



FACULTAD DE FARMACIA

VALORACIONES FOTOMÉTRICAS

HELENA M. MONTES ARENAS



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en farmacia

Trabajo Fin de Grado

Valoraciones Fotométricas

Alumna: Helena Montes Arenas

Tutora: Dolores Hernanz Vila

Departamento de Química analítica

Tipología del proyecto: Revisión bibliográfica

Julio 2018

INDICE

RESUMEN.....	4
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. <u>Análisis volumétrico</u>	5
1.1.1. Punto final y punto de equivalencia.....	6
1.1.2. Indicadores.....	6
1.2. <u>Análisis espectrofotométrico</u>	7
1.2.1. <u>Espectrofotómetro</u>	8
1.2.2. <u>Ley de Lambert-Beer</u>	10
1.2.3. <u>Espectro de absorción</u>	11
1.3. <u>Valoración fotométrica</u>	11
1.3.1 <u>Curvas de valoración</u>	12
1.3.2 <u>Características de las valoraciones fotométricas</u>	15
2. OBJETIVOS.....	15
3. METODOLOGÍA.....	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
4.1. <u>Aplicaciones en el campo farmacéutico</u>	19
4.2. <u>Aplicaciones en medio ambiente</u>	22
5. CONCLUSIÓN.....	23
6. BIBLIOGRAFÍA.....	23

RESUMEN

La valoración fotométrica es una técnica analítica basada en las volumetrías y en la espectrofotometría, por lo que para definirla, primero se ha hecho un revisión de las dos técnicas analíticas. La valoración fotométrica emplea la absorción de la luz para seguir el proceso de una reacción química. Durante la valoración se mide continuamente la absorbancia de la disolución al ir adicionando reactivo valorante.

Existen dos tipos de valoraciones fotométricas: directas e indirectas. En las valoraciones directas, una de la especies participantes en la reacción absorben a la longitud de onda que se mide y en las indirectas, es necesaria la adición de un indicador, que es el que va a absorber la luz.

Estas valoraciones fotométricas se usan para determinar el punto de equivalencia en una valoración. Se determina mediante las curvas de valoración, las cuales son lineales y la intersección entre las dos rectas permitirá calcular el volumen de valorante en el punto de equivalencia. En esta revisión se señalan los diferentes tipos de curvas de valoración que pueden obtenerse dependiendo de la especie química que absorba en la longitud de onda de medida. Además las valoraciones fotometricas tienen ciertas ventajas frente a otro tipo de técnicas y sus aplicaciones en diferentes campos es sencilla y rápida.

En esta revisión, se han considerado aplicaciones de las valoraciones fotométricas en diferentes ámbitos que conciernen al ámbito farmacéutico como la determinación de un surfactante catiónico tipo diamina, paracetamol en medicamentos, calcio en suero sanguíneo, cargas en la superficie de las células, fenotiazinas con sulfato cérico, carrageninas y hierro en vino blanco; y también al ámbito medioambiental como es la determinación de sulfatos en agua de mar.

Palabras clave: valoración fotométrica, absorbancia, curva de valoración, punto de equivalencia

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Análisis Volumétrico

El análisis volumétrico se define como la técnica analítica basada en la medida del volumen de una disolución que se necesita para reaccionar con el analito (Harris, 2007), es decir, es la medida de la cantidad de reactivo de concentración exactamente conocida (valorante o disolución estándar), que consume el analito (Figura 1).

Las reacciones que participan en el análisis volumétrico se basan en los equilibrios ácido-base, formación de complejos, oxidoreducción y precipitación. Estas reacciones químicas tienen que tener una serie de características o requisitos para que se pueda llevar a cabo la valoración del analito (Harris, 2007), estos son:

- Ser estequiométricas, es decir, describir una ecuación química ajustada con la proporción de analito y valorante necesarios para llevar a cabo la reacción química completa. Además los productos deben ser conocidos y permanecer inalterados.
- Deben ser completas, por lo que se necesita una constante de equilibrio alta. Esto implica un desplazamiento total hacia la derecha, que permite que el cambio sea lo suficientemente notable en el final de la reacción. Si el equilibrio no se desplaza a la derecha completamente, el cambio será gradual en la propiedad que señala el punto final y será difícil detectarlo.
- Ser cinéticamente adecuadas, es decir, que la reacción sea rápida.
- Poseer un sistema indicador del final de la reacción de manera que se pueda detectar de forma sencilla. Esto puede ser un cambio de color de la disolución o un cambio de alguna propiedad física o eléctrica de la misma.

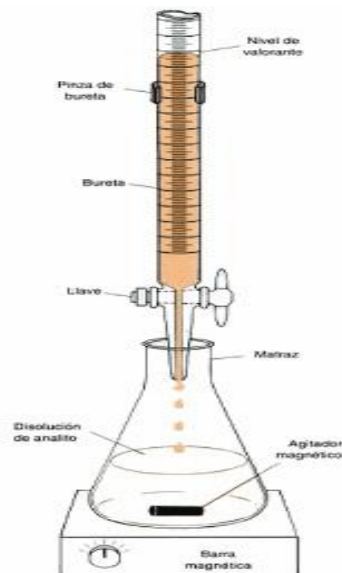


Figura 1. Montaje para hacer una valoración

1.1.1. Punto final y punto de equivalencia

Cuando se añade el valorante a la muestra, se adiciona hasta que la cantidad de éste equivale químicamente a la cantidad de analito. El estado en que se produce esta equivalencia se conoce como punto de equivalencia de la valoración, que es un punto teórico. Su estimación experimental se conoce como punto final de la valoración y puede estimarse observando algún cambio físico que acompañe a la condición de equivalencia.

