

Préparation rapide assistée par ultrasons d'étalons d'eau pour le titrage coulométrique Karl Fischer

Auteurs: Nenad Gajovic-Eichelmann ¹, Benjamin Laulier ²

¹ Fraunhofer IZI-BB, Am Mühlenberg 13, 14476 POTSDAM - GERMANY

² SinapTec Ultrasonic Technology, SYNERGIE PARK, 7 avenue Pierre et Marie Curie 59260 LEZENNES - FRANCE

Résumé

L'extraction assistée par ultrasons de l'eau à partir de tartrate de sodium dihydraté dans du méthanol et du DMSO s'est avérée être une méthode reproductible et rapide pour la préparation d'étalons d'eau pour le titrage Karl Fischer (KFT). La sonication durant 30 secondes d'échantillons de 50 à 800 mg de tartrate de sodium dihydraté dispersés dans 5 ml de solvant avec un homogénéisateur à ultrasons de SinapTec NexTgen Lab120 a donné des performances d'extraction comparables à ceux obtenus avec un agitateur horizontal pendant 60 min d'agitation à 300 tr/min. L'extraction de l'eau à partir du tartrate de sodium dihydraté, un sel organique stable et non hygroscopique, qui est souvent utilisé comme étalon secondaire dans le titrage volumétrique KF, a montré un comportement complexe. En effet la récupération, c'est-à-dire la quantité réellement extraite par rapport à l'eau stœchiométrique totale d'un échantillon, a varié entre 100% et 20% selon la quantité de tartrate pour 5 mL de solvant (20-800 mg), le solvant (méthanol, DMSO et acétate d'éthyle), la durée de l'opération et la méthode utilisée pour l'extraction (ultrasons ou agitation). Des taux de récupération de près de 100% ont été obtenus avec la plus faible quantité testée de tartrate de sodium dihydraté (20 mg) dans du DMSO avec la méthode par ultrasons, mais la reproductibilité était faible dans ces conditions. La reproductibilité la plus élevée des étalons d'eau a été obtenue avec des quantités comprises entre 100 et 400 mg de tartrate de sodium dihydraté dans 5 ml de méthanol avec une extraction par ultrasons. Un étalon typique, préparé à partir de $100 \pm 0,5$ mg de tartrate de sodium dihydraté dans 5 ml de méthanol sec, a produit une concentration en eau de 1666 ± 28 ppm (N = 5). Cela correspond à un taux de récupération de $42 \pm 0,7\%$. Avec l'extraction assistée par ultrasons, la totalité de l'opération comprenant la pesée, l'extraction et le titrage, peut être accomplie en 10 à 15 minutes. Cela se traduit par des économies de temps et de coûts significatifs par rapport aux workflows de préparation d'échantillons traditionnels basés sur l'agitation horizontale.

Introduction

Le titrage Karl Fischer (KFT) est la méthode d'analyse courante pour l'analyse quantitative des traces d'eau dans les produits pharmaceutiques, les cosmétiques, les produits pétroliers, diverses denrées alimentaires et les produits chimiques de spécialité. Les instruments KF modernes semi-ou entièrement automatiques peuvent analyser jusqu'à 20 échantillons par heure, avec peu de temps de manipulation et à faible coût. Les instruments volumétriques KF peuvent quantifier les teneurs en eau jusqu'à 100% dans les denrées alimentaires par exemple. Cette méthode nécessite l'emploi d'étalons d'eau précis pour l'étalonnage du réactif de titrage et de l'appareil lui-même. Les instruments coulométriques KF sont spécialisés dans la détection de très faibles concentrations d'eau, avec des limites de détection de l'ordre de 10 µg d'eau. L'une de leurs caractéristiques les plus marquantes est leur capacité à effectuer des mesures quantitatives sans étalonnage. Des résultats extrêmement précis et reproductibles peuvent être obtenus. En réalité, les KFT coulométriques et volumétriques doivent être utilisés par des utilisateurs formés avec un soin et une précision extrêmes et régulièrement contrôlés avec des étalons d'eau précis, afin de fonctionner de manière quantitative et précise. La préparation d'étalons d'eau précis est un défi, en particulier à de faibles concentrations inférieures à 10 000 ppm (µg/g). La plupart des utilisateurs de KFT coulométrique s'appuient sur des matériaux de référence certifiés (MRC) disponibles dans le commerce pour le contrôle de fonctionnement de leurs instruments KFT. Cependant, une fois ouverts ces standards doivent être utilisés instantanément et ne peuvent pas être stockés. Cela augmente considérablement les coûts de l'analyse, en particulier lorsque la méthode n'est utilisée qu'une fois de temps en temps, comme c'est le cas dans la plupart des laboratoires de recherche. Une autre problématique est la disponibilité limitée des MRC dans différents solvants et dans une variété de concentrations.

Par conséquent, la motivation de ce travail était d'étudier la préparation rapide en interne d'étalons d'eau pour le KFT coulométrique. L'eau a été extraite dans trois solvants organiques secs (méthanol, DMSO et acétate d'éthyle) à partir du tartrate de sodium dihydraté, sel stable et non hygroscopique, en utilisant un transducteur ultrasonique de laboratoire contrôlé par ordinateur (SinapTec NexTgen Lab120). L'extraction assistée par ultrasons a été comparée à une méthode de référence, l'extraction par agitation horizontale.

Matériels et Méthodes

Un transducteur à ultrasons de laboratoire SinapTec NexTgen Lab120 équipé d'un générateur US de 35 kHz (NS1923-003) et d'une sonde en titane de 6 mm pour des volumes compris entre 2 et 50 ml (22D6) a été utilisé tout au long de l'étude (figure 1.1). L'instrument à ultrasons commandé par ordinateur permet d'enregistrer des données et surveille en temps réel l'amplitude (c'est-à-dire le déplacement de la sonde), la puissance efficace, la fréquence, l'énergie dissipée et (éventuellement) la température de l'échantillon pendant le traitement par ultrasons. Les étapes de sonication de cette étude ont été menées avec une amplitude fixe (70%) et des temps variables entre 10s et 60s, définis via une condition d'arrêt sur le logiciel SinapTec. Comme alternative au contrôle du temps, le logiciel permet de pré régler la quantité totale d'énergie fournie comme condition d'arrêt. Ce régime est particulièrement adapté aux échantillons dont les volumes et la composition varient davantage que dans la présente étude.

