

CAPITULO 8

DETERMINACIÓN DE AGUA

Claudia Marano

Introducción

El agua merece especial atención porque usualmente se debe indicar el contenido de humedad de una muestra analítica. En las muestras líquidas, el agua puede considerarse como diluyente o como impureza.

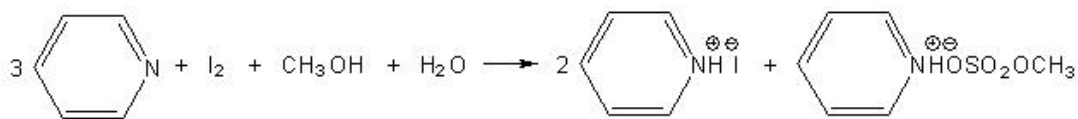
Las sales de ácidos inorgánicos y orgánicos así como otros compuestos cristalinos pueden retener agua de diferentes formas:

- ◆ Agua enlazada
- ◆ Agua adherida o libre

El agua libre (no enlazada) es humedad adsorbida en la superficie del sólido, y el agua enlazada es agua de cristalización (agua de hidratación). Por consiguiente, se tiene al agua libre como una impureza, mientras que el agua enlazada, aunque en realidad es un diluyente, de hecho forma parte de la estructura del cristal.

Determinación de agua por el método de Karl Fischer

La determinación de agua por el método de Karl Fischer se basa en la reacción cuantitativa entre el agua y un reactivo constituido por dióxido de azufre y yodo en presencia de metanol y una base orgánica como Piridina según la siguiente ecuación:



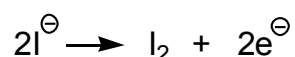
Existen dos métodos diferentes basados en la reacción con el Yodo:

- *Titulación volumétrica:* El yodo se disuelve en el reactivo y el contenido de agua es determinado midiendo la cantidad de yodo consumido como resultado de la reacción con el agua. Según el procedimiento empleado puede ser:

- *Titulación volumétrica directa*

- *Titulación Volumétrica por retorno.* En la titulación por retorno se agrega un exceso de reactivo, se espera un tiempo suficiente para que la reacción se complete y se titula el exceso de reactivo con una solución estándar de agua en metanol.

- *Titulación coulombimétrica:* El yodo es producido por la electrólisis de un reactivo de Karl Fischer que contiene el ion yoduro. El contenido de agua en una muestra se puede determinar midiendo la cantidad de electricidad que se requiere para producir yodo durante la titulación.



El sistema de producción de yodo se compone de un ánodo y un cátodo, separados por un diafragma. Se determina la cantidad de electricidad, $C =$ intensidad de corriente (A) x tiempo (s), requerida para la producción de yodo durante la titulación y se calcula el contenido de agua (%) en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$\%H_2O = \left[\frac{C}{10.72 \times P} \right] \times 100$$

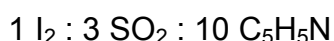
C = Cantidad de electricidad requerida para la producción de yodo

10,72 = Cantidad de electricidad requerida para producir Iodo por 1 mg de agua

P = Peso de muestra.

La reacción con el agua se desarrolla en dos pasos, la primera reacción es reversible y la piridina fuerza la posición del equilibrio hacia la derecha combinándose con el IH producido. La piridina también incrementa la estabilidad formando complejos de transferencia de carga con yodo y dióxido de azufre del reactivo.

Pueden ocurrir numerosas reacciones secundarias, consumiendo reactante. Las relaciones molares aproximadas en la preparación del reactivo de Karl Fisher son:



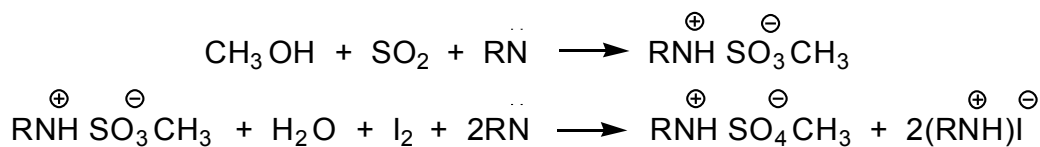
la fuerza del reactivo queda limitada a su contenido de yodo. La misma se expresa en mg de agua equivalente a 1 ml de reactivo y decrece rápidamente debido al consumo de yodo en las reacciones secundarias y deberá ser valorado periódicamente.