A partir de la cantidad de valorante empleado para alcanzar el punto final, de su concentración y del conocimiento de la estequiometría de la reacción de valoración, se puede calcular la cantidad de analito de la muestra (Connors, 1981). La diferencia entre el punto de equivalencia y el punto final es el error de valoración, que prácticamente es inevitable. Se puede estimar el error de valoración con una valoración de blanco, que consiste en realizar el mismo procedimiento pero sin el analito.

1.1.2. Indicadores

Los indicadores se utilizan para ver el punto final de la valoración. Pueden ser químicos o instrumentales:

Los indicadores químicos, son sustancias químicas, generalmente coloreadas, que responden a cambios en la disolución antes y después del punto de equivalencia presentando cambios de color que pueden ser detectados visualmente como el punto final de la reacción (**Figura 2**), lo que constituye una estimación confiable del punto de equivalencia. Por ejemplo, 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 un rango de pH entre 3,8 -5,4.

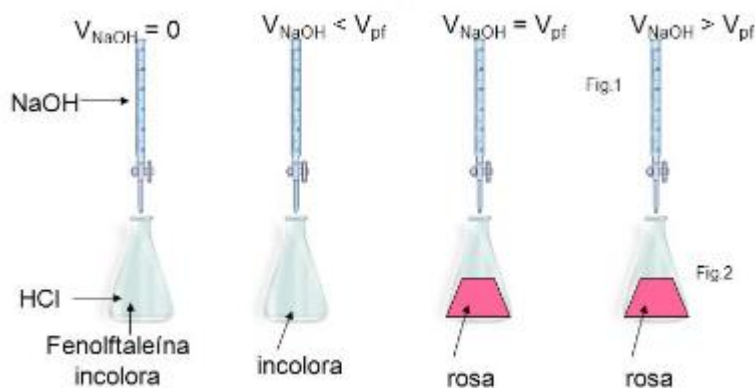


Figura 2. Valoración de HCl con NaOH empleando fenolftaleína como indicador

Los indicadores instrumentales se emplean para medir la variación de una propiedad físico-química de la disolución en el transcurso de la valoración, y no solo en el punto de equivalencia. Por ejemplo las valoraciones potenciométricas, donde se mide el potencial en función del volumen del reactivo valorante añadido. Las medidas de potencial se realizan con un electrodo indicador, sensible a la concentración de las especies que experimentan la reacción volumétrica y un electrodo de referencias cuyo potencial es conocido y constante, ambos se sumergen en la disolución a valorar formando una celda galvánica, la diferencia de potencial entre los electrodos puede ser medida con un medidor de pH que permite seguir el curso de la reacción (Connors, 1981).

1.2. Análisis espectrofotométrico

El análisis espectrofotométrico es una técnica analítica basada en la absorción, emisión o dispersión de la radiación electromagnética y es usado para medir concentraciones químicas (Harris, 2007). Este método consiste en la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de radiación en la que se trabaja (Day y Underwood, 1986). Cuando una molécula absorbe un fotón se incrementa su energía, pasando a un estado excitado. Esta absorción origina transiciones entre distintos niveles de energía electrónicos (Figura 3), así como simultáneamente transiciones vibracionales y rotacionales, de

forma que el cambio en la energía molecular de una determinada especie es consecuencia de la absorción de energía radiante.

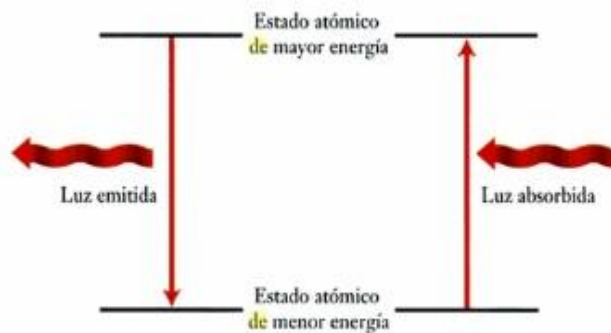


Figura 3. Emisión y absorción de la luz a una misma longitud de onda

Varios métodos de análisis en muestras biológicas se basan en reacciones entre el analito y diferentes reactivos químicos para producir compuestos químicos coloreados y por tanto una disolución coloreada, de tal forma que la cantidad de color pueda ser usada como una medida de la concentración de dicho analito, por ejemplo la determinación de albúmina con verde de bromocresol. Éste en medio ácido se disocia y su forma aniónica se fija a la albúmina específicamente, produciendo un cambio de color (Quesada, 2003).

1.2.1 Espectrofotómetros

El espectrofotómetro es un instrumento que se emplea para medir la absorbancia de una muestra en función de una longitud de onda determinada (Day y Underwood, 1998). Los espectrofotómetros tienen los siguientes componentes básicos (Figura 4):

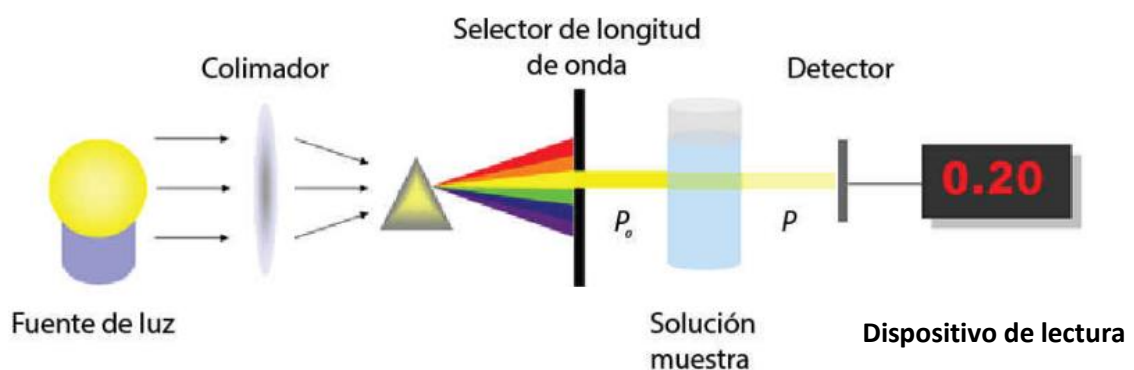


Figura 4. Componentes de un espectrofotómetro

- 1) Fuente: se dispone de una fuente continua cuya potencia no cambie en la longitud de onda que se considere para el análisis. La fuente más frecuente para trabajar en la región del espectro visible (360-950 nm) es la lámpara de wolframio y en la región ultravioleta (220 – 360 nm), la lámpara de deuterio.

