



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

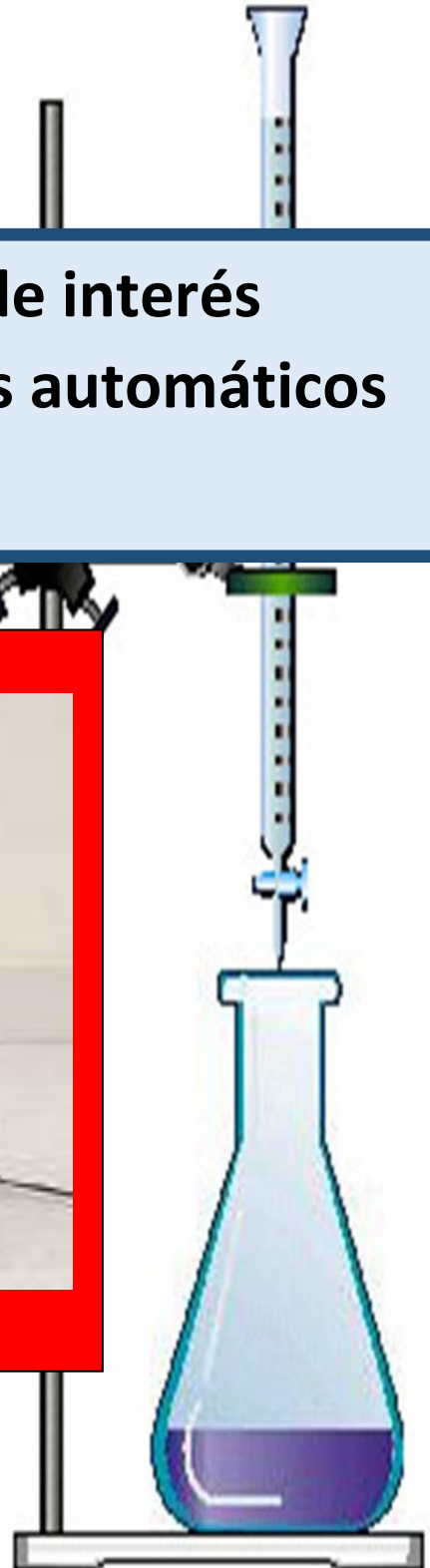
Facultad de Farmacia



Análisis volumétrico de interés farmacéutico: Valoradores automáticos



Pilar Martínez Pérez





FACULTAD DE FARMACIA

Grado en farmacia

Trabajo Fin de Grado

Análisis volumétrico de interés farmacéutico: Valoradores automáticos

Alumna: Pilar Martínez Pérez

Tutora: Dolores Hernanz Vila

Departamento de Química analítica

Tipología del proyecto: Revisión bibliográfica

Sevilla, 3 de Julio del 2017

RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 <i>Definición de análisis volumétrico</i>	5
1.2 <i>Tipos de valoraciones</i>	7
1.3 <i>Características del análisis volumétrico</i>	9
1.4 <i>Materiales necesarios para llevar a cabo una valoración</i>	10
1.5 <i>Reacciones químicas</i>	13
1.6 <i>Valoradores automáticos</i>	14
2. OBJETIVOS	17
3. METODOLOGÍA	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
4.1 <i>Valoraciones acido-base</i>	19
4.2 <i>Valoraciones de oxidación-reducción</i>	23
4.3. <i>Valoraciones de precipitación</i>	26
4.4 <i>Valoraciones de formación de complejos</i>	27
5. CONCLUSIÓN	30
6. BIBLIOGRAFÍA	31

RESUMEN

Las valoraciones son ampliamente utilizadas en química analítica para la determinación de ácidos, bases, oxidante, reductores, iones metálicos y muchas otras especies. Se basan en una reacción entre el analito y un reactivo patrón, conocido como valorante, esta reacción tiene una estequiometría conocida y reproducible. En una valoración se determina el volumen del valorante necesario para reaccionar de manera completa con el analito y se emplea dicho volumen para conocer la cantidad de analito.

En todas las valoraciones, el punto de equivalencia química, denominado experimentalmente punto final, se detecta por el cambio de color de un indicador o un cambio en la respuesta del instrumento. La diferencia entre el punto final y el punto de equivalencia es el error de valoración.

La validez del resultado de los métodos volumétricos depende de que se sepa la concentración de la disolución valorante. Esta concentración se conoce si se prepara disolviendo una cantidad conocida de reactivo puro, llamado patrón primario. En el caso de no disponer de patrón primario, se prepara la disolución con una concentración aproximada a la deseada y se valora con un patrón primario. Este procedimiento, donde se determina la concentración del valorante destinado a un análisis, se conoce como estandarización y al valorante disolución estándar.

Los métodos volumétricos se clasifican atendiendo al procedimiento en valoración directa, por retroceso o indirecta, y atendiendo a la forma de realizarse en valoración manual o clásica y automatizada. Para realizar una valoración automatizada se necesitan accesorios adecuados que puedan llevar a cabo automáticamente la adición de la disolución valorada y la determinación del punto final de una volumetría. Las valoraciones automáticas son más precisas y tienen mayor rendimiento en comparación con la valoración manual.

Se han revisado valoraciones aplicadas en el ámbito de la farmacia, como la determinación de ácido fosfórico, nitrógeno, ácido ascórbico, cloruro y humedad en distintas muestras, y así comprender la importancia y la utilidad de los métodos volumétricos.

Palabras clave: Valoración, valorante, valoradores automáticos, indicadores.

1. INTRODUCCIÓN

Los métodos volumétricos constituyen junto con los gravimétricos el llamado análisis clásico. Desde un punto de vista histórico, la mayoría de los primeros métodos analíticos fueron gravimétricos (se determina mediante pesada de la masa de analito o de algún compuesto relacionado) y volumétricos (se mide el volumen de una disolución que contiene suficiente reactivo para reaccionar completamente con el analito), por lo que estos suelen denominarse métodos clásicos de análisis. Los métodos basados en medidas de las propiedades ópticas, eléctricas, térmicas o de otro tipo, se desarrollaron más tarde y se suelen denominar métodos instrumentales.

Los métodos clásicos están basados, fundamentalmente, en una reacción química en disolución (métodos químicos), por lo que son básicamente métodos por vía húmeda, que obligan a la disolución de la muestra.

1.1 Definición de análisis volumétrico

Connors (1981) define valoración a la operación experimental básica realizada en el análisis volumétrico. En una valoración, una disolución de un reactivo de concentración conocida, denominado valorante, se añade a un segundo reactivo, la disolución de la muestra cuya cantidad o concentración se va a determinar, hasta que se ha completado la reacción, es decir, hasta que la cantidad de valorante añadido equivale químicamente a la cantidad de muestra. A este estado de equivalencia se conoce como punto de equivalencia de la valoración y su estimación experimental, como punto final de la valoración.

Otros autores definen valoración o titulación como la determinación de la cantidad de una sustancia específica (analito) contenida en una muestra mediante la adición controlada de un reactivo (valorante) con una concentración conocida (Christian, 2013) o como el proceso en el que se agrega un reactivo patrón a una disolución de analito hasta que se considera completa la reacción entre el analito y el reactivo (Skoog et al., 2005)

Esta técnica analítica se basa en la reacción química completa entre la sustancia y el reactivo. El valorante se añade hasta que la reacción haya finalizado. Con el fin de determinar el final de la valoración, la reacción debe controlarse por medio de una

técnica adecuada. La medición del volumen del valorante dosificado permite calcular el contenido de analito mediante la estequiometría de la reacción química.

