Probablemente, la actividad biológica del kéfir consuma proteínas de esta fracción transformándolas en estructuras que se detectarían en otras fracciones. En este trabajo investigamos el efecto del SK y sus fracciones F1, F2 y F3. En este trabajo se investigaron las fracciones F1, F2 y F3 de pesos moleculares correspondiente al rango

EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

que se consideran proteínas, dejando para experimentos posteriores los estudios con las fracciones de menor peso molecular. Todas las soluciones investigadas tuvieron una concentración de ácido láctico 0.1mol/L, excepto la saliva artificial que se utilizó como control negativo de desmineralización. Esta composición de las soluciones garantiza que de observarse algún cambio en el proceso de desmineralización no se debe a diferencias en el pH o la acidez titulable de las mismas sino a la presencia de diferentes componentes, que por el método de separación utilizado serían las proteínas de cada fracción. La medida del proceso de desmineralización puede realizarse por diferentes procedimientos como la perfilometría, cambios en el peso de los molares o cambio en la densidad mineral. La medición de R (razón de desmineralización) se realizó por el último método por disponibilidad de equipo y debido a que específicamente mide la ganancia o pérdida de calcio, mientras que el peso no estaría representando solamente dicha variación.

Se confirma que el sobrenadante de leche tratada con kéfir tiene efecto protector sobre la desmineralización ocasionada por el medio ácido. Las fracciones F1 y F3 mostraron efecto protector ante la desmineralización, mientras que la fracción F2 no tuvo efecto protector y se comportó exactamente igual que el AL.

GRAVIMETRÍA

La gravimetría es un conjunto de técnicas en la cual la concentración o cantidad de una sustancia en una muestra es conocida mediante la determinación de masas utilizando una balanza.

MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES EN AGUA

Badín J - Poggiani A

Introducción

Los sólidos solubles totales se definen como la materia que permanece como residuo después de la evaporación y secado de una muestra de agua a 105 °C. Equivale a la sumatoria de todas las sustancias en solución, que habitualmente son cercanas al 100% en las aguas de consumo. Empleando la gravimetría podemos estimar cuantos sólidos están disueltos en una muestra de agua.



Precauciones

Se utilizará una estufa a 105°C, por lo cual se recomienda extremar cuidados, especialmente en lo referente a quemaduras.

Protocolo de medición

La medición incluye procedimientos con las muestras, los controles de calidad y los ensayos de adición-recuperación

Medición de la muestra

- 1- Secar los cristalizadores en la estufa a 105 °C durante tres horas. Luego, descender la temperatura hasta llegar a 40 °C.
- 2- Pesar el cristalizador utilizando la balanza. Rotularlo. Registrar el peso (p1).
- 3- Colocar aproximadamente 20 ml de muestra y pesar nuevamente. Registrar el peso (p2).
- 4- Repetir los pasos 2 y 3 para cada muestra que desee medir. Recuerde realizar el procedimiento por duplicado.
- 5- Colocar los cristalizadores cargados de muestras de agua en la estufa a 105° durante tres horas, hasta que se produzca la evaporación total del líquido. Luego, descender la temperatura hasta llegar a los 40 °C.
- 6- Pesar nuevamente los cristalizadores. Registrar el peso (p3).

Todas las muestras se realizan por duplicado, lo que permitirá calcular el coeficiente de variación porcentual (CV%) de cada muestra. Si el CV% es mayor al 10% se deberán repetir las determinaciones.

Cálculo y registro de datos: Los datos obtenidos se cargan en Atlantis 1.0 y el mismo realizará los cálculos del contenido de sólidos solubles.

MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES EN AGUA

Control de calidad

Control de calidad: Los controles de calidad permiten detectar errores sistemáticos y aleatorios y así actuar en consecuencia para reducirlos o al menos identificar su origen. En la determinación de sólidos solubles totales se utilizan los siguientes controles de calidad:

- ◆ Medición por duplicado.
- ◆ Coeficiente de variación porcentual (CV%).
- ◆ Solución control de calidad o quality control (QC).
- ◆ Análisis de recuperación – adición.

A continuación se detallarán los últimos dos ítems.

Quality control (QC): El QC o quality control (control de calidad) es una solución de concentración conocida que se procesa de la misma manera que las muestras, siendo un indicador de exactitud. Si la medición tiene buena exactitud, su valor nominal debe ser cercano (o igual) al valor medido. La sustancia que utilizamos como QC en la determinación de sólidos solubles totales es solución fisiológica, cuyo valor nominal es de 9 g/l. Estas soluciones disponibles a nivel comercial para uso médico son de alta calidad y tiene grandes controles que habilitan su utilización con este fin.

Procedimiento:

- 1- Secar los cristalizadores en la estufa a 105 °C durante tres horas. Luego, descender la temperatura hasta llegar a 40 °C. Pesar un cristalizador vacío rotulado como “QC”.
- 2- Utilizando una micropipeta colocar 2ml de solución fisiológica en dicho cristalizador.
- 3- Colocarlo en una estufa a 105 °C durante tres horas. Luego descender la temperatura a 40°C y pesar registrando el valor como p2. Importante: si bien explicamos los procedimientos de forma separada en la práctica los cristalizadores que contengan muestras de agua, soluciones QC y la adición se colocan juntos en la estufa.
- 4- Realizar por duplicado.
- 6- Los datos se cargan en Atlantis 1.0 que calculará el valor del QC y su coeficiente de variación

Análisis de recuperación – adición

El análisis de recuperación – adición consiste en adicionar a una muestra de agua una sustancia de concentración conocida. La muestra con la adición se procesará igual que las otras muestras de agua. Al procesar la muestra calcularemos cuanto hemos “recuperado” de la sustancia adicionada, siendo lo ideal una recuperación del 100%. Para la determinación de sólidos solubles totales la sustancia que adiciona es solución fisiológica.

Procedimiento:

- 1-Secar los cristalizadores en la estufa a 105 °C durante tres horas. Luego, descender la temperatura hasta llegar a 40 °C. Pesar un cristalizador vacío que deberá ser rotulado indicando a que muestra se le realizó la adición. Registrar el peso p1.

MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES EN AGUA

- 2-Colocar aproximadamente 20 ml de muestra elegida para este ensayo y pesar nuevamente el cristizador, llamando a esta medición p2.
- 3- Utilizando una micropipeta adicionar 2ml de solución fisiológica.
- 4- Colocar el cristizador con agua en una estufa a 105°C durante tres horas. Luego de ese tiempo disminuir la temperatura a 40 °C y pesar, valor que llamaremos p3.
- 6- Realizar por duplicado.
- 7- Cálculo y registro de datos: Los datos obtenidos se cargarán a Atlantis. El software realizará los cálculos.

POTENCIOMETRÍA

La potenciometría o técnicas potenciométricas se basan en la medida de una diferencia de potencial, valor que guarda alguna relación con la concentración de una determinada sustancia en la solución. Los sensores utilizados se conocen habitualmente con el nombre de electrodos, los cuales en general son muy específicos respecto de la sustancia que se desea medir.

MEDICIÓN DE FLUORURO

Casagrande MV

Introducción

El flúor en su forma elemental es un compuesto gaseoso que, por su elevada electronegatividad, se encuentra exclusivamente en forma de fluoruro (F^-). El F^- ingerido en exceso puede producir un cuadro clínico conocido como fluorosis que presenta signos leves como el moteado de dientes, llegando a alteraciones profundas del aparato locomotor y endocrino. El F^- es un componente habitual en el agua de consumo por lo cual la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Código Alimentario Argentino (CAA) han establecido 1.5mg/l (1.5ppm) como límite superior para el agua de consumo, siendo el límite menor a medida que aumenta la temperatura ambiente máxima media, debido al incremento del volumen de agua consumido por día por cada individuo. El fluoruro puede medirse por técnicas espectroscópicas en las cuales el F^- reacciona dando compuestos coloreados o bien por potenciometría. La potenciometría tiene dos modalidades de acuerdo a la muestra. Si el fluoruro se halla soluble en la muestra y no existen sustancias interferentes se aplica la potenciometría directa que consiste básicamente en colocar en contacto a la muestra y demás soluciones con el electrodo. Contrariamente si el anión F^- no está soluble o libre debe aislarse de la muestra, para lo que se aplica la microdestilación isotérmica. En esta técnica en primer lugar se aísla el fluoruro y luego se mide por potenciometría directa.

Medición de fluoruro por potenciometría directa

Fundamento

La determinación de F^- se realiza por potenciometría directa utilizando un electrodo de ion específico para F^- (Orion 94-09) y un electrodo de referencia de $Ag/AgCl$. Ambos conectados a un conversor analógico digital. Básicamente la técnica se basa en la relación lineal que existe entre los mV desarrollados por los electrodos y el logaritmo de la concentración de F^- de la muestra.

El electrodo de ion específico se conecta con el electrodo de referencia mediante un soporte construido en acrílico. Este soporte presenta un orificio donde se coloca el electrodo de referencia y una superficie plana donde se colocará la muestra y el electrodo de F^- . El electrodo de referencia y el de F^- están en contacto electrolítico a través de un puente salino, que se halla dentro de un tubo de polietileno en la parte inferior del soporte.

Esta técnica se aplica directamente a aquellos líquidos donde el F^- está libre y en concentraciones mayores al límite de detección del electrodo, valor que se halla próximo a 0.01ppm. El volumen de muestra debe ser superior a 20 μ l. La muestra se coloca con micropipeta sobre la superficie del soporte de acrílico donde desemboca el puente salino y debajo de la superficie sensible del electrodo de flúor. (Figura 1).

Luego se coloca en contacto el electrodo de F^- con la solución y se registra la medida de mV por el conversor analógico-digital. Luego de la lectura la muestra se elimina con papel absorbente.

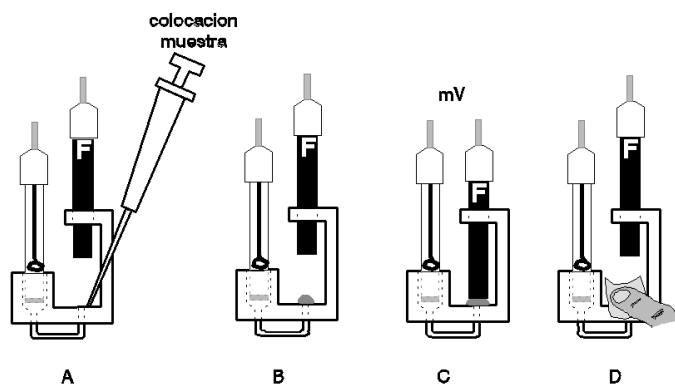


Figura 1. A y B: colocación de la muestra. C: establecimiento del contacto entre muestra y los dos electrodos. D: eliminación de la muestra.

