

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
BIBLIOTECA CIÈNCIES

→ Químicas

Nº Registre 3650

DATA 22.9.93

SIGNATURA 346.T.D

Nº LIBIS: 21.1866374

24 cms.

Fecha de lectura : 16 septiembre 1993

UNIVERSIDAD DE VALENCIA
FACULTAD DE QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**ANÁLISIS CUANTITATIVO POR
ESPECTROMETRÍA INFRARROJA EMPLEANDO
LA TRANSFORMADA DE FOURIER**

Tesis Doctoral presentada por
Salvador Garrigues Mateo

Nº Registro Tesis Facultad : 4106

UMI Number: U603149

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U603149

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

MIGUEL DE LA GUARDIA CIRUGEDA, Dr. en Química y Catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valencia, en **calidad de** Director de la Tesis Doctoral presentada por el Licenciado en Químicas **D. Salvador Garrigues Mateo**, con el título *"ANÁLISIS CUANTITATIVO POR ESPECTROMETRÍA INFRARROJA EMPLEANDO LA TRANSFORMADA DE FOURIER"*,

CERTIFICA:

que la citada Tesis Doctoral se ha realizado en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Químicas de la Universidad de Valencia y que el trabajo reúne los requisitos de originalidad, extensión e interés teórico-práctico necesarios para ser presentado como Memoria para alcanzar el Grado de Doctor.

Y para que así conste, a los efectos pertinentes, se expide el presente informe, en Valencia a veinticinco de Junio de mil novecientos noventa y tres.



Fdo: Miguel de Guardia Cirugeda

Deseo expresar mi agradecimiento a la *Conselleria de Cultura, Educació i Ciència* de la *Generalitat Valenciana* por la concesión de la beca disfrutada, lo que ha permitido llevar a cabo las investigaciones contenidas en esta Memoria, las cuales han sido financiadas en parte por el Proyecto de la *DGICyT PB92-0870*.

**ANÁLISIS CUANTITATIVO POR
ESPECTROMETRÍA INFRARROJA EMPLEANDO
LA TRANSFORMADA DE FOURIER**

Quiero manifestar mi más sincero agradecimiento a Miguel de la Guardia, por su constante apoyo y eficaz dirección, sin los cuales no hubiese sido posible la realización de este trabajo.

A Amparo Salvador agradezco su atenta disposición y la ayuda prestada.

Deseo destacar también la colaboración recibida por parte de Máximo Galignani, y, fundamentalmente, su paciencia para saber y querer aguantar al argentinito que algunos llevamos dentro.

A todos los componentes del grupo de investigación y al resto de miembros del Departamento agradezco todo el interés demostrado así como la ayuda prestada.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL 1

1. Espectroscopía infrarroja.
2. Métodos de medida en el infrarrojo medio.
3. Preparación de la muestra para su análisis en el IR por medidas de transmisión.
4. Análisis cuantitativo por espectrometría IR, empleando medidas de transmisión.
5. Análisis IR-TF en sistemas de flujo.

OBJETO DEL TRABAJO 35

**PARTE I. ANÁLISIS CUANTITATIVO POR IR-TF
EMPLEANDO COCIENTES DE BANDAS** 39

- CAPITULO 1.** Análisis de disolventes, empleados en pinturas, por espectrometría infrarroja empleando la transformada de Fourier. 47
- CAPITULO 2.** Empleo de modelos matemáticos para la determinación de orto-, meta- y para-xileno en xilol por espectrometría infrarroja utilizando la transformada de Fourier. 71

PARTE II. ANÁLISIS CUANTITATIVO POR IR-TF MEDIANTE EL EMPLEO DE LAS TÉCNICAS DE FLUJO	109
CAPITULO 3. Estudio del acoplamiento FIA-IR-TF.	119
CAPITULO 4. Determinación de ibuprofeno en medicamentos por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier empleando un sistema de flujo.	139
CAPITULO 5. Determinación simultánea de ácido acetilsalicílico y cafeína en medicamentos, por análisis en flujo y espectrometría infrarroja por transformada de Fourier.	161
CAPITULO 6. Determinación simultánea de orto-, meta- y para-xileno por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier en un sistema de flujo.	195
CAPITULO 7. Determinación de carbaryl en formulaciones de pesticidas por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier empleando sistemas de flujo.	219
CAPITULO 8. Preconcentración en línea y determinación de carbaryl por espectrometría infrarroja empleando sistemas de flujo.	245
CONCLUSIONES	279
TRABAJOS PUBLICADOS QUE FORMAN PARTE DE ESTA TESIS DOCTORAL	283

INTRODUCCIÓN GENERAL



1. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

La espectroscopía infrarroja, IR, es una de las técnicas más extensamente utilizadas en la identificación de compuestos [0.1-0.3] y en la determinación de estructuras moleculares [0.4-0.6]. Los espectros en el IR están relacionados con los cambios que se producen entre los estados energéticos rotacionales y vibracionales de las moléculas. La energía involucrada en este tipo de transiciones moleculares corresponde con la región del espectro electromagnético comprendida entre el visible y las microondas. Para un número de ondas de 100 cm^{-1} la energía que una molécula absorbe de la radiación incidente la convierte en energía rotacional molecular, dando lugar a un espectro de rotación molecular consistente en una serie de líneas discretas. Cuando la molécula absorbe energía en el intervalo de 10000 a 100 cm^{-1} la convierte en energía vibracional y, en este caso, el espectro que se origina presenta bandas, y no líneas, debido a que un cambio de energía vibracional siempre lleva asociado varios cambios de energía rotacional [0.7].

De las tres zonas en las que podemos dividir la región infrarroja (IR próximo, medio y lejano) la más interesante y utilizada es la del infrarrojo medio, comprendida entre 4000 y 400 cm^{-1} . En esta zona aparecen bandas de absorción correspondientes a las frecuencias fundamentales de vibración. Estas frecuencias, a las que aparecen las bandas de absorción, dependen fundamentalmente de la masa relativa de los átomos enlazados, de la constante de fuerza del enlace que los une y de la geometría de la molécula [0.8].

Para que una molécula pueda absorber radiación infrarroja debe experimentar un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su

movimiento vibratorio o rotatorio. Afortunadamente, las moléculas homonucleares, como por ejemplo el N_2 y el O_2 , no absorben en el infrarrojo debido a que no experimentan un cambio en su momento dipolar durante los movimientos de vibración o de rotación [0.9].

La instrumentación empleada en la obtención de espectros IR se basa en los mismos principios ópticos que los espectrofotómetros empleados en el ultravioleta y en el visible. Los tres componentes básicos de un espectrofotómetro IR son: i) una fuente de radiación, que suministra la radiación infrarroja incidente sobre la muestra objeto de estudio, ii) un sistema que separe la radiación generada por la fuente en sus diferentes frecuencias y iii) un detector, que transforma las pequeñas variaciones de energía en una señal eléctrica de modo que sea registrada [0.10].

Por otra parte, se puede clasificar la instrumentación empleada en el IR en dos grandes bloques: el infrarrojo dispersivo y el IR mediante la transformada de Fourier [0.11-0.14], en base al empleo no solo de un diferente sistema de separación de las frecuencias sino, como veremos, de todo un cambio de filosofía en la obtención de los espectros.

En todos los espectrofotómetros se pueden considerar tres variables relacionadas que controlan su funcionamiento: la resolución espectral, la exactitud fotométrica y la velocidad de barrido. Debido a la acción recíproca de estas variables un cambio en una de ellas influirá sobre las otras [0.8].

La resolución nominal de un espectro se define como la capacidad del espectrofotómetro para distinguir frecuencias espectrales próximas y está asociada, por lo general, a la anchura de la rendija que se emplea en el espectrofotómetro. Una manera de mejorar la resolución consiste en disminuir la anchura de la rendija,

INTRODUCCIÓN

lo que sin embargo lleva asociada una disminución de la energía que llega al detector y, en consecuencia, una peor relación señal/ruido de fondo. En cuanto a la exactitud fotométrica, ésta corresponde a la exactitud con la que se pueden obtener resultados cuantitativos por medida de las intensidades de las bandas de absorción lo que a su vez depende de la resolución y la rendija empleada. Por lo que respecta a la velocidad de barrido cuanto menor sea ésta mayor resolución y mejor exactitud se conseguirán, sin embargo esto implica tiempos de análisis más prolongados.

La calidad de un espectro depende del número de elementos de resolución (entendiendo como elemento de resolución cada una de las medidas independientes realizadas, espaciadas a intervalos iguales de número de ondas) y de la relación señal/ruido. Sin embargo, tal como se ha comentado, un mayor número de elementos de resolución lleva asociada una menor sensibilidad, debido a la utilización de rendijas menores, y en consecuencia una disminución de la relación señal/ruido. Una forma de mejorar esta relación consiste en promediar espectros ya que de esta forma el ruido de fondo va compensándose. Pero, considerando que con la espectrometría dispersiva, en el dominio de la frecuencia, los elementos de resolución se miden de forma individual y sucesiva, este procedimiento para mejorar la relación señal/ruido presenta el inconveniente de requerir tiempos de medida extraordinariamente largos. Una alternativa a esto la constituye la espectrometría en el dominio del tiempo, que se caracteriza porque en ella todos los elementos de resolución se miden simultáneamente, de modo que en el tiempo requerido por la espectrometría en el dominio de la frecuencia para medir un elemento de resolución se puede obtener el espectro completo. Sin embargo, el empleo de la espectrometría en el dominio del tiempo exige medir la variación temporal (no el valor promedio) de la intensidad de la radiación que, en el caso de la región infrarroja, varía con una frecuencia media del orden de 10^{13} Hz. Dado que



no existe ningún detector IR con un tiempo de respuesta tan alto es necesario disponer de un sistema que permita transformar las variaciones temporales de la intensidad de la radiación IR en variaciones medibles instrumentalmente. El interferómetro de Michelson permite convertir o modular la señal correspondiente a la radiación infrarroja en una señal de frecuencia medible de forma que no se distorsione y se mantengan las relaciones, tanto de tiempo como de intensidad, existentes entre la radiación original y la señal registrada [0.9,0.15].

El interferómetro de Michelson es un dispositivo que divide un haz de radiación en dos haces de, aproximadamente, la misma potencia, que recorren trayectorias diferentes, y los recombina posteriormente de tal forma que pueden medirse las variaciones de intensidad del haz re combinado en función de la diferencia de la longitud del trayecto recorrido por las dos mitades. Esta diferencia de trayectoria se denomina retardo, y una representación de la potencia de salida en función del retardo se denomina interferograma y constituye el espectro en el dominio del tiempo. Utilizando la transformada de Fourier se obtiene el espectro en el dominio de la frecuencia a partir del interferograma.

Entre las ventajas que supone el empleo de la transformada de Fourier en el IR frente a las medidas con equipos dispersivos destacan:

- Un menor ruido de fondo: ya que el interferómetro, debido a su propio diseño, está libre de los problemas que origina la radiación dispersa.
- Una mayor sensibilidad, ya que la óptica del interferómetro deja pasar un 50 % más de radiación que la óptica de un equipo dispersivo, siendo la señal que llega al detector mayor.

INTRODUCCIÓN

- Una gran rapidez en la obtención de un espectro completo en un determinado intervalo, que permite acumular señales y promediarlas, mejorando por tanto la relación señal/ruido.

Todas estas ventajas conducen a que la sensibilidad y el límite de detección que se obtienen trabajando con un espectrómetro de transformada de Fourier sean mucho mejores que las obtenidas con un equipo dispersivo y requieran un menor tiempo de medida.

Hasta hace algunos años el único inconveniente que presentaban los espectrómetros IR por transformada de Fourier era su mayor precio en comparación con un equipo dispersivo debido, entre otras razones, a que requieren un sistema informático que permita una velocidad de cálculo muy grande. Sin embargo, debido al desarrollo en el diseño de nuevos interferómetros y, fundamentalmente, a la reducción de precio que han experimentado los ordenadores, los equipos de transformada de Fourier son prácticamente comparables, en lo que a precio se refiere, con los equipos dispersivos, además, y como pueden verse en las figuras 0.1 y 0.2 la óptica requerida por un sistema IR-TF es menos compleja que la empleada en los instrumentos dispersivos.

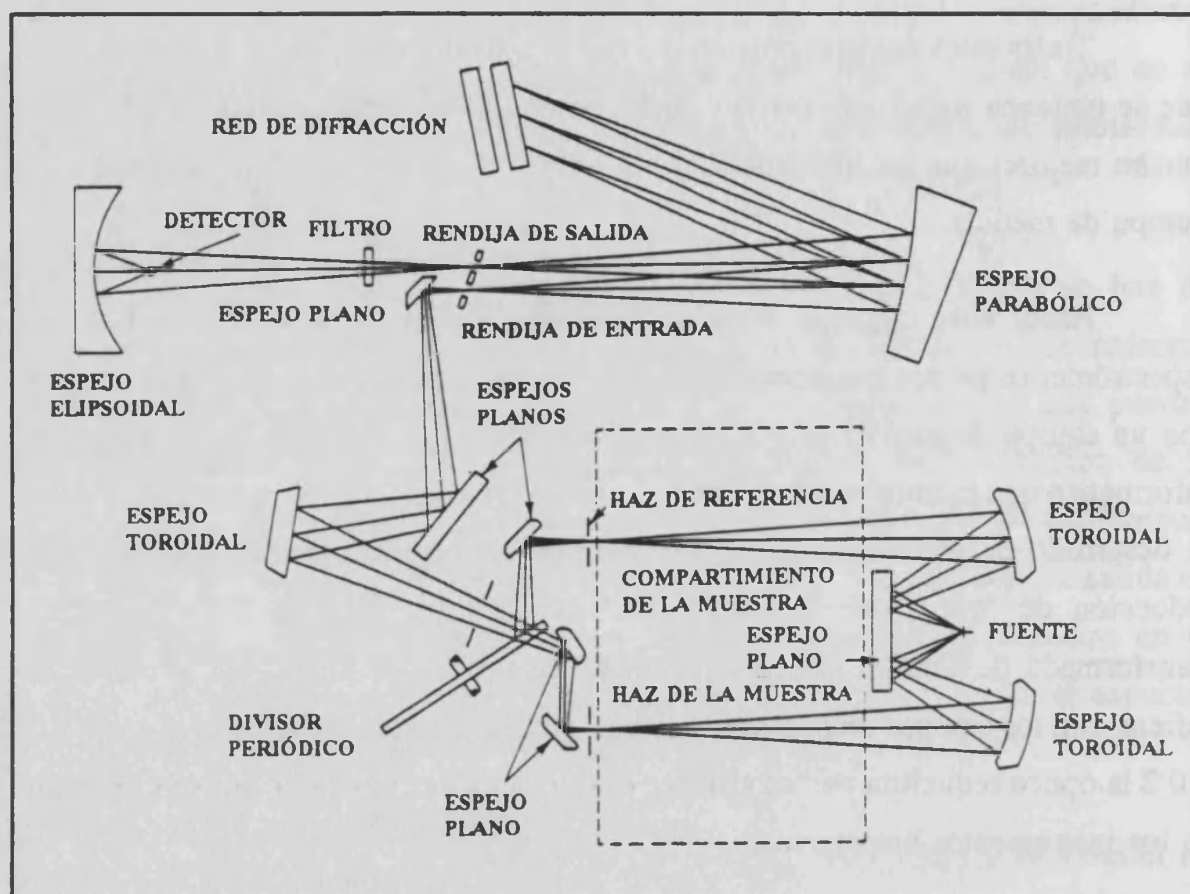


Figura 0.1

Esquema de un espectrofotómetro infrarrojo dispersivo de doble haz, en el que se indican los elementos ópticos que lo constituyen así como la trayectoria que sigue el haz de radiación [0.10].

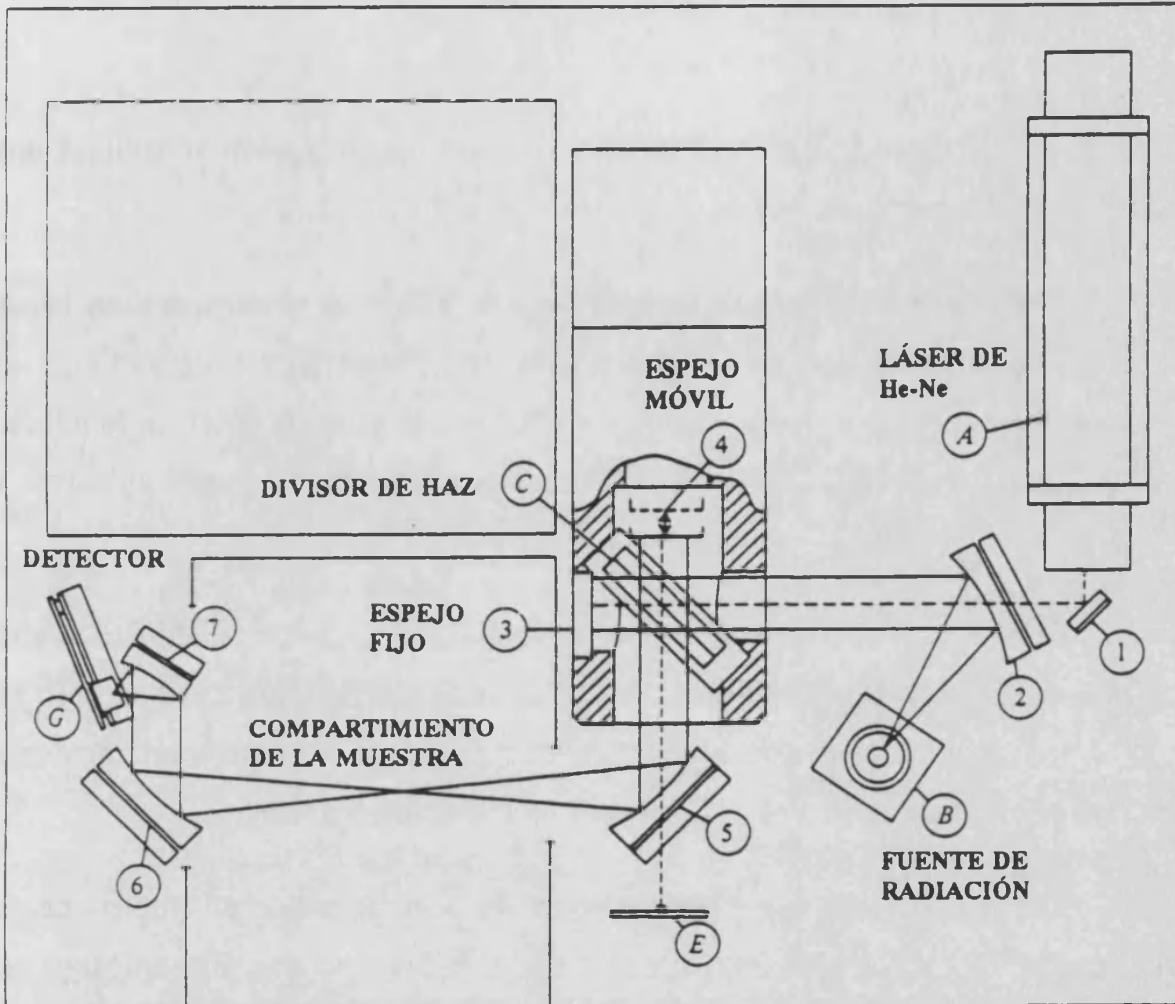


Figura 0.2

Esquema de un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier, donde se aprecia claramente que el menor número de elementos ópticos en comparación con un espectrofotómetro infrarrojo dispersivo [0.10].

2. MÉTODOS DE MEDIDA EN EL INFRARROJO MEDIO.

Para la obtención de espectros en el infrarrojo se pueden considerar dos tipos de medidas: de transmisión y de *reflectancia* [0.15,0.16].

Las medidas de transmisión son las más utilizadas y consisten en hacer pasar el haz de radiación infrarroja a través de la muestra y hacerlo llegar al detector, de manera que pueda establecerse la relación entre la potencia incidente y la potencia transmitida. Obviamente esta técnica únicamente puede aplicarse a aquellas sustancias que no son opacas a la radiación IR.

En cuanto a las técnicas de *reflectancia* se puede distinguir entre *reflectancia* difusa, RD, y *reflectancia* total atenuada, RTA. En el primer caso se mide la radiación reflejada y en el segundo las variaciones de la radiación incidente en base a la presencia de una muestra que no transmite la radiación.

Las técnicas de *reflectancia* ofrecen la ventaja, sobre el empleo de la transmisión, de requerir una menor preparación de las muestras. Sin embargo no están exentas de dificultades y así, entre los inconvenientes a las medidas de *reflectancia* difusa cabe distinguir que:

- Es necesario eliminar la radiación especular, de modo que no interfiera con la de *reflectancia* difusa.
- Se aplica principalmente a muestras en polvo, presentando inconvenientes otros tipos de muestras.

- Para muestras disueltas, como consecuencia del calentamiento que sufre la muestra, se pueden producir fuertes interferencias espectrales debido a la generación de una fase vapor.
- Falta de reproducibilidad en el llenado de la celda de medida.
- Baja sensibilidad, por comparación con las medidas de transmisión [0.17].

Por lo que respecta a la *reflectancia* total atenuada, esta técnica se fundamenta en el hecho de que, cuando la radiación pasa de un medio más denso a otro menos denso, bajo un cierto ángulo crítico, no se produce una reflexión completa y el haz de la radiación actúa como si hubiese penetrado dentro del medio menos denso. La profundidad de penetración depende de la longitud de onda de la radiación, del índice de refracción del material de la celda y de la muestra y del ángulo de incidencia, y el valor de la misma suele ser del orden de fracciones de la longitud de onda de la radiación empleada [0.17]. El efecto en una celda de *reflectancia* total atenuada es semejante al que se observa en una celda de transmisión con un paso óptico muy pequeño, pero la diferencia radica en que para la *reflectancia* total atenuada no es preciso que la muestra transmita la radiación. Un requerimiento muy importante para obtener buenas medidas de *reflectancia* total atenuada es que se produzca un buen contacto entre la muestra y el cristal de la celda, ya que la intensidad absoluta de los espectros depende de este factor [0.17]. Los espectros IR que se obtienen por RTA por lo general presentan las mismas bandas que los espectros de transmisión pero con una intensidad relativa diferente. Con los accesorios adecuados, la RTA puede aplicarse al análisis de muestras en disolución y de muestras semi-sólidas o pastosas.

La ventaja que ofrece la técnica de RTA es la escasa preparación y manipulación de las muestras que requiere. Entre sus desventajas hay que señalar que se obtienen resultados poco satisfactorios cuando se manejan muestras en forma

de polvo, fundamentalmente si éste está constituido por partículas muy duras, y los inconvenientes derivados de la importancia que tiene la eficiencia del contacto de la muestra con el cristal de la celda, así como la menor sensibilidad que proporciona.

3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA SU ANÁLISIS EN EL IR POR MEDIDAS DE TRANSMISIÓN.

La preparación de las muestras para su análisis por espectrometría IR, empleando medidas de transmisión, depende enormemente del estado físico de las muestras, por lo que según sean sólidas, líquidas o gaseosas se deben adoptar diferentes formas de preparación de las mismas y emplear diferentes tipos de celdas para realizar las medidas [0.8,0.18]. Las muestras sólidas se pueden comprimir junto con haluros alcalinos (KBr, NaCl, CsI, KCl y otros) obteniéndose discos que dejan pasar la radiación IR y que actúan como celdas, o dispersar en un medio viscoso, colocando una gota de la dispersión entre dos cristales adecuados, o disolver en un disolvente apropiado, transparente a la radiación IR en la región de interés, y llenar una celda de líquidos. Las muestras líquidas se pueden medir directamente, empleando películas delgadas de las mismas entre dos ventanas de una material transparente a la radiación, o diluir con un disolvente miscible, que no interfiera con las señales de absorción de los componentes a determinar, y llenar una celda de

líquidos de paso óptico fijo. En cuanto a las muestras gaseosas no requieren preparación previa pero la única posibilidad de realizar determinaciones cuantitativas en las mismas se basa en el empleo de celdas apropiadas para gases que pueden ser de paso óptico fijo o variable.

A continuación se indican algunas de las características más sobresalientes de los sistemas empleados para preparar las muestras y obtener los espectros IR.

- Suspensiones en aceites minerales.

En estos sistemas la muestra, sólido finamente pulverizado o líquido viscoso, se dispersa en un aceite mineral refinado, como por ejemplo el Nujol (mezcla de hidrocarburos saturados de cadena lineal) y se coloca entre dos ventanas pulidas de un material transparente a la radiación IR.

El mayor inconveniente de esta técnica es que no puede emplearse para estudiar bandas de absorción C-H de las muestras debido a la propia absorción por parte del aceite. Cuando se pretende estudiar estas bandas se deben utilizar hidrocarburos halogenados como medio dispersante. Además, resulta muy difícil controlar el paso óptico de estos sistemas y las medidas adolecen de la falta de homogeneidad de las dispersiones.

- Pastillas de haluros alcalinos.

Este es el sistema más ampliamente utilizado para la obtención de espectros en el IR.

Las muestras se pulverizan junto con un haluro alcalino deshidratado, normalmente KBr o NaCl, de manera que la mezcla contenga una concentración en torno al 3 % de la muestra a analizar. Posteriormente la mezcla, bien homogeneizada y seca, se transfiere a un molde y se comprime hasta obtener un disco fino o pastilla totalmente transparente.

Entre las precauciones a tomar con este tipo de sistemas debe asegurarse que la muestra esté lo más seca posible y que la pastilla, una vez obtenida, no se hidrate, ya que de lo contrario se vuelve opaca rápidamente.

Este sistema de preparación de las muestras permite obtener medidas muy sensibles, ya que la dilución en las muestras es pequeña, con excelentes relaciones señal/ruido de fondo y sin la existencia de efectos del disolvente que, sin embargo, aparecen cuando se emplean celdas de líquidos para el análisis de muestras sólidas disueltas.

El inconveniente de esta forma de preparación de la muestra para el análisis cuantitativo es la dificultad que ofrece para establecer el paso óptico empleado, así como para obtener pastillas reproducibles.

- Películas delgadas.

Suele aplicarse esta técnica para la obtención de los espectros de muestras líquidas, y consiste en colocar una pequeña cantidad de la muestra entre dos cristales, transparentes a la radiación IR, que se comprimen suavemente hasta disponer de una película lo suficientemente delgada, de modo que se pueda obtener un espectro adecuado. Ciertas muestras sólidas, con puntos de fusión bajos, se pueden calentar y obtener una película sobre un cristal adecuado. Otra alternativa consiste en disolver la muestra en un disolvente muy volátil e ir evaporando gotas de esta disolución sobre un cristal transparente en el IR, de modo que se obtenga una película fina de la sustancia a analizar.

El mayor inconveniente que presentan estas técnicas es la dificultad para conocer el espesor de la película formada.

- Celdas de gases.

El espectro de una muestra en estado gaseoso difiere del que se obtiene en estado líquido debido fundamentalmente a que las moléculas presentan una rotación libre en estado gaseoso y las interacciones intermoleculares son mínimas. En el caso de moléculas sencillas es posible obtener la estructura fina de las bandas. Normalmente se emplean celdas con un paso óptico grande (≥ 10 cm) o celdas de reflexiones múltiples, que permiten obtener pasos ópticos de varios metros. La presión del gas en el interior de la celda es un parámetro crítico, particularmente cuando se pretende efectuar un análisis cuantitativo.

- Celdas de líquidos.

Para la obtención de espectros de disoluciones se emplean diversos tipos de celdas para líquidos. Por lo general, éstas consisten en dos ventanas de un material transparente a la radiación IR separadas por un espaciador con un paso óptico fijo o variable. En algunos tipos de celdas las ventanas están unidas al espaciador de forma permanente, y, en otros casos, se desmontan de manera que pueda cambiarse el espaciador. Estas celdas suelen llevar conexiones tipo Luer para facilitar su llenado y limpieza utilizando una jeringa. Otro tipo son las celdas de cavidad, que consisten en un bloque de material, transparente al IR en el intervalo de trabajo, y en cuyo interior se ha practicado una cavidad.

Los pasos ópticos que se emplean en las celdas de líquidos están comprendidos normalmente entre 0.1 y 1.0 mm y dependen del disolvente que se ha utilizado para la muestra. En ocasiones, cuando se trabaja con disolventes que presentan una fuerte absorción, como es el caso del agua, se requieren espesores mucho menores.

Los problemas asociados al empleo de celdas de líquidos en el análisis cuantitativo están relacionados con la necesidad de disolver la muestra en un disolvente adecuado y seleccionar un tipo de ventana compatible con el disolvente y con las medidas a realizar, así como mantener constante el paso óptico de la celda. Esta última condición puede no cumplirse debido a: i) la existencia de bandas de interferencia, sobre todo cuando en el interior de la celda existen burbujas debidas al deficiente llenado de las mismas, ii) la existencia de bandas del disolvente muy intensas, que limitan la zona de trabajo, iii) un deficiente montaje de las dos ventanas de la celda, de manera que no estén montadas perfectamente paralelas, iv) la dificultad de obtener pasos ópticos reproducibles cuando se trabaja

con espaciadores muy finos, y v) el deterioro progresivo de las caras internas de las ventanas debido al ataque por parte de la muestra y/o de los disolventes [0.17].

4. ANÁLISIS CUANTITATIVO POR ESPECTROMETRÍA IR, EMPLEANDO MEDIDAS DE TRANSMISIÓN.

El análisis cuantitativo en el IR viene realizándose desde hace muchos años en base al empleo de la ley de Beer-Lambert para establecer la relación entre las medidas de absorbancia y la concentración de las especies a determinar, en función del espesor de la celda y de la frecuencia a la que se realicen las medidas [0.19]. Sin embargo, a pesar de ser ésta una técnica sencilla y relativamente rápida, no se ha generalizado su aplicación a la resolución de problemas analíticos debido, fundamentalmente, a la pobre precisión y la baja sensibilidad obtenidas en las medidas así como a los inconvenientes asociados al empleo de los diferentes sistemas de medida. No obstante, con los recientes avances en instrumentación, especialmente el desarrollo de los equipos IR-TF, se ha mejorado en gran medida la precisión y el límite de detección [0.20].

Sin embargo, el análisis cuantitativo mediante espectroscopía IR no parece ocupar el lugar que le corresponde en la bibliografía científica.

Con la intención de establecer la situación actual del empleo del IR en el análisis cuantitativo se efectuó una revisión bibliográfica tomando como base de datos el *Analytical Abstracts* [0.21] correspondiente al período de enero de 1980 a diciembre de 1992, así como en el *Currents Contents of Physics and Chemistry* [0.22] entre enero de 1991 y diciembre de 1992. Para establecer la bibliografía sobre el tema se intersecaron una serie de palabras clave, descriptores del empleo de las técnicas de espectrometría vibracional (IR, INFRARED, INFRA-RED, FTIR, NIR, RAMAN) con el término de análisis cuantitativo. Se obtuvieron en torno a 4000 referencias que incluían simultáneamente ambos conceptos (de un total de 159853 referencias que contiene el *Analytical Abstracts* para el periodo de enero de 1980 a diciembre de 1992, y más de 150000 referencias que contiene el *Currents Contents: Physical, Chemical & Earth Sciences* de los años 1991 y 1992). Cuando se realizó una revisión más detallada de estas 4000 referencias se encontró que únicamente 663 están específicamente relacionadas con el análisis cuantitativo IR por medidas de transmisión. Desglosadas en función del tipo de sistema de medida de las muestras empleado se encontró que la mayoría correspondía al empleo de celdas de líquidos (238 referencias), seguido del empleo de celdas de gases (191), y del empleo de pastillas de haluros alcalinos (186), siendo claramente minoritarios los estudios en que se emplean películas delgadas o "films" (48). En la figura 0.3 se ha representado el número acumulado de trabajos encontrados en función del año de su publicación considerando cada una de los distintos sistemas de medida: celda de gases y de líquidos, película delgada ("films") y pastillas.

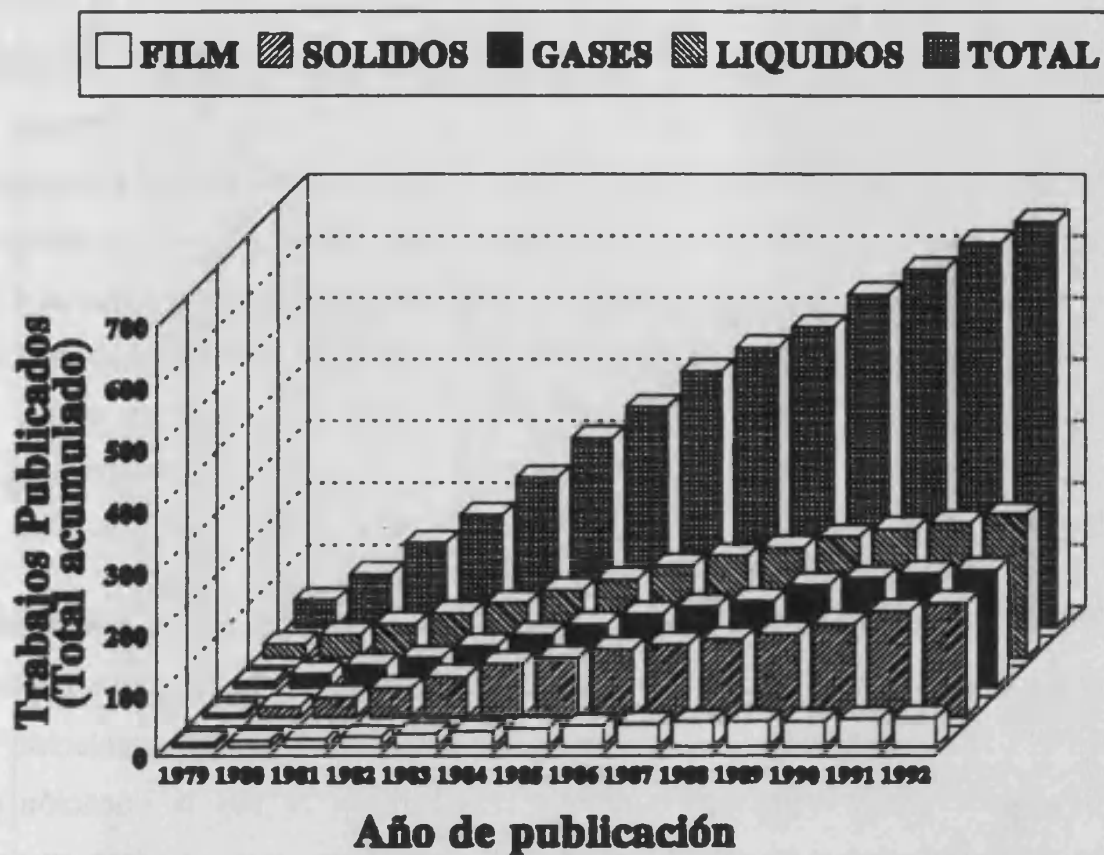


Figura 0.3

Distribución de las referencias de trabajos sobre análisis cuantitativo por espectrometría IR, por transmisión, aparecidas en *Analytical Abstracts* (enero 1980-diciembre 1992) y *Currents Contents* (1991 y 1992).

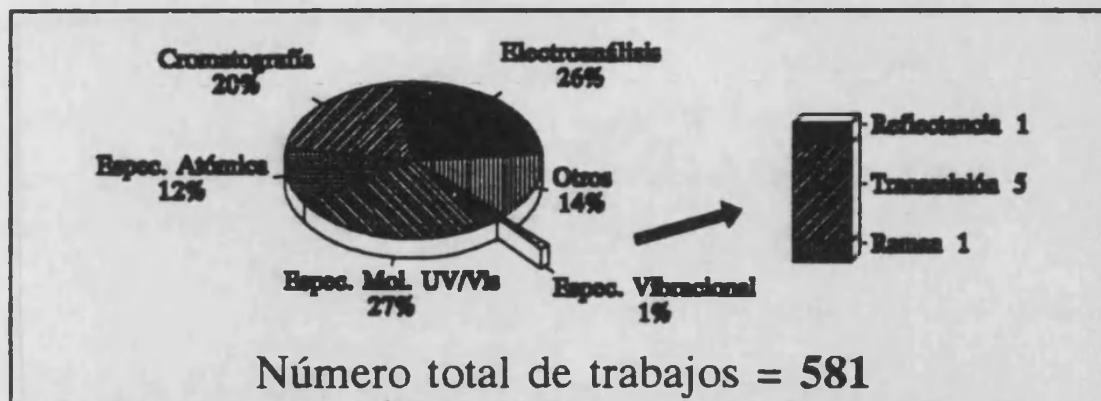
Pero probablemente estas cifras no significan mucho en cuanto a valorar la implantación de la técnica IR mediante medidas de transmisión en el análisis cuantitativo; por lo que se han escogido dos revistas fundamentales de Química Analítica, a lo largo de los años 1991 y 1992, y se ha establecido la distribución de

emplearon. Se han considerado conjuntamente todos los trabajos en los que se ha empleado técnicas de espectrometría vibracional a la hora de establecer el porcentaje que supone esta técnica frente resto de técnicas de análisis en el número total de trabajos publicados. En las figuras 0.4 y 0.5 se indican los resultados encontrados para las revistas *The Analyst* y *Analytica Chimica Acta*. Destaca el escaso porcentaje que supone el empleo de técnicas de espectrometría vibracional que, en ambas revistas, supone aproximadamente un 1 % del total de los trabajos, excepto en la revista *The Analyst* para el año 1992 para la que está en torno al 4 % (en este año la revista editó un número especial dedicado al *XXVII Colloquium Spectroscopicum Internationale*, celebrado en Bergen (Noruega), y en el que se presentaron bastantes trabajos que empleaban técnicas de espectrometría vibracional).

A finales del año 1990 apareció el primer ejemplar de la revista *Vibrational Spectroscopy*, editada como una sección de *Analytica Chimica Acta*, que publica trabajos basados en técnicas de espectroscopía vibracional. Se ha establecido la distribución de los trabajos aparecidos en esta publicación con la intención de comparar el porcentaje de trabajos de análisis cuantitativo que aparecen en esta revista específica de las técnicas vibracionales con los encontrados para las anteriores revistas fundamentales de Química Analítica. En la figura 0.6 se han indicado los resultados encontrados para los tres primeros volúmenes de *Vibrational Spectroscopy* y, como se observa, el porcentaje que suponen los trabajos de aplicaciones al análisis cuantitativo empleando tanto la espectrometría IR como la espectroscopía Raman es reducido en relación al número total de trabajos publicados.

Analytical Chimica Acta

Año 1991



Año 1992

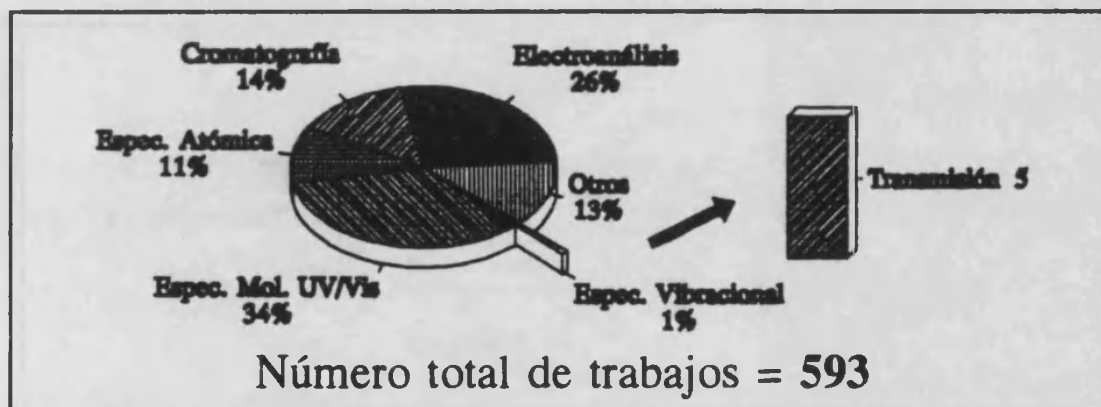
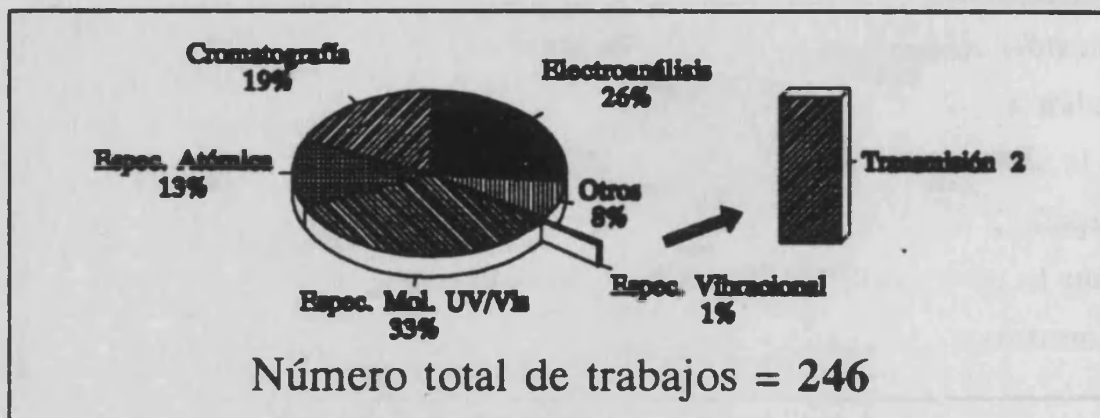


Figura 0.4

Distribución de los trabajos aparecidos en la revista *Analytica Chimica Acta*, a lo largo de los años 1991 y 1992, en función del tipo de técnica de análisis empleada.

The Analyst

Año 1991



Año 1992

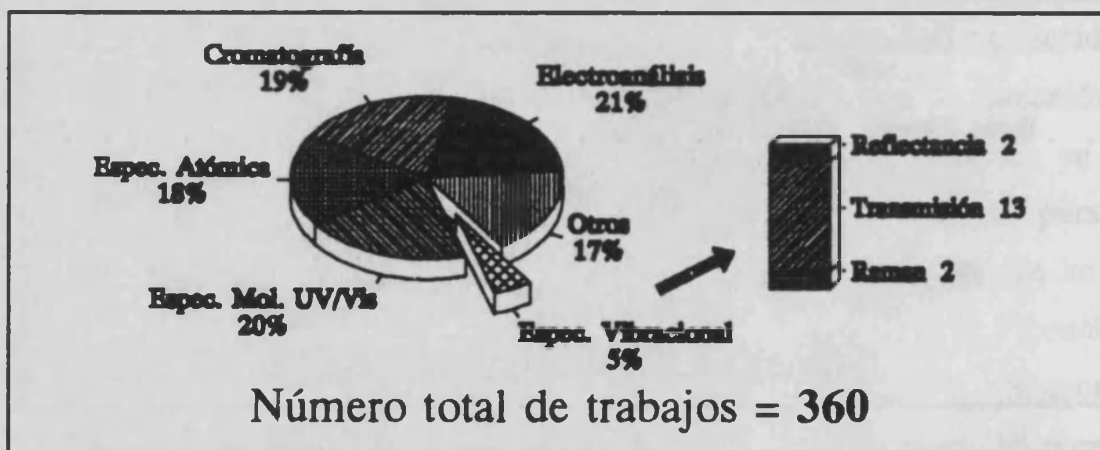
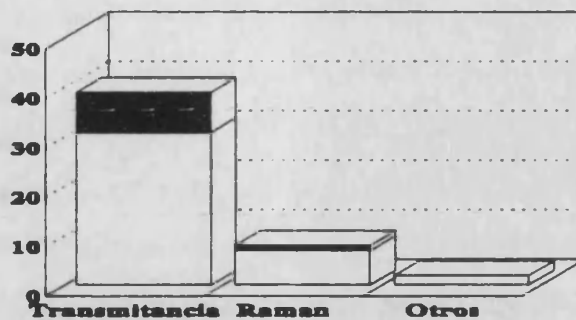


Figura 0.5

Distribución de los trabajos aparecidos en la revista *The Analyst*, a lo largo de los años 1991 y 1992, en función del tipo de técnica de análisis empleada.

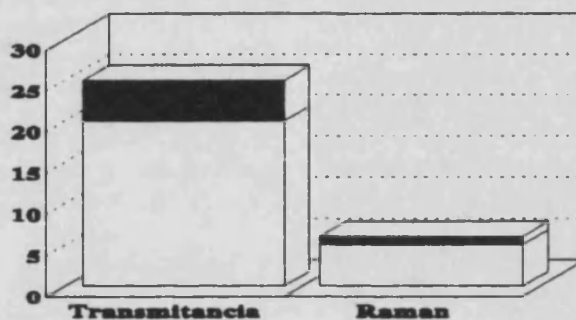
Vibrational Spectroscopy

Volumen 1 Año 1990



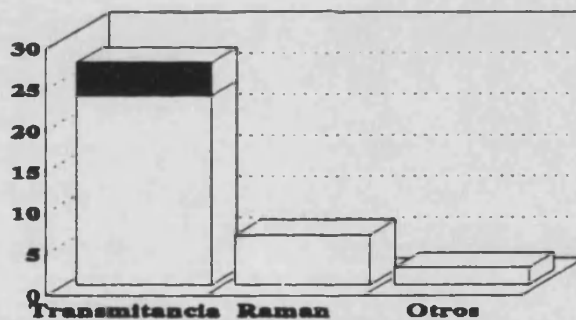
Nº total de trabajos	39	8	2
Anal. Cuantitativo	8	1	

Volumen 2 Año 1991



Nº total de trabajos	25	5
Anal. Cuantitativo	5	1

Volumen 3 Año 1992



Nº total de trabajos	27	6	2
Anal. Cuantitativo	4		

Figura 0.6

Distribución de los trabajos aparecidos en la revista *Vibrational Spectroscopy*, en los volúmenes 1, 2 y 3, en función de la técnica de análisis empleada y de su aplicación a análisis cuantitativo.

Los datos anteriores indican que, a pesar de la nueva instrumentación, las técnicas de análisis cuantitativo por espectrometría IR, y en general las técnicas basadas en la espectrometría vibracional, no se emplean en la extensión que cabría esperar a la vista de la selectividad que se le atribuye a esta técnica de análisis. Esta limitación probablemente se debe a los distintos inconvenientes derivados de la manipulación y preparación de las muestras para su análisis que, en el caso de las muestras preparadas en forma de pastilla o de película delgada, se deben fundamentalmente a la dificultad para establecer el paso óptico; para el análisis de muestras en disolución, se derivan de la dificultad del montaje y limpieza de las celdas, la elección adecuada del material de las ventanas de las celdas y la falta de transparencia de muchos disolventes y, en el caso del empleo de las celdas de gases, de la problemática derivada del control de la estanqueidad del sistema y el mantenimiento de la presión.

5. ANÁLISIS IR-TF EN SISTEMAS DE FLUJO.

En los últimos años, las técnicas de análisis en flujo (FIA) se han incorporado a la mayoría de los campos de la Química Analítica proporcionando una gran eclosión de la bibliografía fundamental y aplicada sobre el tema [0.23-0.26]. El libro de Ruzicka y Hansen, en su segunda edición publicada en 1988 [0.23], incluye un total de 1406 referencias, de las cuales 588 referencias se refieren a la utilización de la técnica de flujo en las determinaciones espectrofotométricas en las regiones ultravioleta y visible, 123 referencias a su

aplicación en medidas por espectrometría atómica y 72 referencias a determinaciones por espectrofluorimetría. Sin embargo sólo se citan 4 referencias sobre el empleo de la técnica de análisis en flujo en espectrometría infrarroja.

El primer trabajo aparecido sobre el empleo del FIA en el análisis por IR apareció publicado en la revista *Analytica Chimica Acta* y fue realizado por Curran y colaboradores [0.27], empleando un espectrofotómetro IR dispersivo de filtros variables, y consistía en la determinación de isocianato de fenilo utilizando tetracloruro de carbono como portador y disolvente de las muestras. El montaje propuesto estaba integrado de una bomba para impulsar el portador, una válvula Rheodyne N-60, con un volumen de inyección de 25 μL , y una celda de flujo (del tipo *flow through*) que permite efectuar las medidas de transmitancia empleando un paso óptico de 2.05 mm. Las medidas se realizaban en continuo, con un caudal de portador de 0.7 mL min^{-1} , a un valor fijo de número de ondas de 2273 cm^{-1} , encontrándose que para valores de absorbancia superiores a 0.25 ua se producía una clara desviación negativa en la curva de calibrado. Trabajando en estas condiciones, para el paso óptico de 2.05 mm, el límite de detección encontrado (para una relación señal/ruido de fondo igual a 2) fue de 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El error relativo obtenido en el análisis de una serie de muestras sintéticas que contenían entre 32.4 y 1836 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de isocianato de fenilo en tetracloruro de carbono estaba comprendido entre el 2.5 y 5.6 %, estando los valores de la desviación típica relativa de los patrones entre el 1.2 y el 4.2 %.

Morgan y colaboradores [0.28] publicaron un trabajo sobre la determinación FIA-IR-TF de sulfocianato de octilo en medicamentos, utilizando disoluciones acuosas (agua:etanol, 50:50) y efectuando medidas de *reflectancia* total atenuada. El montaje empleado en este trabajo consistía en una bomba para impulsar el portador, un inyector Rheodyne que permite efectuar las inyecciones de forma



automática, con un volumen de muestra de 130 μL , una celda de flujo para medidas de *reflectancia* total atenuada, tipo CIRCLE, con un cristal de ZnSe y con un volumen de 25 μL (el paso óptico efectivo de esta celda era de aproximadamente 20 μm , si bien éste es proporcional a la longitud de onda de la radiación incidente), y un espectrofotómetro IR-TF equipado con un detector piroeléctrico de sulfato de triglicina. En este trabajo las medidas se efectuaron tanto en flujo continuo como en flujo parado. En el primer caso se empleaba un caudal de portador de 0.4 mL min^{-1} , iniciando la adquisición de los espectros 25 segundos después de haber inyectado la muestra, trabajando con una resolución nominal de 8 cm^{-1} y acumulando 60 barridos del interferómetro. Cuando se trabajaba en flujo parado, 20 segundos después de inyectar la muestra en el portador (0.6 mL min^{-1}) se paraba la bomba y se obtenía el espectro IR-TF acumulando 128 barridos del interferómetro, a continuación se conectaba de nuevo la bomba, a 2.5 mL min^{-1} , y durante 1 minuto se limpiaba la celda. Las medidas de absorbancia se realizaban sobre las bandas de 1728 y 1234 cm^{-1} , sin efectuar ninguna corrección de línea base. Los límites de detección encontrados fueron de 8.4 mg mL^{-1} cuando el análisis se realizaba en flujo continuo, con una desviación típica relativa entre el 5 y el 11 %, y de 5.9 mg mL^{-1} cuando el análisis se realizaba en flujo parado, siendo en este caso los valores de la desviación típica relativa entre el 2 y el 7 %. Para el análisis en flujo parado era posible procesar más de 25 muestras por hora.

En 1986 Olesik y colaboradores [0.29] publicaron un trabajo sobre la monitorización de reacciones en fluidos supercríticos por análisis en flujo, utilizando como detector un espectrofotómetro IR-TF. El montaje constaba de una bomba de pistón, una válvula de inyección con un volumen de muestra de 0.2 μL , una columna capilar de sílice fundida, un horno termostático a 50 °C, una celda de flujo de alta presión y un espectrofotómetro IR-TF con un detector piroeléctrico de mercurio-cadmio-teluro (MCT) refrigerado por N líquido. Este sistema se aplicó al

estudio de la descomposición de óxidos de alil-di-isopropilaminas. La muestra se inyectaba en el sistema y cuando alcanzaba la celda de medida se paraba el flujo, registrando los espectros (por acumulación de 40 barridos del interferómetro) cada 3 minutos durante un período de 4-6 horas.

Miller y colaboradores [0.30] publicaron un trabajo sobre la determinación FIA-IR-TF de cloruro de succinylcholine y cloruro de bethanechol en medicamentos y en disoluciones acuosas, empleando una celda de *reflectancia* total atenuada (*CIRCLE cell*). En este caso emplearon un espectrofotómetro IR-TF con un detector MCT, trabajando con una resolución nominal de 8 cm^{-1} . El volumen de muestra inyectado era de $200\ \mu\text{L}$ y el caudal de portador de $0.4\ \text{mL min}^{-1}$. 15 segundos después de inyectar la muestra se obtenían los espectros IR-TF promediando 50 barridos del interferómetro. Los límites de detección encontrados fueron de $0.2\ \text{mg mL}^{-1}$ y la frecuencia de análisis estaba en torno a 60 muestras por hora. En comparación con el trabajo que anteriormente publicó este grupo de investigación [0.28], y en el que empleaban también una celda *CIRCLE* de RTA, destaca la importante mejora que obtienen en los límites de detección debida, fundamentalmente, a la mayor sensibilidad de las medidas cuando se emplea un espectrofotómetro IR-TF con detector MCT.

Durante la realización de la presente tesis doctoral han aparecido en la bibliografía nuevos trabajos sobre FIA-IR [0.31,0.32], además de los que regularmente hemos ido publicando nosotros [0.33-0.39] y así, Guzman y colaboradores [0.31] publicaron un trabajo en el que introducen la metodología de análisis en flujo parado demostrando sus ventajas. En este trabajo muestran las posibilidades que ofrece el FIA-IR-TF como sistema de medida para la monitorización de procesos que evolucionan con el tiempo, comparando la utilización y las características físicas de dos tipos de celdas de flujo (una micro

celda de transmitancia, del tipo *flow through*, y otra celda de *reflectancia* total atenuada, del tipo *CIRCLE*) y realizan análisis cuantitativo multicomponente de mezclas ternarias de disolventes orgánicos utilizando un método de calibración multivariante de mínimos cuadrados parciales (PLS). De sus estudios se concluye que la sensibilidad que proporciona la micro celda de transmitancia es considerablemente mayor que la obtenida con la celda de RTA, sin embargo, ésta última, debido a su mayor rigidez y buena estabilidad en la medida de la señal es más adecuada para las medidas tanto en flujo continuo como en flujo parado. La comparación de los datos obtenidos en flujo parado y en flujo continuo confirma la mejor reproducibilidad de las medidas realizadas en flujo parado.

McKittrich y colaboradores [0.32] realizaron un trabajo en el que caracterizaban una ultramicro celda de flujo *CIRCLE* para su utilización en sistemas FIA. Esta celda para medidas de *reflectancia* total atenuada, con un volumen aproximado de 1.75 μL , debido a su pequeño tamaño requiere la utilización de un microscopio IR acoplado al espectrofotómetro IR-TF. De los resultados encontrados se concluye que la ultramicro celda *CIRCLE* presenta una mayor absorción de fondo (*background*) que la micro celda *CIRCLE* empleada por Miller y colaboradores [0.30] y que los límites de detección son un orden de magnitud peores que los obtenidos empleando la micro celda.

En resumen, se puede admitir que el uso del análisis en flujo, acoplado con la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier, reduce el consumo de reactivos, constituye una forma rápida y cómoda de llenado de las celdas, permite un control continuo de la línea base de los espectros, mejora la determinación simultánea de varios componentes en una mezcla y facilita el control en línea de los procesos de producción.

INTRODUCCIÓN

En lo que respecta a los problemas que puede presentar el tándem FIA-IR-TF destaca la baja sensibilidad de las técnicas vibracionales, que no ha sido resuelta, antes bien se ha complicado por los fenómenos de dispersión de la muestra en el sistema portador, habiéndose propuesto tan solo el trabajar en flujo parado como forma de evitar la dispersión y mejorar el límite de detección por acumulación de barridos del interferómetro. Además hay que apuntar la existencia de problemas derivados del solapamiento de bandas, cuando se está trabajando con mezclas, y la escasa solubilidad de algunos compuestos en CCl_4 y en otros disolventes transparentes en el infrarrojo medio.

BIBLIOGRAFÍA DE LA INTRODUCCIÓN GENERAL

- 0.1 C. J. Pouchert, *The Aldrich Library of FT-IR Spectra*, Aldrich Chemical Company, Inc., 1985.
- 0.2 R. J. Keller, *The Sigma Library of FT-IR Spectra*, Sigma Chemical Company, Inc., 1986.
- 0.3 K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic And Coordination Compounds*, 4ª edición, Wiley-Interscience, Nueva York, 1986.
- 0.4 L. J. Bellamy, *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, 3ª edición, Chapman & Hall, Londres, 1975.
- 0.5 L. J. Bellamy, *Advances in Infrared Group Frequencies*, 2ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1980.
- 0.6 D. Lin-Vien, N. B. Colthup, W. G. Fateley y J. G. Grasselli, *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Melecules*, Academic Press, San Diego, 1991.
- 0.7 R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos*, 1ª edición, Editorial Diana, México, 1980.
- 0.8 R. T. Conley, *Espectroscopía Infrarroja*, 1ª edición, Alhambra, Madrid, 1979.
- 0.9 D. A. Skoog y D. M. West, *Análisis Instrumental*, Nueva editorial Interamericana, México, 1984.

-
- 0.10 H. H. Willard, L. L. Merritt, J. A. Dean y F. A. Settle, *Instrumental Methods of Analysis*, 6ª edición, D. Van Nostrand Company, Nueva York, 1981.
- 0.11 J. R. Ferraro y L. J. Basile (editores), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Academic Press, Nueva York, 1982.
- 0.12 M. W. Mackenzie, *Advances in Applied FTIR Spectroscopy*, Wiley, Chichester, 1988.
- 0.13 P. R. Griffiths y J. A. Hsueh, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, John Wiley & Sons, Nueva York, 1986.
- 0.14 L. Chia y S. Ricketts, *Basic Techniques and Experiments in Infrared and FT-IR Spectroscopy*, The Perkin Elmer Corporation, 1988.
- 0.15 H. A. Strobel y W. R. Heineman, *Chemical Instrumentation: A Systematic Approach*, 3ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1989.
- 0.16 H. A. Willis, J. H. Van der Maas y R. G. S. Miller, *Laboratory Methods in Vibrational Spectroscopy*, Wiley, Chichester, 1988.
- 0.17 D. L. Andrews (editor), *Perspectives in Modern Chemical Spectroscopy*, Springer-Verlag, Berlin, 1990.
- 0.18 R. G. J. Miller y B. B. Stace, *Laboratory Methods in Infra-red Spectrometry*, Heyden, Chichester, 1972.
- 0.19 J. A. Perry, *Appl. Spectr. Rev.*, 1970, 3, 329.
- 0.20 J. R. Ferraro y L. J. Basile (editores), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Vol. 4, Applications to Chemical Systems*, Academic Press, Orlando, 1985.