Un ejemplo conocido es la valoración de la acidez total del vinagre con hidróxido de sodio. El vinagre es el líquido apto para el consumo humano resultante de la doble fermentación alcohólica y acética de productos de origen agrario (Real Decreto 661/2012). Puede caracterizarse como una disolución acuosa que contiene diferentes ácidos orgánicos (principalmente ácido acético) además de otros componentes como sulfatos, cloruros, etc. Un índice de la calidad de un vinagre es la denominada acidez total (o grado acético) que es la cantidad total de ácidos que contiene el vinagre expresada como gramos de ácido acético por 100 mL. En la valoración, el analito es el ácido acético (ácido débil) y el valorante es una disolución de hidróxido de sodio (base fuerte). En la valoración se produce una reacción entre los ácidos del vinagre y la disolución de hidróxido de sodio y se va modificando el pH. Para la detección del punto final de la valoración se puede añadir un indicador químico que cambie de color en función del pH de la disolución. En este caso se añade como indicador la fenolftaleína que a pH menor de 8 la forma química es incolora y a valores superiores a 10 es rosa (**Figura 1**). En la reacción de valoración, cuando todo el ácido acético del vinagre ha reaccionado con el hidróxido de sodio, el pH de la disolución aumenta debido a la formación del ion acetato y la disolución vira a color rosa, pudiéndose detectar de forma visual el punto final de la reacción. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:



Figura 1. Cambios de color de la fenolftaleína (indicador ácido-base).

Hay que tener en cuenta que la reacción debe ser estequiometría y que el punto de equivalencia debe coincidir o ser lo más próximo al punto final como se hablara en páginas posteriores de este trabajo.

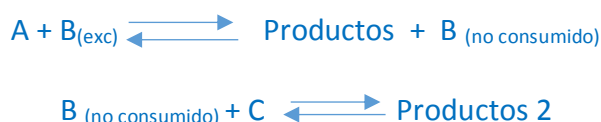
1.2 Tipos de valoraciones

En la práctica se usan tres tipos de valoraciones, las valoraciones directas, las valoraciones por retroceso y las valoraciones indirectas. A continuación, se van a definir cada tipo de valoración y se exponen la o las reacciones químicas que tienen lugar en cada una de ellas, donde A es el analito y B es el reactivo utilizado para valorar el analito.

- En una valoración directa el reactivo valorante se añade al analito hasta que la reacción sea completa, solo hay una valoración y la cantidad de analito se valora directamente, ya que existe una correlación directa entre la cantidad de analito presente y la cantidad de valorante consumido.



- La valoración por retroceso se realiza añadiendo un exceso conocido de reactivo a la disolución donde está el analito y se utiliza un segundo reactivo para valorar el exceso del primer reactivo, por lo tanto, se producen dos valoraciones y dos reacciones distintas. En este caso, la cantidad de analito equivale a la diferencia entre el volumen utilizado de reactivo valorante en la primera valoración y el utilizado en la segunda valoración. Este tipo de valoraciones se utiliza cuando el punto final de la reacción no se aprecia de forma clara en la valoración directa o cuando se necesita un exceso de reactivo para completar la reacción con el analito. En la siguiente ecuación C corresponde al segundo reactivo con el que se valorara A.



- Valoración indirecta en la que el analito se reemplaza estequiométricamente por otra sustancia en una reacción química previa y ésta es posteriormente determinada por valoración, es decir, el analito se hace reaccionar de manera espontánea con otra sustancia y el producto obtenido se valora con otro reactivo, por lo que el analito se determina por el reactivo que se ha utilizado en la primera reacción. Este tipo de valoración se puede utilizar cuando la reacción entre el analito y el primer reactivo forma un compuesto insoluble que seguidamente se filtra y se disolverá para ser valorado. En este caso Z es el producto que se valora, siendo la única reacción de valoración la segunda reacción.



Otra clasificación de las valoraciones es la forma de realizarse, es decir la valoración manual o clásica y la valoración automatizada.

- La valoración manual se lleva a cabo adicionando el valorante manualmente con una llave. Estas reacciones llevan un cambio de color importante al alcanzar el punto final y la precisión de la valoración depende de las destrezas del químico, principalmente. Es una valoración rápida, exacta y precisa, además de tener buena relación entre precio y rendimiento en comparación con técnicas más sofisticadas. El inconveniente es que se necesita un personal altamente cualificado y con destreza para que se alcance la precisión.
- La valoración automatizada se realiza utilizando accesorios adecuados que puedan llevar a cabo automáticamente la adición de la disolución valorada y la determinación del punto final de una volumetría. Para ello se emplean dos sistemas diferentes, uno es el registro automático de la curva de valoración, que se detallará más adelante, y el otro es la terminación automática de la adición de la disolución valorada hasta alcanzar el punto final, en el que se leerá la bureta sólo al principio y al final de la valoración (Brown y Sallee, 1967). Éstos son más precisos, tienen mayor reproducibilidad y rendimiento, en comparación con la valoración manual (Mettler-Toledo, 2013).

1.3 Características del análisis volumétrico

Las reacciones que participan en el análisis volumétrico deben de cumplir unos requisitos para que se pueda llevar a cabo la valoración del analito. Los requisitos principales de estas reacciones son (Harris, 2007):

- Ser estequiométrica en la que describe una ecuación química ajustada con la proporción de analito y valorante necesarios para llevar a cabo la reacción química completa. Los productos deben ser conocidos y permanecer inalterados a lo largo de la reacción de forma que no se produzcan reacciones secundarias ya que éstas imposibilitarían el cálculo de los resultados. En el ejemplo siguiente se muestra una reacción química estequiometría en la que son necesarios dos moles de sodio para reaccionar con un mol de ácido sulfúrico:



- Deben ser completas y para ello necesitan una constante de equilibrio alta, lo que implica un desplazamiento total hacia la derecha para que el cambio sea lo suficientemente notable en el final de la reacción y permita lograr la exactitud deseada. Cuando el equilibrio no está desplazado hacia la derecha el cambio que se producirá será gradual en la propiedad que señala el punto final y será difícil de detectar.
- Ser rápidas, es decir, cinéticamente adecuada, ya que si fuese lenta desaparecería una de las cualidades más valiosas de los métodos volumétricos. Para que se adicione un nuevo reactivo la reacción previa tiene que ser completa, por ello es muy ventajoso que las reacciones que se den sean rápidas.
- Disponer de un sistema indicador del final de la reacción de manera que se detecte de forma sencilla, debe haber un cambio marcado de alguna propiedad de la disolución. Esta condición es indispensable. El cambio puede consistir en un cambio de color de la disolución o un cambio de alguna otra propiedad eléctrica o física de la misma.

Por otro lado, se definen características propias que se producen en el análisis volumétrico y que son importantes distinguir como el punto de equivalencia, que es aquel en el que la cantidad de valorante añadido es exactamente la necesaria para que reaccione estequiométricamente con el analito, y el punto final que es lo que

realmente se mide y se caracteriza por un cambio brusco repentino en una propiedad física o química de la disolución. El punto final debe coincidir con el punto de equivalencia o encontrarse a un intervalo reproducible del mismo. Y la diferencia entre el punto final y el punto de equivalencia es el error de valoración, que es otra característica prácticamente inevitable en una valoración, pero utilizando una propiedad física adecuada en la cual un cambio pueda observarse fácilmente es posible observar y registrar un punto final muy cercano al punto de equivalencia verdadero. También es posible de estimar el error de valoración con una valoración en blanco, que consiste en realizar el mismo procedimiento, pero sin el analito.

1.4 Materiales necesarios para llevar a cabo una valoración

Para llevar a cabo una valoración es necesario disponer de material volumétrico, una disolución valorada de reactivo, otra disolución que contenga el analito y un sistema indicador que ponga de manifiesto el final de la reacción, es decir que indique que toda la sustancia problema ha reaccionado.

