



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**GRADO EN BIOQUÍMICA**

**ANÁLISIS QUÍMICO**

**1<sup>er</sup> CURSO (2<sup>o</sup> Cuatrimestre)**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**



# PRÁCTICA 1

## HERRAMIENTAS Y OPERACIONES BÁSICAS EN EL LABORATORIO BIOANALÍTICO

### INTRODUCCIÓN

Todos los instrumentos de medida que se utilizan en el laboratorio tienen algún tipo de escala para medir una magnitud, en el caso del material de vidrio volumétrico, dicha magnitud es el volumen.

Los fabricantes generalmente certifican que el volumen liberado o contenido en dicho material se halla dentro de cierto margen respecto de la cantidad verdadera. Por ejemplo: Supongamos una pipeta aforada de clase A que está certificada para verter  $10,00 \pm 0,02$  mL si se usa de forma adecuada. Sin embargo, a través de una serie de ensayos observamos que el volumen vertido es de  $10,20 \pm 0,04$  mL. Concluimos por tanto que dicha pipeta vierte una media de 0,20 mL más que el volumen indicado por el fabricante.

Por tanto, si se requiere trabajar con gran exactitud, el material de vidrio volumétrico debe ser calibrado para conocer el volumen que realmente contiene o puede transvasar un determinado recipiente.

¿Cómo se lleva a cabo dicho proceso? El material volumétrico de vidrio se calibra midiendo la masa de un líquido (generalmente, agua destilada) de densidad y temperatura conocida, que se halla contenida en (o es transferida por) el material volumétrico. Dado que la densidad del agua varía con su temperatura (Tabla 1), el agua destilada empleada para calibrar debe estar en equilibrio térmico con el ambiente en el que se encuentre. Esta situación se alcanza recogiendo para la calibración con anterioridad, anotando su temperatura a intervalos frecuentes y esperando hasta que no se aprecien cambios de temperatura en ella.

El vidrio se expande o se contrae con la temperatura, si sometemos el material de vidrio a temperaturas muy elevadas las moléculas del vidrio se expanden, mientras que si lo sometemos a muy bajas temperaturas las moléculas del vidrio se contraen, descalibrando de esta manera el material de vidrio. Es por eso, que se debe trabajar a temperaturas cercanas a la cual recomienda el fabricante.

## OBJETIVOS

- Familiarizarse con el manejo del material volumétrico, testando la precisión en dicho manejo a nivel individual.
- Aprender a calibrar distintos tipos de material volumétrico.
- Aplicar el concepto de intervalo de confianza para la calibración de material volumétrico.

## MATERIAL

- Matraz aforado de 50 mL
- Bureta de 25 mL
- Pipeta aforada de 10 mL
- Balanza de precisión
- 5 Vasos de precipitados de 100 mL

**Tabla 1. Densidad del agua**

T (°C)	Densidad (g/mL)	Volumen de 1 g de agua (mL)	
		A la T mostrada <sup>a</sup>	Corregido a 20 °C <sup>b</sup>
10	0,9997026	1,0014	1,0015
11	0,9996084	1,0015	1,0016
12	0,9995004	1,0016	1,0017
13	0,9993801	1,0017	1,0018
14	0,9992474	1,0018	1,0019
15	0,9991026	1,0020	1,0020
16	0,9989460	1,0021	1,0021
17	0,9987779	1,0023	1,0023
18	0,9985986	1,0025	1,0025
19	0,9984082	1,0027	1,0027
20	0,9982071	1,0029	1,0029
21	0,9979955	1,0031	1,0031
22	0,9977735	1,0033	1,0033
23	0,9975415	1,0035	1,0035
24	0,9972995	1,0038	1,0038
25	0,9970479	1,0040	1,0040
26	0,9967867	1,0043	1,0042
27	0,9965162	1,0046	1,0045
28	0,9962365	1,0048	1,0047
29	0,9959478	1,0051	1,0050
30	0,9956502	1,0054	1,0053

<sup>a</sup> Corregido por efecto boya

<sup>b</sup> Corregido por efecto boya y la dilatación del vidrio de borosilicato

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### A. CALIBRACIÓN DE UN MATRAZ AFORADO DE 50 mL

Un matraz volumétrico está calibrado para contener un volumen determinado de disolución a 20 °C cuando la base del menisco toca el centro de la señal de enrase del cuello del matraz. La mayoría de los matraces llevan grabado "TC 20 °C" que significa "contenedor a 20 °C". Otros tipos de material de vidrio, como por ejemplo la pipeta y la bureta, están calibrados para verter "TD 20 °C".

Los matraces aforados para su calibración deben estar limpios y secos, de no ser así se recomienda tras su lavado escurrirlos bien y secarlos a temperatura ambiente.