Protocolo de medición en orina y agua

1. Sacar el kit de soluciones de la heladera
2. Construir el puente salino, para ello coloque un recipiente con agua con un el calentador de inmersión. Coloque en el recipiente con agua un frasco conteniendo agar-agar al 2% saturado en KCl. Una vez fundido, con una jeringa y aguja de punta roma romasuccione 0.4ml de agar y por el compartimiento del electrodo de referencia llene el catéter de polietileno. El agar debe salir por el otro extremo y no deben quedar burbujas. Enjuague la jeringa con agua caliente para que no se tape la aguja, guarde todo el equipo en la caja con el kit para hacer el puente salino.
3. Colocar el soporte en su lugar.
4. Colocar el electrodo de referencia en su receptáculo y agregar KCL saturado hasta la tercera parte del contenedor.
5. Retirar el protector del electrodo de F^- y colocarlo en el tubo plástico, deslizándolo cuidadosamente hacia abajo con rotaciones. Recuerde que si el electrodo golpeará contra el acrílico se romperá el sensor. Si fuera necesario, colocar unas gotas de agua destilada entre el tubo y el electrodo para que actúe como lubricante.
6. Elección de la curva de calibración. Para medidas en agua es común la utilización de las siguientes soluciones: 19ppm, 8ppm, 1.9ppm, 0.8ppm y 0.19ppm (adaptar si es necesario a casos especiales). Para orina es común la utilización de 190ppm, 19ppm, 8ppm y 1.9ppm (adaptar de ser necesario a casos especiales).

MEDICIÓN DE FLUORURO

7. Preparación de la curva de calibración, QC (solución control de calidad) y muestras. Utilizar solamente las soluciones de los tubos pequeños que se encuentran en la caja plástica dentro del recipiente con todo el kit. A los tubos debidamente rotulados colocar 10 µl de buffer (ácido acético - acetato de sodio 2M pH 5.5) + 100µl de cada solución, testigo, muestras o QC (de esta manera se logra una proporción buffer/estándar = 1/10). Se utiliza un tip por solución, dejándolo en el tubo para el momento de la medición. Si la muestra es viscosa o insuficiente se pueden utilizar otros volúmenes manteniendo la relación 1 parte de buffer y 10 partes de muestra. El volumen mínimo para leer es 20µl.
8. Comprobar que el conversor esté conectado a la PC por el cable de serie y los electrodos al conversor. Además enchúfelo a la red de 220V.
9. Prender computadora.
10. La llave frontal del conversor analógico-digital (ACD) debe estar en la posición "standby".
11. Prender el ACD se debe iluminar la luz frontal.
12. Colocar una gota de solución estándar 0.019ppm sobre la desembocadura del puente salino y bajar el electrodo de F⁻ hasta que logre el contacto entre el cristal del electrodo y la gota. Debe quedar una luz de 1mm entre el electrodo y la superficie de acrílico. La solución debe cubrir toda la superficie del electrodo. Dejar el electrodo en contacto con esta solución hasta el momento de leer.
13. Abrir una terminal o consola, que se encuentra representada por un icono que es un rectángulo negro.
14. Abrir un administrador de archivo. Buscar el directorio Fluor. En ese directorio puede hallar otros directorios de los usuarios, pero en el directorio solo debe estar el archivo Fluor.out (que es el software). Si hubiera otros archivos, puede borrarlos. En caso que no lo haga sus mediciones quedarán dentro de uno de los archivos de texto que ya existe. Se recomienda borrar todo, dejando Fluor.out solamente.
15. Vuelva a la consola, haciendo click sobre ella. Escribir cd Fluor, enter. Este comando puede buscarse también con la tecla ↑, del teclado.
16. Escribir: sudo ./Fluor.out -a 6, enter (respetar espacios, también puede buscarlo con ↑).
17. Pedirá una contraseña: colocar 1234, enter.
18. Se abrirán dos ventanas, en una se hará el gráfico (inicialmente en negro) y en la otra se maneja el software (la consola).
19. Con la combinación alt+tab se puede cambiar de una a otra ventana, o bien haciendo click con el botón izquierdo del mouse sobre cada una de ellas.
20. Colocarse en la ventana de manejo del software.
21. Fijar tiempo de lectura: oprimir t. Aparecerá un mensaje que pide que se ingrese la cantidad de segundos que durará la medición, enter.
22. Rotular medición: oprimir e. Aparecerá un mensaje que pide que se ingrese el nombre o algún detalle de la muestra. Ingrésele y seleccione enter. La descripción introducida no tiene que tener espacios. Si lo desea puede no ingresarse esta

información, en el archivo se grabarán los datos de mV medidos sin referencia a la muestra.

23. Colocar testigos, QC y las muestras de manera consecutiva en el sitio de medición con el tip que dejó en el tubo, utilizando la micropipeta correspondiente. Bajar el electrodo.

24. Pasar la llave del conversor a “medida”.

25. Estando ubicado en la consola de control de la medición oprimir “c”. Comenzará a verse el valor de la medición y a hacerse una gráfica. Al final de la medición aparecerá un valor de mV en la consola y el equipo queda preparado para la próxima medida. Si lo considera necesario anotar los valores, aunque los mismos quedarán registrados en un archivo (aconsejable registrar en cuaderno de datos).

26. Colocar la llave del ACD en “standby”.

27. Levantar el electrodo y secar (si mide una solución muy concentrada, luego de la misma lavar con agua destilada y secar).

28. Colocar la siguiente muestra.

29. Click en la consola, oprimir "e" para introducir detalle de la muestra.

30. Bajar el electrodo de F^- hasta que haga contacto con la solución.

31. Pasar la llave del conversor a la posición “medida”.

32. Hacer click en la consola y oprimir “c”.

33. Al finalizar anotar el valor de voltaje.

34. Pasar llave del ACD a “standby”.

35. Para medidas siguientes repetir pasos 23-34 .

36. Luego de leer todas las muestras, finalizar medición: estando en la consola oprimir q.

37. Con alt+tab o bien haciendo click sobre él, pasar a la ventana del gráfico, hacer sobre el gráfico click con el botón derecho del mouse. Se debe cerrar la gráfica y se desconectará el software.

38. Cerrar la consola escribiendo exit, enter.

39. Manejo de archivos: en el administrador de archivos buscar el directorio Fluor. En este directorio encontrará dos archivos: “dislin.png” y “medicion.txt”, que contienen el gráfico y los valores de las mediciones.

40. Renombrarlos si es necesario, cortarlos y colocarlos en la carpeta que usted desee. Recuerde que si lo deja en el sitio que se creó, el próximo usuario lo borrará.

41. Colocar el electrodo de referencia en su recipiente y limpiar el electrodo de F^- con papel absorbente embebido en agua destilada para sacarlo del soporte, secarlo bien y colocarle luego el protector.

42. Sacar el soporte de acrílico de su sitio. Utilizar del kit de puente salino la jeringa con tapón para eliminar el puente. Coloque el tapón firmemente en el receptáculo del electrodo de referencia e inyecte aire. La presión debe eliminar el puente por el otro extremo del catéter.

43. Colocar el soporte de acrílico en su lugar y tapar con su funda.

44. Apagar el conversor y la computadora.

Preparación de soluciones estándar

◆ Patrón 0.1mol/l = 1900ppm Secar el NaF en estufa a 105 °C durante 2h. Dejar enfriar en desecador y luego pesar 0.4199g NaF y agua destilada csp 100ml.

- ◆ Patrón 190ppm: 5ml de NaF 1900ppm. Agua destilada csp 50ml.
- ◆ Patrón 19ppm: 0.5ml de NaF 1900ppm. Agua destilada csp 50ml.
- ◆ Patrón 8ppm: 0.42ml de NaF 1900ppm. Agua destilada csp 100ml.
- ◆ Patrón 1.9ppm: 0.5ml de NaF 190ppm. Agua destilada csp 50ml.
- ◆ Patrón 0.8ppm: 0.42ml de NaF 190ppm. Agua destilada csp 100ml.
- ◆ Patrón 0.19ppm: 0.1ml de NaF 190ppm. Agua destilada csp 100ml.
- ◆ Patrón 0.08ppm: 0.042ml de NaF 190ppm. Agua destilada csp 100ml.
- ◆ Patrón 0.019ppm: 0.01ml de NaF 190ppm. Agua destilada csp 100ml.

Posibles errores

Si la gráfica muestra un comportamiento irregular, con ruido o subidas y bajadas inesperadas, puede deberse a burbujas entre el cristal del electrodo y el acrílico. Levantar el electrodo, eliminar la burbuja y volver a posicionar nuevamente. Si no corrige, revise y construya nuevamente el puente salino.

Medición flúor por microdestilación y potenciometría

Fundamento

La medición de flúor cuando éste no se halla al estado de fluoruro o bien existen sustancias que pudieran interferir en la respuesta de electrodo, requiere del aislamiento del flúor de la muestra. Este proceso se realiza por microdestilación isotérmica y es aplicado habitualmente a medidas de flúor en muestras de sangre, plasma, suero, hueso, suelos, alimentos, en inclusive agua si se sospecha que en ésta puedan existir interfirientes. La destilación se basa en el desplazamiento del flúor de las muestras por tratamiento con un ácido fuerte durante 24h a 60°C y recuperación del HF destilado sobre una trampa de NaOH. Una vez aislado es flúor en la trampa de NaOH, éste se ajusta a pH adecuado con un buffer y se mide por potenciometría directa, Figura 1.

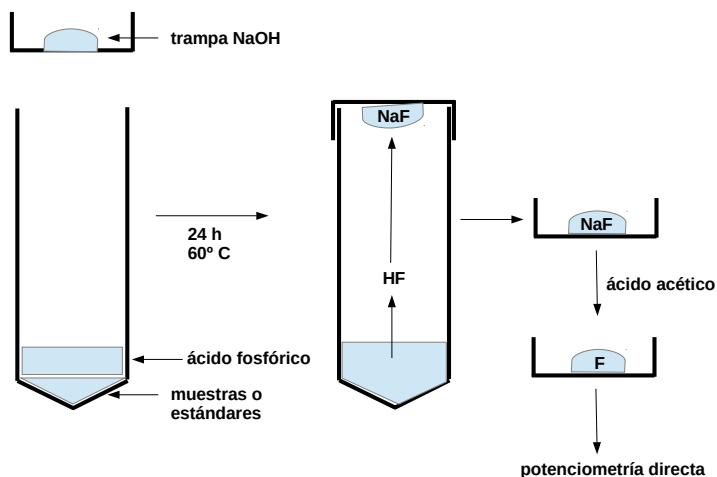


Figura 1. Secuencia de pasos para la microdestilación con ácido fosfórico y muestra o estándares y tapa con la trampa de NaOH. Al medio el sistema armado durante las 24h de destilación.