El reactivo se estandariza con cantidades conocidas de agua o con estándares primarios hidratos cristalinos (por ejemplo tartrato de sodio). Tales estándares deben cumplir con algunos requisitos:

- Ser comercialmente asequibles en calidad de reactivo de grado puro y poseer el contenido teórico de agua.
- Liberar cuantitativamente su agua por reacción con el reactivo de Karl Fisher en solución metanólica y no experimentar reacciones colaterales con el reactivo.
- Ser estables y no absorber humedad atmosférica en las condiciones ordinarias de almacenaje de un laboratorio.
- Se ha de poder determinar con exactitud su contenido de agua con un método independiente.

Dada la toxicidad de la piridina y el hecho de obtener mayor imprecisión en los resultados (la piridina no se acopla perfectamente ya que debido a su débil basicidad y su poca afinidad por el anión CH_3SO_3^- la velocidad de la reacción es muy lenta y el punto final de la valoración inestable), en la actualidad es remplazada por otras bases con mayor eficacia como por ejemplo el imidazol

que ha resultado ser la mejor base para la reacción de Karl Fisher ya que asegura una valoración rápida y exacta.



RN: Base

La segunda reacción es la reacción de óxido-reducción propiamente dicha. El anión del ácido metilsulfónico es oxidado a metilsulfato y el yodo reducido a yoduro. Esta reacción es instantánea y consume una molécula de agua por molécula de yodo.

La primera ecuación produce un producto intermedio del dióxido de azufre este último forma con el alcohol (habitualmente metanol) un éster, el anión del ácido metilsulfónico CH_3SO_3^- que es rápidamente neutralizado y estabilizado por la base. Esta reacción determina e impone su velocidad a la reacción de Karl Fisher. Es decir, es de gran importancia la base utilizada.

La reacción de Karl Fisher tiene un rango óptimo de pH entre 5-7 en el cual el curso de la reacción es rápido y estequiométrico.

Las valoraciones volumétricas se utilizan preferentemente en la determinación de grandes cantidades de agua 1-100 mg de agua.

La coulombimétrica es un micro-método adecuado en determinaciones de 1 μg -10 mg de agua.

Precauciones

- Es obligatorio que la bureta, la botella de almacenamiento y todas las conexiones estén perfectamente secas, el agua que puede haber en dichos lugares conduciría a resultados erróneos.
- El reactivo debe almacenarse en un sitio frío, protegido de la luz y la humedad.

Estandarización del reactivo.

El reactivo de Karl Fischer preparado por alguno de los métodos existentes, debe estandarizarse antes de cada uso, porque su actividad para la determinación de agua cambia con el tiempo.

Para la determinación de contenidos de agua mayores al 1% el reactivo puede estandarizarse con agua, exactamente pesada. El cálculo del Título del Reactivo, correspondiente a la cantidad de agua, en mg por ml de reactivo, es el siguiente

$$F = P/V$$

P: Cantidad de agua expresada en mg

V: volumen en ml de reactivo consumido en la titulación.

Para la determinación de agua menores al 1% el reactivo puede estandarizarse con tartrato de sodio ($C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$). El cálculo del factor de equivalencia, correspondiente a la cantidad de agua, en mg, por ml de reactivo, es el siguiente:

$$F = 2(18,02/230,08)(P/V)$$

Peso Molecular de agua: 18,02

Peso Molecular del tartrato de sodio di hidratado: 230,08

P: Peso en mg del tartrato

V: volumen en ml de reactivo consumido en la titulación

Técnica

Adición del solvente: en el vaso de valoración se añaden 20-30 ml de solvente (Ejemplo: metanol) dependiendo del tamaño de la muestra y de la celda, cerrar la celda para evitar al máximo la entrada de agua.