-
- 0.21 *Analytical Abstracts*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, Reino Unido, 1992.
- 0.22 *Currents Contents. Physical, Chemical & Earth Sciences*, Institute for Scientific Information, Filadelfia, 1991-1992.
- 0.23 J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2ª edición, Wiley, Nueva York, 1988.
- 0.24 M. Valcárcel y M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis: Principles and Applications*, Horwood, Chichester, 1987.
- 0.25 J. B. Karlberg y G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis: A Practical Guide*, Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 0.26 J. L. Burguera (editor), *Flow Injection Atomic Spectrometry*, Dekker, Nueva York, 1989.
- 0.27 D. J. Curran y W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, **177**, 259.
- 0.28 D. K. Morgan, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1985, **18**, 1979.
- 0.29 S. V. Olesiek, S. B. French y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- 0.30 B. E. Miller, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 0.31 M. Guzman, J. Ruzicka, G. D. Christian y P. Shelley, *Vib. Spectrosc.*, 1991, **2**, 1.
- 0.32 P. T. McKittrick, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Microchem. J.*, 1991, **44**, 105.
- 0.33 M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J. L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **261**, 53.

- 0.34 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1992, **40**, 89.
- 0.35 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Analyst*, 1992, **117**, 1849.
- 0.36 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1993, **274**, 267.
- 0.37 M. Gallignani, S. Garrigues, A. Martinez-Vado y M. de la Guardia, *Analyst*, 1993, en imprenta.
- 0.38 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1993, en imprenta.
- 0.39 M. de la Guardia, M. Gallignani y S. Garrigues, *Anal. Chim. Acta*, 1993, en imprenta.

OBJETO DEL TRABAJO

La tesis que se pretende demostrar con la presente memoria es que la espectrometría infrarroja, mediante el empleo de la transformada de Fourier, presenta unas enormes posibilidades dentro del campo del análisis cuantitativo. Con este fin se han explorado las posibilidades que ofrece el empleo del cociente de bandas para obviar los problemas de exactitud y reproducibilidad que presenta el análisis cuantitativo de líquidos empleando películas delgadas; lo que también puede aplicarse al análisis de muestras sólidas mediante la utilización de pastillas de KBr o de otros haluros alcalinos. Por otra parte se han investigado exhaustivamente las posibilidades que ofrece el empleo de sistemas de flujo en el análisis cuantitativo por IR-TF con el fin de resolver algunos de los problemas que plantea el análisis de muestras líquidas o en disolución mediante medidas de transmitancia. En este último aspecto se han tratado problemas básicos como son los referentes al acoplamiento de las técnicas de flujo y de IR-FT y otros como la realización directa de determinaciones de muestras sólidas y la realización de análisis multicomponentes por medidas directas de absorbancia, tanto en lo relativo a la puesta a punto de métodos rápidos para el control analítico de medicamentos como en lo referente al análisis simultáneo de mezclas ternarias de compuestos. Un aspecto particularmente interesante lo constituyen los trabajos llevados a cabo en torno a la determinación de Carbaryl y, en especial, el desarrollo de una metodología para el muestreo *in situ*, la preconcentración y estabilización del analito en muestras líquidas y la mejora de los límites de detección que pueden obtenerse en IR-TF, tanto en base al empleo de la técnica de flujo parado y consiguiente acumulación de espectros, como en función del acoplamiento de las técnicas de extracción en fase sólida (EFS) y el IR-TF.

Parte I .

**Análisis cuantitativo por IR-TF
empleando cocientes de bandas**

Basándonos en trabajos realizados por nuestro grupo sobre la caracterización de condensados de óxido de etileno [I.1,I.2] y sobre el análisis cuantitativo por IR-TF de la proporción de mezclas de binarias de benzodiazepinas [I.3] y de pesticidas [I.4] se ha profundizado en el concepto del empleo de los cocientes de bandas como forma de obviar la determinación exacta del paso óptico de las celdas de transmisión.

La idea de trabajar con medidas relativas de las señales de absorbancia en lugar de hacerlo con los valores correspondientes a las bandas típicas de los compuestos a determinar, se ha utilizado ampliamente en la técnica del patrón interno. Sin embargo esta técnica únicamente se ha desarrollado en extensión para el análisis cuantitativo de un componente en una muestra, adicionando otro componente como referencia interna [I.5-I.13], e incluso son escasos los trabajos en que se aplica a mezclas binarias de compuestos [I.14,I.15]. Es por ello que en el presente trabajo se ha tratado de ampliar este tipo de tratamiento de los datos para convertirlo en un procedimiento de análisis cuantitativo de mezclas, extrayendo del mismo no sólo los datos de relación de dos componentes en una muestra sino ampliándolo a la determinación de la concentración de cada uno de ellos y también desarrollando su empleo para el análisis de sistemas ternarios.

Los trabajos que a continuación se exponen sobre "Análisis de disolventes, empleados en pinturas, por espectrometría infrarroja empleando la transformada de Fourier" y "Empleo de modelos matemáticos para la determinación de orto-, meta- y para-xileno en xilol por espectrometría infrarroja utilizando la transformada de Fourier" fueron publicados en las revistas *Analytica Chimica Acta* [I.16] y *The Analyst* [I.17] respectivamente y constituyen el intento de desarrollar aplicaciones originales del análisis cuantitativo por IR-TF que puedan resolver problemas reales en el análisis de mezclas de disolventes utilizados en la industria de pinturas.

BIBLIOGRAFÍA

- I.1 M. de la Guardia, J. L. Carrión y J. Medina, *Analyst*, 1984, **109**, 457.
- I.2 J. L. Carrión, S. Sagrado y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1986, **185**, 101.
- I.3 Z. A. Benzo, C. Gómez, S. Menéndez, M. de la Guardia y A. Salvador, *Microchem. J.*, 1989, **40**, 271.
- I.4 J. V. de Julián-Ortiz y M. de la Guardia, *Can. J. Spectrosc.*, 1990, **35**, 44.
- I.5 J. A. Graham y J. M. Walker, *Appl. Spectrosc.*, 1983, **37**, 342.

- I.6 M. C. Guillem-Villar y C. Guillem-Monzonis, *Talanta*, 1984, **31**, 550.
- I.7 R. G. Davidson y G. I. Mathys, *Anal. Chim. Acta.*, 1984, **160**, 197.
- I.8 S. Haridoss, R. Tobazeon y J. P. Crine, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 186.
- I.9 D. Nebioglu y O. Atay, *Gazi Univ. Eczacilik Fak. Derg.*, 1987, **4**, 75.
- I.10 D. A. Cronin y K. MaKenzie, *Food Chem.*, 1990, **35**, 39.
- I.11 O. Atay y S. Ersan, *Gazi Univ. Eczacilik Fak. Derg.*, 1989, **6**, 143.
- I.12 K. Yoshinaga, M. Rikitake, T. Kito, Y. Yamamoto, H. Eguchi y M. Komatsu, *Chem. Lett.*, 1991, **7**, 1129.
- I.13 M. Falk, *Can. J. Appl. Spectrosc.*, 1991, **36**, 22.
- I.14 D. Rogic, J. J. Herak y I. Lukic, *Acta. Pharm. Jugosl.*, 1989, **39**, 311.
- I.15 P. L. Hanst y E. R. Stephens, *Spectroscopy (Eugene, Oreg.)*, 1989, **4**, 33.
- I.16 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1991, **242**, 123.
- I.17 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Analyst*, 1991, **116**, 1159.

Capítulo 1

**ANÁLISIS DE DISOLVENTES,
EMPLEADOS EN PINTURAS,
POR ESPECTROMETRÍA INFRARROJA
EMPLEANDO LA TRANSFORMADA DE FOURIER**

RESUMEN

Se propone un procedimiento para determinar la composición de mezclas de disolventes empleados en la industria de pinturas mediante espectrometría infrarroja empleando la transformada de Fourier. El procedimiento se basa en el uso del cociente entre la absorbancia de las bandas características de cada componente de la mezcla y permite determinar la relación en la que se encuentran los disolventes de una mezcla binaria, independientemente del espesor de la película delgada de la muestra. Muestras de xilol (mezcla de orto-, meta- y para-xileno) con alcohol n-butílico y acetato de butilo se han usado como sistemas modelo para desarrollar el procedimiento propuesto y establecer la exactitud utilizando formulaciones sintéticas. Otra posible aplicación de este procedimiento es la caracterización de mezclas azeotrópicas.

INTRODUCCIÓN

En la industria de las pinturas se emplean diferentes tipos de disolventes con la finalidad de incrementar la solubilidad de diferentes tipos de resinas y polímeros, así como para controlar el proceso de cubrición de la pintura sobre la superficie aplicada, de modo que se obtengan capas homogéneas. Los disolventes para pinturas son, por lo general, compuestos que contienen grupos carbonilo o aromáticos y que poseen una elevada volatilidad. El xilol (una mezcla de orto-, meta- y para-xileno, en la que predomina el isómero meta-) es uno de los disolventes más utilizados en la industria de pinturas debido a su gran poder disolvente para un gran número de resinas y a que posee una adecuada velocidad de evaporación [1.1].

La adición de alcoholes al xilol incrementa su capacidad disolvente y por este motivo en los acabados de pintura, *stoving finishes*, se utilizan ampliamente mezclas de alcohol n-butílico y xilol en diferentes proporciones [1.2].

El acetato de butilo es un excelente disolvente para resinas y aceites y, en consecuencia, mezclas de xilol y acetato de butilo se emplean para controlar los recubrimientos de pinturas (*paint coating*) [1.3].

El análisis de los disolventes empleados en la industria de las pinturas se realiza normalmente por cromatografía [1.4], especialmente cuando están presentes en la formulación de una pintura varios disolventes. La espectrometría infrarroja se ha empleado extensamente como una técnica cualitativa para la caracterización de disolventes orgánicos [1.5]. Sin embargo, los problemas relacionados con la

elección del diluyente de las muestras más adecuado y con la determinación del paso óptico de la celda empleada limitan las aplicaciones de esta técnica para el análisis cuantitativo [1.6].

El empleo del cociente de las bandas de absorción, en la región infrarroja, a dos valores de número de ondas, nos permite medidas que son independientes del tamaño de la celda de muestra, y mediante este tipo de procedimientos se puede obtener información cuantitativa sin conocer el paso óptico. En la bibliografía esta estrategia se ha utilizado en el empleo de patrones internos. Sin embargo, esta metodología involucra problemas relacionados con la selección del patrón interno adecuado así como con su compatibilidad con los componentes de la muestra [1.7].

Otra alternativa es la utilización de un componente de la muestra como referencia interna [1.8,1.9] y el empleo del cociente entre la absorbancia de las bandas características de los diferentes componentes de la mezcla para determinar su relación en una muestra desconocida. En este caso, se han propuesto procedimientos sencillos para determinar la relación de paratión y metilparatión [1.10] y la relación existente en mezclas de benzodiazepinas [1.11]. Todos estos procedimientos están basados en el uso del cociente entre los valores de absorbancia medidos a dos números de ondas.

Las bandas de absorción utilizadas deben ser características de cada uno de los componentes de la mezcla. En este caso, es necesario que previamente se determinen los coeficientes de absorción correspondientes a cada uno de los componentes considerados a sus números de ondas característicos. Otra estrategia está basada en el uso de un modelo general en el que se utiliza una banda de absorción común a los dos componentes considerados en la mezcla y una banda característica de uno de ellos.

En este trabajo, se analizan muestras de disolventes de pinturas empleados en la industria de las pinturas utilizando los modelos propuestos así como mediante un nuevo procedimiento basado en la utilización de los valores del área de la banda de absorción y curvas de calibrado.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentos y reactivos

Se ha utilizado un espectrofotómetro infrarrojo por transformadas de Fourier Perkin Elmer, modelo 1750, equipado con un detector piroeléctrico de sulfato de glicina deuterada (FR-DTGS, *Fast Recovery Deuterated Triglycine Sulphate*), con una resolución nominal de 1 a 64 cm^{-1} para las medidas de absorbancia. Se han empleado celdas de bromuro potásico para obtener el espectro infrarrojo de las muestras en forma de películas delgadas. Para preparar las mezclas de los calibrados se ha utilizado xilol, alcohol n-butílico (Probus, reactivos de grado análisis) y acetato de butilo de grado industrial.

Procedimiento General

Mezclas binarias de los componentes considerados, en proporciones diferentes pero bien definidas, se homogeneizan y se colocan entre dos ventanas de bromuro potásico, registrando su espectro entre 4800 y 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Para el análisis de estos compuestos se seleccionó un intervalo de trabajo entre 1950 y 650 cm^{-1} .

A partir de los espectros de absorbancia de cada sistema, se selecciona la banda adecuada para la caracterización de cada uno de los componentes en presencia del otro, y la correspondiente curva de calibración se obtiene a partir del ajuste por mínimos cuadrados de los valores de los cocientes entre las áreas de las bandas de absorción, para dos valores de número de ondas, y de las relaciones de los dos componentes de la mezcla para cada una de las mezclas patrón preparadas.

Los datos experimentales que se obtienen para una serie de muestras se interpolan en la correspondiente curva de calibración y se determina la relación de los dos disolventes de la mezcla. La precisión y exactitud del procedimiento desarrollado se evalúa analizando una serie de muestras sintéticas.

En el tratamiento de los resultados experimentales se han empleado dos modelos con el fin de evitar la utilización de celdas para las muestras con un paso óptico perfectamente conocido. Un modelo simple, basado en el cociente entre la absorbancia de dos bandas características de cada componente, M y N, A_2 y A_1 respectivamente, que permite establecer una curva de calibrado A_2/A_1 frente $[M]/[N]$ con una ordenada en el origen igual a cero:

$$A_2 = b K_{2M} [M] \quad [1.1]$$

$$A_1 = b' K_{1N} [N] \quad [1.2]$$

donde b y b' son los espesores (pasos ópticos) de cada una de las muestras, K_{2M} y K_{1N} los coeficientes de absorción de los componentes M y N a sus números de onda característicos y $[M]$ y $[N]$ la concentración de cada uno de los constituyentes de la mezcla.

Para mezclas binarias de M y N, y en el mismo espectro, la relación entre A_1 y A_2 no depende del espesor de la muestra (evidentemente siempre que los valores de absorbancia estén dentro de un intervalo en el que se cumpla la Ley de Lambert-Beer):

$$\frac{A_2}{A_1} = \frac{K_{2M}}{K_{1N}} \frac{[M]}{[N]} \quad [1.3]$$

y por esto, para una serie de muestra con una relación entre $[M]$ y $[N]$ bien definida, puede establecerse un calibrado entre A_2/A_1 y $[M]/[N]$.

Se puede emplear un modelo más general cuando no es posible seleccionar una banda característica para cada componente, de modo que no se solapen en la mezcla de ambos. En este caso es necesario utilizar una banda común a los dos componentes (A_2) y una banda característica de uno de ellos (A_1):

$$A_2 = b K_{2M} [M] + b K_{2N} [N] \quad [1.4]$$

$$A_1 = b' K_{1N} [N] \quad [1.5]$$

y la relación entre la absorbancia de estas dos bandas en el espectro de la mezcla de M y N no dependen del espesor de la muestra y puede escribirse como:

$$\frac{A_2}{A_1} = \frac{K_{2N}}{K_{1N}} + \frac{K_{2M}}{K_{1N}} \frac{[M]}{[N]} \quad [1.6]$$

y la regresión A_2/A_1 versus $[M]/[N]$ proporciona una línea recta con una pendiente K_{2M}/K_{1N} y una ordenada en el origen K_{2N}/K_{1N} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mezclas de xilol/alcohol n-butílico y xilol/acetato de butilo se han considerado independientemente y el procedimiento general se ha aplicado a cada una de ellas. El xilol se ha empleado en lugar de los xilenos puros, ya que este disolvente es el que más frecuentemente se utiliza en la industria de pinturas.

Análisis de mezclas de xilol/alcohol n-butílico

En la figura 1.1A puede verse el espectro de infrarrojo de muestras de alcohol n-butílico y xilol. Ambos componentes presentan una banda común a 1379 cm^{-1} , dos bandas características del xileno a 797 cm^{-1} (X4) y 771 cm^{-1} (X1) y una banda típica del alcohol n-butílico a 847 cm^{-1} (B) que no se solapan con las bandas del otro componente.

En las figuras 1.1B y 1.1C se indican las bandas mencionadas con anterioridad para una muestra de xilol/alcohol n-butílico (en una relación 1:1 en v/v). La línea-base para la medida de estas bandas se define mediante una línea entre los valles adyacentes a cada banda después de haber comprobado que la utilización de una línea base general para todo el espectro no permite obtener resultados más exactos en la caracterización de mezclas sintéticas de estos dos componentes.

Para determinar la relación existente entre el xilol y el alcohol n-butílico en mezclas binarias, el modelo simple descrito anteriormente puede emplearse para la relación entre las bandas de absorción X1 y B, así como para las bandas X4 y B. Por otra parte, el modelo general puede emplearse para la relación entre los valores de área de la banda de absorción para C y B. Para estas tres situaciones se han obtenido las correspondientes curvas de calibrado.

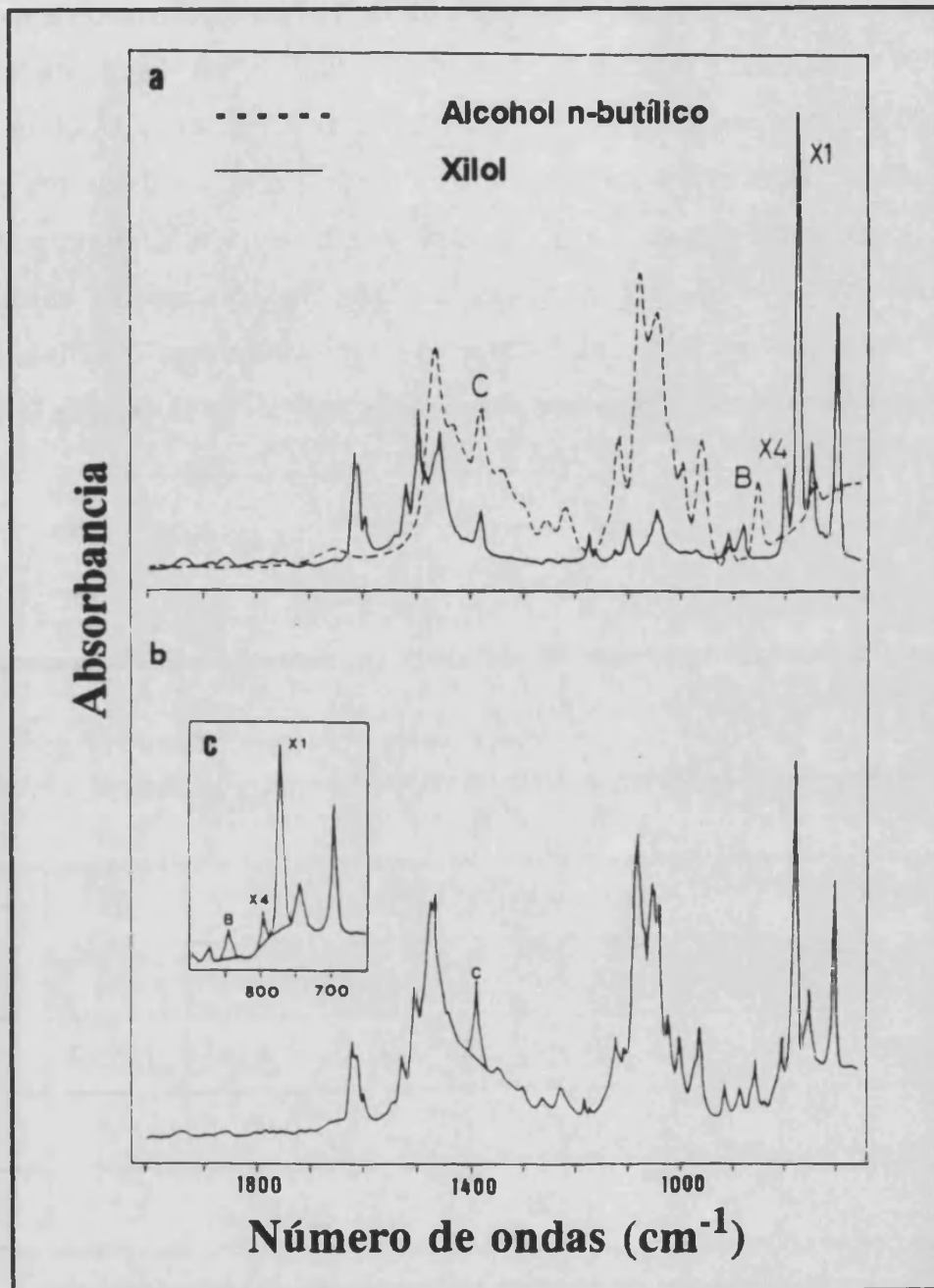


Figura 1.1

Espectro infrarrojo (A) del xilol (línea continua) y del alcohol n-butílico (línea discontinua) y (B y C) de una mezcla de los dos componentes.

La tabla 1.I resume las ecuaciones de las curvas de calibrado encontradas en cada caso, indicando el valor de la ordenada en el origen, de la pendiente con su correspondiente desviación típica, y el coeficiente de regresión, R^2 , obtenido para un determinado número de patrones. Como puede verse, en todos los casos se obtienen líneas rectas bien definidas. El empleo de la relación X1/B proporciona la mejor sensibilidad debido a que X1 es la banda más intensa del espectro. La relación C/B proporciona una ordenada en el origen claramente diferente de cero, tal como corresponde a la utilización del modelo general, mientras que la relación X4/B permite obtener una línea recta con ordenada en el origen cero.

Tabla 1.I

Curvas de calibrado obtenidas para la caracterización por espectrometría infrarroja de mezclas de xldl/alcohol n-butílico.

BANDAS EMPLEADAS	CURVAS DE CALIBRADO		R^2	n
	pendiente \pm s	ord. origen \pm s		
X1/B	5.55 \pm 0.05	-0.3 \pm 0.4	0.9992	21
X4/B	0.700 \pm 0.006	-0.08 \pm 0.05	0.9992	23
C/B	0.617 \pm 0.008	1.14 \pm 0.07	0.998	23

s = desviación estándar; R^2 = coeficiente de correlación;
n = número de patrones considerados.

Se prepararon seis muestras sintéticas de mezclas binarias de los dos disolventes estudiados en una relación comprendida entre 0.3 y 4.8 (v/v) y se caracterizaron utilizando las curvas de calibrado anteriormente indicadas.

En la tabla 1.II se indican los resultados obtenidos para cada caso y, como puede verse, la utilización de la relación entre las bandas X4 y B proporciona los resultados más exactos.

Tabla 1.II

Resultados obtenidos para el análisis de muestras sintéticas de xilol/n-butanol considerando distintas relaciones de bandas.

RELACIÓN PREPARADA (en v/v ± s)	RELACIÓN ENCONTRADA (en v/v)					
	X1/B ¹	E _R % ²	X4/B ¹	E _R % ²	C/B ¹	E _R % ²
0.300 ± 0.010	0.32	6.7	0.34	13.3	0.39	30.0
0.667 ± 0.013	0.69	3.5	0.69	3.5	0.71	5.7
2.11 ± 0.02	1.89	-10.5	1.88	-10.9	1.85	-12.4
2.86 ± 0.04	2.79	-2.3	2.82	-1.3	2.78	-2.7
3.33 ± 0.06	2.85	-14.5	3.22	-3.4	3.18	-4.6
4.86 ± 0.14	4.37	-10.0	4.84	-0.4	4.86	0.0

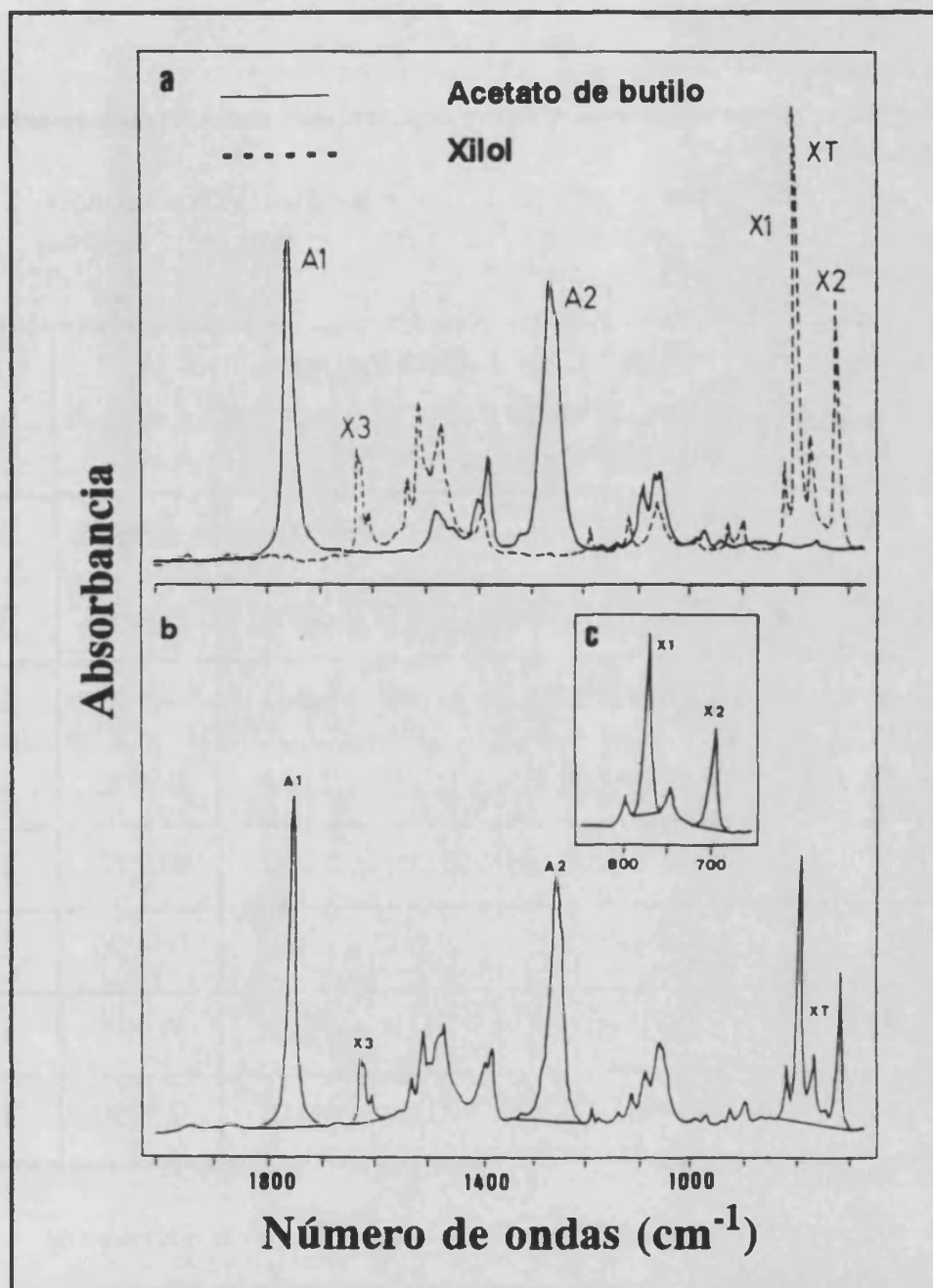
1) Par de bandas consideradas para establecer el cociente de absorbancias, 2) error relativo cometido para cada muestra analizada.

Análisis de mezclas de xilol/acetato de butilo

Las bandas del grupo carbonilo del acetato de butilo a 1742 y 1244 cm^{-1} (A1 y A2 respectivamente) y las bandas típicas del xilol a 1614 cm^{-1} (X3), 771 cm^{-1} (X1), 693 cm^{-1} (X2) así como todas las observadas entre 815 y 676 cm^{-1} (XT) pueden emplearse para la caracterización de estos dos compuestos en mezclas binarias, tal como puede apreciarse en la figura 1.2A en la que se muestran los espectros IR obtenidos para una película delgada de los disolventes puros, así como en las figuras 1.2B y 1.2C que corresponden al espectro de una mezcla 1:1 (v/v) de xilol/acetato de butilo. El mismo criterio que se empleó para el sistema xilol/alcohol n-butílico se ha utilizado para establecer la línea-base.

Se pueden considerar ocho posibilidades diferentes de calibración, utilizando en todos los casos el modelo simple anteriormente descrito, para el ajuste de los datos experimentales obtenidos para una serie de mezclas bien conocidas, proporcionando en todos los casos curvas de calibrado con una ordenada en el origen igual a cero (tabla 1.III).

Por lo general, la utilización de la banda A2 para el acetato de butilo proporciona una peor sensibilidad que la banda A1. En otro orden de cosas, el uso de las bandas X1, X2 y X3 del xilol proporciona una disminución de la sensibilidad para la determinación de la relación xilol/acetato de butilo.

**Figura 1.2**

Espectro infrarrojo (A) del xilol (línea continua) y del acetato de butilo (línea discontinua) y (B y C) de una mezcla de los dos componentes.

Tabla 1.III

Ecuaciones de las rectas de calibrado obtenidas para la caracterización de mezclas de xilo/acetato de butilo considerando distintas combinaciones de bandas.

BANDAS EMPLEADAS	CURVA DE CALIBRADO		R ²	n
	Pendiente ± s	Ord. origen ± s		
X1/A1	0.0923 ± 0.0014	0.010 ± 0.019	0.998	16
X1/A2	0.0752 ± 0.0006	0.002 ± 0.003	0.9996	15
X2/A1	0.0580 ± 0.0010	0.007 ± 0.007	0.998	17
X2/A2	0.0468 ± 0.0005	0.003 ± 0.003	0.9992	17
XT/A1	0.0478 ± 0.0010	0.003 ± 0.007	0.997	16
X3/A2	0.0395 ± 0.0005	-0.001 ± 0.003	0.9990	14
XT/A1	0.256 ± 0.005	0.04 ± 0.03	0.997	16
XT/A2	0.2065 ± 0.0025	0.014 ± 0.016	0.9990	16

s = desviación estándar; R² = coeficiente de correlación; n = número de patrones considerados.

Para evaluar la exactitud del procedimiento desarrollado, se han caracterizado muestras sintéticas, conteniendo xilol y acetato de butilo, empleando cada una de las curvas de calibrado anteriormente establecidas (Tabla 1.IV). En todos los casos se han obtenido resultados aceptables para todas y cada una de las muestras consideradas. Por lo general, los mayores errores relativos se han obtenido para aquellas muestras con una menor concentración de xilol, excepto cuando se emplearon las relaciones $XT/A1$ y $X1/A1$, de modo que las dos relaciones anteriores pueden considerarse las más adecuadas para la caracterización de mezclas binarias de estos disolventes.

Tabla 1.IV

Análisis de muestras sintéticas de xilol/acetato de butilo empleando diferentes relaciones de bandas

Xilol/acetato de butilo	Relación xilol/acetato de butilo encontrada según el par de bandas considerado							
	X1/A1	E _r %	X1/A2	E _r %	X2/A1	E _r %	X2/A2	E _r %
0.333 ± 0.010	0.32	-3.9	0.37	11.1	0.24	-27.9	0.26	-21.9
0.778 ± 0.013	0.77	-1.0	0.76	-2.1	0.81	4.1	0.77	-1.0
1.778 ± 0.024	1.85	4.0	1.80	1.2	1.82	2.4	1.75	-1.6
2.86 ± 0.04	3.06	7.0	2.87	0.4	3.01	5.2	2.90	1.4
3.33 ± 0.06	3.19	-4.2	3.12	-6.3	3.33	0.0	3.24	-2.7
4.57 ± 0.14	4.51	-1.3	4.41	-3.5	4.37	-4.4	4.32	-5.5

Xilol/acetato de butilo	Relación xilol/acetato de butilo encontrada según el par de bandas considerado							
	X3/A1	E _r %	X3/A2	E _r %	XT/A1	E _r %	XT/A2	E _r %
0.333 ± 0.010	0.23	-30.9	0.29	-12.9	0.32	-3.9	0.37	11.1
0.778 ± 0.013	0.80	2.8	0.80	2.8	0.77	-1.0	0.76	-2.3
1.778 ± 0.024	1.80	1.2	1.77	-0.5	1.85	4.1	1.80	1.2
2.86 ± 0.04	2.96	3.5	2.86	0.0	3.04	6.3	2.87	0.4
3.33 ± 0.06	3.28	-1.5	3.28	-1.5	3.19	-4.2	3.12	-6.3
4.57 ± 0.14	4.40	-3.7	4.40	-3.7	4.51	-1.3	4.41	-3.5

Análisis de mezclas azeotrópicas

Las mezclas azeotrópicas son generalmente mezclas binarias que se forman en la destilación de disolventes orgánicos y que limitan, en gran medida, la posibilidad de separar una serie de disolventes por medio de un simple proceso de destilación. El xilol forma mezclas azeotrópicas con el alcohol n-butílico y con el acetato de butilo, con una composición que depende de las proporciones de los isómeros orto-, meta- y para-xileno presentes en el xilol. Cuando una mezcla 1:1 (v/v) de los disolventes anteriores se destila, las mezclas azeotrópicas que se obtienen pueden caracterizarse por el procedimiento desarrollado.

Como ejemplo, las figuras 1.3 y 1.4 muestran los espectros IR de mezclas con una relación aproximada 1:1 (v/v) (figuras 1.3A y 1.4A), los espectros de los azeótropos de xilol/alcohol n-butílico que destila a 116 °C, con una relación en su composición de 0.67 ± 0.02 , determinada mediante el procedimiento propuesto (figura 1.3B) y el azeótropo de xilol/acetato de butilo que destila a 128 °C, con una relación de 0.73 ± 0.01 (figura 1.4B). Los espectros correspondientes a los residuos de los dos destilados se muestran en las figuras 1.3C y 1.4C respectivamente.

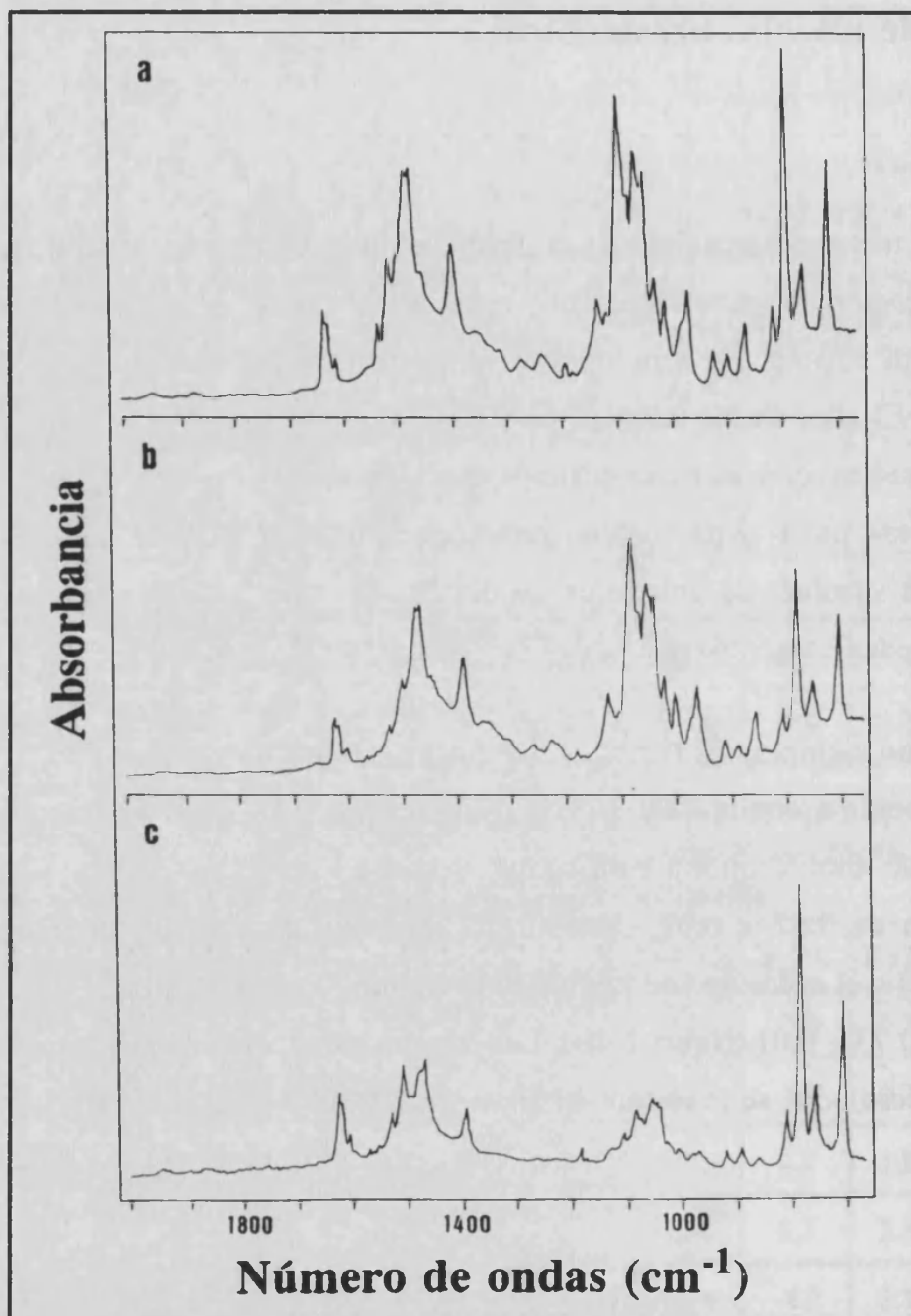


Figura 1.3

Espectro infrarrojo (a) de una mezcla de xilol y alcohol n-butílico en proporción 1:1 v/v, (b) de la mezcla azeotrópica que destila a 116 °C y (c) del residuo de destilado.

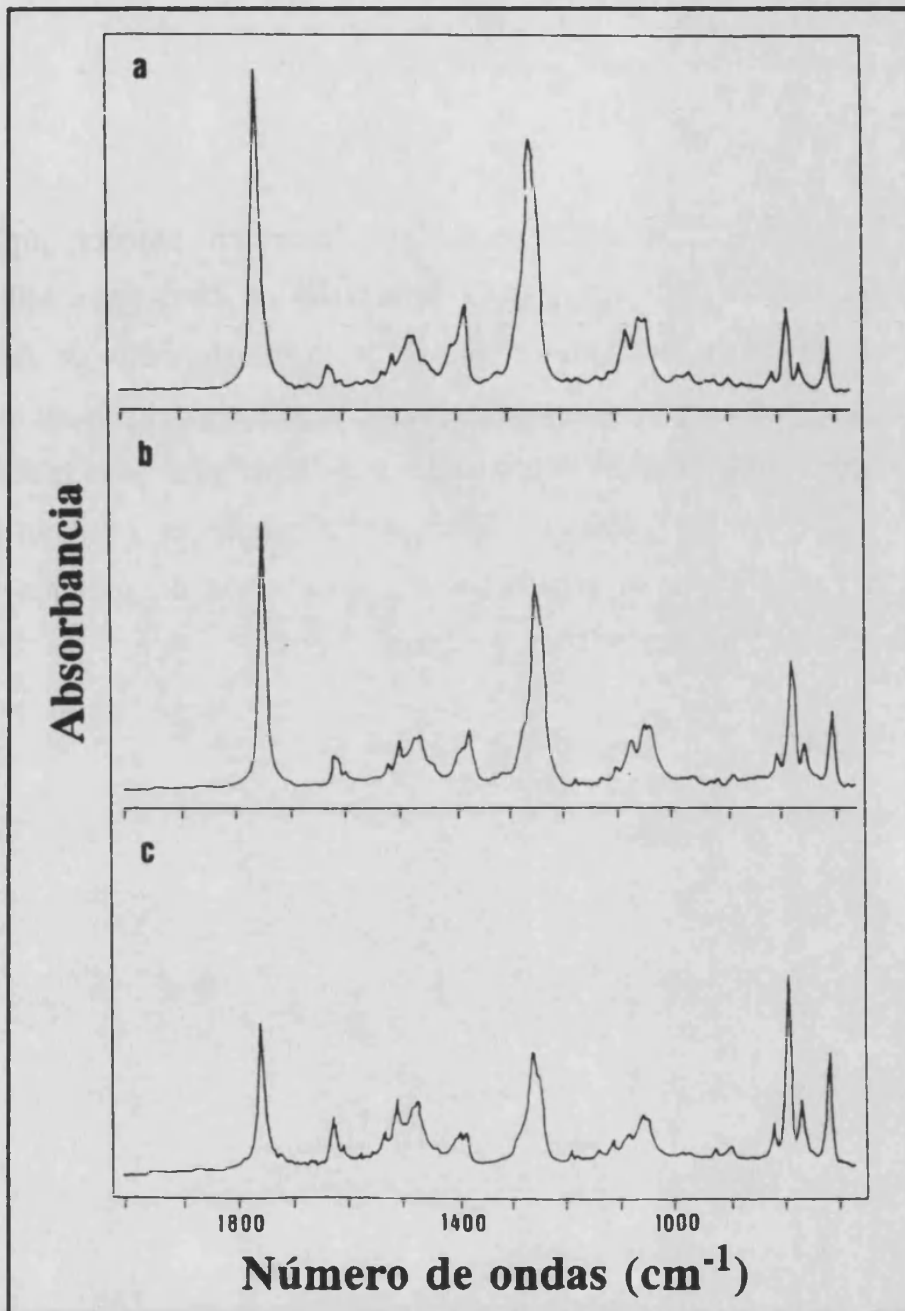


Figura 1.4

Espectro infrarrojo (a) de una mezcla de xilol y acetato de butilo en proporción 1:1 v/v, (b) de la mezcla azeotrópica que destila a 128 °C y (c) del residuo del destilado.

CONCLUSIONES

Los procedimientos desarrollados nos permiten obtener rápidamente resultados exactos para la caracterización de mezclas de disolventes utilizando la espectrometría infrarroja mediante el empleo de la transformada de Fourier sin necesidad de disponer de un espesor conocido de la película delgada de la muestra (el espectro infrarrojo se obtiene depositando una simple gota de la muestra entre dos ventanas de bromuro potásico). Este procedimiento es muy útil para la caracterización de disolventes empleados en la industria de pinturas y puede emplearse también en la caracterización de azeótropos.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPITULO 1

- 1.1 T. H. Durrans, *Solvents*, Chapman & Hall, Londres, 1971.
- 1.2 W. M. Morgans, *Outlines of paint technology*, Charles Griffin & Co., Londres, 1982.
- 1.3 J. J. Lagowski, *The chemistry of non-aqueous solvents*, Academic Press, Nueva York, 1978.
- 1.4 F. D. Snell y L. S. Etre, *Encyclopedia of industrial chemical analysis*, Interscience Publishers John Wiley & Sons Inc., Nueva York 1969.
- 1.5 L. J. Bellamy, *Advances in infrared group frequencies*, Chapman & Hall, Londres, 1975.
- 1.6 R. S. McDonald, *Anal. Chem.*, 1984, **56**, 349.
- 1.7 M. W. Mackenzie, *Advances in applied FTIR spectroscopy*, Wiley, Chichester, 1988.
- 1.8 M de la Guardia, J. L. Carrión y J. Medina, *Analyst*, 1984, **109**, 457.
- 1.9 J. L. Carrión, S. Sagrado y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1986, **185**, 101.
- 1.10 Z. A. Benzo, C. Gómez, S. Menéndez, M. de la Guardia y A. Salvador, *Microchem. J.*, 1989, **40**, 271.

1.11 J. V. de Julián-Ortiz y M. de la Guardia, *Can. J. Spectros.*, 1990, 25, 44.

Capítulo 2

**EMPLEO DE MODELOS MATEMÁTICOS PARA LA
DETERMINACIÓN DE ORTO-, META- Y
PARA-XILENO EN XILOL POR
ESPECTROMETRÍA INFRARROJA UTILIZANDO
LA TRANSFORMADA DE FOURIER**

RESUMEN

Se ha realizado el análisis de los datos de los espectros infrarrojos de mezclas binarias y ternarias de orto-, meta- y para-xileno empleando una serie de modelos matemáticos que permiten el análisis cuantitativo de estas muestras mediante espectrometría infrarroja por transformada de Fourier sin la necesidad de utilizar celdas con un paso óptico perfectamente conocido. Los errores relativos obtenidos en el análisis de mezclas binarias son del orden del 1.4 %, y los que corresponden al análisis de mezclas ternarias menores del 3.0 % en la mayoría de los casos (para el análisis de muestras conteniendo entre el 10 y el 75 % (m/m) de cada componente). El método propuesto puede aplicarse al análisis de xilol, un disolvente de pinturas que contiene los tres compuestos estudiados.

INTRODUCCIÓN

La espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (IR-TF) es una técnica de análisis rápida que proporciona información acerca de la composición cualitativa de muestras y eluyentes cromatográficos [2.1,2.2]. A menudo, el análisis cuantitativo por IR-TF requiere la utilización de celdas de medida con un paso óptico perfectamente conocido y, en muchas ocasiones, se precisa una dilución previa de la muestra con un diluyente adecuado [2.3], lo que limita la aplicación general de esta técnica en análisis cuantitativo.

En los últimos años se han descrito una serie de modelos simples para las determinaciones cuantitativas a partir de los datos proporcionados por la espectrometría infrarroja, caracterizados por no requerir la utilización de pasos ópticos conocidos. Estos modelos, basados en el empleo del cociente entre los valores de absorbancia para dos números de ondas bien definidos, se han aplicado a la determinación del grado de condensación de tensioactivos constituidos por condensados de óxido de etileno [2.4,2.5] y a la determinación de la relación de dos componentes en mezclas binarias, aplicándose ésta al análisis de mezclas de metilparatión y paratión [2.6] y a una serie de mezclas binarias de oxacepam, medacepam y diacepam [2.7].

En un trabajo reciente se han caracterizado dos tipos de mezclas de disolventes utilizados en la industria de pinturas empleando la espectrometría IR-TF [2.8].

En los trabajos previos se han discutido los problemas relacionados con la adecuada selección de la banda de absorción así como de la línea-base apropiada. Normalmente el empleo del cociente entre los valores de las bandas de absorción características de dos componentes de una mezcla no permite determinar la concentración de cada componente, siendo posible obtener únicamente la proporción existente entre los dos componentes considerados.

En el presente trabajo, los modelos mencionados se han aplicado al análisis de mezclas ternarias y se han comparado una serie de estrategias diferentes con el fin de obtener resultados exactos en la resolución de mezclas binarias y ternarias de orto-, meta- y para-xileno. Es importante destacar que el xilol, uno de los disolventes más comúnmente empleados en la industria de las pinturas [2.9-2.11], es una mezcla de orto-, meta y para-xileno, de modo que el método propuesto es de gran interés para el análisis de disolventes de pinturas.



PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentos y reactivos

Para obtener las medidas de absorbancia se ha empleado un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier Perkin Elmer, modelo 1750 equipado con un detector piroeléctrico de sulfato de glicina deuterada (FR-DTGS). Se han utilizado celdas de bromuro potásico para la realización de los espectros de películas delgadas de las muestras. Orto-, meta- y para-xileno (Panreac, grado analítico) se emplearon como patrones.

Procedimiento general

Unas pocas gotas de los disolventes puros y de mezclas binarias o ternarias, preparadas por pesada y homogeneización de cantidades variables de orto-, meta- y para-xileno, se depositan entre dos ventanas de bromuro potásico. El espectro infrarrojo se registra entre 4800 y 400 cm^{-1} con una resolución nominal de 4 cm^{-1} , seleccionado como intervalo espectral de trabajo para el análisis de estos tres componentes el comprendido entre 850 y 650 cm^{-1} .

Se establece una línea-base común para los tres compuestos entre 820 y 670 cm^{-1} , de manera que se pueden calcular los valores tanto de área de la banda de absorbancia como de altura de la misma a los números de ondas apropiados para cada uno de los isómeros.

El análisis tanto de mezclas binarias como ternarias se efectúa empleando el tratamiento matemático que se describe a continuación.

Tratamiento matemático

Tratamiento de mezclas binarias

Para una mezcla de dos componentes O y M, en el mismo espectro, y partiendo de la ley de Beer-Lambert se cumple que

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\epsilon_1}{\epsilon_2} \frac{[O]}{[M]} \quad [2.1]$$

donde A_1 y A_2 son los valores de absorbancia medidos a los dos números de ondas elegidos de modo que las bandas características de O y M no se solapen, ϵ_1 es la absorptividad molar para O al número de ondas 1, ϵ_2 es la absorptividad molar de M al número de ondas 2, y $[O]$ y $[M]$ son las concentraciones de O y M.

Para mezclas de los componentes O y P, y M y P, respectivamente, las ecuaciones que se obtiene son:

$$\frac{A_1}{A_3} = \frac{\epsilon_1}{\epsilon_3} \frac{[O]}{[P]} \quad [2.2]$$

$$\frac{A_2}{A_3} = \frac{\epsilon_2}{\epsilon_3} \frac{[M]}{[P]} \quad [2.3]$$

Experimentalmente la relación entre los dos componentes de una mezcla se establece a partir de los valores de la absorbancia a dos números de onda característicos de cada uno de estos componentes y a partir de la relación de sus absorptividades molares.

La relación entre las absorptividades molares características de cada compuesto puede determinarse no sólo a partir de una única muestra que contenga una proporción perfectamente conocida de los dos componentes [2.6,2.7] sino también a partir de la regresión establecida para una serie de mezclas en las que las relaciones [O]:[P] o [M]:[P] se conocen perfectamente y los valores $A_1:A_3$ o $A_2:A_3$ se determinan experimentalmente. En este sentido se han empleado dos modelos de regresión

- i) uno lineal obtenido directamente de las ecuaciones [2.1-2.3], y
- ii) un modelo doble logarítmico (potencial) que nos permite linealizar la relación entre $A_1:A_3$ y [O]:[P] para muestras que contienen proporciones muy diferentes de cada componente.

Empleando el modelo lineal la relación $\epsilon_1:\epsilon_3$ se obtiene a partir de la pendiente de la curva de calibrado, mientras que para el modelo doble logarítmico esta relación se calcula a partir de la ordenada en el origen del ajuste.

Tratamiento de mezclas ternarias

Cuando los tres componentes considerados, O, M y P, están presentes en la misma muestra se puede establecer un parámetro teórico, absorbancia total, A_T , que resulta de la suma de los valores de absorbancia obtenidos para cada compuesto medidos a los números de ondas considerados en cada caso

$$A_T = A_1 + A_2 + A_3 \quad [2.4]$$

y teniendo en cuenta la ley de Beer-Lambert para cada uno de los componentes de la mezcla

$$A_T = b\epsilon_1[O] + b\epsilon_2[M] + b\epsilon_3[P] \quad [2.5]$$

donde b es el paso óptico de la celda.

La relación entre la absorbancia de uno de los componentes de la mezcla y el valor de la absorbancia total no depende del espesor de la celda, pudiendo establecerse una expresión general, en la que A_i , ϵ_i y $[i]$ corresponden a cualquiera de los tres compuestos considerados, de la forma

$$\frac{A_i}{A_T} = \frac{\epsilon_i[i]}{\epsilon_1[O] + \epsilon_2[M] + \epsilon_3[P]} \quad [2.6]$$

Si se cumple que $\epsilon_1 = \epsilon_2 = \epsilon_3 = \epsilon_i$, entonces la ecuación [2.6] queda de la forma

$$\frac{A_1}{A_T} = \frac{[i]}{[O] + [M] + [P]} \quad [2.7]$$

de modo que se relaciona directamente la concentración de cada componente de la mezcla con los datos experimentales, independientemente del paso óptico de la celda.

Para obtener la expresión que se indica en la ecuación [2.7] es necesario determinar el coeficiente que multiplicado por ϵ_2 proporciona el valor de ϵ_1 así como el nos permite transformar ϵ_3 en ϵ_1 . Reagrupando los términos de las ecuaciones [2.1-2.3] se llega a las siguientes expresiones

$$e_2 = e_1 \frac{A_2 [O]}{A_1 [M]} \quad [2.8]$$

$$e_3 = e_1 \frac{A_3 [O]}{A_1 [P]} \quad [2.9]$$

obteniendo a partir de ellas los coeficientes K_1 y K_2 tal como se indica a continuación

$$K_1 = \frac{A_2 [O]}{A_1 [M]} = \frac{e_2}{e_1} \quad [2.10]$$

$$K_2 = \frac{A_3 [O]}{A_1 [P]} = \frac{e_3}{e_1} \quad [2.11]$$

Utilizando estos coeficientes, los valores de la absorbancia, A_2 y A_3 , a los números de ondas característico de M y P se escribirán como sigue:

$$A_2 = bK_1 \epsilon_1 [M] \quad [2.12]$$

$$A_3 = bK_2 \epsilon_1 [P] \quad [2.13]$$

de modo que

$$\frac{A_2}{K_1} = b \epsilon_1 [M] \quad [2.14]$$

y

$$\frac{A_3}{K_2} = b \epsilon_1 [P] \quad [2.15]$$

La ecuación [2.5] puede escribirse entonces como

$$A_1 + \frac{A_2}{K_1} + \frac{A_3}{K_2} = \epsilon_1 K_1 ([O] + [M] + [P]) \quad [2.16]$$

de modo que podemos determinar el porcentaje de cada uno de los componentes en una mezcla ternaria mediante las expresiones

$$[\text{O}] \text{ in } \% = \frac{[\text{O}]}{[\text{O}] + [\text{M}] [\text{P}]} \times 100 = \frac{A_1}{A_1 + \frac{A_2}{K_1} + \frac{A_3}{K_2}} \times 100 \quad [2.17]$$

$$[\text{M}] \text{ in } \% = \frac{[\text{M}]}{[\text{O}] + [\text{M}] [\text{P}]} \times 100 = \frac{\frac{A_2}{K_1}}{A_1 + \frac{A_2}{K_1} + \frac{A_3}{K_2}} \times 100 \quad [2.18]$$

$$[\text{P}] \text{ in } \% = \frac{[\text{P}]}{[\text{O}] + [\text{M}] [\text{P}]} \times 100 = \frac{\frac{A_3}{K_2}}{A_1 + \frac{A_2}{K_1} + \frac{A_3}{K_2}} \times 100 \quad [2.19]$$

Con los valores A_1 , A_2 y A_3 determinados experimentalmente y los coeficientes K_1 y K_2 establecidos previamente a partir de las ecuaciones [2.10] y [2.11], puede determinarse la concentración de cada uno de los componentes de la mezcla. Para obtener los valores de K_1 y K_2 pueden emplearse distintas aproximaciones.

K_2 es una constante igual a $\varepsilon_3/\varepsilon_1$. Este parámetro puede calcularse a partir del inverso de valor de la pendiente de la recta de regresión establecida entre $A_1:A_3$ y $[\text{O}]:[\text{P}]$ o a partir de la ordenada en el origen de la regresión

$$\text{Ln} \frac{A_1}{A_3} = \text{Ln} \frac{1}{\frac{e_3}{e_1}} + \text{Ln} \frac{[\text{O}]}{[\text{P}]} \quad [2.20]$$

Se ha observado que para disolventes puros o disoluciones muy concentradas los valores ϵ_1 , ϵ_2 y ϵ_3 no permanecen constantes para los diferentes niveles de concentración de [O], [M] y [P], siendo posible obtener una función que relacione K_1 con [O]:[M] y K_2 con [O]:[P]. Para determinar con más exactitud el porcentaje de cada componente de la mezcla ternaria los valores óptimos de K_1 y K_2 se deberían obtener, en consecuencia, a partir de las funciones de K_1 y de K_2 .

Para este fin se han ensayado diferentes modelos, del tipo:

$$K_1 = f\left(\frac{[O]}{[M]}\right) \quad [2.21]$$

$$K_1 = f\left[\text{Ln}\left(\frac{[O]}{[M]}\right)\right] \quad [2.22]$$

$$\text{Ln } K_1 = f\left[\text{Ln}\left(\frac{[O]}{[M]}\right)\right] \quad [2.23]$$

que pueden emplearse para obtener los valores de K_1 , que se usarán para el análisis de las mezclas ternarias, a partir de la medida de la relación de dos componentes en la mezcla. En las expresiones anteriores f indica que K_1 o $\text{Ln } K_1$ es una función matemática que depende de la relación entre [O] y [M].

Además de estos tres modelos básicos, K_1 y K_2 pueden obtenerse a partir de la zona lineal del ajuste logarítmico simple o del ajuste doble logarítmico de la relación entre el valor de K y el cociente entre las concentraciones de los dos componentes objeto de estudio, proporcionando una serie de aproximaciones numéricas basadas en la determinación del mejor de los valores de los parámetros K_1 y K_2 para el nivel de concentración de los componentes en las muestras consideradas.

Resolución de mezclas ternarias empleando ecuaciones

Otro procedimiento para determinar [O], [M] y [P] en mezclas ternarias, que tampoco requiere utilizar celdas con un espaciado conocido, es el que puede deducirse empleando un sistema compatible y determinado de tres ecuaciones con tres incógnitas.

A partir de las ecuaciones [2.1], [2.2] y [2.3] antes mencionadas, las relaciones de las concentraciones de dos componentes de la mezcla pueden expresarse de la forma

$$\frac{[O]}{[M]} = \frac{A_1 e_2}{A_2 e_1} = U \quad [2.24]$$

$$\frac{[O]}{[P]} = \frac{A_1 e_3}{A_3 e_1} = W \quad [2.25]$$

$$\frac{[M]}{[P]} = \frac{A_2 e_3}{A_3 e_2} = Z \quad [2.26]$$

que se pueden transformar del siguiente modo

$$[O] - U[M] = 0 \quad [2.27]$$

$$[O] - W[P] = 0 \quad [2.28]$$

$$[M] - Z[P] = 0 \quad [2.29]$$

teniendo en cuenta que para un sistema de tres componentes puros se puede considerar que

$$[O] + [M] + [P] = 1 \quad [2.30]$$

expresando las concentraciones en tanto por uno.

Con las ecuaciones [2.27] a [2.30] pueden plantearse los tres sistemas de ecuaciones que a continuación se indican

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 & -U & 0 \\ 1 & 0 & -W \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad [2.31]$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 & -U & 0 \\ 0 & 1 & -Z \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad [2.32]$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 & 0 & -W \\ 0 & 1 & -Z \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad [2.33]$$

Es posible establecer también una serie de nuevas ecuaciones en las que se relaciona la proporción de cada uno de los componentes de la mezcla con los datos experimentales.

A partir de las mezclas binarias se puede escribir una serie de ecuaciones similares a las obtenidas para la resolución de mezclas ternarias [ecuaciones 2.17-2.19]

$$\frac{[O]}{[O] + [M]} = \frac{A_1}{A_1 + \frac{A_2}{K_1}} = R \quad [2.34]$$

$$\frac{[O]}{[O] + [P]} = \frac{A_1}{A_1 + \frac{A_3}{K_2}} = S \quad [2.35]$$

$$\frac{[M]}{[M] + [P]} = \frac{A_2}{A_2 + \frac{A_3}{K_3}} = T \quad [2.36]$$

siendo

$$K_3 = \frac{e_3}{e_2} \quad [2.37]$$

Estas ecuaciones pueden escribirse en función de [O], [M] y [P] del siguiente modo

$$[O] = [O]R + [M]R \quad [2.38]$$

$$[O] = [O]S + [P]S \quad [2.39]$$

$$[M] = [M]T + [P]T \quad [2.40]$$

que son equivalentes a

$$[O](1 - R) - [M]R = 0 \quad [2.41]$$

$$[O](1 - S) - [P]S = 0 \quad [2.42]$$

$$[M](1 - T) - [P]T = 0 \quad [2.43]$$

Para una muestra que contenga solo [O], [M] y [P], utilizando la ecuación [2.30] y las ecuaciones [2.41-2.43] pueden proponerse los siguientes tres sistemas de ecuaciones con los que podremos determinar [O], [M] y [P].