Procedimiento de la microdestilación

1. Se utilizan tubos a rosca de 3ml específicos para la destilación, previamente rotulados.
2. Colocar 5 μ l de NaOH 1.65N en las tapas de los tubos, utilizando una micropipeta de 5 μ l.
3. Preparación de la curva de calibración. Para la curva deberá tenerse en cuenta el tipo de muestra. Ajustar a otras concentraciones de ser requerido.
Curva calibración para suero, sangre o plasma: 100 μ l de estándares 19ppm, 1.9ppm, 0.19ppm y 0.019ppm
Curva de calibración para flúor óseo: 100 μ l de estándares 1900ppm, 190ppm 19ppm, 8ppm y 1.9ppm
Curva calibración flúor en plantas: 100 μ l de estándares 19ppm, 8ppm, 1.9ppm, 0.8ppm, 0.19ppm y 0.08ppm.
4. Colocación de las muestras. Si se trata de muestras líquidas como suero, sangre, o plasma colocar 100 μ l de las muestras. En caso de muestras de cenizas óseas, colocar 5-10mg de ceniza por tubo. Muestras de vegetales 0.1g de muestras secas a 40°C.
5. Agregar sobre las muestras y los estándares 100 μ l de H₃PO₄ concentrado, usando una micropipeta automática.
6. Tapar los tubos con sus respectivas tapas, donde fueron colocados los 5 μ l de NaOH. Colocar luego estas cámaras en la estufa a 60°C por 24h, tiempo durante el cual se producirá la destilación isotérmica.
7. Transcurrido este período, abrir las tapas de las cámaras y agregar a las tapas 60 μ l de HAc diluido 1/120.

MEDICIÓN DE FLUORURO

8. Previo a la medición mezclar el contenido de cada tapa usando una micropipeta con tip, cargando y descargando dos veces el contenido de la mezcla resultante del NaOH y el AcH 1/120.

9. Medir con el electrodo de F^- , siguiendo el procedimiento que se detalla a continuación. Utilizando la totalidad del volumen de la muestra.

El volumen de AcH agregado para neutralizar la trampa puede variar cada vez que se prepare la solución de NaOH a utilizar como trampa. Cada vez que se prepare la solución de NaOH 1.65mol/l a partir de solución Sorensen, deberá titularse el ácido acético para lograr un pH 5.5. A tal fin procesa como se indica:

1. Coloque 0.1ml de NaOH 1.65mol/l preparado recientemente en un vaso de precipitación de 50ml y coloque un agitador magnético.

2. Agregue 20ml de agua destilada de manera que cuando se coloque el electrodo de pH, quede sumergido en la solución. El volumen (20ml) puede variar.

3. Calibre el pH-metro (para medidas de 4-7) y luego colóquelo en la solución de NaOH a titular.

4. Agregue de a 50 μ l de AcH diluido (aproximadamente 1/120), tome pH de cada medición y vaya registrando el volumen agregado.

5. El pH irá descendiendo, agregue hasta que el pH llegue a 4.5-5. Finalice la titulación.

6. Realice la titulación por duplicado.

7. Calcule los ml de AcH agregados en forma acumulativa. Calcule por interpolación entre dos valores de pH que contengan el valor 5.5, los ml de AcH necesarios. Ese volumen de AcH es adecuado para 0.1ml de NaOH. Divida dicho valor por 20 y será el volumen a ser utilizado para agregar a cada tapa luego de abrir la destilación.

8. Chequee con papel indicador de pH de rango adecuado que al agregar a 5 μ l de NaOH el volumen calculado de AcH el pH es 5.5.

Precauciones

El electrodo de F^- es frágil en su parte inferior. Asegúrese de los cuidados para evitar la rotura del cristal. El electrodo de referencia también es extremadamente frágil.

El puente salino debe prepararse cada vez que se realicen mediciones.

El equipo debe estar conectado a una red eléctrica protegida por térmica y disyuntor.

Las sustancias utilizadas no tienen efectos tóxicos en las cantidades que se manejan.

La metodología está sujeta a control de calidad por lo tanto todas las mediciones deben realizarse por duplicado.

No existe riesgo de accidentes siguiendo la lista de precauciones.

En caso de contacto de ojos, piel, mucosas con ácido fosfórico concentrado o hidróxido de sodio concentrado lavar con abundante agua corriente.

DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE OXIDO REDUCCIÓN

Badín J

El potencial de oxidorreducción, potencial rédox u ORP es una medición que se puede realizar sobre muestras acuosas. Una reacción redox es aquella en la cual se intercambian electrones modificando así el estado de oxidación de los compuestos en solución. Se entiende como oxidación a la reacción química donde un compuesto pierde electrones, y a la reducción cuando un compuesto los gana. El potencial redox es entonces la medida de la actividad de los electrones y su medición determina si la solución tiene más tendencia a ganar o perder electrones.

Para dicha determinación utilizamos un electrodo de ORP que debe estar conectado a una computadora que disponga su software controlador. Para el cuidado de dicho electrodo, el mismo se encuentra sumergido en una solución de mantenimiento. Además debemos contar con un aireador y agua destilada. Este electrodo consiste en realidad en dos partes, por lo que se conoce como electrodo comobianado, una de ellas mide el estado rédox de la solución y la otra es un electrodo de referencia. Si el potencial medido es positivo, indica que la solución tiene mayor poder oxidante que el electrodo de referencia y si el valor medido es negativo, la solución es más reductora que el electrodo de referencia.

Procedimiento

Se enciende la computadora y se abre el software de ORP. El electrodo debe estar conectado al puerto USB que indicaremos previamente.

Dicho software nos permite elegir:

- El tiempo a medir.
- Cantidad de muestras a promediar.
- Nombre de la muestra (para escribir un archivo que registra los valores medidos).
- Nombre del puerto.

Para comenzar debemos medir la solución estandar, lighth y zobell como controles de calidad. Para ello sumergimos el electrodo en la solución a medir y colocamos “medir” en el software. El mismo medirá el tiempo indicado previamente. Entre cada solución y luego entre cada muestra debemos enjuagar el electrodo correctamente con agua destilada.

Luego procedemos a medir de la misma manera las muestras pero colocando un aireador. Realizamos este paso para unificar el contenido de oxígeno en todas las muestras ya que este es un potente agente oxidante. Las determinaciones se realizan por duplicado.

DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE OXIDO REDUCCIÓN

Al finalizar se guardará el archivo con extensión .txt con las mediciones realizadas y si lo deseamos un grafico de las mismas.

Al finalizar se coloca al electrodo en su solución de mantenimiento, apagar la computadora y guardar todos los instrumentos utilizados.

Los datos obtenidos se cargan en ATLANTIS, pasando así a formar parte de la base datos de componentes químicos del agua.

MEDIDA DE pH

Badín J

Definimos al pH como el logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones. El pH depende entonces de la concentración de iones hidrógeno que posea una solución. Los distintos valores de pH se organizan en una escala del 0 al 14, siendo el punto medio (pH=7) el punto denominado “pH neutro”. Para determinar la acidez o alcalinidad de una solución debemos analizar su pH: si el mismo está por debajo de 7 se considerará una sustancia ácida, en cambio si se encuentra por encima de 7, la consideraremos básica o alcalina. Mientras más cercanas den las mediciones a los extremos de la escala, más ácida o más básica será la solución según corresponda.



Medición de pH en agua

Para tener un valor de referencia, el pH del agua de consumo oscila entre 6 y 8. Para medir esta propiedad en una solución utilizamos una técnica potenciométrica, por lo cual necesitamos el uso de un electrodo que nos permita medir la concentración de hidrogeniones presentes en solución. Los electrodos para este fin se conocen como electrodos de pH y los instrumentos utilizados como pH-metros.

Materiales y reactivos

- ◆ pH-metro “NyN”.
- ◆ Pisseta con agua destilada.
- ◆ Solución de calibración. Se pueden utilizar dos o tres soluciones de pH 6, 7 y 8 (Estas soluciones no deben tener más de un mes de uso). Pueden utilizarse otras soluciones estándar. El proceso de calibración del instrumento debe hacerse con soluciones estándar que abarquen un rango de pH no mayor a dos unidades.
- ◆ Solución acuosa de KCl saturado (para la conservación del electrodo mientras no se esté utilizando).
- ◆ Solución control de calidad (QC) de pH 4, 7 o 10 dependiendo el rango de medición..
- ◆ Recipientes de aproximadamente 30ml para colocar las muestras.

Procedimiento

Enchufar el pH-metro y encenderlo con la perilla “on-off” en su parte frontal. A continuación se encenderá una pantalla, la cual nos permitirá elegir entre 3 opciones: medición, calibración o configuración. Para navegar entre las opciones debemos movilizarnos con las flechas dispuestas en la parte frontal del instrumento.

Para iniciar seleccionamos calibración. La calibración del instrumento previa a cada medición es muy importante. Para ello debemos indicarle al pH-metro el valor que tiene un estándar de pH conocido y sumergir el electrodo en él: el pHmetro se calibrará

de acuerdo al pH de la solución administrada por nosotros, por lo cual, confundirse en este paso determina el fracaso de toda la medición.

El instrumento nos permitirá elegir con cuantos valores deseo calibrarlo. Generalmente elegimos utilizar 3 valores: pH 6, 7 y 8. Esta elección la realizamos ya que las muestras de aguas de consumo humano que analizamos rutinariamente tienen valores de pH probables en ese rango. Recordar siempre lavar el electrodo con agua destilada posterior a que una sustancia toma contacto con él.

El próximo paso a elegir será “medición”. Aquí debemos sumergir la muestra a medir, a la espera de que el instrumento nos brinde el valor de pH que ha medido. Cada muestra se procesa por duplicado.

En el apartado de configuración podemos modificar el tiempo de medida de cada muestra, entre otros factores.

Medir el valor de pH de la solución QC. Los valores de pH de las muestras y la solución QC se carga en el software que determinará la aceptación o rechazo de la medición según los valores del CV% y las UDS del QC.

Precauciones

El electrodo del pHmetro es sumamente frágil, por lo cual debemos ser cuidadosos en su manipulación. Mientras no se utiliza debe sumergirse en solución de KCl 3M. Siempre que lavemos el electrodo con agua destilada, cuidar que esta solo moje al electrodo y no a otras partes del aparato. Los estándares de pH utilizados, deben reemplazarse una vez al mes o a intervalos más cortos si se detectan anomalías.

VOLUMETRÍA

La volumetría es un tipo de técnica en que se mide la concentración de alguna sustancia en base al volumen gastado de un reactivo de concentración conocida. En general se fundamentan en una reacción en la que participa la sustancia a medir y el agregado de otra sustancia que reacciona con ella. Cuando la reacción se completa, otra sustancia llamada indicador, cambia de color debido al exceso de la sustancia agregada o el agotamiento de la sustancia a medir. Estas técnicas son poco demandantes en equipamiento y bien concebidas tienen una precisión y exactitud excelente.

MEDICIÓN DE DUREZA TOTAL EN AGUA

Flores V- Pesci A

Introducción

En la práctica se considera que la dureza es causada por iones metálicos divalentes, capaces de reaccionar con el jabón para formar precipitados y con ciertos aniones presentes en el agua para formar incrustaciones. Los principales cationes que causan dureza en el agua y los principales aniones asociados con ellos son:

- ◆ Cationes: Ca^{++} , Mg^{++} , Sr^{++} , Fe^{++} , Mn^{++}
- ◆ Aniones: HCO_3^- , $\text{SO}_4^{=}$, Cl^- , NO_3^- , $\text{SiO}_3^{=}$

En general, la dureza es igual a la concentración de cationes polivalentes del agua. Desde el punto de vista sanitario, las aguas duras son tan satisfactorias para el consumo humano como las aguas blandas; sin embargo, un agua dura requiere demasiado jabón para la formación de espuma y crea problemas de lavado; además deposita lodo e incrustaciones sobre las superficies con las cuales entra en contacto, así como en los recipientes, calderas o calentadores en los cuales se calienta. El rango aceptable para dureza en agua potable según la ley 11200 de la provincia de Santa Fe es de 100-500ppm de CaCO_3 .