- 2) Selectores de longitud de onda: permiten aislar la longitud de onda necesaria para realizar la medida, es decir, la longitud de onda a la que el analito va a absorber la luz. Estos componentes están constituidos por materiales que dejan pasar de forma selectiva las longitudes de onda deseadas, absorbiendo el resto. Esto es importante ya que para que se cumpla la ley de Beer la radiación tiene que ser monocromática. Si la radiación de la luz es monocromática se aumenta tanto la selectividad, ya que las sustancias que absorben a otra longitud de onda no interferirán en la medida si el rango es estrecho, como la sensibilidad. Hay dos tipos de selectores de longitud de onda que son los filtros y los monocromadores. Los filtros se componen de un material que transmite selectivamente una longitud de onda y absorbe todas las demás, por lo que permite el paso de intervalos de longitudes de onda relativamente amplios y característicos. Los monocromadores son capaces de dar bandas espectrales mucho más estrechas que los filtros y tienen la ventaja de poderse ajustar fácilmente dentro de una zona amplia del espectro.

- 3) Recipientes para la muestra: son recipientes ópticamente transparentes (celdas o cubetas) donde se colocan las disoluciones que contienen la muestra para la medida de absorbancia. Pueden ser de vidrio, de cuarzo o de plástico y dependiendo del material con el que estén construidas la cantidad de luz absorbida por la propia cubeta varía significativamente. Así en la región ultravioleta (por debajo de 350 nm de longitud de onda) se requiere cuarzo o sílice fundida. También se utilizan estos materiales en la zona visible hasta 3000 nm, aunque en esta zona del espectro también pueden usarse recipientes de plástico. En la región entre 350 y 2000 nm se utilizan vidrios silicatados.

- 4) Detectores de radiación: son dispositivos que absorben la energía de los fotones que inciden sobre él y convierten esta energía en una magnitud medible, es decir, convierten la energía luminosa que les llega en energía eléctrica. Los diferentes

modelos de detectores (fotovoltaicos, fototubos o fotomultiplicadores) se basan en que la llegada de la luz no absorbida provoca el desplazamiento de electrones, lo que da como consecuencia la aparición de una diferencia de potencial entre dos electrodos. Deben cumplir los siguientes requisitos: alta sensibilidad con un ruido de fondo bajo, respuesta rápida y estable y que la señal sea fácilmente amplificable.

5) Procesadores de la señal y dispositivos de lectura: la señal eléctrica generada en el detector se lleva hasta dispositivos adecuados, que reflejan su valor. La señal eléctrica que llega hasta estos dispositivos se traduce en unidades de absorbancia o transmitancia.

1.2.2. Ley de Lambert-Beer

La ley de Lambert-Beer relaciona la cantidad de luz absorbida por la muestra, con la concentración del analito. Por lo que a mayor concentración, mayor absorción y menos transmisión, ya que al incidir un haz de luz de determinada longitud de onda sobre la muestra, parte de esa luz es absorbida y la otra parte es reflejada o transmitida. También relaciona la luz absorbida por la muestra y la longitud de la cubeta que es atravesada por el haz.

$$A = abc$$

Siendo:

- A: absorbancia, que según la real academia española de la lengua, depende directamente de la concentración de la sustancia y se define como la atenuación de la radiación electromagnética al atravesar una sustancia.
- a: absorptividad o coeficiente de extinción, el cual depende de cada sustancia, de la longitud de onda y de las condiciones de medida (pH, T^a, etc.).
- b: diámetro de la cubeta. Su valor es fijo durante la medida.
- c: concentración del analito a determinar.

Esta ley tiene limitaciones y se cumple en ciertos rangos de concentración, que varían de una sustancia a otra. Por ejemplo en la determinación de glucosa y triglicéridos en sangre, esta ley se cumple hasta una concentración de 600 mg/dL y 1000 mg/dL, respectivamente (Villegas Casares et al. 2006).

1.2.3. Espectro de absorción

El espectro de absorción es un gráfico como el que aparece en la **figura 5**, que muestra la cantidad de radiación que una sustancia absorbe a diferentes longitudes de onda. Son únicos para cada sustancia, y a menudo se utilizan como la "huella digital" de la sustancia.

En el espectro se determina la longitud de onda óptima de absorción de un analito. Éste se obtiene midiendo la absorbancia de disoluciones que contiene al analito a diferentes longitudes de onda. Posteriormente se representa la absorbancia frente a la longitud de onda y se obtiene la longitud de onda de máxima absorción, que corresponde con el punto máximo de absorción del analito (**Figura 5**). Ese valor de longitud de onda es con el que se trabaja para llevar a cabo el análisis cuantitativo del analito.