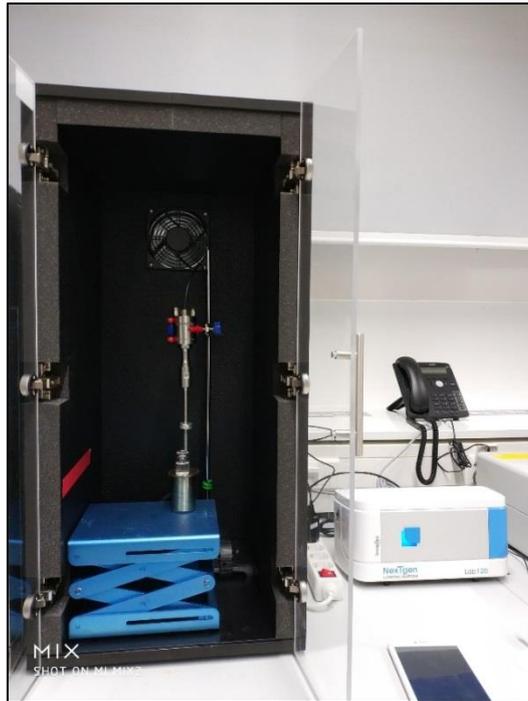


Fig. 1.1: Système ultrason SinapTec NexTgen Lab120

Un agitateur horizontal commun (Edmund Bühler, KL-2) avec une fréquence d'agitation de 300 tr/min et jusqu'à 60 minutes de temps d'agitation a été utilisé comme référence. Des agitateurs comme celui-ci sont couramment utilisés pour la solubilisation et la dispersion des réactifs dans de nombreux laboratoires (Fig. 1.2).



Fig. 1.2: Agitateur Horizontal

Le tartrate de sodium dihydraté (Honeywell Hydranal, produit n ° 34803-100G, lot I054A), avec une teneur en eau certifiée de 15,69% (p/p) a été utilisé comme matériau de référence. Du méthanol sec (Honeywell Hydranal 34741-1L, lot J086D, teneur en eau <0,01% (p/p)), du DMSO sec (Acros Organics 348441000, Lot1999470) et de l'acétate d'éthyle de qualité HPLC (VWR 83621.320, Lot 14Z2631) ont été utilisés comme solvants. La préparation d'un étalon d'eau typique est réalisée comme tel:

- 100 ± 2 mg de tartrate de sodium dihydraté pesé dans un flacon en verre de 6 ml (Metrohm 62419007, qualité KFT), rincé avec du N₂ et provisoirement recouvert d'un bouchon à septum en aluminium (Metrohm 61448050, qualité KFT) ;
- 5 ± 0,1 ml de solvant ont été ajoutés avec une seringue en verre de 5 ml, et le flacon a été recouvert à nouveau ;
- Le flacon est ensuite attaché à la sonde ultrasonique, dans une position centrée, à 1 mm du fond, et la sonde a été mise sous tension (mode de sonication par défaut: amplitude fixe 70%, condition d'arrêt après 30 s). Ces conditions ont été choisies, pour maintenir la température de l'échantillon en dessous de 45°C. La puissance émise a été contrôlée pour prouver la reproductibilité des conditions de sonication entre les expériences. Un joint en caoutchouc de silicone avec un trou de 6 mm pour la sonde a servi à protéger l'échantillon de l'air ambiant pendant la sonication ;
- Après cela, le capuchon de septum en aluminium a été serti en permanence sur le flacon, protégeant l'échantillon de l'air ambiant et de l'humidité jusqu'à ce qu'il soit analysé.

Un système de titrage coulométrique Karl Fischer commandé par ordinateur sans diaphragme a été utilisé pour toutes les expériences KFT (Coulomètre Metrohm 831 avec cellule KF sans diaphragme; logiciel: tiamo 2.5 light). La cellule a été remplie avec 100 ml de réactif KF (Honeywell Hydranal «Coulomat AG Oven» 34739-500ML Lot 1260). Le réactif a été remplacé après l'ajout d'une quantité totale de 50 ml d'échantillon (c'est-à-dire après environ 250 ajouts d'échantillon). Les paramètres de titrage ont été sélectionnés selon la pharmacopée européenne 2.5.32 (brièvement: EP 55 mV; Dynamics 100 mV; Igen 400 mA; Ipol 10 µA; Startdrift 10 µg / min; Stopdrift 5 µg / min; temps de prise 30 s. Un protocole détaillé peut être obtenu auprès des auteurs).

Des échantillons liquides avec un volume fixe de 0,2 ml ont été injectés manuellement par le port d'injection avec une seringue jetable de 1 ml et une aiguille hypodermique de 120 mm x 0,8 mm. La figure 2 illustre le flux de travail complet, de la pesée au titrage KF. Sauf indication contraire, des échantillons identiques (c'est-à-dire même condition de sonication, même quantité de solvant et de tartrate de sodium dihydraté) ont été préparés en triple (N = 3) et analysés avec KFT une fois (n = 1). Cela était justifié, car des expériences préliminaires avaient montré que l'écart-type relatif du titrage KF était d'environ 1% et donc nettement inférieur à l'erreur cumulée lors de la préparation de l'échantillon (3-4%). Des échantillons pour l'étude de reproductibilité et de stabilité ont été préparés dans cinq cas (N = 5), et chacun a été analysé par KFT en triple (n = 3), pour obtenir une précision maximale.