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 - R & -R & 0 \\ 1 - S & 0 & -S \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad [2.44]$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 - R & -R & 0 \\ 0 & 1 - T & -T \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad [2.45]$$

$$\begin{pmatrix} [\text{O}] \\ [\text{M}] \\ [\text{P}] \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 - S & 0 & -S \\ 0 & 1 - T & -T \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad [2.46]$$

[O], [M] y [P] se calculan a partir de los valores obtenidos experimentalmente para A_1 , A_2 , A_3 y a partir de los valores de K_1 , K_2 y K_3 obtenidos de los espectros infrarrojo de las mezclas binarias empleando las estrategias anteriormente mencionadas.

Este tratamiento, y también el resto de sistemas propuestos, puede emplearse para el análisis de muestras diluidas si la concentración total de los componentes se conoce, teniendo en cuenta que en este caso $[\text{O}] + [\text{M}] + [\text{P}] = C_T$ en lugar del valor de 1 establecido anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectro infrarrojo del orto-, meta- y para-xileno

El espectro en transmitancia de los tres compuestos considerados se muestra en la figura 2.1A, mientras que en la figura 2.1B pueden verse las bandas de absorbancia, en el intervalo comprendido entre 870 y 630 cm^{-1} , correspondientes al orto-xileno (que tiene una banda característica a 743 cm^{-1}), al meta-xileno (que

presenta dos bandas a 770 y 693 cm^{-1}) y al para-xileno (con su banda característica a 796 cm^{-1}).

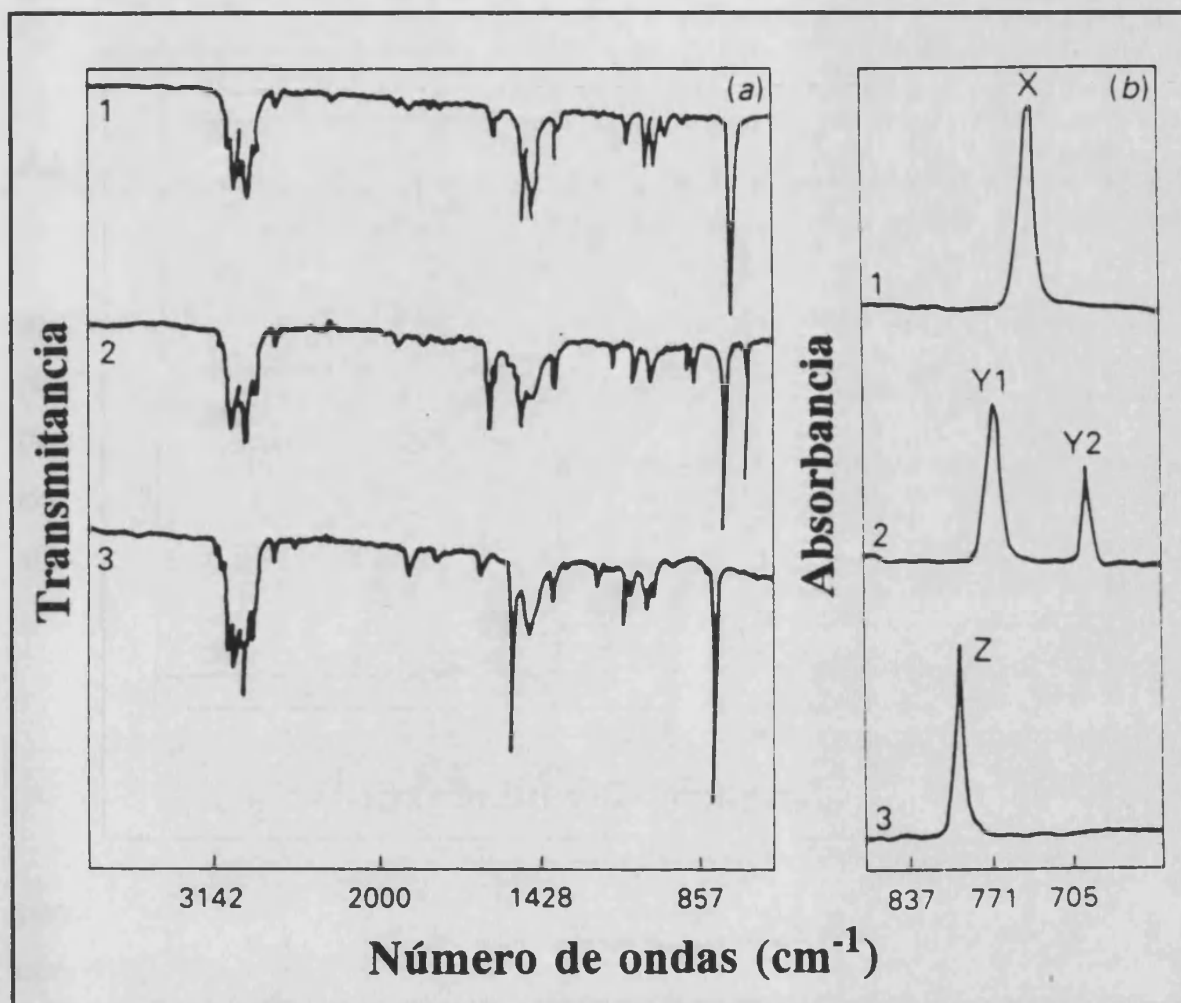


Figura 2.1

Espectro IR-TF del (1) orto-, (2) meta- y (3) para-xileno. (a) Espectros de transmitancia, y (b) espectros de absorbancia en los que se han indicado las bandas más interesantes, entre 870 y 630 cm^{-1} , de X, orto-, Y1 y Y2, meta- y Z, para-xileno.

Como ya se indicó, para todas las bandas que estamos considerando puede establecerse una línea-base común entre 820 y 670 cm^{-1} , como se indica en la figura 2.2, de modo que estas bandas características de cada uno de los isómeros no están solapadas.

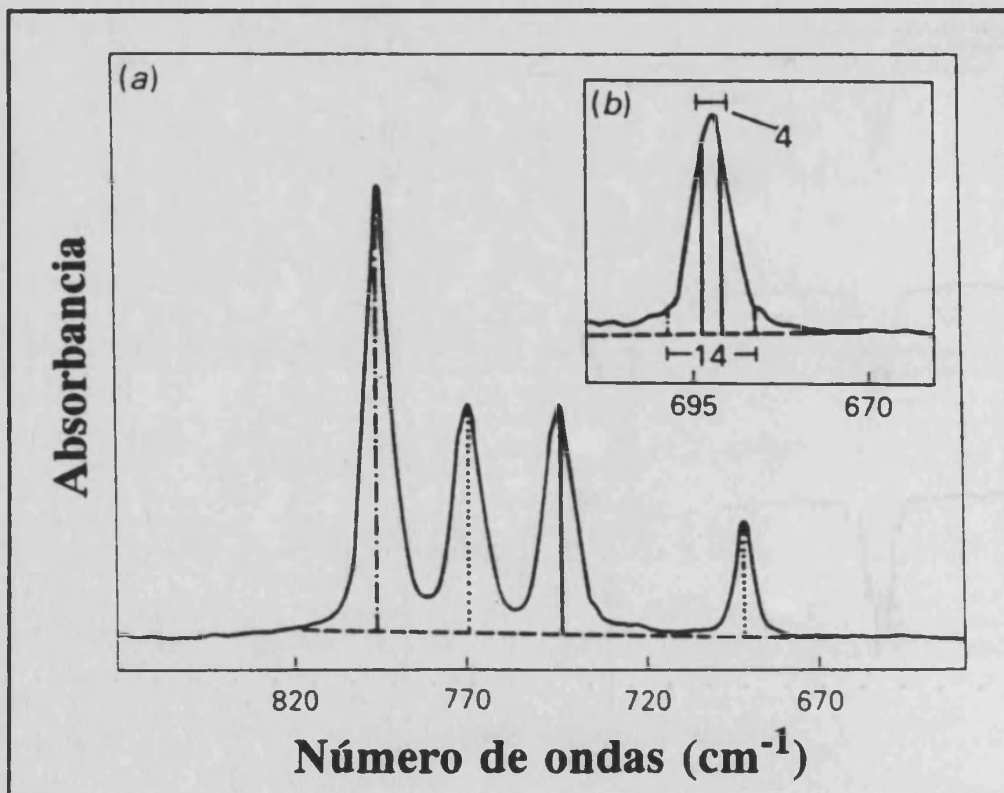


Figura 2.2

Espectro IR-TF de una mezcla ternaria de orto-, meta- y para-xileno en el que se ha indicado la línea base considerada para todas las bandas y el punto en el que en cada caso se han medido los valores de altura de la banda de absorbancia y (b) banda de absorbancia del meta-xileno en la que se ha indicado los dos intervalos diferentes para determinar el área de la banda.

Para la determinación de orto-, meta- y para-xileno se han empleado tanto valores de altura como de área de las bandas de absorbanza. Tal como se indica en la figura 2.2B, para la determinación del área de la banda se han establecido intervalos de número de ondas comprendidos entre 4 y 14 cm^{-1} .

Análisis de mezclas binarias

Para el análisis de mezclas binarias de xilenos se han estudiado diversas opciones como son la selección de la banda de absorbanza más adecuada o la posibilidad de trabajar manejando valores de altura o de área de banda. También pueden emplearse ajustes lineales o dobles logarítmicos para establecer el valor de los coeficiente que relacionan el cociente entre los valores experimentales de absorbanza y de concentraciones de los compuestos que se consideran.

Selección de la banda

En el análisis de mezclas binarias de meta-xileno con los otros dos isómeros puede emplearse tanto cualquiera de las dos bandas características que presenta este compuesto como la suma de los valores de absorbanza de ambas. Los valores de K_{mo} (K_1) calculados para cada una de estas tres posibilidades, empleando modelos lineales de regresión o modelos doble logarítmicos, están indicados en la tabla 2.I. Como puede verse, en todos los casos se obtienen buenos valores del coeficiente de correlación, correspondiendo el máximo de sensibilidad a la banda M2 (que aparece a un valor de 693 cm^{-1}). Cuando se utiliza para el meta-xileno sólo la banda que aparece a 769 cm^{-1} se obtienen buenos valores de sensibilidad y la mejor

Tabla 2.1

Ajuste de los datos experimentales de la relación $[o]/[m]$ en función de las bandas consideradas para el meta-xileno.

TIPO DE AJUSTE	BANDA CONSIDERADA		
	O: $\bar{\nu} = 744 \text{ cm}^{-1}$ M: $\bar{\nu} = 770 \text{ cm}^{-1}$	O: $\bar{\nu} = 744 \text{ cm}^{-1}$ M: $\bar{\nu} = 770 \text{ cm}^{-1} + \bar{\nu} = 693 \text{ cm}^{-1}$	O: $\bar{\nu} = 744 \text{ cm}^{-1}$ M: $\bar{\nu} = 693 \text{ cm}^{-1}$
Lineal	$\frac{A_o}{A_m} = 1.19 \frac{[o]}{[m]} + 0.26$ $R^2 = 0.998$ $K_{mo} = 0.840 \pm 0.014$	$\frac{A_o}{A_m} = 0.763 \frac{[o]}{[m]} + 0.17$ $R^2 = 0.997$ $K_{mo} = 1.31 \pm 0.02$	$\frac{A_o}{A_m} = 2.13 \frac{[o]}{[m]} + 0.50$ $R^2 = 0.997$ $K_{mo} = 0.499 \pm 0.010$
Doble logarítmico	$\text{Ln} \frac{A_o}{A_m} = 0.863 \text{Ln} \frac{[o]}{[m]} + 0.4$ $R^2 = 0.9993$ $K_{mo} = 0.66 \pm 0.02$	$\text{Ln} \frac{A_o}{A_m} = 0.859 \text{Ln} \frac{[o]}{[m]} - 0.03$ $R^2 = 0.9992$ $K_{mo} = 1.03 \pm 0.03$	$\text{Ln} \frac{A_o}{A_m} = 0.854 \text{Ln} \frac{[o]}{[m]} + 1.01$ $R^2 = 0.9991$ $K_{mo} = 0.364 \pm 0.015$

Nota: $K_{mo} = \epsilon_m / \epsilon_o$

exactitud en el análisis de muestras sintéticas (tabla 2.II), siendo necesario un mínimo tratamiento de los datos. Por estas razones la banda que aparece a 769 cm^{-1} se selecciona para el análisis de las mezclas binarias del meta-xileno con los otros dos isómeros.

Tabla 2.II

Determinación por espectroscopía IR-TF de la relación $[o]/[m]$ en función de las bandas consideradas para el meta-xileno.

BANDA	MUESTRA	CANTIDAD AÑADIDA	CANTIDAD ENCONTRADA			
			Ajuste lineal		Ajuste doble logarítmico	
			O/M (m/m)	O/M (m/m)	E_R (%)	O/M (m/m)
M1	1	0.20880	0.1408	-32.6	0.2322	11.2
	2	0.64324	0.6545	1.7	0.6498	1.0
	3	1.08701	1.1018	1.4	1.0499	-3.4
	4	2.3948	2.6045	8.8	2.5330	5.5
	5	3.9859	3.7213	-6.6	3.7254	-6.5
				ERP = 10.2		ERP = 5.6
M1 + M2 (M1)	1	0.20880	0.1354	-35.2	0.2213	6.0
	2	0.64324	0.6471	0.6	0.6253	-2.8
	3	1.08701	1.0911	0.4	1.0106	-7.0
	4	2.3948	2.6013	8.6	2.5014	4.5
	5	3.9859	3.7076	-7.0	3.6641	-8.1
				ERP = 10.4		ERP = 5.7
M2	1	0.20880	0.1209	-42.1	0.2288	9.6
	2	0.64324	0.6285	-2.3	0.6425	-0.1
	3	1.08701	1.0659	-1.9	1.0380	-4.5
	4	2.3948	2.5865	8.0	2.5319	5.7
	5	3.9859	3.6726	-7.9	3.7179	-6.7
				ERP = 12.4		ERP = 5.3

Banda M1 a 770 cm^{-1} , banda M2 a 693 cm^{-1} .
ERP = error relativo promedio

Empleo de valores de altura de banda frente a valores de área de pico para el análisis de mezclas binarias

Tal como se indica en la figura 2.2 es posible emplear tanto valores de altura como valores de área de las bandas de absorción para determinar la relación entre las absorbancias correspondientes a cada uno de los compuestos de la mezcla binaria. Además es posible considerar para los cálculos diferentes valores del área de la banda de absorción dependiendo del intervalo de número de ondas que se seleccione.

Para mezclas binarias de orto- y para-xileno se han obtenido tanto ajustes lineales como doble logarítmicos (potenciales), tanto para los valores de altura de banda como para los distintos valores de área de las bandas. Los coeficientes obtenidos para estos ajustes así como los valores de K_{po} (K_2) se indican en la tabla 2.III.

El empleo del cociente de las absorbancias hace que el incremento que se obtiene en la sensibilidad cuando se manejan valores de área de banda en lugar de valores de altura de la misma sea mínimo.

La sensibilidad, expresada como el valor de la pendiente de la curva de calibrado, proporciona en todos los casos un valor aproximado de 1.10. Cuando se utilizan valores de área de la banda de absorbancia, considerando un anchura del intervalo de número de ondas de 14 cm^{-1} , se obtiene un incremento en el valor de la sensibilidad del orden del 15 %. No obstante, puede verse que los resultados más exactos para el análisis de muestras sintéticas (tabla 2.IV) se obtienen cuando se consideran valores de alturas de banda, especialmente en aquellas mezclas con contenidos bajos de orto-xileno.

Tabla 2.III

Comparación entre el empleo de alturas de banda y áreas de banda en el análisis de mezclas binarias de orto- y para-xileno.

TIPO DE AJUSTE		ALTURA	ÁREA (4)	ÁREA (6)	ÁREA (8)	ÁREA (10)	ÁREA (12)	ÁREA (14)
Lineal	pendiente	1.022	1.030	1.056	1.088	1.122	1.155	1.185
	ord. origen	0.21	0.22	0.21	0.22	0.19	0.17	0.16
	R ²	0.9988	0.9987	0.9989	0.9991	0.9993	0.9994	0.9994
	K _{po} ± s	0.978 ± 0.011	0.971 ± 0.011	0.947 ± 0.011	0.919 ± 0.010	0.891 ± 0.008	0.866 ± 0.007	0.844 ± 0.006
Doble logarítmico	pendiente	0.882	0.880	0.885	0.892	0.901	0.910	0.919
	ord. origen	0.23	0.25	0.26	0.28	0.29	0.30	0.31
	R ²	0.99967	0.99967	0.99967	0.99968	0.99969	0.99970	0.99970
	K _{po} ± s	0.794 ± 0.016	0.779 ± 0.016	0.771 ± 0.015	0.756 ± 0.015	0.748 ± 0.015	0.741 ± 0.015	0.733 ± 0.015

Los números entre paréntesis indican el intervalo de número de ondas, en cm⁻¹, empleado para determinar el área de la banda de absorción.

$$K_{po} = \epsilon_p / \epsilon_o$$

Tabla 2.IV

Resultados analíticos obtenidos en la determinación de la relación orto-xileno/para-xileno empleando valores de alturas y áreas de bandas.

MUESTRA	AÑADIDO	ALTURA	E _R (%)	ÁREA (4)	E _R (%)	ÁREA (6)	E _R (%)	ÁREA (8)	E _R (%)	ÁREA (10)	E _R (%)	ÁREA (12)	E _R (%)	ÁREA (14)	E _R (%)
1	0.21601	0.2177	0.8	0.2143	-0.8	0.2131	-1.2	0.2107	-2.5	0.2104	-2.6	0.2096	-3.0	0.2085	-3.5
2	0.59955	0.6191	3.3	0.6193	3.3	0.6254	4.3	0.6233	4.0	0.6265	4.5	0.6279	4.7	0.6243	4.1
3	1.14659	1.1180	-2.5	1.1108	-3.1	1.1183	-2.5	1.1151	-2.7	1.1237	-2.0	1.1300	-1.4	1.1270	-1.7
4	2.1534	2.0428	-5.1	2.0374	-5.4	2.0526	-4.7	2.0478	-4.9	2.0631	-4.2	2.0741	-3.7	2.0676	-4.0
5	3.9715	3.9600	-0.3	3.9301	-1.0	3.9401	-0.8	3.9109	-1.5	3.9197	-1.3	3.9239	-1.2	3.8964	-1.9
		ERP = 2.4		ERP = 2.7		ERP = 2.7		ERP = 3.1		ERP = 2.9		ERP = 2.8		ERP = 3.0	

Los números entre paréntesis indican el intervalo de número de ondas, en cm^{-1} , empleado para determinar el área de la banda de absorbancia.

ERP = error relativo promedio (en valor absoluto)

De las experiencias realizadas puede concluirse que empleando el ajuste de tipo doble logarítmico (potencial) entre los cocientes de los valores de altura de las bandas de absorbancia características del orto-, meta- y para-xileno y la relación de concentraciones de dos de estos componentes en mezclas binarias se obtienen los mejores resultados analíticos. En la figura 2.3 se representan estos ajustes para las tres mezclas binarias consideradas, que se corresponden con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Ln} \frac{A_o}{A_m} = 0.863 \text{Ln} \frac{[o]}{[m]} + 0.41 \quad [2.47]$$

$$\text{Ln} \frac{A_o}{A_p} = 0.882 \text{Ln} \frac{[o]}{[p]} + 0.23 \quad [2.48]$$

$$\text{Ln} \frac{A_m}{A_p} = 0.900 \text{Ln} \frac{[m]}{[p]} - 0.09 \quad [2.49]$$

donde [o], [m] y [p] son las concentraciones de orto-xileno, meta-xileno y para-xileno respectivamente, y A_o , A_m y A_p sus correspondientes valores de absorbancia.

Análisis de mezclas binarias de xilenos

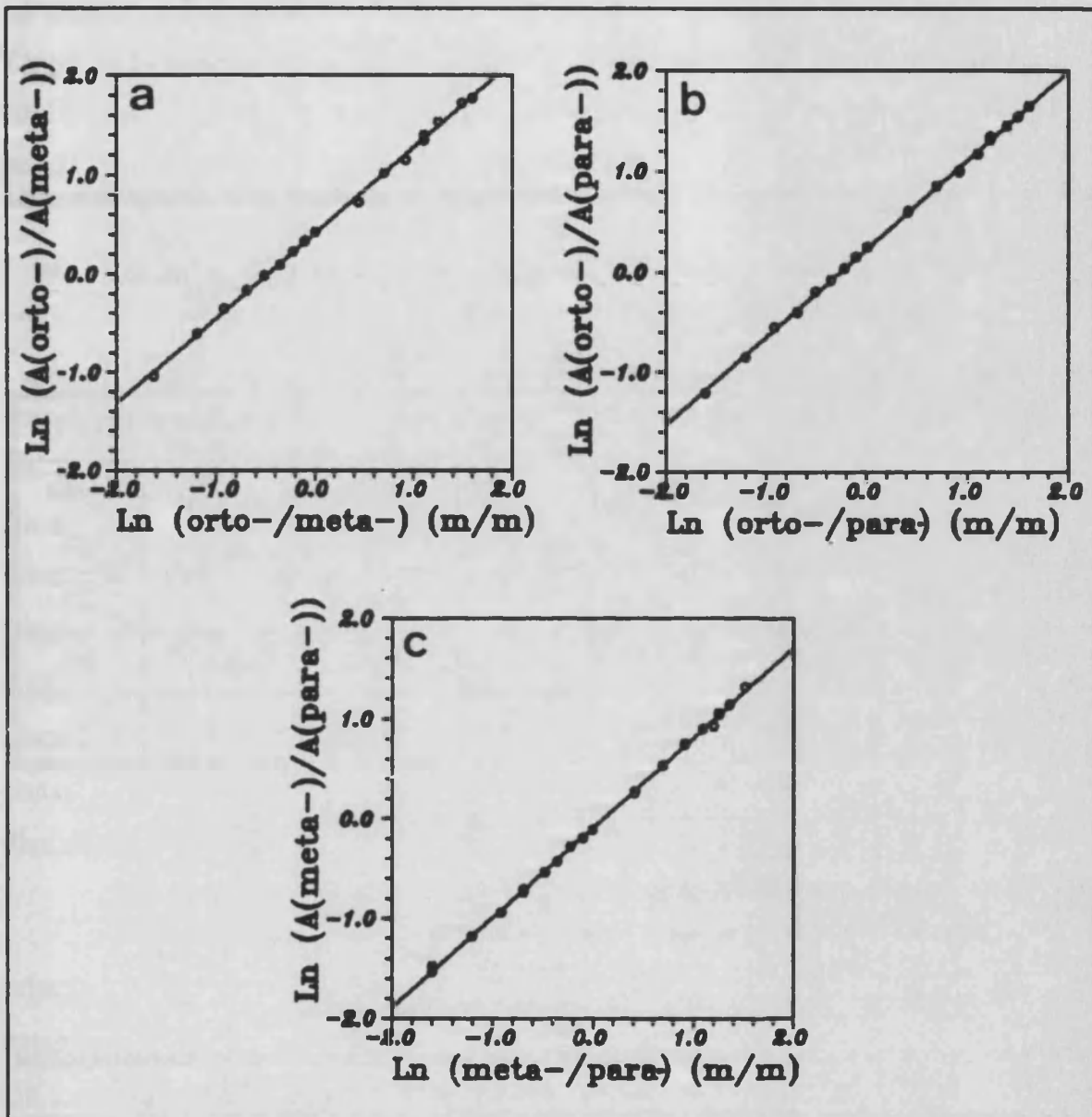
Empleando los valores de altura de las bandas de absorción a 744, 769 y 796 cm^{-1} para el orto-, meta- y para-xileno respectivamente, se analizó por espectrometría IR-TF una serie de muestras sintéticas de mezclas binarias. Los resultados se obtuvieron utilizando el tipo de ajuste doble logarítmico antes

indicado, y como puede verse en la tabla 2.V se consigue una buena exactitud en el análisis de estas muestras empleando el procedimiento recomendado.

Tabla 2.V

Análisis de mezclas binarias de orto-, meta- y para-xileno por espectroscopía IR-TF empleando ajustes de tipo doble logarítmico.

SISTEMA	MUESTRA	AÑADIDO	ENCONTRADO	E_R %
orto/meta		% orto	% orto	
	1	17.23	18.84	9.3
	2	39.14	39.39	0.6
	3	52.08	51.22	-1.6
	4	70.54	71.69	1.6
	5	79.94	78.84	-1.4
	ERP = 2.9			
orto/para		% orto	% orto	
	1	17.76	17.87	0.6
	2	37.48	37.86	1.0
	3	53.41	52.77	-1.2
	4	68.29	67.13	-1.7
	5	79.88	79.84	0.0
	ERP = 0.9			
meta/para		% meta	%meta	
	1	18.49	18.47	-0.1
	2	36.21	36.26	0.1
	3	50.31	50.28	0.0
	4	68.66	68.08	-0.8
	5	82.06	82.01	-0.1
	ERP = 0.2			

**Figura 2.3**

Curvas de calibrado obtenidas para mezclas binarias de (a) orto-/meta-xileno, (b) orto-/para-xileno, y (c) meta-/para-xileno. En las gráficas se relaciona el logaritmo del cociente de la absorbancia a cada número de ondas característico de cada componente y su relación de concentraciones en la mezcla binaria.

Las características analíticas del análisis IR-TF de las mezclas binarias se indican en la tabla 2.VI, en las que puede verse la mejora que supone el ajuste de tipo doble logarítmico de los datos experimentales.

Tabla 2.VI

Parámetros analíticos de la determinación de mezclas binarias de los isómeros del xileno por espectroscopía IR-TF.

SISTEMA	SENSIBILIDAD		C V (%)		EXACTITUD (%)	
	Lineal ¹	Doble Log ²	Lineal ¹	Doble Log ²	Lineal ¹	Doble Log ²
ORTO/META	1.19	1.51	0.3 [*]	0.3 [*]	6.8	2.9
ORTO/PARA	1.022	1.26	0.5 ^{**}	0.5 ^{**}	8.8	0.9
META/PARA	0.786	0.914	0.4 ^{***}	0.4 ^{***}	4.2	0.2

C V = Coeficiente de variación, expresado en porcentaje.

1 Ajuste de tipo lineal.

2 Ajuste de tipo doble logarítmico.

* Calculado para una relación [o]/[m] de 0.64324

** Calculado para una relación [o]/[p] de 2.1534

*** Calculado para una relación [m]/[p] de 1.01238

Análisis de mezclas ternarias de xilenos utilizando valores constantes de K y funciones de K

Como ya se indicó al hablar del tratamiento matemático de los resultados, el análisis de mezclas ternarias puede realizarse considerando la relación entre los

valores de absorbancia, al número de ondas característico de cada componente, o la suma de las absorbancias de las tres bandas consideradas; siempre y cuando los coeficientes de absorción molar de los tres componentes se corrijan de manera que puedan emplearse en las ecuaciones [2.17] a [2.19].

Los valores de K_{mo} y K_{po} que se requieren para poder corregir los valores experimentales de absorbancia pueden calcularse a partir de las relaciones entre $A_o:A_m$ y $[o]:[m]$, y entre $A_o:A_p$ y $[o]:[p]$, empleando tanto ajustes de tipo lineal como doble logarítmico (tal como ya se indicaron en las tablas 2.I y 2.III). Cuando los valores de $\epsilon_m:\epsilon_o$ y de $\epsilon_p:\epsilon_o$, obtenidos experimentalmente para muestras sintéticas con un contenido perfectamente conocido, se representan frente a las relaciones de orto-/meta- y orto-/para-xileno respectivamente, no se obtiene un valor constante de los mismos. Esto posiblemente se deba a que para la elevada concentración de estas mezclas (téngase en cuenta que estamos empleando los disolventes puros sin ningún diluyente) no se cumple la ley de Beer-Lambert como consecuencia de las interacciones de tipo molecular que puedan darse entre los distintos isómeros del xileno.

En la figura 2.4 se han representado los valores de K_{mo} en función de la relación $[o]:[m]$ y los de K_{po} en función de $[o]:[p]$. Para estos datos se pueden establecer tres modelos de ajuste diferentes: lineal, logarítmico y doble logarítmico. En todos los casos, las mezclas ternarias pueden resolverse a partir de las relaciones $[o]:[m]$ y $[o]:[p]$ y de los valores de K_{mo} y K_{po} obtenidos empleando cada uno de los modelos mencionados anteriormente, así como determinándolos a partir de la parte lineal del ajuste logarítmico.

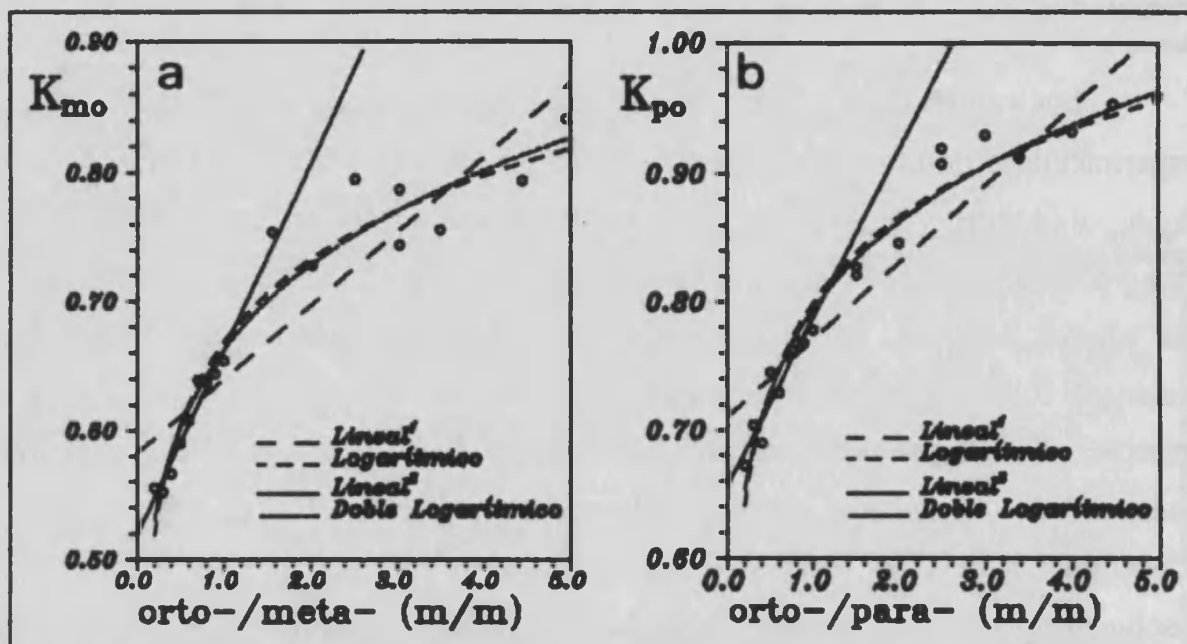


Figura 2.4

Relación entre (a) K_{mo} y la relación de concentraciones entre orto- y meta-xileno y (b) K_{po} y la relación de concentraciones entre orto- y para-xileno. En ambos casos se han indicado los valores de K y se han representado los ajustes lineal A, logarítmico B y doble logarítmico D. También se puede realizar la linearización de los diez primeros valores y se obtiene la recta C.

Los valores de las constantes K_{mo} y K_{po} así como sus ecuaciones respectivas se indican en la tabla 2.VII.

Tabla 2.VII

Coefficientes empleados para el análisis de mezclas ternarias de xilenos.

	K_{mo}	K_{po}
A partir de las curvas de calibrado		
Ajuste lineal	0.840	0.978
Ajuste doble logarítmico	0.664	0.794
A partir de las funciones de K		
Lineal ^a	$K = 0.58 + 0.060 \frac{[O]}{[M]}$	$K = 0.71 + 0.060 \frac{[O]}{[P]}$
Lineal ^b	$K = 0.515 + 0.151 \frac{[O]}{[M]}$	$K = 0.668 + 0.108 \frac{[O]}{[P]}$
Logarítmico	$K = 0.67 + 0.093 \text{Ln} \frac{[O]}{[M]}$	$K = 0.800 + 0.098 \text{Ln} \frac{[O]}{[P]}$
Doble logarítmico	$\text{Ln} K = 0.137 \text{Ln} \frac{[O]}{[M]} - 0.41$	$\text{Ln} K = 0.120 \text{Ln} \frac{[O]}{[P]} - 0.23$

a En este ajuste se han considerado todos los valores.

b Para este ajuste únicamente se han considerado los 10 primeros valores.

Por este procedimiento se analizaron una serie de muestras sintéticas que contenían los tres isómeros. Como parámetro que nos permita evaluar cual de los procedimientos es el más adecuado se ha seleccionado el valor del error relativo medio obtenido para todas las determinaciones. En la figura 2.5 se ha representado la regresión entre los valores obtenidos cuando se emplean los valores de K_{mo} y K_{po} obtenidos de la relación logarítmica entre K_{mo} y $\ln([o]:[m])$ y entre K_{po} y $\ln([o]:[p])$, y los contenidos reales de una serie de muestras sintéticas preparadas a partir de orto-, meta- y para-xileno. Como puede verse, en todos los casos los errores relativos son menores del 7.0 %, habiéndose obtenido un error relativo promedio para la totalidad de las muestras analizadas igual a 3.4 %.

Análisis de mezclas ternarias empleando sistemas de ecuaciones

Utilizando las ecuaciones de las relaciones entre $[o]:[m]$, $[o]:[p]$ y $[m]:[p]$, así como las encontradas para $[o]:([o]+[m])$, $[o]:([o]+[p])$ y $[p]:([m]+[p])$, y considerando que las muestras únicamente contienen orto-, meta- y para-xileno, pueden plantearse una serie de sistemas de ecuaciones semejantes a los indicados en las ecuaciones [2.31] a [2.33] y [2.44] a [2.46], y de su resolución se obtienen las concentraciones de cada uno de los isómeros.

Se han analizado 12 muestras sintéticas empleando los seis sistemas de ecuaciones posibles, así como el valor medio que se obtiene para cada componente resolviendo cada grupo de sistemas. Como parámetro para evaluar el método que proporciona los mejores resultados se ha considerado el error relativo promedio correspondiente a todas las determinaciones. Los resultados más exactos se obtuvieron empleando el sistema de ecuaciones descrito mediante la expresión

Análisis multicomponente por IR-TF

[2.32], siendo el error relativo promedio de las determinaciones del orden del 1.6 %. En la tabla 2.VIII se indican los contenidos de las muestras sintéticas y los valores obtenidos en el análisis de cada uno de los componentes de las mezclas.

Tabla 2.VIII

Análisis IR-TF de mezclas ternarias de orto-, meta- y para-xileno empleando un sistema de ecuaciones.

MUESTRA	orto-xileno			meta-xileno			para-xileno		
	Contenido real	Contenido encontrado	E _R %	Contenido real	Contenido encontrado	E _R %	Contenido real .	Contenido encontrado	E _R %
1	11.78	11.98	1.7	14.52	14.11	-2.8	73.70	73.91	0.3
2-a	17.76	17.24	-2.9	27.43	27.62	0.7	54.81	55.13	0.6
2-b	17.76	17.97	1.2	27.43	27.38	-0.2	54.81	54.65	-0.3
3-a	30.84	30.41	-1.4	23.04	23.85	3.5	46.12	45.74	-0.8
3-b	30.84	30.85	0.0	23.04	22.78	-1.1	46.12	46.37	0.5
4-a	45.48	45.26	-0.5	30.66	30.53	-0.4	23.86	24.21	1.5
4-b	45.48	45.58	0.2	30.66	30.18	-1.6	23.86	24.24	1.6
5	55.22	54.39	-1.5	34.98	35.38	1.1	9.80	10.22	4.3
6-a	66.02	66.64	0.9	17.63	17.07	-3.2	16.34	16.29	-0.3
6-b	66.02	65.72	-0.5	17.63	17.52	-0.6	16.34	16.76	2.5
7-a	73.36	73.07	-0.4	13.27	13.33	0.5	13.37	13.60	1.7
7-b	73.36	72.56	-1.1	13.27	13.60	2.5	13.77	13.84	3.5
8	23.32	23.22	-0.4	61.69	61.62	-0.1	14.99	15.15	1.1
9-a	14.70	14.32	-2.6	56.53	56.08	-0.8	28.77	29.59	2.8
9-b	14.70	15.12	2.8	56.53	55.61	-1.6	28.77	29.27	1.7
10	9.23	9.52	3.2	72.31	70.97	-1.8	18.46	19.50	5.7
11	18.70	18.34	-1.9	9.47	9.07	-4.3	71.83	72.60	1.1
12-a	70.18	69.57	-0.9	18.88	19.09	1.1	10.94	11.33	3.6
12-b	70.18	70.72	0.8	18.88	18.40	-2.5	10.94	10.87	-0.6

* Error relativo en tanto por ciento.

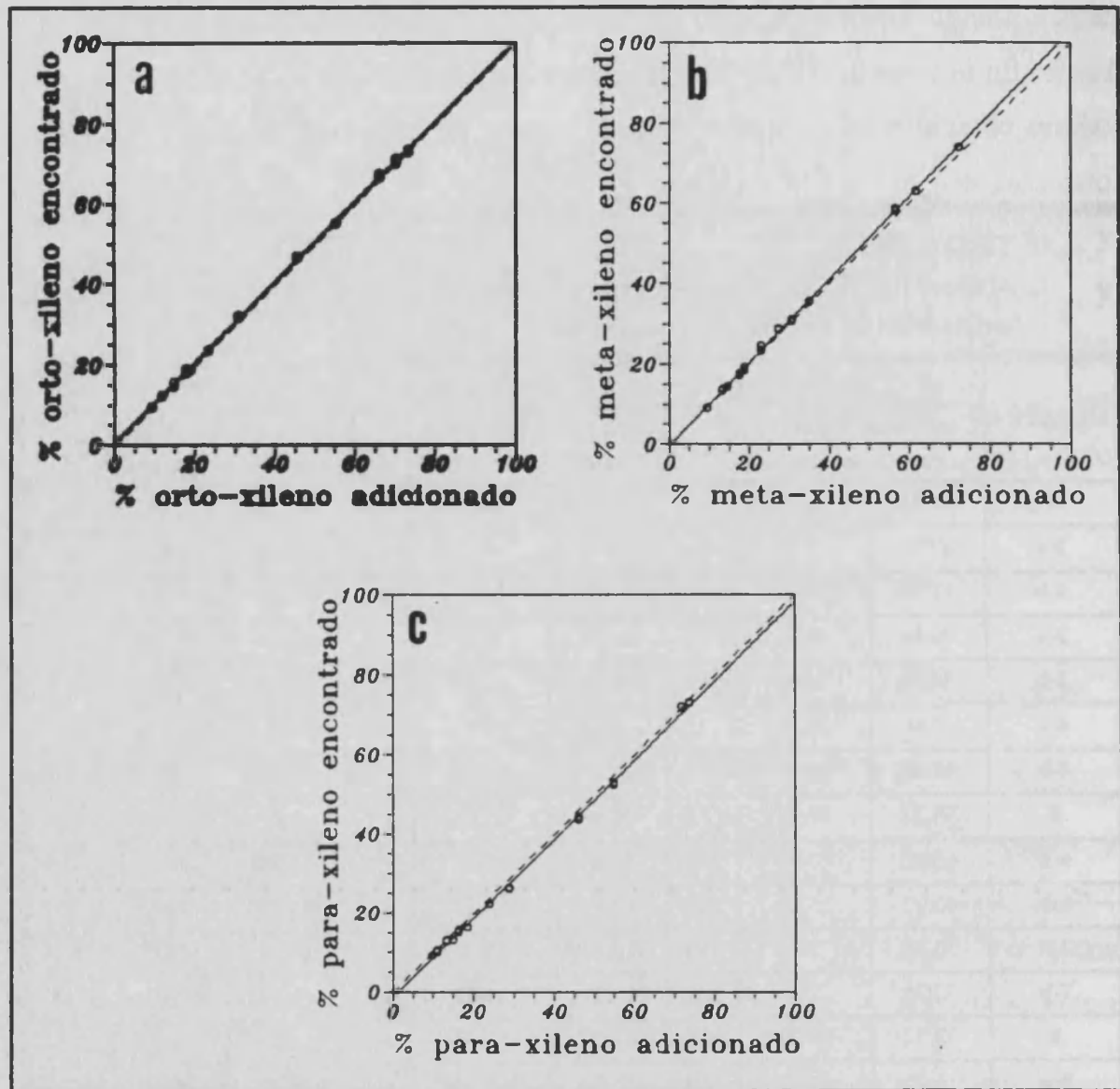


Figura 25

Regresión entre el resultado encontrado y el contenido de cada uno de los compuestos añadidos en la determinación de (a) orto-xileno, (b) meta-xileno y (c) para-xileno en mezclas ternarias utilizando la relación logarítmica entre K_{mo} y $\text{Ln} \{[O]/[M]\}$ y K_{po} y $\text{Ln} \{[O]/[P]\}$. La línea continúa indica los valores experimentales encontrados y la línea discontinua los valores teóricos que corresponde a una línea de pendiente 1 y ordenada en el origen 0.

CONCLUSIONES

La utilización del cociente de los valores de altura de banda de diferentes compuestos, proporciona resultados exactos en la determinación de cada uno de estos componentes, tanto en mezclas binarias como ternarias, sin tener que emplear celdas de muestra con un paso óptico conocido.

Los resultados encontrados en el análisis de mezclas de xilenos son muy exactos y este procedimiento puede aplicarse de forma directa a la caracterización de disolventes de pinturas.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO 2

- 2.1 M. W. Mackenzic, *Advances in applied FTIR spectroscopy*, Wiley, Chinchester, 1988.
- 2.2 A. R. Nyquist, M. A. Leugers, M. L. McKelvy, R. R. Papenfuss, C. L. Putzig y L. Yurga, *Anal. Chem.*, 1990, **62**, 223R.
- 2.3 R. S. Mc Donald, *Anal. Chem.*, 1984, **56**, 349.
- 2.4 M. de la Guardia, J. L. Carrión y J. Medina, *Analyst*, 1984, **109**, 457.
- 2.5 J. L. Carrión J. L., S. Sagrado y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1986, **185**, 101.
- 2.6 Z. A. de Benzo, C. Gómez, S. Menéndez, M. de la Guardia y A. Salvador, *Microchem. J.*, 1989, **40**, 271.
- 2.7 J. V. de Julián-Ortiz y M. de la Guardia, *Can. J. Spectros.*, 1990, **25**, 44.
- 2.8 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1991, **242**, 123.
- 2.9 T. H. Durrans, *Solvents*, Chapman & Hall, Londres, 1971.
- 2.10 W. M. Morgans, *Outlines of paint technology*, Ch. Greffin & Co, Londres, 1982.
- 2.11 J. J. Lagowski, *The chemistry of non-aqueous solvents*, Academic Press, Nueva York, 1978.

Parte III

**Análisis cuantitativo
por IR-TF mediante el empleo
de las técnicas de flujo**

Como se ha comentado en la introducción, uno de los datos que informa sobre el escaso desarrollo de las aplicaciones cuantitativas de la técnica IR-TF es la escasa bibliografía publicada sobre el empleo de esta técnica en el análisis en flujo [II.1-II.7]. Aunque sólo fuera por el escaso número de trabajos publicados hasta la fecha, en el panorama tan completo que ofrece el desarrollo y aplicación de las técnicas espectrométricas de análisis, ya sería de interés profundizar en el estudio del acoplamiento FIA-IR-TF y poner a punto nuevos métodos de análisis basados en esta metodología. No obstante, si en la presente tesis se ha abordado el análisis cuantitativo de disoluciones y muestras líquidas mediante el empleo de medidas de transmisión en flujo mediante IR-TF no ha sido sólo por el interés de desarrollar nuevas aplicaciones sino en especial porque, y esa es una de las tesis que se pretende sostener con la presente memoria, el empleo de los conceptos del análisis en flujo puede ayudar a superar algunos de los males endémicos del análisis en el IR que, hasta la fecha, han puesto freno a su generalización como técnica de análisis cuantitativo tales como:

- i) los inconvenientes derivados del empleo de celdas para líquidos, por cuanto son complicadas de montar y difíciles de limpiar,
- ii) el consumo excesivo de disolventes, consecuencia directa de que para muchas aplicaciones deba excluirse el empleo del agua como tal, lo que encarece los análisis,
- iii) la lentitud y falta de reproducibilidad de muchas medidas de transmisión en el IR, debido a la propia naturaleza de las celdas corrientemente empleadas (con espesores muy finos y con gran fragilidad).

Pero, lo que consideramos más importante del acoplamiento FIA-IR-TF es que, además de contribuir a eliminar algunos de los viejos inconvenientes de la técnica de medida, abre excelentes posibilidades tanto en el análisis simultáneo de

varios compuestos en una misma muestra como en el desarrollo de aplicaciones concretas para la determinación directa de uno o más componentes sin necesidad de realizar separaciones previas ni procesos de eliminación de la matriz. Además, basándonos en conceptos clásicos al FIA, como el empleo de sistemas de flujo reverso o el método de las adiciones de patrones en línea, es posible desarrollar procedimientos rápidos de análisis cuantitativo de muestras reales que, facilitando el control en línea de las muestras, pueden potenciar el empleo de la técnica IR-TF en sectores tan importantes como la industria farmacéutica, las industrias de pinturas y las de fabricación de compuestos químicos como los pesticidas.

Uno de los aspectos más importantes de esta parte lo constituye el desarrollo de un método de análisis de carbaryl basado en el acoplamiento, mediante el empleo de la técnica de análisis en flujo, de la extracción en fase sólida (EFS) y la IR-TF. Dicho acoplamiento permite, desde la perspectiva del análisis cuantitativo en el IR-TF, potenciar las medidas mejorando drásticamente los límites de detección de la técnica al acoplarla en línea con un sistema rápido y eficaz de preconcentración como es la EFS pero, además, el planteamiento global del problema analítico permite desarrollar una metodología que, en base a la interacción entre la técnica de análisis y el problema analítico permita potenciar la toma de muestras y la estabilización de las mismas a la vez que, profundizando en la tesis básica de la memoria, demostrar que la menor sensibilidad de las medidas en el IR, por comparación con otras zonas del espectro electromagnético, no tiene porqué ser un techo insuperable para la aplicación de esta técnica en el análisis cuantitativo si el químico analítico sabe combinar adecuadamente las diferentes piezas de que dispone para preconcentrar las muestras.

En esta segunda parte de la memoria se incluyen los siguientes trabajos "Estudio del acoplamiento FIA-IR-TF", "Determinación de ibuprofeno en

medicamentos por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier empleando un sistema de flujo" y "Determinación simultánea de orto-, meta- y para-xileno por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier en un sistema de flujo", que han sido publicados en *Analytica Chimica Acta* [II.8], *Talanta* [II.9] y *The Analyst* [II.10] respectivamente, y "Determinación simultánea de ácido acetilsalicílico y cafeína en medicamentos por análisis en flujo y espectrometría infrarroja por transformada de Fourier" y "Determinación de carbaryl en formulaciones de pesticidas por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier empleando sistemas de flujo", que han sido aceptados para su publicación en *Talanta* [II.11] y *The Analyst* [II.12], así como "Preconcentración en línea y determinación de carbaryl por espectrometría infrarroja empleando un sistema de flujo" que ha sido presentado en el *XXVIII Colloquium Spectroscopicum Internationale de York* [II.13] y se ha enviado para su publicación en *The Analyst*.

Todos estos trabajos suponen un esfuerzo para demostrar las posibilidades de la técnica IR-TF en el análisis cuantitativo mediante medidas de transmisión, y el hilo conductor que los une evidencia los progresos realizados durante el desarrollo de la presente memoria, que han contribuido a duplicar el volumen de literatura publicada sobre FIA-FT-IR.

BIBLIOGRAFÍA

- II.1 J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2ª edición, Wiley, Nueva York, 1988.
- II.2 D. J. Curran y W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, **177**, 259.
- II.3 D. K. Morgan, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1985, **18**, 1979.
- II.4 S. V. Olesiek, S. B. French y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- II.5 B. E. Miller, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- II.6 M. Guzman, J. Ruzicka, G. D. Christian y P. Shelley, *Vib. Spectrosc.*, 1991, **2**, 1.
- II.7 P. T. McKittrick, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Microchem. J.*, 1991, **44**, 105.
- II.8 M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J. L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **261**, 53.
- II.9 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1992, **40**, 89.
- II.10 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Analyst*, 1992, **117**, 1849.
- II.11 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1993, en imprenta.

- II.12 M. Galignani, S. Garrigues, A. Martinez-Vado y M. de la Guardia, *Analyst*, 1993, en imprenta.
- II.13 S. Garrigues, M.T. Vidal, M. Galignani y M. de la Guardia, comunicación presentada en *XXVIII CSI*, York, Reino Unido, Junio-Julio 1993, referencia FP 2.25.

Capítulo 3

ESTUDIO DEL ACOPLAMIENTO FIA-IR-TF

RESUMEN

Se ha desarrollado un método para obtener y almacenar el espectro infrarrojo por transformada de Fourier de una muestra en un flujo continuo en tan solo 19 segundos empleando una resolución nominal de 4 cm^{-1} . La determinación de orto-xileno en xilol, se ha utilizado como sistema modelo, empleando hexano como portador y diluyente de muestras y patrones en todas las experiencias realizadas. Se han realizado experiencias con una celda clásica de flujo y otra celda desmontable de flujo del tipo *flow-through cell*. El mejor límite de detección que se obtiene corresponde a un valor del 0.01 % (v/v). Para las dos celdas empleadas se ha estudiado el efecto del caudal de portador y el volumen de inyección de muestra. La desviación típica relativa obtenida para cinco medidas de una disolución que contiene un 0.4 % de orto-xileno es del 1.0 %.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las técnicas de análisis en flujo se han incorporado a la mayoría de los campos de la química analítica [3.1-3.4]. El libro de Ruzicka y Hansen, en su segunda edición publicada en 1988, incluye un total de 588 referencias de trabajos en los que se emplea la técnica de flujo en determinaciones espectrofotométricas en la región UV y Vis, 123 referencias de trabajos realizados por espectrometría de absorción atómica y 72 referencias a determinaciones espectrofluorimétricas. Sin embargo, en esta obra tan solo se incluyen 4 referencias al acoplamiento de la técnica de análisis en flujo con la espectrometría infrarroja.

La razón del escaso desarrollo de la técnica de flujo en esta área de la química analítica se debe fundamentalmente a problemas relacionados con el análisis cuantitativo por espectrometría infrarroja, a problemas relacionados con la obtención de una adecuada información a partir de las señales infrarrojas transientes de muestras inyectadas y al hecho de que los trabajos publicados se han realizado empleando celdas sofisticadas (como es la CIRCLE CELL) [3.5,3.6] y disolventes poco frecuentes (como son fluidos supercríticos [3.7] y agua [3.5,3.6]).

Nosotros tan solo hemos encontrado una referencia acerca del acoplamiento FIA-IR, en la que se determina el grupo isocianato empleando una *flow-through cell* y tetracloruro de carbono como disolvente [3.8]. En este trabajo se emplea un espectrofotómetro infrarrojo de filtros, que no permite determinar exactamente la línea-base y, en consecuencia, el análisis debe realizarse a un número de ondas fijo, suponiendo esto una gran desventaja cuando la forma de la banda IR varía con las condiciones de medida.

El uso de espectrofotómetros infrarrojos por transformada de Fourier (IR-TF) [3.9,3.10] permite obtener todo el espectro IR en unos pocos segundos, siendo posible desarrollar un método adecuado para el tratamiento de las señales transientes basado en el control del espectro en un intervalo apropiado de número de ondas, y esto permite efectuar una medida exacta de la línea-base y del número de ondas al que aparece el máximo de la banda de absorción, evitando de este modo tener que trabajar a un número de ondas fijo [3.11,3.12].

En el presente trabajo se ha desarrollado un método FIA-IR-TF, basado en el empleo de un montaje monocanal, que utiliza celdas convencionales de precio razonable, y de un *software* que se ha elaborado de modo que permite obtener y acumular los registros IR correspondientes a una zona seleccionada del espectro de la muestra que es impulsada dentro del montaje; empleando un disolvente adecuado, como portador y como diluyente.

Se ha estudiado la determinación FIA-IR-TF del compuesto orto-xileno empleando dos tipos diferentes de celdas (una micro celda de flujo clásica y una micro celda de flujo del tipo *flow-through*) utilizando hexano como portador y disolvente.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos y reactivos

Para las medidas de absorbancia se ha utilizado un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier Perkin Elmer modelo 1750 equipado con un detector FR-DTGS y controlado por una estación de datos de la serie 7700. La resolución nominal de trabajo de este equipo puede seleccionarse entre 2 y 64 cm^{-1} .

Se han empleado dos celdas de muestras: una micro celda de flujo de la marca SPECAC (Orpington, Reino Unido) con ventanas de bromuro potásico y una micro celda desmontable del tipo *flow-through* suministrada por SPECTRA TECH (Warrington, Reino Unido) con ventanas de KBr.

El montaje utilizado es de tipo monocanal (figura 3.1). Para impulsar tanto el portador como las muestras se ha dispuesto de una bomba peristáltica Gilson P-2 Minipuls con tubos de VITON (iso-versinic) de 1.5 mm y 3 mm de diámetro interno y externo respectivamente. Para introducir las muestras se ha utilizado una válvula de 6 vías RHEODYNE Type 50 con diferentes volúmenes de inyección. Todas las conexiones se realizaron con tubos de TEFLON^R de 0.8 mm de diámetro interno.

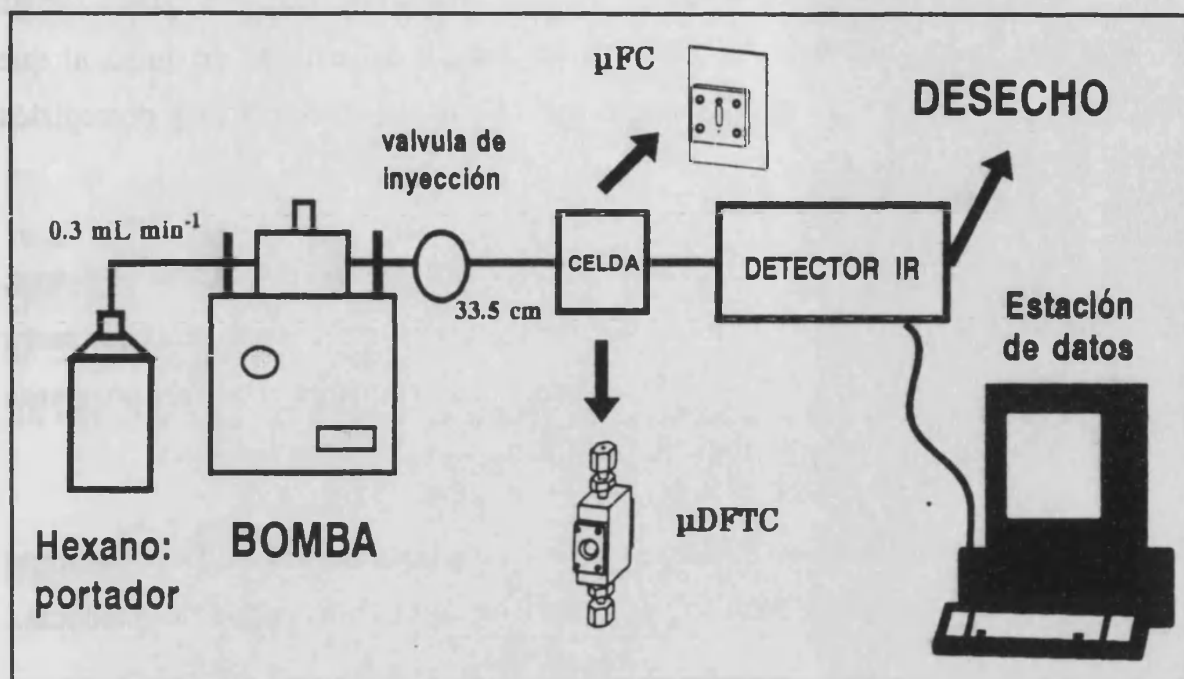


Figura 3.1

Montaje utilizado para la determinación FIA-IR-TF de orto-xileno en disoluciones en hexano. μFC = micro celda de flujo; μDFTC = micro celda desmontable de flujo del tipo *flow through*.

Programas de software

Para obtener medidas de absorbancia de forma continua se ha desarrollado una serie de programas informáticos.

El programa "FIA-FTIR.oy", escrito en lenguaje OBEX, permite obtener y almacenar el espectro IR-TF en función del tiempo cuando se utiliza un espectrofotómetro IR-TF Perkin Elmer equipado con una estación de datos de la serie 7700 controlada por el programa CDS.

El programa "CALCULAR.oy", editado también en lenguaje OBEY, se ha desarrollado para, determinando exactamente el valor del número de ondas al que aparece el máximo de la banda, calcular los valores de absorbancia y corregirlos con la línea-base seleccionada.

Con el programa "FIAGRAMA", escrito en lenguaje BASIC, se registran, en función del tiempo, los valores de absorbancia previamente establecidos a partir del programa "CALCULAR.oy". Este programa se carga con el programa "FIAGRAMA.oy" escrito en lenguaje OBEY.

Todo este *software* se ha desarrollado en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Químicas de la Universidad de Valencia.

Procedimiento general

La finalidad de este trabajo ha sido desarrollar una metodología para el análisis IR-TF empleando sistemas de flujo, por esta razón el procedimiento general se ha diseñado con el sentido de desarrollar el *software* adecuado y estudiar los efectos de las distintas variables experimentales.

Para la determinación de orto-xileno en disoluciones de hexano se han seleccionado dos tipos de celdas de flujo convencionales, de las que pueden adquirirse comercialmente a precios razonables. Se ha estudiado el efecto del paso óptico, del volumen de inyección y del caudal de portador sobre la sensibilidad, límite de detección y reproducibilidad de las medidas.

Procedimiento recomendado

Los patrones del calibrado se prepararon disolviendo orto-xileno en hexano en un intervalo de concentraciones comprendido entre 0.04 y 1.0 % (v/v). Se inyecta un volumen de aproximadamente 200 μL de las disoluciones de orto-xileno (patrones o muestras) en el portador de hexano con un caudal de 0.28 mL min^{-1} y se obtienen las medidas de absorbancia a 743 cm^{-1} utilizando una celda de flujo con un espaciador de 0.12 mm (con un volumen total de la celda de unos 5 μL).

