

Volumetría de determinación espectrofotométrica de un surfactante catiónico tipo diamina, mediante la formación de un complejo coloreado

Spectrophotometric appraisal of a volumetric analysis of a cationic surfactant of the alkyl propylen diamine type, via the formation of a colored complex

Mercado, Ronald^{1*}; Salager, Jean-Louis¹; Celis, María-Teresa^{1,2}; Avendaño, Jorge¹

¹Laboratorio FIRP y ²Laboratorio POLYCOL

Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. ULA

Mérida 5101, Venezuela

*ronaldm@ula.ve

Recibido: 21-04-2009

Revisado: 16-09-2010

Resumen

Se describe un método, simple, rápido y preciso para la determinación cuantitativa de un surfactante catiónico de tipo alquil propylen diamina (APDA), que por no presentar un grupo cromóforo en su estructura molecular, no puede ser detectado directamente mediante fotometría. Se utilizó naranja de metilo (NM) como reactivo y se encontró una relación estequiométrica de dos moléculas de NM por cada molécula de APDA para formar un complejo que absorbe en el rango espectral UV-Visible. La determinación cuantitativa se hace a un pH óptimo de 3.5, a partir de la gráfica de variación de la absorbancia en función de la relación amina/reactivo, cuya característica permite establecer el punto de equivalencia. El rango de trabajo aplicable con este método para medición de la APDA está entre $2 \cdot 10^{-5} M$ y $3 \cdot 10^{-4} M$.

Palabras clave: Surfactante, catiónico, espectrofotometría, titulación, complejo, naranja de metilo.

Abstract

A simple, quick and accurate method is reported to quantitatively determine the concentration of a cationic surfactant of the alkyl propylen diamine type, which does not exhibit a chromophoric group and thus cannot be directly detected by photometry. Methyl orange is used as the reagent to produce a derivative containing two methyl orange molecules per alkylamine molecule that absorbs in the UV-Vis range. The absorbance variation at optimum pH of 3.5 versus the amine/methyl orange ratio allows the determination of the end point. The range of alkyl amine concentration measurable with this method is from $2 \cdot 10^{-5} M$ to $3 \cdot 10^{-4} M$.

Key words: Surfactant, cationic, spectrophotometry, titration, complex, methyl orange.

1 Introducción

Los surfactantes catiónicos se determinan cuantitativamente mediante diversos métodos. El método de Cross (Cross y cols, 1965) es un procedimiento volumétrico que se emplea desde hace unos 40 años para el análisis de este tipo de surfactantes. Se basa en la realización de titulaciones a diferentes valores de pH (Li y col., 2004; Metcalfe, 1984; Akbas y

col., 2005), según el tipo de nitrógeno del surfactante.

Entre las características más importantes de las especies que absorben radiación electromagnética (R.E.M.), esta la capacidad de combinar sus orbitales atómicos con otros (Wade, 2004). La absorción de una molécula orgánica resulta de las interacciones de los fotones con los electrones que participan directamente en la formación de los enlaces (y por tanto se asocian con más de un átomo), o con aque-

llos que están localizados alrededor de los átomos como oxígeno, azufre, nitrógeno y los halógenos (Skoog y col., 2001).

La absorción de energía electromagnética por los compuestos orgánicos en la región ultravioleta/visible (UV-vis) involucra la promoción de electrones en los orbitales σ , π y n desde el estado fundamental a estados altamente energéticos. Los estados altamente energéticos se encuentran vacíos durante el estado fundamental o no excitado, estos son los denominados orbitales antienlazantes (Dyer, 1965).

Las longitudes de onda de absorción de una molécula orgánica dependen de la energía de enlace de sus diferentes electrones. Los electrones que forman enlaces simples carbono-carbono o carbono-hidrogeno están tan fuertemente enlazados que su excitación necesita una energía correspondiente al UV de vacío (por debajo de 180 nm) (Skoog y cols, 2001).