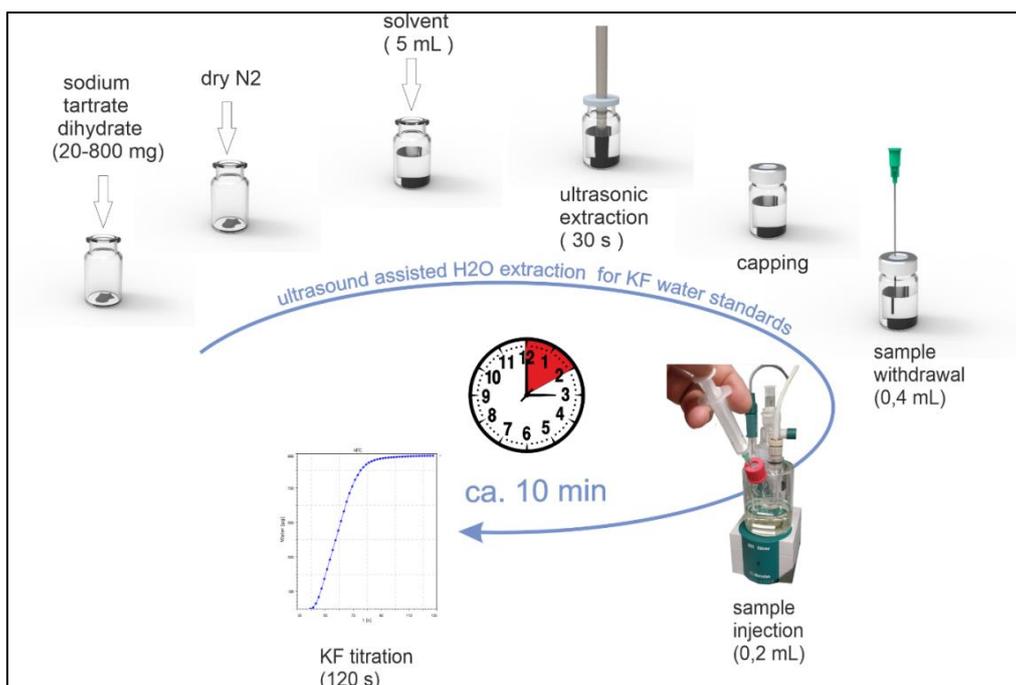


Fig.2: Préparation assistée par ultrasons d'étalons de contrôle de l'eau (durée complète, titrage KF compris: environ 10-15 min)

Résultats

Le tartrate de sodium dihydraté est un sel organique non toxique, stable et non hygroscopique avec une teneur en eau stœchiométrique de 15,66% et est couramment utilisé comme étalon secondaire pour la détermination du titre en eau dans le titrage volumétrique Karl Fischer. Son principal inconvénient est la faible solubilité dans les solvants organiques secs et les réactifs KFT courants («anolytes»), la plupart étant à base de méthanol. La figure 3 montre des préparations standard d'étalons avec du tartrate de sodium dihydraté allant de 50 mg à 1000 mg pour 5 ml de méthanol. Comme la majeure partie du sel n'est pas dissoute, il est impossible d'évaluer visuellement si et dans quelle mesure l'eau hydratée a été extraite par le solvant. Pour cette raison, de nombreux laboratoires ont interdit l'utilisation du tartrate de sodium dihydraté et l'ont remplacé par des matériaux de référence commerciaux certifiés (MRC) coûteux aux caractéristiques bien définies. Notre motivation était d'étudier si le transducteur ultrasonique de laboratoire contrôlé par ordinateur SinapTec NexTgen Lab120 peut être utilisé pour préparer des étalons d'eau stables et précis pour KFT coulométrique. Les résultats de la sonication ont été comparés à une méthode de référence, l'agitation horizontale des échantillons pendant 60 min.



Fig. 3: Tartrate de sodium dihydraté dans le méthanol. Le sel est peu soluble dans le méthanol, ce qui rend impossible d'évaluer visuellement si l'extraction de l'eau est terminée.

La figure 4 illustre l'évolution dans le temps de l'extraction de l'eau assistée par ultrasons à partir de 100 mg de tartrate de sodium dihydraté avec 5 ml de méthanol (Conditions: amplitude fixe 70%, condition d'arrêt à 30 s). Une extraction presque complète a été obtenue après 30 s (Température du solvant = 42 ° C) (Fig. 5). Des essais supplémentaires jusqu'à la limite de 120 s (2 x 60 s, séparés par une pause de 2 min) ont conduit à davantage de chauffage du solvant (environ 52 ° C), mais n'ont pas augmenté le rendement d'extraction. En revanche, il a fallu 30 à 60 minutes d'agitation horizontale à 300 tr/min pour atteindre le même rendement d'extraction. Environ 40% de l'eau stœchiométrique a été extrait avec l'une ou l'autre méthode dans ces conditions.