La dureza del agua se puede clasificar en temporal y permanente. La dureza temporal es aquella que se elimina por calentamiento y se debe a la presencia de bicarbonatos. El bicarbonato de calcio: $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ carbonato de calcio: CaCO_3 por la acción del calor, desprendiéndose como un precipitado insoluble. En cambio la dureza que se debe al sulfato de calcio: CaSO_4 no se desprende del agua por la acción de calor, por lo que se llama dureza permanente.

El método de medición que se desarrollará a continuación es aplicable a aguas potables, superficiales, contaminadas y aguas residuales. De acuerdo con los criterios actuales, la dureza total se define como la suma de las concentraciones de calcio y magnesio, expresando la dureza como carbonato de calcio, en miligramos por litro.

Es importante conocer la concentración de los iones Ca^{++} y Mg^{++} ya que de ellos depende mayoritariamente la dureza del agua. Así las aguas de pueden clasificar en blandas y duras.

Según la dureza las aguas se clasifican según la tabla siguiente:

Dureza como CaCO_3 , ppm	tipo de agua
0-75	Agua blanda
75-150	Agua poco dura
150-300	Agua dura. (Límite para agua potable)
> 300	Agua muy dura

Fundamentos de la determinación

La dureza total se determina por titulación de las muestras de agua con la solución de ácido etilendiamonotetraacético (EDTA), y se utiliza como indicador el negro de eriocromo T (NET). El calcio y magnesio forman un complejo de color lila con el NET. Al ir agregando EDTA el calcio y magnesio van dejando su unión al NET para pasar a formar parte de un complejo con el EDTA. Cuando todo el calcio y magnesio se combinaron con el EDTA, se observa un cambio de color de la solución debido al NET libre, tornando la solución con una coloración celeste. El volumen de EDTA gastado hasta este punto se utiliza para calcular la dureza total del agua.

Protocolo de medición de dureza total

La técnica tiene cuatro etapas

- ◆ Estandarización de la solución de titulación EDTA.
- ◆ Realización del QC.
- ◆ Ensayo de adición – recuperación sobre una muestra.
- ◆ Medición de las muestras de agua propiamente dichas.

Todos ellos deben realizarse por duplicado para reforzar la confianza de que la prueba dio resultados confiables, disminuyendo el error. El EDTA utilizado tiene una concentración nominal de 0.01M, como se indica en los puntos siguientes. Sin embargo la concentración que se utilizará en los cálculos será la que surja del proceso de estandarización. Todas las titulaciones se realizan con una bomba de infusión y la utilización de un agitador magnético.

Estandarización del EDTA

Se realiza en recipientes plásticos para titulación

1. Colocar 200µl de solución Stock de Calcio 1000ppm.
2. Agregar 4.8ml de agua destilada.
3. Agregar 25 ul de buffer de pH 10
4. Agregar 20µl de NET tornándose de color lila.
5. Pesar el recipiente y registrar el valor
6. Colocar en el recipiente el imán del agitador magnético.
7. Titular con EDTA 0.01M hasta que la solución adquiera color azul.
8. retirar el agitador magnético
9. Pesar el recipiente y registrar el valor
10. Registrar el valor de los pasos realizados por la bomba

Realización de QC

1. Agregar 5ml de QC de 50ppm de calcio.
2. Agregar 25µl de buffer pH 10
3. Agregar 20µl de NET.
4. Colocar en el recipiente el agitador magnético

MEDICIÓN DE DUREZA TOTAL EN AGUA

5. Titular con EDTA 0.01M hasta el punto de equivalencia, indicado por el cambio de color lila a celeste
6. Retirar el agitador magnético
7. Registrar el valor de pasos realizados por la bomba

Ensayo de adición - recuperación

Realizar la medición en una muestra como se indica a continuación.

1. Colocar 5ml de la muestra de agua.
2. Agregar 25 μ l de buffer pH 10.
3. Agregar 20 μ l de NET.
4. Colocar en el recipiente el agitador magnético
5. Titular con EDTA 0.01M hasta el cambio de color.
6. Retirar el agitador magnético
7. Registrar el valor de los pasos de la bomba

Con estos datos calcularemos la dureza de la muestra. Sobre la misma muestra se realizan los siguientes pasos

1. Colocar 5ml de la misma muestra de agua.
2. Realizar la adición de 50 μ l de Stock Ca 1000ppm
3. Agregar 25 μ l de buffer pH 10.
4. Agregar 20 μ l de NET.
5. Colocar en el recipiente el agitador magnético
6. Titular con EDTA 0.01M.
7. Retirar el agitador magnético
8. Registrar el valor de los pasos de la bomba

Medición de las muestras

El resto de las muestras se miden directamente siguiendo los pasos que se detallan a continuación

1. Colocar 5ml de la muestra de agua.
2. Agregar 25 μ l de buffer pH 10.
3. Agregar 20 μ l de NET.
4. Colocar en el recipiente el agitador magnético
5. Titular con EDTA 0.01M hasta el cambio de color.
6. Retirar el agitador magnético
7. Registrar el valor de los pasos de la bomba
- 8.

En todos los casos se mide el volumen de EDTA agregado, lo que puede hacerse con el uso de una bureta, una bomba de infusión o bien por pesada de los recipientes de titulación. Los datos obtenidos se cargan luego en el software Atlantis 1.0 para calcular y almacenar los datos de dureza total de cada muestra.

MEDICIÓN DE DUREZA TOTAL EN AGUA

Cálculos a realizar

Si bien todos los cálculos están incluidos en Atlantis 1.0 y el software los realiza automáticamente, a continuación se muestran las fórmulas necesarias.

Calculo de la molaridad del EDTA

$$M_{EDTA} = \frac{V_{CaCO_3} * M_{CaCO_3}}{V_{EDTA}}$$

Donde:

M_{EDTA} es la molaridad del EDTA en mol/l.

M_{CaCO_3} es la molaridad del $CaCO_3$, 0.01mol/l.

V_{CaCO_3} es el volumen de solución patrón de $CaCO_3$ utilizado, 0,2ml).

V_{EDTA} es el volumen de EDTA gastado en la estandarización

Para realizar los cálculos: la dureza total, cálcica y magnésica se expresan en mg $CaCO_3/l$.

Para el cálculo de la dureza en una solución, expresado como carbonato de calcio, se aplica la siguiente fórmula:

$$Dureza(mg/l CaCO_3) = \frac{V_{EDTA} * M_{EDTA} * 100,091 * 1000}{V_{muestra}}$$

Donde:

V_{EDTA} es el volumen de EDTA utilizado en ml.

M_{EDTA} es la concentración de EDTA, en mol/l, valor que surge del proceso de estandarización

$V_{muestra}$ es el volumen de muestra utilizada, habitualmente 5ml.

100.091 es el peso molecular del carbonato de calcio, que se multiplica por 1000 para expresar el resultado en mg.

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL

Digiuni S

Introducción

Es importante conocer la concentración de estos compuestos en el agua de consumo porque de ellos depende en gran parte el pH de la misma. Se sabe por ejemplo que a una elevada alcalinidad el agua adquiere un sabor amargo. Cuando las aguas tienen alcalinidades inferiores se vuelven muy sensibles a la contaminación, ya que no tienen capacidad para oponerse a las modificaciones que generen disminuciones del pH. Además la alcalinidad está relacionada con la posibilidad de formar precipitado de sales en instrumentos de uso de agua como cañerías e instrumentos de cocina.

La alcalinidad del agua es causada usualmente por la presencia de carbonatos (CO_3^{2-}) y bicarbonato (HCO_3^-) asociado a otros iones (como Na, K, Ca, Mg)

Fundamentos de la determinación

La determinación de carbonato y bicarbonato se realiza utilizando una técnica volumétrica, con una solución valorada de HCl, mediante dos puntos sucesivos de equivalencia indicados por medio del cambio de color utilizando dos indicadores ácido-base adecuados. Los indicadores utilizados son fenolftaleína y el naranja de metilo, aunque podrían ser otros con pKI similares. En base a los volúmenes gastados de HCl hasta ambos puntos de equivalencia y la concentración de dicha solución se puede calcular la concentración de carbonato y bicarbonato. Este método, es aplicable para la determinación de la alcalinidad de carbonatos y bicarbonatos, en aguas naturales, domésticas, industriales y residuales. El volumen gastado de HCl hasta el punto de equivalencia de la fenolftaleína permite calcular la concentración de carbonato y, el volumen de HCl gastado hasta el punto de equivalencia del naranja de metilo permite calcular la concentración de bicarbonato de la muestra.

Protocolo para la determinación de carbonato y bicarbonato

La técnica tiene dos pasos básicos: la estandarización de la solución titulante de HCl y la medición de las muestras. Todas las determinaciones se realizan por duplicado.

Estandarización

La estandarización del HCl se lleva a cabo antes de comenzar las mediciones. Colocar 3ml de carbonato de sodio 0.005M en un vaso de titulación. Adicionar 1 gota de naranja de metilo, lo que tornará a la solución de color amarillo. A continuación titular esta solución con la solución de HCl hasta que la solución vire al color rojo. La solución de carbonato de sodio 0.005M tiene concentración perfectamente conocida, ya que se trata de un patrón confiable. Con la concentración del carbonato de sodio y el volumen gastado de HCl se puede calcular fácilmente la concentración real de la

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL

solución de HCl. Para ello se pesa el vaso (sin agitador) antes y después del agregado del HCl, llamamos a estos valores p_1 y p_2 . La diferencia entre p_2 y p_1 , nos permite calcular el volumen de HCl adicionado. A su vez se toma la cantidad de pasos ejecutados por la bomba, a través de la lectura del visor, al que llamamos B_1 . Con los valores anteriores y la siguiente fórmula podemos calcular cuantos mililitros infunde la bomba por cada paso

$$pasos = (p_2 - p_1) / B_1$$

De esta manera queda calibrada la bomba y a la solución de HCl se le asigna un valor de concentración contrastado con la solución estándar de carbonato de sodio 0,005M.

Medición de las muestras

El análisis se lleva a cabo en una serie de pasos, pero se nos presentaran dos escenarios al medir. Es importante reconocer lo que ocurre en cada escenario que se nos puede presentar al medir para saber cómo proseguir. Estos escenarios serán dos:

◆ Primer escenario: si la muestra tiene carbonato, cuando a 5ml de la muestra de agua le agreguemos 1 gota del indicador de fenolftaleína, nos aparecerá coloración rosa, indicando que la muestra tiene un pH mayor que 8.3 y que hay presencia de carbonatos. Se procederá a titular con HCl, utilizando una bomba de infusión con agitación permanente a través de un agitador magnético, hasta que el color rosa vire a incoloro. Se deben registrar los pasos que muestra el monitor de la bomba de infusión, valor que se asigna a la variable M_1 , que es proporcional al volumen utilizado de HCl. Con el valor M_1 se podrá calcular la concentración de carbonato: CO_3^{2-} . El volumen gastado de HCl corresponde a la transformación del carbonato en bicarbonato. Este bicarbonato generado se sumará al bicarbonato de la muestra y se titulará nuevamente en el segundo paso con el indicador naranja de metilo.