Los métodos ópticos son ampliamente utilizados para la estimación cualitativa y cuantitativa de muchos compuestos químicos, entre ellos los surfactantes catiónicos (Li y Zhao, 2004) y aniónicos (Kamaya y cols, 1998; Yamamoto y col., 1991; Rodenas y cols, 2005). Entre otros métodos se encuentra la técnica de absorción molecular en el rango UV-vis (Skoog y cols, 2001). Esta ofrece varias ventajas con respecto a la separación cromatográfica (Piera y cols, 1999), a la electroforesis capilar (Piera y cols, 1999), a los métodos clásicos (volumetría) (Metcalfe, 1984), o a aquellos de espectrometría de masa (Merino et cols, 2003; Hirata e Ilmura, 1993). La principal ventaja de la técnica de absorción molecular, es que el instrumental utilizado es de bajo costo y de uso simple, lo que la convierte en una herramienta económica además de precisa.

Por otra parte, la aplicación directa de esta técnica requiere que la sustancia a analizar absorba R.E.M. en el rango UV-Visible, es decir, que su estructura molecular incluya un grupo cromóforo o bien, en el caso de las aminas, usar condiciones especiales de vacío para evitar la interferencia debida a la absorción de R.E.M por los compuestos presentes en el aire en esta zona. Además, se requiere el uso de cubetas especiales de fluoruro de litio ya que el cuarzo absorbe por debajo de 180 nm (Skoog et cols, 2001).

Cuando la sustancia no es medible en el rango normal o bien no se cuenta con un instrumental para la aplicación de la técnica al vacío, se puede utilizar un reactivo que conlleve a un derivado detectable mediante espectroscopia y medible con una titulación espectro-fotométrica (Akbas y col., 2005). Como ejemplos de esta técnica se puede citar la determinación de algunos analitos en ciclodextrinas y compuestos no absorbentes en matrices complejas, obteniéndose buena reproducibilidad de los métodos planteados (De León y col., 2005). El Naranja de Metilo (NM) ha sido anteriormente utilizado para la determinación de surfactantes catiónicos del tipo bromuro de alquil trimetil amonio, (Karkustis et cols, 1998).

Las Alquil Propilen DiAminas (APDA), son surfactantes catiónicos usados como estabilizantes de emulsiones

asfálticas y como lubricante para cadenas transportadoras (Hoja de especificaciones de Clariant). Resulta difícil su cuantificación a bajas concentraciones, puesto que la volumetría tradicional conlleva a resultados muy imprecisos o simplemente es inaplicable a muy bajas concentraciones.

Los surfactantes catiónicos contienen frecuentemente uno o varios grupos amino (-NH-) que pueden existir en forma protonada o cuaternizada. En el caso del compuesto alquil propilen diamina (APDA), puede presentar hasta dos protonaciones si el pH es suficientemente ácido. Como este compuesto no absorbe radiación comprendida en el rango UV-vis, se propone formar un derivado detectable, mediante la formación de un complejo de asociación iónica de acuerdo al principio de la titulación de un surfactante aniónico por un catiónico en el método ASTM D-3049 Normas (ASTM, 1989). A nuestro conocimiento este método no se ha aplicado aún para el sistema APDA-NM.

2 Técnica experimental

2.1 Materiales

El surfactante catiónico usado es una Alquil Propilen Di-Amina, que contiene una cadena alquil proveniente de sebo (C16 - C18 parcialmente insaturado), comercializado como Genamin TAP-100 por Clariant de Venezuela. Contiene 100 % de materia activa, tiene un aspecto de cera pastosa, y su masa molar promedio es de 322 Daltons de acuerdo a una determinación potenciométrica. El Naranja de Metilo es un producto Merck de grado analítico (>99,9 % de pureza). El ácido clorhídrico es una solución de Riedel-de-Haen. El cloroformo es de grado analítico Fluka (>99,9 % de pureza). El ácido acético es una solución estándar 0.5 M de Fluka.