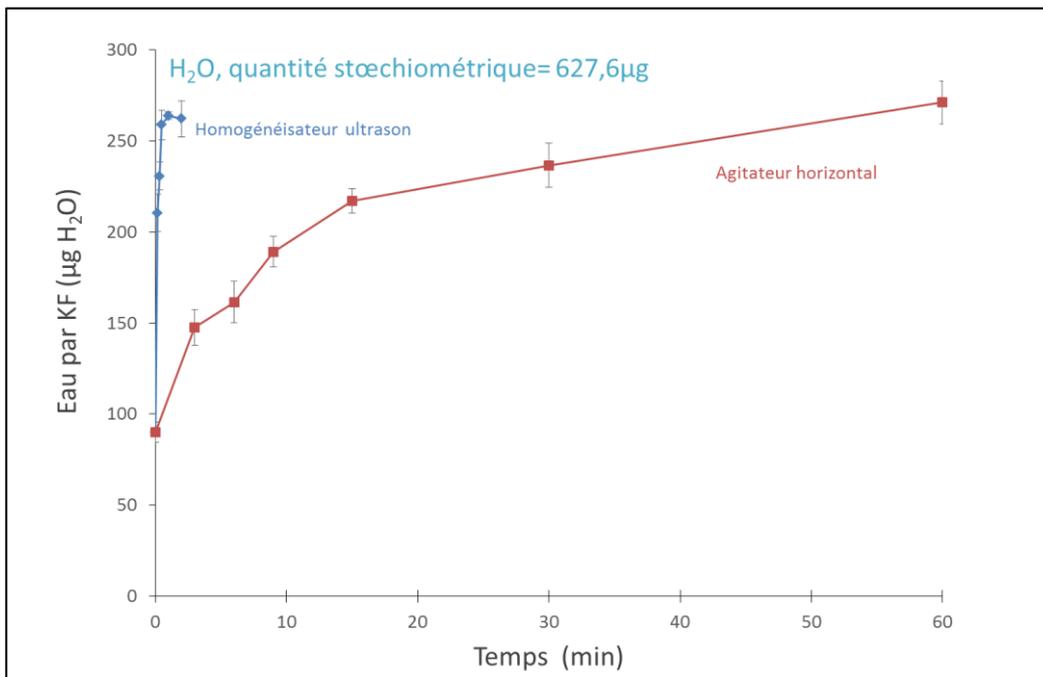


Fig. 4: Évolution dans le temps de l'extraction de l'eau à partir de 100 mg de tartrate de sodium dihydraté dans 5 ml de méthanol par sonication (bleu) vs agitation horizontale (rouge). 3 échantillons par essai ont été préparés (N = 3) et analysés par KF une fois (n = 1). L'extraction maximale atteint environ 40% de l'eau hydratée totale avec ce rapport tartrate / solvant.

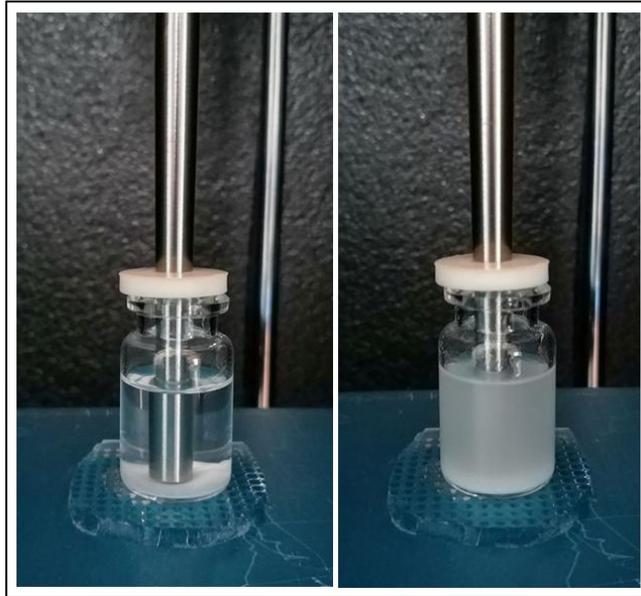


Fig. 5: Tartrate de sodium dihydraté (100 mg dans 5 mL de méthanol) avant (à gauche) et après (à droite) 30 s de traitement par ultrasons à 70% d'amplitude fixe. La température monte à 42 °C après sonication.

La figure 6 illustre la concentration en eau en ppm, mesurée dans le surnageant par KFT, après préparation d'étalons d'eau avec des quantités croissantes de tartrate de sodium dihydraté pour 5 ml de méthanol. L'ultrasonication est réalisée à 70% d'amplitude fixe et d'une durée de 30 s. L'agitation est effectuée à 300 tr/min pendant 60 min. Un comportement d'extraction complexe est observé avec une différence marquée entre la sonication et l'agitation. En effet, en dessous de 200 mg de tartrate de sodium dihydraté pour 5 ml de méthanol, l'agitation horizontale extrait beaucoup plus d'eau. À des quantités plus élevées de tartrate de sodium dihydraté, le rapport est inversé et la sonication devient beaucoup plus efficace.

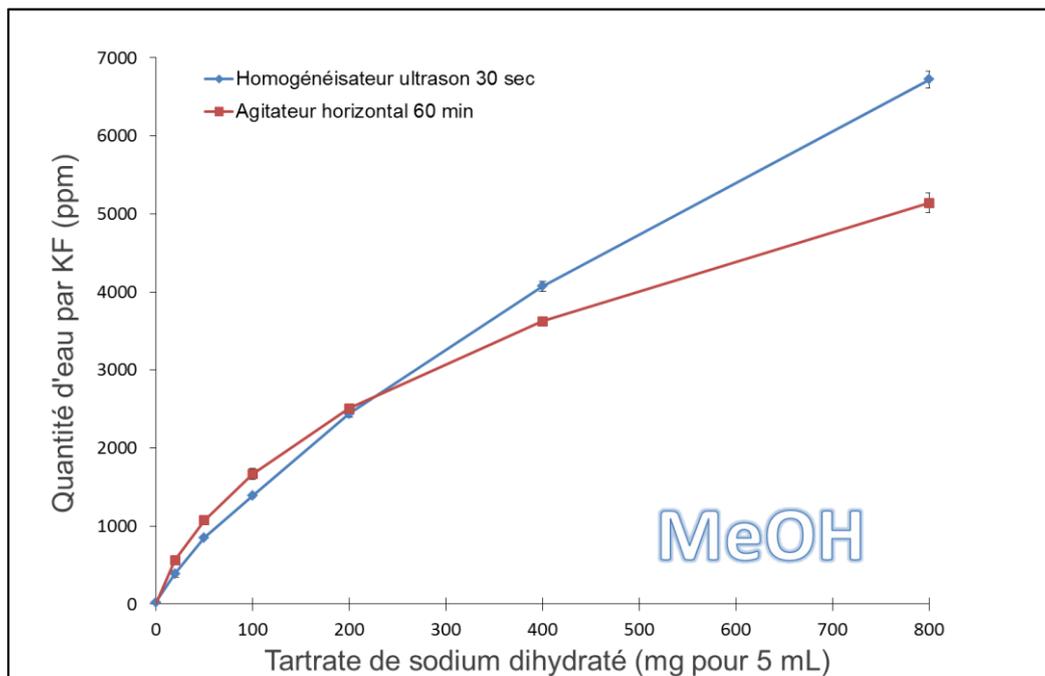


Fig. 6: Etalons préparés dans 5 ml de méthanol (axe Y: ppm soit $\mu\text{g} / \text{g}$). 3 échantillons par concentration ont été préparés ($N = 3$) et analysés par KF une fois ($n = 1$).