Inmediatamente agregar 1 gota de indicador naranja de metilo 0,1%, apareciendo una coloración amarilla. Reiniciar el agregado de HCl desde la bomba hasta que el color amarillo vire al color naranja. El cambio se evidencia muy bien a la vista, y se debe suspender la adición del HCl una vez alcanzado este punto. En este momento se toma el valor del visor de la bomba al que asignamos el nombre M_2 , que es proporcional a la concentración de bicarbonato de la muestra. El volumen gastado de HCl fue utilizado para transformar el bicarbonato: HCO_3^- en ácido carbónico: H_2CO_3 y otra parte para transformar el bicarbonato originado en el paso anterior a partir de los carbonatos de la muestra.

◆ El segundo escenario corresponde a la situación en que la muestra no contiene carbonato. En este caso al agregar fenolftaleína a 5ml de la muestra agua a analizar, ésta permanecerá incolora, indicando la ausencia de carbonatos y que la muestra de agua tiene un pH menor que 8.3. En este caso se asigna a M_1 el valor 0. A continuación, agregar 1 gota de indicador naranja de metilo, apareciendo una coloración amarilla y con agitación permanente agregar solución de HCl desde la bomba hasta que el color vire a naranja. En este punto cortar el funcionamiento de la bomba y registrar el valor del visor, que se asigna a M_2 .

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL

Tanto los datos de la estandarización como los valores obtenidos al realizar la volumetría de las muestras se cargan en el software Atlantis 1.0 que realizará los cálculos de carbonato, bicarbonato y alcalinidad total.

Soluciones a utilizar

◆ Fenolftaleína 0.25%P/V. Disolver 0.25g de fenolftaleína en 100ml de etanol al 50% .

Naranja de metilo 0.1% P/V. Disolver 0.025g en 25ml de agua destilada.

◆ HCl 0.01M. Diluir 0.083ml de HCl al 36%P/P, densidad: 1.18g/ml en un volumen final de 100ml con agua destilada. La solución tendrá una concentración aproximada de 0.01M y su concentración real se determina en el proceso de estandarización.

◆ Carbonato de sodio 0.005 M: Elegir una droga de buena calidad y secarla a 110°C por 12h. Disolver 0.053g de Na₂CO₃ en agua destilada y aforar a 100ml.

Cálculos realizados para medir carbonato y bicarbonato

A continuación se describe como el software calcula las concentraciones de carbonatos y bicarbonatos.

Con los valores de los pasos de la bomba en la primera mitad de la titulación (M1), el valor hasta el punto de equivalencia con naranja de metilo (M2) y el cuantos mililitros emite la bomba por cada paso (pasos) podemos calcular la concentración de carbonato, bicarbonato y alcalinidad total de la muestra, .

Calcular contenido de carbonato con la siguiente ecuación:

$$\text{mmol/L CO}_3 = \frac{\text{pasos} * M_{\text{HCl}} * M1 * 1000}{V_{\text{muestra}}}$$

Calcular contenido de bicarbonato

$$\text{mmol/L HCO}_3 = \frac{\text{pasos} * (M_{\text{HCl}} * M2 * - M_{\text{HCl}} * M1) * 1000}{V_{\text{muestra}}}$$

Calculo de la alcalinidad total

$$\text{Alcalinidad (ppm CaCO}_3) = \frac{\text{pasos} * M_{\text{HCl}} * (M1 * + M2) * 100000}{V_{\text{muestra}} * 2}$$

Ejemplo

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL

Calcularemos la concentración de carbonato y bicarbonato de una muestra. Suponemos que la solución de HCl fue valorada y su valor es 0.01M

$V_{muestra} = 5\text{ml}$

$M_{HCl} = 0.01\text{M}$

$p_1 = 8.464\text{ g}$

$p_2 = 9.110\text{ g}$

$B_1 = 158$

$M_1 = 0$

$M_2 = 206$

primero calculamos la variable pasos

$$pasos = (p_2 - p_1) / B_1 = (9.110 - 8.464) / 158 = 0.004088$$

calculamos carbonato con la ecuación

$$mmol/L CO_3 = \frac{pasos * M_{HCl} * M_1 * 1000}{V_{muestra}} = \frac{0.004088 * 0.01 * 0 * 1000}{5} = 0 mmol/L$$

luego bicarbonato

$$mmol/L HCO_3 = \frac{pasos * (M_{HCl} * M_2 - M_{HCl} * M_1) * 1000}{V_{muestra}} = \frac{0.004088 * (0.01 * 206 - 0.01 * 0) * 1000}{5} = 1.68 mmol/L$$

finalmente la alcalinidad

$$Alcalinidad (ppm CaCO_3) = \frac{pasos * M_{HCl} * (M_1 + M_2) * 100000}{V_{muestra} * 2} = \frac{0.004088 * 0.01 * (0 + 206) * 100000}{5 * 2} = 84 ppm$$

Precauciones

Trabajaré con soluciones corrosivas. Por lo tanto, es importante recordar las medidas de seguridad. Usar guantes, guardapolvo y anteojos. Tener siempre el protocolo a la vista. Rotular bien las muestras

MEDICIÓN DE CLORURO EN AGUA

Badín J

Introducción

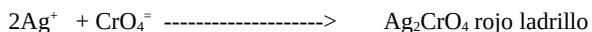
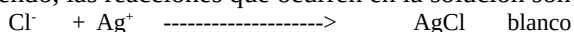
El cloruro es uno de los aniones que se halla presentes en mayor concentración en el agua de consumo y drenaje. Cuando el cloruro asociado a sodio se encuentra en forma de NaCl se encuentra en concentraciones por encima de 250ppm se detecta un sabor salado en el agua. Es por dicho motivo que la máxima concentración permisible de cloruros en el agua potable es de 250ppm, valor establecido meramente por razones de sabor y no por cuestiones sanitarias.



Fundamento de la técnica

La determinación se basa en la reacción cuantitativa entre el catión plata y el cloruro para formar el cloruro de plata, que es un precipitado blanco muy insoluble. Al formarse el cloruro de plata, un ligero exceso de plata dejará muy baja concentración de cloruro libre. En la determinación se agrega nitrato de plata a la muestra hasta agotarse el cloruro. Este punto se detecta con un indicador, en este caso, cromato de potasio (K_2CrO_4). La plata presente en el nitrato de plata reaccionará primero con los aniones cloruros presentes en la muestra formando un precipitado blanco. Cuando se haya terminado el cloruro con el cual reaccionar, la plata agregada reaccionará con el cromato, para formar cromato de plata que es un precipitado de color rojizo. De esta manera se detecta el punto final de la titulación y se registra el volumen de la solución titulante de nitrato de plata utilizada. El volumen adicionado de nitrato de plata, cuya concentración es conocida, nos permitirá estimar la cantidad de cloruro presente en la muestra.

Resumiendo, las reacciones que ocurren en la solución son



El pH óptimo para llevar a cabo el análisis de cloruros es de 7.0 a 8.3, por lo cual debemos ajustar el pH antes de realizar esta técnica.

Procedimiento

Para llevar a cabo la siguiente determinación, utilizamos una bomba de infusión que nos permite añadir valores exactos de una solución o sustancia. En este caso, debemos realizar una titulación con nitrato de plata ($AgNO_3$). Para realizar dicho procedimiento debemos primero familiarizarnos con este instrumento.

La bomba de infusión consta de una caja de operaciones y un soporte que sostiene a una jeringa donde colocamos la solución de titulación. En la caja de operaciones

MEDICIÓN DE CLORURO EN AGUA

encontraremos un display que indicará distintos valores o leyendas y tres botones: uno de ellos para recargar el contenido de la jeringa (retroceso), otro para que expulsar el contenido de la jeringa y así realizar la titulación (avance) y un tercero para detener las operaciones anteriores (stop). En la jeringa encontramos un catéter de tres vías: una de ellas conectada a la jeringa, y luego, mediadas por una llave regulable que permitirá optar por utilizar una de las otras dos vías: la que nos permite cargar el contenido de la jeringa mediante el recipiente deseado y otra que nos permite descargar el contenido de la misma. Esta última posee un catéter tipo Butterfly que nos facilitará la tarea. La muestra esquemáticamente el sistema descrito.

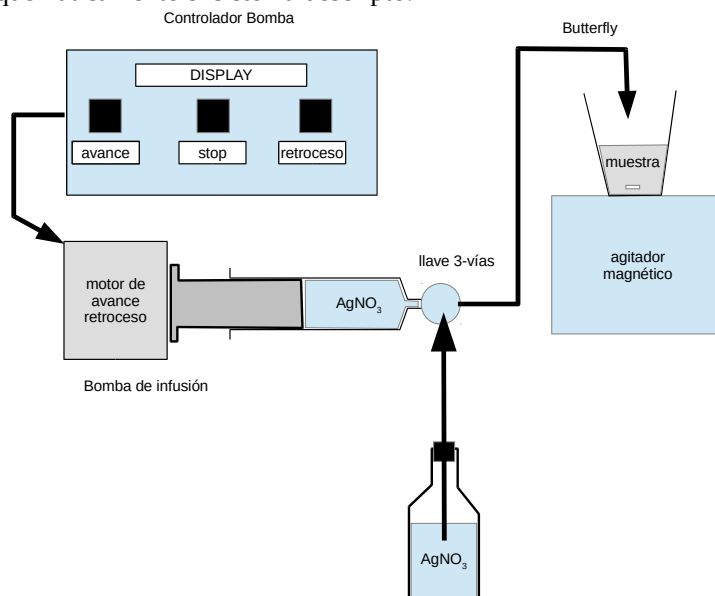


Figura 1. Representación esquemática de sistema utilizado para la medición de cloruro.

El procedimiento entonces es sencillo:

- 1- Se prepara la solución o sustancia a cargar en la bomba. Se ajusta la jeringa en su soporte. La misma tendrá una llave de tres vías, conectada una de ellas a la jeringa, otra a la solución de AgNO_3 y que servirá para el recargado de la jeringa y la tercera al Butterfly con el que se titulará la muestra.
- 2- Regulamos la llave de tres vías de modo que nos permita cargar la solución de AgNO_3 . Colocamos dicha vía en el recipiente con la solución a cargar. Presionamos “retroceso”. La jeringa se llenará con la solución titulante. Al terminar de colocar el volumen deseado presionamos el botón stop.
- 3- Cambiamos la llave de tres vías de manera que la jeringa quede ahora conectada con el Butterfly que llevará la solución a la muestra. Si presionamos “avance”, la bomba

MEDICIÓN DE CLORURO EN AGUA

comenzará a descargar el contenido de la jeringa a una velocidad regulable mediante el mismo botón. Cada vez que presionamos el botón avanza, la cantidad de pasos dada por el motor de la bomba disminuye, por ende se elimina menos solución por el catéter.