El espectro IR-TF se registra entre 850 y 650 cm^{-1} empleando una resolución nominal de 4 cm^{-1} . La línea-base se establece entre 820 y 670 cm^{-1} .

El procedimiento desarrollado se puede aplicar al análisis de disolventes de pinturas, utilizando valores de altura de las bandas de absorbancia y patrones de orto-xileno en hexano, ya que la determinación de este componente no se ve afectada por la presencia de meta-xileno, para-xileno y otros componentes, como pueden ser el acetato de butilo y el butanol [3.10], todos ellos muy utilizados en las pinturas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El orto-xileno tiene un espectro infrarrojo en transmitancia con una banda muy bien definida en la zona de la huella dactilar (ver figura 3.2A); esta banda a 743 cm^{-1} es la más sensible y está muy bien resuelta. En disoluciones de hexano

esta banda no está interferida por la banda del disolvente y, como puede verse en la figura 3.2B, trabajando con el espectro de absorbancia, es posible establecer una línea-base adecuada entre 820 y 670 cm^{-1} . Por este motivo se ha escogido al hexano como portador y disolvente adecuado para la determinación FIA-IR-TF del orto-xileno.

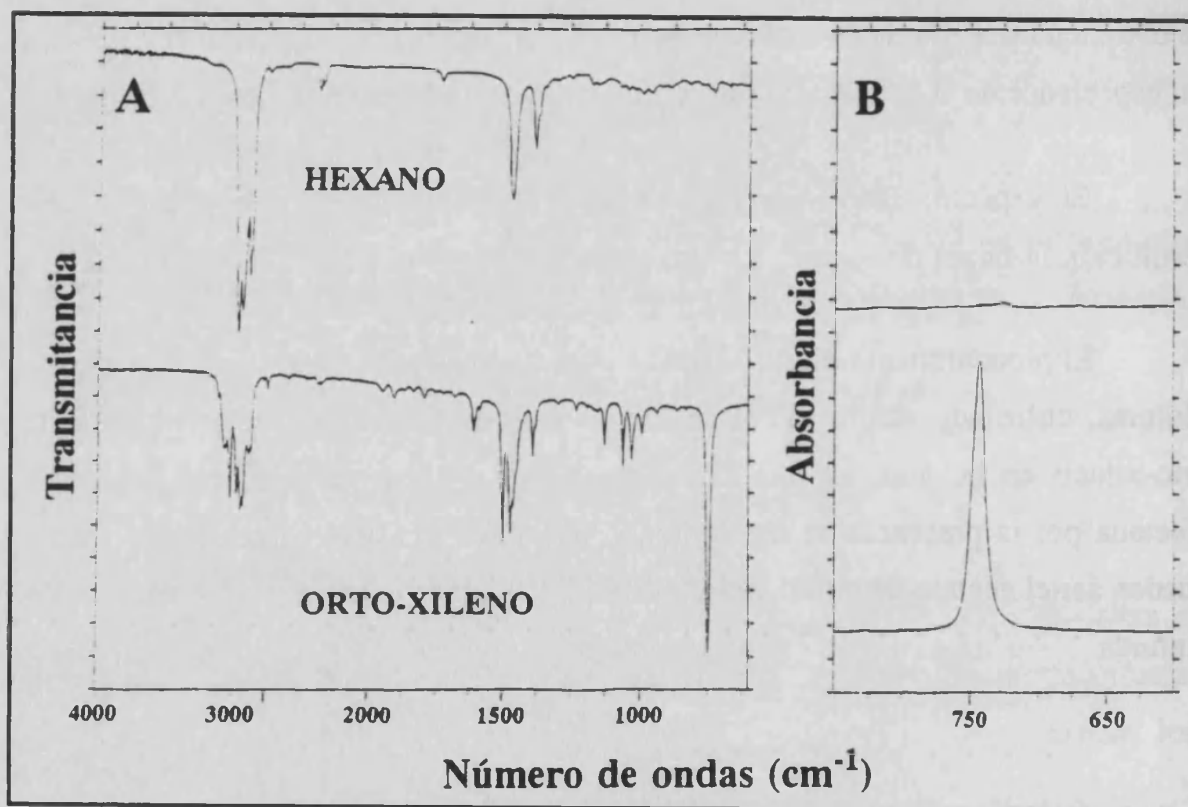


Figura 3.2

(A) Espectro IR-TF del hexano y del orto-xileno. (B) Espectro en absorbancia del disolvente (superior) y de una disolución del 0.5 % v/v de orto-xileno en hexano (inferior).

Efectos de los parámetros FIA

Utilizando los dos tipos de celda se han estudiado los efectos del caudal y del volumen de la muestra sobre la altura y la forma de los picos.

En la figura 3.3 se indica que, para un caudal de 0.28 mL min^{-1} , utilizando la celda de flujo tipo *flow through* la altura de los picos aumenta cuando se incrementa el volumen de inyección hasta que se obtienen, para volúmenes superiores a $300 \mu\text{L}$, valores de absorbancia comparables con los que corresponden a la introducción continua de la muestra. Con la micro celda de flujo convencional se obtienen resultados similares.

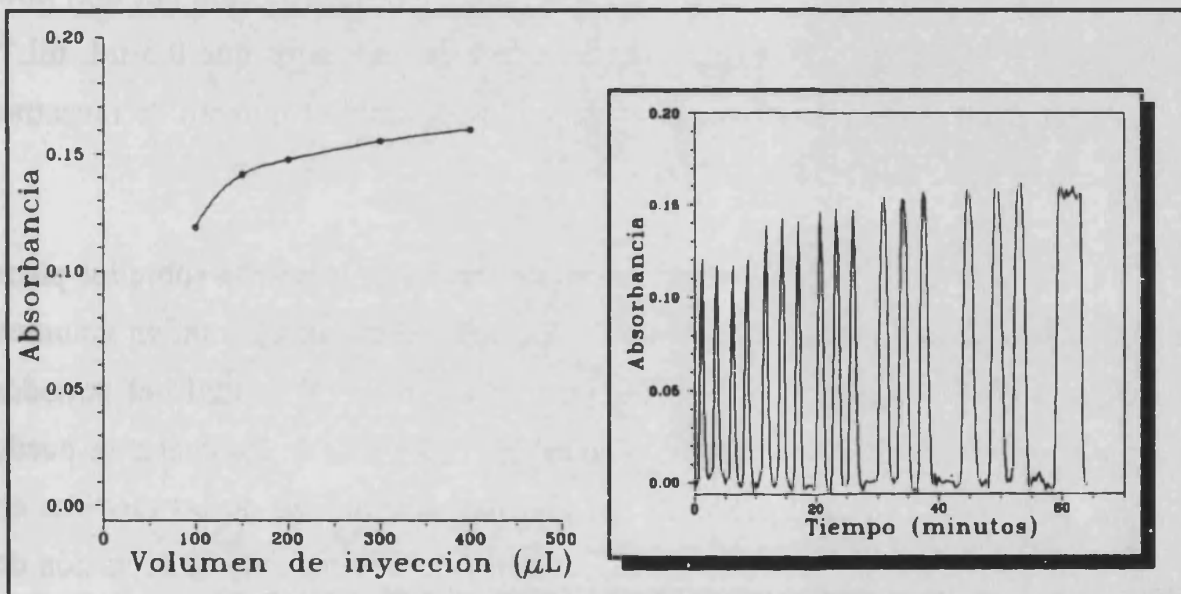


Figura 3.3

Efecto del volumen de muestra inyectado sobre la altura del registro FIA utilizando una micro celda desmontable de flujo del tipo *flow through*. En la zona derecha de la figura se ha indicado la absorbancia correspondiente a la introducción continua de la disolución de orto-xileno en hexano.

Para un valor fijo de muestra inyectada el caudal del portador afecta tanto a la forma como a la altura de los picos FIA obtenidos. En este sentido debe evitarse el uso de caudales muy altos, ya que pueden causar problemas a la hora de obtener y almacenar los espectros IR.

Como puede verse en la figura 3.4, la altura del pico disminuye cuando el caudal de la bomba aumenta. De cualquier modo, para caudales mayores de 0.5 mL min^{-1} , debido a problemas relacionados con la no coincidencia entre el paso de la muestra por la celda y el instante de medida (recordemos que con el instrumento empleado se requieren 19 segundos para obtener y almacenar los espectros), se produce una variación de la altura de los picos FIA (ver figura 3.4). Se obtuvieron resultados similares cuando se empleó la micro celda del tipo *flow through*. Por lo tanto, es necesario emplear caudales más bajos que 0.5 mL mL^{-1} para obtener picos bien definidos, disminuyendo por tanto el número de muestras que pueden analizarse en una hora.

En la figura 3.5 se muestra el efecto del caudal de la bomba sobre los picos FIA que se obtienen empleando la micro celda de flujo trabajando con un volumen de inyección de $200 \mu\text{L}$. Como se ve, un incremento en el caudal del portador produce una disminución en el número de espectros a partir de los cuales se puede definir el pico FIA; lo que puede afectar a la reproducibilidad de las medidas en base a la sincronía entre el proceso de circulación de la muestra y la captación de las señales.

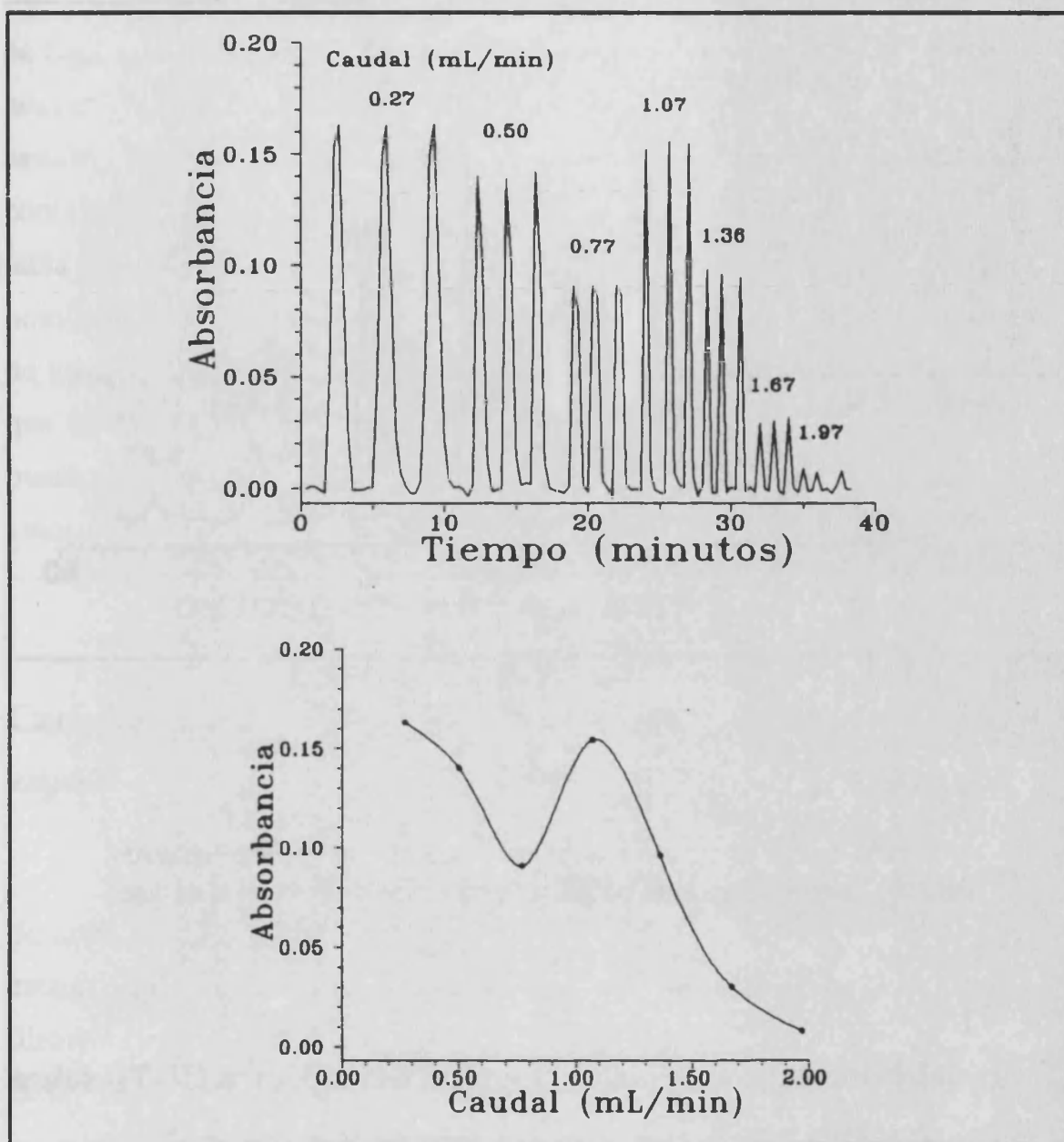


Figura 3.4

Efecto del caudal de portador sobre los picos del registro FIA, utilizando la micro celda de flujo. Volumen de muestra: 200 μ L.

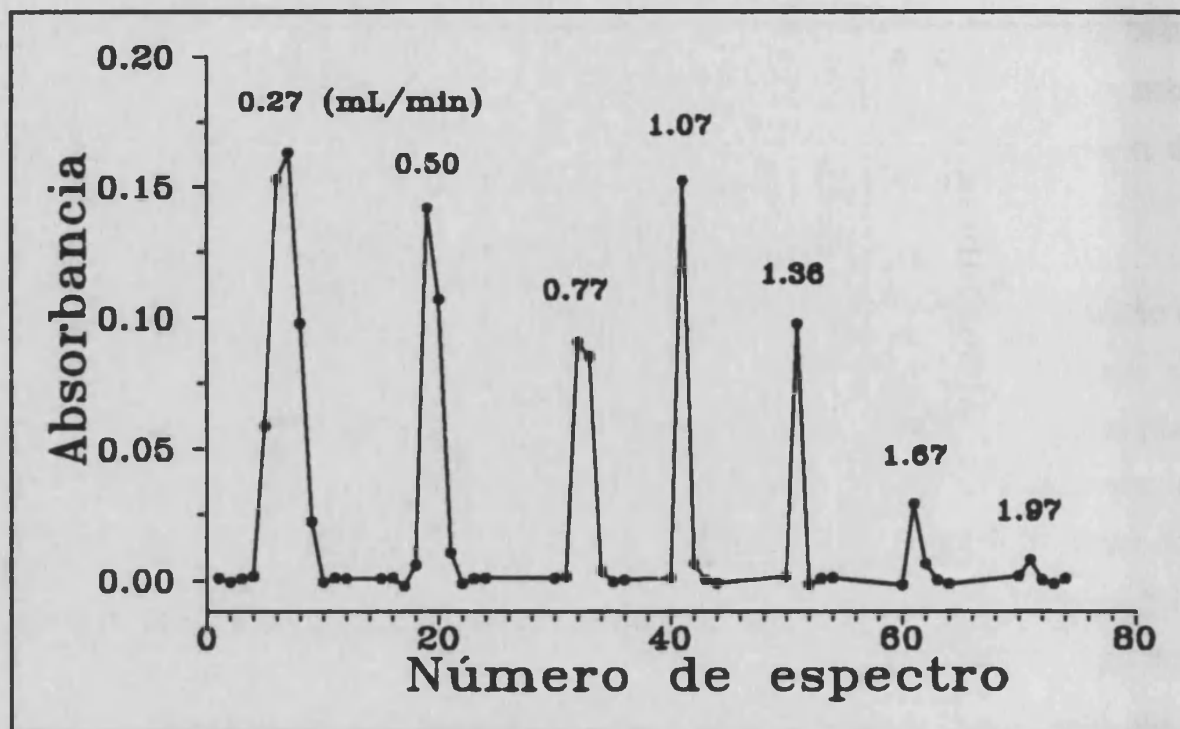


Figura 3.5

Efecto del caudal de portador sobre los picos FIA del registro, obtenido para un volumen de muestra de 200 μL y utilizando la micro celda de flujo.

Efecto del valor de la resolución nominal del espectro IR-TF sobre la señal analítica

El tiempo necesario para obtener el interferograma de una muestra disminuye cuando la resolución nominal con la que se obtiene el espectro (expresada en cm^{-1}) disminuye. Este es un factor que debemos considerar a la hora de obtener un registro IR con la suficiente velocidad.

Para una caudal del portador de 0.28 mL min^{-1} , utilizando la micro celda de flujo, se inyectaron volúmenes de $200 \mu\text{L}$ de una disolución de orto-xileno en hexano (de concentración igual al 0.5 % en volumen/volumen) en el portador de hexano, obteniendo las medidas de absorbancia con valores de resolución nominal comprendidos entre 2 y 64 cm^{-1} . Los resultados encontrados se indican en la tabla 3.I. De esta experiencia se puede concluir que el uso de una mejor resolución nominal produce un aumento de la sensibilidad. Sin embargo se requieren tiempos de medida muy largos para obtener espectros con un valor de absorbancia mayor que el del ruido de fondo, *background*. Por lo tanto, con el fin de obtener una buena sensibilidad y reproducibilidad, en un tiempo corto de medida, se escogió un valor de compromiso de 4 cm^{-1} para la resolución nominal.

Características analíticas de la determinación de orto-xileno por espectrometría IR-FT en sistemas de flujo

Para evaluar las características analíticas del método, se prepararon una serie de curvas de calibrado utilizando cada una de las celdas ensayadas y, a partir de estos resultados, se obtuvieron las características analíticas, tales como el intervalo dinámico, el límite de detección (LD) y la desviación típica relativa (RSD) para cinco análisis independientes de una misma muestra.

La figura 3.6 muestra una típica curva de calibrado, así como los correspondientes picos FIA, obtenidos utilizando la micro celda de flujo. Con la celda *micro flow through* se obtienen registros muy similares.

Tabla 3.I
Efecto de la resolución nominal sobre la señal analítica.

RESOLUCIÓN NOMINAL cm ⁻¹	ABSORBANCIA ^a	D.R.S. %	TIEMPO DE MEDIDA (s)	Número de espectros por inyección ^c
2	0.372 ± 0.003	0.7	27	8-9
4	0.295 ± 0.003	1.1	19	9-10
8	0.178 ± 0.002	1.0	15	12
16	0.0985 ± 0.0001	0.1	13.5	14
32	0.0389 ± 0.0003	0.8	11	15
64	0.014 ± 0.0002	1.4	11	15-16

a) medida ± desviación estándar (n=5) para una muestra que contiene 0.5 % (v/v) de orto-xileno en hexano. Volumen de inyección: 200 µL. Caudal de portador: 0.28 mL min⁻¹. Paso óptico: 0.12 mm.

b) El tiempo requerido para obtener y grabar el espectro. c) Número de espectros por inyección con un valor de absorbancia distinto del blanco.

En la tabla 3.II se indican los valores de los parámetros anteriormente mencionados, que corresponden a distintos valores de espaciador para ambas celdas. De estos resultados se puede concluir que la sensibilidad, el intervalo dinámico y el límite de detección son comparables para cada una de ellas cuando se emplean espaciadores semejantes. La utilización de espaciadores con valores superiores a los

que se ha indicado proporciona un aumento de las lecturas del blanco por parte del portador, dando un límite de detección peor.

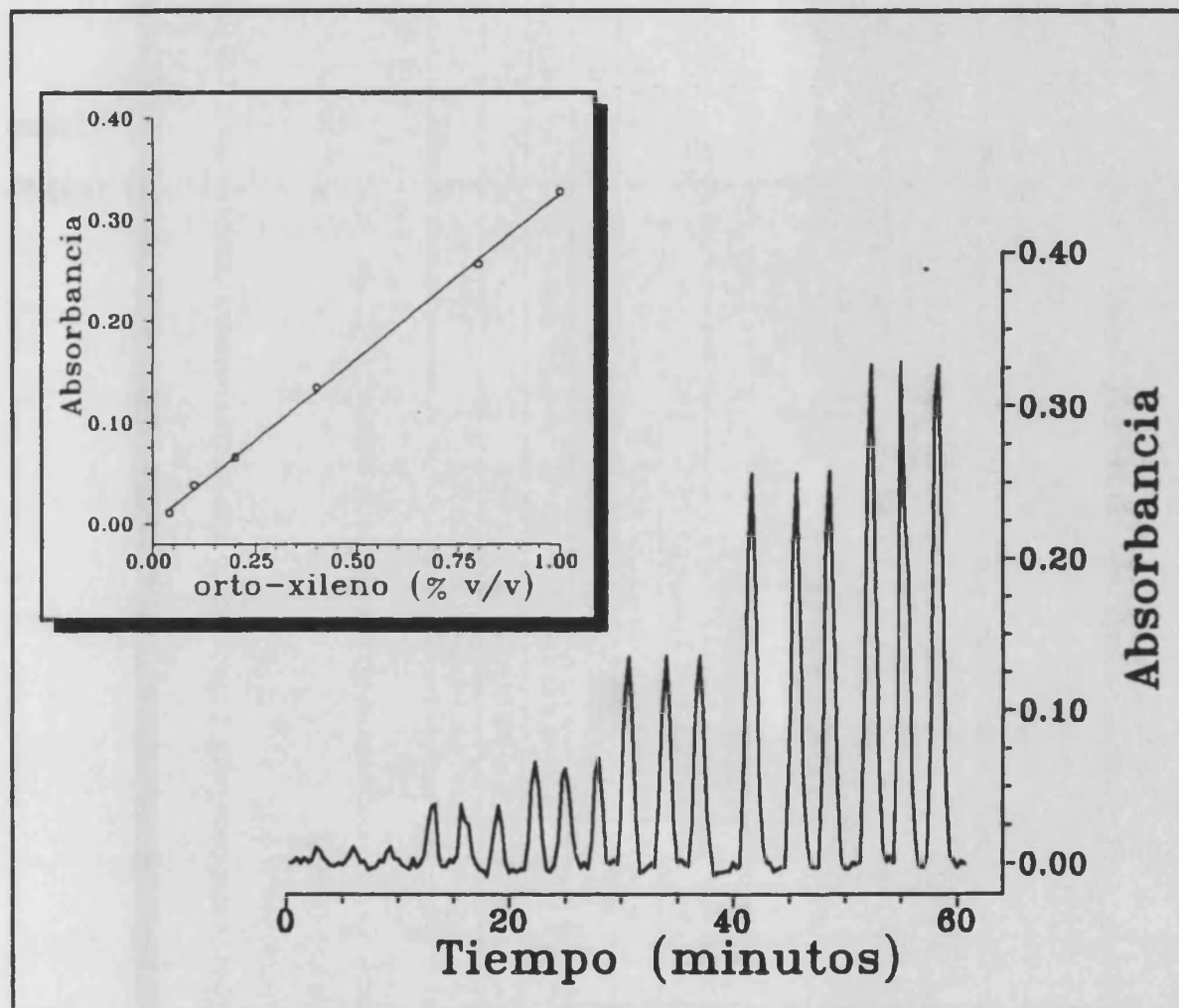


Figura 3.6

Curva típica de calibrado obtenida con la micro celda de flujo. Condiciones de trabajo: volumen de inyección de 200 μL , caudal de portador 0.28 mL min^{-1} y paso óptico igual a 0.12 mm.

Tabla 3.11

Características analíticas de la determinación de orto-xileno por FIA-IR-TF utilizando diferentes celdas.

TIPO DE CELDA	PASO ÓPTICO mm	VOLUMEN DE LA CELDA μL	CURVA DE CALIBRADO ^a	R ² (b)	VALOR MÁXIMO DEL INTERVALO DE LINEALIDAD % en v/v	LÍMITE DE DETECCIÓN ^c % en v/v	DESVIACIÓN TÍPICA RELATIVA ^d
Convencional	0.22	9	$A=0.0020+0.5542C$	0.9997	0.6	0.01	1.1
	0.12	5	$A=0.0008+0.3279C$	0.9994	1.0	0.04	0.6
Desmontable	0.20	2	$A=0.0001+0.5376C$	0.9993	0.6	0.01	1.4
	0.10	1	$A=0.0009+0.3208C$	0.9998	1.0	0.04	1.1
	0.05	0.5	$A=0.0004+0.1666C$	0.9994	2.0	0.05	1.5
	0.025	0.25	$A=0.0010+0.756C$	0.9998	5.0	0.1	2.0
	0.015	0.15	$A=0.0005+0.0269C$	0.9994	15.0	0.4	2.0

a) A = absorbancia. C = concentración expresada en % en v/v

b) Coeficiente de correlación

c) Límite de detección: $k = 3$.

d) Desviación relativa standard para 5 medidas de una misma muestra conteniendo 0.4 % v/v de orto-xileno en hexano.

La utilización de la técnica de la Transformada de Fourier proporciona la posibilidad de detección simultánea en todo el intervalo de número de ondas, lo que permite un control estricto de la línea base, y puede aplicarse a la determinación simultánea de distintos componentes en una misma muestra.

En la actualidad se están llevando a cabo estudios para desarrollar métodos adecuados para la determinación de benceno en gasolinas, pesticidas en extractos orgánicos y principios activos en formulaciones farmacéuticas.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPITULO 3

- 3.1 J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, Wiley. Nueva York, 2ª edición, 1988.
- 3.2 M. Varcарcel y M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Horwood, Chichester, 1987.
- 3.3 J. L. Burguera (Ed), *Flow Injection Atomic Spectrometry*, Marcel Decker, Nueva York, 1989.
- 3.4 J. B. Karlberg y G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis: A practical guide*, Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 3.5 D. K. Morgan, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1985, **18**, 1979.
- 3.6 B. E. Miller, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 3.7 S. V. Olesick, S. B. French y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- 3.8 O. J. Curran y W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, **177**, 263.
- 3.9 J. R. Ferraro y J. R. Barile (Ed), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Academic Press, Nueva York, 1982.
- 3.10 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1991, **242**, 123.
- 3.11 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Analyst*, 1991, **116**, 1159.
- 3.12 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia. *XXVII CSI*, Bergen, Noruega, Junio 1991, referencia B-PO-29.

Capítulo 4

**DETERMINACIÓN DE IBUPROFENO EN
MEDICAMENTOS POR ESPECTROMETRÍA
INFRARROJA POR TRANSFORMADAS DE
FOURIER EMPLEANDO UN SISTEMA DE FLUJO**

RESUMEN

Se ha desarrollado un método para la determinación de ibuprofeno (ácido 2-[isobutilfenil]-propiónico) en medicamentos por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier, empleando la banda del carbonilo, que este compuesto presenta a 1710 cm^{-1} en disoluciones de tetracloruro de carbono. Las muestras se disuelven en tetracloruro de carbono; en este disolvente los excipientes no son solubles y esto permite que el principio activo pueda determinarse directamente sin ningún tratamiento adicional. La utilización de un sistema de flujo simple permite llevar a cabo este análisis con un consumo reducido de reactivos y la espectrometría IR-TF facilita la monitorización de la línea base del espectro, pudiendo llevar a cabo una determinación exacta del máximo de la banda de absorbancia. Asimismo, el sistema de flujo proporciona un llenado y limpieza de la celda de medida fácil y rápidos. Este método tiene un intervalo dinámico comprendido entre 0.5 y 20 mg mL^{-1} , con una sensibilidad de 0.366 ± 0.004 unidades de absorbancia $\text{mg}^{-1}\text{ mL mm}^{-1}$ y un coeficiente de variación del 0.8 % para cinco medidas independientes de una muestra real conteniendo 200 mg de ibuprofeno por cápsula. El procedimiento desarrollado proporciona valores de concentración comparables a los encontrados por espectrometría UV en el análisis de muestras reales pero está libre de interferencias producidas por la matriz.

INTRODUCCIÓN

La espectrometría infrarroja (IR) constituye una vía rápida para la identificación de fármacos [4.1-4.4]. No obstante, las técnicas tradicionales empleadas para obtener los espectros IR (pastillas de haluros alcalinos, suspensiones en aceite de baselina o en nujol y películas delgadas) no son adecuadas para el análisis cuantitativo, y esta es una de las razones por la que la espectrometría ultravioleta [4.5] es una técnica que se emplea más que el IR en el análisis de medicamentos.

La utilización de celdas de flujo con los espaciadores y disolventes adecuados ofrece la posibilidad de llevar a cabo análisis cuantitativos por IR de fármacos en medicamentos, especialmente para el desarrollo de procedimientos automatizados basados en el análisis en flujo [4.6-4.9]. Sólo existen unos pocos antecedentes en el análisis infrarrojo empleando sistemas de flujo [4.10-4.16] y hasta fecha únicamente dos trabajos se han aplicado al análisis de medicamentos [4.14,4.15].

El ibuprofeno (ácido 2-[-isobutilfenil]-propiónico) es un analgésico antiinflamatorio no esteroide [4.1,4.2] comercializado bajo diferentes nombres comerciales, como son Amersol, Brufen, Ebufac, Fembil, Inabrin, Inflam, Librofem, Motrin, Nurofen, Poxofen, Proflex, Relcofen, Seclodin y Uniprofen. El ibuprofeno se determina por cromatografía [4.17-4.22], espectrometría [4.2,4.23-4.25] y también por métodos volumétricos [4.26]. No obstante, sólo se ha publicado un trabajo acerca de la determinación de ibuprofeno por espectrometría infrarroja [4.27], siendo éste un método que requiere mucho tiempo de análisis.

En el presente trabajo, se ha desarrollado un procedimiento, empleando la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier acoplada a un sistema de flujo, para la determinación de ibuprofeno en el medicamento ALTIOR^R.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos

Para las medidas de absorbancia se ha utilizado un espectrofotómetro IR-TF Perkin Elmer modelo 1750 equipado con detector piroeléctrico FR-DTGS de sulfato de glicina deuterada. Todas las medidas se han obtenido trabajando con un valor de resolución nominal de 4 cm^{-1} .

Este espectrofotómetro está controlado por una estación de datos de la serie 7700 y las medidas continuas de absorbancia se han obtenido utilizando una serie de programas, escritos en lenguaje OBEY y BASIC, que nos permiten:

- i) obtener y guardar el espectro IR-TF en función del tiempo con una frecuencia de 17 segundos,
- ii) buscar la posición exacta del máximo de la banda de absorbancia,
- iii) corregir este valor de absorbancia con una línea base establecida previamente,
- y iv) obtener los consiguientes picos FIA.

Todos estos programas han sido desarrollados en nuestro laboratorio del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valencia.

La obtención del interferograma completo se realiza en sólo dos segundos y el *software* permite guardar el espectro en un disco magnético en 15 segundos. Este proceso de adquisición de datos tiene lugar durante el proceso de inyección y desarrollo de las señales y, después de esto, se determinan los valores corregidos de altura de la banda de absorbancia, se obtiene el registro FIA y se efectúan, posteriormente, los correspondientes cálculos.

El montaje empleado (ver figura 4.1) es un dispositivo monocal con: una bomba peristáltica Gilson P-2 Minipuls equipada con tubos resistentes a los disolventes orgánicos (iso-versinic) de 0.1 cm de diámetro interno, una válvula de inyección Rheodyne (tipo 50) con varios volúmenes fijos de inyección, tubos de conexión de teflón de 0.8 mm de diámetro interno y una micro celda de flujo desmontable (del tipo *flow through*) de la marca Spectra-Tech (Warrington, Reino Unido).

Reactivos

Las disoluciones patrón de ibuprofeno (ácido 2-[isobutilfenil]-propiónico) se prepararon a partir del compuesto en su forma cristalina (Esteve, Barcelona, España).

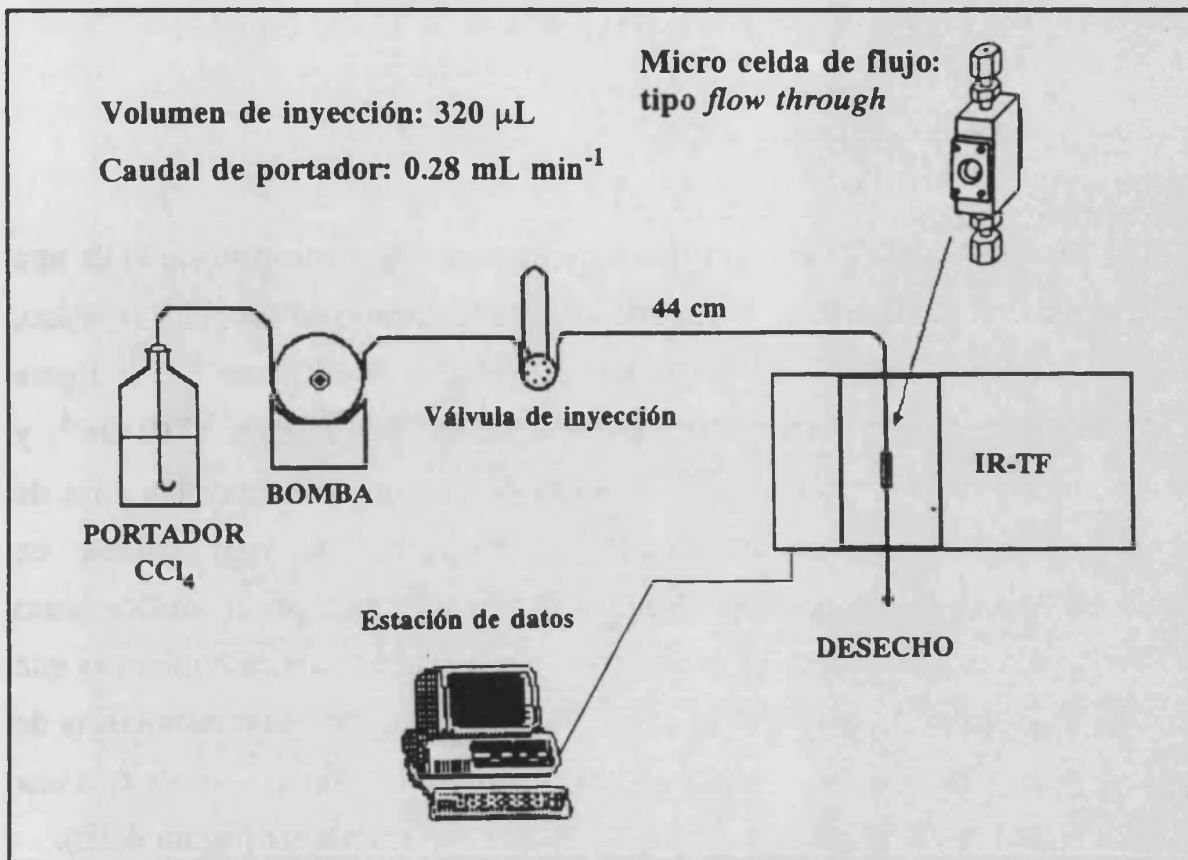


Figura 4.1

Montaje empleado para el análisis de ibuprofeno por FIA-IR-TF.

Como portador y disolvente, para preparar los patrones y las muestras, se empleó tetracloruro de carbono (Panreac, Barcelona, España) de calidad análisis.

Se utilizó bromuro potásico (Merck, Darmstadt, Alemania) se utilizó para obtener los espectros en pastilla.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectro IR-TF del ibuprofeno

El espectro IR-TF de un patrón de ibuprofeno, que corresponde al de una pastilla obtenida al diluir unos pocos miligramos del mismo en bromuro potásico, presenta las bandas típicas del grupo ácido alrededor de 3000 cm^{-1} (ver figura 4.2A), la banda de transmitancia del grupo carbonilo localizada a 1710 cm^{-1} , y también bandas típicas en la zona de la huella dactilar que corresponden a las de un hidrocarburo aromático disustituido. El ibuprofeno es muy soluble en tetracloruro de carbono y hemos podido constatar que tratando el medicamento ALTIOR^R con este disolvente el principio activo se extrae totalmente mientras que los excipientes permanecen sin disolverse. Además, el espectro de transmitancia de patrones y muestras tratadas con tetracloruro de carbono es idéntico, siendo ésta una buena vía para la determinación de Ibuprofeno en medicamentos (figura 4.2B).

En el presente estudio, para la determinación cuantitativa de ibuprofeno, se ha seleccionado la banda del grupo carbonilo a 1710 cm^{-1} ya que se trata de una banda muy intensa y que aparece en una región muy transparente del tetracloruro de carbono (como puede verse en la figura 4.3). La línea base del espectro de absorbancia se ha establecido entre 1785 y 1650 cm^{-1} .

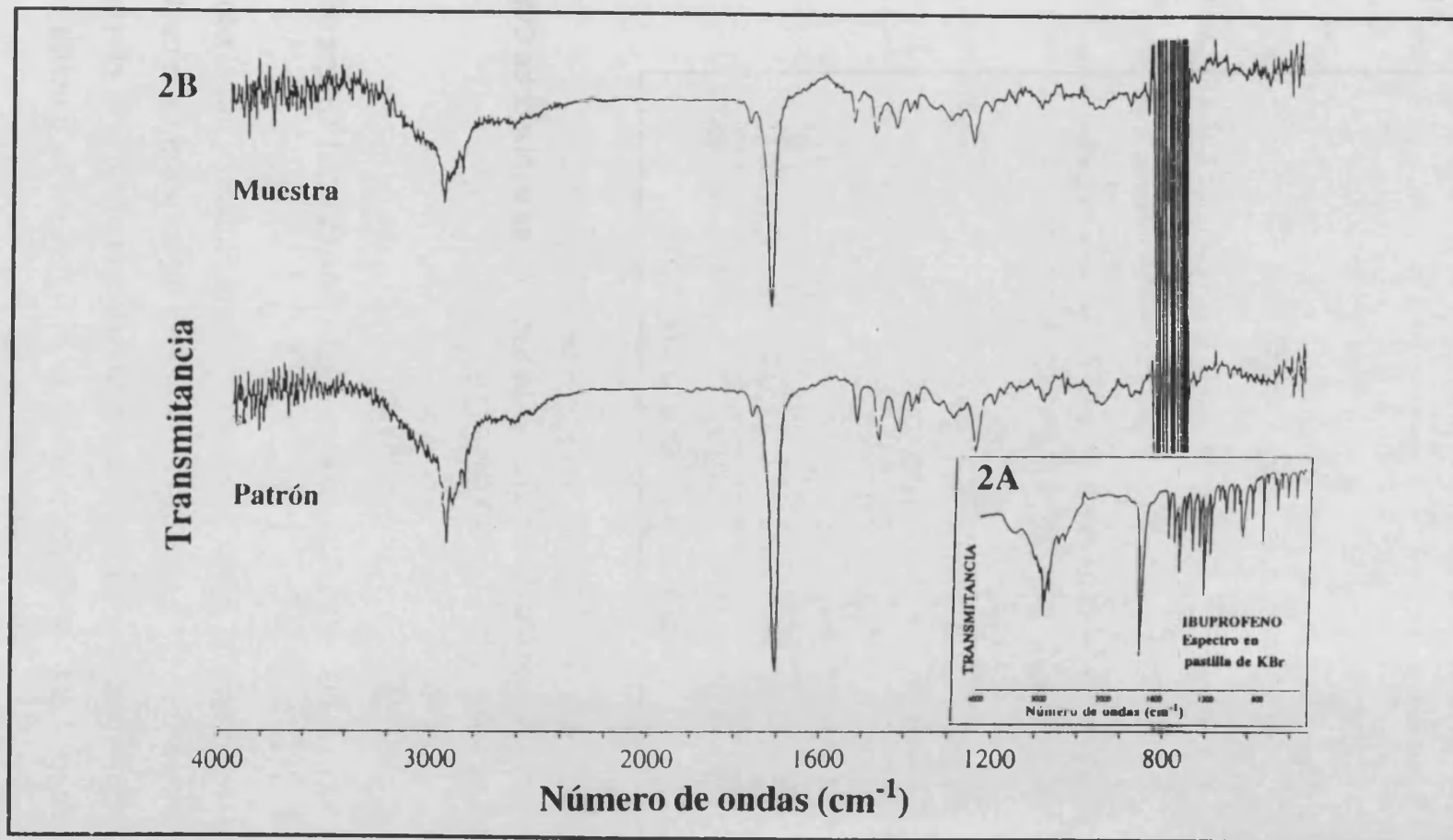


Figura 4.2

Espectro IR-TF en transmitancia del ibuprofeno en pastilla de KBr (2A) y en disolución de tetracloruro de carbono (2B).

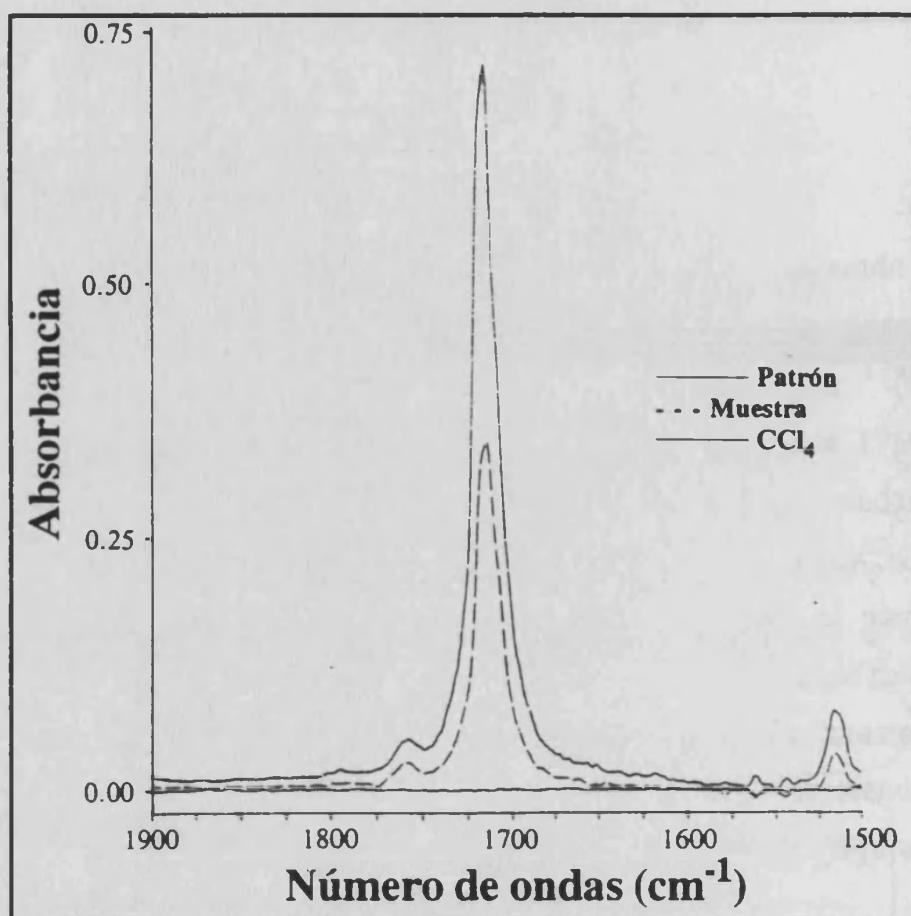


Figura 4.3

Espectro IR-TF en absorbancia, en la región del carbonilo, de un blanco de CCl_4 , de una muestra y de un patrón de ibuprofeno.

Efecto de los parámetros FIA sobre la absorbancia del ibuprofeno

Para una concentración fija de 10 mg mL^{-1} de ibuprofeno y utilizando una celda con un paso óptico de 0.1 mm (que corresponde a un volumen de la celda de aproximadamente $1 \mu\text{L}$) se ha estudiado de forma monoparamétrica el efecto del volumen de inyección y del caudal de portador. En la figura 4.4 se muestra como

un incremento en el volumen de muestra inyectada origina un aumento en el valor de la absorbancia medida. No obstante, esto también implica un aumento en el tiempo de análisis debido al incremento que se produce sobre la anchura del pico FIA. Por otra parte (ver figura 4.5), un incremento en el caudal del portador reduce drásticamente las lecturas de absorbancia y afecta a la precisión de las medidas debido a que trabajando con caudales mayores la muestra no permanece en la celda en su máxima concentración el tiempo suficiente para obtener el correspondiente interferograma.

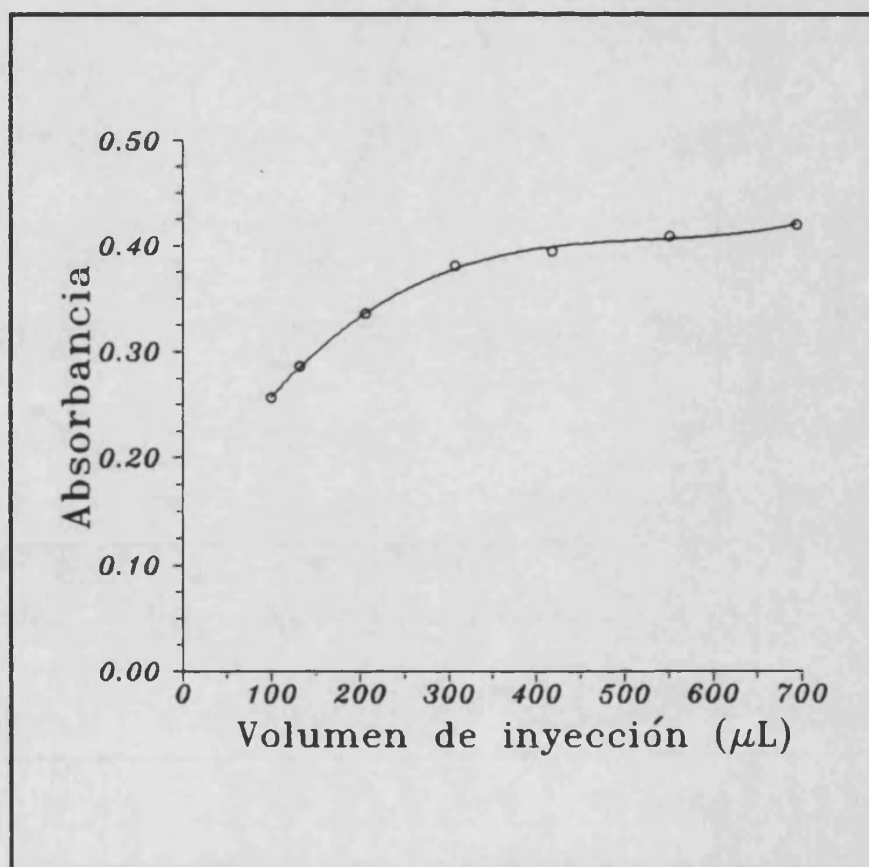


Figura 4.4

Efecto del volumen de inyección de muestra sobre la absorbancia del ibuprofeno a 1710 cm^{-1} . Caudal de portador: 0.28 mL min^{-1} .

De estas experiencias se han seleccionado unos valores de compromiso para el volumen de inyección de $320 \mu\text{L}$ y para el caudal de portador de 0.28 mL min^{-1} de modo que se obtenga la mayor sensibilidad con una buena reproducibilidad, en las condiciones experimentales más rápidas.

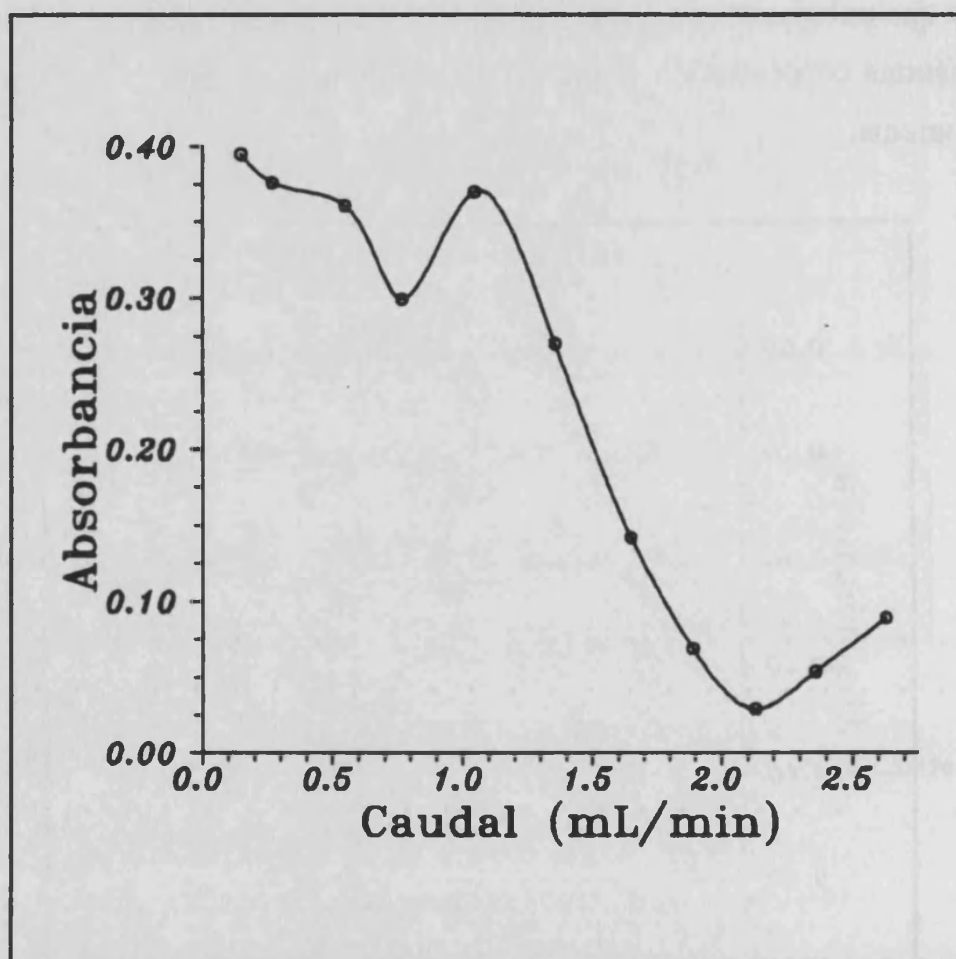


Figura 4.5

Efecto del caudal de portador sobre la absorbancia de un volumen de $320 \mu\text{L}$ de ibuprofeno.

Concentración: 10 mg mL^{-1} .

Calibrado del sistema

Trabajando en las condiciones experimentales anteriormente seleccionadas, se midió la absorbancia de una serie de 11 patrones de ibuprofeno preparados en tetracloruro de carbono obteniéndose una ecuación de calibrado $A = -0.012 + 0.0358C$ (la concentración C expresada en mg mL^{-1}) con un coeficiente de correlación $R=0.99959$ (figura 4.6B).

La figura 4.6A muestra el registro FIA obtenido representado los valores de la altura de la banda de absorbancia corregida en función del tiempo, después del tratamiento informático de los espectros monitorizados.

Preparación de las muestras

Tal como se señaló previamente, los excipientes solubles en agua no se solubilizan en tetracloruro de carbono, por lo que el ibuprofeno puede determinarse directamente en medicamentos, como es el caso del ALTIOR^R, que no contienen otros principios activos. Las cápsulas de ALTIOR^R tienen un contenido nominal de 200 mg de ibuprofeno y con el fin de obtener un buen valor de absorbancia se recomienda el siguiente procedimiento.

Tomar 5 cápsulas del medicamento y mezclarlas hasta obtener un polvo fino y homogéneo. Pesar con exactitud la cantidad de muestra necesaria para tener aproximadamente 100 mg de ibuprofeno y extraerlo con 10 mL de tetracloruro de carbono. Filtrar para retener el excipiente e inyectar 320 μL de la disolución de la muestra en el montaje de FIA, trabajando con un caudal de portador de

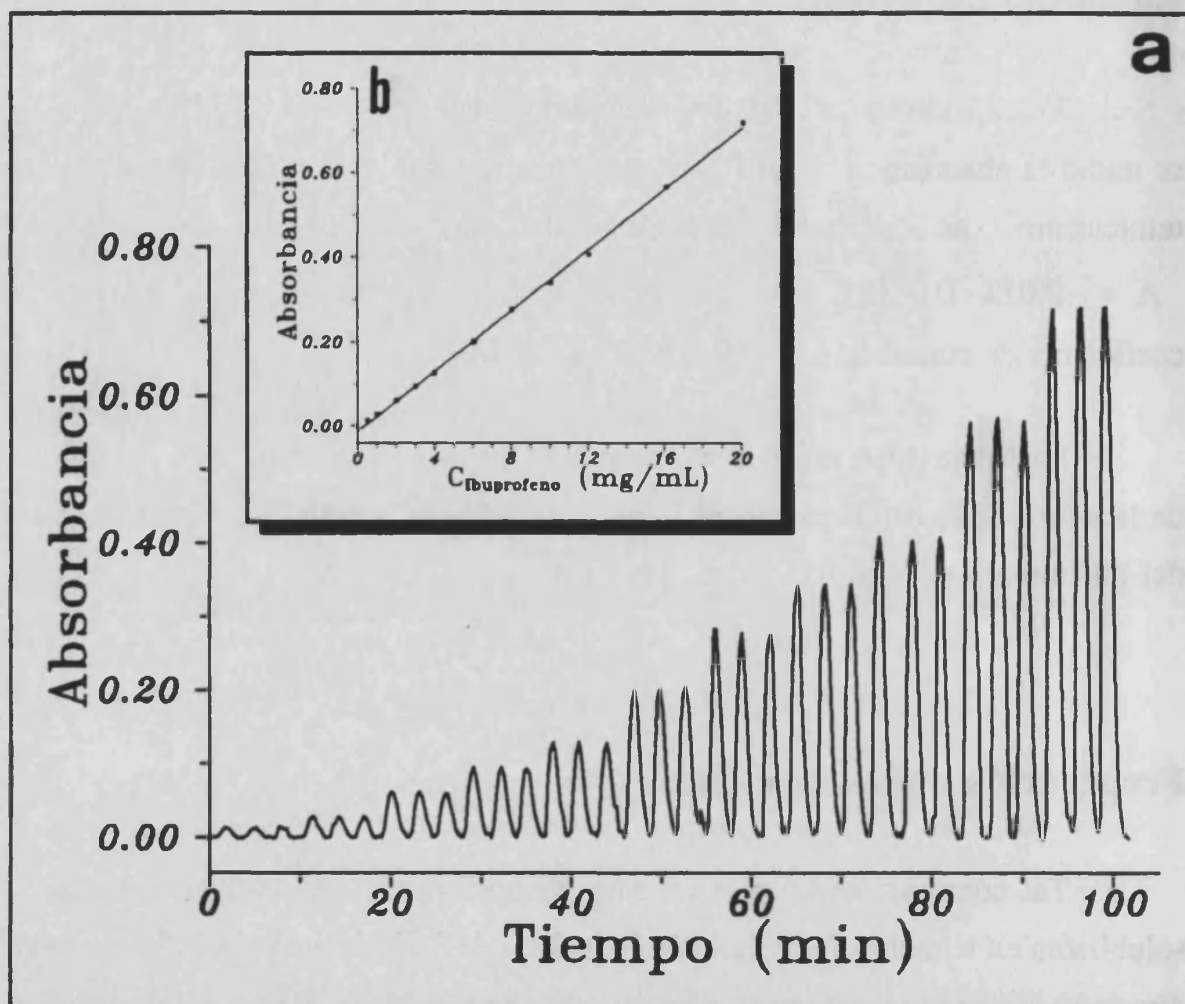


Figura 4.6

Registro FIA obtenido para patrones de ibuprofeno en CCl_4 (a) y curva de calibrado obtenida a partir de los valores de absorbancia a 1710 cm^{-1} (b).

0.28 mL min⁻¹, y seleccionar la zona del espectro IR-TF comprendida entre 1900 y 1500 cm⁻¹. Establecer una línea base entre 1785 y 1650 cm⁻¹ y registrar el valor de absorbancia, correspondiente al máximo de la banda del carbonilo, en función del tiempo. Interpolarse el valor de altura de los picos FIA registrado en la curva de calibrado previamente establecida a partir de patrones de ibuprofeno en tetracloruro de carbono.

Características analíticas del procedimiento desarrollado

La sensibilidad en el análisis directo de ibuprofeno por FIA-IR-TF es igual a 0.366 ± 0.004 unidades de absorbancia por mg⁻¹ mL y mm⁻¹ y este valor puede incrementarse utilizando volúmenes de inyección de muestra mayores o trabajando en flujo parado. No obstante estas dos estrategias disminuyen la frecuencia de análisis.

Utilizando las condiciones recomendadas con anterioridad, el límite de detección del método (para un nivel de probabilidad de 99.6 %) corresponde a una concentración de 0.08 mg mL⁻¹.

Si comparamos este método con los publicados previamente para el análisis IR de ibuprofeno en tabletas [4.27], el intervalo dinámico obtenido por nosotros (de 0.5 a 20 mg mL⁻¹) es del mismo orden que el encontrado por otros autores y el coeficiente de variación que corresponde a 5 medidas independientes de una muestra conteniendo 10 mg de ibuprofeno por mL es en nuestro caso del 0.8 %, 5 veces mejor que el que indicado por *Husain et al* [4.27]. El procedimiento desarrollado puede aplicarse también empleando un equipo dispersivo y trabajando

a un valor fijo de número de ondas. Sin embargo en este caso la línea base no puede monitorizarse y esto proporciona una peor linealidad y una menor reproducibilidad.

El método FIA-IR-TF que se propone posee las ventajas inherentes de los métodos automatizados: velocidad, reproducibilidad y bajo consumo de reactivos. Utilizando el equipo descrito es posible llevar a cabo 20 medidas por hora, con un número de muestras analizadas 20 veces mayor que el que proporciona el método discontinuo de *Husain et al* [4.27].

Comparada con el método UV de referencia, la metodología desarrollada permite realizar medidas libres de efectos de matriz, dado que el excipiente no se solubiliza en el tetracloruro de carbono, y proporciona un intervalo dinámico mayor.

Análisis de muestras reales

Se han analizado diferentes lotes del medicamento ALTIOR^R, con un contenido nominal de 200 mg por cápsula. Los análisis se han realizado tanto por dos laboratorios farmacéuticos, empleando un método espectrofotométrico UV a 265 nm como por el procedimiento FIA-FT-IR propuesto. Como puede verse en la tabla 4.I los resultados encontrados por ambos métodos son del mismo orden, como anteriormente se había indicado, y están de acuerdo con el contenido teórico del preparado farmacéutico. Las diferencias encontradas con el análisis por espectrofotometría UV en términos del test *t* pueden deberse a que la falta de información acerca de la desviación típica de los valores espectrofotométricos impide una comparación más rigurosa. En este sentido la tabla 4.I muestra que las

Determinación FIA-IR-TF de ibuprofeno

diferencias entre los valores encontrados por dos laboratorios diferentes, utilizando el mismo métodos UV, son mayores que los encontrados entre los métodos FIA-IR-TF y UV.

Tabla 4.1

Análisis de diferentes lotes del medicamento ALTIOR[®].