Pour approfondir ce résultat inattendu, les mêmes données sont replacées avec la récupération d'eau (% d'eau stœchiométrique extrait) sur l'axe Y (Fig. 7). Dans cette représentation, la compréhension de la tendance observée devient évidente: à partir d'un maximum de 50% à 20 mg de tartrate, la récupération tombe à env. 20% à 800 mg. En revanche, dans l'expérience d'agitation, la valeur de départ est de 72% à 20 mg de tartrate et elle chute à 16% à 800 mg. Nous avons émis l'hypothèse qu'en raison de la courte durée traitement (seulement 30 s), le traitement par ultrasons extrait uniquement la couche d'hydratation externe («première eau d'hydratation») du tartrate de sodium dihydraté, correspondant à 7,83% en poids de l'échantillon (May et al., 1989). La première eau d'hydratation représente 50% de l'eau stœchiométrique totale de tartrate de sodium dihydraté (nominalement 15,66%). En revanche, l'agitation horizontale extrait plus de 50% de l'eau stœchiométrique à des quantités de tartrate inférieures à 100 mg par 5 ml de solvant. Cependant, l'efficacité de l'extraction avec une agitation horizontale diminue rapidement lorsque la quantité de tartrate dépasse 200 mg par 5 ml de méthanol. La reproductibilité de la préparation des échantillons s'améliorait avec l'augmentation de la concentration d'eau, pour les deux méthodes d'extraction: à partir de 100 mg et jusqu'à 800 mg de tartrate de sodium dihydraté par 5 ml, l'écart type était minime.

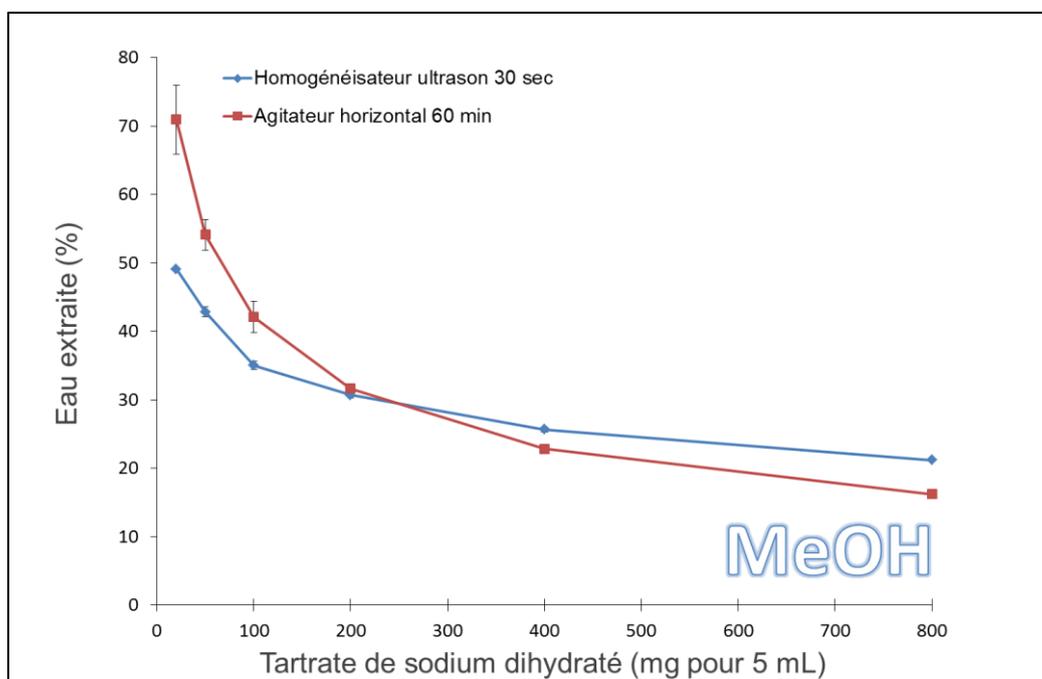


Fig.7: Etalons préparés dans 5mL de méthanol (axe Y: récupération (%), c'est-à-dire H₂O réel / H₂O stœchiométrique $\mu\text{g} / \mu\text{g}$)

Nous avons recherché si la différence observée dans l'extraction de l'eau entre le traitement par ultrasons et l'agitation était spécifique au méthanol ou était un effet général. A cette fin, la même expérience (Fig. 6 et Fig. 7) a été répétée avec du DMSO et de l'acétate d'éthyle comme solvant.

La figure 8 illustre l'extraction de l'eau avec du DMSO comme solvant, dans les mêmes conditions que la figure 6. Le DMSO est un solvant polaire non toxique et pourrait être une alternative moins toxique au méthanol. Avec le DMSO, l'extraction assistée par ultrasons fonctionne mieux que l'agitation, à toutes les quantités de tartrate testées. Si les mêmes données sont reconstituées avec la récupération d'eau sur l'axe Y (% d'eau extraite par rapport à la quantité stœchiométrique), une caractéristique frappante peut être observée (Fig. 9). En effet, à faible taux de tartrate par DMSO et

avec le traitement par ultrasons, la récupération approche les 100%. Cela signifie que la quasi-totalité de l'eau stœchiométrique est extraite avec le DMSO sous traitement ultrasonique. On observe visuellement que le tartrate de sodium dihydraté gonfle et prend un aspect transparent, au contact du DMSO. Fait intéressant, la récupération maximale d'eau avec la méthode par l'agitation horizontale ne dépasse pas 50% avec du DMSO comme solvant. Ce comportement n'était pas attendu. Comme pour le méthanol, la reproductibilité de la préparation des échantillons s'améliore avec l'augmentation de la concentration en eau, quelle que soit la méthode d'extraction: entre 100 et 800 mg de tartrate de sodium dihydraté pour 5 mL de DMSO, l'écart type est minime.

