

SGT N° 11 “SALUD” / Comisión de Productos para la Salud / Grupo Ad Hoc Farmacopea/ Acta N° 01/13

UNIDO VIII
Documento de Trabajo “Espectrofotometría IR”

Curitiba, 05 a 07 de marzo de 2013

Espectrofotometría Infrarrojo

Introducción:

La radiación electromagnética es una forma de energía que se propaga como ondas y puede ser subdividida en regiones de longitudes de onda características. Asimismo, puede ser considerada también como un flujo de partículas denominadas fotones (o cuanto). Cada fotón contiene determinada energía cuya magnitud es proporcional a la frecuencia e inversamente proporcional a la longitud de onda. La longitud de onda (λ) es generalmente especificada en nanómetros, nm (10^{-9}) y en algunos casos en micrómetros, μm (10^{-6}). En caso del infrarrojo la radiación electromagnética puede ser, también descrita en términos de número de onda y expresada en cm^{-1} . Los rangos de longitud de onda de energía electromagnética de interés para el infrarrojo, se describen en **Tabla 1**.

Infrarrojo cercano (NIR)	780 – 2500 nm (12800 – 4000 cm^{-1})
Infrarrojo medio (MIR)	4 - 25 μm (4000 - 400 cm^{-1})
Infrarrojo lejano	25 – 300 μm (400-33 cm^{-1})

Tabla 1. Rangos de longitud de onda de espectrofotometría infrarrojo

La espectrofotometría infrarroja es un método de medida de la absorción de la radiación en un rango de longitudes de onda, cuando ésta pasa a través de una capa delgada de sustancia.

La espectrofotometría de infrarrojo es un ensayo de identificación por excelencia siendo capaz de distinguir sustancias con diferencias estructurales. De las tres regiones de infrarrojo (cercano, medio y lejano), la región comprendida entre 4000 a 400 cm^{-1} es la más empleada para fines de identificación. **Cerrar esta oración sobre MIR**

Equipo

Los espectrofotómetros utilizados para la obtención del infrarrojo medio y cercano consisten de una fuente de luz, monocromador o interferómetro y detector, los cuales permiten la obtención de espectros en la región comprendida entre 780 a 25000 nm (12800 a 400 cm^{-1}). Actualmente, los espectrofotómetros de infrarrojo utilizan un interferómetro en vez de un monocromador; la radiación policromática incide sobre la muestra y los espectros son obtenidos en el dominio de la frecuencia con ayuda de la transformada de Fourier.

Verificación (JPh, Indian Ph, FE, Guia EDQM)

Escala de número de onda

La escala de número de onda puede ser verificada registrando el espectro de un film de poliestireno que presente máximos de absorción a los números de onda que se detallan a continuación:

Transmisión mínima (cm ⁻¹)	Criterios de aceptación (cm ⁻¹)	
	Instrumentos monocromador	Instrumentos con Transformada de Fourier
3060,0	± 1,5	± 1,0
2849,5	± 2,0	± 1,0
1942,9	± 1,5	± 1,0
1601,2	± 1,0	± 1,0
1583,0	± 1,0	± 1,0
1154,5	± 1,0	± 1,0
1028,3	± 1,0	± 1,0

Resolución

- 1- Para instrumentos que utilicen un instrumento con monocromador registrar el espectro de un film de poliestireno certificado de 35 μm de espesor.
- 2- Para instrumentos con Transformada de Fourier seleccionar una resolución adecuada con una apodización apropiada según indicación del fabricante. Registrar el espectro de un film de poliestireno certificado de 35 μm de espesor.

Especificaciones

Instrumentos con monocromador:

- La diferencia entre el porcentaje de transmitancia en el máximo de transmisión a 2870 cm⁻¹ (3,48 μm) y al mínimo de transmisión a 2849,5 cm⁻¹ (3,51 μm) debe ser mayor a 18.
- La diferencia entre el porcentaje de transmitancia en el máximo de transmisión a 1589 cm⁻¹ (6,29 μm) y al mínimo de transmisión a 1583 cm⁻¹ (6,32 μm) debe ser mayor a 10.

Instrumentos con transformada de Fourier:

- La diferencia entre las absorbancias al mínimo de absorción a 2870 cm⁻¹ y en el máximo de absorción a 2849,5 cm⁻¹ debe ser mayor a 0,33.
- La diferencia entre las absorbancias al mínimo de absorción a 1589 cm⁻¹ y en el máximo de absorción a 1583 cm⁻¹ debe ser mayor a 0,08.

Preparación de las muestras y medidas (JPh) (FA)

Se debe utilizar la muestra secada bajo las condiciones descritas en el ensayo *Perdida por secado*, a no ser que se especifique de otra forma en la monografía.

Se debe preparar la muestra de acuerdo a uno de los siguientes procedimientos, según se indica en la monografía individual, de modo que la transmitancia de la mayoría de las bandas se encuentre en el rango de 5 a 80 %.

Método de disco de bromuro de potasio o cloruro de potasio (método en fase sólida)

Pulverizar 1-2 mg de la muestra sólida en un mortero de ágata, triturar con 0,10 a 0,20 g de bromuro de potasio o cloruro de potasio, para espectrofotometría de infrarrojo, tomando precauciones respecto a la absorción de humedad y comprimir la mezcla en un molde adecuado con forma de disco. Presionar la mezcla en un molde aplicando una presión de 50 a 100 kN por cm² durante 5 a 8 minutos, con ayuda de vacío en caso de ser necesario, para obtener un disco transparente de aproximadamente 13 mm de diámetro.