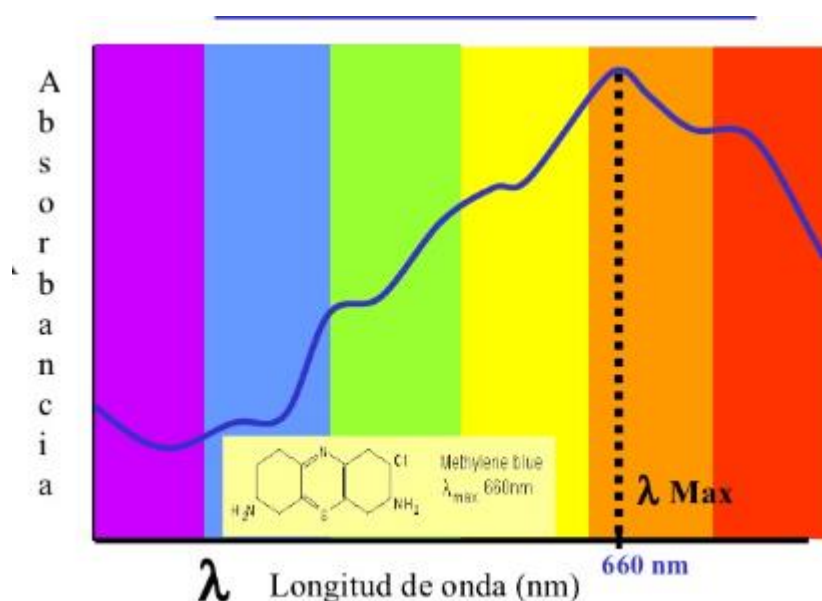


Figura 5. Representación de la absorbancia frente a la longitud de onda del azul de metileno.

1.3. Valoración fotométrica

La valoración fotométrica es una técnica analítica donde se usa la absorción de la luz para seguir el proceso de una reacción química (Harris, 2007). Se mide la absorbancia a una longitud de onda adecuada, después de adiciones sucesivas de volúmenes medidos de un reactivo valorante y posteriormente se representan las

absorbancias medidas en función del volumen del reactivo valorante agregado (Pickering, 1980).

Para realizar una valoración fotométrica se requiere que uno o más de los reactivos o productos que participan y se forman en la reacción absorban la radiación o también que haya presente un indicador absorbente. Además debe cumplirse la ley de Beer en el intervalo de concentraciones que se trabaja.

Existen dos tipos generales de valoraciones fotométricas:

- Directas: valoraciones fotométricas en las cuales la absorbancia es debida a que una de las especies participantes en la reacción absorban a la longitud de onda de medida (Headridge, 1961).
- Indirectas o con indicador: valoraciones fotométricas en las cuales ninguna de las especies participantes en la reacción presenta suficiente absorción a la longitud de onda de medida y por ello se añade una sustancia indicadora cuyo cambio de color en el punto de equivalencia sea muy acusado, mediante una reacción con alguna de las especies participantes. Esto permite obtener el punto final a partir de la curva de valoración obtenida (Pino y Perez, 1986). Un ejemplo de este tipo de valoraciones fotométricas es el negro de eriocromo T como indicador en la determinación Zinc con el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como reactivo valorante.

1.3.1 Curvas de valoración

Las curvas de valoración son la representación de las absorbancias en función del volumen de valorante (**Figura 6**). En el caso de las valoraciones fotométricas, son curvas de valoración lineales, debido a que la absorbancia es directamente

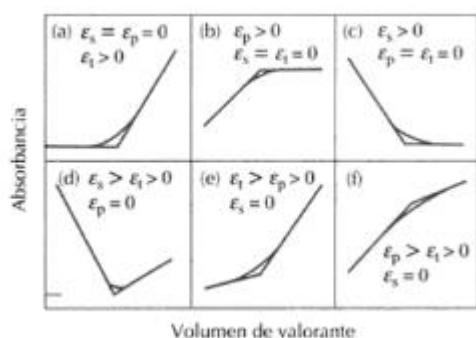


Figura 6. Curvas de valoraciones fotométricas

proporcional a la concentración de la especie que se valora o bien al producto de reacción o a la concentración de valorante. La ventaja de las curvas de valoración lineales frente a las logarítmicas es la precisión en la localización del punto final.

Si se escogen bien las condiciones experimentales, la curva de valoración consta de dos líneas rectas con diferentes pendientes, una que se presenta al principio de la valoración y otra que se presenta después del punto de equivalencia. Como punto final se toma la intersección de las dos líneas rectas extrapoladas. Para obtener curvas de valoración de tramos lineales como las que vemos en la **Figura 6** que se puedan extrapolar, el sistema absorbente debe cumplir la ley de Beer. Presentan distinta forma según la especie absorbente y el valor relativo del coeficiente de absorptividad. Existen dos tipos generales:

A) Cuando absorbe solo una especie a la longitud de onda de trabajo. En este caso podría absorber el analito, el valorante o el producto de la reacción.

B) Cuando absorben dos o más participantes de la reacción.

Se toma la reacción volumétrica:



- Cuando el producto de la reacción es la única especie que absorbe, la curva de valoración resultante es la que se muestra en la **Figura 7**: Al inicio de la valoración solo hay analito en la disolución, por lo que la absorbancia es la propia de la muestra. El valorante que se añade, al reaccionar con el analito, se consume generándose producto, por lo que la absorbancia aumenta. En el punto de equivalencia todo el

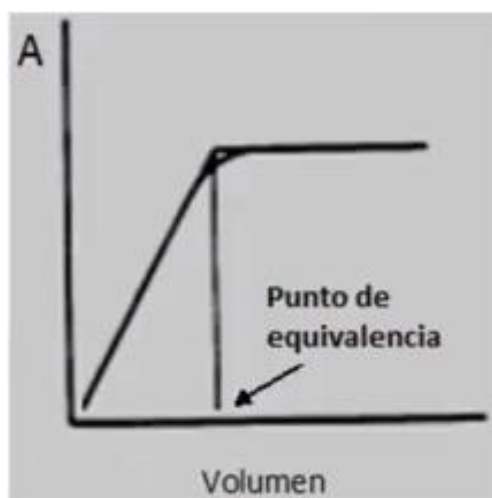


Figura 7. Curva de valoración cuando el producto es la única especie que absorbe

analito ha reaccionado con todo el valorante añadido. A partir de ahí, al no haber analito no se genera más producto por lo que la absorbancia permanece constante. Presenta esta forma la valoración de Cu(II) con EDTA, ya que el complejo azul formado absorbe a la longitud de onda de medida.