1. Pese el matraz "limpio y seco", el valor obtenido será el empleado en todas las filas de la columna tercera de la correspondiente tabla a rellenar.
2. Llénelo hasta la marca con agua destilada y vuelva a pesar.
3. Repita este proceso de llenado y pesada hasta completar 5 ensayos.
4. Calcule el volumen real contenido en el matraz con ayuda de la Tabla 1.

Ensayo	Masa matraz lleno (g)	Masa matraz vacío (g)	Diferencia (g)	Volumen real contenido (mL)
1				
2				
3				
4				
5				

Expresa el volumen real contenido en el matraz como el valor medio de las experiencias realizadas  $\pm$  la desviación estándar asociada.

Valor medio $\pm$ desviación estándar (mL)	
--	--

Expresa la precisión de los resultados obtenidos en forma de RSD (%):

La calibración del matraz aforado (clase A) debe estar en un margen de error de  $\pm 0.05$  mL. De acuerdo con sus resultados experimentales calcule el intervalo de confianza al 95%, comprobando si dicho intervalo incluye el intervalo teórico suministrado por el fabricante.

Intervalo teórico, mL	Intervalo de confianza obtenido, mL

## B. CALIBRACIÓN DE UNA BURETA DE 25 mL

1. Llene la bureta con agua destilada y elimine las burbujas que pueda haber en zona cercana a la llave. Ajuste el menisco exactamente a 0,00 mL y tocando con la punta de la bureta la pared de un vaso elimine la gota suspendida de agua. Deje 5 minutos la bureta en reposo, mientras se pesa un vaso de precipitados de 100 mL, "limpio y seco". Si mientras tanto hubiese variado el nivel del líquido en la bureta, apriete la llave y ajuste de nuevo el nivel a 0,00 mL.
2. Vierta 5 mL de agua (a una velocidad de alrededor de 10 mL/min) al vaso previamente pesado. Acerque la punta de la bureta a la pared del vaso de precipitados. Deje unos 30 s que descienda la película de agua de las paredes internas de la bureta y tome la lectura exacta de volumen con una aproximación de 0,01 mL.
3. Pese el vaso de precipitados para determinar la cantidad de agua vertida en volumen con ayuda de la Tabla 1.
4. Vierta otros 5 mL drenando ahora la bureta desde 5 mL (o el volumen exacto que hubiese quedado en el drenaje anterior) hasta 10 mL, en otro vaso de precipitados vacío, previamente pesado. Obtenga la masa vertida, de nuevo por diferencia entre la masa del vaso de precipitados con agua y vacío, dejando siempre 30 s para tomar la lectura exacta de volumen en la escala de la bureta.
5. Convierta la masa de agua en volumen vertido a través de la Tabla 1.
6. Vierta otros 5 mL drenando ahora la bureta desde 10 mL (o el volumen exacto que hubiese quedado en el drenaje anterior) hasta 15 mL, en otro vaso de precipitados vacío previamente pesado. Obtenga la masa vertida, de nuevo por diferencia entre la masa del vaso de precipitados con agua y vacío, dejando siempre 30 s para tomar la lectura exacta de volumen en la escala de la bureta.

7. Convierta la masa de agua en volumen vertido a través de la Tabla 1.

	Ensayo		
	1	2	3
Lectura final (mL)			
Lectura inicial (mL)			
Diferencia (mL)			
Masa vaso lleno ( g)			
Masa vaso vacío (g)			
Diferencia (g)			
Volumen real vertido (mL)			

Considerando que la tolerancia relativa suministrada por el fabricante ( $\pm 0.05$  mL) es constante en todo el intervalo de volumen, indique si el volumen vertido se halla dentro de la tolerancia admitida por el fabricante.

Ensayo	1	2	3
Tolerancia admitida			
Volumen real vertido, mL			
Volumen incluido dentro de la tolerancia: SI/NO			

### C. CALIBRACIÓN DE UNA PIPETA AFORADA DE 10 mL

- No es necesario pesar ni secar la pipeta aforada a calibrar.

1. Pese un vaso de precipitados de 100 mL "limpio y seco".

2. Transfiera lentamente al vaso de precipitados con la pipeta el volumen de agua correspondiente de engrase a engrase. Si la pipeta fuese de un único aforo, no forzar la última gota que queda dentro de la punta de la pipeta a que caiga al vaso de precipitados.

3. Pese el vaso conteniendo el agua vertida y transforme la masa en volumen vertido a través de la Tabla 1.

4. Repita esta operación hasta completar 5 ensayos.

Ensayo	Masa vaso lleno (g)	Masa vaso vacío (g)	Diferencia (g)	Volumen real vertido (mL)
1				
2				
3				
4				
5				

Expresar el volumen real vertido por la pipeta como el valor medio de las experiencias realizadas  $\pm$  la desviación estándar asociada.