MUESTRA LOTE ANALIZADO	IBUPROFENO ENCONTRADO (mg/cápsula)			
	MÉTODO FIA-IR-TF		MÉTODO DE REFERENCIA	
		t_{exp}	Lab 1	Lab 2
C-1	204 ± 3	1.10	207.3	196.2
C-2	209.0 ± 0.6	1.83	207.9	202.4
C-3	200.4 ± 1.5	0.47	201.1	213.6
C-4	206.7 ± 0.9	3.44	209.8	188.5
C-5	200.9 ± 0.7	9.57	194.2	204.1
C-6	201.0 ± 0.6	6.17	197.3	199.8
C-7	199.3 ± 0.9	4.89	203.7	215.7
C-8	202.8 ± 0.6	11.00	196.2	208.3
D-2	206.2 ± 0.3	15.33	201.6	190.8
D-3	195.6 ± 0.6	4.17	198.1	186.4

* Contenido teórico: 200 mg por cápsula.

Los valores de t_{exp} se ha obtenido a partir de $\frac{|X - \bar{X}|}{scc}$, siendo X el

valor obtenido por el laboratorio de referencia (Lab 1) y \bar{X} nuestro valor promedio para cada muestra y scc la desviación típica de tres medidas independientes. Para un nivel de probabilidad de 0.95 % y para n=2 el valor de t_{100} es de 4.303

CONCLUSIONES

El análisis cuantitativo FIA-IR-TF de ibuprofeno en cápsulas de **ALTIOR^R** puede realizarse directamente utilizando disoluciones del medicamento en tetracloruro de carbono. En este disolvente los excipientes son insolubles y, en consecuencia, el único tratamiento de la muestra es la disolución del fármaco y la separación del excipiente por filtración. La inyección de disoluciones de la muestra en una corriente portadora de tetracloruro permite un análisis preciso y exacto de ibuprofeno con un buen límite de detección, y con una frecuencia de análisis de 20 muestras por hora. El método requiere un bajo consumo de reactivos y puede aplicarse en un amplio intervalo dinámico de concentraciones. Los resultados obtenidos en el análisis de muestra reales están de acuerdo con los encontrados por dos laboratorios independientes utilizando un método de referencia espectrométrico en la región UV.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO 4

- 4.1 *United States Pharmacopeia*, 22ª revisión, 1989 USP Convention Inc, Rockville Md USA.
- 4.2 A.C. Moffat (Ed), *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2ª edición, The Pharmaceutical Society of Great Britain, Londres, 1986.
- 4.3 M.J. de Faubert Maunder, *Practical Hints on Infrared Spectrometry with Particular Reference to Forensic Analysis*, Adam Hilger, Londres, 1971.
- 4.4 R.G.J. Miller y B.B. Stace, *Laboratory Methods in Infra-red Spectrometry*, Heyden, Chichester, 1972.
- 4.5 S. Gorog, M. Renyei y B. Herenyi, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, 7 (12), 1527.
- 4.6 J. Ruzicka y E.H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2nd Ed, Wiley & Sons, Nueva York, 1988.
- 4.7 M. Valcarcel y M.D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester.
- 4.8 M.D. Luque de Castro y M. Valcarcel, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, 7 (12), 1291.
- 4.9 J.C. Berridge, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, 7 (12), 1313.
- 4.10 D.J. Curran, W.G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, 177, 259.
- 4.11 S.V. Olesick, S.B. French, M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, 58, 2256.
- 4.12 M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J.L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta*, 1992, 261, 53.

-
- 4.13 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, *Communication presented at the XXVII CSI*, 1991, Bergen, Noruega, referencia B-PO-29.
- 4.14 D.K. Morgan, N.D. Danielson y J.E. Katon, *Anal. Lett.*, 1988, **8**, 1979.
- 4.15 B.E. Miller, N.D. Danielson y J.E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 4.16 M. Guzmán, J. Ruzicka, G.D. Christian y P. Shelley, *Vib. Spectrosc.*, 1991, **2**(1), 1.
- 4.17 B.M. Lampert y J.T. Stewart, *J. Chromatogr.*, 1990, **504** (2), 381.
- 4.18 S. Husain, A.S.R.K. Murty y R. Narasimha, *Indian Drugs*, 1989, **26** (10), 557.
- 4.19 J.H. Satterwhite y F.D. Boudinot, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1989, **89**, 330.
- 4.20 G. Berner, R. Staab y H.M. Wagener, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1990, **336** (3), 238.
- 4.21 P.J. Streete, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1989, **87**, 179.
- 4.22 G. Geisslinger, K. Dietzel, D. Loew, D. Schuster, G. Rav, G. Lachmann y K. Brune, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1989, **83**, 139.
- 4.23 C.S.P. Sastry, A.S.R.P. Tipirneni y M.V. Suryanarayana, *Analyst*, 1989, **26** (12), 704.
- 4.24 V.H. Bhalla, K. Krishnan, S.G. Deshpande y C.V. Shah, *Indian Drugs*, 1990, **27** (11), 580.
- 4.25 M.H. Abdel-Hay, M.A. Korany, M.M. Bedair y A.A. Gazy, *Anal. Lett.*, 1990, **23** (2), 281.

Determinación FIA-IR-TF de ibuprofeno

- 4.26 P. Parimoo, R.R. Sethuraman, A. Amalraj y N. Seshadari, *Indian Drugs*, 1989, **26** (12), 704.
- 4.27 S. Husain, A.S.R.K. Murty y A.R. Rao, *Indian Drugs*, 1989, **26** (4), 185.

Capítulo 5

DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y CAFEÍNA EN MEDICAMENTOS POR ANÁLISIS EN FLUJO Y ESPECTROMETRÍA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER

RESUMEN

Se ha desarrollado una metodología rápida para el control de calidad de medicamentos, que permite la determinación simultánea de ácido acetilsalicílico (AAS) y cafeína en los mismos por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier acoplada a un sistema de flujo. El método se basa en la solubilización del AAS y de la cafeína en diclorometano y la utilización de un montaje de análisis en flujo para introducir las muestras y los patrones en el espectrofotómetro. Se emplean dos disoluciones, conteniendo el 90 y 110 % de la concentración indicada de los dos principios activos en la muestra, con la finalidad de controlar los niveles extremos de tolerancia aceptados por las farmacopeas internacionales para la composición de formulaciones farmacéuticas. Se inyecta un volumen de 300 μL de cada disolución en una disolución portadora de la muestra y se miden las absorbancias a 1770 y 1661 cm^{-1} para el AAS y la cafeína respectivamente. Los valores de absorbancia obtenidos para el portador se interpolan entre los obtenidos para los patrones, a los mismos números de ondas, determinando, por consiguiente, el contenido de AAS y cafeína en la muestra. Esta metodología rápida proporciona una evaluación cuantitativa y simultánea de las concentraciones de AAS y cafeína en un mismo medicamento. El método permite efectuar 53 inyecciones por hora y proporciona una sensibilidad de 0.231 unidades de absorbancia por $\text{mg}^{-1} \text{ mL mm}^{-1}$ para el AAS y 1.065 para la cafeína. Se han obtenido resultados exactos en el análisis de diferentes muestras conteniendo uno o ambos componentes en presencia de excipientes que son insolubles en diclorometano y también en presencia de otros principios activos, como es el caso del paracetamol y el tartrato de ergotamina.

INTRODUCCIÓN

El análisis en flujo (FIA) es una metodología bien establecida para la manipulación de muestras, basada en la inyección de muestras o patrones en una corriente continua de portador, la cual permite la automatización de los diferentes pasos en el análisis cuantitativo [5.1-5.3].

El empleo del FIA en la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (IR-TF) proporciona una manera fácil y reproducible de llenar y limpiar la celda de medida [5.4] y ofrece importantes ventajas en cuanto a reproducibilidad y ahorro de tiempo de análisis y de reactivos. Además, la utilización de la transformada de Fourier permite la monitorización continua de la línea base del espectro [5.5] y el análisis simultáneo de diferentes componentes de una misma muestra [5.6-5.8].

Los pocos trabajos que hasta la fecha se han publicado sobre el empleo de FIA-IR [5.4] y del FIA-IR-TF [5.5-5.13] han mostrado algunas de las posibilidades que ofrece la combinación sinérgica del FIA con la espectrometría infrarroja. Algunos de estos trabajos se han centrado en el estudio de detectores infrarrojos para sistemas FIA empleando para ello moléculas testigo [5.4,5.10,5.11] y otros han proporcionado métodos alternativos para el análisis de disolventes de pinturas [5.5,5.7,5.8], gasolinas [5.13], pesticidas [5.14] y medicamentos [5.6,5.9,5.12]. En estos últimos casos, bastantes productos, como son compuestos de clorina [5.6], ésteres alifáticos [5.9] e ibuprofeno [5.12] se han determinado en muestras reales.

En el análisis de productos farmacéuticos, la espectrometría infrarroja, proporciona un método adecuado para la identificación de fármacos [5.15] y también para su análisis cuantitativo [5.16,5.17]. De cualquier modo, los principios activos de los medicamentos se determinan normalmente por otras técnicas espectrométricas, como la espectrofotometría ultravioleta-visible [5.18], o por métodos cromatográficos [5.19], especialmente cuando debe hacerse un análisis multicomponente.

Existen varias razones por las que los procedimientos de análisis cuantitativo por espectrometría infrarroja no se han desarrollado extensamente en el campo del control de calidad de medicamentos:

i) la excesiva manipulación y el tiempo requerido por las técnicas tradicionales de IR, como es la utilización de pastillas de ciertos haluros alcalinos, de suspensiones en nujol o en aceite de vaselina y de películas delgadas, ii) la pobre reproducibilidad que se obtiene para los valores de absorbancia cuando la celda de líquidos se llena manualmente, iii) la dificultad de establecer y controlar una línea base apropiada, especialmente cuando se está utilizando una instrumentación dispersiva, y iv) las interferencias entre algunos principios activos y las que también se producen entre algunos de los excipientes más comúnmente empleados.

De cualquier modo, muchas de estas dificultades pueden evitarse con la combinación entre el FIA y la IR-TF y, por esto, uno de los objetivos del presente trabajo lo constituye el evidenciar que la técnica FIA-IR-TF puede ser una elección adecuada para el análisis simultáneo en el control de diferentes principios activos en un mismo medicamento.

El ácido acetilsalicílico (AAS) y la cafeína se han usado como moléculas testigo para demostrar la aplicabilidad del FIA-IR-TF para estos propósitos y por esto, se ha desarrollado un nuevo procedimiento analítico para la determinación simultánea de estos dos componentes en medicamentos.

Tradicionalmente, el AAS y la cafeína se determinan por métodos volumétricos en medio no acuoso [5.18] o por espectrofotometría ultravioleta-visible [5.20-5.23]. Recientemente, para su análisis, se han desarrollado una serie de métodos cromatográficos, basados en la utilización de la cromatografía de gases [5.24], la cromatografía en capa fina de alta eficacia (HPTLC) [5.25,5.26] o la cromatografía líquida de alta eficacia [HPLC]. Esta última técnica se ha aplicado a la determinación del ASA [5.27], de la cafeína [5.28,5.29] o ambos [5.30-5.32] empleando un sistema de detección ultravioleta.

La espectrometría IR-TF se ha empleado también como sistema de detección para el análisis de mezclas de cafeína y AAS por HPLC [5.33,5.34] y por cromatografía de capa fina [5.35]. La espectrometría en la región del infrarrojo próximo también se ha utilizado para la determinación cuantitativa de cafeína [5.36] y mezclas de cafeína y AAS [5.37] y también la espectrometría IR-TF en la región media, se ha empleado para la determinación cuantitativa de cafeína en medicamentos [5.38-5.40] y para la determinación de AAS [5.41]. De cualquier modo, según nos consta, no se ha publicado ningún trabajo acerca de la determinación simultánea de cafeína y AAS por espectrometría IR-TF bien sea en sistemas discontinuos o en un sistema de análisis en flujo.

La inyección directa de las muestras, en el montaje de FIA, es un procedimiento conveniente para la realización de un análisis rápido pero provoca, por lo general, una dispersión excesiva de la muestra. En el presente estudio,

teniendo en cuenta las limitaciones, que en lo que respecta a sensibilidad, presentan la técnica de espectrometría infrarroja, hemos seguido dos estrategias alternativas con la finalidad de reducir la dispersión de la muestra en el sistema de flujo:

i) el análisis en flujo parado [5.7,5.14], que incrementa el límite de detección de las medidas analíticas debido a la mejor relación señal/ruido de fondo, cuando se acumulan una serie de espectros, y ii) el análisis en flujo reverso, sugerido por primera vez por Johnson y Petty [5.42] y que ha sido extensamente empleado en el análisis por espectrofotometría ultravioleta-visible por el grupo del profesor Valcárcel [5.43-5.45].

El procedimiento de análisis en flujo reverso consiste en inyectar los patrones en un caudal de portador constituido por la muestra. En el caso el análisis de medicamentos, esta variante abre nuevas posibilidades en el sentido de desarrollar procedimientos rápidos de análisis para el control de calidad de estos productos.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos

Se ha empleado un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier Perkin Elmer modelo 1750, con un detector piroeléctrico FR-DTGS y una estación de control 7700, para obtener las medidas en el infrarrojo, tanto cuando se trabaja en flujo parado como en flujo reverso. En todos los casos se ha utilizado una micro celda de flujo SPECAC (Orpington, Reino Unido) con ventanas de bromuro potásico, con un volumen aproximado de 5 μ L (cuando se monta con un espaciador de plomo de 0.117 mm). Para realizar las medidas simultáneas por espectrometría IR-TF en flujo reverso se han utilizado una serie de programas informáticos desarrollados por nosotros y que ya han sido descritos en trabajos previos [5.5,5.8].

El montaje indicado en la figura 5.1 permite un rápido y reproducible llenado y limpieza de la micro celda de flujo para las medidas en flujo parado (5.1B) y para el análisis de medicamentos por IR-TF en modo reverso (5.1B).

Se han utilizado dos bombas peristálticas Gilson P-2 Minipuls con tubos flexibles de VITON^R (iso-versinic) de 0.15 cm de diámetro interno para transportar el diclorometano o la correspondiente disolución de portador y para introducir muestras y patrones en la celda de medida. La utilización de la segunda bomba para llenar la válvula de inyección, o para introducir la muestra en la celda, evita la formación de burbujas, la contaminación y los efectos de memoria. La presencia de burbujas, que se observa cuando sólo se utiliza una bomba en el montaje monocanal, puede atribuirse a que, debido al bajo punto de ebullición que presenta el diclorometano, éste forma diclorometano en fase vapor en los serpentines cuando

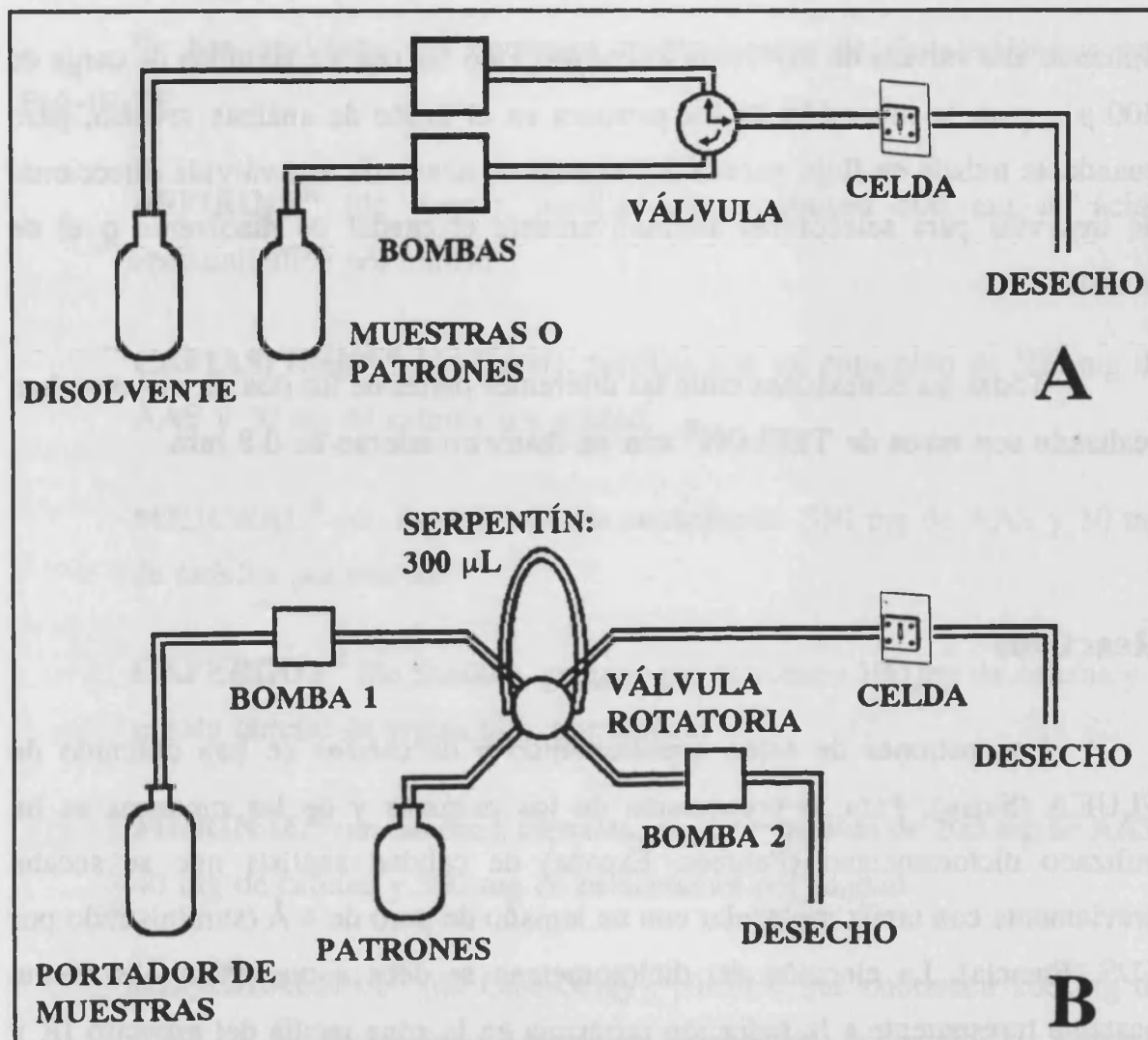


Figura 5.1

Montajes empleados para: A) Análisis IR-TF en flujo parado y B) análisis en flujo reverso.

la muestra inyectada permanece parada dentro de los tubos flexibles durante un cierto período de tiempo. Por esto, la utilización de un segundo canal para el transporte continuo de las muestras es muy conveniente y evita la formación de burbujas. En este sentido la segunda bomba permite una reducción en el consumo de reactivos dado que no es necesario operar en modo continuo, tal como ocurre cuando se emplea el segundo canal de una misma bomba peristáltica. Se ha

utilizado una válvula de inyección Rheodyne Tipo 50, con un volumen de carga de 300 μL , para la inyección de los patrones en el modo de análisis reverso, pero cuando se trabaja en flujo parado únicamente es necesaria una válvula direccional de tres vías para seleccionar alternativamente el caudal de disolvente o el de muestra.

Todas las conexiones entre las diferentes partes de los dos montajes se han realizado con tubos de TEFLON^R con un diámetro interno de 0.8 mm.

Reactivos

Los patrones de ácido acetilsalicílico y de cafeína se han obtenido de FLUKA (Suiza). Para la preparación de los patrones y de las muestras se ha utilizado diclorometano (Panreac, España) de calidad análisis que se secaba previamente con tamiz molecular con un tamaño de poro de 4 Å (suministrado por SDS, Francia). La elección del diclorometano se debe a que es un disolvente bastante transparente a la radiación infrarroja en la zona media del espectro IR y que disuelve completamente al AAS y a la cafeína, pero en él permanecen insolubles la mayoría de los excipientes de las muestras, evitándose de este modo algunos de los efectos que pueden producirse debido a la matriz de los diferentes medicamentos. Otros disolventes más frecuentemente utilizados en el análisis IR, como son el tetracloruro de carbono y el hexano, no pueden utilizarse ya que no disuelven el ácido acetilsalicílico.

Se han analizado los siguientes medicamentos de tipo analgésico por FIA-IR-TF:

ASPIRINA^R (de Bayer), pastillas que contienen 500 mg de ácido acetilsalicílico por unidad.

CAFIASPIRINA^R (de Bayer), pastillas con un contenido de 500 mg de AAS y 50 mg de cafeína por unidad.

MEJORAL^R (de Bayer), tabletas conteniendo 550 mg de AAS y 30 mg de cafeína por unidad.

CAFERGOT^R (de Sandoz), grageas que contienen 100 mg de cafeína y 1 mg de tartrato de ergotamina por unidad.

FIORINAL^R (de Sandoz), cápsulas con un contenido de 200 mg de AAS, 40 mg de cafeína y 300 mg de paracetamol por unidad.

NEOCIBALENA^R (de Ciba-Geigy), pastillas que contienen 200 mg de ASA, 50 mg de cafeína y 150 mg de paracetamol por unidad.

NOTA: R Todos los nombres de los medicamentos analgésicos analizados son nombres comerciales registrados en España por los diversos laboratorios farmacéuticos.

PROCEDIMIENTO GENERAL

Determinación FIA-IR-TF de AAS y cafeína

Para determinar el contenido de AAS y de cafeína en medicamentos, debe pesarse exactamente una cantidad de muestra y disolverla en diclorometano de manera que se obtenga una concentración aproximada de 10 mg mL^{-1} de ácido acetilsalicílico y de 1 mg mL^{-1} de cafeína. Ambos compuestos son muy solubles en diclorometano, pero por lo general los excipientes que los acompañan así como algunos otros principios activos que también pueden formar parte de la composición del medicamento pueden no disolverse, de ahí que después de agitar manualmente las disoluciones durante unos pocos segundos las muestras deben filtrarse o centrifugarse para separar la parte no disuelta. Después de esto, las disoluciones de la muestra se introducen de forma continua en el montaje indicado en la figura 5.1B, trabajando a un caudal constante de 0.81 mL min^{-1} , y la altura de la banda de absorbancia se mide a 1770 cm^{-1} para el AAS y a 1661 cm^{-1} para la cafeína, corrigiendo estos valores con una línea base establecida entre 1900 y 1537 cm^{-1} . Se inyectan $300 \mu\text{L}$ de patrones, disueltos en diclorometano, conteniendo AAS y cafeína en una concentración igual al 90 % de la concentración teórica de la muestra que se analiza, en la corriente portadora de la muestra mencionada con anterioridad. Después de esto, se inyecta el mismo volumen de otra disolución patrón, conteniendo el 110 % de la concentración teórica de AAS y de cafeína de la muestra, y se obtienen las medidas de absorbancia para cada disolución patrón en las mismas condiciones que se utilizaron para el portador de muestra. Los dos patrones inyectados corresponden a los niveles de tolerancia superior e inferior que permiten las farmacopeas en las especificaciones de los medicamentos. Por consiguiente, los valores de absorbancia de la muestra deben estar comprendidos

entre los obtenidos para estos patrones. Para determinar la concentración de AAS y cafeína, se interpolan los valores del altura de las bandas de absorbancia entre los dos puntos de la línea de calibrado establecida para las dos disoluciones patrón que se han inyectado. Para el análisis de cada muestra, deben cambiarse el portador y la concentración de las disoluciones patrón en función del medicamento que se analiza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectro IR-TF del AAS y de la cafeína

El espectro IR-TF, en absorbancia, del AAS y de la cafeína, obtenidos para disoluciones en diclorometano, presenta unas bandas muy intensas y bien definidas en el intervalo de número de ondas comprendido entre 1800 y 1200 cm^{-1} , siendo la banda de 1198 cm^{-1} y la de 1661 cm^{-1} las más sensibles para el AAS y la cafeína respectivamente (ver figura 5.2).

La banda que el ácido acetilsalicílico presenta a 1198 cm^{-1} esta demasiado próxima a la zona no transparente del diclorometano y está solapada con bandas poco intensas de la cafeína. En el intervalo comprendido entre 1800 y 1675 cm^{-1} el AAS presenta una serie de bandas intensas. De cualquier modo, como puede verse en la figura 5.3, un incremento en la concentración de AAS en el intervalo de 0.1 a 20 mg mL^{-1} , modifica la intensidad relativa de estas bandas, siendo la banda de 1703 cm^{-1} la más sensible cuando la concentración de AAS es superior a 5 mg mL^{-1} . Como puede verse en la figura 5.3C la banda del AAS a 1770 cm^{-1} es la única que cumple la ley de Beer-Lambert, y además no está solapada con las bandas de la cafeína, y ésta es la razón por la que es la más adecuada para la determinación de AAS.

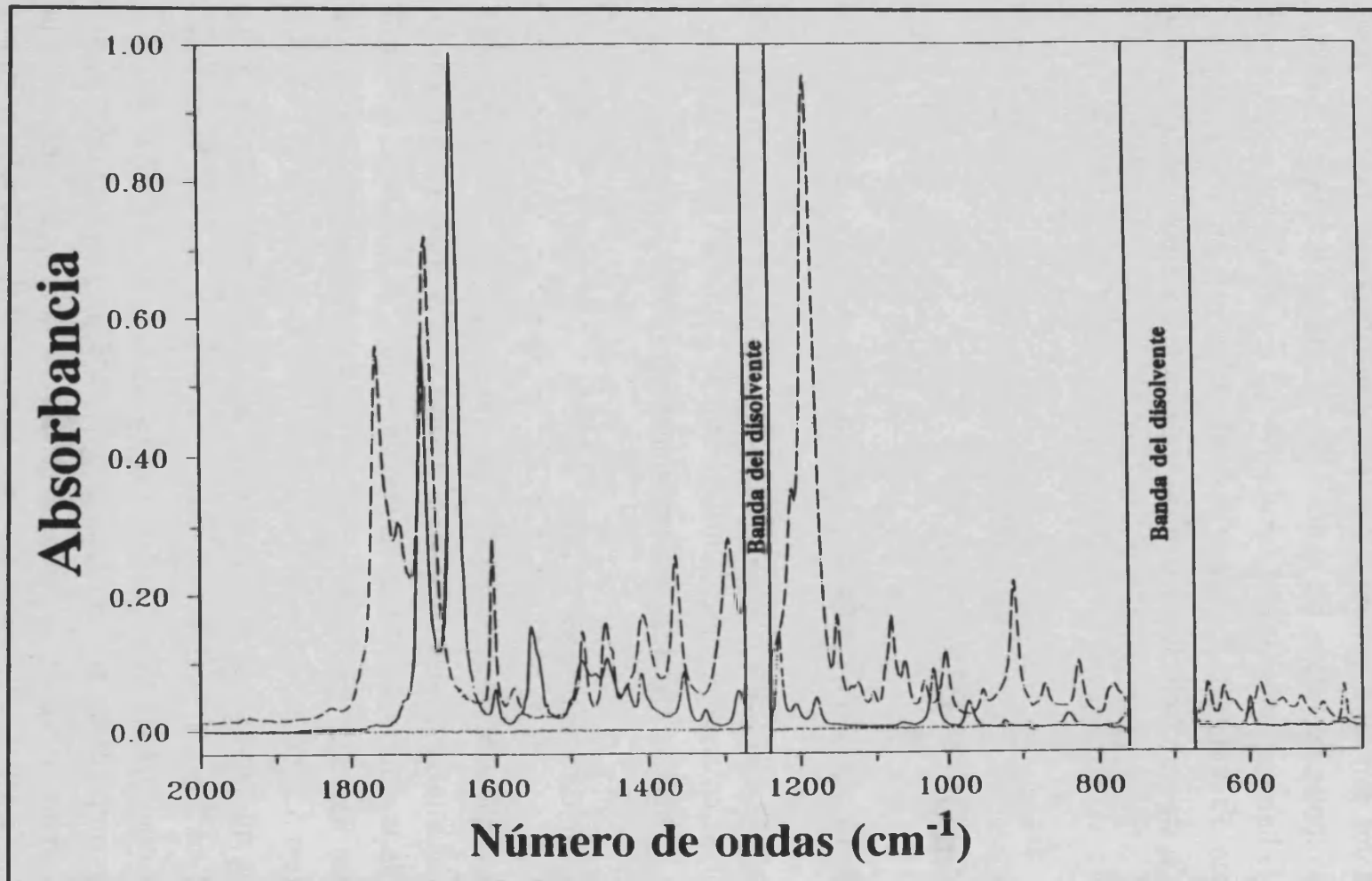


Figura 5.2
Espectro IR-TF de disoluciones de diclorometano conteniendo 20 mg mL⁻¹ de ácido acetilsalicílico (----) y 8 mg mL⁻¹ de cafeína (—).

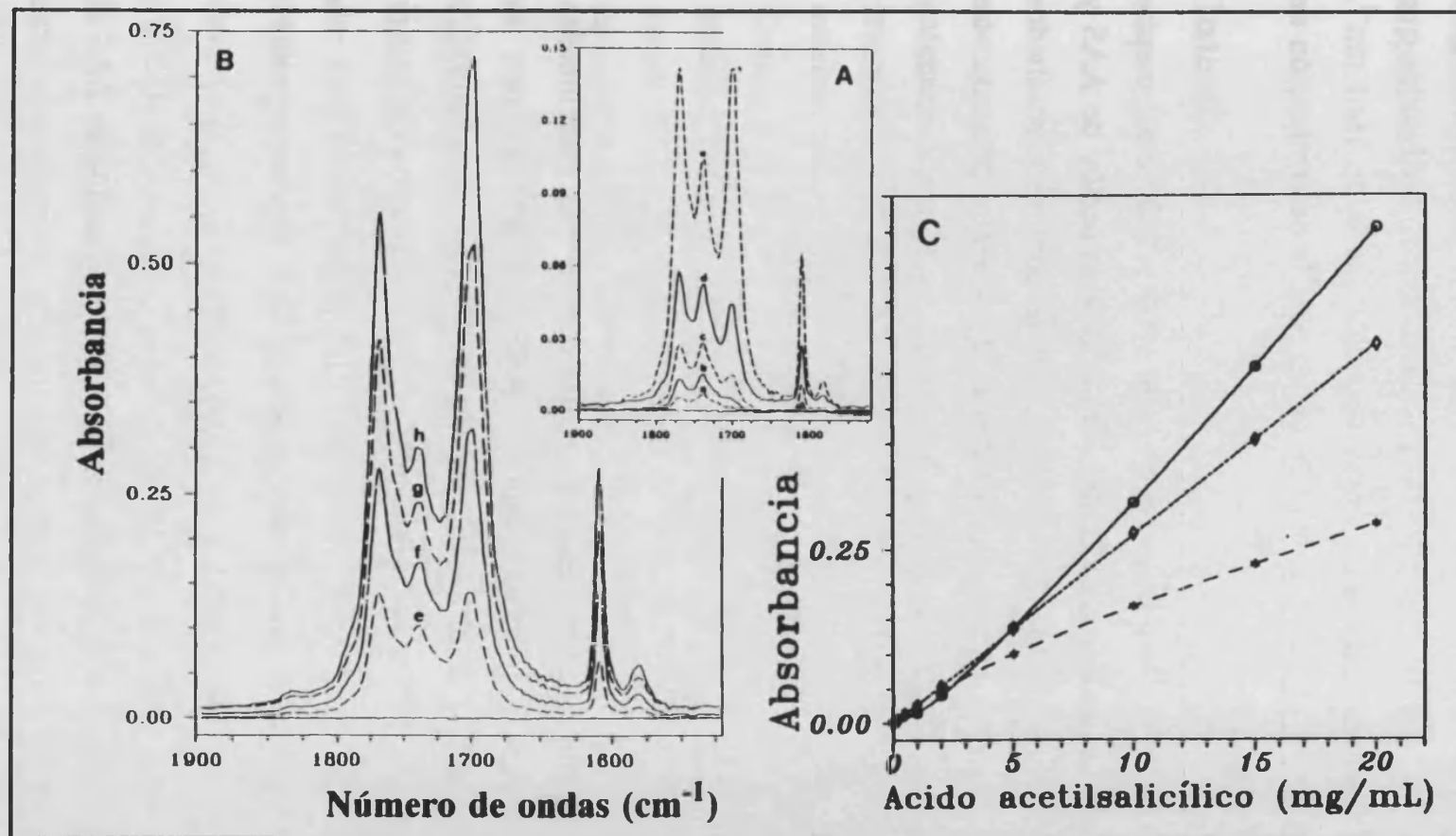


Figura 5.3

Espectros IR-TF de disoluciones de ácido acetilsalicílico en diclorometano a diferentes niveles de concentración: Fig. 5.3A, a) 0.2 mg mL⁻¹, b) 0.5 mg mL⁻¹, c) 1 mg mL⁻¹, d) 2 mg mL⁻¹, e) 5 mg mL⁻¹; Fig. 5.3B, f) 10 mg mL⁻¹, g) 15 mg mL⁻¹, h) 20 mg mL⁻¹; y Fig. 5.3C, curva de calibrado obtenida para las disoluciones patrón de ácido acetilsalicílico en CH₂Cl₂, medidas a diferentes números de ondas: (O) 1703 cm⁻¹, (◊) 1770 cm⁻¹ y (*) 1738 cm⁻¹.

La cafeína se ha determinado por espectrometría IR trabajando en la región comprendida entre 650 y 400 cm^{-1} [5.40]. De cualquier modo, las bandas que exhibe la cafeína en esta zona son mucho menos sensibles que la de 1661 cm^{-1} . Esta última banda constituye el mejor número de ondas para la determinación de cafeína en presencia de AAS.

Puede establecerse una línea base común entre 1900 y 1520 cm^{-1} o entre 1900 y 1537 cm^{-1} para las bandas consideradas para la determinación de AAS y cafeína. En las disoluciones patrón, ambas líneas base proporcionan resultados comparables, pero en muestras complejas, en las que se encuentra presente otro principio activo, la línea base entre 1900 y 1537 cm^{-1} evita interferencias y proporciona los resultados más exactos.

Determinación directa de AAS

Las medidas en flujo parado, realizadas en las condiciones mencionadas, proporcionan una curva de calibrado para el AAS (en un intervalo de concentraciones comprendido entre 1 y 20 mg mL^{-1}) que corresponde a

$A = 0.000_9(\pm 0.0006) + 0.0270_5(\pm 0.00006)C_{(\text{en mg mL}^{-1})}$ con un coeficiente de regresión $R=0.99998$. Esta ecuación es muy similar a la que se obtiene para otra serie de patrones con una proporción de 1:10 de cafeína:AAS, que corresponde a una ecuación $A = 0.000_9(\pm 0.0005) + 0.0270_1(\pm 0.00005)C_{(\text{en mg mL}^{-1})}$ con $R=0.99998$. Por esta razón, se puede utilizar una curva de calibrado establecida a partir de disoluciones de AAS en diclorometano, para la determinación de AAS en medicamentos que también contienen cafeína. También se obtienen resultados

exactos cuando están presentes otros componentes en las muestras, como pueda ser el paracetamol, dado que no interfiere con la banda del AAS a 1770 cm^{-1} .

Interferencia de AAS en la determinación de cafeína por espectrometría IR-TF

El ácido acetilsalicílico interfiere en la determinación IR-TF de cafeína como puede verse en la figura 5.4. Para una concentración fija de 1 mg mL^{-1} de cafeína, concentraciones de AAS menores que 8 mg mL^{-1} causan una pequeña interferencia negativa sobre la absorbancia de la banda de la cafeína siendo el valor máximo de esta interferencia del orden del 5 % de la intensidad de la banda. Concentraciones mayores de AAS causan una interferencia positiva sobre las medidas efectuadas en la banda de la cafeína; para una proporción de AAS:cafeína mayor de 20:1, siendo en este caso el error relativo para el valor de la absorbancia superior al 10 %.

La interferencia de AAS sobre la determinación de la cafeína por espectrometría IR-TF puede atribuirse a la proximidad entre las bandas de absorbancia de estos compuestos y este efecto se incrementa para contenidos altos de AAS en medicamentos que también contienen cafeína. Para concentraciones bajas de AAS esta interferencia es muy pequeña y los errores detectados se deben a cambios en la línea base que reduce la altura de la banda de absorbancia de la cafeína a 1661 cm^{-1} . En este caso se obtienen concentraciones de cafeína menores que las reales debido a la variación de la absorbancia de la banda del AAS a 1703 cm^{-1} tal como se indicó en la figura 5.3. Las interferencias positivas, encontradas para contenidos altos de AAS, deben atribuirse a la contribución de la

banda del AAS a 1703 cm^{-1} que aumenta con la concentración de AAS y se solapa con la banda de la cafeína a 1661 cm^{-1} .

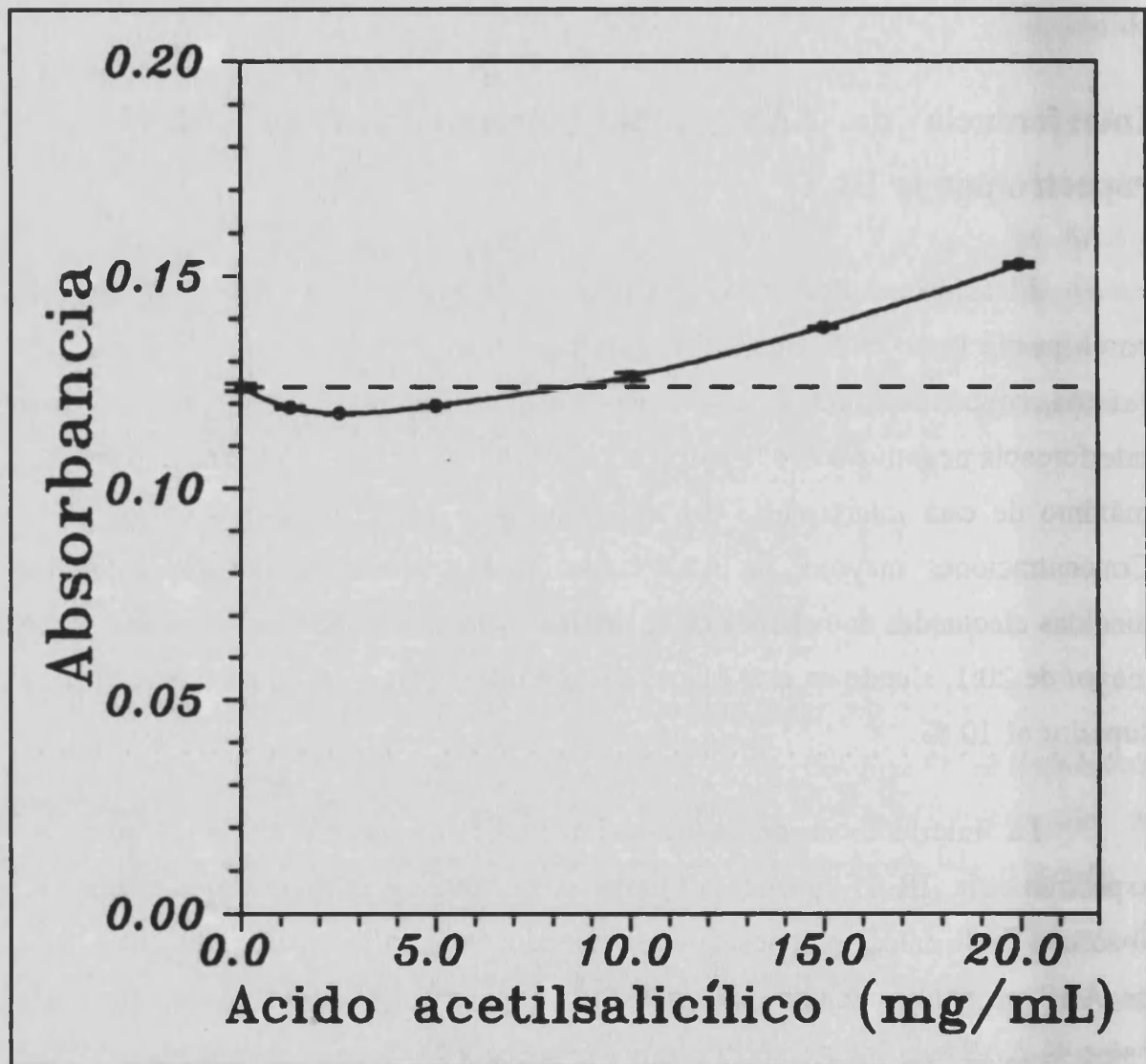


Figura 5.4

Efecto de la concentración de ácido acetilsalicílico sobre el valor de absorbancia de la cafeína medida en la banda de 1661 cm^{-1} para una concentración fija de cafeína de 1 mg mL^{-1} .

Los cambios en la absorbancia relativa del AAS a 1703 cm^{-1} , en función de la concentración de AAS (figura 5.3), impiden corregir las interferencias en la determinación de cafeína por medio de la utilización de medidas de las derivadas de los espectros.

Determinación de cafeína por espectrometría IR-TF

Una curva de calibrado típica, obtenida a partir de patrones puros de cafeína en diclorometano, en un intervalo de concentraciones entre 0.1 y 2 mg mL^{-1} , corresponde a la ecuación

$A = 0.000_{\pm 0.0004} + 0.1246(\pm 0.0004)C_{(\text{en mg mL}^{-1})}$ con un valor de $R=0.99997$. Esta ecuación tiene una pendiente del mismo orden que la encontrada para disoluciones patrón que contienen AAS y cafeína en una proporción 10:1, siendo la curva de calibrado $A = 0.003(\pm 0.001) + 0.123(\pm 0.001)C_{(\text{en mg mL}^{-1})}$ con $R=0.9998$. Para esta relación, la interferencia del AAS tiene un valor mínimo (ver figura 5.4), de cualquier modo, el valor tan alto de la ordenada en el origen en esta última ecuación, evidencia la existencia de un solapamiento con la banda del AAS.

A partir de los datos experimentales se puede recomendar para la determinación de cafeína la preparación de las disoluciones patrón con un contenido de AAS similar al que se encuentre en las muestras a analizar.

Como una indicación del orden de magnitud del error que puede obtenerse cuando se emplean patrones puros de cafeína para el análisis de muestras que

contienen AAS y cafeína pueden señalarse los siguientes ejemplos. Se encontró un contenido de 33.4 mg de cafeína por comprimido para una muestra que contenía 30 mg de cafeína y 500 mg de AAS, y se obtuvo un valor de 50.1 mg de cafeína por comprimido en el análisis de una muestra que contenía 50 mg de cafeína y 500 mg de AAS. Utilizando una curva de calibrado en la que se había añadido el AAS a los patrones de cafeína, las muestras mencionadas proporcionaron resultados de 29.6 mg y 49.6 mg por pastilla respectivamente, que denotan una mayor exactitud de las determinaciones.

Efecto de la cantidad de muestra

El amplio intervalo dinámico de concentraciones que permite la determinación IR-TF de AAS y cafeína, en las condiciones experimentales mencionadas, permite trabajar a diferentes niveles de dilución de la muestra, y es de destacar que se encontraron resultados exactos y precisos para cantidades de muestra entre 50 y 750 mg disueltas en 25 mL de diclorometano.

Parámetros analíticos de la determinación de ASA y cafeína por espectrometría IR-TF

Trabajando en las condiciones indicadas, se han establecido los parámetros analíticos de las determinaciones de AAS y de cafeína por espectrometría IR-TF a partir de las curvas de calibrado características y también a partir de una serie de análisis efectuados a diferentes niveles de concentración. La tabla 5.I resume los

valores encontrados para el intervalo dinámico, sensibilidad, límite de detección, repetibilidad y reproducibilidad obtenidas para cada componente considerado.

Tabla 5.1

Características analíticas de la determinación IR-TF de ácido acetilsalicílico y cafeína en disoluciones de CH_2Cl_2 .

PARÁMETRO	AAS	CAFEÍNA
INTERVALO DINÁMICO mg mL^{-1}	0 - 20	0 - 4
SENSIBILIDAD $\text{ua mg}^{-1} \text{ mL mm}^{-1}$	0.231	1.065
LÍMITE DE DETECCIÓN $\mu\text{g mL}^{-1} (3\sigma)$	22	5.8
REPETIBILIDAD RSD % $n^* = 5$	0.14	0.16
PRECISIÓN RSD % $n^{**} = 3$	0.5	1.1

RSD: desviación típica relativa. $n^* = 5$ medidas de una muestra conteniendo 12 mg mL^{-1} AAS y 1.2 mg mL^{-1} cafeína; $n^{**} = 3$ análisis independientes de una misma muestra.

La sensibilidad se ha calculado a partir de la pendiente de la curva de calibrado, considerando el espesor de la micro celda empleada para las medidas.

El límite de detección se estableció para un nivel de confianza del 99.6 % ($k=3$) a partir de la desviación típica de diez medidas independientes de una disolución del blanco (3σ) y de la sensibilidad obtenida para cada uno de los compuestos.

La repetibilidad está calculada en términos del coeficiente de variación (desviación típica relativa expresada en porcentaje) obtenida para 5 medidas de la absorbancia de una misma disolución conteniendo 12 mg mL^{-1} de AAS y 1.2 mg mL^{-1} de cafeína, y la precisión se estableció a partir del coeficiente de variación obtenido para 3 análisis independientes de una misma muestra.

A partir de los resultados obtenidos, puede concluirse que la espectrometría IR-TF proporciona una sensibilidad y precisión adecuadas para la determinación de AAS y cafeína en medicamentos; siendo de destacar que la sensibilidad para este último compuesto a 1661 cm^{-1} , en disoluciones diclorometano, es cinco veces mayor que la obtenida para el AAS a 1770 cm^{-1} .

Análisis de muestras reales

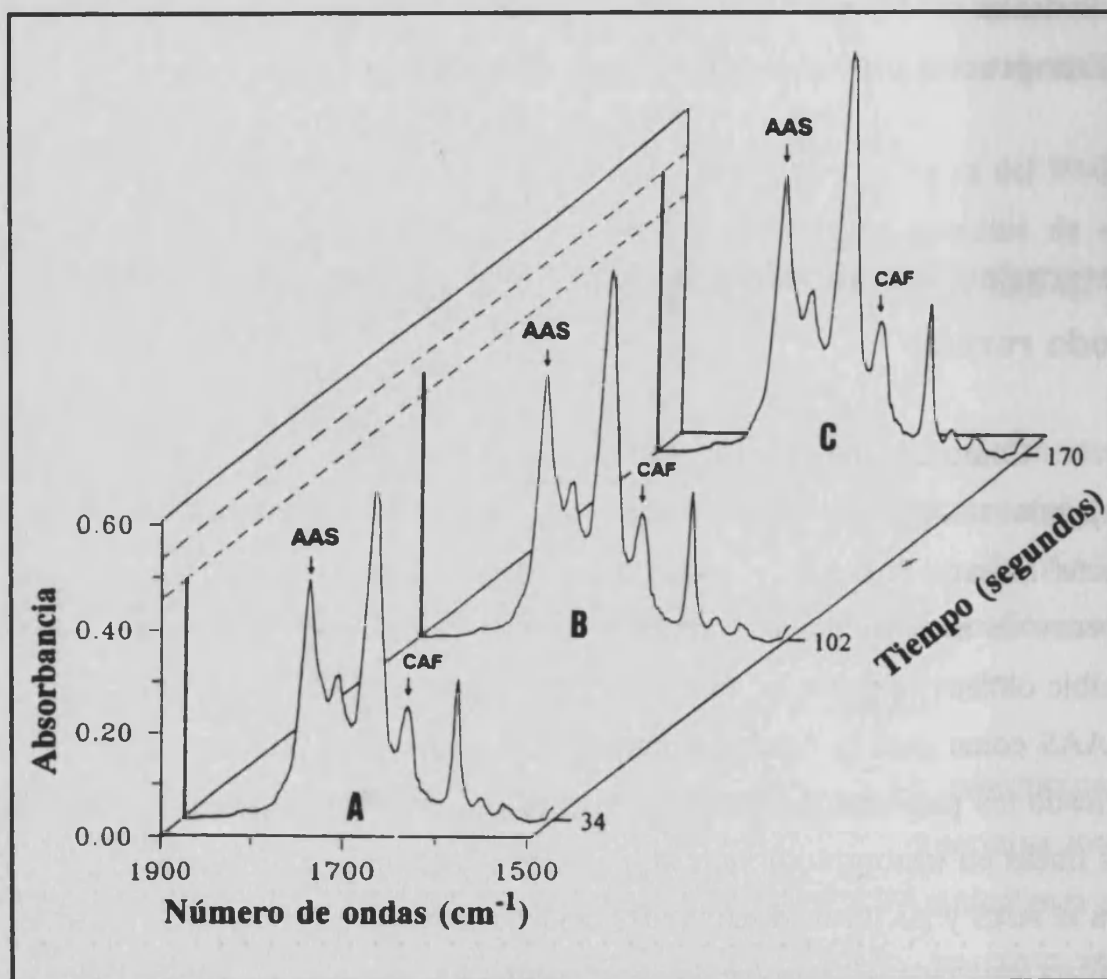
Se analizaron las muestras que se indicaron en la **PARTE EXPERIMENTAL** en flujo parado empleando una curva de calibrado común obtenida con patrones de AAS y cafeína en una relación 10:1. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 5.II y, a pesar que todos los valores encontrados

están dentro del margen de tolerancia indicado por las farmacopeas, es conveniente utilizar patrones específicos para cada tipo de muestra.

Determinación simultánea de AAS y cafeína por FIA-IR-TF en modo reverso

Como se indicó con anterioridad, el acoplamiento FIA-IR-TF puede proporcionar información simultánea para compuestos diferentes dentro de una misma muestra [5.6-5.8] y, como puede verse en la figura 5.5, que muestra el espectro de tres disoluciones con diferentes concentraciones de AAS y cafeína, es posible obtener, a partir de un mismo espectro, valores de absorbancia tanto para el AAS como para la cafeína simultáneamente. Asimismo, en esta figura se han indicado los picos del AAS y de la cafeína que se obtienen para cada disolución. Las líneas en trazo grueso indican los valores máximos de absorbancia obtenidos para el AAS y las líneas discontinuas evidencian que la disolución portadora de la muestra analizada (B) proporciona unos valores de absorbancia comprendidos entre los encontrados para las dos disoluciones patrón inyectadas (A y C). El mismo hecho puede observarse para la cafeína, midiendo la altura de la banda de absorbancia a 1661 cm^{-1} .

La utilización del análisis en flujo reverso acoplado con la espectrometría IR-TF permite una determinación rápida de AAS y cafeína en medicamentos. Tal como se ha descrito en la **PARTE EXPERIMENTAL**, la inyección de disoluciones patrón conteniendo AAS y cafeína (en la misma relación en que la que se encuentran en las muestras) en una corriente portadora de cada una de las muestras disueltas en diclorometano proporciona valores de referencia que pueden

**Figura 5.5**

Espectros IR-TF obtenidos, en función del tiempo, para: A) la inyección de un disolución patrón de AAS y cafeína en CH_2Cl_2 conteniendo 9 mg mL^{-1} de AAS y 0.9 mg mL^{-1} de cafeína, B) una corriente portadora de la muestra con un contenido teórico de 10 mg mL^{-1} de AAS y 1 mg mL^{-1} de cafeína y C) la inyección de una disolución patrón conteniendo 11 mg mL^{-1} de AAS y 1.1 mg mL^{-1} de cafeína. Estas figuras muestran únicamente el valor máximo de absorbancia encontrado para cada una de las tres disoluciones consideradas, habiendo suprimido los espectros intermedio con el fin indicar el espectro que se ha considerado para tomar los valores de absorbancia máximos para cada uno de los compuestos analizados.

utilizarse para el análisis cuantitativo de estos dos componentes. Esta idea básica, tomada a partir de los principios del análisis en flujo reverso [5.42-5.45] y de la adición en línea de patrones [5.46,5.47] ofrece nuevas posibilidades en el control de calidad rápido de medicamentos permitiendo una comparación de las muestras con los valores extremos, permitidos por las farmacopeas para el contenido de principios activos en medicamentos (que suelen ser del 90 y el 110 % del valor indicado en las especificaciones).

La figura 5.6 muestra un registro FIA establecido a 1770 cm^{-1} y 1661 cm^{-1} , para la inyección de dos disoluciones patrón conteniendo 9 mg mL^{-1} de AAS y 0.9 mg mL^{-1} de cafeína y 11 mg mL^{-1} de AAS y 1.1 mg mL^{-1} de cafeína respectivamente en un portador de la muestra de AAS y cafeína. Como se ve, la disolución portadora proporciona valores de absorbancia comprendidos entre los que se obtienen para la inyección de los patrones y esto evidencia que la concentración de los principios activos en la muestra está de acuerdo con los valores especificados. Por otra parte, el contenido de AAS y cafeína en la muestra se establece a partir de los valores de la altura del pico, obtenidos tanto para la muestra como para los patrones, por interpolación tal como se describe en la figura insertada.

Empleando este procedimiento (descrito en la sección EXPERIMENTAL) se han analizado una serie de muestras reales y en la tabla 5.II se resumen los resultados obtenidos. Estos resultados evidencian que el procedimiento es muy exacto y permite un control de calidad rápido de los medicamentos.

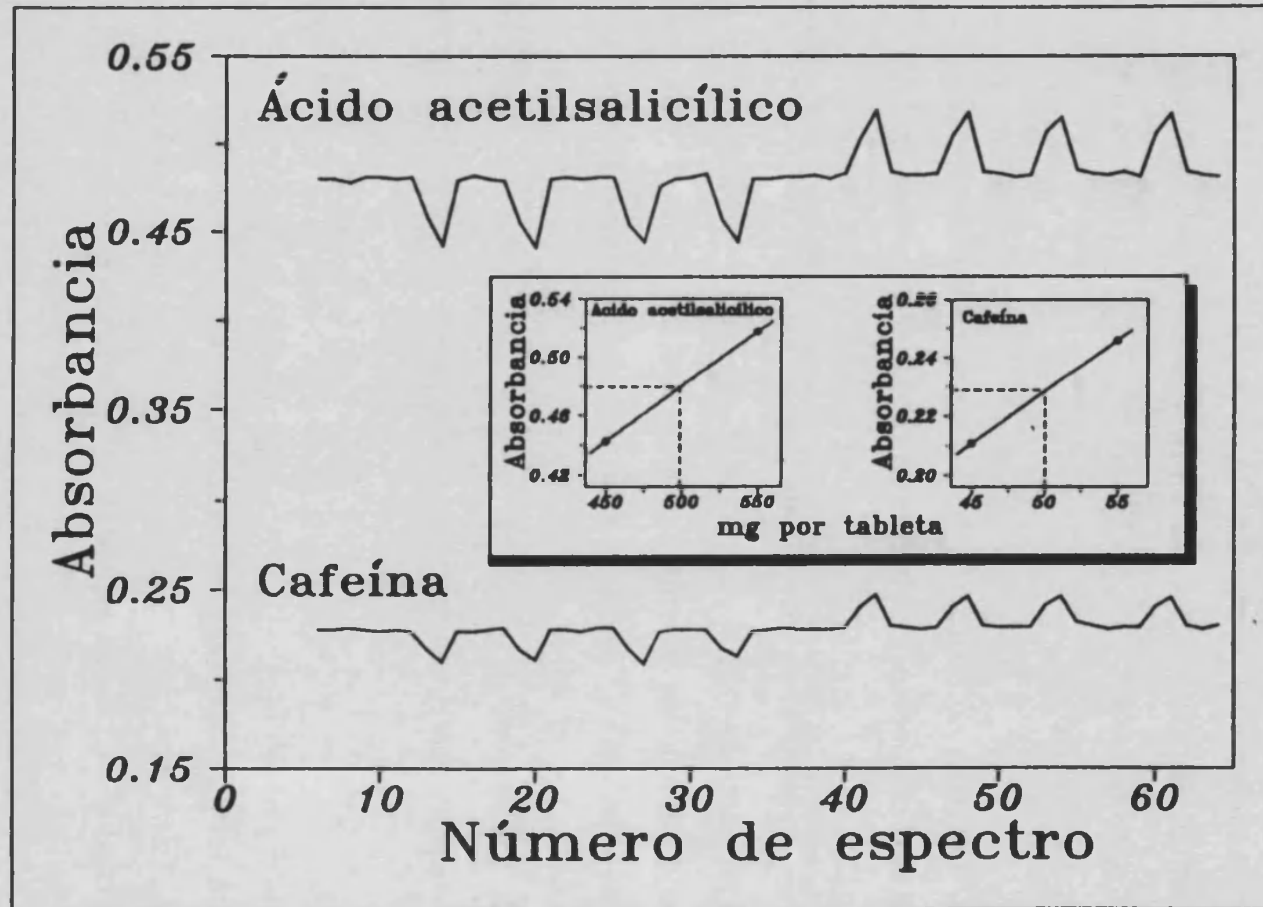


Figura 5.6

Registro obtenido para el análisis en flujo reverse en la determinación simultánea de ácido acetilsalicílico y cafeína en un medicamento. En el interior de la figura se han indicado las curvas de calibrado obtenidas, para la determinación de AAS y cafeína, a partir de la inyección en la corriente portadora de la muestra de dos disoluciones patrón.

Determinación de fármacos por FIA-IR-TF

Tabla 5.11
Análisis de muestras reales por espectrometría FIA-IR-TF.

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	CONTENIDO TEÓRICO mg por comprimido	RESULTADOS ENCONTRADOS mg por comprimido	
			FLUJO PARADO	ANÁLISIS EN FLUJO REVERSO
ASPIRINA	AAS	500	509	501
CAFIASPIRINA	AAS	500	504	501
	Cafeína	50	49.6	50.0
MEJORAL	AAS	500	497	495
	Cafeína	30	34.1	29.6
FIORINAL	AAS	200	186	198
	Cafeína	40	38.6	43.2
NEOCIBALENA	AAS	200	182	187
	Cafeína	50	43.6	47
CAFERGOT	Cafeína	100	94	101

El procedimiento de análisis FIA-IR-TF permite realizar 53 inyecciones por hora (teniendo en cuenta que el empleo de la estación de control 7700 requiere más de 17 segundos para obtener y guardar el interferograma completo, trabajando con un valor de resolución nominal de 4 cm^{-1}). De cualquier modo, la frecuencia en el análisis de muestras puede incrementarse trabajando con una instrumentación y un software más rápidos.

El análisis cuantitativo de una muestra que contenga AAS y cafeína, efectuando la inyección de dos patrones de referencia en una corriente portadora de muestra, requiere menos de 15 minutos para obtener el resultado de ambos compuestos realizando cuatro inyecciones consecutivas de cada una de la disoluciones de los patrones.

CONCLUSIONES

El ácido acetilsalicílico puede analizarse directamente en medicamentos por espectrometría IR-TF a 1770 cm^{-1} , no interfiriendo en esta determinación la presencia de cafeína, paracetamol o tartrato de ergotamina.

La interferencia del AAS en la determinación por espectrometría IR-TF de cafeína a 1661 cm^{-1} puede evitarse estableciendo una línea base entre 1900 y 1537 cm^{-1} y trabajando con disoluciones patrón de AAS:cafeína en una proporción similar a la que se espera obtener en las muestras.