- Cuando el valorante es la única especie absorbente, la curva de valoración resultante se muestra en la **Figura 8**. Al inicio de la valoración solo hay analito en la disolución, por lo que no hay absorbancia. El valorante añadido se consume al reaccionar con el analito, generándose producto, por lo que no hay variación en la absorbancia. En el punto de equivalencia, todo el analito ha reaccionado con todo el valorante añadido y a partir de este punto, al no haber analito, el valorante añadido queda en la disolución y la absorbancia aumenta. Presenta esta forma la valoración de As (III) en medio ácido y en presencia de Br^- con una disolución de KBrO_3^- . Mientras

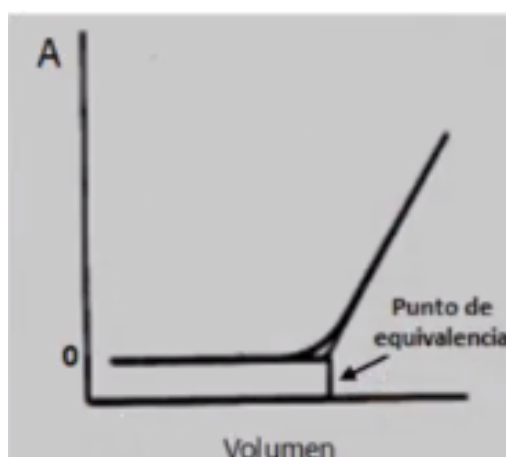


Figura 8. Curva de valoración cuando el valorante es la única especie que absorbe

existe As (III) en la disolución el Br_2 generado se consume en oxidar el As (III) a As (V), cuando todo el As (III) se ha consumido se produce una súbita elevación de la absorbancia debida al Br_2 .

En las valoraciones fotométricas, se mide la absorbancia después de la adición de reactivo, al menos en tres puntos antes y después del punto de equivalencia y se representan las absorbancias obtenidas en función del volumen de reactivo valorante añadido. Se trazan las dos rectas, y el punto de corte será el punto de equivalencia. Si la constante de equilibrio de la reacción de valoración es pequeña o la concentración del analito en la disolución es baja, aparecerá una mayor curvatura en las

inmediaciones del punto de equivalencia, y la extrapolación será más difícil (Skoog et al., 1997). Hay dos métodos para la localización del punto final en las valoraciones fotométricas, que son el método de las aproximaciones sucesivas y el método de Higuchi que se emplean en estos casos (Pino y Perez, 1983).

1.3.2. Características de las valoraciones fotométricas

Las valoraciones fotométricas permiten:

- Determinar sustancias no absorbentes, puesto que solo es necesario que una de las otras dos especies participantes en la reacción: reactivo o producto de la reacción, sea absorbente.
- La presencia de otras sustancias que absorban a la longitud de onda analítica no causen necesariamente interferencias, puesto que solo importa la variación de absorbancia.
- El error relativo obtenido suele ser igual o inferior al 0,5%, por lo que las valoraciones fotométricas son exactas (Olsen, 1990). Además de selectivas, ya que solo se mide la variación de absorbancia durante la valoración por lo que el error que causa la presencia de interferencias en la muestra no es tan acusado.
- Se puede trabajar con reacciones cuya constante de equilibrio químico no sea muy alta, es decir, que la reacción química no se desplace completamente hacia la formación del producto y también con disoluciones en las que la concentración de analito sea baja.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de esta revisión bibliográfica es describir la técnica de la valoración fotométrica y para llevar a cabo este objetivo se van a seguir los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar la volumetría fotométrica relacionando un método analítico clásico (análisis volumétrico) y un método instrumental (espectrofotometría), teniendo en cuenta la instrumentación, las reacciones químicas que participan en ellos, las leyes en las que se basan y los fenómenos que experimentan.

- Definir indicador, punto final y punto de equivalencia, ya que el proceso de la técnica recae sobre estos tres conceptos. Definir las curvas de valoración y describirlas según la especie química que absorba.
- Revisar algunas aplicaciones de esta técnica en el ámbito farmacéutico y medioambiental.

3. METODOLOGÍA

El trabajo se trata de una revisión bibliográfica consistente en la recopilación material bibliográfico: artículos, libros, entre otros, tanto en formato escrito como digital en diferentes bases de datos. La búsqueda para este tema comenzó en febrero de 2018 y finalizó en junio de 2018.

Las principales fuentes utilizadas han sido libros y las bases de datos utilizadas han sido: Sciencedirect y Google Scholar. Se han revisado los artículos más relevantes publicados relacionados con el tema. Las palabras clave utilizadas han sido: *photometric titration, pharmacy, applications*. Se han combinado con los diferentes conectores para poder encontrar artículos válidos para el objetivo del trabajo. Los resultados obtenidos en las diferentes bases de datos son:

✓ **Science direct**

Perfil de búsqueda	Número de entradas	Entradas seleccionadas
Photometric titration pharmacy application	363	5

✓ **Google Scholar**

Perfil de búsqueda	Número de entradas	Entradas seleccionadas
<i>Photometric titration pharmacy applications</i>	2200	3

4. RESULTADOS Y APLICACIÓN

Una vez expuestos de forma general los conceptos teóricos más importantes, esta revisión se centrará en el estudio de las aplicaciones en el ámbito farmacéutico y medioambiental de esta técnica analítica.