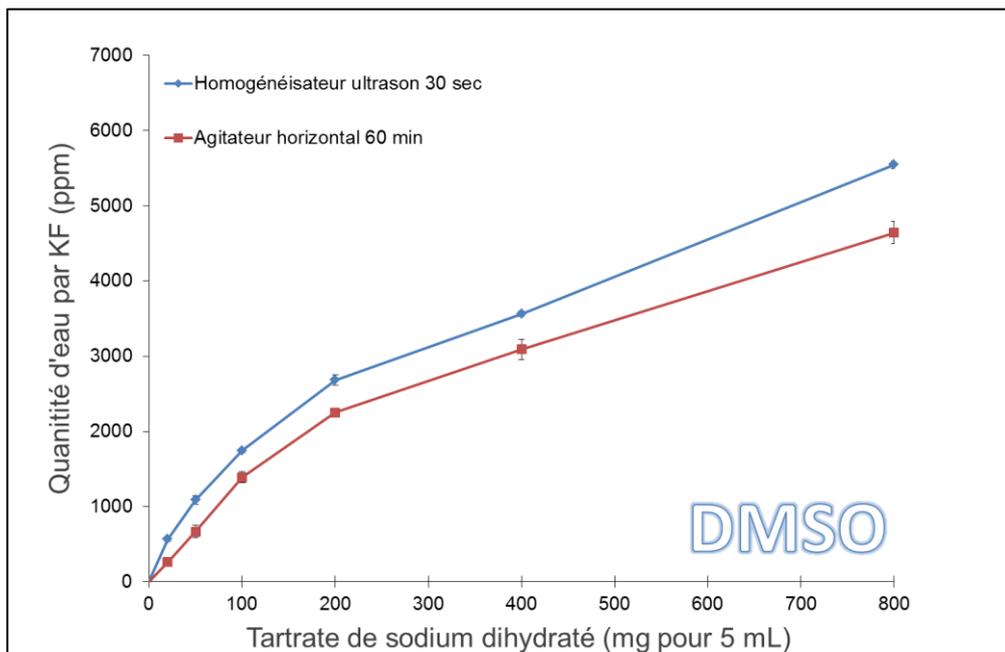


Fig. 8: Etalons préparés dans 5 ml de DMSO (axe Y: ppm soit $\mu\text{g} / \text{g}$). 3 échantillons par concentration ont été préparés ($N = 3$) et analysés par KF une fois ($n = 1$). Le DMSO pourrait être un solvant alternatif moins toxique que le méthanol. Sa capacité d'extraction d'eau est comparable à celle du méthanol.

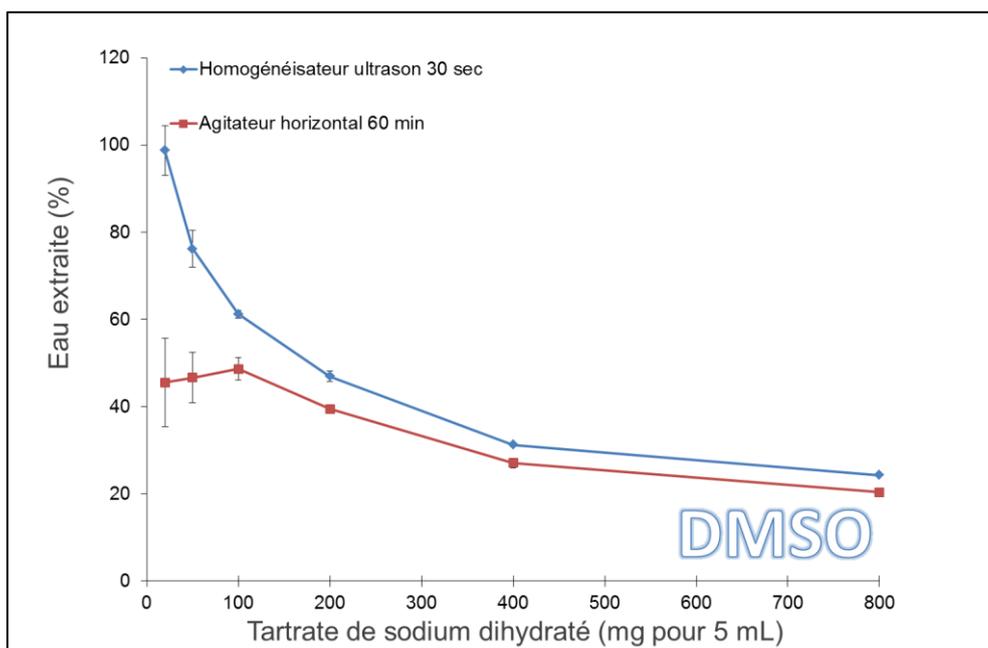


Fig.9: Etalons préparés dans 5 ml de DMSO (axe Y: récupération (%), c'est-à-dire H_2O réel / H_2O stœchiométrique $\mu\text{g} / \mu\text{g}$)

La figure 10 illustre l'extraction de l'eau dans l'acétate d'éthyle comme solvant, dans les mêmes conditions que la figure 6. Ce solvant est moins toxique que le méthanol et beaucoup moins polaire. Cependant, la quantité d'eau extraite est infime quelle que soit la méthode d'extraction utilisée. De même, l'erreur de détermination KFT est élevée, en particulier avec l'extraction par ultrasons. L'acétate d'éthyle ne convient pas comme solvant pour KFT.