4- La bomba nos indicará en el display la cantidad de pasos dada por el motor, con lo cual luego podremos conocer el valor de solución añadido con exactitud. Esta bomba nos permite sustituir a la pipeta o micropipeta en mediciones que necesiten volúmenes muy pequeños o mayores y posee una adecuada precisión para el procedimiento.

Estando ahora familiarizados con el uso de la bomba, procedemos a la medición propiamente dicha. La misma consta de 4 pasos principales:

1- Estandarización de la solución de AgNO_3 : Este paso es de vital importancia para la técnica, ya que el nitrato de plata no es una solución estable y no es considerada un patrón primario. Esto significa que puede tener ciertas variaciones en su concentración a lo largo del tiempo. Para ello, previo a realizar la medición se debe comprobar cual es su molaridad. Esto se realiza mediante la titulación de una sustancia de concentración conocida, en este caso se utiliza cloruro de sodio 0.01M, que sí es una solución estable, a la que se la considera un patrón primario.

Colocar 5ml de la solución de NaCl 0.01M en un vaso plástico de medida, agregar 3 gotas de K_2CrO_4 (indicador). La muestra adquiere un color amarillo. Tomar el peso con una balanza de apreciación 0.001g, a este valor lo llamamos p1. Titular con solución de AgNO_3 hasta que aparezca el vire color rojo ladrillo, utilizando la bomba de infusión. Registrar el número de pasos del motor que se muestra en el visor del controlador de la bomba (B1). Pesarse el recipiente nuevamente y a este valor lo llamamos p2. Con los valores p1 y p2 calcular la molaridad del AgNO_3 .

$$\text{Molaridad AgNO}_3 = \frac{(\text{Molaridad NaCl} * \text{volumen NaCl})}{(p2 - p1)}$$

Además, con la diferencia de pesos y el número de pasos por la bomba, calculamos por única vez el volumen añadido en cada paso. Repetimos este procedimiento en cada medición ya que las jeringas pueden contener algo de aire. Este paso nos permite entonces disminuir el error.

$$\text{pasos} = (p2 - p1) / B1$$

2- Control de calidad : Como ya se ha mencionado a lo largo de este libro, el control de calidad nos permitirá detectar errores. Mediremos cuánto cloruro tiene una solución, cuya concentración ya conocemos, con el objetivo de comparar el valor real con el valor medido, estimando la exactitud de nuestra medición. En un vaso plástico de medida se agregan 0.05ml de solución fisiológica, cuya concentración de cloruro es 54mg/l y 5ml de agua destilada. A esto añadirle 3 gotas de K_2CrO_4 . Agregar agitador magnético para facilitar y agilizar el proceso de cambio de coloración. Titular con AgNO_3 utilizando la bomba de infusión hasta viraje a color rojo ladrillo. Con la

MEDICIÓN DE CLORURO EN AGUA

cantidad de pasos indicada por el visor de la bomba podemos estimar el volumen de nitrato de plata añadido.

3- Análisis de recuperación o adición: Este análisis se realiza con el objetivo de detectar posibles interferencias en las mediciones, que podrían no expresarse en el Control de calidad mencionado anteriormente. Para ello debemos seleccionar una muestra de agua al azar de la tanda que mediremos. A dicha muestra se le coloca un volumen conocido de una solución con concentración de cloruro conocida. Se la procesa como cualquier otra muestra y posteriormente se la compara con la muestra medida sin adición. Esto nos permitirá saber cuánto cloruro hemos recuperado en la medición, de la sustancia adicionada previamente.

4- Procesamiento de las muestras: Colocar 5ml de la muestra de agua en un vaso plástico de medida. Ajustar el pH entre 7.0 a 8.3: añadir 2 gotas de Na₂CO₃ 0.1M, añadir 2 gotas de fenolftaleína (0.25%), con las que tiene que producirse un color rosa. Luego añadir gotas de H₂SO₄ 0.05M necesarias hasta que vire a incoloro. De esta manera garantizamos el pH en el valor adecuado para la determinación. Agregar 3 gotas K₂CrO₄ al 5 % (indicador). Agregar agitador magnético para facilitar y agilizar el proceso de cambio de coloración. Agregar AgNO₃ 0.01M con la bomba de infusión hasta el viraje de amarillo a rojo ladrillo. Cuando el color rojo persiste, detener la infusión con el botón stop. Registrar el valor indicado en el display, al que llamamos M1. Este nos permite conocer cuantos ml de nitrato de plata hemos colocado.

$$Cl\text{meq/litro} = \frac{\text{molaridad AgNO}_3 * M 1 * \text{pasos} * 1000}{ml\text{ muestra}}$$

Precauciones

La determinación utiliza material volumétrico y drogas potencialmente tóxicas. Utilice guantes, lentes y propipetas. Evite mancharse con nitrato de plata ya que da manchas muy difíciles de eliminar. No se asuste si se mancha la piel y esta se pone negra, no tiene consecuencias sobre la salud.

Controle el valor del pH de la titulación ya que es determinante en la exactitud y precisión de la medición. En la determinación, se trabajará con el peso de las soluciones que tiene menos error que la medida de volúmenes.

ANÁLISIS DE SUELOS

Gratarola A - Perini E

Introducción

El suelo, es un cuerpo natural que comprende a sólidos, líquidos y gases que ocurren en la superficie de las tierras, ocupan un espacio y se caracteriza por horizontes o capas que se distinguen como resultado de adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de energía y materia o por la habilidad de soportar plantas en un ambiente natural. La calidad del suelo, se define en términos de productividad, específicamente, en relación a la capacidad de sostener el crecimiento de los vegetales sin que esto resulte en la degradación del suelo o en un daño ambiental. Para ello, se deben identificar y evaluar indicadores de calidad de suelos. En el suelo se puede describir las siguientes capas u horizontes (Figura 1)

Horizonte O: Capa orgánica. (Hasta 6 cm)

Horizonte A: Capa de lavado. Capa superficial del suelo. (Hasta 26 cm)

Horizonte B: Capa de acumulación, materiales lixiviados. (Hasta 76 cm)

Horizonte C: Capa no consolidada, material madre. (Hasta 122 cm)

Horizonte R: roca madre.

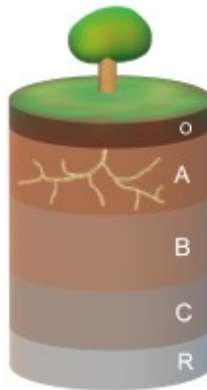


Figura 1

El análisis de ciertos componentes químicos de los suelos son de interés en estudios de crecimiento de cultivos y procesos que pueden llevar a contaminación ambiental. En éste capítulo describiremos cómo es el ingreso de las muestras, la preparación de las mismas, la determinación de humedad, sólidos totales, sólidos volátiles, pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, fosfato y nitrógeno total en muestras de

suelos, incluyendo técnicas gravimétricas, potenciométricas y conductimétricas, descritas en capítulos anteriores.

Ingreso de la muestra

Las muestras de tierra ingresan al laboratorio en bolsas de nylon cerradas herméticamente y rotuladas. Es recomendable mantenerlas refrigeradas hasta el comienzo de los análisis para que conserve la humedad y evitar cambios microbiológicos que puedan alterar el contenido de componentes. Utilizando el software GEA 1.0 introducimos los datos identificatorios de las muestras: nombre, ubicación, fecha de toma de muestra y profundidad. GEA 1.0 a su vez genera un código compuesto por una letra T y un número correlativo (ej. T85), que se le asigna a la muestra y que se utiliza para el procesamiento posterior.

Preparación de muestra

En primer lugar se seca la muestra a 40°C para favorecer su conservación, evitando el crecimiento de hongos y microorganismos. En esta etapa se registra el peso de muestra recibido. Es una técnica gravimétrica que tiene como objetivo homogeneizar la muestra para poder ser utilizada en los análisis químicos y físicos posteriores.

Procedimiento

En todos los casos que se realicen pesadas, hacerlo con un error menor al 0.1%. En el procedimiento siguiente se indica entre paréntesis el nombre que se asigna a la medición realizada en cada paso.

- 1- Colocar numeración indicada por el software en el rótulo.
- 2- Pesar la bolsa de nylon vacía donde llegó la muestra (cont).
- 3- Pesar la tierra húmeda en su contenedor original (m).
- 4- Llevar la muestra húmeda en dicha bolsa de nylon abierta a estufa a 40° C durante 48 h. Tiempo suficiente para que alcance un peso constante.
- 5- Sacar de la estufa, dejar enfriar hasta que tome temperatura ambiente.
- 6- Pesar nuevamente la muestra (a).
- 7- Moler la muestra en un mortero hasta que quede uniforme.
- 8- Volver a colocar en la bolsa de nylon con cierre hermético y rótulo claro. Detalle de las mediciones realizadas:

m: masa de muestra húmeda + cont

a: masa de muestra secada a 40° C + cont

cont: bolsa de nylon en la que la muestra es remitida al laboratorio.

Cálculos y registro datos. Con los valores medidos se realizan los siguientes cálculos

M: masa de muestra húmeda: $m - cont$

A: masa de suelo a 40° C: $a - cont$

Los datos obtenidos se deben ir registrando como en todo trabajo en un soporte papel para luego cargarlos en GEA 1.0, el que realizará los cálculos pertinentes.

Medida de agua y sólidos totales

Una porción de la muestra de suelo seca a 40°C se colocará a 105° C hasta masa constante. Así asumimos por medio de una técnica gravimétrica, que la pérdida de masa perdida de la muestra de suelo es agua. La fracción remanente corresponde al contenido de sólidos totales y la fracción evaporada, al contenido de agua.

Procedimiento

En todos los casos que se realicen pesadas, hacerlo con un error menor al 0.01%. El proceso se lleva a cabo en crisoles de porcelana, debido al tratamiento a alta temperatura. En el procedimiento siguiente se indica entre paréntesis el nombre que se asigna a la medición realizada en cada paso.

- 1- Registrar número correspondiente del crisol. A éstos no se los rotula, ya que el calor lo puede borrar.
- 2- Colocar un crisol en estufa a 105°C durante 10min, con el fin de eliminar vestigios de humedad que pudieran tener.
- 3- Dejar enfriar y pesar el crisol (cont).
- 4- Colocar 20g de tierra que ha sido previamente secada a 40°C en el crisol y pesar nuevamente todo junto (b).
- 5- Colocar el crisol con la tierra en la estufa y secar a 105°C durante 90min.
- 6- Retirar de la estufa, dejar enfriar hasta que se pueda manipular y pesar (c).
- 7- Guardar el residuo obtenido a 105°C en una bolsa de nylon con buen cierre y rotularlo con el código correspondiente a la muestra.

Detalle de las mediciones realizadas:

b: masa de muestra a 40°C + cont

c: masa de muestra a 105°C + cont

cont: masa del crisol

Cálculos y registro datos

B: muestra a 40°C: b - cont

C: muestra a 105°C: c - cont

Los datos obtenidos se deben ir registrando en el cuaderno correspondiente a “tierra” del laboratorio, para luego, cargarlos en GEA 1.0. Donde dicho software realizará los cálculos pertinentes para el porcentaje de agua y de sólidos totales.