2.2 Equipos

Se usó un espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu, modelo UVmini 1240 con velocidad de barrido entre 24 – 1400 nm/min, ancho de banda efectivo de 1 nm y celdas de cuarzo con un paso óptico de 10 mm. Se utilizó un potenciómetro marca Metrohm, modelo 691 y un conductímetro Tacussel modelo CD 6N.

2.3 Procedimiento

Titulación potenciométrica de la APDA.

Se colocaron 100 ml de la solución de APDA $3,1 \times 10^{-3}$ M en un vaso de precipitado de 250 ml y se titularon usando ácido clorhídrico 0,108 N, midiendo el pH después de haber añadido cada alícuota de ácido. El resultado se representó mediante una curva de valoración potenciométrica.

Titulación conductométrica de la APDA.

Se colocaron 20 ml de la solución de APDA $3,1 \times 10^{-3}$ M y se diluyeron hasta 100 ml en un vaso de precipitado de 250 ml. Se valoró usando ácido acético 0.003 N midiendo

la conductancia tras la adición de cada alícuota del ácido. El resultado se expresa a través de una curva de valoración conductimétrica.

Barridos espectrales

Se hacen barridos espectrales en el rango de 190 a 600 nm de las soluciones de APDA, de NM a varios valores de pH, y de mezclas APDA/NM en diferentes proporciones molares y a varios valores de pH. La muestra se coloca en una celda de cuarzo y se mide su absorbancia con un espectrofotómetro.

En las mezclas APDA/NM, se coloca primero 10 ml de solución de APDA $3,1 \times 10^{-4}$ M en un balón aforado de 100 ml. Inmediatamente se añade un cierto volumen de una solución de NM $2,95 \times 10^{-4}$ M. Posteriormente se adicionan 200 μ L de cloroformo con la finalidad de mantener disuelto al complejo formado (Rubinson y col., 2000). Finalmente se enrasa el balón con agua destilada, ajustando el pH de cada solución hasta un valor de 3,5 usando HCl 1N.

Titulación fotométrica del APDA

Se sigue el mismo procedimiento que con las mezclas APDA/NM, pero se hace la medición de la absorbancia de cada solución a 362 nm por las razones que se precisarán más adelante.

3 Resultados y discusión

3.1 Titulación de la APDA

La APDA se comporta como una base débil; en solución acuosa ofrece un pH levemente básico (9,9 a 0,0031M), pero no se ioniza significativamente, por lo que se debe acidificar el medio para poder obtenerla en las formas mono- y di-protonadas (ver Fig.1).

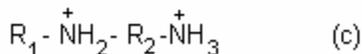
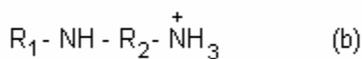
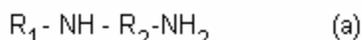
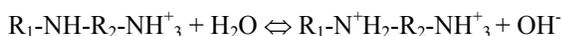


Fig. 1. Fórmula de la APDA (a) En su forma neutra (b) mono-protonada (c) di-protonada. R₁= cadena sebo, R₂ = grupo propileno

Este compuesto presenta dos equilibrios como base débil, cada uno con su constante, de acuerdo a las ecuaciones 1 y 2:



$$Kb_1 = \frac{[R_1 - NH - R_2 - NH_3^+][OH^-]}{[R_1 - NH - R_2 - NH_2]} \quad (1)$$



$$Kb_2 = \frac{[R_1 - N^+H_2 - R_2 - NH_3^+][OH^-]}{[R_1 - NH - R_2 - NH_3^+]} \quad (2)$$

La Fig. 2 indica la variación del pH durante la titulación potenciométrica de la APDA. La primera neutralización de la di-amina se obtiene a pH 9, mientras que la segunda neutralización se determina mediante el método de la primera derivada a pH 5,05, el cual según los cálculos se alcanza con 2 moles de HCl por cada mol de APDA.