Pre-valoración: Se utiliza para eliminar el agua del disolvente y la humedad adherida dentro del recipiente.

Pesada de la muestra: El tamaño de la muestra depende de la cantidad de agua que contenga, del volumen de la bureta, del título del reactivo y de la exactitud deseada, es aconsejable utilizar la mitad del volumen de la bureta. ej: con una equivalencia de 5 mg H_2O/ml y una bureta de 20 ml una cantidad óptima de muestra será la que contenga 50 mg de agua.

Valoración del agua: Introducida la muestra se debe valorar inmediatamente, la velocidad de agregado del reactivo inicialmente es más rápida disminuyendo cerca del punto final. Una determinación clara del punto final es tan importante como la prevaloración.

Ensayo blanco: Este ensayo se realiza bajo las mismas condiciones que la muestra.

Cálculos: Una vez alcanzado el punto final debe leerse en la bureta el volumen de reactivo utilizado.

$$\%H_2O = (V \times F / P) \times 100$$

dónde:

F: título del reactivo (mg H₂O/ml)

V: volumen de reactivo

P: peso de muestra en gramos

Es necesario realizar una serie de valoraciones a las cuales se debe determinar la media y su desviación estándar.

Indicación del punto final: Se puede localizar de diferentes maneras el punto final de la valoración de Karl Fischer.

- La *indicación visual* ocurre con un cambio de color de amarillo a marrón-rojizo (característico del primer exceso de reactivo luego del punto final).
- *Indicación electrónica* del punto final, para ello se emplean dos electrodos de platino, a los cuales se aplica un potencial hasta que un galvanómetro registra cero con los electrodos inmersos en la solución. Cuando se alcanza el punto final, el primer pequeño exceso de yodo en la solución produce un largo flujo de corriente, con lo que resulta una deflexión de las agujas del galvanómetro. Esta forma de valoración se llama “ dead-stop ” porque se valora la solución hasta que cambia la aguja del galvanómetro, no se toman medidas precisas.
- La *indicación fotométrica* habitualmente se mide la absorbancia a 525 - 600 nm. Se traza una representación de la absorbancia en función del volumen de valorante.

Antes del punto final la absorbancia permanece próxima a cero, luego del punto final se incrementa linealmente con el volumen. La Intersección de las dos líneas señala el punto final. La valoración fotométrica suministra mayor sensibilidad y precisión que la lograda con la detección visual del punto final.

Interferencias:

Gran parte de los compuestos orgánicos no interfieren. Puede valorarse el agua en presencia de ácidos, alcoholes, fenoles, éteres, hidrocarburos, anhídridos, aminas, amidas y muchas otras sustancias.

Aquellas sustancias que consumen yodo perturban cuantitativamente, un análisis por separado permitirá aplicar una corrección.

Los compuestos carbonílicos interfieren por formación de acetales y cetales con el metanol, liberando agua en el proceso.

Los ácidos carboxílicos son capaces de esterificar con metanol, esta reacción de condensación produce agua. El uso de piridina y dioxano como medio de valoración limita las reacciones de esterificación.

Determinación de agua por destilación azeotrópica

Este método se basa en la destilación por arrastre con vapor de tolueno, del agua contenida en la muestra de un producto bajo condiciones establecidas. Los componentes de la mezcla azeotrópica son inmiscibles, el destilado condensado se separa en dos capas.

Este método es claramente aplicable si la muestra no contiene otras sustancias volátiles susceptibles de afectar al volumen aparente de agua en el colector.

El método de destilación con tolueno es adecuado para drogas crudas, muchos ungüentos y otras mezclas complejas que no se pueden analizar por la valoración de Karl Fischer.