Valor medio $\pm$ desviación estándar (mL)	
--	--

Expresar la precisión de los resultados obtenidos en forma de RSD (%):

La calibración de la pipeta aforada de 10 mL (clase A) debe hallarse en un margen de error de  $\pm 0.02$  mL. De acuerdo con sus resultados experimentales calcule el intervalo de confianza al 95%, comprobando si dicho intervalo incluye el intervalo teórico suministrado por el fabricante.

Intervalo teórico, mL	Intervalo de confianza obtenido, mL

## PRÁCTICA 2

### DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN COMPRIMIDOS MEDIANTE VOLUMETRÍA ÁCIDO-BASE

#### INTRODUCCIÓN

El ácido acetilsalicílico (AAS,  $C_9H_8O_4$ ), que es el ácido orto aceto benzóico o el éter acético de ácido salicílico, es un compuesto químico sintético que se obtiene a partir del ácido salicílico (ácido o-hidroxibenzoico), obteniéndose este último originariamente de la corteza del sauce (*Salix*). Las estructuras químicas de ambos compuestos se muestran en la Figura 1.

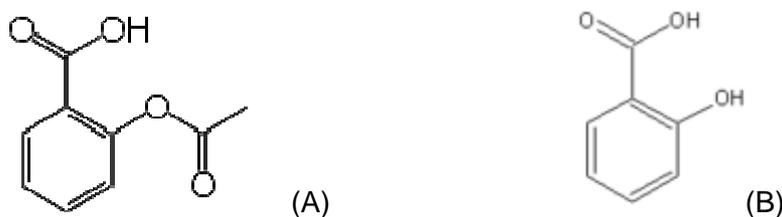


Figura 1. Fórmula del ácido acetilsalicílico (A) y del ácido salicílico (B)

El AAS se usa como antiinflamatorio, analgésico, para el alivio del dolor leve y moderado, como antipirético para reducir la fiebre y como antiagregante plaquetario indicado para personas con alto riesgo de coagulación sanguínea. Dado su poder germicida, también se usa en champú y aceites destinados a combatir enfermedades de la piel. Actualmente cerca del 60% de la producción mundial de AAS se usa en la preparación del fármaco Aspirina<sup>®</sup>, usado como analgésico y antipirético.

En esta práctica se determinará el contenido de AAS mediante una volumetría ácido-base, empleando hidróxido sódico como reactivo valorante. El NaOH es una base fuerte ya que la reacción con el disolvente es suficientemente completa, de forma que no deja en la disolución acuosa moléculas no disociadas de soluto. Las disoluciones de NaOH se usan con mucha frecuencia en valoraciones ácido-base; sin embargo, dado que este reactivo no posee las propiedades requeridas para un estándar primario, la disolución ha de ser estandarizada de forma previa a su uso como reactivo valorante. Para ello se hace uso del estándar primario ftalato ácido de

potasio, sustancia que pierde un protón para ser neutralizado con el reactivo valorante, según la reacción indicada en la Figura 2.

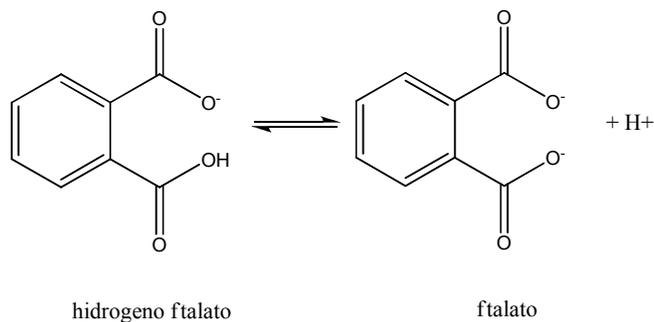


Figura 2. Reacción de desprotonación del anión biftalato

Para detectar el punto final de la valoración suele emplearse el indicador químico fenolftaleína. Este compuesto es un indicador ácido-base muy adecuado para la valoración que se va a llevar a cabo en la presente práctica (ácido débil – base fuerte) ya que su intervalo de viraje es 8,3-10. Cuando el pH del medio es inferior a 8,3 la fenolftaleína es incolora mientras que a pH superior a 10 toma color rosa, sufriendo la reacción mostrada en la Figura 3.