Pino y Pérez (1983), estudiaron las aplicaciones de las valoraciones fotométricas en:

- Reacciones ácido-base: Hay muchos ácidos orgánicos monopróticos que presentan la propiedad de que la especie disociada presenta absorción, mientras que el ácido sin disociar no absorbe a la longitud de onda que se considere de trabajo. Un ejemplo es el caso del fenol, donde el ión fenolato, que es su base disociada, absorbe a 302 nm. La valoración se lleva a cabo con una disolución estándar de hidróxido sódico. Cuando la valoración se lleva a cabo en medio acuoso, la curva de valoración no queda bien definida y es imprescindible aplicar el método de las aproximaciones sucesivas. Sin embargo, cuando se lleva a cabo en disolvente orgánico, la curva que se obtiene consta de dos líneas rectas que permite la obtención rápida del punto final por extrapolación, aunque hay que tener en cuenta la posibilidad de absorción del disolvente.

- Reacciones oxidación-reducción: Se puede aplicar la técnica de valoración fotométrica a estas reacciones cuando el reactivo valorante es coloreado, como por ejemplo el KMnO_4 , el Br_2 , etc. También se puede aplicar cuando la especie que se valora cambia su espectro de absorción al oxidarse o reducirse. Por ejemplo la determinación de Fe (II) con KMnO_4 : se puede valorar el Fe (II) en una disolución que contiene níquel midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 525 nm, a la cual absorbe el permanganato. En esta valoración, el punto final con indicadores visuales es difícil de obtener.

- Reacciones de precipitación: Estas reacciones pueden efectuarse fotométricamente mediante medidas de turbidez (turbidimetría). Este método tiene bastantes limitaciones, ya que es difícil obtener un precipitado en un estado de dispersión que sea constante y reproducible. En general, la turbidez puede aumentarse más o menos rápidamente en proporción al volumen de valorante añadido y puede

obtenerse la máxima rapidez antes del punto de equivalencia. Son pocas las aplicaciones prácticas recomendadas.

- Reacciones de formación de complejos: Esta aplicación se basa en la formación de un complejo coloreado y es la que más aplicaciones tiene. El EDTA es un ligando muy utilizado y se emplea, por ejemplo, en las valoraciones de Cu (II) y Ni (II). También se han propuesto valoraciones de metales que forman con EDTA complejos incoloros por medidas de absorción en la zona ultravioleta, pero son menos utilizadas. También se ha realizado la valoración de una mezcla de dos metales y debe cumplirse la condición de que uno de los complejos sea incoloro y muy estable, mientras que el otro sea coloreado y menos estable como el caso del Cu (II) y el Bi (III). Donde el bismuto, al formar complejo con EDTA es estable e incoloro, por lo que la absorbancia se mantiene constante mientras se está consumiendo el bismuto. Cuando se alcanza el punto de equivalencia con el bismuto, EDTA empieza a formar complejo con el cobre, azul, y la absorbancia crece hasta alcanzar el punto de equivalencia del cobre en donde permanece constante.

Las valoraciones volumétricas son adecuadas cuando:

- La constante de equilibrio de la reacción química no es muy alta y el punto final es difícil de distinguir o tarda en manifestarse.
- Se trata de disoluciones con la concentración del analito baja, de forma que la cantidad de indicador visual que debe añadirse para observar el cambio es grande con respecto a la especie a valorar.
- Interfieren otras sustancias coloreadas que impiden la observación del punto final.

Las técnicas de valoración fotométricas también pueden utilizarse para determinar la estequiometría de un complejo mediante el método de la razón molar, para determinar la constante de acidez o basicidad por medidas simultáneas de pH y absorbancia (Muñoz y Pino, 1973) y también para determinar pesos moleculares de bases, alcaloides, hidrocarburos, que forman picratos, ya que las disoluciones alcohólicas del ácido pícrico, las cuales tienen el coeficiente de absorptividad elevado en la zona ultravioleta próxima (Cunningham et al., 1951).

4.1. Aplicaciones farmacéuticas

A. Determinación de un surfactante catiónico tipo diamina.

“Volumetría de determinación espectrofotométrica de un surfactante catiónico tipo diamina, mediante la formación de un complejo coloreado” (Mercado et al., 2010).

En este estudio determinaron por valoración fotométrica directa un surfactante catiónico de tipo alquil propilen diamina (APDA), que por no presentar un grupo cromóforo en su estructura molecular, no podía ser determinado directamente mediante fotometría, por lo que utilizaron naranja de metilo como indicador en la valoración. Éste forma un complejo coloreado con el surfactante que absorbe en el rango UV-Vis.

Las alquil propilen diaminas son surfactantes catiónicos usados como estabilizantes de emulsiones y como lubricantes. Resulta difícil su cuantificación a bajas concentraciones, puesto que la volumetría tradicional conlleva a resultados muy imprecisos o simplemente es inaplicable en estas condiciones. Por lo que utilizaron la valoración fotométrica con naranja de metilo para crear un complejo fácilmente detectable. Procedieron a la medición de la absorbancia de la disolución que contiene el analito a una longitud de onda de 362 nm, que es la óptima para determinar la presencia del complejo, y por lo tanto la que utilizaron para determinar la concentración del mismo en la prueba de determinación del punto de equivalencia.

Como conclusión recogieron que la concentración de surfactante de tipo APDA puede ser determinada mediante valoración fotométrica, con la formación de un complejo con naranja de metilo, el cual ofrece un máximo de absorbancia a una longitud de onda de 362 nm.