- Material volumétrico. Los recipientes de vidrio empleados en el análisis volumétrico reciben el nombre de material volumétrico. Ya que la cantidad de analito se determina por medición del volumen, es necesario disponer de materiales de medición exactos y precisos, necesitando así recipientes aforados. El principal material volumétrico es la bureta y se utiliza para proporcionar volúmenes exactos y variables de una disolución (**Figura 2**). Otros materiales son los matraces aforados que se emplean para disolver o diluir la muestra o reactivo a un cierto volumen y las pipetas que se utilizan para transferir un volumen conocido de una disolución o muestra (Compañó y Ríos, 2010).

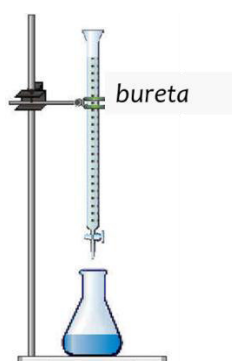


Figura 2. Montaje típico para hacer una valoración.

- Analito: es el componente de un sistema material, y los derivados que pudieran producirse, que pretende ser detectado, identificado o cuantificado mediante la aplicación de un método de análisis químico, que en este caso es la volumetría (Rodríguez et al., 2013). El tamaño de la muestra puede expresarse en gramos para muestras sólidas o como volumen para muestras líquidas. Para llevar a cabo la valoración el analito debe estar en forma líquida por lo que se debe elegir el disolvente adecuado para disolver completamente la muestra.
- Valorante: es un reactivo de concentración conocida que reacciona con un analito. Su concentración se puede conocer pesando una cantidad exacta de reactivo puro y disuelto en un volumen conocido de disolución, en este caso el reactivo recibe el nombre de patrón primario que es lo suficientemente puro como para ser pesado y utilizarlo directamente. Si el valorante no está disponible como patrón primario, se utiliza una disolución con una concentración deseada aproximada para valorar una cantidad pesada de patrón primario de alta pureza. Este procedimiento se denomina estandarización, es decir, la concentración real de valorante se establece por estandarización mediante un estándar primario de alta pureza. La disolución de valorante se denomina disolución estándar.
- Indicadores: se utilizan para ver el punto final de la valoración. Pueden ser químicos o instrumentales.

Indicador Químico es un compuesto con una propiedad física (normalmente el color) que cambia bruscamente en las proximidades del punto de equivalencia. Algunos ejemplos de indicadores químicos son el naranja de metilo que vira de color rojo a amarillo en un rango de pH entre 3,1-4,4 o el verde de bromocresol que vira de amarillo a azul en el rango de pH entre 3,8-5,4.

Indicadores Instrumentales: se emplean para medir la variación de una propiedad físico-química de la disolución en el transcurso de la valoración, y no sólo en el punto de equivalencia. Los métodos electroanalíticos son los más frecuentes y la valoración toma distintos nombres según la propiedad eléctrica medida: valoraciones potenciométricas, conductimétricas, amperométricas, etc. Si se mide la absorbancia de la disolución valorada tendremos las valoraciones fotométricas. Los datos numéricos obtenidos durante la valoración se pueden

representar gráficamente obteniéndose la curva de valoración. De forma general, en las curvas de valoración se representa la propiedad que varía durante la valoración (pH, conductancia, potencia, etc.) frente al volumen del reactivo valorante añadido. Las curvas pueden ser lineales, en las que existe relación directa entre ambas variables representadas, o logarítmicas en las que no existe relación lineal si no que depende del logaritmo de la concentración de las especies que varían durante la valoración, y el reactivo añadido.

Las curvas lineales representan dos rectas que se cortan en forma de “V”, aunque puede variar según la especie, reactivo, analito y/o los productos de la reacción (**Figura 3**). El punto de corte de ambas rectas nos proporciona el volumen en punto final de la valoración.

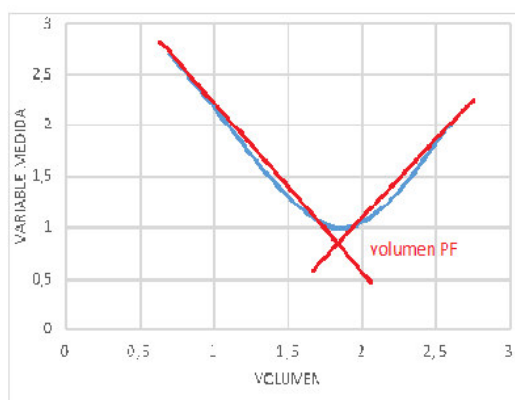


Figura 3. Curva de valoración lineal.

Por otro lado, las curvas de valoraciones logarítmicas o no directas tienen forma sigmoidea (**Figura 4**). El punto final, de forma general, coincide con la máxima pendiente de la curva o punto de inflexión. Es necesario trazar completamente la curva para poder localizar el punto de equivalencia.

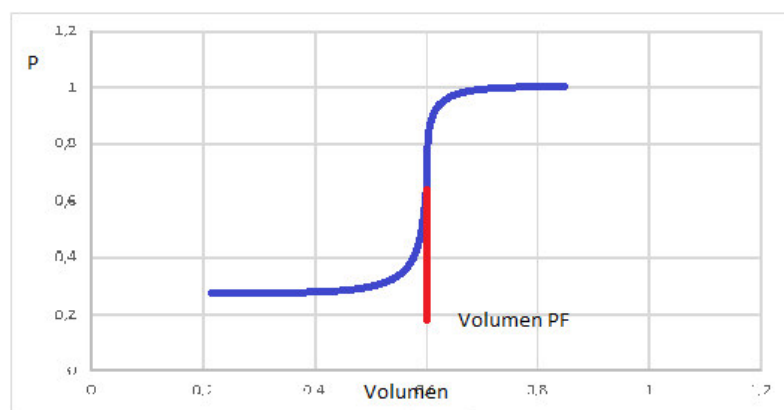


Figura 4. Curva de valoración logarítmica.

Para la detección del punto de equivalencia se puede realizar el método de la primera derivada que implica calcular y representar el cambio de la propiedad de la disolución que medimos por unidad de volumen, en función del volumen promedio, obteniendo una curva con un máximo que corresponde al punto de inflexión. El método de la segunda derivada también permite determinar el punto de equivalencia, para ello representamos la segunda derivada con respecto al volumen. El punto final es el valor de volumen donde la curva cruza la abscisa (**Figura 5**).

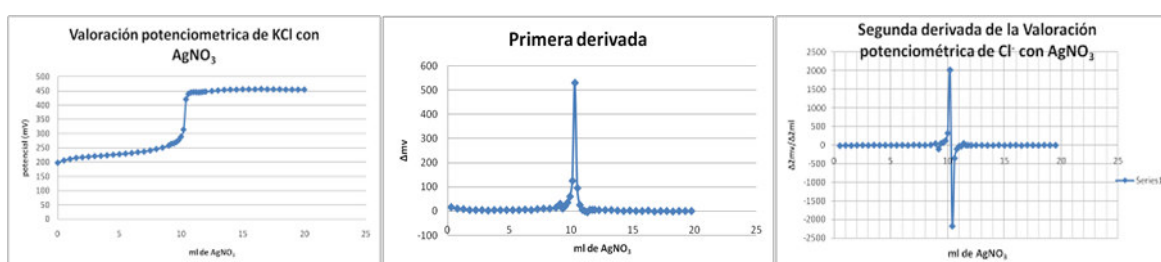


Figura 5. Valoración potenciométrica de KCl con AgNO₃. Método de la primera y segunda derivada para determinar el punto de equivalencia.