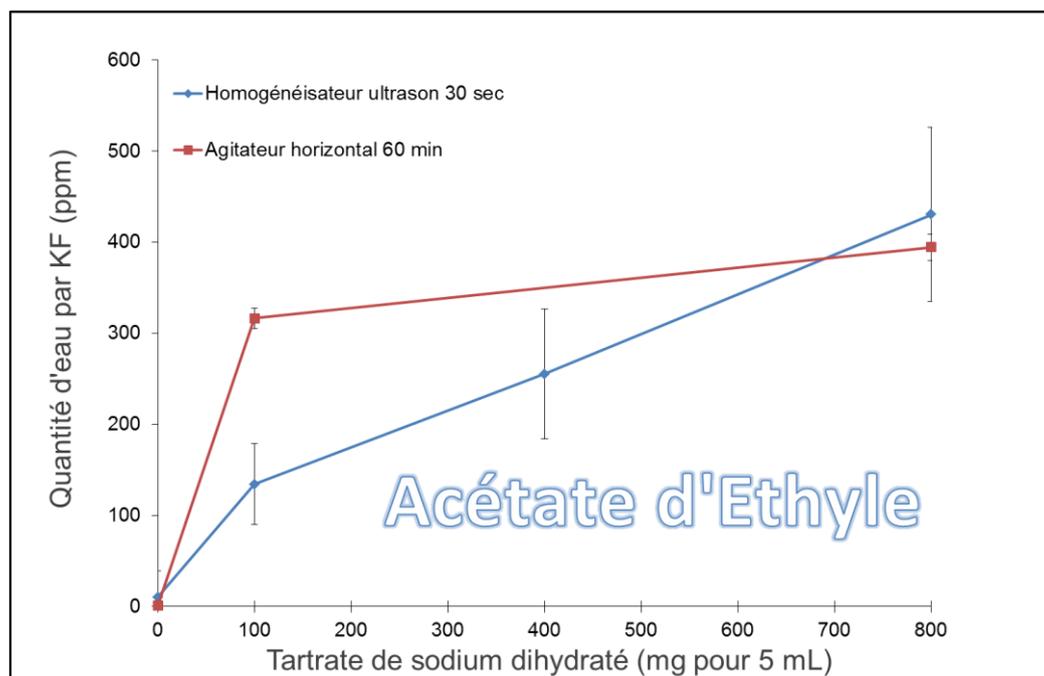


Fig. 10: Etalons préparés dans 5 ml d'acétate d'éthyle (axe Y: ppm soit $\mu\text{g} / \text{g}$). 3 échantillons par concentration ont été préparés ($N = 3$) et analysés par KF une fois ($n = 1$). L'acétate d'éthyle est un solvant moins toxique et moins polaire que le méthanol. Sa capacité d'extraction d'eau est cependant très faible. Il ne convient pas à la préparation d'étalons d'eau.

Jusque-là, le méthanol et le DMSO semblent être des solvants appropriés pour la préparation rapide d'étalons d'eau par traitement ultrasonore. Cependant, l'écart type des échantillons préparés dans le méthanol était légèrement inférieur à celui du DMSO ($7,7 \mu\text{g}$ dans le MeOH contre $9,9 \mu\text{g}$ dans le DMSO, $N = 6$), probablement parce que le titrage des standards de DMSO durait beaucoup plus longtemps et que le DMSO avait tendance à former des bulles lors de la manipulation avec une seringue de 1 mL. De plus, le DMSO a été décrit comme interférant avec certains réactifs KF dans la littérature. Pour cette raison, nous avons décidé de préparer des étalons de contrôle de l'eau à partir de 100 mg de tartrate de sodium dihydraté dans 5 ml de méthanol en utilisant un protocole ultrasonique d'amplitude fixe de 70% pendant 30 s pour une extraction rapide de l'eau. Pour évaluer la reproductibilité du protocole, 5 échantillons ont été préparés dans les mêmes conditions ($N = 5$) et analysés par KFT en triple ($n = 3$). La figure 11 illustre la puissance efficace délivrée par le système ultrason lors de l'expérience de reproductibilité. La figure 12 (droite) représente les données de l'expérience de reproductibilité. La concentration en eau était de $1666 \pm 28 \text{ ppm}$ ($N = 5$, $n = 3$).

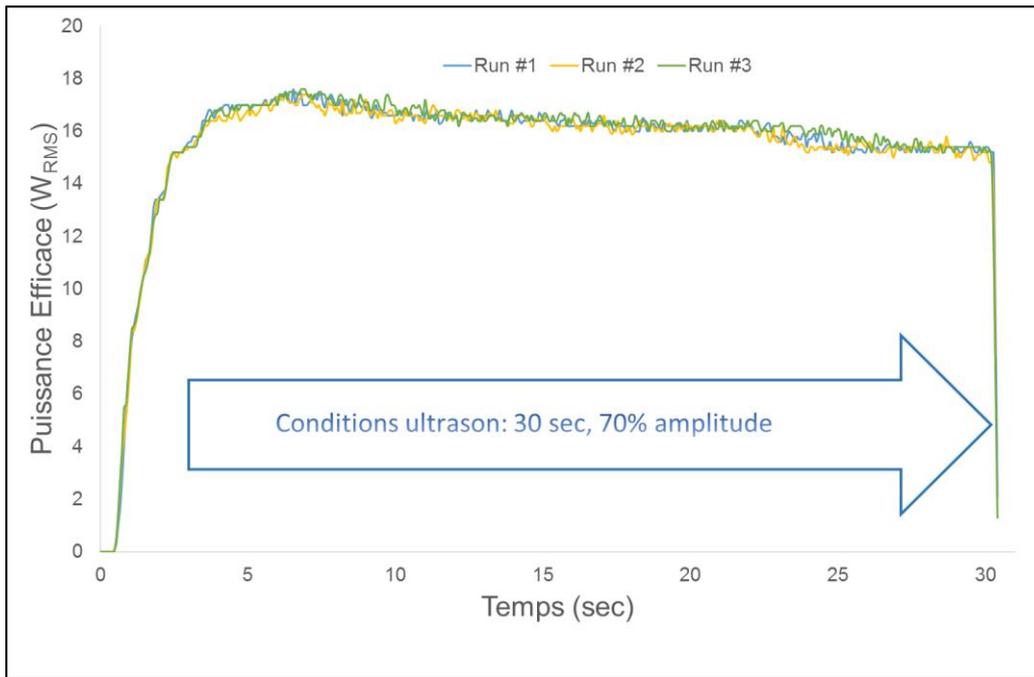


Fig.11: La production d'énergie par ultrasons avec l'homogénéisateur NexTGen Lab120 est hautement reproductible: 3 étalons de contrôle eau dans le méthanol sont préparés dans des conditions identiques (100 mg de tartrate de sodium dihydraté pour 5 mL de méthanol)

De même, la stabilité des étalons d'eau préparés a été évaluée: 5 échantillons ont été préparés (N = 5) et analysés par KFT en triple (n = 3) après 0 h, 2 h, 4 h, 8 h et 10 h de stockage à 25 ° C. L'expérience visait à vérifier la stabilité d'étalons fraîchement préparés au cours d'une journée de travail. La figure 12 (gauche) illustre les données de l'expérience de stabilité. Aucun changement significatif de l'étalon de l'eau n'a été remarqué pendant la période testée de 10 h (concentration en eau 1698 ± 51 ppm (N = 5, n = 3)).