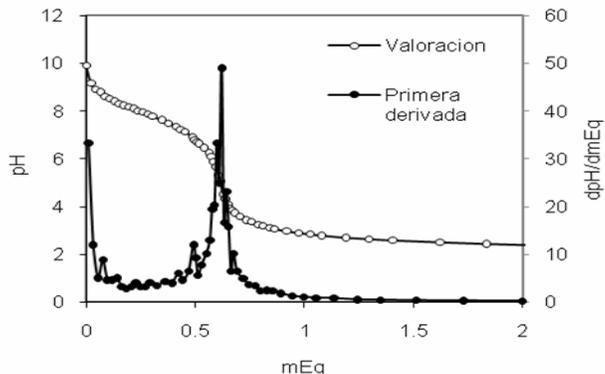


Fig. 2. Curva de titulación de 0,31 mEq de APDA con HCl $1,08 \times 10^{-1}$ N y aplicación del método de la primera derivada

El equilibrio de la hidrólisis de la sal se expresa de la siguiente manera:



$$Kh = \frac{[R_1 - NH - R_2 - NH_3^+][H_3^+O]}{[R_1 - N^+H_2 - R_2 - NH_3^+]} = \frac{Kw}{Kb_2} \quad (3)$$

Donde Kw es la constante de disociación del agua.

El valor de la constante Kh hallada con los datos de la valoración es $1,35 \times 10^{-8}$, de aquí se deduce por la ecuación 3, la segunda constante de basicidad con un valor, $Kb_2 = 7,4 \times 10^{-7}$.

En consecuencia, se puede decir de acuerdo a la ecuación 2, que cuando el pH es de 3,87 unidades, hay 10.000 veces más APDA di-protonada que mono-protonada. Por lo cual, llevar el pH por debajo de 4 unidades garantiza la di-protonación de la APDA.

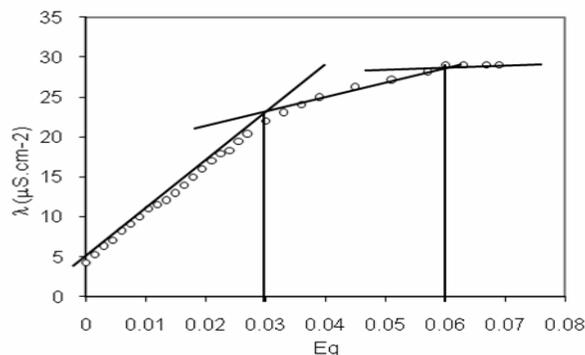


Fig. 3. Curva de titulación de 0,03105 mEq de APDA con ácido acético 0,003 N

Con el propósito de verificar los resultados arrojados por el análisis potenciométrico, se realizó una titulación conductimétrica. La Fig. 3 indica que los dos puntos de equivalencia indicados por los quiebres de la variación de conductividad, coinciden a más o menos 2% con los determinados mediante potenciometría.

3.2 Estudio espectral del NM y de la APDA

El NM es un indicador ácido-base coloreado de tipo azóico de $pK_a = 3,46$ que vira en el intervalo de pH de 3,1 - 4,4. Puede ser utilizado como reactivo para la formación de complejos por emparejamiento iónico (Skoog y cols, 2001; Rouessac y col., 2003). El NM posee una ionización de tipo aniónica en todo el rango de pH de interés gracias al grupo sulfonato (Crampton, 1999). A $pH > 4,4$ presenta una coloración amarilla-anaranjada. A $pH < 3,1$ se protona y posee también una ionización catiónica que produce una deslocalización electrónica (ver Fig. 4) que resulta en un color rojo. La Fig. 5 indica el espectro de las dos especies del NM. Se nota que la capacidad de absorber R.E.M de ambas especies en la zona entre 180-300 nm es semejante.