1.5 Reacciones químicas

Las reacciones químicas que participan en el análisis volumétrico son las siguientes:

- **Reacción ácido-base:** se produce cuando se pone en contacto la disolución estándar de valorante ácido o básico sobre la disolución de la muestra básica o ácida. Los puntos finales de estas valoraciones se determinan utilizándose un indicador o siguiendo el cambio de pH con un pH-metro. Algunos ejemplos de aplicaciones son el análisis del contenido en ácidos de muestras líquidas como zumo, leche, vino y vinagre.
- **Reacción de precipitación:** En este caso el valorante forma un precipitado insoluble con la sustancia analizada al utilizar dos sustancias iónicas que forman una sal insoluble, el precipitado. En la precipitación también se pueden emplear indicadores para detectar el punto final o medirse eléctricamente el potencial de la disolución. El reactivo precipitante más utilizado es el nitrato de plata, el cual

se emplea para la determinación de haluros. Las valoraciones basadas en nitrato de plata se denominan métodos argentométricos (Skoog et al., 2005).

- **Reacción de formación de complejos:** En la formación de complejos el valorante es un complejante, o agente quelante, que forma un complejo soluble en agua con la sustancia analizada, un ion metálico. Los métodos volumétricos basados en la formación de complejos son llamados métodos complexométricos. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es el valorante complexométrico más utilizado. El agente quelante reacciona con muchos elementos y las reacciones pueden controlarse ajustando el pH.
- **Reacción de oxidación-reducción:** llamadas valoraciones redox, en las que se valora un agente oxidante con un agente reductor o viceversa. Debe existir una diferencia bastante grande entre sus potenciales de reducción para que la reacción sea total y se produzca un punto final bien marcado. Las valoraciones redox se aplican, por ejemplo, para determinar el contenido de azúcares o vitamina C en zumos o para determinar el número de peróxidos en aceites comestibles.

1.6 Valoradores automáticos

La valoración ha experimentado un gran desarrollo desde las buretas manuales y la necesidad del ojo humano de un operario experimentado para la detección del punto final de la reacción, hasta la automatización de todos los pasos necesario para llevar a cabo la valoración como son la adición del valorante, control de la reacción, detección del punto final y cálculo de los resultados. La valoración llevada a cabo automáticamente presenta una serie de ventajas frente a la valoración manual como son la rapidez, sensibilidad, repetibilidad y exactitud, además de que no necesitan de un operario experto (Mettler-Toledo, 2013). La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) distingue entre dispositivos automáticos y automatizados. Los dispositivos automáticos son aquellos que efectúan unas acciones previamente programadas para realizarse en unos puntos del proceso sin intervención humana. Así, por ejemplo, un valorador automático registra una curva de valoración o simplemente interrumpe la valoración en un punto por medio de un dispositivo mecánico o eléctrico, en lugar de hacerlo manualmente. El sistema no toma decisiones, y la

secuencia de operaciones es siempre la misma. Por otra parte, un dispositivo automatizado, se diseña para que un sistema de realimentación le permita tomar decisiones sin intervención humana (Skoog et al., 2003).

En el caso de las buretas, existen buretas de llenado automático y digitales (**Figura 6**) cuyas principales ventajas son su precisión, rapidez de trabajo y sencillo manejo (Prieto et al., 1993).



Figura 6. Buretas: a) de llenado automático y b) digitales.

Entre algunos ejemplos de automatización de la valoración encontramos la utilización de bombas peristálticas (**Figura 7**) para el proceso de dosificación de valorante que son un método de dosificación, que permiten una dosificación precisa, lo cual dependerá de la velocidad de rotación, el radio del motor, del diámetro interior de la manguera y del número de rodillos. La velocidad de estas bombas se puede modificar tanto con métodos mecánicos como eléctricos.

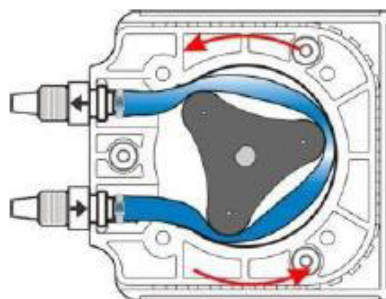


Figura 7. Bomba peristáltica.

La **Figura 8** muestra un autovalorador, con el que se realiza automáticamente toda la valoración. El valorante, que se encuentra en la botella, se va vertiendo en pequeños incrementos, mediante una jeringa mientras se va midiendo el pH con unos

electrodos sumergidos en el vaso donde está la disolución con el analito, que está situado sobre el agitador. El instrumento espera a que el pH se estabilice después de cada adición, antes de añadir el siguiente incremento. El pH se muestra en la pantalla, y el punto final se calcula automáticamente, hallando el punto de máxima pendiente de la curva (Harris, 2007).



Figura 8. Autovalorador (Harris, 2007).

En los últimos años ha aparecido en el comercio sistemas valoradores o tituladores automáticos compactos con todo integrado en una misma unidad: bureta, agitador, sistema de dosificación y módulo de control. Disponen de pantalla que muestra los valores de la curva de valoración y los resultados en tiempo real (**Figura 9**).

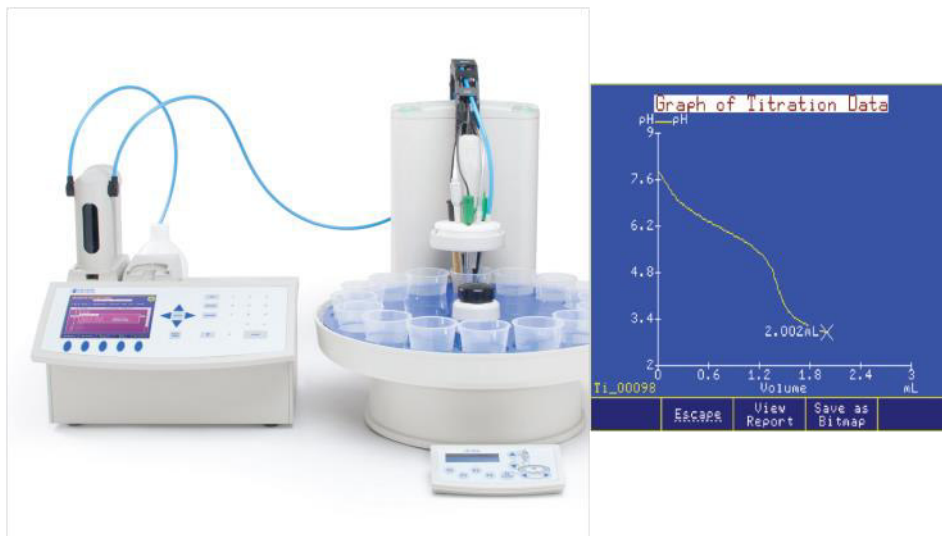


Figura 9. Sistema de valoración automático de la empresa HANNA.

2. OBJETIVOS

El análisis volumétrico junto con el análisis gravimétrico constituyen los métodos clásicos de análisis. A pesar de los avances en la instrumentación química, los métodos volumétricos aún constituyen una herramienta importante en el laboratorio de análisis químico. El objetivo principal de este trabajo es describir los principios en los que se basan las valoraciones. Para llevar a cabo este objetivo se van a tratar los siguientes objetivos específicos:

- Se definirá el análisis volumétrico y los términos usados. Se enunciarán las características del análisis volumétrico, los tipos de valoraciones y los materiales necesarios para llevar a cabo una valoración manual y automática.
- Se describirán procedimientos cuantitativos basados en las valoraciones ácido-base, redox, precipitación y de formación de complejos. Se revisarán métodos volumétricos de interés como son los métodos de Kjeldhal, Karl Fischer y Volhard, así como la determinación de los ácidos fosfórico y ascórbico, y la dureza del agua utilizando diferentes procedimientos de valoración.