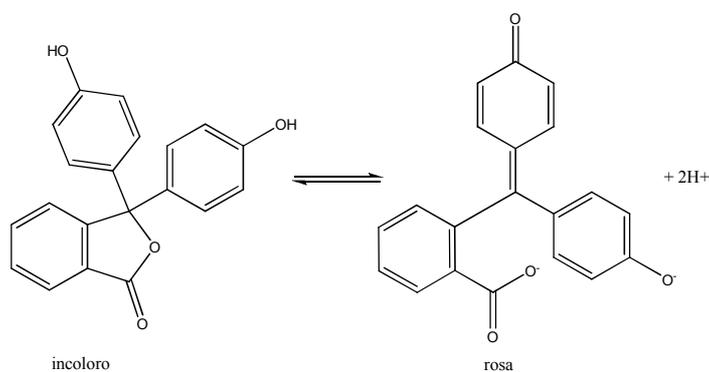


Figura 3. Reacción de desprotonación de la fenolftaleína

## OBJETIVOS

- Aprender a estandarizar disoluciones de NaOH para su uso como reactivo valorante en volumetrías.
- Familiarizarse con los cálculos propios de las técnicas volumétricas.
- Aprender a determinar el contenido de ácido acetilsalicílico en un fármaco mediante una volumetría ácido-base con detección del punto final mediante indicador químico.

- Verificar que el contenido de AAS en el fármaco responde al valor promedio de los resultados alcanzados en el análisis.

## REACTIVOS

Hidróxido sódico, ftalato ácido de potasio, fenolftaleína, etanol.

## PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

- Disolución de NaOH 0,05 M. Calcule los gramos de hidróxido sódico que ha de pesar para preparar 0,25 L de una disolución 0,05 M. Esta cantidad no es necesario pesarla con precisión ya que se valorará posteriormente. Se puede utilizar el granatario para la pesada.
- Disolución de biftalato potásico 0,05 M. Calcule los gramos de biftalato potásico que han de pesarse para preparar 100 mL de una disolución 0,05 M. Esta cantidad es necesario pesarla con precisión y disolverla evitando pérdidas a volumen exacto, ya que es una concentración de referencia. Utilice la balanza analítica para la pesada.

Masa real, g	
Molaridad, M	

- Disolución de fenolftaleína. Disolver 0,05 g de fenolftaleína (pesados en granatario) en 50 mL de etanol. Posteriormente añadir 50 mL de agua destilada.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 1. Estandarización de la disolución de NaOH

Se coloca la disolución de NaOH en la bureta evitando la presencia de burbujas de aire en su interior, especialmente en el tramo que va desde la llave hasta el orificio de salida. Ajuste el nivel a cero. Coloque en un vaso de precipitado 10 mL de disolución de hidrógeno ftalato de potasio, medidos con pipeta de doble enrase, añadir 3 gotas de indicador y comenzar a valorar con NaOH 0,05 M agitando con la varilla para conseguir una buena homogeneización de la mezcla sin que se produzcan salpicaduras al exterior. No retirar la varilla sin enjuagarla para evitar pérdidas de

analito. Detener la valoración cuando aparezca una coloración rosa permanente durante unos 10 segundos. Anotar el volumen gastado y realizar los cálculos pertinentes para conocer la concentración exacta de la disolución de NaOH. Repita este proceso tres veces. Los volúmenes de valorante gastado en cada una de las tres valoraciones no deben diferenciarse en más de 0,1 mL.

Valoración	Volumen de valorante gastado, mL
1	
2	
3	
Valor medio	

## 2. Preparación de la muestra

Pulverice el comprimido de Aspirina, disuélvalo en etanol y enrase finalmente la disolución hasta 100 mL en matraz aforado, también con etanol.

## 3. Determinación de AAS en el producto farmacéutico

Tome una alícuota de 20 mL de la disolución de la muestra (medida con pipeta de doble enrase) y transfírela a un vaso de precipitados, añadiendo seguidamente 3 gotas de fenolftaleína y valorándola con la disolución de hidróxido sódico 0,05 M previamente estandarizada. Lleve a cabo esta valoración por triplicado.

Valoración	Volumen de valorante gastado, mL
1	
2	
3	
Valor medio	

## RESULTADOS

- 1) Promedie el volumen gastado en las tres valoraciones para la estandarización de la base.
- 2) Calcule la concentración exacta de la disolución de NaOH, expresando el resultado en concentración molar.
- 3) A partir de los datos obtenidos en la valoración de la muestra, calcule el contenido de ácido acetilsalicílico por comprimido.
- 4) Contraste si el valor hallado se encuentra en concordancia con el suministrado por el fabricante (500 mg).

## PRÁCTICA 3

### DETERMINACIÓN DE LA DUREZA DEL AGUA POR VALORACIÓN CON EDTA

#### INTRODUCCIÓN

El contenido salino de las aguas potables es debido principalmente a las sales de calcio y magnesio y, por esta razón, las normativas legales especifican métodos oficiales para la determinación de las concentraciones de Ca(II), Mg(II) y de la suma de ambos (dureza del agua). Ambos iones se determinan mediante dos volumetrías de formación de complejos utilizando la sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (Na<sub>2</sub>-EDTA) como agente complejante y un indicador metalocrómico para detectar el punto final.