Determinación de agua por secado en estufa

Quizás el método más sencillo para determinar el agua contenida en un sólido sea el secado en estufa, a presión atmosférica, a 100-150°C, hasta que se alcanza peso constante. La pérdida de peso de la muestra se atribuye a la pérdida de agua. Para que este método sea válido, no debe haber sustancias

volátiles distintas del agua en la muestra, y ésta ser estable en las condiciones de tratamiento del secado.

Se determina tanto el agua libre como enlazada. Es necesario buscar para cada compuesto la temperatura apropiada y el período requerido de secado para desalojar toda el agua. Algunos compuestos hidratados son muy resistentes a la completa expulsión del agua por secado a la estufa.

Si la muestra es lábil al calor, también cabe someterla al secado a la estufa, pero a presión reducida. Esto, naturalmente, tiene el efecto de disminuir el punto de ebullición del agua, por lo que se utilizará una temperatura más baja en el proceso.

Si el secado a la presión reducida a temperatura ambiente es suficiente para la separación completa del agua, un desecador con vacío es el aparato más sencillo para eliminar el agua de este tipo de muestras. Se coloca un desecante en la parte inferior del desecador para absorber la humedad. Entre los mejores desecantes se encuentran:

- Perclorato de magnesio (Dehydrita)
- Sulfato de calcio anhidro (drierita)
- Deutóxido de fósforo

Se ha de interponer un desecante (ej: acetona helada) entre el desecador y la bomba para evitar el paso de agua dentro de la bomba o los vapores químicos de la bomba de aceite dentro del desecador.

El proceso de secado con presión reducida cabe describirlo como una aproximación al equilibrio, el cual se alcanza cuando la presión parcial del agua es la misma en todo el sistema. Así en la etapa inicial de un secado por desecación, la presión parcial del vapor de agua de la muestra es bastante mayor que sobre el desecante. Por lo cual dejar enfriar una muestra desecada en la estufa al prepararla para secarla es una fuente potencial de error. Si la muestra está más seca que el desecante, el agua pasará del desecante a la muestra; por esto se debe emplear un agente desecante eficaz.

Técnica.

Homogeneizar y pesar exactamente la muestra y, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, llevar a cabo la determinación sobre 1 o 2 g de muestra. Pesar un pesa-filtro seco y colocar la muestra en el mismo. Distribuir la muestra lo más uniformemente posible. Tapar y colocar el pesa-filtro en la cámara de secado. Secar la muestra a la temperatura y durante el tiempo especificado en la monografía correspondiente.

Nota: la temperatura especificada en la monografía se considera dentro del intervalo de $\pm 2^{\circ}\text{C}$ del valor establecido.

Abrir la cámara de secado tapar el pesa-filtro y llevarlo a temperatura ambiente en un desecador antes de pesar.

Para muestras contenidas en cápsulas, emplear el contenido de no menos de cuatro unidades finamente pulverizadas.

Si la monografía correspondiente establece:

- Pérdida por secado mediante análisis termo gravimétrico, emplear una termo balanza.
- Secado al vacío sobre un desecante o secado en un desecador, emplear un desecador de vacío, una pistola de secado al vacío u otro aparato apropiado de secado al vacío, teniendo las precauciones necesarias para asegurar que el desecante se mantenga activo reemplazándolo frecuentemente.
- Secado en un pesa-filtro con tapa provista de un capilar, emplear un pesa filtro y un tubo equipado con una tapa provista de un capilar de un diámetro de $225 \pm 25 \mu\text{m}$ y mantener la cámara de calentamiento a una presión de 5 mmHg o menor. El pesa-filtro debe permanecer tapado durante toda la determinación. Al finalizar el período de calentamiento, llenar la cámara de calentamiento con aire seco, retirar el pesa-filtro y con la tapa colocada dejarlo enfriar en un desecador antes de pesar.