El procedimiento desarrollado para el análisis FIA-IR-TF en modo reverso es muy exacto y preciso y permite efectuar un control de calidad rápido de estos dos principios activos en medicamentos. Esta estrategia básica puede aplicarse a la determinación simultánea de diversos componentes en otros medicamentos y abre nuevas posibilidades para el análisis de control en línea.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO 5

- 5.1 J. Ruzicka y E.H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2nd Ed, Wiley & Sons, Nueva York, 1988.
- 5.2 M. Valcarcel y M.D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- 5.3 B. Karlberg y G.E. Pacey, *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*, Elsevier, Oxford, 1989.
- 5.4 D.J. Curran y W.G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, **177**, 259.
- 5.5 M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J.L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta*, 1992, **261**, 53.
- 5.6 B.E. Miller, N.D. Danielson y J.E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 5.7 M. Guzman, J. Ruzicka, G.D. Christian y P. Shelley, *Vib. Spectrosc.*, 1991, **2(1)**, 1.
- 5.8 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Analyst*, 1992, **117**, 1849.
- 5.9 D.K. Morgan, N.D. Danielson y J.E. Katon, *Anal. Lett.*, 1988, **18**, 1979.
- 5.10 S.V. Olesick, S.B. French y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- 5.11 P.T. McKittrick, N.D. Danielson y J.E. Katon, *Microchem. J.*, 1991, **44**, 105.
- 5.12 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1992, **40**, 89.

- 5.13 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1993, **274**, 267.
- 5.14 M. Gallignani, S. Garrigues, A. Martínez-Vado y M. de la Guardia, *Analyst*, 1993, en imprenta.
- 5.15 A.C. Moffat (Ed), *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd Ed, The Pharmaceutical Society of Great Britain, Londres, 1986.
- 5.16 M.J. de Faubert Maunder, *Practical Hints on Infrared Spectrometry with Particular Reference to Forensic Analysis*, Adam Hilger, Londres, 1971.
- 5.17 R.G.J. Miller y B.B. Stace, *Laboratory Methods in Infra-red Spectrometry*, Heyden, Chichester, 1972.
- 5.18 *United States Pharmacopeia*, 22^a revision, 1989 USP Convention Inc, Rockville Md, USA.
- 5.19 R.K. Gilpin y L.A. Pachla, *Anal. Chem.*, 1991, **63**, 130R.
- 5.20 G. Sala, S. MasPOCH, H. Iturriaga, M. Blanco y V. Cerdá, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1988, **6**, 765.
- 5.21 B. Webb, *Lab. Pract.*, 1990, **39**, 85.
- 5.22 K.K. Verma y A. Jain, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 821.
- 5.23 M.S. Karawya, A.M. Diab y N.Z. Swelem, *Anal. Lett.*, 1984, **17**, 77.
- 5.24 S. Markovic y Z. Kusec, *Pharmazie*, 1990, **45**, 935.
- 5.25 J. Sherma, S. Stellmacher y T.J. White, *J. Liq. Chromatogr.*, 1985, **8**, 2961.

-
- 5.26 M. El-Sadek, A. El-Shanawany, A. Aboul-khier y G. Ruecker, *Analyst*, 1990, **115**, 1181.
- 5.27 A. Verstraeten, E. Roets y J. Hoogmartens, *J. Chromatogr.*, 1987, **388**, 201.
- 5.28 I. Sakano y S. Kokubo, *Anal. Sci.*, 1989, **5**, 623.
- 5.29 M.E. El-Kommos y K.M. Emara, *Talanta*, 1989, **36**, 678.
- 5.30 P. Cockaerts, E. Roets y J. Hoogmartens, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1986, **4**, 367.
- 5.31 K.K. Verma, S.K. Sanghi, A. Jain y D. Gupta, *J. Pharm. Sci.*, 1987, **76**, 551.
- 5.32 I.M. Jalal y S.I. Sa Sa, *Talanta*, 1984, **31**, 1015.
- 5.33 J.J. Gagel y K. Biemann, *Mikrochim Acta*, 1988, **II**, 185.
- 5.34 S. Shah y L.T. Taylor, *LC-GC*, 1989, **7**, 340.
- 5.35 R.L. White, *Anal. Chem.*, 1985, **57**, 1819.
- 5.36 E.W. Ciurczak y R.P. Torlini, *Spectroscopy (Springfield, Oreg.)*, 1987, **2**, 41.
- 5.37 E.W. Ciurczak y T.A. Maldacker, *Spectroscopy (Springfield, Oreg.)*, 1986, **1**, 36.
- 5.38 L. Yin y Y. Liu, *Fenxi Huaxue*, 1986, **14**, 307. Anal. Abstr. 4901E005
- 5.39 L. Yin y Y. Liu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 1986, **6**, 139. Anal. Abstr. 4903A029
- 5.40 M. Baucells, N. Ferrer, G. Lacort y M. Roura, *Quim. Anal.*, 1991, **10**, 211.

- 5.41 A.S.R. Krishnamurthy, R. Shailaja y S. Husain, *Indian Drugs*, 1986, **23**, 513.
- 5.42 K.S. Johnson y R.L. Petty, *Anal. Chem.*, 1982, **54**, 1185.
- 5.43 M.D. Luque de Castro y M. Valcárcel Cases, *Analyst*, 1984, **109**, 413.
- 5.44 A. Rius, M.D. Luque de Castro y M. Valcárcel, *Analyst*, 1984, **109**, 1487.
- 5.45 M.D. Luque de Castro y M. Valcárcel, *Trends Anal. Chem.*, 1986, **5**, 71.
- 5.46 J.F. Tyson y A.B. Idris, *Analyst*, 1984, **109**, 23.
- 5.47 V. Carbonell, A.R. Mauri. A. Salvador y M. de la Guardia, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 1991, **6**, 581.

Capítulo 6

**DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE ORTO-,
META- Y PARA-XILENO POR ESPECTROMETRÍA
INFRARROJA POR TRANSFORMA DE FOURIER
EN UN SISTEMA DE FLUJO**

RESUMEN

Se ha desarrollado un método para la determinación directa y simultánea de orto-, meta- y para-xileno en xilol por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier. El método se basa en la inyección de las muestras, diluidas en hexano, en un caudal de portador de hexano. Las medidas de absorbancia se efectúan a 743, 770 y 796 cm^{-1} , respectivamente, trabajando con una resolución nominal de 4 cm^{-1} . El límite de detección corresponde al 0.03 % v/v para el orto- y el meta-xileno y al 0.02 % v/v para el isómero para-, utilizando una micro celda de flujo con un paso óptico de 0.13 mm. Este método no requiere la utilización de celdas sofisticadas y muy costosas ni tratamientos complejos de los resultados, es preciso y proporciona resultados exactos en el análisis de muestras, tanto sintéticas como reales. Los resultados que se obtienen son comparables a los encontrados cuando se utiliza un método de referencia basado en el cociente de los valores de absorbancia de los tres compuestos estudiados.

INTRODUCCIÓN

El análisis en flujo constituye una vía económica y versátil para la automatización de los procesos analíticos y de ahí que se haya ido incorporando a muchas técnicas [6.1-6.4]. La espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (IR-TF) es una poderosa técnica para el análisis orgánico cualitativo y cuantitativo [6.5,6.6] y esto nos ha animado al desarrollo de procedimientos en flujo para el análisis IR-TF.

El uso del análisis en flujo acoplado con la espectrometría infrarroja proporciona una forma simple y reproducible de llenar la celda de líquidos [6.7], una vía rápida para la automatización de las determinaciones y una mayor economía en el uso de reactivos.

En comparación con la espectrometría IR el empleo de la IR-TF proporciona [6.8-6.13] un incremento de la sensibilidad (ello es posible cuando se trabaja mediante la acumulación de espectros, operando en flujo parado), una monitorización continua de la línea base del espectro y una localización exacta del máximo de la banda de absorción.

De cualquier modo, muchos de los trabajos publicados, tanto en IR-TF como en FIA-IR-TF, se han limitado al análisis de sólo un componente en cada muestra y han descuidado el hecho que el interferograma puede obtenerse con un equipo IR-TF de una forma muy rápida y en un intervalo de número de ondas suficientemente amplio, proporcionando todo esto una ventaja adicional para el

análisis multicomponente cuando se emplea una metodología basada en el FIA-IR-TF.

Sólo se han publicado hasta la fecha dos ejemplos de análisis multicomponente por FIA-IR-TF: la determinación de dos compuestos de colina en muestras de medicamentos [6.9] y en análisis de mezclas sintéticas de acetona, etanol y tetrahidrofurano [6.11]. En ambos casos es necesario el empleo de celdas de reflectancia total y/o el empleo de sofisticados paquetes comerciales de *software*.

En este trabajo se han aplicado los principios del FIA-IR-TF a la determinación directa y simultánea de los isómeros del xileno en mezclas sintéticas y en muestras reales de xilol (uno de los disolventes más frecuentemente empleados en la industria de las pinturas [6.14,6.15]) utilizando un montaje de flujo monocal equipado con una micro celda de flujo de transmitancia con ventanas de KBr y un *software* de bajo coste desarrollado en este laboratorio.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos y reactivos

Se ha empleado un espectrofotómetro infrarrojo por transformadas de Fourier Perkin Elmer, modelo 1750, equipado con un detector piroeléctrico de sulfato de glicina deuterada (FR-DTGS) y una estación de control de la serie 7700, para la realización de las medidas de absorbancia, trabajando con una resolución nominal de 4 cm^{-1} y utilizando una micro celda de flujo de la marca SPECAC con ventanas de KBr y un espaciador de plomo de 0.13 mm.

El montaje empleado es un sistema monocanal, como el descrito en trabajos previos [6.12,6.13], que consta de una bomba peristáltica Gilson P-2 Minipuls con tubos de VITON^R (iso-versinic) de 3 mm de diámetro externo y 1 mm de diámetro interno. Las muestras se inyectan empleando una válvula de inyección Rheodyne Tipo 50, con varios volúmenes fijos de inyección de muestra; todas las conexiones del sistema se han realizado con tubos de politetrafluoroetileno (TEFLON^R) de 0.8 mm de diámetro interno.

Se ha utilizado una serie de programas informáticos, desarrollados en este laboratorio, para obtener y almacenar el espectro IR-TF, llevar a cabo todos los cálculos necesarios y construir el registro FIA a partir de los espectros previamente grabados.

Para la realización de este trabajo se ha utilizado orto-, meta- y para-xileno (Probus, España) de calidad análisis y hexano de grado industrial, previamente destilado, como disolvente y portador.

Procedimiento recomendado

Para la determinación directa de los tres isómeros del xileno en xilol hay que tomar una cantidad adecuada de muestra y diluirla en hexano. 200 μL de esta disolución de la muestra se inyectan en el montaje FIA y se registran y almacenan, de forma continua, los espectros IR. Se define una línea base entre 820 y 655 cm^{-1} (ver figura 6.1B como ejemplo) y se mide la altura de las bandas de absorción, correspondientes al orto-, meta- y para-xileno, a 743, 770 y 796 cm^{-1} , respectivamente. Los valores de altura de las bandas de absorción se obtienen a

partir del registro FIA de las muestras, y se interpolan estos valores en la curva de calibrado, previamente establecida para disoluciones patrón de los tres isómeros puros del xileno en hexano.

Se ha empleado como método de referencia un procedimiento IR-TF [6.16] basado en la utilización de una serie de ecuaciones obtenidas a partir del cociente de los valores de absorbancia a dos números de ondas bien definidos, correspondientes a cada uno de los compuestos estudiados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectros IR-TF del orto-, meta- y para-xileno

Como puede verse en la figura 6.1, los isómeros del xileno presentan bandas muy bien definidas en el intervalo de número de ondas comprendido entre 820 y 670 cm^{-1} que permiten identificarlos claramente en una mezcla de los tres componentes diluidos en hexano (Figura 6.1B). Por lo tanto, la absorbancia de la banda que aparece a 743 cm^{-1} para el orto-xileno, las de 770 ó 693 cm^{-1} para el meta-xileno y la de 796 cm^{-1} , correspondiente al para-xileno, pueden emplearse para la determinación directa de xilenos en xilol.

Por otra parte, como ya se indicó en un trabajo anterior [6.16] la banda que aparece a 770 cm^{-1} proporciona la mejor sensibilidad para la determinación de meta-xileno y es recomendable definir una línea base común para los tres compuestos estudiados (ver figura 6.1B).

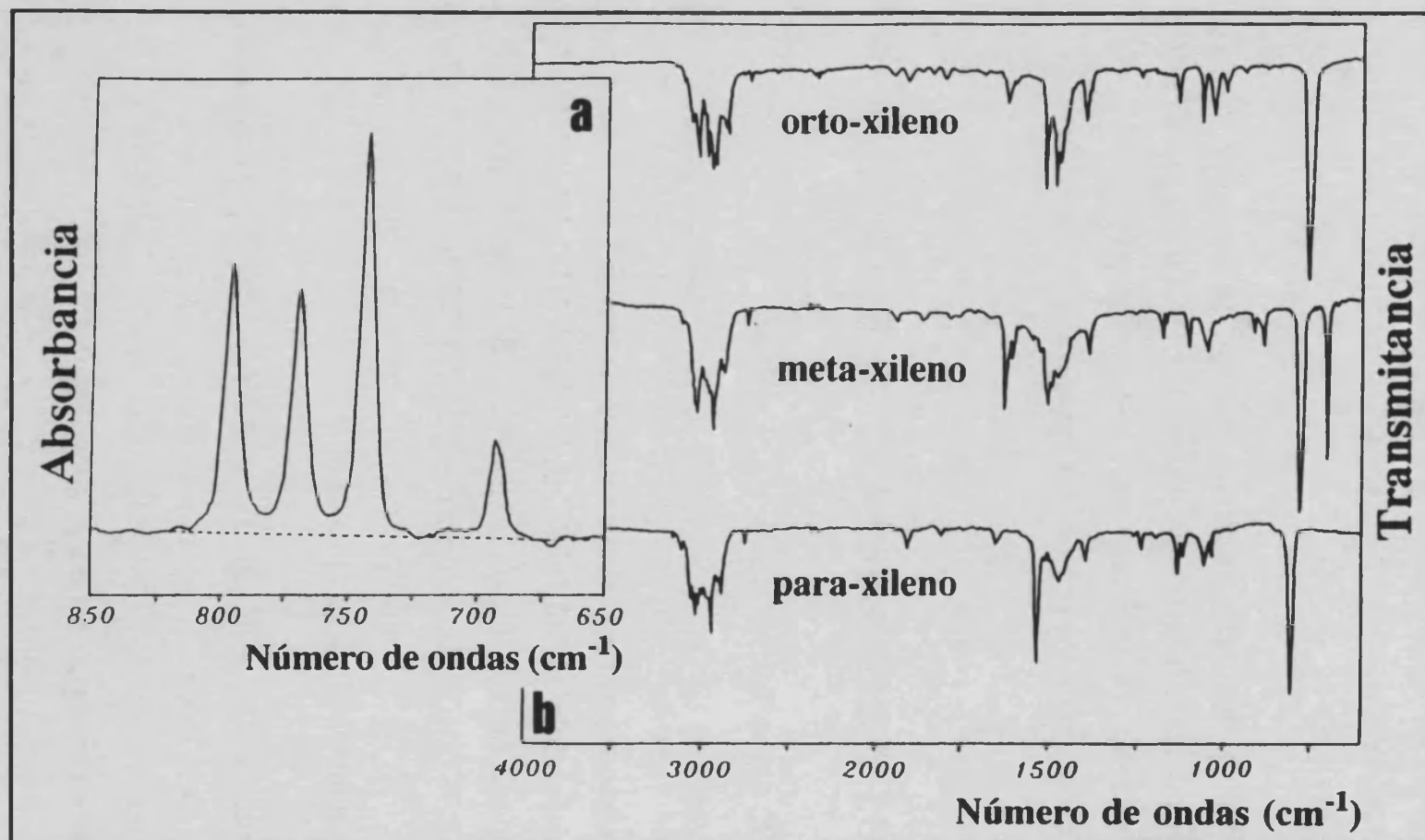


Figura 6.1

Espectro IR-FT del orto-, meta- y para-xileno: (a) espectro en transmitancia obtenido a partir de la disolución de cada componente; (b) espectro en absorbancia de una mezcla 1:1:1 de los tres compuestos en hexano.

Efecto de los parámetros FIA

Utilizando el montaje de FIA, descrito en la PARTE EXPERIMENTAL, se ha estudiado el efecto de los parámetros típicos del FIA (como son el caudal de portador y el volumen de muestra inyectada) sobre la sensibilidad y repetibilidad de las medidas de absorbancia.

En la figura 6.2 se indica, como ejemplo representativo, el efecto del caudal de portador sobre los registros FIA obtenidos para el meta-xileno. En este caso la utilización de caudales de portador superiores a 0.27 mL min^{-1} , que corresponde al que se obtiene para un valor de 100 unidades del control de la bomba (ver figura 6.2C), proporcionan una disminución de la sensibilidad y también una pérdida de precisión, debido a que para caudales altos la muestra no permanece dentro de la celda en su máxima concentración el tiempo suficiente para obtener el interferograma y grabarlo.

Con respecto al efecto del volumen de muestra inyectada (ver figura 6.3, que corresponde al para-xileno), se ha encontrado que volúmenes superiores a $400 \mu\text{L}$, para un caudal de portador de 0.27 mL min^{-1} , proporcionan valores de absorbancia comparables a los que se obtienen cuando la muestra se pasa de forma continua a través de la celda. De cualquier modo, con la intención de obtener una metodología rápida se recomienda utilizar un volumen de muestra de $200 \mu\text{L}$, que proporciona una sensibilidad tan solo un 8.1 % menor y permite realizar un mayor número de medidas por hora.

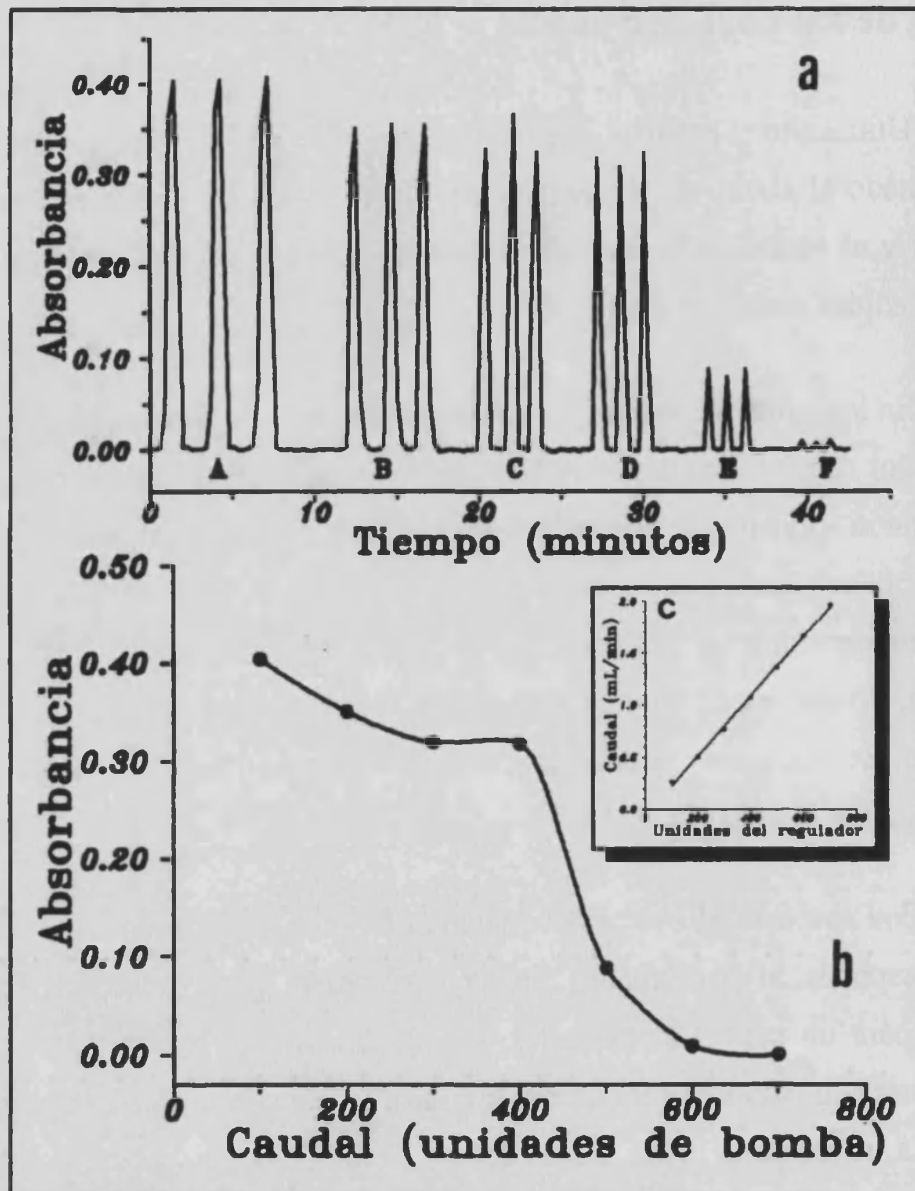


Figura 6.2

Efecto del caudal de portador sobre la absorbancia del meta-xileno. (a) Registro de FIA obtenido para diferentes caudales de portador y para un volumen inyectado de $200 \mu\text{L}$: A=100, B=200, C=300, D=400, E=500 y F=600 unidades de bomba. (b) Efecto del caudal de portador sobre los valores de absorbancia. (c) Relación entre las unidades del regulador de la bomba y el valor del caudal que se obtiene.

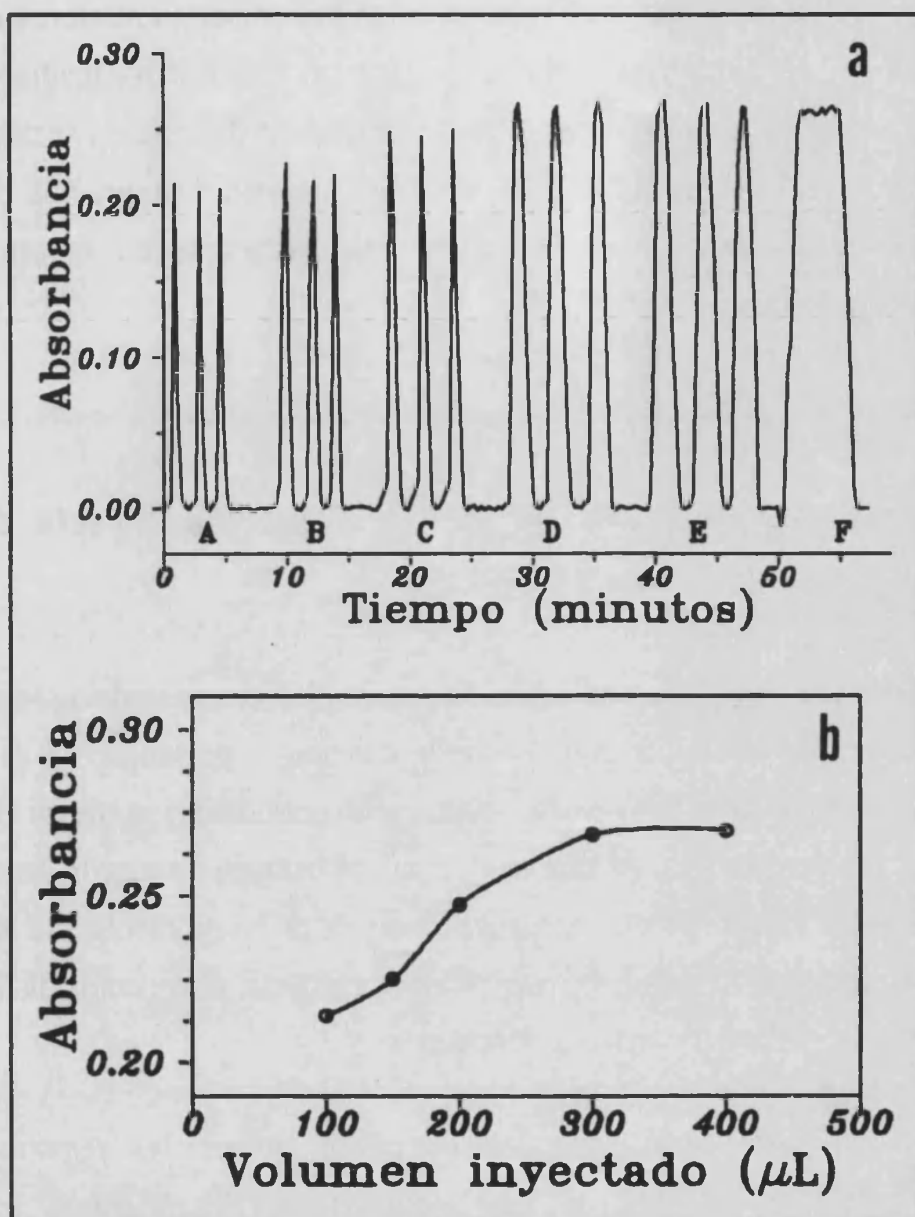


Figura 6.3

Efecto del volumen de muestra inyectada sobre la absorbancia del para-xileno. (a) Registro FIA que se obtiene para diferentes volúmenes inyectados y para la aspiración continua de una disolución de para-xileno al 1.25 % v/v en hexano. Caudal de portador: 0.27 mL min^{-1} . Volumen de inyección: A=100, B=150, C=200, D=300, E=400 μL y F=aspiración continua. (b) Efecto del volumen inyectado sobre la altura del pico.

Se obtienen resultados similares a los presentados anteriormente para el orto-xileno y por tanto puede concluirse que los mejores resultados analíticos, considerando la sensibilidad, repetibilidad y frecuencia de análisis, se obtienen para un caudal de portador de 0.27 mL min^{-1} y un volumen de inyección de $200 \mu\text{L}$. Bajo estas condiciones puede obtenerse una frecuencia de muestreo de 20 inyecciones por hora.

Características analíticas de la determinación directa de orto-, meta- y para-xileno por FIA-IR-TF

Como se ve en la figura 6.4 la monitorización continua del espectro IR-TF, en el intervalo de 850 a 650 cm^{-1} , permite detectar la presencia, en el caudal de portador, de cada uno de los tres compuestos estudiados y llevar a cabo su determinación cuantitativa. Al mismo tiempo es posible controlar la línea base. En las condiciones experimentales antes indicadas, y para una resolución nominal de 4 cm^{-1} , se requieren 17 segundos para obtener y guardar el espectro IR-TF en todo el intervalo de número de ondas seleccionado.

A partir de estos espectros se puede obtener el registro de FIA correspondiente a cada uno de los compuestos. El programa informático desarrollado permite localizar la posición exacta del máximo de absorbancia de cada isómero de xileno en cada uno de los espectros y determinar el valor de la absorbancia de los mismos (se encontraron desplazamientos de $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$ en la localización de los máximos de absorbancia en una misma sesión de trabajo pero trabajando con diferentes concentraciones de los compuestos) y esto posibilita una

mejora de la repetibilidad de las medidas y del intervalo dinámico de concentraciones de las curvas de calibrado.

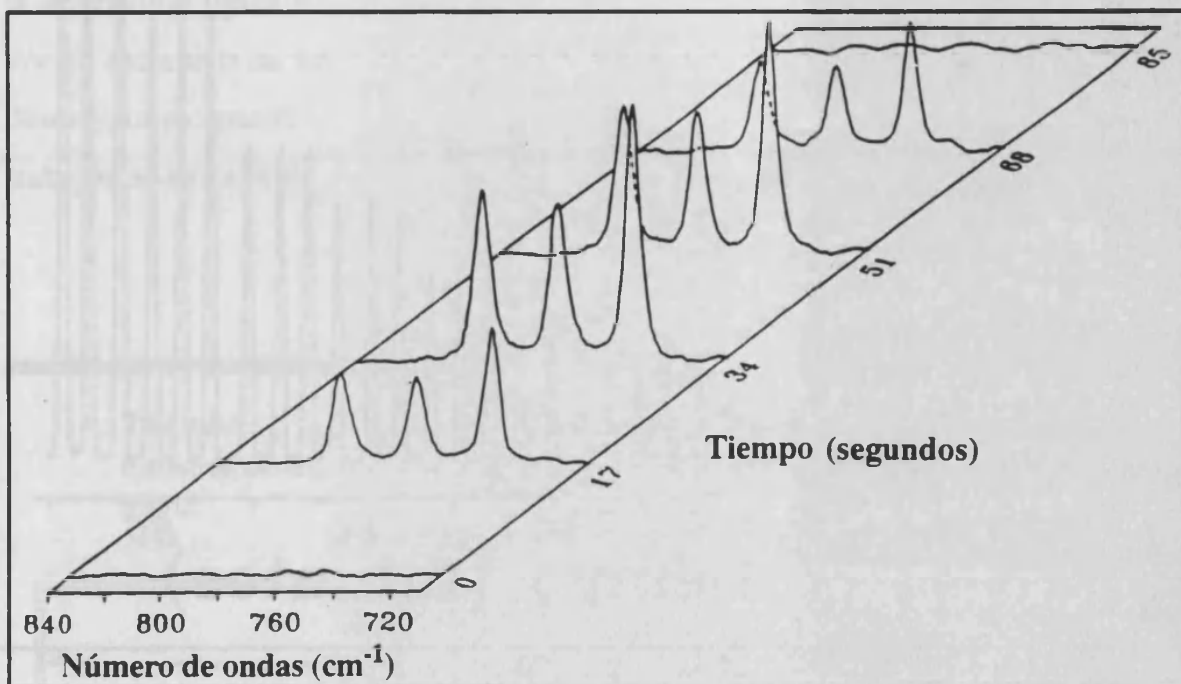


Figura 6.4

Espectros IR-TF obtenidos, en función del tiempo, para un volumen de muestra de 200 μL conteniendo 1.4 % v/v de orto-, meta- y para-xileno empleando un caudal de portador de 0.27 mL min^{-1} de hexano.

La figura 6.5 muestra, como ejemplo, un registro FIA típico para el análisis de para-xileno y demuestra que los métodos basados en el FIA-IR-TF proporcionan medidas precisas y buenas linealidades de las curvas A vs concentración.

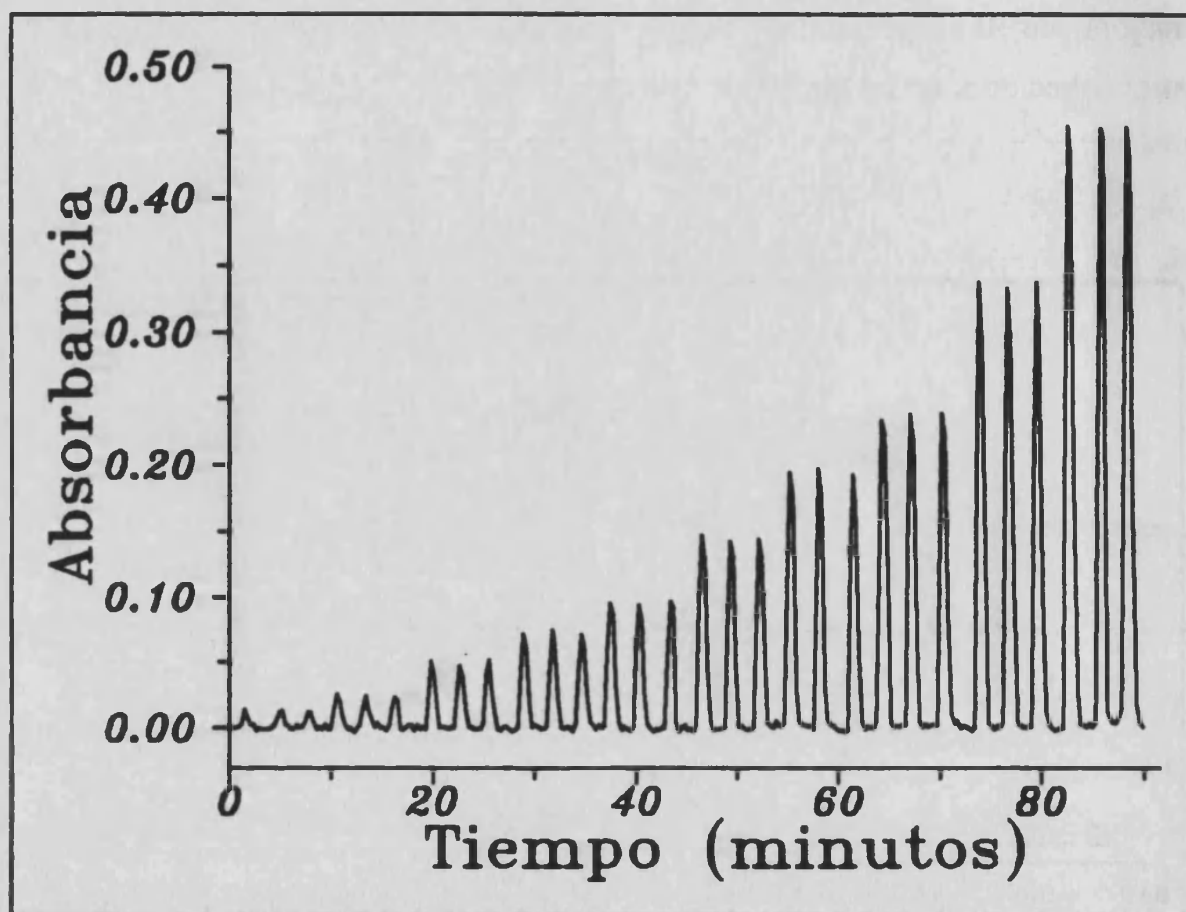


Figura 6.5

Registro FIA obtenido para el para-xileno.

Las curvas de calibrado obtenidas, en un mismo día, para el orto-, el meta- y el para-xileno son las siguientes:

$$A = 0.010 + 0.337 C_{\text{orto-}} \quad R=0.9993$$

$$A = 0.002_5 + 0.222 C_{\text{meta-}} \quad R=0.9997$$

$$A = 0.000_4 + 0.239 C_{\text{para-}} \quad R=0.9998$$

para un volumen de inyección de 200 μL de patrón en un caudal portador de hexano de 0.27 mL min^{-1} . Se confirmó que se obtenían curvas de calibrado similares por diferentes operadores en días distintos.

A partir de la pendiente de la zona recta de las curvas de calibrado, y teniendo en cuenta el paso óptico de la celda empleada, se determinan los valores de sensibilidad para cada uno de los compuestos. El límite de detección se ha determinado para un nivel de confianza del 99.6 % ($k=3$) y la precisión a partir de la desviación típica relativa para cinco medidas de una muestra conteniendo 1.4 % v/v de cada uno de los tres isómeros del xileno. En la tabla 6.I se indican estos datos y, como puede verse, la desviación típica relativa es mejor que la indicada en trabajos anteriores de análisis multicomponente mediante FIA-IR-TF [6.9,6.11].

Tabla 6.I

Parámetros analíticos de la determinación FIA-IR-TF de los isómeros del xileno.

PARAMENTROS ANALÍTICOS			
COMPUESTO	Sensibilidad ua conc mm⁻¹	LD (a) % (v/v)	C.V. (b) %
orto-xileno	2.58	0.03	0.9
meta-xileno	1.70	0.03	1.4
para-xileno	1.83	0.02	0.7

(a) LD Límite de detección.

(b) C.V. Coeficiente de variación para 5 análisis de una muestra conteniendo un 1.4 % v/v de todos los compuestos considerados.

Utilización del cociente de bandas

En trabajos previos [6.16-6.20] se ha demostrado como el empleo del cociente de las alturas de las bandas de absorbancia de dos componentes permite determinar la proporción entre estos dos componentes en una muestra. Este tratamiento puede aplicarse también al análisis de mezclas ternarias. En este caso, la utilización de sistemas de ecuaciones que describen la variación de los cocientes de bandas con el cociente de las concentraciones de orto-/meta-, de orto-/para- y de meta-/para-xileno, y también la concentración total estos componentes, permite obtener los resultados más exactos en el análisis de muestras de xilol [6.16].

El procedimiento indicado, previamente desarrollado para en análisis en régimen estático [6.16], se ha empleado como método de referencia para poder evaluar la exactitud del análisis directo FIA. Se ha utilizado el valor máximo de absorbancia de cada componente en el registro de FIA de cada muestra para llevar a cabo los correspondientes cálculos.

En el análisis en flujo, utilizando el cociente de bandas, se han obtenido las ecuaciones indicadas en la tabla 6.II, que relacionan el cociente de las alturas de las bandas de absorbancia con la proporción de dos componentes en la mezcla. Como puede verse, el ajuste potencial de los datos proporciona mejor linealidad que el ajuste lineal simple, así como una mejor precisión y exactitud de los resultados (valores no indicados).

A partir de los datos experimentales de absorbancia, se establecieron las relaciones orto-/meta- y orto-/para-, utilizando un modelo de ajuste potencial, y se determinó el porcentaje de cada uno de los tres componentes estudiados empleando estas relaciones. Estos resultados son independientes de la dilución de la muestra.

Tabla 6.11

Curvas de calibrado obtenidas para el análisis de los isómeros del xileno empleando el cociente de bandas.

Cociente de bandas	MODELO LINEAL	MODELO POTENCIAL
orto/meta	$\frac{h\bar{\nu}_1}{h\bar{\nu}_2} = 0.18 + 1.34 \frac{[o]}{[m]}$	$Ln \frac{h\bar{\nu}_1}{h\bar{\nu}_2} = 0.45 + 0.927 Ln \frac{[o]}{[m]}$
	R = 0.998	R = 0.9998
	N = 10	N = 10
orto/para	$\frac{h\bar{\nu}_1}{h\bar{\nu}_3} = 0.10 + 1.323 \frac{[o]}{[p]}$	$Ln \frac{h\bar{\nu}_1}{h\bar{\nu}_3} = 0.392 + 0.947 Ln \frac{[o]}{[p]}$
	R = 0.9998	R = 0.9999
	N = 10	N = 10

$h\bar{\nu}$ = altura de la banda de absorbanza correspondiente $h\bar{\nu}_1$ al orto-xileno, $h\bar{\nu}_2$ al meta-xileno y $h\bar{\nu}_3$ al para-xileno.

[o], [m], [p] concentración de orto-, meta- y para-xileno en porcentaje v/v.

R = coeficiente de regresión.

N = número de patrones.

En todos los casos se ha considerado un intervalo dinámico del cociente entre los dos compuestos considerados comprendido entre 10:1 y 1:10.

Análisis de muestras sintéticas

Se prepararon ocho muestras sintéticas, conteniendo distintas proporciones de los compuestos estudiados, y se analizaron por el método FIA-IR-TF y por el método de cociente de bandas aplicado al registro FIA. Como puede verse en la tabla 6.III, ambos métodos proporcionan resultados exactos, con un error relativo promedio (para todos los componentes en todas las muestras) del 2.8 % en el caso de procedimiento FIA-IR-TF y del 1.1 % para el método del cociente de bandas.

La versatilidad de ambos métodos queda reflejada en el hecho de que en el análisis de muestras sintéticas, preparadas sin la presencia de uno de los tres componentes, el resultado encontrado para este compuesto no incluido es menor del 1.0 % v/v.

Los resultados señalados anteriormente demuestran que las dos metodologías aplicadas son apropiadas para la determinación de xilenos y proporcionan resultados más exactos que los encontrados por otros autores para el análisis multicomponente de este tipo de muestras [6.21].

Tabla 6.III

Análisis de muestras sintéticas empleando el cociente de bandas y por medida directa FIA-IR-TF.

MUESTRA	orto-xileno			meta-xileno			para-xileno		
	añadido	cociente de bandas	FIA-IR-TF	añadido	cociente de bandas	FIA-IR-TF	añadido	cociente de bandas	FIA-IR-TF
1	77.78	77.4 ± 0.4	76.1 ± 0.4	11.11	11.4 ± 0.2	12.1 ± 0.2	11.11	11.3 ± 0.3	11.8 ± 0.4
2	60.00	59.6 ± 0.2	58.9 ± 0.2	30.00	30.47 ± 0.08	30.69 ± 0.07	10.00	9.9 ± 0.2	10.4 ± 0.2
3	13.51	13.8 ± 0.1	13.9 ± 0.2	37.84	37.7 ± 0.4	37.5 ± 0.4	48.65	48.5 ± 0.3	48.6 ± 0.3
4	38.89	39.0 ± 0.4	39.1 ± 0.4	44.44	44.4 ± 0.3	43.7 ± 0.3	16.67	16.6 ± 0.3	17.2 ± 0.3
5	6.67	6.7 ± 0.2	6.0 ± 0.3	33.33	33.7 ± 0.3	33.8 ± 0.2	60.00	59.58 ± 0.03	60.19 ± 0.03
6	36.36	36.3 ± 0.2	36.4 ± 0.2	31.82	32.1 ± 0.2	32.1 ± 0.1	31.82	31.6 ± 0.1	31.5 ± 0.1
7	25.00	24.3 ± 0.7	25.5 ± 0.8	75.00	74.9 ± 0.5	73.5 ± 0.4	0.00	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3
8	80.00	78.4 ± 0.3	78.0 ± 0.3	0.00	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.2	20.00	20.7 ± 0.2	21.3 ± 0.2

La concentración de cada compuesto se ha expresado en porcentaje v/v ± la desviación típica de una serie de análisis independientes.

Análisis de muestras reales

Se analizaron tres muestras comerciales de xilol tanto por el métodos FIA-IR-TF como mediante el del cociente de bandas. En este último caso los análisis se efectuaron tanto con una película delgada de la muestra como con la misma diluida en hexano y medida en FIA.

Como se indica en la tabla 6.IV los métodos empleados proporcionan resultados comparables y por lo tanto puede concluirse que la exactitud de la determinación de los isómeros del xileno por el procedimiento directo FIA-IR-TF es similar a la que se obtiene cuando se utiliza el método del cociente de bandas, pero con un tratamiento de datos menos complejo.

Tabla 6.IV

Análisis de los isómeros del xileno en muestras reales.

Muestra	orto-xileno			meta-xileno			para-xileno		
	BR/FILM	BR/FIA	FIA DIRECTO	BR/FILM	BR/FIA	FIA DIRECTO	BR/FILM	BR/FIA	FIA DIRECTO
A	15.8 ± 0.3	17.3 ± 0.2	16.8 ± 0.2	63.5 ± 0.1	62.9 ± 0.5	62.0 ± 0.5	21.13 ± 0.07	19.7 ± 0.3	21.1 ± 0.3
B	7.7 ± 0.1	7.8 ± 0.3	7.0 ± 0.4	77.2 ± 0.3	77.1 ± 0.2	76.2 ± 0.2	15.3 ± 0.2	15.0 ± 0.4	16.8 ± 0.4
C	11.9 ± 0.1	11.1 ± 0.3	10.7 ± 0.4	77.0 ± 0.5	77.9 ± 0.3	77.0 ± 0.3	11.4 ± 0.3	11.0 ± 0.3	12.3 ± 0.3

BR/FILM = Método de cociente de bandas aplicado en película delgada.

BR/FIA = Método de cociente de bandas aplicado en FIA.

Todos los resultados son el promedio de tres análisis de una misma muestra.

CONCLUSIONES

La metodología FIA-IR-TF permite la determinación directa de orto-, meta- y para-xileno en muestras sintéticas y en xilol con una frecuencia de análisis de 20 inyecciones por hora. El método es preciso y exacto. El empleo del cociente de bandas entre los diferentes isómeros de xileno mejora la exactitud del método directo, aunque complica el tratamiento de los datos.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO 6

- 6.1 J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow injection analysis*. Wiley and Sons, Nueva York, 1988.
- 6.2 M. Varcárcel y M. D. Luque de Castro, *Flow injection analysis. Principles and applications*. Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- 6.3 J. L. Burguera (editor), *Flow injection Atomic Spectrometry*. Marcel Dekker, Nueva York, 1989.
- 6.4 J. B. Karlberg y C. E. Pacey, *Flow Injection Analysis. A practical guide*. Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 6.5 J. R. Ferraro y J. R. Barile (editores), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Academic Press, Nueva York, 1982.
- 6.6 P. R. Griffiths y J. A. de Haselh, *Fourier Transform Infrared Analysis*. John Wiley & Sons, Nueva York, 1986.
- 6.7 O. J. Curram y W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta.*, 1985, **177**, 259.
- 6.8 D.K. Morgan, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1988, **18**, 1979.
- 6.9 B. E. Miller, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 6.10 S. V. Olesick, S. B. French, y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- 6.11 M. Guzman, J. Ruzicka, G. D. Christian y P. Shelley, *Vibr. Spectrosc.*, 1991, **2**, 1.
- 6.12 M. Gallignani, S. Garrigues, M. de la Guardia, J. L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **261**, 53.

- 6.13 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, *Communication presented at the XXVII C.S.I.*, 1991, Bergen, Norway, B PO29.
- 6.14 V. M. Morgans, *Outline of Paint Technology*. Griffin, Londres, 1982.
- 6.15 T. H. Durrans, *Solvents*. Chapman and Hall, Londres, 1971.
- 6.16 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Analyst*, 1991, **116**, 1159.
- 6.17 M. de la Guardia, J. L. Carrión y J. Medina, *Analyst*, 1986, **109**, 457.
- 6.18 J. V. de Julián-Ortiz y M. de la Guardia, *Can. J. Spectros.*, 1989, **25**, 44.
- 6.19 Z. A. Benzo, C. Gómez, S. Menéndez, M. de la Guardia y A. Salvador, *Microchem. J.*, 1989, **40**, 271.
- 6.20 S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta.*, 1991, **242**, 123.
- 6.21 D. M. Haaland y R. G. Easterling, *Appl. Spectrosc.*, 1982, **6**, 665.

Capítulo 7

**DETERMINACIÓN DE CARBARYL EN
FORMULACIONES DE PESTICIDAS POR
ESPECTROMETRÍA INFRARROJA POR
TRANSFORMADAS DE FOURIER EMPLEANDO
SISTEMAS DE FLUJO**

RESUMEN

Se propone un procedimiento para la determinación por espectrometría infrarroja, por transformadas de Fourier, de carbaryl en formulaciones de pesticidas. El método se basa en la disolución del carbaryl en diclorometano a partir de las muestras de polvo sólido y la medida directa de la absorbancia a 1747 cm^{-1} , utilizando una línea base establecida entre 1850 y 1650 cm^{-1} . Las medidas de absorbancia pueden realizarse tanto en flujo continuo como en flujo parado. En ambos casos el método proporciona resultados exactos y reproducibles, pero en flujo parado se obtiene una mayor sensibilidad. En las condiciones experimentales óptimas, para un paso óptico de 1.0 mm y acumulando cinco barridos del espectrofotómetro, el límite de detección que se obtiene corresponde a $1.6\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de carbaryl. Se han analizado muestras reales de formulaciones de pesticidas en polvo que contienen carbaryl por el procedimiento propuesto y los resultados se han comparado con los obtenidos por un procedimiento espectrofluorimétrico de referencia.

INTRODUCCIÓN

Las formulaciones de pesticidas que contiene carbaryl (1-naftilmetilcarbamato) se utilizan extensamente para prevenir plagas de insectos en frutas, vegetales, algodón y otros cultivos [7.1]. Se han propuesto métodos cromatográficos para la determinación de carbaryl en formulaciones y también en cultivos tratados, y así como en aguas naturales, utilizando cromatografía de capa fina [7.2], cromatografía gaseosa [7.3,7.4] o cromatografía líquida de alta eficacia [7.5-7.8]. La espectrofotometría ultravioleta [7.9] y visible puede aplicarse también a la determinación de carbaryl, pero en este último caso se debe llevar a cabo una derivatización previa [7.10-7.12]. Las técnicas de luminiscencia, como son la fosforimetría a temperatura ambiente [7.13,7.14] y la espectrofluorimetría [7.15-7.18] permiten una alta sensibilidad en la determinación de carbaryl pero están fuertemente interferidas debido a efectos de atenuación (*quenching*) de diferentes componentes de la matriz. Por otra parte, la utilización de medios micelares proporciona una mejora de las características analíticas de la determinación espectrofluorimétrica de carbaryl en formulaciones de pesticidas y en aguas naturales [7.19,7.20].

La espectrometría infrarroja (IR) se ha utilizado para la detección en cromatografía líquida de alta eficacia de carbaryl y otros pesticidas de tipo carbamato [7.21-7.25] y también se ha propuesto un procedimiento en régimen estático para la determinación de carbaryl en formulaciones de pesticidas después de su disolución en cloroformo [7.26].

En los últimos años se han realizado importantes esfuerzos para desarrollar métodos de análisis automatizados, especialmente empleando las técnicas de análisis en flujo (FIA) [7.27,7.28] pero tan solo se ha propuesto un método para la determinación de carbaryl en aguas basado en la técnica FIA-espectrofluorimetría [7.29].

El control en línea del producto acabado en la manufactura de formulaciones de pesticidas puede ahorrar un considerable tiempo de análisis, reactivos y esfuerzo, y uno de los objetivos de este trabajo es desarrollar un método de análisis en flujo empleando la espectrometría infrarroja, por transformada de Fourier, para la determinación de carbaryl en productos técnicos y formulaciones: ya que el espectro IR del carbaryl proporciona información interesante tanto desde el punto de vista del análisis cualitativo como desde la perspectiva de análisis cuantitativo. De cualquier modo hay pocos precedentes de la utilización del análisis en flujo en la espectrometría infrarroja [7.30-7.39], probablemente debido a la falta de antecedentes en que se emplean celdas de flujo adecuadas y a problemas relacionados con la obtención de una información adecuada a partir de una señal infrarroja de tipo *transiente*. Afortunadamente, esta situación ha empezado a cambiar y los trabajos recientes sobre FIA-IR-TF han demostrado que se pueden obtener resultados cuantitativos exactos en el análisis de muestras reales [7.31,7.33,7.37] y también en el análisis multicomponente utilizando tanto el enfoque del análisis en flujo continuo [7.37,7.38] como el del análisis en flujo parado [7.34].

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos y reactivos

Se ha utilizado un espectrofotómetro infrarrojo por transformadas de Fourier Perkin Elmer modelo 1750 equipado con un detector piroeléctrico FR-DTGS y una estación de control modelo 7700.

Se han utilizado los montajes mostrados en la figura 7.1 para realizar las medidas de absorbancia tanto en análisis en flujo continuo (A) como en el análisis en flujo parado (B). Se han utilizado dos bombas peristálticas Gilson P-2 Minipuls para transportar la disolución portadora de diclorometano y para introducir las muestras en la celda de flujo. Se han empleado tubos de VITON^R de 0.15 cm de diámetro interno para obtener un caudal adecuado de muestras y patrones. La utilización de la segunda bomba peristáltica, para llenar la válvula de inyección o para introducir las muestras en la celda de medida, evita la formación de burbujas y reduce los efectos de contaminación y memoria.

Se ha utilizado una válvula de inyección Rheodyne Tipo 50, con varios volúmenes fijos de inyección de muestra para la introducción de las muestras en el análisis en flujo continuo, pero cuando se trabaja en flujo parado únicamente es necesaria una válvula direccional de tres vías para seleccionar el paso del disolvente y el de las muestras o patrones alternativamente. En todos los casos se ha utilizado para las medidas IR-TF una micro celda de flujo SPECAC con ventanas de KBr y espaciadores de plomo. Para conectar los diferentes componentes del montaje se ha utilizado tubo de politetrafluoroetileno (TEFLON^R) de 0.8 mm de diámetro interno.

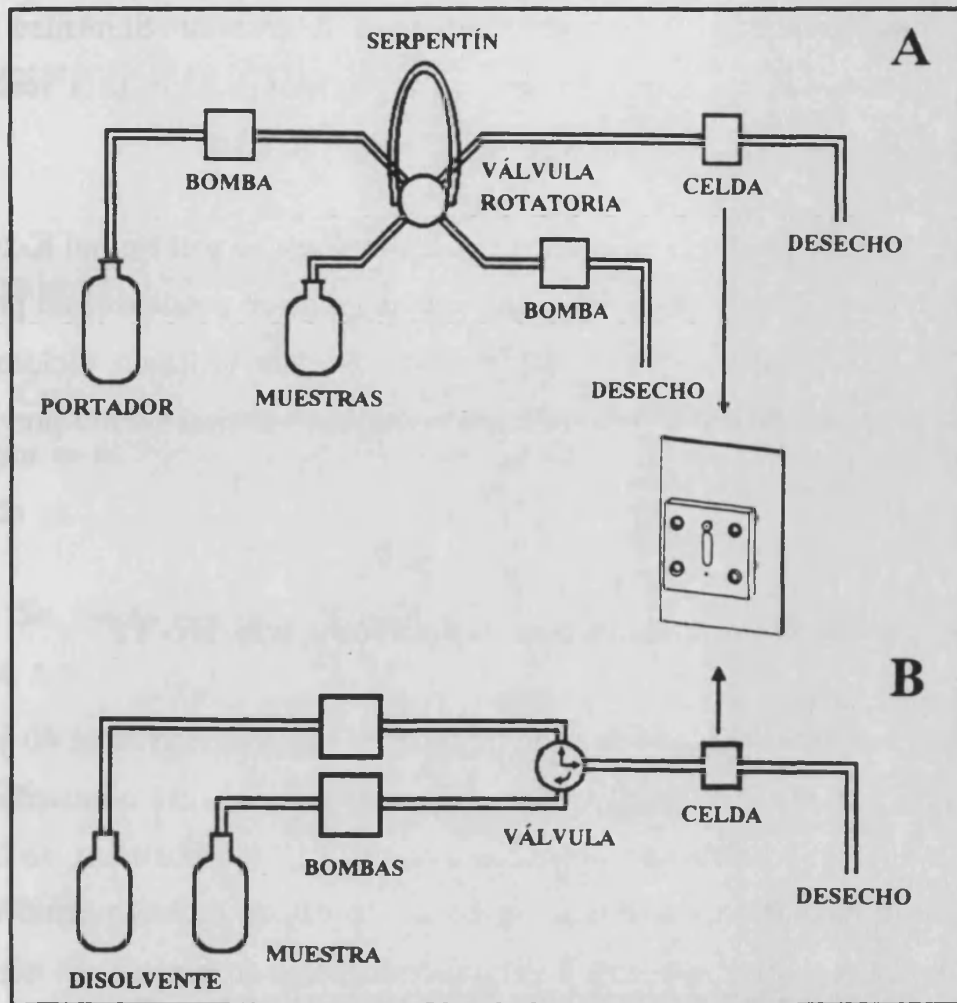


Figura 7.1

Montajes empleados para la determinación de carbaryl por IR-TF en un sistema de flujo: (a) en modo continuo y (b) en flujo parado.

Tal como se ha descrito en anteriores trabajos, se han desarrollado una serie de programas informáticos para procesar las medidas de absorbancia en flujo continuo.

Se ha utilizado un espectrofluorímetro diferencial Shimadzu RF520 equipado con una lámpara de Xenon y un registrador U.135s para realizar las medidas de fluorescencia con una cubeta de cuarzo de 1 cm.

El carbaryl patrón se ha obtenido de Union Carbide y el Nemol K-1030 (un condensado de nonifenol-óxido de etileno con un grado de condensación promedio de 11.7) fue suministrado por Massó y Carol. Se han utilizado diclorometano (Panreac) y xileno (Probus), ambos de grado análisis, sin tratamiento previo.

Determinación de carbaryl por espectrometría IR-TF

Se pesa una cantidad adecuada de muestra (conteniendo entre 40 y 60 mg de carbaryl) y se disuelve en 10 mL de diclorometano. Se filtra o centrifuga para separar la materia no disuelta y, para las medidas en flujo continuo, se inyectan 300 μL de la disolución de la muestra en un caudal de diclorometano de 0.81 mL min^{-1} y se registra el espectro IR-TF continuamente en función del tiempo. Se selecciona el intervalo entre 2000 y 1500 cm^{-1} y se establece la línea base del espectro entre los valores de 1850 y 1650 cm^{-1} . Se mide la altura del pico de absorbancia del registro FIA que se obtiene representando la absorbancia a 1747 cm^{-1} en función del tiempo, para muestras y patrones, y se establece, a partir de estos últimos, la ecuación de la curva de calibrado apropiada. Para las medidas en flujo parado, se llena la celda con disoluciones de la muestra en diclorometano y se acumulan cinco espectros, trabajando con una resolución nominal de 4 cm^{-1} . Más tarde se mide la absorbancia a 1747 cm^{-1} utilizando la línea base entre 1850 y 1650 cm^{-1} . Se establece la curva de calibrado adecuada, bajo las mismas condiciones y a partir de disoluciones de carbaryl en diclorometano.

Cuando se utiliza un paso óptico de 1 mm, la concentración de carbaryl en diclorometano debe ser inferior a 1 mg mL⁻¹.

Determinación espectrofluorimétrica de carbaryl

Con el fin de comparar los resultados obtenidos en el análisis de muestras reales por espectrometría IR-TF en sistemas de flujo, las mismas formulaciones del pesticida se analizan por el siguiente procedimiento espectrofluorimétrico [7.19]:

Se toma una cantidad de muestra y se agita vigorosamente durante 5 minutos con 10 mL de xileno. Se separa y se toman 5 mL de la disolución de xileno y se extraen con 10 mL de NaOH 1 molar durante 10 minutos. Se separa la fase acuosa y se adiciona 5 mL de una disolución acuosa de Nemol K-1030 al 12 % m/v a 5 mL del extracto alcalino. Después de 5 minutos, se mide la fluorescencia del carbaryl, como 1-naftolato, utilizando una longitud de onda de excitación de 336 nm y una longitud de onda de emisión de 454 nm. La curva de calibrado se establece en estas mismas condiciones a partir de disoluciones alcalinas de carbaryl en presencia de Nemol K-1030.

Alternativamente, las medidas espectrofluorimétricas se obtuvieron también en ausencia de tensioactivo y después de la separación previa antes descrita.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectro IR-TF del carbaryl

El espectro IR-TF, en transmitancia, del carbaryl, obtenido en pastilla de KBr, muestra una bandas muy bien definidas para el enlace N-H ($\sim 3400\text{ cm}^{-1}$), el grupo carbonilo ($\sim 1750\text{ cm}^{-1}$) y para los grupos aromáticos (en la zona de la huella dactilar). De cualquier modo, los espectros de formulaciones comerciales que contiene carbaryl muestran serios efectos de la matriz que imposibilitan la determinación directa del contenido del pesticida, como puede verse en la figura 7.2.

El diclorometano es un buen disolvente del carbaryl, pero no disuelve los excipientes que normalmente se emplean en las formulaciones de estos pesticidas que contienen carbaryl. Por consiguiente, el tratamiento de muestras y patrones con diclorometano ofrece una vía directa para la determinación de carbaryl en productos comerciales.

El diclorometano es muy transparente en los intervalos de número de ondas comprendidos entre 2000 y 1300 cm^{-1} y 1250 y 900 cm^{-1} , como se indica en la figura 7.3, y en esta región la banda del carbonilo aparece muy bien resuelta con un máximo de absorbancia a 1747 cm^{-1} . Esta última banda se eligió en lugar de la banda de 1225 cm^{-1} ya que la banda de 1225 cm^{-1} está demasiado cerca de la zona no transparente del disolvente y presenta una línea base bastante mala.