El disco debe desecharse si no es uniforme cuando se lo examina visualmente o si la transmitancia a 2.000 cm⁻¹ en ausencia de una banda de absorción específica, es menor de 75 % sin emplear compensación en el haz de referencia.

Método para película

Analizar una película delgada de la sustancia a analizar o una película preparada como se describe en la monografía individual.

Método de reflectancia difusa (DRIFT)

Pulverizar 1 a 3 mg de una sustancia sólida en un polvo fino de no más de 50 Cuando en la monografía es indicado un método de preparación para las m de tamaño de partícula en un mortero de ágata, y trituarlo rápidamente con 0,05 a 0,10 g de bromuro de potasio para espectrofotometría infrarroja, con precaución para evitar la absorción de humedad. Ubicar la mezcla en un soporte para la muestra y analizar el espectro de reflectancia obtenido.

Método en solución

Preparar la solución por el método indicado en cada monografía en una celda para líquidos de material transparente a la radiación infrarroja, y realizar la medida del espectro contra el solvente de referencia utilizado para preparar la solución de la muestra. Normalmente, se obtienen resultados óptimos al utilizar concentraciones en el rango de 10-100 g/L para caminos ópticos de 0,1 a 0,5 mm. El solvente utilizado no debe exhibir interacciones o reacciones químicas con la sustancia a ser examinada así como tampoco dañar la celda. Aquellas regiones del espectro en las que el solvente presenta una fuerte absorción no deben tenerse en cuenta.

Los solventes orgánicos a utilizar deben ser exentos de agua.

Método en suspensión

Triturar 5 a 10 mg de la sustancia a analizar con 2 gotas de vaselina líquida apropiada hasta obtener una mezcla cremosa homogénea. Colocar una porción de la mezcla así obtenida entre dos placas de cloruro de sodio, bromuro de potasio u otro material transparente a la radiación infrarroja y presionar suavemente las placas para formar una película fina.

Método en película fina

Colocar 1 o 2 gotas de la sustancia líquida a analizar entre dos placas de cloruro de sodio, bromuro de potasio u otro material transparente a la radiación infrarroja y presionar suavemente las placas para formar una fina película. También puede emplearse una celda del mismo material y de paso óptico apropiado.

Método de gases

Introducir una muestra gaseosa en una celda para gases, previamente evacuada a la presión que se especifica en la monografía, y analizar su espectro de absorción. La longitud del camino óptico de la celda es usualmente 5 o 10 cm, pero si es necesario podría exceder 1 m.

Para evitar interferencias de absorción debido al vapor de agua, dióxido de carbono u otros gases atmosféricos, colocar en el haz de referencia una celda idéntica evacuada o llenada con un gas transparente a la radiación infrarroja, por ej. nitrógeno o argón.

Método reflectancia total atenuada (ATR)

Colocar la sustancia a ser examinada en estrecho contacto con un elemento de reflectancia interna como diamante, germanio, selenuro de cinc, bromuro de talio-ioduro de talio (KRS-5) u otro material apropiado de alto índice de refracción. Asegurar que el contacto sea uniforme entre la sustancia y la totalidad de cristal de contacto del elemento de reflectancia interna, incluso con la aplicación de presión o disolviendo la sustancia en un solvente apropiado. Cubrir el elemento de reflectancia con la solución obtenida y evaporar a sequedad, obtener el espectro de ATR.

Criterios de identificación

Una sustancia puede ser identificada cuando presente máximos de absorción en los mismos números de onda y con intensidades relativas similares al espectro de una sustancia de referencia o al espectro de referencia de la sustancia. Además cuando en la monografía son especificadas absorciones a varios números de onda, la identificación de la sustancia comparada con la sustancia esperada puede ser confirmada por la presencia de las bandas de absorción a los números de onda especificados.

A menos que se especifique de otra forma en la monografía individual, se debe proceder mediante *Identificación por uso de sustancia de referencia*.

1. Identificación por sustancia de referencia

Los máximos de absorción en el espectro obtenido con la muestra deben corresponder en posición e intensidad relativa a los obtenidos con

la sustancia de referencia. En el caso de no haber concordancia en los espectros de la muestra sólida y de la sustancia de referencia, disolver porciones iguales de la muestra y de la sustancia de referencia en volúmenes iguales de un solvente apropiado, evaporar la solución hasta sequedad bajo condiciones idénticas y repetir el ensayo con los residuos.

2. Identificación por espectro de referencia Farmacopea MERCOSUR

Preparar la muestra en condiciones similares a las indicadas para la obtención del espectro de referencia y registrar el espectro de la sustancia a analizar. Los máximos de absorción en el espectro obtenido con la muestra deben corresponder en posición e intensidad relativa a los exhibidos en el espectro de referencia.

En el caso de no haber concordancia entre el espectro obtenido con la muestra sólida y el espectro de referencia, disolver la muestra en un solvente apropiado, evaporar la solución hasta sequedad y repetir el ensayo con el residuo.

Comparar los espectros y los máximos del poliestireno indicados en *Verificación de la escala de longitud de onda.*

3. Identificación por máximos de absorción

Los máximos de absorción en el espectro obtenido con la muestra deben corresponder en posición a todos los indicados en la monografía individual.