En medio alcalino, el EDTA forma complejos estables con ambos iones pero la constante de formación del complejo de Ca(II) es mayor que la del Mg(II). Los indicadores metalocrómicos a utilizar son la murexida para el calcio y el negro de eriocromo T (NET) para el magnesio.

A pH entre 12 y 13, la murexida forma con el ion Ca(II) un complejo de color rosado, menos estable que el complejo Ca-EDTA, por lo que al añadir EDTA, en primer lugar se compleja el ion libre y después lo hace el calcio del complejo Ca-murexida y, cuando todo el calcio ha reaccionado, se produce el cambio de color de la disolución al color del indicador libre (violeta azulado en medio alcalino).

Si a otra muestra de agua, llevada a pH 10, se añade NET, aparece un color rojo vinoso del complejo del Mg(II) con el indicador, el cual es menos estable que el complejo del mismo ion con el EDTA por lo que, al añadir el valorante, en primer lugar se compleja el Ca(II), a continuación el Mg(II) libre y, por último, se produce el desplazamiento del Mg del complejo con el indicador y la disolución cambia a un color azul celeste.

La diferencia entre los volúmenes de valorante gastados en ambas volumetrías permite determinar la concentración de Mg(II).

La normativa legal vigente en España exige expresar las concentraciones de calcio y magnesio en miligramos de cada ion contenidos por litro de agua (ppm) y la dureza del agua como la suma de las dos concentraciones anteriores expresadas en mg de CaCO<sub>3</sub> contenidos en un litro de agua. La mayoría de los suministros de agua

potable tienen un promedio de 250 mg/L de dureza. Niveles superiores a 500 mg/L son indeseables para uso doméstico.

## OBJETIVOS

- Comprobar la aplicación de una técnica volumétrica clásica sencilla para el control de calidad de muestras de agua.
- Evaluar el empleo del EDTA como reactivo valorante y la determinación del punto final visual con indicadores metalocrómicos.
- Determinar la dureza del agua como contenido de calcio y magnesio y la dureza total por valoración de formación de complejos.
- Verificar que la dureza del agua analizada se encuentra por debajo de los niveles permitidos en aguas potables.

## REACTIVOS

Na<sub>2</sub>EDTA, cloruro amónico, amoníaco, sulfato de magnesio, hidróxido sódico, NET, clorhidrato de hidroxilamina, etanol, murexida y cloruro sódico.

## PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

- Disolución de EDTA 0,01 M. Calcule los gramos de Na<sub>2</sub>-EDTA, previamente desecado en una estufa a 80 °C, que ha de pesar para preparar 100 mL de disolución. Es necesario pesar esta cantidad con exactitud en la balanza analítica ya que el EDTA es un estándar primario. Diluir con agua destilada en un matraz aforado de 100 mL.
- Disolución reguladora de pH 10. Disolver 67,5 g de cloruro amónico en 570 mL de amoníaco (d=0,88 g/mL) y diluir a 950 mL con agua destilada. Añadir a esta disolución otra obtenida disolviendo 0,616 g de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O y 0,930 g de Na<sub>2</sub>EDTA en 50 mL de agua destilada. Solamente se prepara una disolución por mesa de laboratorio.
- Disolución de NaOH 4 M. Disolver 16 g de NaOH en agua destilada y llevar a un volumen de 100 mL. Se utiliza el granatario para la pesada.

- Disolución de NET. Disolver 0,5 g de NET y 4,5 g de clorhidrato de hidroxilamina en 100 mL de etanol. Solamente se prepara una disolución por mesa de laboratorio.
- Murexida. Mezclar 0,20 g de murexida con 100 g de NaCl puro bien pulverizado. Solamente se prepara una mezcla por mesa de laboratorio.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA VALORACIÓN

- A. **Dureza total.** Se miden 10 mL de la muestra de agua (con pipeta de doble enrase) y se transfieren a un vaso de cristal. Se añade 1 mL de disolución reguladora de pH 10 y 3 gotas de la disolución de NET y se homogeneiza la mezcla con una varilla de vidrio. Se añade, gota a gota y agitando con la varilla, la disolución de EDTA hasta el cambio de color del rojo al azul. No retire la varilla sin enjuagarla. Esta valoración se hace por triplicado.
- B. **Determinación de calcio.** Se miden 10 mL de la muestra de agua (con pipeta de doble enrase) y se transfieren a un vaso de cristal. Se añade 1 mL de disolución de NaOH 4 M y unos cristales de murexida. Agitar con la varilla de vidrio hasta homogeneizar la disolución y, a continuación, ir añadiendo, gota a gota y agitando con la varilla, la disolución de EDTA hasta el cambio de color del rosado al violeta azulado. La valoración se hace por triplicado.