Medición de sólidos volátiles

Los sólidos volátiles son partes del suelo que se desprenden por el tratamiento a elevada temperatura. Están compuestos predominantemente por materia orgánica y carbonatos, los cuales se eliminan exponiéndolos a altas temperaturas. En esta determinación gravimétrica debemos tener principalmente cuidado con el horno de calcinación o mufla, ya que la temperatura que utilizamos para calcinar son 550° C.

Procedimiento

En todos los casos que se realicen pesadas, hacerlo con un error menor al 0.01%. En el procedimiento se utilizan crisoles de porcelana. En el procedimiento siguiente se indica entre paréntesis el nombre que se asigna a la medición realizada en cada paso.

- 1- Registrar número correspondiente del crisol. Recuerde que no se lo rotula, debido a que se borra por la elevada temperatura.
- 2- Colocar el crisol a 105°C durante 10min, para eliminar vestigios de humedad.
- 3- Dejar enfriar hasta poder manipular y obtener el peso (cont).
- 4- Colocar 10g de suelo que ha sido secado previamente 105°C en el crisol y volver a pesar (e).
- 5- Llevar a calcinar en la mufla a 550°C durante 6 h. Para ello se utiliza un temporizador que permite programar el tiempo de encendido y apagado.
- 6- Sacar de la mufla con cuidado y dejar enfriar a temperatura ambiente, luego pesar (f). Detalle de las mediciones realizadas:

e: masa de muestra a 105°C + cont

f: masa de muestra a 550°C + cont

cont: masa del crisol

Cálculos y registro datos

E: muestra a 105°C: e - cont

F: muestra a 550° C: f - cont

Los datos obtenidos se deben ir registrando en el cuaderno correspondiente a “tierra” del laboratorio, para luego, cargarlos en GEA 1.0. Donde dicho software realiza los cálculos pertinentes para el porcentaje de sólidos volátiles.

Medición de pH y conductividad eléctrica

Al no poder medir pH y conductividad directamente sobre la muestra, tenemos que preparar una suspensión de la muestra de tierra en agua destilada. En cuanto a las determinaciones se realizan directamente en el sobrenadante con sus respectivos equipos, como se explican en los capítulos de conductimetría y potenciometría.

Procedimiento para preparar la suspensión

En todos los casos que se realicen pesadas, hacerlo con un error menor al 0.01%, siguiendo los pasos indicados a continuación:

- 1-Rotular un tubo de centrifuga de 15 ml.
- 2- Pesar 2.5g de suelo a 40°C en el tubo de centrifuga.
- 3- Agregar 12.5ml de agua destilada a temperatura ambiente.
- 4- Agitar en agitador durante 5 min.
- 5- Pesar los tubos y equilibrar los mismos con tubos de igual peso antes de usar la centrifuga.
- 6- Centrifugar los tubos durante 10min a máxima velocidad.
- 7- Medir pH y conductividad en el sobrenadante, como se explica en los capítulos de potenciometría y conductimetría.

Registro de datos

Los datos obtenidos se deben ir registrando en el cuaderno correspondiente a “tierra” del laboratorio, para luego, cargarlos en GEA 1.0.

Medición de materia orgánica

Para medir materia orgánica primero debemos detectar la presencia de carbonatos en la muestra de suelo. Si la muestra no tiene carbonato es el porcentaje de materia orgánica corresponde al porcentaje de sólidos volátiles a 550°C.

Para detectar la presencia de carbonato debemos agregar una gota de HCl 4mol/l sobre una pequeña alícuota de muestra seca a 40°C, la liberación de dióxido de carbono indica presencia de carbonatos. Lo que hacemos en el laboratorio es colocar con una espátula una pequeña cantidad de la muestra sobre una superficie plástica y luego agregamos una gota de HCl mientras observamos si se producen cambios en la muestra con una lupa. Como verán, en este paso es muy importante el ojo del investigador, ya que será nuestra herramienta de trabajo.

Materia orgánica en ausencia de carbonato

En ausencia de carbonato, las muestras secadas a $40\pm 2^\circ\text{C}$ se calcinan a 550°C. Se asume que el material volatilizado es la fracción orgánica o como dijimos anteriormente, el porcentaje de materia orgánica corresponde al porcentaje de sólidos volátiles a 550°C.

Materia orgánica en presencia de carbonato

Seguir los pasos indicados a continuación

1- Colocar un crisol en estufa a 105°C por 10min, dejarlo enfriar y pesarlo: (cont)

2- Colocar en el crisol aproximadamente 10g de suelo seco a 105°C y pesar el conjunto (g).

3- Agregar HCl 4mol/l hasta que cese el burbujeo luego secar a 105°C por 4h.

4- Enfriar en desecador y tomar el peso seco: h (tierra + cont).

5- Luego colocar a 550°C 4h, dejar enfriar y pesar (i).

Detalle de las mediciones

g: peso tierra seca a 105°C + cont

h: peso tierra luego de tratamiento con HCl y seca a 105°C + cont

i: peso tierra calcinada + cont

G= muestras seca a 105°C. g - cont

H= muestra tratada con HCl y seca a 105°C - cont

I= muestra tratada con HCl, seca a 105 y finalmente calcinada: i – cont

Cálculos y registro datos

Los datos deben quedar registrados en el “cuaderno de suelos” del laboratorio y posteriormente se pasan en limpio en una planilla.

H - I: materia orgánica, contenida en masa de tierra G seca a 105°C.

Medida de fósforo disponible en suelo (método de bray)

El método es rápido para estimar las formas de fósforo en disponible para plantas. En resumen, el método conocido como Bray 1 se trata de una extracción con una solución mezcla de NH_4F 0,03N y HCL 0,025N, que se basa en el efecto solubilizador del H^+ sobre el P del suelo y la capacidad del ión F de bajar la actividad del Al^{+3} evitando la reabsorción de los fosfatos en el sistema de extracción.

Valor de P en suelos: 33-94 mg P/kg.

Algunos detalles:

El tubo de extracción puede ser de plástico, dejando un 50% libre para que la agitación permite el mezclado entre suelo y solución.

El extracto se centrifuga a 5000 rpm con mejores resultados que filtrando.

El desarrollo de color se hace con el método de Murphy y Riley. El mejor desarrollo de color se logra con una molaridad de ácido sulfúrico entre 0,17-0,28. Con esa molaridad se logra buena estabilidad del color para concentraciones de P de 0,2-1,1 mg/l.

La ley de Beer se cumple hasta 0,84 mg P/L.

La lectura de la absorbancia del azul de molibdeno se hace a 660nm.

Preparación de solución extractiva (500ml)

HCL 0.025 N (preparación a partir de HCL 36% P/V d: 1,18g/ml)

1000 ml ____ 0.025ml

500 ml ____ x=0.0125 mol

1 ml HCL ____ 36.5 g

0.0125 ml ____ x=0.456g

56 g HCL ____ 100 g

0.456 g ____ x=0.81 g

1.18 g ____ 1 ml

0.81 g ____ x=0.69 ml HCL concentrado

NaF 0.03 mol/l

1000 ml ____ 0.03 ml

500 ml ____ x=0.015 mol

0.244 mol ____ 1000 ml

0.015 mol ____ x=61.5 ml NaF 0.244 M

Reactivo I: En una probeta de 100 ml disolver 2.5 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 50 mL de agua destilada. Agregar lentamente y con agitación 28 mL H_2SO_4 concentrado,

ANÁLISIS DE SUELOS

evitando el calentamiento excesivo de la solución. Agregar agua csp 100 ml.

Reactivo II: Disolver 0.25 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + glicerol csp 10 mL. Calentar si es necesario a baño maría hasta disolución. El reactivo es estable.

Solución testigo stock
solución de 100 mg de PO_4^{3-} /litro
0.0143 g de KH_2PO_4 , peso molecular: 136,05
agua csp 100 ml

Soluciones standard
a partir del testigo stock preparar por dilución con agua destilada
Testigo 1: 0,1 mg/L
Testigo 2: 0,5 mg/L
Testigo 3: 1 mg/L
Testigo 4: 5 mg/L

QC: 2,4 mg PO_4^{3-} /L
diluir QC stock 100 veces
1 ml QC stock
aforar con agua destilada a 100 ml.

Limpieza del material

Realice las reacciones en tubos Khan de uso exclusivo, lavados previamente con HCL y enjuagado 10 veces con agua de canilla y 10 con destilada.

Procedimiento

- 1- Colocar 0,5 g de suelo seco a 150°C en tubo de plástico de 50 ml con tapa y 4 ml de solución extractiva.
- 2- Agitando vigorosamente por 5 minutos.
- 3- Centrifugar a 5000 rpm.
- 4- Con el sobrenadante aplicar el protocolo siguiente.
- 5- Sacar con antelación de la heladera para que tomen temperatura los reactivos. Para la determinación utilizar cubeta de 3 mL.
- 6- Organizar muestras y tubos , enumerando estos últimos.
- 7- Comprobar que la cantidad de reactivo es suficiente para las determinaciones a realizarse.
- 8- Diluir el reactivo II en cantidad suficiente para el número de muestras.
- 9- Cargar los tubos según el siguiente protocolo.

ANÁLISIS DE SUELOS

	(PO ₄) mg/l= ppm	agua destilada ul	testigos y QC ul	ml sobrenadante	ml reactivo I	ml reactivo II diluido 1/10	incubar a T ambiente 10-20 min	medir % T 690 nm
Blanco	0	2000			80	100	si	
T1	0,1	-	2000		80	100	si	
T2	0,5	-	2000		80	100	si	
T3	1	-	2000		80	100	si	
T4	5	-	2000		80	100	si	
Muestra	??	-	-	2000	80	100	si	
Muestra- adición		150		1850	80	100	si	
Muestra + adición	150 (de T4)			1850	80	100	si	
QC			2		80	100	si	

10- Medir % T en espectrofotómetro Turner.

11- Encender el espectrofotómetro con la llave on-off.

12- Colocar un tubo de Khan con 2 ml de agua destilada en el receptáculo y tapar.

13- Oprimir el botón “Press for Zero set” y simultáneamente con la perilla “Zero” llevar a 0% de transmitancia.

14- Sin oprimir el botón “Press for Zero set” ajustar a 100% de T con perilla 100% T.

15- Retirar el tubo con agua.

16- Colocar uno tras otro, los tubos en el receptáculo de medida, tapar, medir y registrar %T.

17- Tapar con funda.

18- Cargar datos de transmitancia en GEA 2.0.

Valores de referencia

bajo: < 20ppm

medio: 20-40 ppm

alto:40-400 ppm

muy alto: >100ppm

Medida de nitrógeno total por método de Kjeldahl

Según bibliografía los valores de nitrógeno en tierra pueden estar en valores como 37-50 kg/hectárea y se agrega en algunos casos úrea hasta 400 kg N/havii . En el mismo trabajo se describen contenidos de nitrógeno en plantas de alrededor de 10 mg de N/g de biomasa.