Determinación práctica de agua en una materia prima

La forma de expresar el título de una materia prima para determinar si cumple con las especificaciones de la Farmacopea es:

Sobre Droga Anhidra: SDA

Sobre Droga Desecada: SDD

Cuando un título está especificado como SDA nos indica que el contenido de agua fue determinado por el método de Karl Fischer ya que por él determino solamente el agua, ya sea libre o ligada.

Cuando el título está especificado como SDD nos indica que el método empleado fue pérdida por secado, el mismo no solo determina agua si no también sustancias volátiles a 105°C. Cuando vamos a elaborar un medicamento es importante conocer el título sobre droga tal cual (SDTC) esto evitará dudas al momento de pesar.

Cómo se relacionan estas expresiones de títulos de la materia prima? Lo veremos con dos ejemplos:

Ejemplo 1

Se realizó la valoración de la siguiente materia prima $C_6H_8ClN_7OHCl \cdot 2H_2O$ (P.M.: 302,2), aplicando una volumetría ácido base en medio no acuoso.

Determinación del contenido de agua de la materia prima (impureza)

Se disuelven tres alícuotas de la materia prima (mp) en 10 ml de metanol y se valora el contenido de agua con reactivo de Karl Fischer (RKF) de título 13,9 mg/ml. Se realiza un ensayo en blanco con 50 ml de metanol y se obtiene un consumo de 0,45 ml de RKF.

Peso mp (g)	Volumen de RKF (ml)	Vol.RKF-Vol blanco	Cantidad de Agua encontrada (mg)	% de Agua
0,503	4,51	4,42	61,44	12,21
0,509	4,55	4,46	61,99	12,18
0,500	4,49	4,4	61,16	12,23

Valor medio	12,21
C.V .%	0,21

El volumen del blanco que debe restarse al volumen de reactivo gastado en cada alícuota se calcula de la siguiente manera:

50 ml de metanol (consumieron) → 0,45 ml de RKF

10 ml de metanol (utilizado para la disolución de cada alícuota) → X= 0,09 ml de RKF

Con los ml de RKF corregido y el título de RKF determinamos los mg de H₂O encontrados en cada alícuota y luego lo expreso como % de H₂O.

0,503 g de muestra → 0,06144 g de H₂O

100 g de muestra → x = 12,21 g de H₂O =12,21% de H₂O

Nota: Para expresar el resultado debo calcular el valor medio de mis tres determinaciones y una medida de la desviación de los datos obtenidos respecto del valor medio. (C.V %)

Valoración de la materia prima.

Procedimiento: Se disuelve cada una de las alícuotas en 100 ml de ácido acético glacial, se agrega 10 ml de acetato de mercurio y se mezcla. Se adicionan 4 gotas del indicador y se titula con ácido perclórico 0,1021N (HClO₄).

1 ml de ácido perclórico 0,1N es equivalente a 26,61 mg de C₆H₈ClN₇OHCl

Peso mp (g)	Vol. HClO ₄ (ml)	Vol. HClO ₄ - Vol. blanco (ml)	g de mp encontrados	% sdtc
0,422	13,7	13,5	0,367	86,91
0,374	12,2	12	0,326	87,17
0,381	12,3	12,1	0,329	86,35
0,392	12,8	12,6	0,342	87,24
----	0,2			

Valor medio	86,92 %
C.V.%	0,46

$$\% \text{ sdtc} = V \cdot N \cdot P \text{ meq} \cdot 100 / P \text{ mtra}$$

V = Es el volumen corregido de HClO₄ en ml gastado con cada alícuota.

N = La normalidad del reactivo titulante 0,1021

Pmeq = Peso mili equivalente de C₆H₈CIN₇OHCl

Pmtra = Peso de cada alícuota

Nuestra materia prima tiene un título de 86,92 % sdtc y 12,21 % de H₂O. Si queremos saber si cumple con las exigencias de la monografía (98,0 – 100,0 % de C₆H₈CIN₇OHCl expresado SDA), debemos expresar el título SDA.