3. METODOLOGÍA

Para realizar este Trabajo Fin de Grado bibliográfico sobre el análisis volumétrico y su aplicación en el campo farmacéutico se consultaron libros de Química Analítica de autores de renombre internacionales como Christian, Skoog, Harris, Watson, Brawn y Sallee, entre otros. La búsqueda de bases de datos electrónicas se hizo a través de google y otras más específicas, como science direct o scopus, en las que se encontraron publicaciones que describían aplicaciones basadas en métodos volumétricos, y guías técnicas oficiales.

Se ha tratado de elaborar una estrategia de búsqueda amplia con el fin de obtener información y trabajos experimentales con aplicaciones volumétricas en el campo farmacéutico entre otros. Para elaborar esta estrategia, se trató de acotar la búsqueda usando los siguientes términos: análisis volumétrico, valoradores automáticos, valoración ácido-base, valoración redox, valoración de precipitación y valoración de formación de complejos.

Además, durante la realización de la búsqueda se establecieron una serie de criterios con el objetivo de seleccionar los artículos que se emplearían para la revisión bibliográfica y eliminar los que no eran de interés. Para ello, se consideraron criterios de inclusión, el idioma, que debería ser en inglés o en español, que estuvieran relacionados con temas de ámbito farmacéutico, también que los métodos descritos fueran los métodos oficiales para esa aplicación o que el método volumétrico desarrollado en la publicación se siguiera utilizando hoy en día.

La revisión bibliográfica ha sido de 3 meses, incluyendo en este tiempo, la búsqueda y selección bibliográfica. Con esta metodología se ha tratado de conseguir una revisión bibliográfica del tema y obtener un conocimiento del mismo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se van a describir diferentes aplicaciones de los métodos volumétricos en el ámbito farmacéutico. Se han clasificado las valoraciones por el tipo de reacción química que sucede entre el analito y el reactivo valorante. Se describirá su aplicación, procedimiento, reacciones involucradas y resultados.

4.1 Valoraciones ácido-base

Las valoraciones ácido-base se utilizan de manera sistemática en casi todos los campos de la química y tienen muchas áreas de aplicación. El método de detección más utilizado es con indicadores químicos, que deben mostrar su cambio de color dentro de un intervalo de respuesta de pH que abarque el punto de equivalencia. Si registramos con un potenciómetro la variación de pH de la disolución al ir añadiendo el agente valorante y representamos los datos de pH frente al volumen obtenemos la curva de valoración, que permite una estimación más precisa del punto de equivalencia.

Como aplicaciones del equilibrio ácido-base se han seleccionado la determinación de ácido fosfórico en bebidas refrescantes y el método de kjeldahl para determinar nitrógeno total.

4.1.1 Determinación del ácido fosfórico en bebidas refrescantes

El Real Decreto (650/2011) define las bebidas refrescantes como las bebidas elaboradas con agua potable, gasificada o no con anhídrido carbónico, zumo de frutas, azúcares, agentes aromáticos y otros aditivos autorizados. Entre los aditivos están los acidulantes y correctores de la acidez entre los que se encuentra el ácido fosfórico (E-338), cuya dosis máxima de uso está legislada en 700 ppm en bebidas de cola y 200 ppm en gaseosa y bebidas aromatizadas.

El ácido fosfórico (H_3PO_4) es un ácido triprótico con tres constantes de disociación ácida (K_a) con valores de $7,11 \times 10^{-3}$, $6,32 \times 10^{-8}$, $7,10 \times 10^{-13}$. La valoración de este ácido se puede realizar con disoluciones valorantes de base fuerte como el NaOH o KOH. Teniendo en cuenta los valores de las constantes de acidez, sólo los dos primeros hidrógenos se pueden neutralizar directamente en la valoración, para valorar el tercer hidrógeno habría que añadir Ca^{2+} a la disolución tras la neutralización

del segundo hidrógeno precipitando el fosfato como sal de calcio y liberando el tercer hidrógeno que ya podría ser valorado con la base fuerte (Brown y Salle, 1967).

Murphy (1983) determina el ácido fosfórico en bebidas refrescantes de cola mediante valoración potenciométrica y compara los resultados con un método colorimétrico. Debido al color de la muestra no pueden emplearse indicadores coloreados para determinar el punto de equivalencia y se emplean indicadores instrumentales como la potenciometría. La potenciometría es una técnica electroanalítica con la que se puede determinar la concentración de una especie electroactiva en una disolución empleando un electrodo de referencia (un electrodo con un potencial constante con el tiempo y es conocido) y un electrodo de trabajo (un electrodo sensible a la especie electroactiva, en este caso el ion hidrógeno).

Las muestras de bebidas refrescantes de cola, previa eliminación del anhídrido carbónico, se valoran con una disolución estandarizada de 0,0200 M de KOH. Se mide la variación de pH de la disolución durante la valoración y se representa gráficamente el valor de pH en función del volumen obteniéndose la curva de valoración potenciométrica (**Figura 10**).

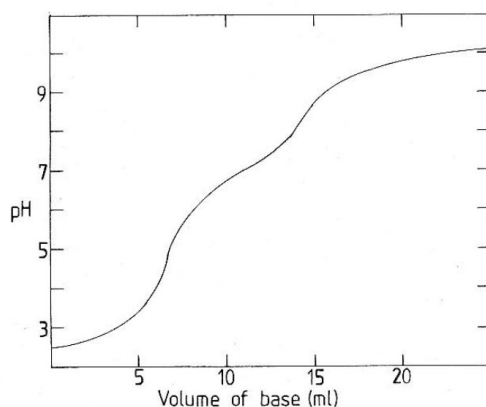


Figura 10. Curva de valoración potenciométrica del ácido fosfórico con dos puntos de equivalencia.

A partir de la curva de valoración, se determinan los volúmenes en los dos puntos de equivalencia, correspondientes a la valoración del primer y segundo hidrógeno, respectivamente, y posteriormente se calcula la concentración molar de ácido fosfórico en la muestra. La valoración del segundo hidrógeno tiene asociado un

error debido a la presencia de otros ácidos débiles en las bebidas de cola, principalmente el ácido cítrico.

El método colorimétrico para determinar ácido fosfórico se base en la formación de un complejo amarillo debido a la reacción entre el ácido fosfórico con molibdato de amonio y metavanadato de amonio. La absorbancia se mide a 400 nm de longitud de onda y la calibración se realiza con patrones de sales de fosfato.

La concentración media de ácido fosfórico en las bebidas de cola fue de $5,06 \pm 10^{-3}$ M y $5,4 \pm 10^{-3}$ M con el método colorimétrico y volumétrico, respectivamente. Con los resultados obtenidos concluyen la mayor selectividad del método colorimétrico, al no tener interferencias con los otros ácidos de la muestra. Sin embargo, la precisión del método volumétrico fue mayor.

4.1.2 Método de Kjeldahl

Los compuestos nitrogenados no proteicos en sangre son todos aquellos compuestos que contengan nitrógeno excepto las proteínas. Estos compuestos son aminoácidos, urea, nucleótidos, ácido úrico, creatinina, creatina y amoniaco. Los valores normales de éstos compuestos están en un intervalo de 25 a 45 mg/dl (siendo del 48 % correspondiente a nitrógeno ureico, 14 % a aminoácidos, 4 % a creatina, 1 % a creatinina, 3 % a ácido úrico y 30 % aminoácido residual). La importancia del control de estos valores se debe a que cuando existe daño renal su concentración aumenta hasta valores que oscilan entre 60 y 500 mg/dl. Estas variaciones del nivel sanguíneo no proteico se reflejan principalmente en las alteraciones del nitrógeno ureico en sangre (BUN), es por ello, que la determinación de urea es un parámetro útil para controlar la función renal. Cuando existe una disfunción los niveles de urea disminuye y aumentan los niveles sanguíneos de compuestos nitrogenados no proteicos y del BUN.