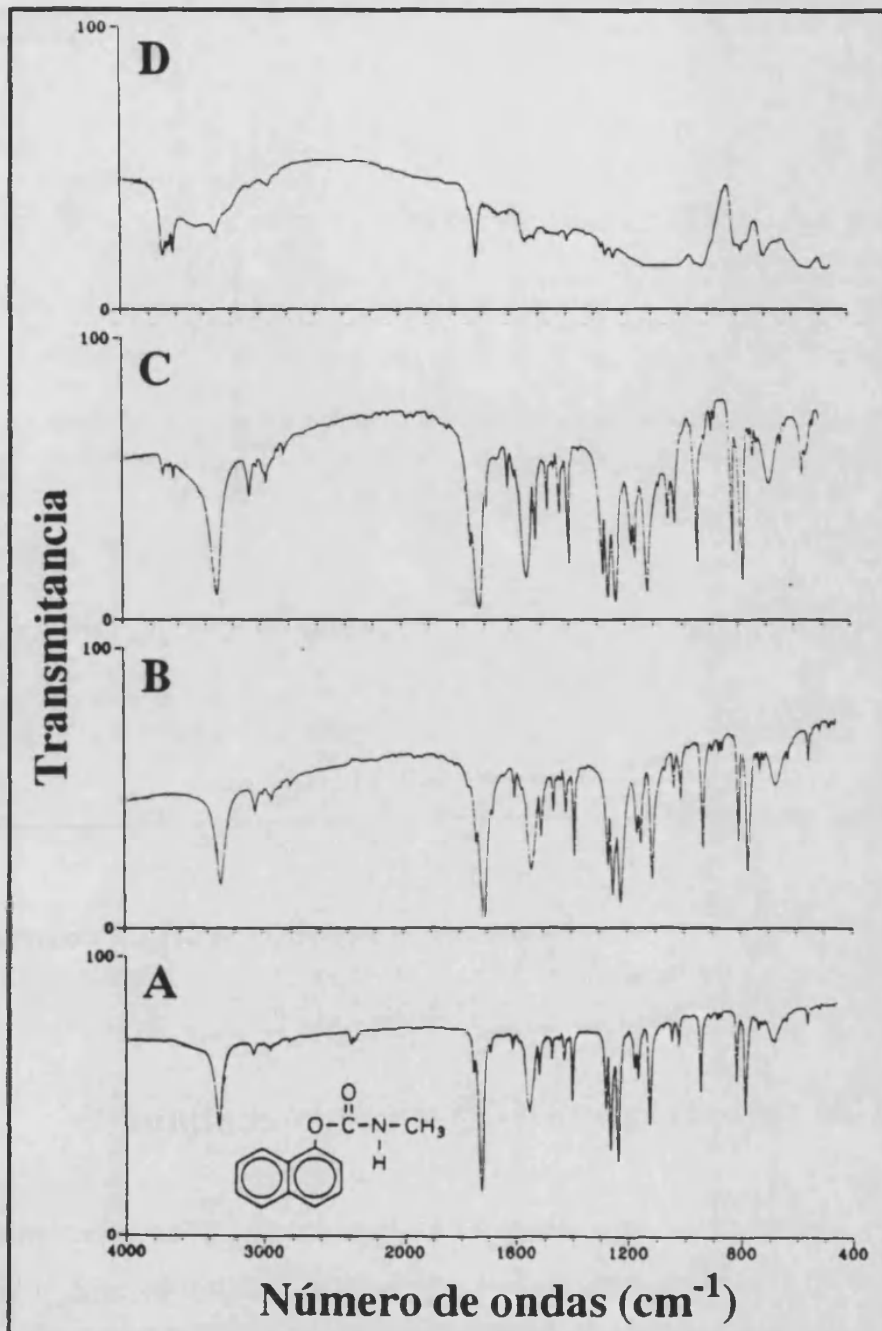


Figura 7.2

Espectros en transmitancia del carbaryl y de formulaciones de pesticidas que contienen carbaryl, obtenidos en pastilla de KBr. (a) Patrón de carbaryl, (b) muestra conteniendo un 90 % m/m de carbaryl, (c) muestra conteniendo 80 % m/m y (d) muestra con un 7.5 % m/m.

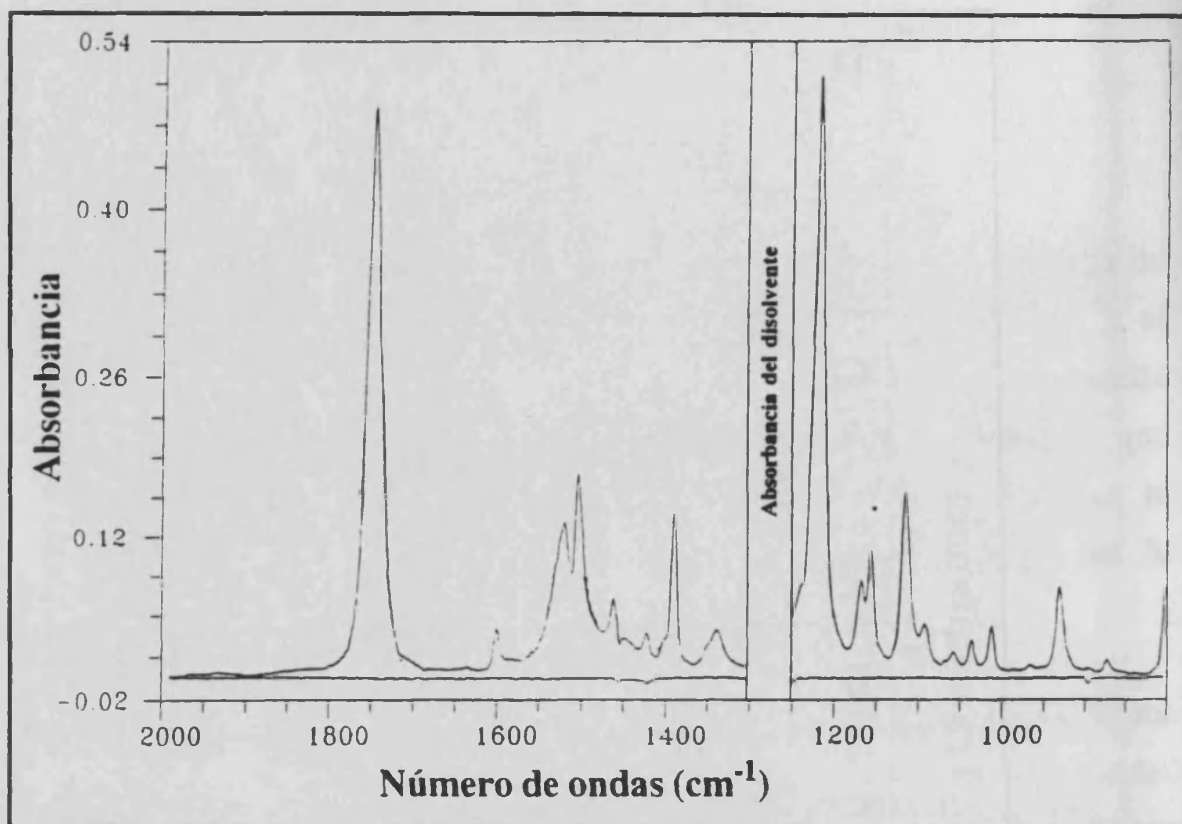


Figura 7.3

Espectro IR-TF en absorbancia de una disolución de CH_2Cl_2 conteniendo 10 mg mL^{-1} de carbaryl.

Análisis de carbaryl por IR-TF en flujo continuo

Utilizando el montaje indicado en la figura 7.1A, se inyectan disoluciones de carbaryl en diclorometano en una corriente de diclorometano y se obtiene el correspondiente registro FIA en función del tiempo. Para una disolución de carbaryl de 5.0 mg mL^{-1} se ha indicado el efecto del volumen de inyección de muestra y del caudal de portador sobre la sensibilidad y la repetibilidad de las medidas IR-TF.

En la figura 7.4 se muestra cómo, para volúmenes de muestra inyectada mayores o iguales a 300 μL , se evita la dilución de la misma en el montaje en flujo y proporciona unos valores de absorbancia a 1747 cm^{-1} comparables con los que se obtienen en sistemas estacionarios.

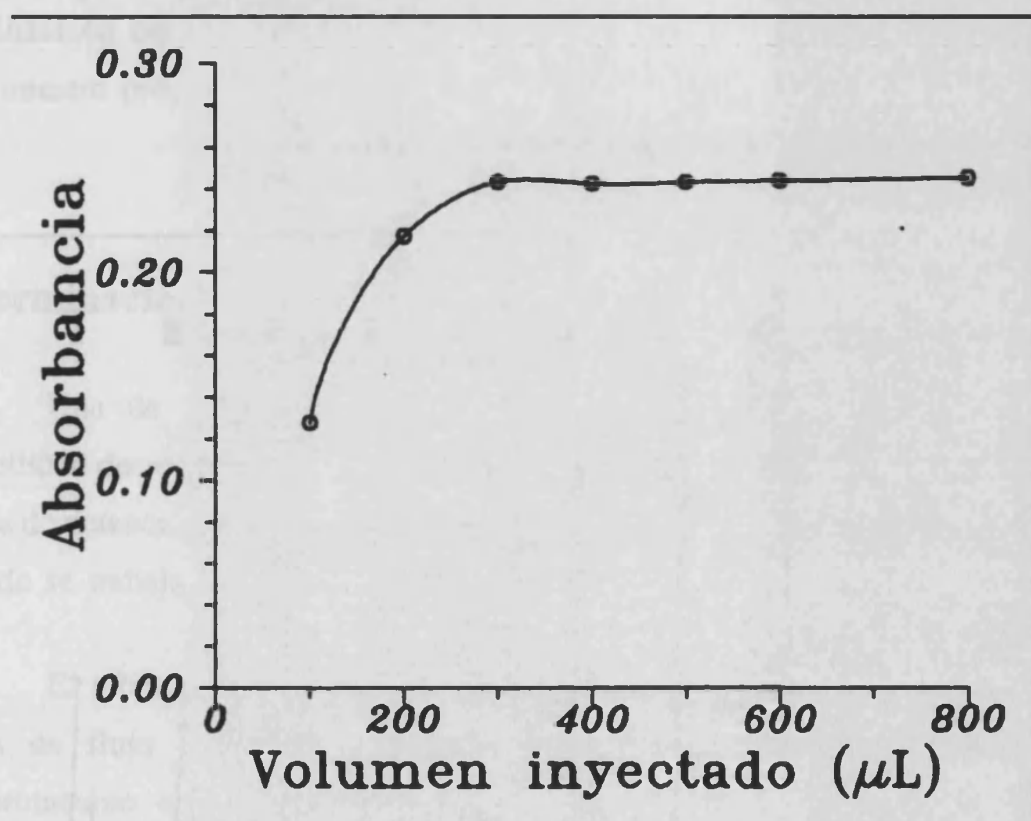


Figura 7.4

Efecto del volumen de muestra inyectada sobre la altura del pico del registro FIA para un caudal de portador de 0.81 mL min^{-1} . Concentración de carbaryl: 5.0 mg mL^{-1} .

Un aumento del caudal de portador reduce drásticamente la altura del pico en el registro de FIA y, como se ve en la figura 7.5, a caudales muy altos la muestra no permanece en la celda en su máxima concentración el tiempo suficiente

para obtener un pico bien definido, todo ello debido al elevado tiempo que se requiere para obtener y guardar el interferograma completo en función del tiempo (se necesitan más de 17 segundos trabajando a un valor de resolución nominal de 4 cm^{-1} y empleando la estación de control 7700). Por lo tanto, el empleo de un caudal de portador de 0.81 mL min^{-1} proporciona la mejor sensibilidad y frecuencia de análisis.

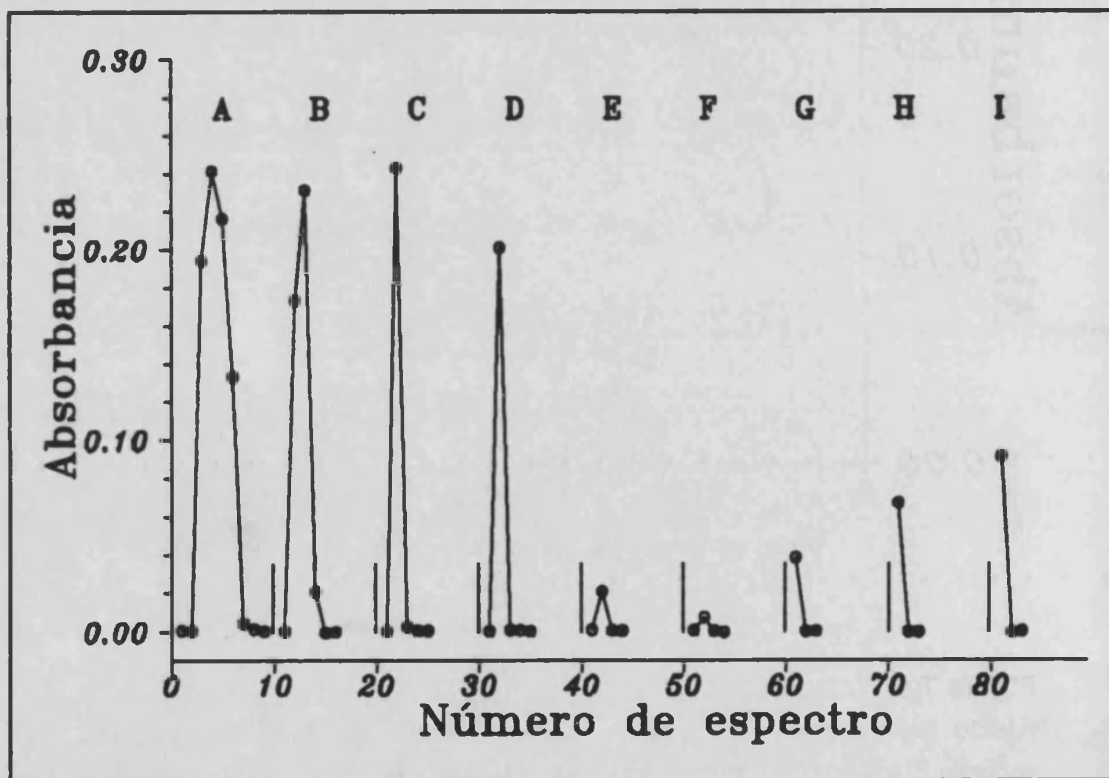


Figura 7.5

Influencia del caudal de portador sobre la altura del pico del registro FIA. Concentración de carbaryl: 5.0 mg mL^{-1} . Los puntos de la figura indican los diferentes espectros a partir de los cuales se obtiene el registro FIA. Caudales de portador: A, 0.27; B, 0.54; C, 0.81; D, 1.08; E, 1.35; F, 1.62; G, 1.89; H, 2.16 y I, 2.43 mL min^{-1} .

Con un caudal de portador de 0.81 mL min^{-1} y un volumen de inyección de $300 \mu\text{L}$, y utilizando un paso óptico de 0.117 mm el carbaryl puede determinarse en un intervalo dinámico de concentraciones de 0.25 a 10 mg mL^{-1} con una sensibilidad de 0.408 unidades de absorbancia $\text{mg}^{-1} \text{ mL mm}^{-1}$. Esta sensibilidad es tres veces mayor que la obtenida por otros autores [7.26], probablemente debido a la utilización del diclorometano en lugar de cloroformo. La frecuencia de análisis para nuestro procedimiento corresponde a 53 inyecciones por hora.

Determinación de carbaryl en flujo parado

Una de las principales ventajas de la transformada de Fourier es la posibilidad de acumular un gran número de espectros, lo cual proporciona un mejor límite de detección en las medidas IR. De cualquier modo esta posibilidad no existe cuando se trabaja en el flujo continuo.

El montaje indicado en la figura 7.1B se ha utilizado para llenar la micro celda de flujo obteniendo las medidas de las disoluciones de carbaryl en diclorometano en flujo parado. De este modo puede obtenerse una máxima sensibilidad y una mejor repetibilidad.

Se ha estudiado el efecto de la resolución nominal y del número de espectros acumulados sobre la sensibilidad, repetibilidad y tiempo requerido para obtener las medidas de absorbancia. La resolución nominal no afecta a la intensidad de las medidas del blanco; de cualquier modo, como puede verse en la figura 7.6, un aumento en el valor de la resolución nominal produce una disminución en la

absorbancia del carbaryl a 1747 cm^{-1} . Por consiguiente, debe utilizarse una resolución nominal de 4 cm^{-1} para el análisis IR-TF.

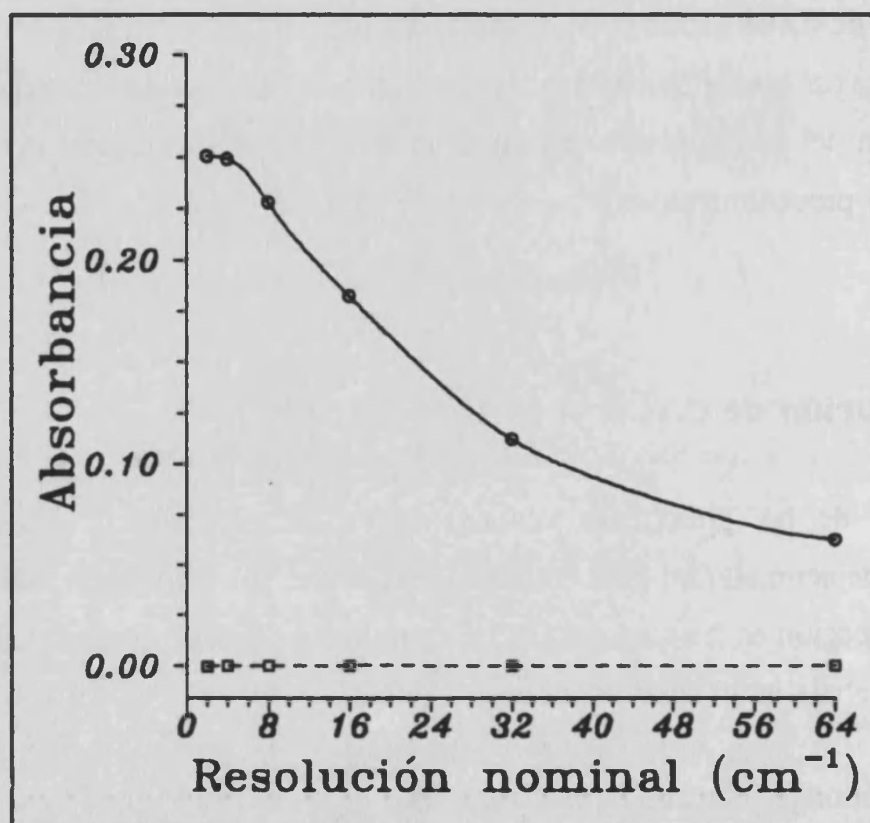


Figura 7.6

Efecto de la resolución nominal sobre la absorbancia del carbaryl. Concentración de carbaryl: 5.0 mg mL^{-1} . Línea discontinua: medidas del blanco de CH_2Cl_2 .

En estas condiciones la sensibilidad es un 99.5 % de la obtenida cuando se trabaja con una resolución nominal de 2 cm^{-1} . Sin embargo el tiempo requerido para obtener y guardar el espectro es de sólo 40 s en lugar de los 63 s necesarios cuando se utiliza la resolución nominal de 2 cm^{-1} .

Un incremento en el número de espectros acumulados no afecta la absorbancia a 1747 cm^{-1} de la disolución de carbaryl pero reduce drásticamente el espectro del fondo; por lo que se obtiene una mejor relación señal/ruido cuando se acumulan espectros. Como puede verse en la figura 7.7, la acumulación de cinco espectros parece ser una buena solución de compromiso en el sentido de obtener un buen límite de detección para una frecuencia de análisis alta.

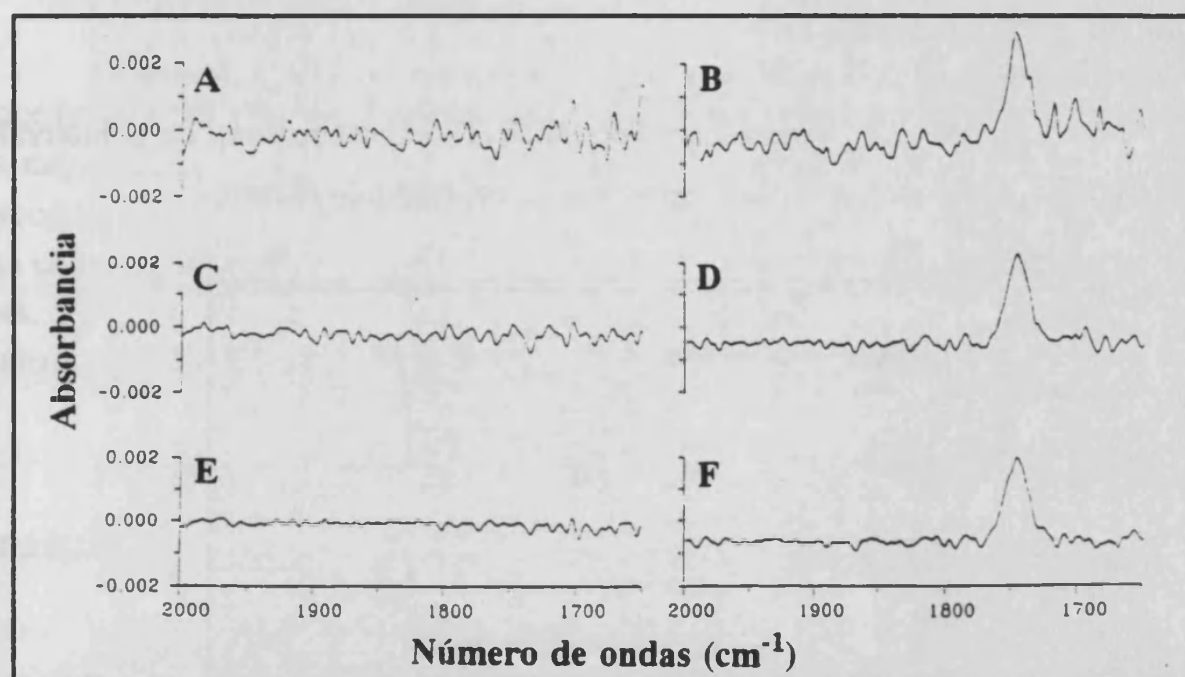


Figura 7.7

Influencia de número de barridos del interferómetro acumulados sobre la medida de la absorbancia en flujo parado. (a) y (b) 1 barrido; (c) y (d) 5 barridos; (e) y (f) 25 barridos. Los espectros (a), (c) y (e) corresponden a CH_2Cl_2 y (b), (d) y (f) corresponden a una disolución de $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de carbaryl. En todos los casos se ha trabajado con un paso óptico de 0.117 mm .

En las condiciones antes señaladas y utilizando un paso óptico de 0.117 mm , se obtiene un intervalo dinámico comprendido entre 0.125 y 10 mg mL^{-1} de carbaryl con una sensibilidad de 0.423 unidades de

absorbancia $\text{mg}^{-1} \text{ mL mm}^{-1}$, que proporciona un incremento del 3.6 % de la sensibilidad en comparación con el valor obtenido en el análisis en flujo continuo. De cualquier modo, se obtiene un límite de detección de $11 \mu\text{g mL}^{-1}$ en flujo parado para un nivel de probabilidad del 99.6 % ($k=3$) [7.40], que pone de manifiesto la buena relación señal/ruido de fondo que se obtiene cuando se trabaja acumulando 5 barridos del interferómetro. La frecuencia de análisis en este caso es de 90 inyecciones por hora.

La figura 7.8 muestra los espectros IR-TF en absorbancia, en el intervalo de 2000 a 1500 cm^{-1} , que corresponden a un calibrado de carbaryl.

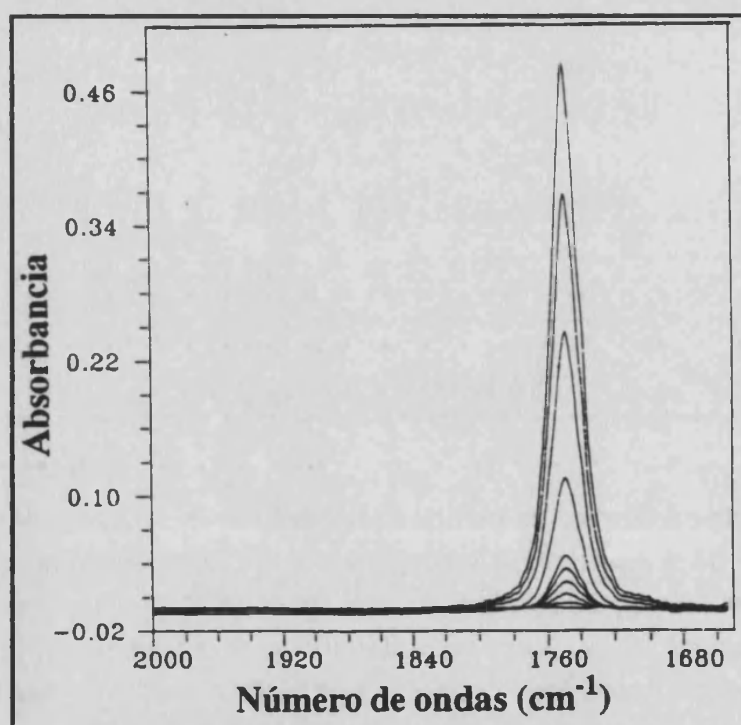


Figura 7.8

Espectros IR-TF, en absorbancia, de disoluciones de carbaryl, obtenidos en flujo parado y acumulando 5 barridos.

Características analíticas de la determinación IR-TF de carbaryl

La tabla 7.I resume los parámetros analíticos de la determinación de carbaryl en disoluciones de diclorometano utilizando tanto el análisis en flujo continuo como en flujo parado y para dos valores de paso óptico. Como puede verse el procedimiento es muy sensible y reproducible y permite un límite de detección del orden de $1.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ en las mejores condiciones.

La utilización del paso óptico de 1 mm incrementa la sensibilidad del procedimiento y permite un buen límite de detección. De cualquier modo, cuando las medidas se realizan en flujo continuo es necesario emplear un volumen de inyección de 500 μL para evitar la dispersión de la muestra dentro de la celda y esta es la razón por la que la frecuencia de análisis se reduce a 42 inyecciones por hora. Por otra parte, un aumento del paso óptico no modifica la frecuencia de análisis cuando se trabaja en flujo parado.

Análisis de formulaciones de pesticidas

Se analizaron tres muestra comerciales de formulaciones de pesticidas con contenidos teóricos del 7.5, 85 y 90 % m/m de carbaryl por espectrometría IR-TF utilizando tanto el modo flujo continuo como el flujo parado, y también por el método espectrofluorimétrico [7.19] indicado en la sección de **PARTE EXPERIMENTAL**. Los resultados encontrados se resumen en la tabla 7.II.

Todos los métodos proporcionan precisiones comparables de los resultados analíticos, pero el procedimiento IR-TF proporciona una mejor reproducibilidad debido a la gran dilución que se requiere para obtener valores de emisión de fluorescencia dentro del intervalo dinámico de concentraciones del análisis espectrofluorimétrico de estas formulaciones de pesticidas.

Tabla 7.1

Características analíticas de la determinación de Carbaryl por espectrometría IR-TF.

PARÁMETRO	ANÁLISIS EN FLUJO CONTINUO		ANÁLISIS EN FLUJO PARADO	
	Paso óptico empleado mm	0.117	1.0	0.117
SENSIBILIDAD ua mg mL ⁻¹ mm ⁻¹	0.408	0.425	0.423	0.446
LD mg mL ⁻¹	-	-	0.011	0.0016
C.V. en % x ± s	0.5 0.224 ± 0.001	0.8 0.245 ± 0.002	0.2 0.2929 ± 0.0005	0.3 0.2591 ± 0.0007
INTERVALO DINÁMICO Carbaryl mg mL ⁻¹	0.25 - 10	0.05 - 1.0	0.125 - 10	0.0125 - 1.0
Frecuencia de análisis (h ⁻¹)	53	42*	90	90

LD = Límite de detección (k=3) para un nivel de confianza del 99.6 %.

C.V. = Coeficiente de variación, para 10 medidas independientes de una muestra.

* En este caso era necesario un volumen de inyección de 500 µL para evitar la dilución de la muestra dentro de la celda de flujo.

Tabla 7.II

Resultados obtenidos para el análisis de formulaciones comerciales de pesticidas conteniendo carbaryl.

CARBARYL ENCONTRADO (% en m/m) EN MUESTRAS COMERCIALES					
MUESTRA	CONTENIDO TEÓRICO	FIA-IR-TF		ANÁLISIS FLUORIMÉTRICO	
		FLUJO PARADO	FLUJO CONTINUO	MEDIO ACUOSO	MEDIO MICELAR
1	7.5 %	7.20 ± 0.06	7.28 ± 0.04	7.3 ± 0.2	7.4 ± 0.2
2	85 %	83.67 ± 0.04	84 ± 1	83 ± 1	84 ± 1
3	90 %	91.4 ± 0.2	92 ± 0.1	87.5 ± 0.9	89 ± 1

La sensibilidad obtenida con el procedimiento desarrollado y la alta concentración de carbaryl en las muestras analizadas permite trabajar a diferentes niveles de dilución de la muestra en diclorometano. En este sentido, los datos de la tabla 7.III indican que la exactitud de la determinación IR-TF de carbaryl no está afectada por la cantidad de muestra empleada para realizar la determinación y sólo la repetibilidad de las medidas disminuye cuando la concentración decrece en aproximadamente 1.5 ordenes de magnitud.

Por otra parte, la sensibilidad obtenida en las medidas de la absorbancia en flujo parado abre nuevas posibilidades para la determinación IR-FT de residuos de Carbaryl en aguas y cultivos después de una extracción adecuada en diclorometano.

Tabla 7.III

Efecto de la dilución de la muestra en el análisis IR-TF de una muestra comercial con un contenido teórico de carbaryl del 7.5 % m/m.

DILUCIÓN DE LA MUESTRA (% en m/v)	CARBARYL ENCONTRADO (% en m/m)
0.25 %	7.3 ± 0.1
0.50 %	7.28 ± 0.09
0.75 %	7.16 ± 0.03
1.00 %	7.20 ± 0.06
2.50 %	7.27 ± 0.02
5.00 %	7.25 ± 0.02
7.50 %	7.21 ± 0.02
10.00 %	7.27 ± 0.02

CONCLUSIONES

Estos estudios indican que el carbaryl se puede determinar en formulaciones de pesticidas de forma exacta, precisa y rápida por espectrometría IR-TF acoplada a un sistema de flujo, después de disolver las muestras en diclorometano. La realización de las medidas en flujo parado, acumulando 5 espectros, con una resolución nominal de 4 cm^{-1} proporciona una alta repetibilidad de las medidas y un límite de detección del orden de $1.6\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO 7

- 7.1 H. Martin y C. R. Worthing, *Pesticide Manual*, 5ª edición, British Crop Protection Council. Worcestershire, 1976.
- 7.2 G. F. Ernst, S. J. Roder, G. H. Tjan y J. T. A. Jansen, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1975, **58**, 1015.
- 7.3 M. D. Osselton y R. D. Snelling, *J. Chromatog.*, 1986, **368**, 265.
- 7.4 S. Sakane, *Agric. Biol. Chem.*, 1987, **51**, 1239.
- 7.5 R. T. Krause y E. M. Agust, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1983, **66**, 234.
- 7.6 M. Deberardinis y W. A. Wargin, *J. Cromatog.*, 1982, **246**, 89.
- 7.7 R. T. Krause, *J. Chromatog.*, 1988, **442**, 333.
- 7.8 B. D. McGarvey, *J. Chromatog.*, 1989, **481**, 445.
- 7.9 *Carbaryl EPA*, 1 October 1975.
- 7.10 K. M. Appaiah, R. Ramakrishna, R. R. Sabbarao y O. Kapur, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1982, **65**, 32.
- 7.11 C. S. P. Satry y D. Vijaya, *Talanta*, 1987, **34**, 372.
- 7.12 C. S. P. Satry, D. Vijaya y D. S. Mangala, *Analyst*, 1987, **112**, 75.
- 7.13 S. Y. Su, E. B. Asafu-Adjaye y S. Ocak, *Analyst*, 1984, **109**, 1019.
- 7.14 A. D. Campiglia y C. G. Lima, *Anal. Chem.*, 1987, **59**, 2822.

- 7.15 R. J. Arganer, *Pesticides in Analytical Methodology*, American Chemistry Soc., Washington D.C., 1980.
- 7.16 M. J. Laskin y M. J. Day, *Anal. Chim. Acta.*, 1979, **108**, 425.
- 7.17 L. A. Files y J. D. Winefordner, *J. Agric. Food Chem.*, 1987, **35**, 471.
- 7.18 F. García-Sánchez y C. Cruces-Blanco, *Talanta*, 1990, **37**, 573.
- 7.19 J. Sancenón, J. L. Carrión y M. de la Guardia, *Talanta*, 1989, **36**, 1165.
- 7.20 J. Sancenón, J. L. Carrión y M. de la Guardia, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1990, **336**, 389.
- 7.21 E. Papadopoulou-Mourkindou, Y. Iwata y F. A. Gunther, *J. Liq. Chromatogr.*, 1981, **4**, 1663.
- 7.22 K. C. Ting, P. K. Kho, A. S. Musselman, G. A. Root y G. R. Tichelaar, *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 1984, **33**, 538.
- 7.23 C. Fujimoto, T. Oosuka y K. Jinno, *Anal. Chim. Acta.*, 1985, **178**, 159.
- 7.24 C. D. Wilcox y R. M. Phelan, *J. Chromatogr. Sc.*, 1986, **24**, 130.
- 7.25 S. Wachholz, H. Geissler, G. Permer G. y J. Bleck, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1988, **329**, 768.
- 7.26 W. Horwitz (editor), *Official Methods of Analysis of the Assoc. of Off. Anal. Chem.*, 12ª edición, Washington D.C., 114.
- 7.27 J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2ª edición, Wiley, Nueva York, 1988.

-
- 7.28 M. Valcarcel y M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- 7.29 J. Sancenón y M. de la Guardia, *Quim. Anal.*, (en imprenta).
- 7.30 D. J. Curran y W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta.*, 1985, **177**, 259.
- 7.31 D. K. Morgan, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1985, **18**, 1979.
- 7.32 S. V. Olesik, S. B. French y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- 7.33 B. E. Miller, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 7.34 M. Guzman, J. Ruzicka y G. D. Christian, *Vib. Spectrosc.*, 1991, **2**, 1.
- 7.35 P. T. McKittrick, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Microchem. J.*, 1991, **44**, 105.
- 7.36 M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J. L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **261**, 53.
- 7.37 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1993, **40**, 89.
- 7.38 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Analyst*, 1992, **117**, 1849.
- 7.39 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta.*, 1993, **274**, 267.
- 7.40 I.U.P.A.C., *Anal. Chem.*, 1976, **48**, 2294.

Capítulo 8

PRECONCENTRACIÓN EN LÍNEA Y DETERMINACIÓN DE CARBARYL POR ESPECTROMETRÍA IR-TF EMPLEANDO SISTEMAS DE FLUJO

RESUMEN

Se ha desarrollado una nueva estrategia para mejorar el límite de detección en espectrometría infrarroja por transformadas de Fourier (IR-TF). El método propuesto consiste en la preconcentración de las muestras, empleando cartuchos convencionales de extracción en fase sólida (EFS), y la elución en línea con diclorometano, llevando a cabo las medidas por espectrometría IR-TF. Se ha utilizado el carbaryl como molécula testigo y las medidas en línea se han realizado sobre la banda que presenta a 1746 cm^{-1} . Este procedimiento permite: i) el muestreo *in situ*, ii) la estabilización del pesticida, y iii) la determinación rápida del carbaryl en el laboratorio. La sensibilidad obtenida por este procedimiento tiene un valor de 0.044 unidades de área por $\mu\text{g}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ y el límite de detección corresponde a $15\text{ }\mu\text{g}$ de carbaryl que, para un volumen de muestreo de 1 L, puede establecerse en $15\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ (ppb) de este pesticida. La reproducibilidad para tres análisis independientes de una muestra de agua de pozo que contiene $195\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de carbaryl corresponde a una desviación típica relativa del 8.6 %.

INTRODUCCIÓN

La combinación sinérgica entre el análisis en flujo (FIA) y la espectrometría infrarroja por transformadas de Fourier, que se ha desarrollado en los últimos ocho años [8.1-8.15] proporciona:

i) un modo simple y rápido de llenar y limpiar la celda de flujo, ii) un consumo bajo de reactivos, iii) la monitorización de forma continua de la línea base del espectro y la determinación exacta del máximo de la banda de absorción, y iv) la determinación simultánea de una serie de compuestos en una misma muestra [8.4,8.5,8.10,8.13,8.15].

También, la introducción del acoplamiento FIA-IR-TF con el empleo de la derivada del espectro de absorbancia ha permitido la determinación directa de varios componentes en matrices complejas sin la necesidad de un tratamiento previo de las mismas [8.8,8.14,8.15].

De cualquier modo, la utilización de la espectrometría IR-FT en el análisis cuantitativo de compuestos a niveles de traza continúa teniendo una serie de problemas y los esfuerzos realizados en el sentido de mejorar los límites de detección de esta técnica, utilizando procedimientos como es el análisis en flujo parado [8.5,8.12], no proporciona la respuesta adecuada. Esto pone de manifiesto que la baja sensibilidad de las determinaciones por espectrometría IR debe superarse por otros procedimientos.

El análisis en flujo es una fantástica herramienta para acoplar a diferentes técnicas y es especialmente interesante impulsar el *tándem* entre los métodos de separación y los de determinación. Los excelentes resultados obtenidos en la preconcentración en línea de elementos metálicos mediante el FIA y técnicas de espectrometría atómica [8.16,8.17] nos ha animado a aplicar este tipo de estrategias al incremento de la sensibilidad del análisis IR-TF de pesticidas.

Entre las diferentes técnicas propuestas en la literatura para la preconcentración de pesticidas, se ha seleccionado la extracción en fase sólida (EFS), ya que proporciona una vía fácil para la preconcentración en línea y no requiere grandes volúmenes de disolventes orgánicos ni el uso de complicados montajes para la separación de las fases [8.18-8.20].

La EFS se ha aplicado a la preconcentración en línea de pesticidas y su determinación por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). En algunos casos, se han usado precolumnas para la preconcentración y lavado de los pesticidas presentes en muestras de aguas naturales antes de su determinación por HPLC [8.21-8.23] pero, en general, pueden emplearse pequeños cartuchos de plástico rellenos con la fase sólida adecuada, disponibles comercialmente, para este propósito.

Para la preconcentración de carbaryl y otros pesticidas de tipo carbamato se han empleado diferentes tipos de fase, como son Carbopack [8.24], C8 [8.25] y C18 [8.26-8.30]. Para la elución del carbaryl, retenido a partir de las muestras de agua por los cartuchos de EFS, se han propuesto diferentes tipos de disolventes orgánicos: metanol [8.26,8.30], acetonitrilo [8.27], diclorometano [8.29], mezclas de diclorometano y metanol [8.24], de hexano y éter etílico [8.28] y de diclorometano-acetonitrilo-hexano [8.25]. Para la preconcentración en línea por EFS

y determinación por HPLC la mayor parte de los trabajos publicados emplean detectores ultravioleta-visible; no obstante, también han empleado la espectrometría de masas e incluso detectores IR [8.31]. De cualquier forma, no se ha encontrado ninguna referencia acerca del empleo de la EFS para la preconcentración de carbaryl, o de otros pesticidas de tipo carbamato, y su posterior determinación por espectrometría IR-TF.

La intención del presente trabajo es la de acoplar la EFS con la espectrometría IR-TF mediante la utilización de los conceptos de análisis en flujo de manera que se pueda mejorar el límite de detección en el análisis de pesticidas por espectrometría IR-TF. En este estudio se ha preferido llevar a cabo todo el procedimiento en dos pasos consecutivos: el muestreo *in situ* y la posterior elución en línea y determinación por IR-TF; en lugar de realizar todo el proceso en línea, ya que para el análisis de muestras reales es preferible tomar la muestra *in situ* y después enviar las muestras estabilizadas al laboratorio donde serán analizadas.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos y reactivos

Se ha utilizado un espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier Perkin Elmer modelo 1750, con un detector piroeléctrico FR-DTGS y equipado con una estación de control 7700, para obtener los espectros trabajando con una resolución nominal de 4 cm^{-1} . Se ha utilizado una micro celda de flujo SPECAC (Orpinngton, Reino Unido) con ventanas de seleniuro de zinc y con un espaciador de plomo de 0.5 mm. La instrumentación empleada es muy lenta y necesita 17

segundos para obtener el interferograma correspondiente de la muestra, calcular el espectro de transmitancia y guardarlo en un disco magnético (bien sea flexible o disco duro). Para este propósito se ha desarrollado una serie de programas informáticos, escritos tanto en lenguaje OBEY como en BASIC, que ya se han descrito en trabajos previos [8.7,8.11].

Se han utilizado, para la concentración de carbaryl en muestras de agua, cartuchos Bond Elut C18 octadecil (VARIAN) con un tamaño promedio de partícula de 35 μm y con una área de superficie específica de 420 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$. Se han realizado experiencias adicionales con otros tipos de fase sólida, del tipo C8 octil, C2 etil, CH ciclohexil, PH fenil y CN cianopropil (de SUPELCO), y C18 octadecil y t-C18 octadecil (de MILLIPORE), éstos últimos en cartuchos tanto del tipo Sep-Vac como Sep-Plus.

Se preconcentraron muestras acuosas conteniendo carbaryl en los cartuchos utilizando una bomba peristáltica Spetec Perimax 12 (Alemania) de seis canales y el montaje indicado en la figura 8.1A que permite la carga simultánea de varias muestras empleando tubos de vinilo con un diámetro interior de 2.97 mm. Después de esto, el montaje indicado en la figura 8.1B permite secar simultáneamente los cartuchos cargados, de manera que se elimine el agua retenida por el relleno de fase sólida empleada. Todos estos pasos pueden efectuarse en el área de toma de muestra y, después, las muestras estabilizadas se envían al laboratorio para su análisis.

Se ha empleado el montaje indicado en la figura 8.1C para la elución en línea del carbaryl con diclorometano y su determinación por espectrometría IR-TF, utilizando la instrumentación descrita así como tubos de VITON^R (iso-versinic) de

1 mm de diámetro interno para transportar el portador. Todos los tubos de conexión del montaje están fabricados de TEFLON, con un diámetro interno de 0.8 mm.

El carbaryl fué suministrado por Union Carbide y el diclorometano y el metanol de calidad análisis por Panreac. Todos los reactivos se han empleado sin ninguna purificación adicional.

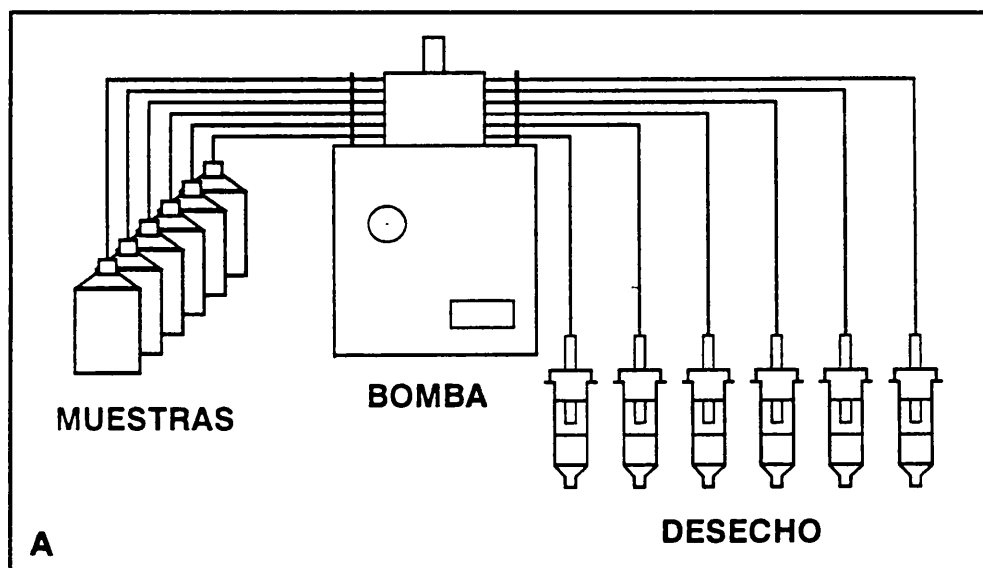


Figura 8.1

Montajes empleados en el presente estudio.

1A) Para la toma de muestras y preconcentración de carbaryl *In situ*.

1B) Para el secado de los cartuchos cargados (pág 253).

1C) Para la elución en línea y determinación IR-TF de carbaryl (pág 253).

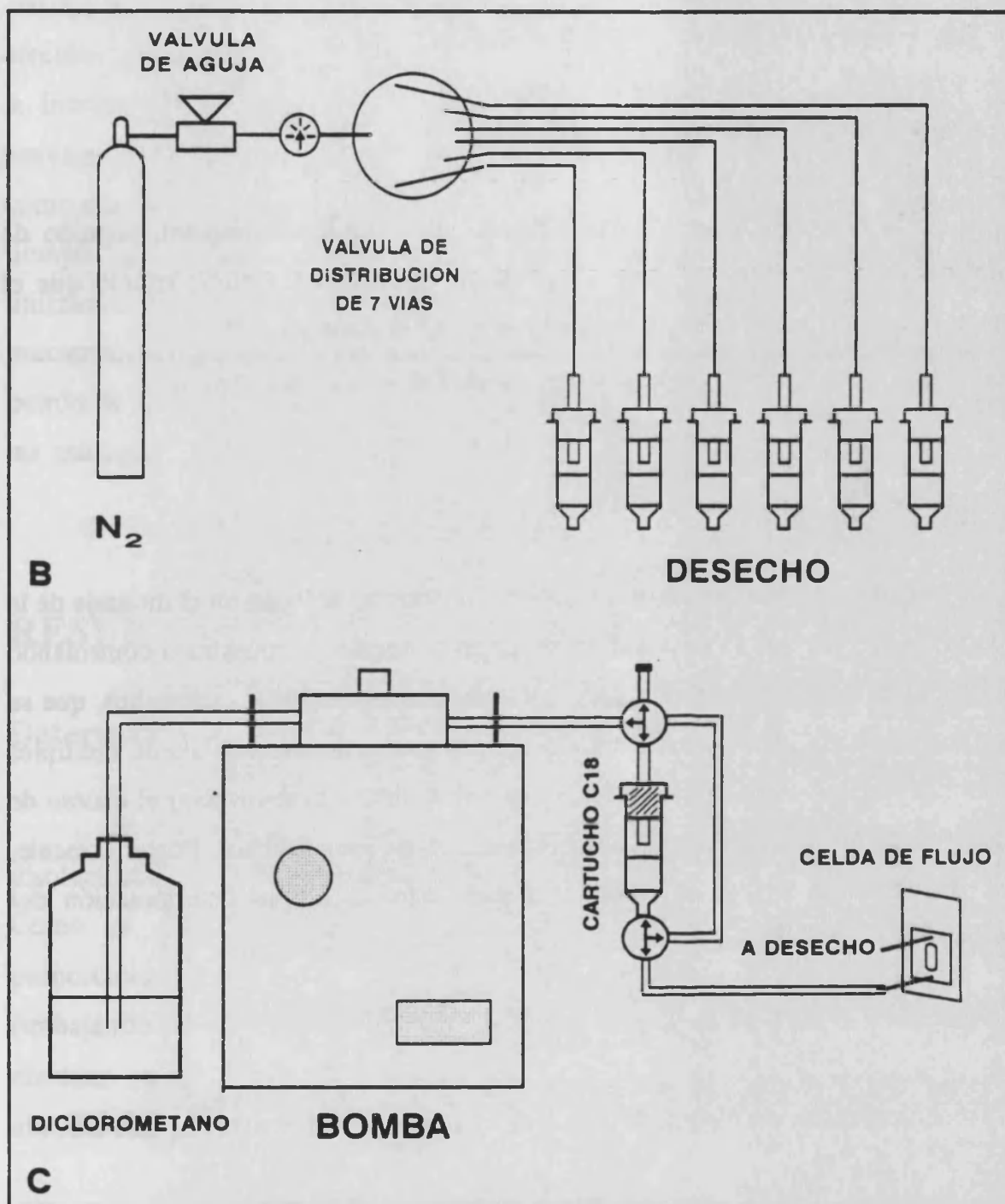


Figura 8.1

(Continuación)

PROCEDIMIENTO GENERAL

Acondicionamiento de los cartuchos de EFS

Para acondicionar los cartuchos se pasa 1 mL de metanol, seguido de 0.5 mL de agua, antes de pasar la muestra, evitando en todo momento que el relleno de fase sólida se seque después de pasar el metanol.

Muestreo *in situ*

Los cartuchos, previamente acondicionados, se colocan en el montaje de la figura 8.1A y se cargan pasando un volumen conocido de muestra o controlando el caudal y la duración del muestreo. Después de esto, todos los cartuchos, que se han cargado simultáneamente, se conectan por medio de una válvula de múltiples vías y se adaptan a una corriente de N₂ seco que servirá para eliminar el exceso de agua que ha quedado retenida o absorbida dentro de los cartuchos. Posteriormente, los cartuchos se envían al laboratorio para efectuar allí la determinación del carbaryl.

Determinación en línea de carbaryl por espectrometría IR-TF

Los cartuchos cargados se colocan en el montaje indicado en la figura 8.1C y se eluyen en línea con una corriente controlada de diclorometano. Cuando el disolvente alcanza la zona de medida, se para el flujo y se registra un primer

interferograma, después de esto, la bomba se conecta de nuevo y las medidas se efectúan de forma continua. A partir de los espectros obtenidos en el dominio de la frecuencia, las medidas de absorbancia se efectúan a 1746 cm^{-1} , después de suavizar el espectro, utilizando la medida del valor de la absorbancia a 1875 cm^{-1} como corrección de la línea base. El área de los picos FIA obtenidos en función del tiempo, mediante medidas de la absorbancia efectuadas a 1746 cm^{-1} , se calcula utilizando el método de Simpson, y el valor obtenido, que corresponde a las muestras, se interpola en la curva de calibrado establecida a partir de disoluciones patrón de carbaryl que se han retenido en los cartuchos de EFS y se han eluido en las mismas condiciones que las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación IR-TF de carbaryl

El carbaryl puede determinarse con exactitud por espectrometría IR-TF en disoluciones de diclorometano, seleccionando la banda del carbonilo a 1747 cm^{-1} . Como ya se ha descrito previamente por nuestro grupo [8.12], el método proporciona un intervalo dinámico de concentraciones entre 12.5 y $1000\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ (trabajando en flujo parado y con un espaciador de 1 mm). Cuando las medidas se efectúan en FIA la sensibilidad que se obtiene corresponde a 0.425 unidades de absorbancia $\text{mg}^{-1}\text{ mL mm}^{-1}$ y el límite de detección es inferior a $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para la determinación de carbaryl en muestras de agua, previa preconcentración en línea en cartuchos de EFS, uno de los problemas más importantes está relacionado con la presencia de cantidades residuales de agua en

las muestras eluidas, esta es la razón por la que es preciso utilizar en las celdas ventanas de ZnSe que no son atacadas por el agua. De cualquier modo, como puede verse en la figura 8.2, la presencia de agua en las disoluciones de carbaryl en diclorometano no afecta a las medidas de absorbancia a 1746 cm^{-1} . No obstante, para trabajar con esta banda se debe establecer una línea base horizontal apoyándose en el valor de absorbancia a 1875 cm^{-1} ; de este modo la presencia del agua no interfiere en las medidas de la absorbancia del carbaryl.

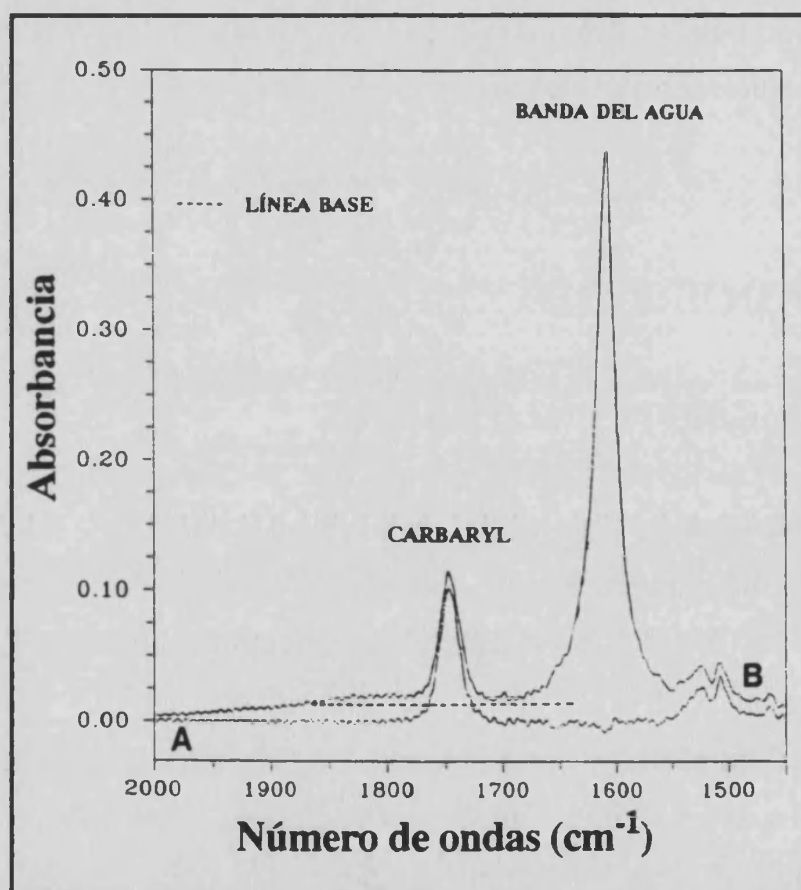


Figura 8.2

Espectro IR, en absorbancia, de dos disoluciones de carbaryl A) una CH₂Cl₂ puro y la segunda B) en CH₂Cl₂ saturado de agua. Concentración de carbaryl: 0.5 mg mL^{-1} .

Preconcentración del carbaryl por extracción en fase sólida

El carbaryl posee una escasa solubilidad en agua pero es muy soluble en disolventes orgánicos polares. Por esta razón es de esperar que el carbaryl presente en una muestra acuosa se retenga cuantitativamente por una fase sólida del tipo de la C18 y después se eluya fácilmente con diclorometano.

Experiencias previas, efectuadas con cartuchos que contenían 500 mg de fase C18, demostraron que pasando 100 mL de una disolución acuosa, conteniendo $25.4 \mu\text{g mL}^{-1}$ de carbaryl, a través del cartucho, secándolo posteriormente con un flujo de N_2 durante 10 minutos y eluyéndolo después con tres fracciones de 1 mL de diclorometano, el carbaryl podía retenerse y luego eluirse de forma cuantitativa.

El porcentaje medio de recuperación de carbaryl, utilizando un mismo cartucho cargado y eluido consecutivamente 10 veces, fue del $92.9 \pm 1.4 \%$. Además, la recuperación de carbaryl en diferentes experiencias efectuadas en las mismas condiciones pero utilizando cinco cartuchos diferentes proporcionó un porcentaje medio de recuperación del $92.7 \pm 1.3 \%$.

Los resultados obtenidos indican que los cartuchos de C18, disponibles comercialmente, proporcionan una retención cuantitativa y reproducible del carbaryl, presente en muestras acuosas, al mismo tiempo que ponen de manifiesto la idoneidad del diclorometano como eluyente de este pesticida.

El hecho de que se obtengan los mismos resultados, tanto cuando se trabaja con el mismo cartucho de forma continuada como cuando se trabaja con cartuchos diferentes, indica que los mismos cartuchos pueden reutilizarse varias veces y que se pueden efectuar varias tomas de muestra de manera simultánea, utilizando

distintos cartuchos del mismo tipo. Todos estos aspectos son muy interesantes desde el punto de vista del ahorro, tanto económico como de tiempo, que se puede obtener para este tipo de muestreo y de análisis.

Elución en línea del carbaryl

En base a los resultados anteriores, obtenidos para el análisis en régimen estático, los cartuchos de C18, ya cargados y secos, se colocaron en el montaje de FIA indicado en la figura 8.1C y el carbaryl se eluyó en línea con una corriente portadora de diclorometano y se midió por espectrometría IR-TF.

Se han utilizado tres estrategias diferentes para la elución en línea en base a:

- i) la elución y medida de forma continua del carbaryl con una disolución portadora,
- ii) la elución del carbaryl con diclorometano, medida del espectro de la primera fracción del disolvente que llega a la celda y, a partir de ese momento, monitorización continua del eluyente, y
- iii) la introducción a contracorriente de 1 mL de diclorometano dentro del cartucho cargado y posterior elución de éste realizando un control continuo de los espectros IR-TF.

Entre los tres procedimientos ensayados el tercero de ellos, que supone un concepto diferente de elución, proporciona los picos más estrechos pero complica la parte experimental. Para ello es necesario incorporar al montaje dos válvulas direccionales de tres vías para poder controlar la introducción a contracorriente de un volumen de diclorometano, que previamente se ha retenido en un serpentín de

TEFLON situado entre las dos válvulas, invirtiendo el flujo de la bomba peristáltica, para posteriormente efectuar la elución del carbaryl retenido en el cartucho.

Los dos primeros procedimientos constituyen una forma sencilla de eluir los cartuchos en un tiempo mínimo y no requieren una atención especial por parte del operador. De estas dos estrategias la primera de ellas consume más memoria que la segunda y, además, el tratamiento de los picos de elución muy estrechos causa problemas con la instrumentación utilizada. Por todo ello para la elución en línea de los cartucho es preferible fijar el primer espectro del eluyente, parando el flujo, y después registrar de forma continua los espectros. Después de estos los espectros son suavizados, y las medidas de absorbancia se realizan a 1746 cm^{-1} , teniendo en cuenta la línea base que se establece a 1875 cm^{-1} , y posteriormente se determina el área del pico FIA que se obtiene al registrar los valores corregidos de absorbancia en función del tiempo. Es preferible utilizar los valores de área del pico en lugar de los de altura del pico ya que pequeñas diferencias en la humedad del relleno de la fase sólida, cambios en el caudal del portador o en la concentración del carbaryl, pueden modificar el tiempo de elución del pesticida y afectan a la reproducibilidad de las medidas de altura de pico. En la figura 8.3 se muestran como ejemplo los registros obtenidos para cinco cartuchos diferentes cargados con 100 mL de una disolución de $2.54\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de carbaryl y eluidos con un caudal portador de diclorometano de 0.26 mL min^{-1} .