En esta materia prima 12,21 % corresponde a agua y el 87,79% (100-12,21) es p.a. C₆H₈CIN₇OHCl más impurezas (polvo anhidro). Pero como el polvo anhidro tiene una pureza de 86,92%, entonces lo que tengo de C₆H₈CIN₇OHCl expresado SDA es 99,0 %

87,79g de polvo anhidro → 86,92g de C₆H₈CIN₇OHCl

100g de polvo anhidro → x = 99,0 % (de C₆H₈CIN₇OHCl) SDA

Una forma aproximada de determinarlo sería:

$$\% \text{ de H}_2\text{O} + \text{Titulo \%SDTC} = \% \text{ SDA}$$

$$12,21\% + 86,92\% = 99,13\% \text{ SDA}$$

Ejemplo 2

Se debe preparar 100 cápsulas conteniendo metoclopramida clorhidrato 10 mg

1 caps ----- 10 mg metoclopramida clorhidrato

100 caps -----X= 1000 mg metoclopramida clorhidrato

En protocolo analítico de metoclopramida clorhidrato MP se informa:

Título 99,0 % SDA

% de agua: 5,13%

En este caso me interesa conocer el título SDTC:

100 g MP anhidro 99,0 g metoclopramida clorhidrato

94,87 g MP anhidro X= 93,92 g metoclopramida clorhidrato

93,92 % es ahora el título de metoclopramida clorhidrato SDTC

Necesito 1000 mg de metoclopramida clorhidrato.

93,92 mg metoclopramida clorhidrato 100 mg polvo

1000 mg metoclopramida clorhidrato X= 1064,73 mg MP

Se deberá pesar 1064,73 mg de MP para obtener 1000 de metoclopramida clorhidrato.

Preguntas Orientadoras

1. Que entiende por agua libre y agua enlazada?
2. Como está formado el reactivo de Karl Fischer?
3. Que métodos de determinación de agua conoce? Explique detalladamente
4. Se disolvieron 0,5404 g de agua en 50 ml de metanol. Se añadieron 5 ml de esta solución a 20 ml de metanol y valoraron con RKF, consumiéndose 9,5 ml. Asimismo 25 ml del mismo metanol requirieron 0,8 ml de reactivo. Calcúlese el título del reactivo de KF
5. Se disolvieron 0,2310 g de una muestra en 10 ml de metanol y se valoró con el RKF del problema anterior. Se requirieron 2,4 ml de reactivo para valorar el agua de la muestra. Cuál es el porcentaje de agua que contenía la muestra?

Test de Autoevaluación

1. El reactivo de KF se estandariza con:
 - (a) Cantidades conocidas de alcohol

- (b) Cantidades conocidas de agua
 - (c) Cantidades conocidas de tartrato de sodio
2. El punto final de la valoración con KF se puede detectar mediante:
- (a) Cambio de color amarillo a marrón rojizo
 - (b) Por absorción a 425 nm
 - (c) Por absorción a 525-600 nm midiendo absorbancia versus volumen de valorante
3. Las sustancias que interfieren en la valoración de KF son:
- (a) Ácidos y fenoles
 - (b) Sustancias que consumen iodo cuantitativamente
 - (c) Grupos carbonilos por formación de acetales
4. La determinación de agua por secado en estufa a 105°C se utiliza para:
- (a) Sustancias lábiles a la temperatura
 - (b) Sustancias volátiles distintas al agua
 - (c) Para determinar tanto agua libre como enlazada

Bibliografía

1. Ministerio de Salud – ANMAT. *Farmacopea Argentina*. VII ed. (2003) Buenos Aires.
2. Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 35) (2011) Rockville.
3. K.A.Connors (1980). *Curso de Análisis Farmacéutico*. 2da. Ed. 1980.
4. Pradeau D. (1998) *Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos*. Uteha Noriega Editores.