Los compuestos nitrogenados no proteicos en sangre se pueden determinar aplicando el método de Kjeldahl con la digestión de un filtrado de sangre libre de proteína (Remington, 2003).

Las tres etapas del método Kjeldahl, digestión, destilación y valoración ácido-base, se muestran en la **Figura 11**. La materia orgánica de la muestra se oxida mediante digestión con ácido sulfúrico concentrado y caliente. Para acelerar el

proceso, se añaden catalizadores. Durante esta etapa el nitrógeno se transforma en bisulfato de amonio. Posteriormente, la disolución se enfría, y se alcaliniza con exceso de NaOH. A continuación, se calienta para conseguir la destilación del amoniaco. El amoniaco destilado se recoge en un matraz que contiene un exceso medido de ácido. Una vez todo el amoniaco se ha destilado dentro del matraz se procede a la valoración del ácido que permanece en exceso, usando una disolución estandarizada de NaOH (Christian, 2009).

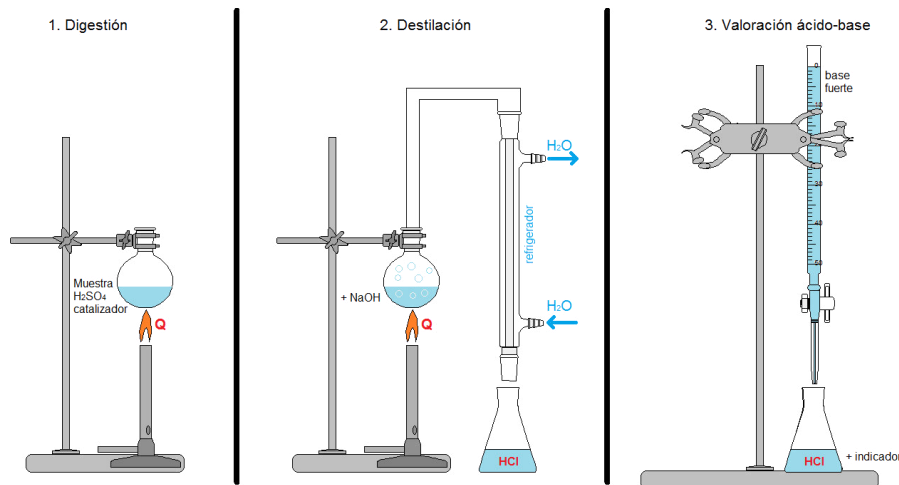


Figura 11. Pasos a realizar en el método Kjeldahl.

Christian (2009) describe la determinación de urea mediante la valoración por el método de Kjeldahl. El procedimiento se lleva a cabo recogiendo el amoniaco en un volumen conocido de ácido sulfúrico 0,05 M y el exceso se valora por retroceso con NaOH 0,05 M. Las reacciones que tienen lugar en el proceso son:



Dado que la mayoría de las proteínas contienen un tanto por ciento de nitrógeno aproximadamente igual, el porcentaje de proteína en una muestra se obtiene multiplicando el porcentaje de nitrógeno obtenido, por un factor adecuado, que se obtiene al dividir los gramos de proteína en la muestra entre los gramos de nitrógeno en la muestra. Por ello, estos factores son diferentes según la naturaleza de la muestra, así en alimentos como la carne es de 6,25 o de 6.28 para derivados lácteos y

para cereales es de 5.7 es el factor de conversión para muestras de trigo. (Ávila et al., 2005)

4.2 Valoraciones de oxidación-reducción

Los métodos de oxidación pueden aplicarse para la determinación de la mayoría de elementos químicos y también a gran número de sustancias orgánicas. En general, son reacciones muy rápidas cuando tienen lugar en sistemas iónicos de modo que se pueden aplicar como volumetrías directas hasta el punto de equivalencia, pero en el caso de compuestos orgánicos suele ser necesario agregar un exceso de reactivo oxidante o reductor para luego valorar por retroceso el exceso con otro reductor u oxidante (Brown y Sallee, 1967).

4.2.1 Determinación de ácido ascórbico

Entre las distintas sustancias que pueden ser determinadas encontramos la vitamina C, que, debido a su actividad antioxidante y a su presencia en distintas formulaciones farmacéuticas, hemos creído importante destacar en esta revisión bibliográfica.

La vitamina C o ácido ascórbico es un compuesto hidrosoluble con propiedades antioxidantes ya que es cofactor de numerosos sistemas enzimáticos debido a su potencial redox. Además, es imprescindible para mantener la integridad del organismo, ya que participa especialmente en la reparación de tejido y en la formación de colágeno. El ser humano no puede sintetizarlo por lo que se hace necesaria su obtención a partir de la dieta, si no se obtiene la cantidad de vitamina C necesaria de forma crónica se puede producir una enfermedad denominada escorbuto. Por otro lado, un consumo excesivo de vitamina C puede producir alteraciones gastrointestinales, cálculos de oxalato cálcico o anemia hemolítica, además de otras alteraciones (Watson, 2005).

El método oficial de análisis para la determinación de la vitamina C en zumos es el método volumétrico del 2,6-diclorofenolindofenol (Método 967.21, AOAC). Este método se basa en el poder reductor del ácido ascórbico. El ácido ascórbico se determina por valoración con el colorante 2,6-diclorofenolindofenol que es reducido por el ácido ascórbico a una forma incolora en medio ácido. La forma oxidada del

reactivo es azul y la reducida incolora (**Figura 12**). Este método se puede aplicar en muestras incoloras o débilmente coloreadas.

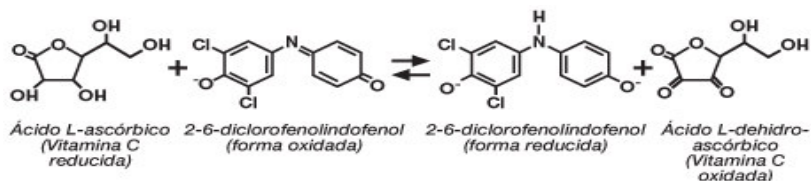


Figura 12. Reacción entre ácido ascórbico y 2,6-diclorofenolindofenol.

Paim et al., (2002) describen un método volumétrico para determinar ácido ascórbico en formulaciones farmacéuticas con concentraciones entre 7,5 y 15,0 mmol/L, mediante la reducción de iodato en medio ácido. El objetivo de este trabajo es comparar la valoración manual con la valoración automática. No observaron diferencias significativas en el resultado al aplicar las dos formas de valoración.

La reacción redox implicada se basa en la reducción del ion iodato por el ácido ascórbico:



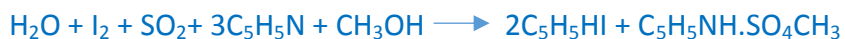
Para la determinación del punto final se utilizó un electrodo selectivo de iones de yoduro. Para automatizar la valoración se utilizó el cambio de potencial ante el exceso de disolución valorante para detener la valoración.

Sultan (1993) propone un método volumétrico para determinar ácido ascórbico en formulaciones farmacéuticas empleando cerio como reactivo valorante. La disolución valorante es de cerio (IV) en ácido sulfúrico y la detección del punto final se realiza con un método espectrofotométrico que mide la disminución de la absorción de la radiación a 410 nm.