## CÁLCULOS

### 1. Determinación de la concentración de EDTA

Determine la concentración de la disolución estándar primario de EDTA teniendo en cuenta la cantidad real de EDTA pesada

g EDTA	
Concentración EDTA (M)	

### 2. Determinación de la dureza total

Determine el volumen de la disolución estándar primario de EDTA empleada en la valoración de la suma de Ca(II) y Mg(II)

Muestra	Volumen de EDTA (mL)
1	
2	
3	
Promedio	

### 3. Determinación de calcio

Determine el volumen de la disolución estándar primario de EDTA empleada en la valoración de Ca(II)

Muestra	Volumen de EDTA (mL)
1	
2	
3	
Promedio	

### 4. Determinación de magnesio

Determine el volumen de la disolución estándar primario de EDTA empleada en la valoración de Mg(II)

Muestra	Volumen de EDTA (mL)
Promedio	

### 5. Determinación de las concentraciones de calcio y magnesio

Calcule las concentraciones de Ca(II) y Mg(II) del agua de la muestra expresadas en mg de ion/L y la dureza en mg CaCO<sub>3</sub>/L.

mg Ca <sup>2+</sup> /L	
mg Mg <sup>2+</sup> /L	
Dureza, mg CaCO <sub>3</sub> /L	

6. De acuerdo con los resultados obtenidos, ¿se halla el valor de dureza total encontrado dentro de los niveles permitidos para aguas potables?

## PRÁCTICA 4

### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CLORURO EN SUERO FISIOLÓGICO MEDIANTE VOLUMETRÍA DE PRECIPITACIÓN

#### INTRODUCCIÓN

El **suero fisiológico** es una disolución acuosa de sustancias compatibles con los organismos vivos debido a sus características definidas de osmoticidad, pH y fuerza iónica. Está compuesto de agua y electrolitos, y a veces, además de distintas sustancias, como glucosa. Se emplea en las curaciones de perforaciones en la piel, en vómitos constantes (oralmente) y en obstrucciones nasales. El cálculo del contenido de cloruro en este tipo de muestra constituye el objeto de esta práctica.

La determinación volumétrica de cloruros se basa en su reacción de precipitación con el ión plata (I). El punto final de la valoración se detecta con la aparición de un segundo precipitado. El indicador es el cromato de potasio (Método de Mohr): En presencia de plata (I) aparece un precipitado rojo de cromato de plata, fácil de apreciar frente al color blanco del cloruro de plata y al amarillo del indicador. El pH de la disolución de valoración debe estar comprendido entre 7 y 10.

Por otro lado, el ión plata (I) se reduce fácilmente a plata metálica por la acción directa de la luz solar, por lo que es conveniente realizar las valoraciones lo más rápidamente posible y, preferiblemente en lugares con iluminación difusa.

La intensa coloración del indicador obliga a añadir una cantidad inferior a la que teóricamente sería necesaria para que el punto final coincidiera con el punto de equivalencia, ya que en caso contrario sería difícil de apreciar la aparición del precipitado rojo. Esto provoca que el punto final se observe después de añadir una cantidad de valorante superior a la estequiométrica; este error se subsana fácilmente mediante la realización de un blanco.

#### OBJETIVOS

- Comprobar la aplicación de una técnica volumétrica clásica sencilla para el cálculo del contenido de anión cloruro en una disolución acuosa.

- Evaluar el empleo del nitrato de plata como reactivo valorante y la determinación del punto final visual por aparición de un precipitado coloreado.
- Evaluar la importancia de la valoración del blanco del indicador en aplicaciones del Método de Mohr.
- Verificar que el contenido salino obtenido en la muestra de suero analizada se halla en concordancia con el valor suministrado por el fabricante.

## MATERIAL Y REACTIVOS

- Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ )
- Hidrogenocarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ )
- Cromato de potasio ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ).
- Carbonato cálcico ( $\text{CaCO}_3$ )

## PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

- **Disolución de nitrato de plata 0,01 M.** Se calcula la masa, en gramos, de nitrato de plata necesaria para preparar 100 mL de disolución 0,01 M. Se pesa dicha cantidad en balanza de precisión, se disuelve con extremo cuidado en agua destilada y se trasvasa al matraz aforado de 100 mL enrasando con agua hasta la marca. La disolución debe mantenerse en frasco topacio protegida de la luz. ( $M_{\text{AgNO}_3}=169.87 \text{ g/mol}$ )

Masa real, g	
Molaridad, M	

- **Disolución de cromato potásico 2% (m/v).** Se calcula la masa de cromato potásico necesaria para preparar 50 mL de disolución al 2% (m/v). Se pesa dicha cantidad en granatario, se disuelve en agua destilada y se añade agua hasta 50 mL aproximadamente.