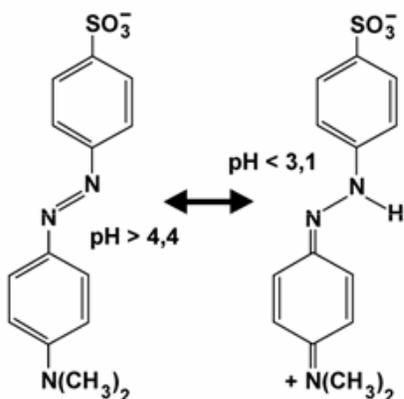


Fig. 4. Ionización de NM en solución acuosa en función del pH

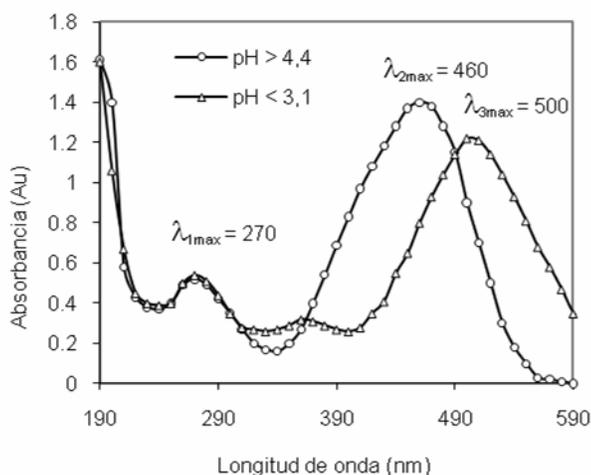


Fig. 5. Barrido espectral del NM $5,9 \times 10^{-5}$ M a diferentes valores de pH

El espectro UV-Vis de la APDA fue estudiado en el rango de 190-600 nm, y se corroboró que no se presenta ninguna absorbancia a longitud de onda mayor que la que corresponde a la absorbancia del enlace C=C (190 nm).

3.3 Estudio del complejo formado

Cuando se agrega una solución de NM a una solución de APDA en condiciones de pH en que la diamina está diprotonada, se produce una asociación entre el compuesto aniónico (NM) y el compuesto catiónico (APDA) por la interacción entre las cargas de signos opuestos. Eso resulta en la formación de una cantidad creciente del complejo catiónico. Esta progresión se puede comprobar haciendo un seguimiento espectral de la solución a medida que disminuye la relación APDA/NM.

Se parte de un volumen de una solución de APDA de concentración conocida, y se hacen adiciones de alícuotas de una solución de NM. Al principio, la totalidad del NM agregado reacciona con la APDA teniendo una matriz compuesta por el complejo formado y el exceso de APDA. Esta situación corresponde al espectro de la Fig. 6, en donde las proporciones molares APDA:NM son de 4:1 y 1:1 respectivamente. Se nota el surgimiento de un pico de absorbancia ubicado a 362 nm que no corresponde ni al APDA ni al NM, sino al complejo.

Si se continúa con la adición de reactivo, se produce más complejo (aumentando la absorbancia a 362 nm), además, aparece un segundo pico de absorción en 270 nm. La Fig. 6, corresponde a proporciones molares de APDA:NM de 1:2 y 1:4. Se debe destacar que en estos barridos, la absorbancia total se mantiene casi constante por el incremento del volumen del sistema a cada adición de NM, el cual resulta en un descenso de la concentración final del complejo.

Finalmente, si se sigue adicionando NM, se llega a un punto en el cual, toda la APDA ha reaccionado. Más allá de este punto, que se llamará punto estequiométrico, cualquier adición de NM quedará sin reaccionar en el sistema, por lo que la absorbancia dependerá ahora de la combinación de las absorbancias producidas por el complejo formado y el NM en exceso.

Tras haber sobrepasado el punto estequiométrico, aparece claramente un tercer máximo de absorbancia en 465 nm (relación molar APDA:NM de 1:15 y 1:20). Ese pico se debe a la absorción del NM a pH 3.5, el cual tiene un comportamiento espectral intermedio entre los comportamientos mostrados en la Fig. 5, ya que hay una cantidad ionizada y una cantidad sin ionizar.