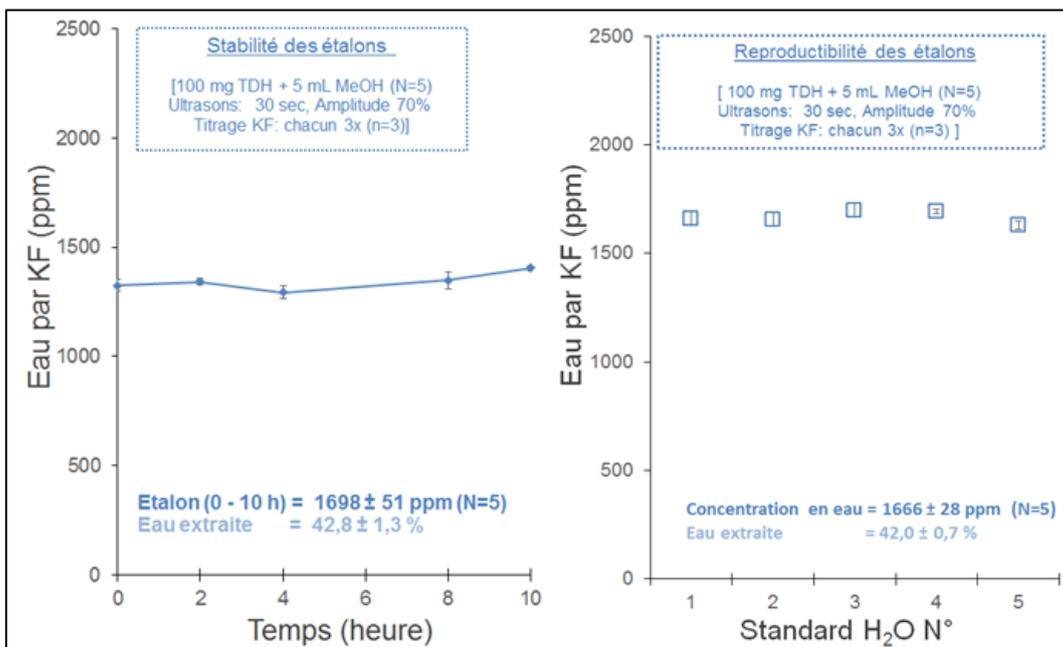


Fig. 12: Reproductibilité et stabilité de 5 étalons de contrôle de l'eau préparés par ultrasons dans des conditions identiques. 5 échantillons ont été préparés (N = 5) et analysés par KF trois fois (n = 3).

Résumé

L'extraction assistée par ultrasons de l'eau à partir de tartrate de sodium dihydraté dans le méthanol et le DMSO s'est avérée être une alternative efficace et rapide à l'agitation horizontale, une méthode de laboratoire courante, pour la préparation ad hoc d'étalons d'eau. Une étape de sonication de 30 s avec une amplitude fixe de 70% a donné des performances d'extraction comparables à une agitation horizontale de 60 min dans les trois solvants testés. Avec l'extraction assistée par ultrasons, le flux de travail complet, y compris la pesée, l'extraction et le titrage, peut être accompli en 10 à 15 minutes. Il s'agit d'une amélioration significative qui se traduit par des économies de temps et de coûts notables par rapport au flux de travail classique, y compris l'agitation horizontale. Fait intéressant, aucune des méthodes (ou des solvants) n'a pu libérer 100% de l'eau stœchiométrique des portions de tartrate de sodium dihydraté entre 50 mg et 800 mg (dispersé dans 5 ml de solvant). La récupération exacte dépendait de la quantité de sel de tartrate pour 5 ml de solvant (récupération plus élevée à de faibles quantités), du solvant et de la méthode d'extraction (ultrasons ou agitation). Bien qu'il puisse sembler intéressant à première vue d'utiliser de faibles quantités de sel de tartrate de 20 à 50 mg et de DMSO comme solvant, pour obtenir une récupération élevée, nos expériences ont clairement montré que cette approche est erronée. En effet, l'écart type de la préparation des échantillons est beaucoup plus élevé à de faibles quantités de tartrate (inférieures à 100 mg par 5 ml de solvant). Les erreurs de pesée et, plus important encore, les erreurs de titrage KF sont prédominantes. Cela doit être pris en compte si les étalons d'eau doivent être préparés à partir de tartrate de sodium dihydraté. Nous avons constaté que des étalons d'eau stables peuvent être préparés dans du méthanol avec une reproductibilité et une précision élevées, si le traitement par ultrasons est court (par exemple 30 s à une amplitude fixe de 70%) et que la quantité de tartrate de sodium dihydraté par 5 ml de solvant est comprise entre 100 mg et 400 mg. Dans ces conditions, la température pendant la sonication atteint 42-45 °C, tandis qu'une extraction d'eau efficace est obtenue (récupération 40-42%). Sur la base des données expérimentales, nous émettons l'hypothèse qu'un traitement ultrasonique de 30 s au méthanol n'extrait que la «première eau d'hydratation», similaire au séchage isotherme sous vide (May et al. 1989). La «première eau d'hydratation» correspond à 50% de la quantité stœchiométrique de 15,66% ou 7,83% du poids de l'échantillon. Si cette hypothèse peut être confirmée dans d'autres études, un traitement ultrasonique court mais intensif du tartrate de sodium dihydraté dans le méthanol peut être la meilleure stratégie pour la préparation d'étalons d'eau précis pour le titrage coulométrique Karl Fischer.

Littérature

May JC, Wheeler RM, Grim E; The Gravimetric Method for the Determination of Residual Moisture in Freeze-Dried Biological Products (1989) *Cryobiology* 26, 277-284



Fraunhofer

IZI-BB

Am Mühlberg 13

14476 Potsdam

GERMANY

www.izi-bb.fraunhofer.de



SYNERGIE PARK

7 avenue Pierre et Marie Curie

59260 Lezennes

FRANCE

www.sinaptec.fr

sinaptec@sinaptec-ultrasonic.com

Tél.: +33 (0)3 20 61 03 89