Masa, g	
---------	--

- **Dilución de la muestra.** A continuación se toman con pipeta aforada 10 mL del suero fisiológico proporcionado y se diluyen hasta 100 mL con agua bidestilada en matraz aforado.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### Valoración del contenido de anión cloruro en la muestra

Se colocan 10 mL (con pipeta aforada) del suero previamente diluido en un vaso de precipitados y se comprueba que el pH sea del orden de 8, agregando hidrogenocarbonato de sodio si fuese necesario. Seguidamente se añaden 5 mL del indicador (con pipeta aforada) y se valora con la disolución Ag (I). Lleve a cabo la valoración por triplicado.

Valoración	Volumen de valorante gastado, mL
1	
2	
3	
Valor medio	

En principio el punto final correcto es aquel en que la disolución, de color amarillo y con un precipitado blanco, cambia a un color naranja. Sin embargo, no hay inconveniente en tomar como punto final un color rojo más intenso, ya que el error cometido se compensa mediante el blanco del indicador.

- **Blanco del indicador:** Se colocan 10 mL (con pipeta aforada) de agua bidestilada en un vaso de precipitados, se agrega una punta de carbonato cálcico (un sólido blanco, insoluble en agua) y 5 mL (con pipeta aforada) de cromato de potasio al 2% (m/v) y se valora esta disolución con el nitrato de plata patrón hasta que adquiera el color tomado como punto final en la valoración de la muestra. Lleve a cabo la valoración del blanco por triplicado.

Valoración	Volumen de valorante gastado, mL
1	
2	
3	
Valor medio	

El volumen de disolución valorante necesario para la formación del cromato de plata se resta de volumen gastado en la valoración de la muestra:

Volumen medio valorante para muestra, mL	
Volumen medio valorante para blanco, mL	
Volumen neto para la muestra, mL	

1. Calcule la concentración de anión cloruro así como de cloruro sódico (en % m/v) en el suero fisiológico.

Concentración de $\text{Cl}^-$ , % (m/v)	
Concentración de NaCl, % (m/v)	

2. Contraste si el resultado obtenido se halla en concordancia con el valor suministrado por el fabricante.

## PRÁCTICA 5

### DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN UN PREPARADO FARMACÉUTICO MEDIANTE VOLUMETRÍA REDOX

#### INTRODUCCIÓN

El ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ) es un azúcar con propiedades antioxidantes (Figura 1). El enantiomero L del ácido ascórbico se conoce como vitamina C, tratándose de una vitamina hidrosoluble esencial para los mamíferos, cuya deficiencia provoca escorbuto en humanos. Los humanos, debido a la ausencia del enzima L-gulonolactona oxidasa, no pueden sintetizar esta vitamina, de modo que debe ser ingerida a través de los alimentos (principalmente cítricos y verduras frescas). La vitamina C es necesaria para la síntesis del colágeno y de los glóbulos rojos, contribuye al buen funcionamiento del sistema inmunitario y también juega un papel importante en el metabolismo del hierro.

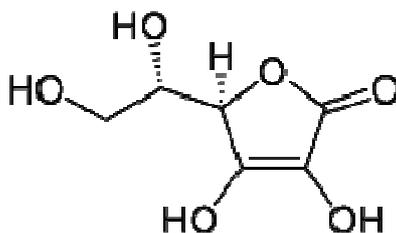


Figura 1. Fórmula del ácido ascórbico (AA)

La vitamina C se usa sobre todo como suplemento nutricional y además con fines terapéuticos, ya que administrada bajo una forma adecuada puede prevenir y a menudo curar enfermedades como la gripe. Esta vitamina apoya el sistema inmune, incrementando la concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo. El ácido ascórbico puede ser administrado por vía oral, intramuscular, subcutánea e intravenosa. Por vía oral, la vitamina C se absorbe a través de un proceso de transporte activo, siendo muy amplia su distribución, aunque las mayores concentraciones se observan en los tejidos glandulares. La mayor parte del ácido ascórbico se oxida de forma reversible a ácido dehidroascórbico (Figura 2), siendo el resto transformado en metabolitos inactivos que se excretan en la orina. Cuando existe

un exceso de ácido ascórbico en el organismo, se elimina sin metabolizar, lo que sirve para determinar analíticamente si existe o no un estado de saturación de vitamina C.