De esta manera, se verifica la formación de un complejo coloreado que absorbe a una longitud de onda distinta a la del reactivo original. Esta longitud de onda (362 nm) que corresponde a la vez a una absorbancia baja e igual (punto isobéptico) de las dos especies del NM (véase Fig. 5), es la óptima para determinar la presencia del complejo, y por tanto es utilizada para cuantificar la concentración del mismo en la prueba de determinación del punto estequiométrico.

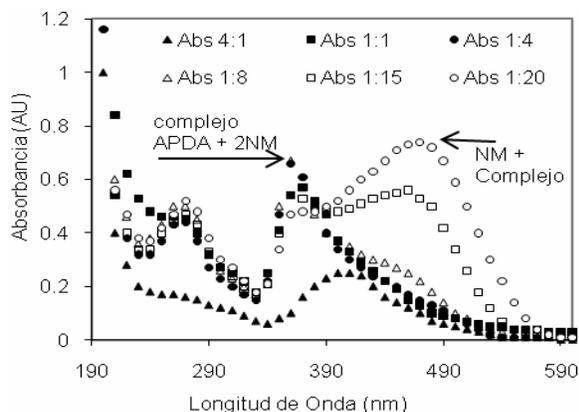


Fig. 6. Barrido espectral del complejo formado a medida que aumenta la cantidad de NM desde una relación molar APDA:NM de 1:0 hasta APDA:NM de 1:20 a pH 3,5

3.4 Influencia del pH

Las fórmulas moleculares de la APDA y del NM, indican que la reacción ocurre mediante la formación de un enlace entre el grupo aniónico del NM y los grupos catiónicos de la APDA. Eso significa que la di-protonación de la amina es indispensable para que la reacción de formación del complejo ocurra. Es el caso a pH inferior a 4 unidades como se ha visto anteriormente. Sin embargo, si el pH es inferior a 3,0 el NM puede presentar también la ionización catiónica (Fig. 4 izquierda) e incluso a pH muy ácido puede desaparecer la ionización del grupo sulfonato, lo que puede eventualmente alterar el resultado del análisis.

Para determinar las condiciones apropiadas de pH y garantizar la doble cationización de la APDA y la anionización apropiada del NM, se realizaron barridos espectrales a valores de pH variables. Se agregaron NM y APDA, en relación estequiométrica de acuerdo a la reacción (APDA:NM de 1:2 molar). En la Fig. 7 se indican los resultados.

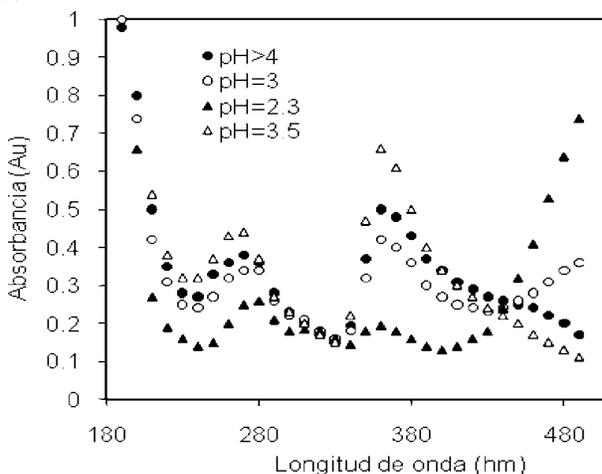


Fig. 7. Barridos espectrales del complejo formado en función del pH de la solución

Se puede observar valores de absorbancia más altos a pH 3,5 que a otros valores de pH a 362 nm. Puesto que la cantidad de APDA es la misma en todos los casos y que ella permanece di-protonada, la formación de una cantidad de complejo menor, se puede atribuir a la ionización catiónica del NM que puede bien sea repeler o competir con los nitrógenos cargados positivamente de la APDA. También, se puede notar que sobre los 430 nm se presenta un aumento de la absorbancia del sistema a pH menor de 3,5, lo que tiende a confirmar que el NM se puede eventualmente auto-asociar. Esta tendencia se confirma a pH 2,3 donde no solo se nota la disminución de los picos característicos del complejo, sino que además, se torna muy importante el pico a 500 nm, característico del naranja de metilo en su forma ácida. Por encima de pH 4 se obtiene siempre el mismo espectro.

