APARTADO I

ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL p-NITROFENOL, CURVA DE CALIBRADO Y DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE p- NITROFENOL DE UNA SOLUCIÓN PROBLEMA

(J. Antonio Bárcena, Nieves Abril, Jesús Jorrin)

3(I). PROTOCOLO A REALIZAR

3(I).1. Obtención del espectro de absorción del p-nitrofenol

1. Paso primero:

- A 2,5 mL de una solución de *p*-nitrofenol 0,20 mM añadirle 1 mL de una solución de NaOH 0,5 N y 1,5 mL de agua destilada. Mezclar bien y utilizar para la determinación del espectro de absorción del *p*-nitrofenol. Como blanco utilizar una mezcla con 1 mL de NaOH 0,5 N y 4 mL de agua destilada.

2. Paso segundo:

- Conectar el espectrofotómetro y, mediante el selector de longitud de onda, seleccionar 350 nm.
- Ajustar el espectrofotómetro a 100 de transmitancia y 0 de absorbancia con la celdilla portamuestras vacía.
- Poner la cubeta con el blanco en la celdilla portamuestras del espectrofotómetro y, mediante el botón de ajuste del cero, ajustar el valor de absorbancia a cero.
- Introducir la cubeta con la muestra en la celdilla de la muestra y leer el valor de absorbancia.
 - Repetir la operación a valores de λ superiores (cada 20 nm y hasta 450 nm).
 - Para cada longitud de onda ajustar a cero de absorbancia con el blanco.

3(I).2. Curva de calibrado del p-nitrofenol

1. Paso primero: a partir de la solución de *p*-nitrofenol 0,20 mM preparar las diluciones que se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Preparación de una gama de soluciones patrón de p-nitrofenol (p-NP)

TUBO	0	1	2	3	4	5	6
p-nitrofenol 0,20 mM (mL)	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	3,0	3,0
Agua destilada (mL)	5,0	19,0	9,0	4,0	3,0	3,0	0,0
Concentración de p-NP (μM)	0	10	20	40	50	100	200

2. Paso segundo: de cada una de las diluciones tomar 2,5 mL, añadirle 1 mL de NaOH 0,5 N y 1,5 mL de agua destilada.

3. Paso tercero: determinar la absorbancia de las diferentes concentraciones al valor de λ_{max} determinado en el apartado anterior, empleando el mismo blanco que en el punto anterior.

3(I).3. Determinación de la concentración de *p*-nitrofenol de una solución problema

- **1.** Paso primero: una vez obtenida la curva de calibrado, determinar la concentración de una solución de *p*-nitrofenol. Para ello, mezclar en un tubo 2,5 mL de la solución problema con 1 mL de NaOH 0,5 N y 1,5 mL de agua destilada.
- **2.** Paso segundo: medir la absorbancia a la misma longitud de onda utilizada para obtener la curva de calibrado.
- **3.** Paso tercero: a partir del valor de absorbancia y el ϵ_M obtenido, calcular la concentración de la solución problema.

4(I). RESULTADOS Y DISCUSION

- 1. A partir de los valores de absorbancia del *p*-nitrofenol a diferentes longitudes de onda, representar gráficamente el espectro de absorción. Indicar en qué rango de λ absorbe el compuesto y cuál es el valor de λ_{max} .
- 2. Representar gráficamente los valores de absorbancia de las soluciones de diferente concentración del p-nitrofenol a λ_{max} frente a la concentración del compuesto. Indicar en qué rango de concentración se cumple la ley de Lambert-Beer. Calcular el valor del coeficiente de extinción molar.
- 3. A partir del valor del coeficiente de extinción molar, calcular la concentración de una solución problema de *p*-nitrofenol.

5(I). DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

Discutir los valores presentados y dar una explicación que justifique el por qué los ensayos colorimétricos del p-NP se llevan a cabo en NaOH.