B. Determinación de paracetamol en medicamentos.

“Comparación de los métodos de titulación fotométricos y potenciométricos para la determinación de paracetamol en medicamentos. (Pérez y Zamora, 2015).

Realizaron una valoración fotométrica tomando la muestra que contiene al paracetamol, valorándola con una disolución de hidróxido sódico y como indicador un indicador universal, el cual es azul-violeta, por lo que determinaron la longitud de onda

de trabajo entre 580 y 610 nm. Posteriormente representaron los valores de absorbancia obtenidos por el espectrofotómetro calculando el punto de equivalencia.

C. Determinación de calcio en suero sanguíneo.

“Photometric titration of calcium in blood serum with acid alizarin black sn as metallochromic indicator” (Close y West, 1960).

Determinaron el calcio en suero sanguíneo utilizando como técnica analítica la valoración fotométrica: añadieron a la muestra hidróxido de sodio como valorante, puesto que se había probado, en estudios preliminares, con dietilamina pero resultaba satisfactorio solamente para el calcio puro. A la muestras también les añadieron trietanolamina para que no hubiera interferencias con metales que contiene el suero y como indicador utilizaron la alizarina negra. Realizaron la valoración y posteriormente representaron los valores de absorbancia obtenidos por el espectrofotómetro, obteniendo así el punto de equivalencia de la valoración.

D. Determinación de policationes en la superficie de mastocitos.

“Determination of cell surface charge by photometric titration” (Theti et al., 1997).

Para realizar la determinación de cargas en la superficie de las células, en este caso la determinación de policationes en la superficie de los mastocitos, se usaba con frecuencia un método de valoración coloidal, pero Theti et al., 1997 observaron que utilizando el método de valoración fotométrica hay una serie de ventajas como la simplicidad de la metodología y el aumento de la precisión de la determinación del punto de equivalencia. Además usando esta técnica la medición es ahora independiente de la evaluación subjetiva del investigador del cambio de color. También los datos representados conforman una línea recta en vez de una curva.

El método consiste en que el azul de toluidina, usado como indicador, se unen a los policationes que se encuentran en la superficie de la célula, con esto pudieron establecer las medidas de absorbancia y posteriormente representar en una gráfico de absorbancia frente a volumen de valorante, obteniéndose el punto de equivalencia. En este caso estudiaron los policationes en la superficie de los mastocitos debido a que estos inducen la liberación de histamina de los mastocitos.

E. Determinación de fenotiazinas con sulfato cérico.

“Analysis of Certain Phenothiazines and Their Dosage Forms by Photometric Titration with Ceric Sulfate” (S.P. Agarwal y M.I. Blaket, 1969).

La técnica consiste en la valoración del fármaco en una disolución ácida con una disolución estándar de sulfato cérico. EL punto final lo determinaron fotométricamente a una longitud de onda de 420 nm. Inicialmente se forma una semiquinona de color rojo que representa la primera etapa en la oxidación. Tras la pérdida de un segundo electrón, la disolución se convierte incolora como resultado de la formación del derivado de sulfóxido de la fenotiazina. Los valores de absorbancia los registraron cuando la disolución cambió de color rojo a incoloro y el punto final ocurre cuando se produce un exceso del ion cérico en la disolución, el cual se caracteriza por un aumento en la absorbancia.

F. Determinación de carrageninas.

“Determination of carrageenan by means of photometric titration with Methylene Blue And Toulidine Blue dyes” (Ziolkowska et al., 2017).

Los carragenanos son polisacáridos altamente sulfatados extraídos de algas rojas. Son muy utilizados en la tecnología de los alimentos como agente gelificantes, estabilizadores estructurales y espesantes. Según Ziolkowska et al., 2017, la determinación cuantitativa de carrageninas en los alimentos es difícil debido al bajo contenido de carragenanos y la presencia de numerosas sustancias interferentes.

Estudiaron que existen diversas técnicas analíticas que se utilizan para la determinación de carrageninas: HPLC, potenciometrías, espectrofotometría, etc. Pero observaron algunas desventajas en estas técnicas, como por ejemplo la formación de precipitados. Para paliar las desventajas de las técnicas anteriores y mantener el complejo colorante-polímero en estado soluble, estudiaron trabajar a concentraciones muy bajas de colorante. En este caso usaron el azul de metileno o el azul de toluidina, que son colorantes de tiazina. Concluyeron que el fenómeno de precipitación tenía lugar cuando todos los restos aniónicos están saturados de cationes del colorante. Este fenómeno puede verse disminuido cuando se realizan las mediciones espectrofotométricas en forma de valoración, así aseguraron que los complejos formados permanezcan bien dispersos en el medio debido a la agitación continua. La

sensibilidad del método es alta y la representación de la valoración dio como resultado líneas de calibración rectas.

G. Determinación de hierro en vinos blancos

(<https://es.scribd.com/doc/14174329/4-VALORACION-ESPECTROFOTOMETRICA>)

En el caso de la determinación de hierro II y hierro III en muestras de vinos se utiliza el principio de la formación del complejo Fe (II) con la 1, 10-fenantroina. Este complejo es de color rojo y por lo tanto permite la cuantificación mediante la determinación de la absorbancia de la muestra.

Toda la concentración de hierro presente en la muestra, debe encontrarse en forma de hierro en estado de oxidación +2, por lo que anteriormente de la formación del complejo se añade un agente reductor como el clorhidrato de hidroxilamina antes de la reacción. Este va a reducir el Fe III que contenga la muestra a Fe II. Una vez realizada la valoración, se representa los valores de absorbancia y se determina el punto de equivalencia. Este método puede aplicarse a vinos blancos o poco coloreados y permite determinar el contenido total de hierro (Fe II + Fe III) en el vino.