El valor óptimo de pH esta por lo tanto en el rango de 3,5 a 4 unidades. Se selecciona un pH de 3,5 para el análisis, pues a esa concentración se tiene la certeza de que la amina libre se encuentra en su forma di-protonada aún a muy baja concentración, y además que el NM no presenta una ionización catiónica suficiente para interferir.

3.5 Validación del método

Las muestras utilizadas para la validación del método consistieron en soluciones patrones de APDA disuelta en agua. La Fig. 8 muestra la variación de absorbancia en función de la relación molar NM/APDA. Puesto que no solo el complejo, sino que también el NM absorbe, aunque en menor grado, a 362 nm, el punto de equivalencia se determina por el cambio de pendiente. Antes de alcanzar este punto, la absorbancia es proporcional a la concentración del complejo, quien es la única especie absorbente hasta ese momento. Más allá, la absorbancia varía linealmente con el exceso de NM (Ver Fig. 8). En la práctica se ubica precisamente el punto de equivalencia por extrapolación lineal de las tendencias antes y después en la Fig. 8.

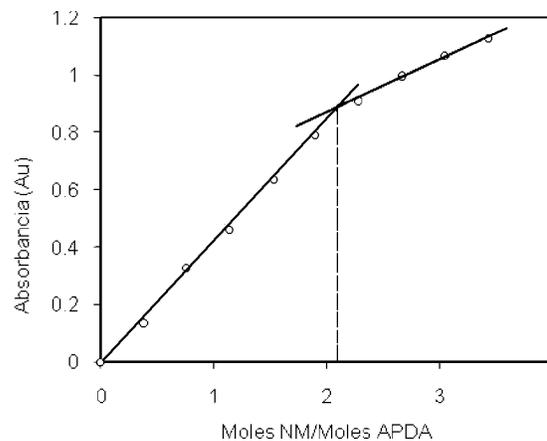


Fig. 8. Titulación espectrofotométrica del APDA con NM a 362 nm

Al utilizar una solución de APDA de concentración conocida ($2,5 \times 10^{-4}$ M) y hacer el análisis a 362 nm, se corrobora que el punto de quiebre de pendiente (Fig. 8), corresponde a una relación de 2 moles de NM por cada mol de APDA con una excelente precisión.

El rango de concentración de la APDA apropiado para emplear este método es entre 2×10^{-5} M y 3×10^{-4} M, que corresponde al rango de absorbancia de 0,1 a 0,9 Au. Concentraciones por debajo de este rango conducen a imprecisiones, mientras que para soluciones más concentradas pueden ocurrir desviaciones a la linealidad de la ley de Lambert-Beer.

Si se comparan los resultados obtenidos tras aplicar este método con el método de Cross, se puede concluir que existe un margen de error de 5 % del método propuesto en comparación a un margen de error de 10% que existe con el método de Cross. Se puede decir que el método propuesto tiene un rango de aplicación con concentraciones 100 veces más bajas que el método clásico de Cross, y con más precisión.

3.6. Extensión del método propuesto

De acuerdo a los resultados anteriores, el método propuesto debería poder aplicarse a otras aminas, siempre y cuando:

- Se conozca o se pueda determinar la constante de basicidad K_b , para la amina a estudiar.
- De acuerdo a la constante de basicidad, se pueda escoger un reactivo que sea capaz de reaccionar rápida y completamente con la amina.
- Exista una longitud de onda óptima para el análisis, la cual se puede determinar mediante un barrido espectral del complejo formado.