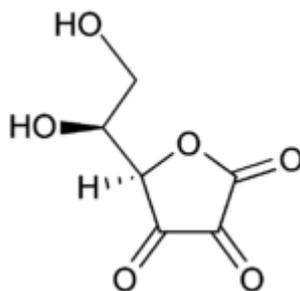
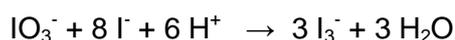


Figura 2. Fórmula del ácido dehidroascórbico (DHA)

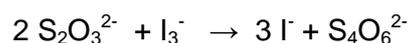
El ácido ascórbico es un agente reductor suave que es oxidado por el yodo en medio ácido de forma rápida y cuantitativa. Para su determinación mediante valoración redox, en primer lugar se genera un exceso conocido de anión triyoduro mediante la reacción en medio ácido de yodato (patrón primario) con un exceso de yodo:



Seguidamente se deja que transcurra la reacción entre el triyoduro generado y el ácido ascórbico:



Finalmente se valora el exceso de triyoduro con una disolución patrón de tiosulfato. Se aplica por tanto una valoración por retroceso.



## OBJETIVOS

- Comprobar la aplicación de una técnica volumétrica por retroceso para análisis de vitamina C.
- Evaluar el empleo del anión tiosulfato como valorante y la determinación del punto final con indicadores redox.
- Determinar el contenido de vitamina C en un preparado farmacéutico por valoración redox.

- Verificar que el contenido de principio activo de un medicamento responde al valor promedio de los resultados alcanzados en el análisis.

## REACTIVOS

Yodato potásico, yoduro potásico, tiosulfato potásico pentahidratado, almidón y ácido sulfúrico.

## PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

- Disolución de yodato potásico 0,01 M. Calcule la masa de yodato potásico que ha de pesar para preparar 100 mL de dicha disolución. Esta cantidad es necesario pesarla con precisión y disolverla evitando pérdidas a volumen exacto, ya que es una concentración de referencia. Utilice la balanza analítica para la pesada. Calcule la concentración exacta de la disolución preparada.

Masa real, g	
Molaridad, M	

- Disolución de tiosulfato sódico 0,05 M. Calcule los gramos de tiosulfato sódico pentahidratado que ha de pesar para preparar 250 mL de disolución. Efectúe la pesada en granatario, disuelva en agua desionizada y enrase en matraz aforado.
- Indicador de almidón. Forme una pasta con 20 g de almidón y 20 mL de agua. Vierta la pasta sobre 200 mL de agua hirviendo y deje enfriar.
- Disolución de ácido sulfúrico 0,5 M. Calcule el volumen de ácido sulfúrico concentrado necesario para preparar 200 mL de dicha disolución. Vierta lentamente y con mucha precaución el volumen de ácido calculado sobre unos 150 mL de agua desionizada y complete posteriormente con agua desionizada hasta un volumen de 200 mL.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

- **Factoración de la disolución de tiosulfato.** Vierta en un vaso de precipitados de 100 mL una alícuota de 10 mL de yodato potásico, tomada con pipeta de doble enrase. Seguidamente añada 0,4 g de yoduro potásico y 2 mL de la disolución de ácido sulfúrico 0,5 M. Coloque la disolución de tiosulfato en la bureta y comience a valorar hasta que la disolución contenida en el vaso de precipitados pierda casi todo su color, quedando un amarillo pálido. A continuación añada 0,4 mL del indicador de almidón y siga valorando hasta que pierda totalmente el color azul. Realice la valoración por triplicado. Calcule la concentración exacta de la disolución preparada.

Valoración	Volumen de valorante gastado, mL
1	
2	
3	
Valor medio	

- **Preparación de la muestra.** Pese en un vaso el contenido de un sobre del preparado farmacéutico utilizando la balanza analítica. Disuélvalo en agua bidestilada y lleve a un volumen final de 1 L en matraz aforado.
- **Determinación de ácido ascórbico en el producto farmacéutico.** Tome una alícuota de 20 mL de dicha disolución (con pipeta de doble enrase) y transfírala a un vaso de precipitados, añadiendo seguidamente 0,4 g de yoduro potásico, 10 mL de la disolución de yodato potásico (medidos con pipeta de doble enrase) y 2 mL de la disolución de ácido sulfúrico 0,5 M. Valore de forma similar al procedimiento indicado en el apartado anterior, añadiendo el almidón cuando quede poco yodo. Lleve cuidado de no añadir el almidón demasiado tarde, ya que uno de los excipientes del compuesto farmacéutico

imparte a la disolución un ligero color amarillo. Lleve a cabo esta valoración por triplicado.

Valoración	Volumen de valorante gastado, mL
1	
2	
3	
Valor medio	

## RESULTADOS

- 1) A partir de los datos obtenidos en la primera valoración, calcule la concentración molar de la disolución de tiosulfato.
- 2) A partir de los datos obtenidos para la valoración de la muestra, calcule el contenido de ácido ascórbico en cada sobre del producto farmacéutico.
- 3) Calcular el promedio y la reproducibilidad el análisis expresado en términos de desviación estándar relativa (RSD, %).
- 4) Constatar si el contenido de ácido ascórbico encontrado se halla en concordancia con el valor suministrado por el fabricante (1 g de AA/sobre).