4.2.2 Método Karl Fischer

Uno de los procedimientos más utilizados para determinar agua en diferentes muestras es la valoración de Karl Fischer. Es una valoración redox basada en la reducción, en presencia de dióxido de azufre, de una cantidad de yodo equivalente a la cantidad de agua presente en la muestra (Brown y Sallee, 1967). El método de Karl Fischer consiste en la valoración de la muestra, disuelta en metanol anhídrido, con un reactivo compuesto por yodo, dióxido de sulfuro y una base anhídrida como por ejemplo la piridina.

La reacción que ocurre en presencia de agua se muestra a continuación, en la que básicamente el yodo se reduce a ion yoduro por el dióxido de azufre y éste se oxida a trióxido de sulfuro.



El primer paso que ocurre es la reacción entre el yodo con el dióxido de azufre, en presencia de piridina y agua. El segundo paso sería la reacción de metanol con la sal formada por la piridina y el trióxido, producto de la primera reacción.

La detección del punto final puede se puede hacer por técnicas potenciométricas. El punto final se detecta por la variación de potencial que se produce cuando toda el agua de la muestra ha reaccionado con el valorante y aparece un exceso de yodo en la disolución. Al final de la valoración hay una caída brusca del potencial que indica el exceso de yodo en la disolución. (Watso, 2005). Por otro lado, también se puede determinar el punto final por colorimetría utilizando almidón, que es un indicador usado para valoraciones en las que interviene el yodo. El almidón forma un complejo con el I_2 de un color azul muy oscuro. El color en la reacción es muy sensible a muy pequeñas cantidades de yodo. La solución permanece incolora hasta el punto de equivalencia, y con una fracción de gota de exceso de I_2 convierte la solución en azul definido (Christian, 2009).

Un ejemplo de aplicación del método de Karl Fisher es la determinación del contenido de agua de miel recolectada de polen de abeja (Morgano et al., 2011). En este trabajo se determina el contenido de agua en 154 muestras de miel recolectada de polen de abeja recogidas en 11 estados de Brasil y el distrito federal. La miel es un alimento de alta calidad nutricional, contiene alta cantidad de carbohidratos y proteínas, también contiene lípidos, agua y otras sustancias como aminoácidos, antibióticos y sustancias antioxidantes. Además, popularmente se conoce que el consumo diario de miel tiene efectos beneficiosos para los problemas médicos cotidianos como son la anemia, la depresión, el estrés, la pérdida de memoria, problemas intestinales y de próstata y la impotencia entre otras propiedades. El contenido de agua de la miel de polen de abeja es un indicador de calidad, ya que influye directamente en las propiedades organolépticas como el color, aroma y

consistencia. Además, en mieles con un alto contenido en agua se puede aumentar la actividad de microorganismos y enzimas con la consiguiente pérdida de calidad.

Según Morgano et al., (2011), el método de Karl Fisher es considerado como el método de referencia para determinar el contenido de agua en muestras complejas, como el polen de abeja. Las ventajas de este método volumétrico son el tiempo de análisis, la poca cantidad de muestra que necesita y que no se pierden los compuestos volátiles, si se compara con el método gravimétrico.

Las muestras de miel de polen antes de su análisis, se conservan en ausencia de humedad y oxígeno. Para realizar la valoración disuelven las muestras en una mezcla de metanol y n-octanol y emplean un valorador automático con detección potenciométrica. Durante la valoración, la muestra se mantuvo a una temperatura constante usando para ello un recipiente revestido y un baño de agua calentado termostáticamente. Evaluaron la influencia de la temperatura, el tamaño de partícula y peso de la muestra, y el tiempo de reacción. También evaluaron la precisión, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir la buena precisión del método, siempre que la muestra esté bajo condiciones controladas. Además, los resultados obtenidos por la valoración de Karl Fisher son comparables con los obtenidos por el método gravimétrico tradicional.

4.3. Valoraciones de precipitación

La valoración por precipitación se basa en reacciones que producen compuestos iónicos de limitada solubilidad. En estas valoraciones debido a que la velocidad de formación de muchos precipitados es lenta, el número de agentes precipitantes que se pueden emplear es limitado. El reactivo precipitante que más se utiliza es el nitrato de plata, el cual se emplea para la determinación de haluros, mercaptanos y diversos aniones inorgánicos (Skoog et al., 2005).

4.3.1. Método de Volhard

Uno de los métodos de mayor importancia y más usados de la valoración por precipitación, es el método de Volhard, el cual es útil para la determinación de cloruros, bromuros y yoduros. El método de Volhard es una valoración por retroceso que emplea nitrato de plata como valorante y un indicador químico que en el punto de final forma un complejo soluble coloreado (Harris, 1991).

Es una valoración argentométrica y se basa en la siguiente reacción (Watson, 2005):



El AgCl se aísla de la disolución y el exceso de plata se valora con KSCN en presencia de Fe³⁺. Cuando toda la Ag⁺ se ha consumido, el SCN⁻ reacciona con el Fe³⁺ para formar un complejo rojo.

Rojanara et al., (2011) describen una valoración de Volhard “miniaturizada” para la determinación de cloruro de sodio en productos farmacéuticos locales de Tailandia. El objetivo de este trabajo es demostrar cómo se puede disminuir el volumen de los reactivos y por lo tanto, disminuir los desechos tóxicos generados, utilizando la microescala, para contribuir con el medio ambiente, sin que la variación de los resultados obtenidos difiera considerablemente con los obtenidos por el método convencional. Aplican el método de Volhard precipitando el cloruro con un exceso de nitrato de plata medido, en medio de ácido nítrico. La valoración de este exceso se mide con una disolución patrón de tiocianato de amonio. Una vez alcanzado el punto de equivalencia, el primer exceso de tiocianato reacciona con el indicador de iones férrico, formando un complejo tiocianato-ferrico de color rojo.

En este artículo se describen los inconvenientes del método de Volhard como son el alto precio del nitrato de plata, la formación de un fondo lechoso de cloruro de plata y el posible enmascaramiento de la disolución de tiocianato al color rojo del indicador. Además, el AgCl formado durante la valoración tiende a disolverse y para evitar esta reacción secundaria, se añade a la disolución nitrobenceno o ftalato de dibutilo que recubren al AgCl y lo protege. El nitrobenceno es tóxico y está considerado como un carcinógeno humano, mientras que el ftalato de dibutilo es dañino para el medio ambiente. Debido a estos inconvenientes, en este artículo proponen esta valoración a microescala empleando pequeños volúmenes.

4.4 Valoraciones de formación de complejos

Las valoraciones de formación de complejos, también llamadas volumetrías complexométricas, incluyen aquellas valoraciones que se basan en reacciones en las que se forma un compuesto de coordinación, los cuales tienen un átomo o un ion central, que suele ser metálico, rodeado de un grupo de iones o moléculas (ligandos).

Todos los compuestos de coordinación tienen la propiedad de conservar su identidad en mayor o menor medida, incluso en disolución (Brown y Sallee, 1967).

El valorante normalmente usado es el EDTA, muy útil ya que forma complejos estables con estequiometría 1:1 con todos los metales excepto con los metales alcalinotérreos como el sodio y el potasio.

La reacción general para estas valoraciones es:



El punto final de estas valoraciones se detecta usando un indicador coloreado que se añade a la disolución de metal. Cuando se inicia la valoración el complejo formado por el EDTA y el metal es de un determinado color debido al indicador y cuando se añade un exceso de EDTA, el complejo coloreado se rompe dando lugar a un cambio de color (Watson, 2005).