4.2. Aplicaciones en el medio ambiente

A. Determinación de sulfatos en agua de mar.

“The determination of sulphate in sea water by means of photometric titration with hydrochloric acid in dimethyl sulphoxide” (Jagner, 1970).

Para la determinación de sulfatos en agua de mar se han estudiado una gran cantidad de métodos analíticos, pero pocos son aplicables al agua de mar, debido al alto contenido en sal. Normalmente se determina gravimétricamente con sal de bario, pero este método, además de ser lento, sufre errores causado por coprecipitación de calcio y metales alcalinos.

Para la determinación de los sulfatos en agua de mar por valoración fotométrica, valoraron con ácido clorhídrico una solución de agua de mar, usando bromocresol verde como indicador. El punto final lo determinan gráficamente con la curva de valoración de absorbancia frente al volumen del valorante. En este caso dibujaron la tangente a la parte más inclinada de la curva de valoración. La

intersección entre esta tangente y el gradiente de la parte lineal de la curva dio el punto final.

Observaron que la precisión obtenida para una cantidad específica de agua de mar utilizando esa técnica analítica, es alta y, además, dado que la cantidad de agua de mar valorada no es un parámetro muy crítico, el método produce una precisión aceptable. También realizaron análisis en agua de mar de baja salinidad, viendo que la precisión disminuye, pero aun así es satisfactorio. A salinidades más bajas, la precisión seguirá disminuyendo constantemente, por lo que el método no puede ser utilizado para determinar sulfato en agua dulce.

5. CONCLUSIÓN

- La volumetría fotométrica es una técnica analítica que une la metodología clásica, como es la valoración, y la instrumental como la espectrofotometría.
- Las valoraciones fotométricas han favorecido el desarrollo y la aplicabilidad de las valoraciones ya que han proporcionado una serie de ventajas como son exactitud y precisión, unido a la simplicidad de la metodología.
- Es clave al hablar de esta técnica mencionar el punto final y el punto de equivalencia, cuya medición con este método es independiente y objetiva frente a las volumetrías con indicadores químicos. Además de la mejora significativa en la precisión de la determinación del punto de equivalencia.
- Esta técnica analítica cuenta con diversas aplicaciones en diferentes ámbitos. En el campo farmacéutico y medioambiental se ha aplicado con éxito en diferentes problemas analíticos. A veces, la valoración fotométrica ha sustituido a otros métodos que son menos precisos y/o sensibles en la determinación del analito.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal DP, Blake MI. Analysis of Certain Phenothiazines and Their Dosage Forms by Photometric Titration with Ceric Sulfate. Drug Standards. 1969. 1011- 1013.
- Close RA, West TS. Photometric Titration of Calcium in Blood Serum with Acid Alizarin Black sn as Metallochromic indicator. Anal. Chim. Acta, 23. 1960; 370- 374

- Day RA, Underwood AL. Química Analítica Cuantitativa. 5ª ed. Prentice Hall Hispanoamérica; 1989.
- Connors KA. Curso de Análisis Farmacéutico (Ensayo del Medicamento). Barcelona: Reverte, 1981.
- Connors KA, Eriksen SP. Photometric Titration. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1964. 465- 479
- Harris. D. Análisis Químico Cuantitativo. 3º ed. Barcelona: Reverte; 2007.
- Headrige J B. Photometric titrations. Nueva York: Pergamon Press; 1961.
- Jagner D. The determination of sulphate in sea water by means of photometric titration with hydrochloric acid in dimethyl sulphoxide. 1970; 483- 490.
- Mercado R, Salager JL, Celis MT, Avendaño J. Volumetría de determinación espectrofotométrica de un surfactante catiónico tipo diamina, mediante la formación de un complejo coloreado. Revista Ciencia e Ingeniería. Vol 31. 2010; 177-182
- Olsen E. Métodos óptimos de análisis. 2ª ed. Barcelona: Reverte; 1990
- Quesada. S. Manual de experimentos de laboratorio para bioquímica. 1ª ed. San José, Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia; 2007.
- Pérez P, Andrea C, Zamora V, Ana K. Comparación de los métodos de titulación potenciométrico y fotométrico para la determinación de paracetamol en medicamentos. Universidad Rafael Urdaneta. Facultad de Ingeniería Escuela de Ingeniería Química. Maracaibo, Venezuela (2015) pag. 104
- Pino Pérez F, Pérez Bendito D. Análisis de Elementos-traza por Espectrofotometría de Absorción Molecular UV-Visible. 1ª ed. Córdoba: Publicaciones de la universidad de Sevilla y monte de piedad y caja de ahorros de Córdoba; 1983.
- Roca P, Oliver J, Rodríguez AM. Bioquímica: Técnicas y métodos. 1ª ed. Madrid: Hélice; 2003.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ. Fundamentos de Química Analítica. 4ª ed. Barcelona: Reverte; 1997.
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principios de Análisis Instrumental. 5ª edición. McGraw-Hill; 2003.

- Thethi K, Jurasz P, MacDonald AJ, Besfus AD, Man SFP, Duszyk M. Determination of cell surface charge by photometric titration. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 1997; 137-145.
- Villegas Casare WA, Acereto Escoffié PO, Vargas Quiñones, ME. Análisis ultravioleta-visible. La teoría y la práctica en el ejercicio profesional. 1º ed. Mérida, México, Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán, 2006.
- Ziolkowska D, Kaniewska A, Lamkiewicz J, Schyichuk A. Determination of carrageenan by means of photometric titration with Methylene Blue and Toluidine Blue dyes. *UTP.* 85-326.