4 Conclusión

La concentración de surfactante de tipo APDA puede ser determinada mediante espectrofotometría UV-Vis, mediante la formación de un complejo con NM en proporción estequiométrica 2:1 NM/APDA, el cual ofrece un máximo de absorbancia a una longitud de onda diferente que en el caso del NM. El valor del pH seleccionado es un factor muy importante. Debe ser suficientemente ácido para garantizar la di-protonación de la APDA, pero no demasiado para que el NM no esté protonado significativamente. Se encontró que el pH 3,5 que se corresponde con el pK_a del NM, garantiza tales condiciones. El complejo formado se analiza mediante una titulación espectrofotométrica a 362 nm, longitud de onda en la cual el complejo adsorbe notablemente, mientras que el NM presenta poca absorbancia en sus dos formas de ionización.

Aunque la potenciometría y la conductimetría puede ser utilizada para la estimación de aminas grasas, el método propuesto permite la medición de soluciones a concentraciones más bajas. Sin embargo, su aplicabilidad depende del tipo de muestra a analizar. Para matrices más complejas, se debe verificar que no existan sustancias que puedan interferir química ni espectralmente en el análisis.

Agradecimiento

Los autores desean agradecer el soporte financiero del Consejo de Desarrollo Científico y Tecnológico de la Universidad de los Andes a través de los proyectos I-815-05-08-A, I-834-05-08-AA, y I-869-05-08-C, así como al FONACIT por el proyecto F-2005-000175, cuyos aportes contribuyeron a la adquisición de equipos utilizados en el presente trabajo. Se agradece a Clariant de Venezuela el suministro de las muestras de APDA.

Referencias

- Akbas H, Kartal C, 2005, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61: 961-966.
- ASTM International, 1989, *Standard Test Method for Synthetic Anionic Ingredient by Cationic Titration*. D-3049.
- Crampton, T., 1999, *Determination of organic compounds in natural and treated waters*. Wiley. London, UK.
- Cross JS, 1965, *Cationic Surfactants, Surfactant Science Series*, CRC Press, Florida (USA), volume 53. pp. 315-320.
- De Leon L, Basuil D, 2005, *Analytica Chimica Acta*, 543 (1-2): 282-290.
- Dyer JR, 1965, *Applications of absorption spectroscopy of organic compounds*. Prentice-Hall, Inc. (USA).
- Hirata H, Iimura N, 1993, *Journal of Colloid and Interface Science*, 157 (2): 297-301.
- Kamaya M, Tomizawa Y, Nagashima K. 1998, *Analytica Chimica Acta*, 362: 157-161.
- Karukstis KK, Savin DA, Loftus C T, and D'Angelo N D, 1998, *Spectroscopic Studies of the Interaction of Methyl Orange with Cationic Alkyltrimethylammonium Bromide Surfactants*. *Journal of Colloid and Interface Science* 203, 157-163.
- Li S, Zhao S, 2004, *Analytica Chimica Acta*, 501, 99-102.
- Merino F, Rubio S, Perez D, 2003, *Journal of Chromatography A*, 998 (1-2): 143-154 2003.
- Metcalf D, 1984, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 61: 363-366.
- Piera E, Dominguez P, Clapes P, Infante M, 1999, *Journal of Chromatography A*, 852 (2): 499-506.
- Piera E, Erra P, Infante R, 1999, *Journal of Chromatography A*, 757 (1-2): 275-280.
- Ródenas-Torralba E, Reis B, Morales-Rubio A, De La Guardia, 2005, *M. Talanta*, 66: 591-599.
- Rouessac F Y, Rouessac A, 2003, *Análisis Químico*, McGraw-Hill, Madrid (España).
- Rubinson K, Rubinson J, 2000, *Análisis Instrumental*. McGraw-Hill, Madrid (España).
- Skoog D, Holler F, Nieman M, 2001, *Principios de Análisis Instrumental*. McGraw-Hill, Madrid (España).
- Wade LG, 2004. *Química Orgánica*. 5ª ed. Pearson Educación. Madrid. España.
- Yamamoto K, Motomizu S, 1991, *Analytica Chimica Acta*, 246: 333-33.