4.4.1 Dureza del agua

La dureza del agua viene dada por la cantidad de sales cálcicas y magnésicas contenidas en la misma. La presencia de calcio en los suministros de agua puede variar de cero a varios cientos de miligramos por litro dependiendo de la fuente y el tratamiento del agua. La determinación de calcio se determina de forma habitual mediante una valoración con EDTA después de tamponar la muestra a pH de 10.

Jeewoong y Vipulanda (2002) evalúa las limitaciones que presenta la determinación del calcio mediante valoraciones de formación de complejos con EDTA. Estas limitaciones a las que hace referencia este artículo se debían al efecto de interferencias químicas en la determinación de calcio con EDTA cuando la concentración de calcio es mayor de 50 mg/L. Se define interferencia como la sustancia presente en la muestra que causa un error sistemático en la determinación del analito. También evalúa el efecto de la alcalinidad de la muestra en el error de la valoración y el efecto de la concentración de calcio contenido en la muestra (Rodríguez et al., 2013). Para llevar a cabo los estudios utilizaron disoluciones patrón de CaCl con diferentes pH y distintas concentraciones de Ca. Para evaluar las interferencias de las sustancias químicas utilizaron disoluciones de ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y disoluciones salinas de NaCl y Na₂SO₄ al 3%. Como indicador del punto final utilizaron disoluciones de murexina, el cual cambia de color de rosa a púrpura en el punto final.

El valorante EDTA lo fueron añadiendo lentamente a la disolución patrón de calcio y el indicador en agua, y dieron por finalizada cuando cambió de color. La disolución de calcio estaba en continuo movimiento con un agitador magnético. Luego midieron la cantidad de EDTA utilizada en la bureta de forma precisa y calcularon los miligramos de Ca^{2+} . Uno de los objetivos en este estudio era investigar la repetibilidad de las mediciones de disoluciones a distintas concentraciones de calcio. Tras los ensayos, demostraron que la distribución de los datos fue uniforme para las disoluciones con una concentración de calcio de 10, 80 y 160 mg/L, por lo tanto, según este ensayo, el método EDTA se puede utilizar para medir una concentración de calcio superior a 50 mg/L.

El efecto de los interferentes lo determinaron midiendo el pH de concentraciones de Ca^{2+} 160 mg/l, 80 mg/l y 10 mg/l, con el correspondiente interferente. Los resultados que obtuvieron fueron que el HCl no producía interferencias a concentraciones altas y medias de calcio, pero sí pequeñas cantidades y a pH bajos debido a que el hidrogeno del HCl interfería con el indicador y/o EDTA, en cambio el ácido sulfúrico si mostro interferencias en concentraciones altas y bajas de Ca^{2+} . En cuanto a las soluciones salinas sólo mostraron interferencias en la mediación con NaSO_4 al 3% que midieron menor porcentaje de Ca^{2+} , lo que según estos autores se debía a que el producto iónico $[\text{Ca}^{2+}] [\text{SO}_4]$, como es mayor que el producto de solubilidad (K_{sp}) de CaSO_4 , los iones de calcio se precipitarían y, por lo tanto, podían resultar en interferencias con las mediciones.

Finalmente, sobre los resultados experimentales y el análisis obtenido en el ensayo, concluyeron que el método de titulación con EDTA se podía usa para medir concentraciones de hasta 160 ppm y que HCl al 3%, el ácido sulfúrico y el Na_2SO_4 si mostraron unas ligeras interferencias por lo que no se podía utilizar este método con estas disoluciones.

5. CONCLUSIÓN

- El origen del análisis volumétrico se remonta a finales del siglo XVII, y a pesar del desarrollo instrumental que ha experimentado el laboratorio analítico, hay aplicaciones en las que se sigue utilizando como método oficial. Esto es debido, a que los métodos volumétricos presentan ventajas como la exactitud y precisión del resultado, unido a la simplicidad y bajo precio del análisis, comparado con otras técnicas instrumentales.
- Las valoraciones se basan en la medida de la cantidad de un reactivo de concentración conocido necesario para reaccionar por completo con el analito. Hay que destacar procesos clave como son la estandarización y disolución de la muestra, las reacciones químicas entre el analito y el valorante, y la detección e interpretación del punto final.
- Los valoradores automáticos presentan una serie de ventajas como son la exactitud, repetibilidad, sensibilidad y rapidez. En los últimos años, se han desarrollado sistemas valoradores o tituladores automáticos que muestran los resultados en tiempo real, y unido a que son fáciles de manejar, hacen que estas técnicas se puedan seguir utilizando como procedimientos cuantitativos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Avila J, Fernandez Gutierrez A, Aloudo Hernandez E, Fernandes Sanchez J. Equilibrios químicos en disolución: Aplicaciones analíticas. Granada: Universidad de Granada; 2005.
- Alfonso R.G. Remington Farmacia. 20th ed. Buenos Aires: argentina; 2003.
- AOAC (Official Methods of Analysis International) 967.21 – 2010. Ascorbic acid in Vitamin preparations and juices.
- Brown GH, Sallee E. Química cuantitativa. 1st ed. Barcelona: Reverté; 1967.
- Christian G., Álvarez R. Química analítica. 1ª ed. México: McGraw-Hill; 2011.
- Compañó BR, Ríos A. Garantía de la calidad en los laboratorios analíticos. Síntesis, S.A; 2010.
- David GW. Pharmaceutical ANALYSIS. 2nd ed. Glasgow; 2005.
- Harris D. Analisis quimico cuantitativo. 1st ed. Medellín: Grupo Editorial Iberoamerica; 1999.
- Harris DN. Análisis químico cuantitativo. 6ª ed. California: Reverte; 2007.
- Jeewoong KC, Vipulanandan. Effect of pH, sulfate and sodium on the EDTA titration of calcium. Cement and Concrete Research 2003; 33:621–627.
- Mettler Toledo. El ABC de las valoraciones en la teoría y en la práctica. 2013 [en línea]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/253486106/Guide-ABC-of-Easy-Titration-ES-LOW>.
- Ministerio de la Presidencia (2012). Real Decreto 661/2012, de 13 de abril, por el que se establece la norma de calidad para la elaboración y la comercialización de los vinagres. BOE nº 100, de 26 de Abril de 2012.
- Ministerio de la presidencia (2011). Real Decreto 650/2011, de 9 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria en materia de bebidas refrescantes. BOE nº 119, de 19 de Mayo de 2011.
- Morgano M, Milani R, Martins M, Rodriguez-Amaya D. Determination of wáter content in Bracilian honeybee-collected pollen by Karl Fisher titration. Food control. 2011; 22: 1604-1608.
- Murphy J. Determination of Phosphoric Acid in Cola Beverages. J chemical Edu. 1983; 60 (5): 420-421.

- Paim AP, Almeida C, Reis B, Lapa R, Zagatto E, Lima J. Automatic potentiometric flow titration procedure for ascorbic acidid determination in pharmaceutical formulation. J Pharm. Biomed. Anal. 2002; 28: 1221-1225
- Prieto S, Amich S, Salve ML. Laboratorio Clínico. Principios generales. Interamericana-Mc Graw Hill; 1993.
- Rodriguez L, Gacia L, Pancorbo A, Samblás C. Glosario de Términos Analíticos. GRASEQA; 2013.
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principios de Análisis Instrumental. 5ª ed. McGraw-Hill; 2003.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ, Croch SR. Fundamentos de Química analítica. 8º ed. Thomson; 2005.
- Sultan S. Flow injection titratic analysis of vitamin C in pharmaceutical products. Talanta. 1993; 40 (5): 593-598.
- Watson D. Pharmaceutical Analysis. 2nd ed. Elsevier; 2005.