Principio de la técnica: In the presence of H_2SO_4 , potassium sulfate (K_2SO_4), and cupric sulfate ($CuSO_4$) catalyst, amino nitrogen of many organic materials is converted to ammonium. Free ammonia also is converted to ammonium.

El método determina nitrógeno orgánico más amonio (Nitrógeno con n° oxidación-3). La técnica micro y semimicro utilizan muestras que contengan 0,2-2 mg de N.

Interferencias:

Nitrato si está en alta concentración puede oxidar el amonio a N_2O , error por defecto.

Si hay mucha materia orgánica puede reducirse a amonio: error por exceso.

Temperatura superior a 400 °C puede producir pérdidas de nitrógeno.

El exceso de materia orgánica puede producir aumento de temperatura arriba de 400 °C.

PROTOCOLO

1- Colocar en el tubo de ensayo aproximadamente 0,01 g de tierra secada previamente a 105 °C (la muestra debe contener entre 0,2-2 mg de N)

2- Agregar 1 ml de reactivo de Kjeldahl 2. (las muestras se dejan en frío)

3- Prender extractor..

4-Conectar el equipo al dimmer y el dimmer a la red.

5- Con pinza amperométrica, colocar perilla central en A~200.

6- Con pinza amperométrica agarrar cable suelto.

7- Prendo perilla del lado a usar en el micro Kjeldahl.

ANÁLISIS DE SUELOS

- 8- Con perilla del dimmer bajo hasta los A que quiero utilizar (si usa las dos resistencias se pone el doble de A).
- 9- Colocar tubos en micro Kjeldahl a 0.8 A/calentador 2 hs hasta que se observen humos blancos. Debe evaporarse toda el agua.
- 10- En 1 A/calentador por 60 min.
- 11- En 1,5 A/calentador por 60 min.
- 12- Calentar hasta que la solución final debe ser límpida con coloración verde, sin restos de materia carbonizada, en el tubo o la solución.
- 13- Dejar enfriar hasta que el contenido del tubo quede sólido a T ambiente.
- 14- Agregar 1 ml de agua destilada

ANÁLISIS DE SUELOS

- 15- Colocar en la placa de calentamiento a 0,5 A/calentador. Controlar que no hierva y calentar hasta que se disuelva el contenido (aproximadamente 1-2 min)
- 16- Dejar enfriar y trasvasar el contenido a un eppendorf, enjuagar en 100 ul de agua y trasvasar hasta llegar a 1, 5 ml en el eppendorf .
- 17- En el caso que no se hubiera alcanzado el valor 1,5 ml en eppendorf agregar agua destilada hasta llegar a 1,5 ml. Tapar y guardar para medir N por método de Nessler 3, llamaremos a esta solución “muestra”.
- 18- Como testigo para la reacción de Nessler se utiliza solución stock de amonio 4 .Esta solución 1000 mg N/L se diluye a 100 mg N/L y así se utiliza (llamaremos a esta solución “stock diluido”).
- 19- Reacción de color para medida espectrofotometrica.
- 20- Siga punto 21 y 23 dependiendo del espectrofotómetro a utilizar.
- 21- Para espectrofotómetros que utilizan cubetas de 1 ml. La tabla siguiente muestra los volúmenes utilizados para realizar medición.

tubo	ul stock diluido o ul muestra	ul agua destilada	ul Rvo de Nessler 5	mg N en cada tubo	incubar TA 30 min	Abs 412 nm
B	0	1000	40	0	si	
T1	10	990	40	0,001	si	
T2	20	980	40	0,002	si	
T3	50	950	40	0,005	si	
T4	100	900	40	0,010	si	
muestra 1	200	800	40	?	si	
muestra 2	200	800	40	?	si	
QC	50	950	40	-	si	

- 22- Prender espectrofotómetro. Seguir procedimiento de medida para el equipo utilizado.
- 23- Protocolo para el lector de policubetas Raito. Cargue los estándares, muestras y QC siguiendo cada línea del 1-12. Haga un protocolo para saber con precisión que solución tiene cada posillo.

ANÁLISIS DE SUELOS

tubo	ul stock diluido o ul muestra	ul muestra destilada	ul Rvo de Nessler	mg N en cada tubo	agitar	incubar TA 30 min	Abs 412 nm
B	0	250	10	0	si	si	
T1	5	245	10	0,0005	si	si	
T2	12,5	237,5	10	0,00125	si	si	
T3	25	225	10	0,0025	si	si	
QC	12,5	237,5	10	-	si	si	
muestra	50	200	10	?	si	si	

24- Pasado los 30 min encienda el Raito.

25- Elija test.

26-Elija new: Nessler

27-Marque los posillos que contienen muestras, estándares y qc.

28-Oprima start.

29- Oprima print.

30- Pase los datos de gramos de tierra colocados en cada tubo, la identificación de las muestras, la absorbancia y los volúmenes utilizados a la planilla POE98.TKN.ods de control de calidad.

31- Esta planilla calculará automáticamente los valores.

Fórmulas de cálculo. La siguiente fórmula arroja el valor en mg N/Kg de tierra a 40 °C.

$$\text{mg N/Kg tierra a } 40\text{ °C} = \frac{\text{Abs muestra } 412\text{ nm} * 10000}{\text{g tierra en tubo} * \text{pendiente} * \text{volúmen muestra}}$$

La solución QC utilizada tiene 50 mg/L de nitrógeno, donde “g de tierra en tubo”, es la cantidad de tierra pesada en gramos, colocada en la micro Kejl Dahl.

Valores de referencia:

Muy alto: $>1\%$

Alto: $0,5-1\%$

Medio: $0,2-0,5\%$

Bajo: $0,1-0,2\%$

Muy bajo: $<0,1\%$

ELABORACIÓN Y ANÁLISIS DE COMPOST

Trajtenberg I

El compost es un producto obtenido a partir de diferentes materiales de origen orgánico, los cuales son sometidos a un proceso biológico controlado de oxidación denominado compostaje. Posee un aspecto terroso, libre de olores y de patógenos, es empleado como abono y como sustituto parcial o total de fertilizantes químicos.

En este capítulo vamos a describir cómo se elabora el compost a escala de laboratorio, y cómo se realiza el procesamiento del mismo para obtener datos.

El objetivo del análisis es evaluar el descenso de peso del sistema en estudio como consecuencia del proceso de compostaje. El material se trabaja a distintas temperaturas, y recibe aditivos que ayudan en el proceso de compostaje. Para ello, el compost es sometido a:

1- Temperaturas de 24° o 28°

2- Aditivos:

- ◆ Sin agregados
- ◆ Leche
- ◆ Juego de naranja
- ◆ Leche + kéfir
- ◆ Juego de naranja + kefir

Hoy en día se sabe que la utilización de fertilizantes químicos puede repercutir en la salud de las personas. Al implementarlos, estamos expuestos a estas sustancias químicas, que a través de distintas vías (vía cutánea-mucosa, vía oral, y vía respiratoria) pueden ingresar a nuestro organismo y producir efectos adversos y/o intoxicaciones, algunas de ellas mortales.

Desde el CUEM queremos proponer y difundir que cada uno en sus casas pueda elaborar su propio compost y utilizarlo como fertilizante natural. La producción de compost es una manera fácil y sencilla que con pocos materiales y espacio se puede realizar.

La idea de la producción de compost como solución a problemática socioambiental supone una manera de procesamiento de los residuos sólidos orgánicos. De esta forma, podremos aprovechar las propiedades naturales de los residuos orgánicos. A su vez, además de separar los residuos orgánicos de los residuos inorgánicos, estaríamos colaborando con el sistema de recolección de residuos sólidos disminuyendo notablemente la cantidad de residuos que hoy en día es botada desde nuestra casa.

Elaboración y análisis de compost

En el CUEM, el compost se prepara con: restos de frutas y verduras, yerba usada, cáscara de huevos, y papel de servilleta. Denominamos “basura” al conjunto de todos estos elementos.

La basura es cortada en tamaño uniforme, y posteriormente se mezcla. De esto vamos a obtener el “Lote”. Cada Lote está formado por una mezcla homogénea de basura. Al recolectar nuevamente basura, y homogenizarla, estamos armando otro Lote. Es decir que

cada Lote se conforma por proporciones distintas de basura obtenida en días diferentes. Cada Lote que se obtiene es pesado y, la basura, es distribuida en distintos frascos de vidrio en una cantidad aproximada de 100g a 200g. Es importante destacar, que una proporción de basura de cada Lote es almacenado en el freezer con el fin de tener material de respaldo frente a cualquier inconveniente.

Los frascos de vidrio son previamente pesados antes de colocarle la muestra, y son nuevamente pesados con el agregado de la muestra. Cada registro de peso se documenta en el Libro de Compost, para posteriormente ser cargado al Software diseñado para el análisis de estos datos, al que se lo llamó COMPOST. Se trata de un software de diseño del CUEM, en el entorno R.

Tratamiento del compost

A las alícuotas del Lote, distribuidas en los frascos se le agregan los aditivos mencionados anteriormente. Nos hacemos algunas preguntas al respecto:

1- ¿Cuánto de aditivo se agrega? El agregado dependerá de la cantidad de basura con la que se trabaje. En general el agregado es de 2.5 a 10ml.

2- ¿Cuándo se le agregan los aditivos? Se le agregan una única vez a cada frasco el día en que se inicia el experimento, al que llamamos día 0.

Cada tipo de aditivos es agregado en dos frascos de muestra del mismo Lote. Por un lapso de 60 días, los frascos con la basura y los agregados, se mantienen a temperaturas de 24-28°C a los que se aplican operaciones que se detallan a continuación

Obtención y procesamiento de datos

Cada 15 días, los frascos son pesados para comparar y evaluar la pérdida de peso. Además, obtenemos una muestra de cada frasco para posteriormente ser sometida a distintos procedimientos.

La muestra es guardada en tubos plásticos y posteriormente serán utilizadas para la medición de sólidos volátiles, nitrógeno, pH y conductividad. Estas mediciones se realizan utilizando la misma metodología que la utilizada para el análisis de suelos, descritas en este mismo libro.

La información es cargada en la base de datos a través del software COMPOST, que se encarga de procesar los datos y brindarnos los resultados.

FUNDAMENTOS

TEÓRICO - PRÁCTICOS

PARA AUXILIARES DE LABORATORIO

El laboratorio de investigaciones biológicas requiere de conocimientos generales, concretos y precisos que, a la hora de la realización de tareas, garanticen un resultado confiable.

Si bien la adquisición de estos conocimientos está garantizada por diversas carreras universitarias, la capacitación es necesaria para personas que no han cursado las mencionadas carreras o están en sus inicios.

Los años de trabajo en un laboratorio, los errores sistemáticos y aleatorios y, desafortunadamente, los accidentes, equivocaciones y sesgos no hacen más que corroborar y fundamentar la necesidad de la capacitación en conceptos básicos de investigación.

ISBN 978-987-86-8796-4



cuem_unr



@estudiosmedioambientales



arigalli@unr.edu.ar