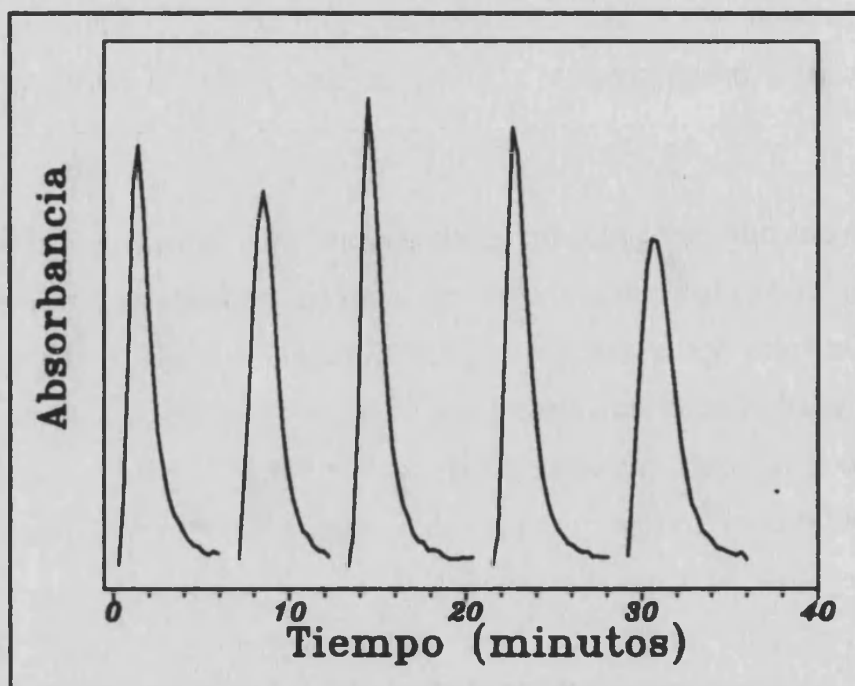


Figura 8.3

Repetibilidad en la preconcentración en línea por EFS y determinación IR-TF de carbaryl.

Condiciones experimentales: 100 mL de una disolución de carbaryl de $2.54 \mu\text{g mL}^{-1}$ preconcentrados en un cartucho conteniendo 500 mg de fase C18, trabajando con un caudal de toma de muestra de 9.2 mL min^{-1} y eluidos con CH_2Cl_2 a un caudal de 0.26 mL min^{-1} .

Efecto de la naturaleza de la fase sólida en la concentración mediante EFS y elución del carbaryl

Se han realizado una serie de experiencias utilizando distintos tipos de fase sólida, como la C18 octadecil, C8 octil, C2 etil, CH ciclohexil, PH fenil y CN cianopropil. En todos los casos, con la misma concentración de carbaryl, se ha cargado los distintos cartuchos y se han eluido en las mismas condiciones. Como se ve en la figura 8.4, únicamente la fase sólida del tipo C18 octadecil proporciona

picos bien definidos e intensos, que indican una recuperación del carbaryl mayor que la obtenida utilizando otros tipos de fase sólida, así como una mejor elución con el diclorometano.

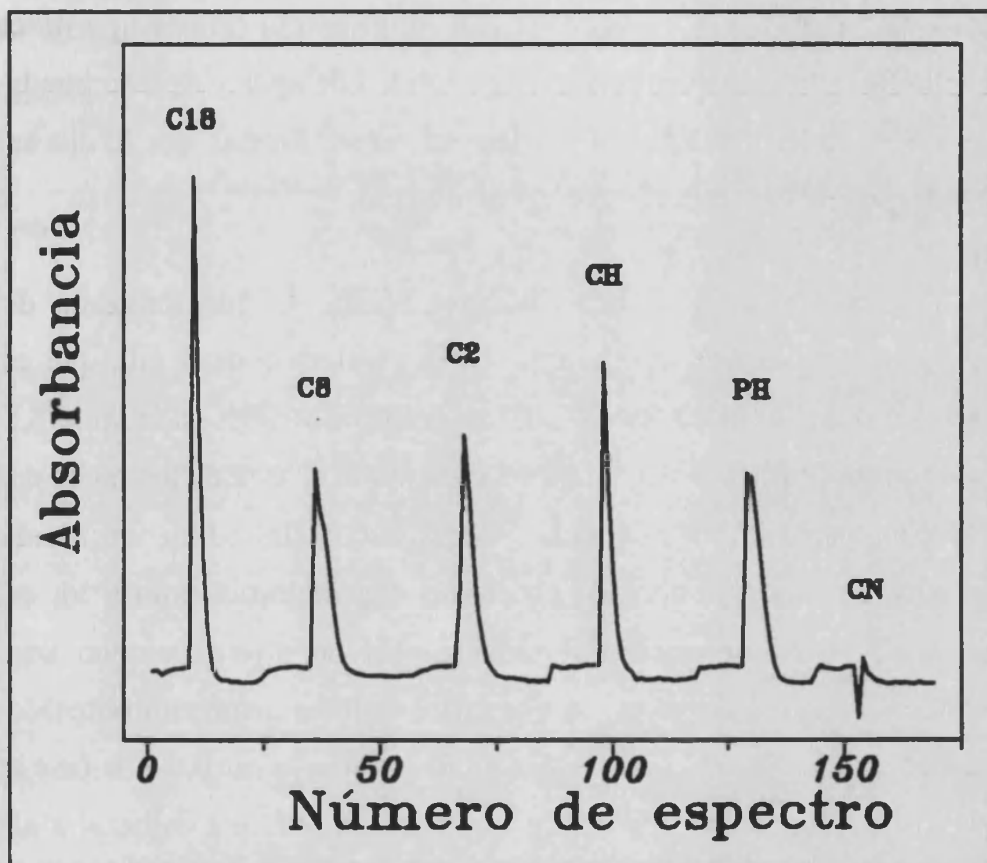


Figura 8.4

Efecto de la naturaleza de la fase sólida en la determinación FIA-IR-TF de carbaryl.

Condiciones experimentales: 100 mL de una serie de disoluciones acuosas, con una concentración de carbaryl de $2.65 \mu\text{g mL}^{-1}$, se preconcentran en un cartucho conteniendo 500 mg de diferentes fases sólidas: C18 octadecil, C8 octil, C2 etil, CH ciclohexil, PH fenil y CN cianopropil; con un caudal de carga de la muestra de 9.2 mL min^{-1} y se eluyen con CH_2Cl_2 a un caudal de 0.26 mL min^{-1} .

Efecto de la geometría del cartucho y del contenido de fase sólida

Se han empleado dos tipos diferentes de cartuchos con fase C18: uno del tipo jeringa, y otro con forma cilíndrica, más compacto con un volumen muerto pequeño. Los mejores resultados se han obtenido con el primer tipo de cartucho, debido a que los otros retienen una mayor cantidad de agua y ésta no puede secarse adecuadamente en las condiciones previamente especificadas, por lo que se origina una elevada presión durante el proceso de elución.

Con respecto a la cantidad de fase sólida, se han realizado diferentes experiencias con cartuchos tipo jeringa, con un volumen de 3 mL, que contenían entre 250 y 100 mg de fase sólida C18. Los datos resumidos en la tabla 8.I indican los valores obtenidos, tanto para la altura como para el área de los picos de elución que corresponden a diferentes cartuchos cargados con 100 mL de una disolución de $2.57 \mu\text{g mL}^{-1}$ de carbaryl que se han eluido con diclorometano a un caudal de 0.26 mL min^{-1} . Como puede verse, los valores de altura de pico son menos reproducibles que los valores de área pero los valores promedio obtenidos en las diferentes experiencias son comparables e indican que la cantidad de fase sólida no es un parámetro crítico que afecte a la recuperación total del carbaryl a niveles de μg . Sin embargo, con el fin de establecer unas condiciones concretas para la determinación de carbaryl en muestras reales se recomienda la utilización de cartuchos con 500 mg de fase C18 que se encuentran disponibles en el comercio.

Preconcentración en línea y análisis IR-TF de carbaryl

Tabla 8.1

Efecto del contenido de fase sólida sobre la preconcentración de carbaryl por EFS y elución en línea del mismo para su determinación por espectrometría IR-TF.

FASE SOLIDA mg	ALTURA DEL PICO	ÁREA DEL PICO \pm s
250	0.151	605 \pm 37
	0.149	
	0.191	
500	0.120	553 \pm 22
	0.111	
	0.116	
750	0.079	554 \pm 30
	0.071	
	0.091	
1000	0.058	571 \pm 43
	0.143	
	0.083	

Condiciones experimentales: 100 mL de disoluciones acuosas de carbaryl con una concentración de $2.57 \mu\text{g mL}^{-1}$ se preconcentran utilizando cantidades diferentes de fase sólida del tipo C18 con un caudal de carga de 9.2 mL min^{-1} y se eluyen con CH_2Cl_2 utilizando un caudal de 0.26 mL min^{-1} .

Efecto de las condiciones de muestreo

Considerando que el incremento de la sensibilidad en las determinaciones por espectrometría IR-TF, después de una previa preconcentración en línea mediante EFS, es proporcional al volumen de muestra que se ha pasado a través de los cartuchos, se han realizado diversos experimentos utilizando diferentes volúmenes de muestra y estudiando el efecto del caudal de carga de la muestra sobre los valores de altura y de área de los picos de elución.

Los resultados, indicados en la tabla 8.IIA, muestran que 100 mL de una disolución de $2.62 \mu\text{g mL}^{-1}$ de carbaryl pueden preconcentrarse con un caudal de carga comprendido entre 4 y 14.1 mL min^{-1} , proporcionando los mismos valores de área del pico de elución. De cualquier modo, cuando se emplea un volumen de muestra de 1 L la repetibilidad de los valores de área del pico de elución son peores que los obtenidos para 100 mL (ver tabla 8.IIB) y para 1 L se obtiene un valor promedio mayor del área de los picos de elución. Esto indica que para la determinación por EFS y detección IR-TF de carbaryl en muestras de agua la correspondiente curva de calibrado debe establecerse a partir de una serie de patrones tratados de igual modo que las muestras, especialmente en los aspectos relativos al volumen de muestra, pero también indica que es posible emplear caudales de muestreo altos.

Preconcentración en línea y análisis IR-TF de carbaryl

Tabla 8.IIA

Efecto del caudal de carga de las muestras sobre la determinación FIA-IR-TF de carbaryl para un volumen de muestreo de 100 mL.

CAUDAL DE CARGA mL min ⁻¹	MUESTRA	ALTURA DEL PICO	AREA DEL PICO	AREA PROMEDIO
4.0	1	0.114	0.616	0.584 ± 0.048
	2	0.124	0.529	
	3	0.127	0.606	
7.5	1	0.108	0.579	0.596 ± 0.015
	2	0.118	0.606	
	3	0.128	0.602	
10.8	1	0.093	0.616	0.608 ± 0.017
	2	0.116	0.588	
	3	0.127	0.620	
14.1	1	0.115	0.578	0.604 ± 0.023
	2	0.134	0.613	
	3	0.111	0.620	

Condiciones experimentales: en todos los casos 100 mL de una disolución de carbaryl de 2.62 µg mL⁻¹ se preconcentran en cartuchos conteniendo 500 mg de fase C18 y se eluyen con CH₂Cl₂ con un caudal de 0.26 mL min⁻¹.

Tabla 8.IIB

Efecto del caudal de carga de las muestras sobre la determinación FIA-IR-TF de carbaryl para un volumen de muestreo de 1 L.

CAUDAL DE CARGA mL min ⁻¹	MUESTRA	ALTURA DEL PICO	AREA DEL PICO
4.0	1	0.278	0.846
	2	0.144	0.293
	3	0.353	0.791
7.5	1	0.335	0.976
	2	0.181	0.779
	3	0.303	1.071
10.8	1	0.219	0.686
	2	0.289	0.747
	3	0.274	0.754
14.1	1	0.221	0.714
	2	0.348	0.778
	3	0.332	0.886

Condiciones experimentales: en todos los casos 100 mL de una disolución de carbaryl de 2.62 µg mL⁻¹ se preconcentran en cartuchos conteniendo 500 mg de fase C18 y se eluyen con CH₂Cl₂ con un caudal de 0.26 mL min⁻¹

Efecto del caudal del portador

Las muestras de agua, previamente concentradas en un cartucho con 500 mg de fase sólida C18 utilizando un caudal de carga de 9.2 mL min^{-1} , se eluyen con diferentes caudales de diclorometano y, como se indica en la tabla 8.III, las áreas de los picos de elución aumentan cuando disminuye el caudal del eluyente, habiéndose encontrado una mejor sensibilidad para un caudal de elución de 0.26 mL min^{-1} que para los de 0.52 y 0.79 mL min^{-1} . Además, como puede verse en la figura 8.5, la utilización de caudales de elución bajos permite obtener picos de elución mejor definidos debido a que la respuesta tan lenta de la instrumentación utilizada, que necesita 17 segundos para obtener y guardar el interferograma, es más comparable con caudales bajos. Por todo esto, se recomienda un caudal de elución, para estas condiciones, de 0.26 mL min^{-1} . De cualquier forma, este aspecto puede mejorarse claramente empleando una instrumentación más rápida, que permitirá una elución a caudales más altos.

Tabla 8.III

Efecto del caudal de elución en la determinación EFS-FIA-IR-TF en línea de carbaryl.

CAUDAL DE PORTADOR mL min ⁻¹	MUESTRA	AREA DEL PICO	AREA PROMEDIO ± S
0.26	1	0.639	0.613 ± 0.081
	2	0.678	
	3	0.522	
0.26	1	0.591	0.597 ± 0.018
	2	0.617	
	3	0.583	
0.52	1	0.300	0.319 ± 0.017
	2	0.334	
	3	0.324	
0.79	1	0.259	0.234 ± 0.022
	2	0.224	
	3	0.218	

Condiciones experimentales: en todos los casos 100 mL de una disolución de carbaryl de 2.65 µg mL⁻¹ se preconcentran en cartuchos conteniendo 500 mg de fase C18 y se eluyen con CH₂Cl₂.

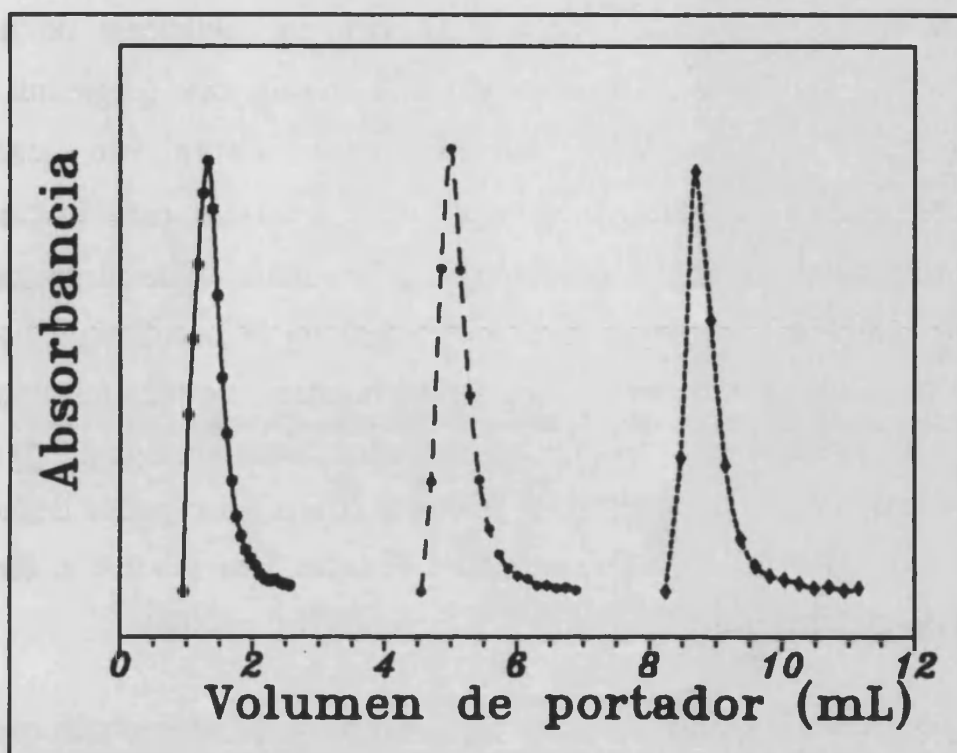


Figura 8.5

Efecto del caudal de elución sobre la determinación FIA-IR-TF de carbaryl. Condiciones experimentales: 100 mL de disoluciones de carbaryl de $2.54 \mu\text{g mL}^{-1}$ se preconcentran en cartuchos conteniendo 500 mg de fase C18 con un caudal de 9.2 mL min^{-1} y se eluyen con diclorometano empleando un caudal de 0.26 mL min^{-1} (o), 0.52 mL min^{-1} (*) y 0.79 mL min^{-1} (◇).

Características analíticas del procedimiento desarrollado

La figura 8.6 muestra una típica curva de calibrado obtenida a partir de disoluciones de 100 mL de agua, conteniendo diferentes cantidades de carbaryl, preconcentradas en cartuchos con 500 mg de fase C18 trabajando con un caudal de carga de 9.2 mL min^{-1} y eluidas con diclorometano a 0.26 mL min^{-1} . Como puede verse, se obtiene una línea recta con una expresión para la misma de

$A = 0.01(\pm 0.05) + 0.00222(\pm 0.00009)C$ con un coeficiente de regresión $R^2=0.992$ y siendo C la masa de carbaryl eluida en cada caso (expresada en μg).

Además se ha obtenido la siguiente curva de calibrado

$A = 0.02(\pm 0.03) + 0.0022(\pm 0.00006)C$ con $R^2=0.996$ para una serie de patrones preparados cada uno acumulando distintos volúmenes de disolución patrón de carbaryl (de 25 a 100 mL) en cartuchos de 500 mg de fase C18 y eluyéndolos posteriormente con diclorometano a un caudal constante de 0.26 mL min^{-1} . Esta coincidencia entre las curvas de calibrado antes indicadas (ver figura 8.6) muestra que el volumen empleado para la EFS no es tan crítico como podría deducirse de los resultados obtenidos en las experiencias llevadas a cabo sobre el efecto del volumen de muestreo entre 100 mL y 1 L (tablas 8.IIA y 8.IIB).

Considerando que en todas las experiencias se ha utilizado un espaciador de 0.5 mm puede deducirse que el procedimiento propuesto presenta una sensibilidad de 0.0444 unidades de área por μg^{-1} de carbaryl y cm^{-1} . El límite de detección, establecido para un nivel de confianza del 99.6 % ($k=3$), a partir de la repetibilidad obtenida para varias medidas de un blanco resultó ser de 15 μg de carbaryl, que para un volumen de muestreo de 1 L, corresponde a $15 \mu\text{g L}^{-1}$ (ppb) de carbaryl en agua.

La reproducibilidad de la determinación de carbaryl mediante EFS y detección IR-TF, establecida para tres análisis independientes de una muestra que contiene $195 \mu\text{g L}^{-1}$ de carbaryl, proporciona una desviación típica relativa del 8.6 %.

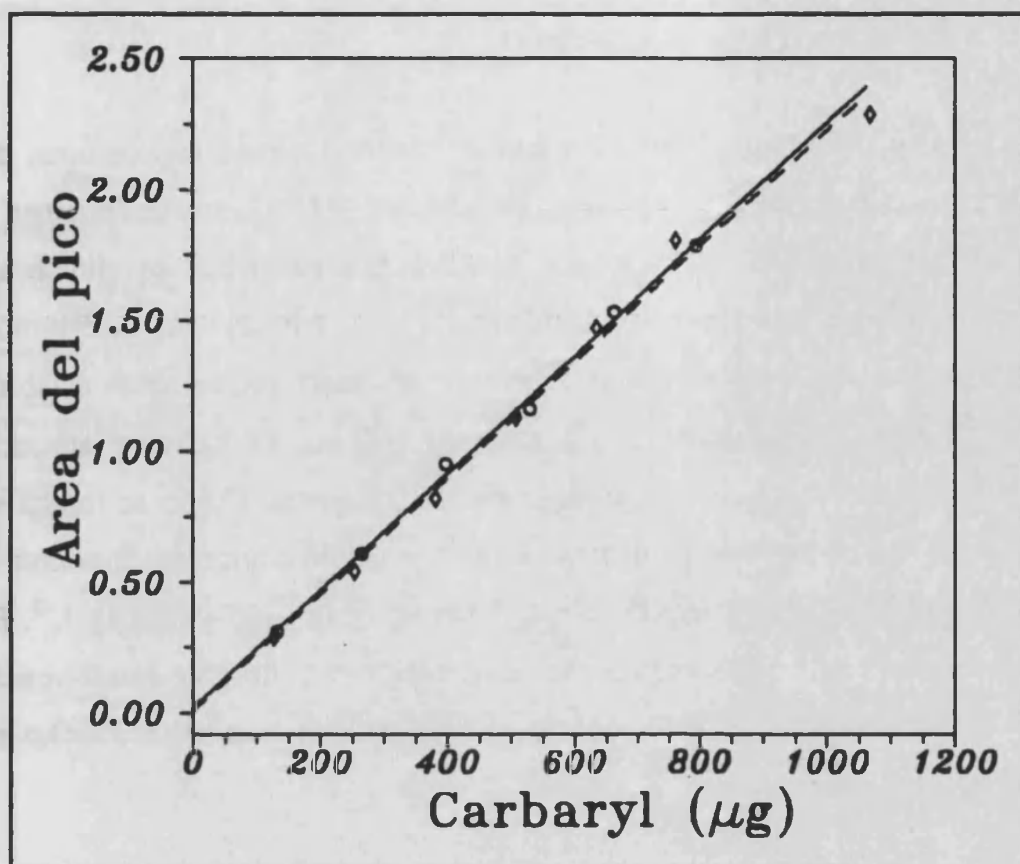


Figura 8.6

Curva de calibrado obtenida en la preconcentración de carbaryl por EFS y elución en línea para su determinación por espectrometría IR-TF.

(◊) Todos los patrones se prepararon en un volumen de 100 mL de fase acuosa, se preconcentran utilizando cartuchos con 500 mg de fase C18 y se eluyeron con diclorometano a un caudal de 0.26 mL min^{-1} (línea discontinua).

(o) En este caso los patrones se preconcentraron en cartuchos con 500 mg de fase C18 pero pasando volúmenes de fase acuosa de 25, 50 y 100 mL, en función de la concentración relativa de las mismas, y se eluyeron con CH_2Cl_2 a un caudal de 0.26 mL min^{-1} (línea continua).

Análisis de muestras enriquecidas

Se añadieron cantidades conocidas de carbaryl a muestras de agua de río y de pozo, que no contenían carbaryl, se tomaron 500 mL de las mismas y se preconcentraron por EFS en cartuchos de C18. Los cartuchos se eluyeron con diclorometano a un caudal de 0.26 mL min^{-1} y el carbaryl se determinó por espectrometría IR-TF empleando una curva de calibrado que se había establecido a partir de la preconcentración de alícuotas de 100 mL de patrones acuosos de carbaryl sometidas al mismo tratamiento que las muestras. Como se indica en la tabla 8.IV, se han encontrado porcentajes de recuperación comprendidos entre el 97 y el 103 % para concentraciones de carbaryl añadido entre 195 y $699 \mu\text{g L}^{-1}$. Estos resultados indican que el procedimiento desarrollado está libre de interferencias y que no se requiere un tratamiento adicional para obtener resultados exactos en el análisis de muestras reales.

Tabla 8.IV

Recuperación de carbaryl en muestras enriquecidas mediante el procedimiento de preconcentración en línea por EFS y determinación FIA-IR-TF.

MUESTRA	Carbaryl añadido $\mu\text{g L}^{-1}$	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN
Agua de pozo	195	103
Agua de pozo	401	97
Agua de río	99	97

Condiciones experimentales: Para el análisis de las muestras se estableció una curva de calibrado a partir de la preconcentración en línea por EFS de 100 mL de disoluciones acuosas conteniendo diferentes concentraciones de carbaryl. Para las muestras, se preconcentraron por EFS volúmenes de 500 mL. En ambos casos, tanto muestras como patrones, se eluyeron con CH_2Cl_2 empleando un caudal de 0.26 mL min^{-1} .

CONCLUSIONES

El método desarrollado para la determinación de carbaryl indica que el acoplamiento en línea entre la EFS y la espectrometría IR-TF proporciona una tremenda mejora de los resultados analíticos de las medidas IR-TF permitiendo la determinación de concentraciones de carbaryl a nivel de trazas y proporcionando una metodología rápida y adecuada para la toma de muestras y el análisis de este compuesto. Esta metodología también puede aplicarse al análisis de otro tipo de compuestos, abriendo nuevas aplicaciones para la espectrometría IR-TF en el análisis de trazas.

BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO 8

- 8.1 D. J. Curran y W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta.*, 1985, **177**, 259.
- 8.2 D. K. Morgan, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1985, **18**, 1979.
- 8.3 S. V. Olesik, S. B. French y M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2256.
- 8.4 B. E. Miller, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 401.
- 8.5 M. Guzman, J. Ruzicka y G. D. Christian, *Vib. Spectrosc.*, 1991, **2**, 1.
- 8.6 P. T. McKittrick, N. D. Danielson y J. E. Katon, *Microchem. J.*, 1991, **44**, 105.
- 8.7 M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J. L. Burguera y M. Burguera, *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **261**, 53.
- 8.8 M. Gallignani, S. Garrigues, M. de la Guardia, J. L. Burguera y M. Burguera, comunicación presentada en *WCFIA '92*, Enero 1992, Scottsdale, USA, referencia P-12.
- 8.9 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1993, **40**, 89.
- 8.10 S. Garrigues, M. Gallignani y M. de la Guardia, *Analyst*, 1992, **117**, 1849.
- 8.11 M. Gallignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta.*, 1993, **274**, 267.
- 8.12 M. Gallignani, S. Garrigues, A. Martínez-Vado y M. de la Guardia M., *Analyst*, 1993, en imprenta.



-
- 8.13 S. Garrigues, M. Galignani y M. de la Guardia, *Talanta*, 1993, en imprenta.
- 8.14 M. de la Guardia, M. Galignani y S. Garrigues, *Anal. Chim. Acta.*, 1993, en imprenta.
- 8.15 M. Galignani, S. Garrigues y M. de la Guardia, comunicación presentada en *XXVIII CSI*, York, United Kingdom, Junio-Julio 1993, referencia FP2.24.
- 8.16 V. Carbonell, A. Salvador y M. de la Guardia, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1992, 342, 529.
- 8.17 C. W. McLeod, Conferencia plenaria impartida en la *XIII Reunión Nacional de Espectroscopia*, Octubre 1992, Gandia, España.
- 8.18 R. J. Bushway, *J. Chromatogr.*, 1981, 211, 135.
- 8.19 J. S. Andrews y T. J. Good, *Am. Lab.*, 1982, 14, 70.
- 8.20 G. A. Junk y J. J. Richard, *Anal. Chem.*, 1988, 60, 451.
- 8.21 L. K. She, U. A. T. Brinkman y R. W. Frei, *Anal. Lett.*, 1984, 17, 915.
- 8.22 C. H. Marvin, I. D. Brindle, C. D. Hall y M. Chiba, *J. Chromatogr.*, 1990, 503, 167.
- 8.23 C. H. Marvin, J. D. Brindle, R. P. Singh, C. D. Hall y M. Chiba, *J. Chromatogr.*, 1990, 518, 242.
- 8.24 A. Di Corcia y M. Marchetti, *Anal. Chem.*, 1991, 63, 580.
- 8.25 D. W. Beyers, C. A. Carlson y J. D. Tessari, *Environ. Toxicol. Chem.*, 1991, 10, 1425.

- 8.26 T. A. Bellar y W. L. Budde, *Anal. Chem.*, 1988, **60**, 2076.
- 8.27 C. H. Marvin, I. D. Brindle, C. D. Hall y M. Chiba, *Anal. Chem.*, 1990, **62**, 1495.
- 8.28 E. R. Bogus, P. A. Gallagher, E. A. Cameron y R. D. Mumma, *J. Agric. Food Chem.*, 1985, **33**, 1018.
- 8.29 M. W. Brooks, D. Tessier, D. Soderstrom, J. Jenkins y J. M. Clark, *J. Chromatogr. Sci.*, 1990, **28**, 487.
- 8.30 J. R. Strait, G. C. Thornwall y M. Ehrich, *J. Agric. Food Chem.*, 1991, **39**, 710.
- 8.31 C. D. Wilcox y R. M. Phelan, *J. Chromatogr. Sci.*, 1986, **24**, 130.

CONCLUSIONES

De los estudios llevados a cabo, cuyos resultados se resumen en la presente Memoria, se destacan las siguientes conclusiones:

La metodología desarrollada para el análisis de mezclas utilizando el cociente de los valores de absorbancia obtenidos para distintas bandas de los componentes de la mezcla, resuelve los problemas derivados de la falta de reproducibilidad en el paso óptico cuando se obtienen los espectros IR a partir de películas delgadas de la muestra. Empleando esta estrategia se ha demostrado que es posible resolver de forma sencilla y rápida una mezcla sin la necesidad de controlar el espesor de la película de muestra, tanto en sistemas binarios como ternarios.

El empleo del análisis en flujo, acoplado a la espectrometría IR-TF, facilita y mejora el proceso de llenado de la celda de muestra y ofrece un amplio abanico de posibilidades para el análisis cuantitativo por IR-TF, proporcionando soluciones sencillas y válidas para el análisis en línea aplicado a procesos de control, destacando sobre todo las aplicaciones al análisis multicomponente simultáneo. En este sentido la presente memoria ha contribuido a demostrar que pueden obtenerse resultados exactos y precisos empleando celdas sencillas, a que el empleo del análisis FIA-IR-TF puede aplicarse al análisis directo de muestras reales sin necesidad de realizar costosas operaciones de preparación previa de las

muestras y que, en base al empleo de estrategias basadas en la utilización del flujo reverso se pueden desarrollar métodos rápidos para el control de calidad por espectrometría IR. Por lo que respecta al análisis multicomponente se ha demostrado que puede realizarse simultáneamente, tanto para la determinación de 2 como de 3 compuestos en mezclas reales, sin necesidad de emplear procesos de separación previa ni sofisticados paquetes informáticos para la calibración y obtención de los resultados.

En lo que respecta a la sensibilidad del análisis IR-TF se ha conseguido mejorar la misma empleando la estrategia del flujo parado y acumulación de espectros y se han obtenido límites de detección extraordinarios, abriendo un campo muy prometedor en lo que se refiere a la preconcentración de analitos en línea y su posterior análisis IR-TF, combinando las características de la extracción en fase sólida con la selectividad que proporciona la espectrometría infrarroja, de forma que se han podido obtener límites de detección del orden de unas pocas partes por billón, en una técnica como el IR-TF que adolece de una escasa sensibilidad.

**TRABAJOS PUBLICADOS QUE
FORMAN PARTE DE ESTA
TESIS DOCTORAL**

Los siguientes artículos científicos, que han sido publicados o aceptados para su publicación en Revistas de Química Analítica, están directamente relacionados con los trabajos experimentales llevados a cabo en la ejecución de esta Tesis Doctoral:

Fourier Transform Infrared Analysis of Paint Solvents.

Salvador Garrigues y Miguel de la Guardia

Analytica Chimica Acta, 242, 1991, 123-129.

Mathematical Models for the Fourier Transform Infrared Spectroscopic Determination of ortho-, meta- and para-xylene in Xylol.

Salvador Garrigues y Miguel de la Guardia

Analyst, 116, 1991, 1159-1166.

Flow-Injection Fourier Transform Infrared Spectrometric Analysis.

M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Gallignani, J.L. Burguera y M. Burguera.

Analytica Chimica Acta, 262, 1992, 53-57.

Simultaneous Determination of ortho-, meta- and para-xylene by Flow Injection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy.

Salvador Garrigues, Máximo Galignani y Miguel de la Guardia

Analyst, **117**, 1992, 1849-1853.

FIA-FT-IR Determination of Ibuprofen in Pharmaceuticals.

Salvador Garrigues, Máximo Galignani y Miguel de la Guardia.

Talanta, **40**, 1993, 89-93.

Carbaryl Determination in Pesticide Formulations by Fourier Transform Infrared-Flow Analysis.

Máximo Galignani, Salvador Garrigues, Anabelle Martínez-Vado y Miguel de la Guardia.

Analyst, aceptado el 15 de febrero de 1993. (Pruebas de imprenta).

Simultaneous Determination of Acetylsalicylic Acid and Caffeine in Pharmaceuticals by Flow Injection with Fourier Transform Infrared Detection.

Salvador Garrigues, Máximo Galignani y Miguel de la Guardia.

Talanta, aceptado el 21 de mayo de 1993.

On-line Preconcentration and Flow Analysis-FT-IR Determination of Carbaryl.

Salvador Garrigues, M^a Teresa Vidal, Máximo Galignani y Miguel de la Guardia.

Comunicación presentada al *XXVIII Colloquium Spectroscopicum Internationale*.

29 junio-4 julio, York, Reino Unido.

Trabajo enviado a *The Analyst*.

Fourier transform infrared analysis of paint solvents

S. Garrigues and M. de la Guardia *

Departament de Química Analítica, Universitat de València, 50 Dr. Moliner St., 46100 Burjassot (València) (Spain)

(Received 30th April 1990)

Abstract

The composition of solvent mixtures employed in the paint industry was determined by Fourier transform infrared spectrometry. A procedure based on the use of the ratio between the absorbance of characteristic bands of each component permits the ratio between two solvents in a binary mixture to be determined, independently of the thickness of the sample film. Typical mixtures of xylol with butan-1-ol and with butyl acetate (xylol = mixture of *o*-, *m*- and *p*-xylenes) were used as model systems to develop the proposed procedure and the accuracy was determined using synthetic formulations. Another possible application of the procedure is the characterization of azeotropic mixtures.

Keywords: Infrared spectrometry; Paint solvents; Xylol

Different types of solvents are used in the paint industry in order to improve the solubility of various types of resins and polymers and to control the extent of paint coverage on a solid surface in order to obtain a homogeneous film. Paint solvents are, in general, carbonyl and aromatic compounds with a relatively high volatility. Xylol (a mixture of *o*-, *m*- and *p*-xylenes) is now one of the most important solvents in the paint industry owing to its high solvent power for a wide range of resins and its convenient rate of evaporation [1].

The addition of alcohols to xylol improves its solvent power and so mixtures of butan-1-ol and xylol in different proportions are widely used in stoving finishes [2]. Butyl acetate is an excellent solvent for resins and oils and mixtures of xylol and butyl acetate are used to control paint coatings [3].

The analysis of solvents employed in the paint industry is generally carried out by chromatography [4], especially when several solvents are used in a paint formulation. Infrared spectrometry has been extensively employed as a qualitative technique for the characterization of organic solvents [5]. However, problems related to the appropriate

selection of sample diluents and to the determination of cell thickness have limited its application in quantitative analysis [6].

The use of the ratio between the IR absorbances at two wavenumbers permits measurements to be obtained independent of the sample cell size, and so the use of an internal standard can be employed for quantitative purposes. However, this methodology involves problems related to the selection of the internal standard and its compatibility with the sample components [7].

Another approach is the use of a sample component as an internal reference [8,9] and the use of the ratio between the absorption of characteristic bands of different components of a mixture to determine their ratio in an unknown sample. In this way, simple procedures have been proposed for the determination of the ratio between parathion and methyl parathion [10] and the ratio between mixtures of benzodiazepines [11]. These procedures are based on the use of the ratio between the absorbances at two wavenumbers.

The bands employed could be those characteristic of each of the components of a mixture. In this instance, it is necessary previously to determine the absorption coefficients corresponding

to each of the compounds considered at their characteristic wavenumber. Another strategy is based on the use of a general model in which one common band of the two compounds considered and a characteristic band of one of the components are employed.

In this work, samples of solvent mixtures employed in the paint industry were analysed using the proposed models and a new procedure, based on the use of peak-area values and a calibration line, was applied.

EXPERIMENTAL

Apparatus and reagents

A Perkin-Elmer Model 1750 Fourier transform (FT) infrared spectrometer with an FR-DTGS (fast recovery deuterated triglycine sulphate) temperature-stabilized coated detector was employed for absorbance measurements with a resolution of $1\text{--}64\text{ cm}^{-1}$. Potassium bromide cells were used to obtain the IR spectra of thin films of the samples and xylol standards, and butan-1-ol (Probus, analytical-reagent grade) and industrial-grade butyl acetate were employed to prepare the calibration mixtures.

General procedure

Binary mixtures of the compounds considered, in different and known proportions, were homogenized and placed between two potassium bromide windows and their spectra recorded between 4800 and 400 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} . For the analysis of these compounds a spectral range between 1900 and 650 cm^{-1} was selected.

From the absorbance spectra of each system, the appropriate band for the characterization of each compound in the presence of another was selected and the corresponding calibration graphs were obtained by least-squares fitting of the ratio between the absorbance peak-area values at two wavenumbers and the ratio of the two components in the mixture for each standard solution.

The experimental data obtained for a series of samples were interpolated using the corresponding calibration lines and the ratio between the solvents

in the mixture was established. The precision and accuracy of the developed procedures were tested for these spiked samples.

In the treatment of the experimental results, two models were employed in order to avoid the use of sample cells with a known thickness. A simple model, based on the ratio between the absorbance at two characteristic bands of each compound, M and N, A_2 and A_1 , respectively, permits a regression line A_2/A_1 versus $[M]/[N]$ to be established which starts at the origin:

$$A_2 = bK_{2M}[M]$$

$$A_1 = b'K_{1N}[N]$$

where b and b' are the optical path length of each sample, K_{2M} and K_{1N} the absorption coefficients at the relevant wavenumbers for the compounds M and N and $[M]$ and $[N]$ the concentrations of each component.

For binary mixtures of M and N, and in the same spectrum, the ratio between A_1 and A_2 does not depend on the sample thickness:

$$\frac{A_2}{A_1} = \frac{K_{2M}}{K_{1N}} \cdot \frac{[M]}{[N]}$$

and so, for a series of samples with a well defined ratio between $[M]$ and $[N]$, the calibration between A_2/A_1 and $[M]/[N]$ can be established.

A general model can be employed when it is not possible to select characteristic bands for both components which do not overlap in the binary mixtures. In this instance it is necessary to use a common band of both compounds (A_2) and a characteristic band of only one of them (A_1):

$$A_2 = bK_{2M}[M] + bK_{2N}[N]$$

$$A_1 = b'K_{1N}[N]$$

and the ratio between the absorbances of these two bands in the spectrum of a mixture of M and N does not depend on the sample thickness and can be written as

$$\frac{A_2}{A_1} = \frac{K_{2N}}{K_{1N}} + \frac{K_{2M}}{K_{1N}} \cdot \frac{[M]}{[N]}$$

and the regression A_2/A_1 vs. $[M]/[N]$ provides a straight line with a slope of K_{2M}/K_{1N} and an intercept of K_{2N}/K_{1N} .

RESULTS AND DISCUSSION

Xylol-butan-1-ol and xylol-butyl acetate were considered independently and the general procedure was applied to for each mixture. Xylol was employed rather than pure xylenes as it is the most frequently employed solvent in the paint industry.

Analysis of xylol-butanol mixtures

Figure 1a shows the IR absorbance spectra of pure butan-1-ol and xylol samples and it can be seen that they present a well defined common band at 1379 cm^{-1} (C), two characteristic bands of xylene at 797 cm^{-1} (X4) and 771 cm^{-1} (X1) and a typical band of butan-1-ol at 847 cm^{-1} (B)

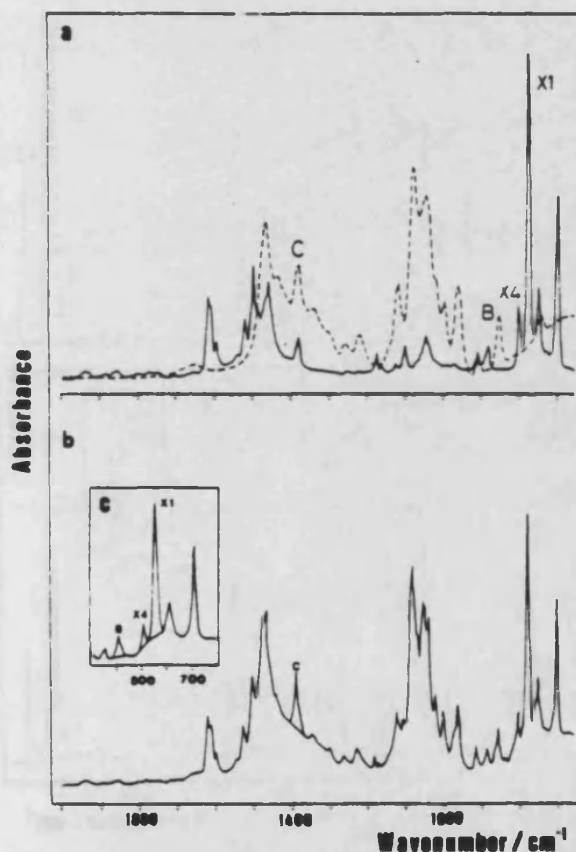


Fig. 1. Infrared spectra of (a) pure xylol (solid line) and butan-1-ol (dashed line) and (b and c) a ca. 1 + 1 (v/v) mixture of the two compounds.

TABLE 1

Calibration graphs obtained for the IR characterization of xylol-butan-1-ol mixtures^a

Band employed	Calibration line		R^2	n
	Slope $\pm s$	Intercept $\pm s$		
X1/B	5.55 ± 0.05	-0.3 ± 0.4	0.9992	21
X4/B	0.700 ± 0.006	-0.08 ± 0.05	0.9992	23
C/B	0.617 ± 0.008	1.14 ± 0.07	0.998	23

^a s = Standard deviation; R^2 = regression coefficient; n = number of standard solutions considered.

not overlapping with bands of the other compounds.

Figures 1b and c show the above-mentioned bands for a xylol-butan-1-ol (1 + 1, v/v) sample. The baseline of these bands was defined by a line between the adjacent valleys after having found that the use of a general baseline for the total spectrum does not yield accurate values in the characterization of synthetic mixtures of these two compounds.

To determine the relationship between xylol and butan-1-ol in binary mixtures, the previously defined simple model can be employed for the ratio between the areas of the absorbance bands X1 and B and also for bands X4 and B. On the other hand, the general model can be used for the relationship between the absorbance areas of bands C and B. For these three situations the corresponding calibration lines can be obtained.

Table 1 summarizes the equations of the calibration lines found in each instance, giving the intercept, the slope and their corresponding standard deviations and the regression coefficient obtained for a number of standards. It can be seen that a well defined straight line was obtained in all instances. The use of the ratio X1/B provides higher sensitivity because the X1 band is the strongest band in the spectra. The ratio C/B provides an intercept clearly different from zero, as corresponds to the use of the general model, and the use of the ratio X4/B permits a straight line which starts at the origin to be obtained.

Six synthetic samples of binary mixtures of the solvents were prepared with a ratio between 0.3 and 4.8 (v/v) and were characterized using the previously indicated calibration lines.

TABLE 2

Analysis of synthetic samples of xylol-butanol using different bands

Xylol/butan-1-ol ratio	Xylol/butan-1-ol ratio found from different band pairs					
	X1/B ^a	ϵ_r (%) ^b	X4/B ^a	ϵ_r (%) ^b	C/B ^a	ϵ_r (%) ^b
0.300 ± 0.010	0.32	6.7	0.34	13.3	0.39	30.0
0.667 ± 0.013	0.69	3.5	0.69	3.5	0.71	5.7
2.111 ± 0.024	1.89	-10.5	1.88	-10.9	1.85	-12.4
2.86 ± 0.04	2.79	-2.3	2.82	-1.3	2.78	-2.7
3.33 ± 0.06	2.85	-14.5	3.22	-3.4	3.18	-4.6
4.86 ± 0.14	4.37	-10.0	4.84	-0.4	4.86	0.0

^a Bands considered. ^b Relative error obtained for each sample.

Table 2 summarizes the results obtained in each instance, and it can be seen that the use of the ratio between the X4 and B bands provides the most accurate values.

Analysis of xylol-butyl acetate mixtures

The carbonyl bands of the butyl acetate spectra at 1742 and 1244 cm^{-1} (A1 and A2, respectively) and the typical bands of xylol at 1614 cm^{-1} (X3), 771 cm^{-1} (X1), 693 cm^{-1} (X2) and those observed between 815 and 676 cm^{-1} (XT) can be used for the characterization of these two compounds in binary mixtures, as can be seen in Fig. 2a, in which the spectra of pure compounds are indicated, and Figs. 2b and c, which show the spectrum of a 1 + 1 (v/v) mixture. The same criterion as employed for xylol-butanol mixtures was used to define the baseline.

Eight calibration possibilities can be considered, using the above mentioned simple model in all instances, and adjustment of the data for the experimental absorbance values for a series of well

TABLE 3

Calibration graphs obtained for the characterization of xylol-butyl acetate mixtures using different bands

Band employed	Calibration line		R^2	n
	Slope ± s	Intercept ± s		
X1/A1	0.0923 ± 0.0014	0.010 ± 0.019	0.998	16
X1/A2	0.0752 ± 0.0006	0.002 ± 0.003	0.9996	15
X2/A1	0.0580 ± 0.0010	0.007 ± 0.007	0.998	17
X2/A2	0.0468 ± 0.0005	0.003 ± 0.003	0.9992	17
X3/A1	0.0478 ± 0.0010	0.003 ± 0.007	0.997	16
X3/A2	0.0395 ± 0.0005	-0.001 ± 0.003	0.9990	14
XT/A1	0.256 ± 0.005	0.04 ± 0.03	0.997	16
XT/A2	0.2065 ± 0.0025	0.014 ± 0.016	0.9990	16

known mixtures permits straight lines which start at the origin to be obtained (Table 3).

In general, the use of the A2 band for butyl

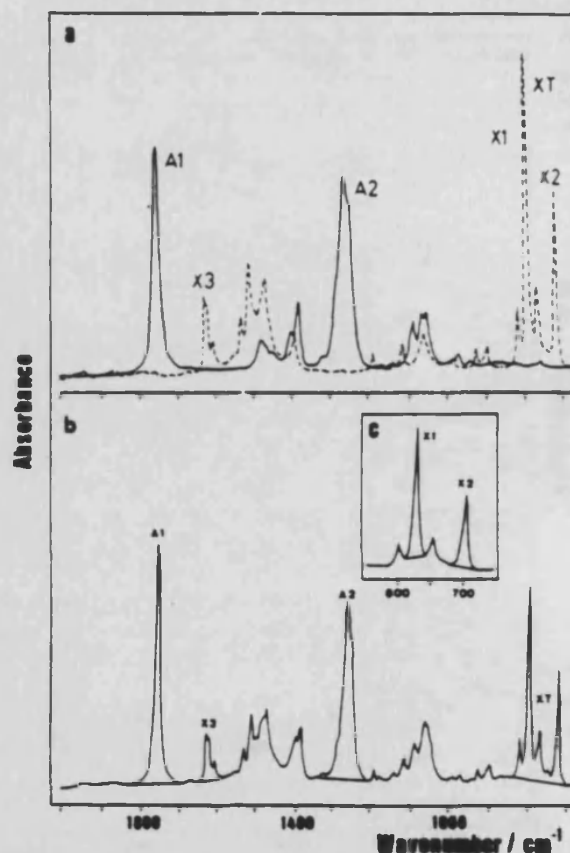


Fig. 2. Infrared spectra of (a) pure xylol (dashed line) and butyl acetate (solid line) and (b and c) a ca. 1 + 1 (v/v) mixture of the two compounds.

acetate provides a poorer sensitivity than use of the A1 band. On the other hand, the use of the XT, X1, X2 and X3 bands for xylol provides a decreasing sensitivity in the determination of the xylol/acetate ratio.

To test the accuracy of the developed procedure, synthetic samples containing xylol and butyl acetate were characterized using each of the calibrates previously defined (Table 4). In all instances adequate values were obtained for the samples considered. However, higher relative errors were found for samples with a lower concentration of xylol, except when the XT/A1 and the X1/A1 ratios were employed, and so these latter relationships could be considered to be the

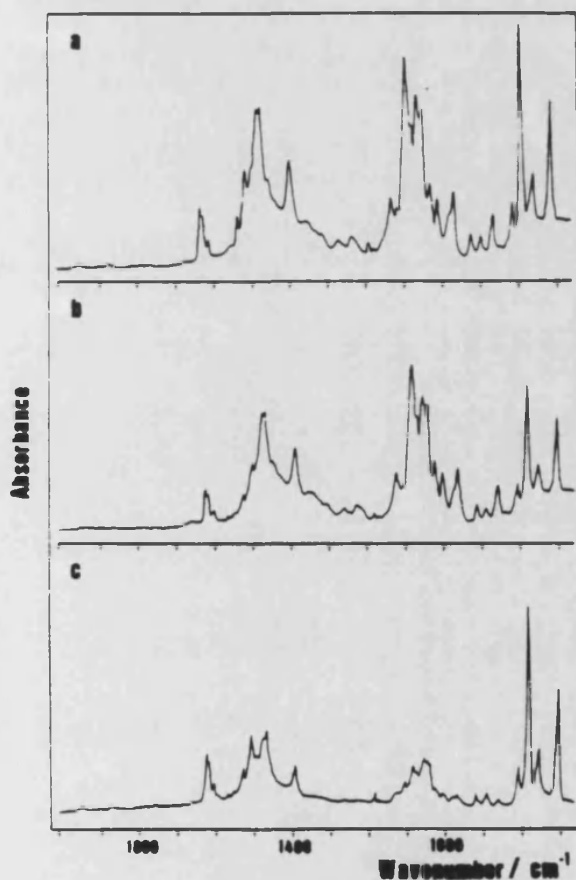


Fig. 3. Infrared spectra of (a) a ca. 1 + 1 (v/v) mixture of xylol and butan-1-ol. (b) the azeotropic mixture distilled at 116°C and (c) the remaining residue.

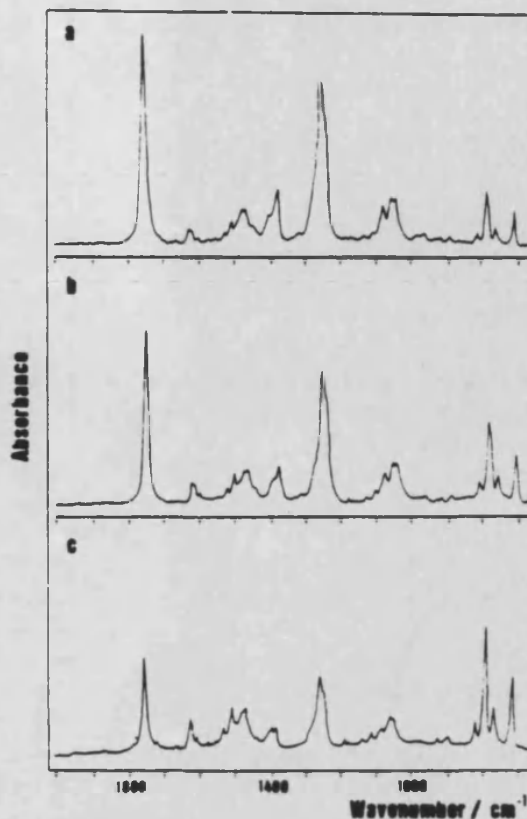


Fig. 4. Infrared spectra of (a) a ca. 1 + 1 (v/v) mixture of xylol and butyl acetate, (b) the azeotropic mixture distilled at 128°C and (c) the remaining residue.

most appropriate for the characterization of binary mixtures.

Analysis of azeotropic mixtures

Azeotropic mixtures are typical binary mixtures formed in the distillation of organic solvents which hinder the possibility of separating a series of solvents by a simple procedure. Xylol forms azeotropic mixtures with butan-1-ol and butyl acetate with compositions that depend on the proportions of *o*-, *m*- and *p*-xylene in the xylol. When approximately 1 + 1 binary mixtures of these solvents are distilled, the azeotropic mixture formed can be characterized by the developed procedures.

As an example, Figs. 3 and 4 show the IR spectra of ca. 1 + 1 mixtures (Figs. 3a and 4a) and those of the 0.67 ± 0.02 xylol—butan-1-ol azeo-

TABLE 4

Analysis of synthetic samples of xylol-butyl acetate using different bands

Xylol/butyl acetate ratio	Xylol/butyl acetate ratio found using different band pairs															
	X1/A1 ^a	ϵ_r (%) ^b	X1/A2 ^a	ϵ_r (%) ^b	X2/A1 ^a	ϵ_r (%) ^b	X2/A2 ^a	ϵ_r (%) ^b	X3/A1 ^a	ϵ_r (%) ^b	X3/A2 ^a	ϵ_r (%) ^b	XT/A1 ^a	ϵ_r (%) ^b	XT/A2 ^a	ϵ_r (%) ^b
0.333 ± 0.010	0.32	-3.9	0.37	11.1	0.24	-27.9	0.26	-21.9	0.23	-30.9	0.29	-12.9	0.32	-3.9	0.37	11.1
0.778 ± 0.013	0.77	-1.0	0.76	-2.1	0.81	4.1	0.77	-1.0	0.80	2.8	0.80	2.8	0.77	-1.0	0.76	-2.3
1.778 ± 0.024	1.85	4.0	1.80	1.2	1.82	2.4	1.75	-1.6	1.80	1.2	1.77	-0.5	1.85	4.1	1.80	1.2
2.86 ± 0.04	3.06	7.0	2.87	0.4	3.01	5.2	2.90	1.4	2.96	3.5	2.86	0.0	3.04	6.3	2.87	0.4
3.33 ± 0.06	3.19	-4.2	3.12	-6.3	3.33	0.0	3.24	-2.7	3.28	-1.5	3.28	-1.5	3.19	-4.2	3.12	-6.3
4.57 ± 0.14	4.51	-1.3	4.41	-3.5	4.37	-4.4	4.32	-5.5	4.40	-3.7	4.40	-3.7	4.51	-1.3	4.41	-3.5

^a IR band pairs considered. ^b Relative error found for each sample.

trope distilled at 116°C (Fig. 3b) and the 0.73 ± 0.01 xylol-butyl acetate azeotrope distilled at 128°C (Fig. 4b). The spectra of the distilled residues are shown in Figs. 3c and 4c, respectively.

Conclusions

The developed procedures allow one to obtain rapidly accurate results for the characterization of binary mixtures of organic solvents by FT-IR spectrometry without the need for a known sample film thickness (the IR spectra can be obtained with a sample drop placed between two KBr windows). This procedure is very useful in the characterization of organic solvents employed in the paint industry and it can also be employed for the characterization of azeotropic mixtures.

REFERENCES

- 1 T.H. Durrans, *Solvents*, Chapman and Hall, London, 1971.
- 2 W.M. Morgans, *Outlines of Paint Technology*, Griffin, London, 1982.
- 3 J.J. Lagowski, *The Chemistry of Non-Aqueous Solvents*, Academic, New York, 1978.
- 4 F.D. Snell and L.S. Ettre, *Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis*, Interscience, New York, 1969.
- 5 L.J. Bellamy, *Advances in Infrared Group Frequencies*, Chapman and Hall, London, 1975.
- 6 R.S. McDonald, *Anal. Chem.*, 56 (1984) 349.
- 7 M.W. Mackenzie, *Advances in Applied FTIR Spectroscopy*, Wiley, Chichester, 1988.
- 8 M. de la Guardia, J.L. Carrión and J. Medina, *Analyst*, 109 (1984) 457.
- 9 J.L. Carrión, S. Sagiado and M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 185 (1986) 101.
- 10 Z.A. Benzo, C. Gómez, S. Menéndez, M. de la Guardia and A. Salvador, *Microchem. J.*, 40 (1989) 271.
- 11 J.V. de Julián-Ortiz and M. de la Guardia, *Can. J. Spectrosc.*, 25(2) (1990) 44.

Mathematical Models for the Fourier Transform Infrared Spectroscopic Determination of *ortho*-, *meta*- and *para*-Xylene in Xylol

Salvador Garrigues and Miguel de la Guardia*

Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, 50 Dr. Moliner St., 46100 Burjassot, Spain

The analysis of infrared data of binary and ternary mixtures of *o*-, *m*- and *p*-xylene has been carried out using a series of mathematical models, which permit the quantitative analysis of samples by Fourier transform infrared spectroscopy without the need for absorption cells with a known optical pathlength. The relative errors found in the analysis of binary mixtures are of the order of 1.4%, and those found for ternary mixtures are lower than 3.0% in most instances, for samples containing from 10 to 75% m/m of each component. The proposed method can be applied to the analysis of xylol, a paint solvent that contains the three compounds assayed.

Keywords: Fourier transform infrared spectroscopy; quantitative analysis; determination of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene in xylol

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) is a rapid analytical technique that provides information about the qualitative composition of samples and chromatographic effluents.^{1,2} However, quantitative analysis by FTIR requires the use of cells of known thickness and, in general, a previous dilution of the samples with a suitable solvent,³ limitations which often preclude the general application of the technique to quantitative determinations.

In recent years, a series of simple models for carrying out quantitative determinations from infrared data, which do not require the use of a known absorption pathlength, have been described. These models, based on the use of the ratio of the absorbances at two well defined wavenumbers, have been applied in order to determine the average degree of condensation of ethylene oxide condensate surfactants^{4,5} and the ratio of two compounds in a binary mixture, as applied to the analysis of mixtures of methylparathion and parathion⁶ and to a series of binary mixtures of oxazepam, medazepam and diazepam.⁷

In recent work two types of paint solvent have been characterized and analysed by FTIR.⁸

Problems related to band selection and to the determination of the baseline have been discussed in previous publications. However, the use of the ratio of the characteristic bands of two compounds in a mixture does not permit the determination of the concentration of each component, and only the proportion of the two compounds considered was obtained.

In the present paper, the models mentioned above have been applied to the analysis of ternary mixtures and a series of different strategies have been compared in order to obtain accurate results on binary and ternary mixtures of *o*-, *m*- and *p*-xylene. Therefore, it is important to note that xylol, a solvent commonly used in the paint industry,⁹⁻¹¹ is a mixture of *o*-, *m*- and *p*-xylene, hence, the proposed treatment is of interest for the analysis of paint solvents.

Experimental

Apparatus and Reagents

A Perkin-Elmer Model 1750 Fourier transform infrared spectrometer with a temperature stabilized coated detector (FR-DTGS) was employed to carry out the absorbance measurements. Potassium bromide cells were used to obtain the infrared spectra of thin films of the samples and *o*-, *m*- and

p-xylene (Panreac, analytical-reagent grade) were employed as standards.

General Procedure

Pure compounds, binary mixtures or ternary mixtures of *o*-, *m*- and *p*-xylene were weighed and homogenized, and a few drops were placed between two potassium bromide windows. The infrared spectra were recorded between 4800 and 400 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and the spectral range between 850 and 650 cm^{-1} was selected for the analysis of the compounds studied.

A common baseline was established for all the IR absorbance spectra considered between 820 and 670 cm^{-1} and the peak heights or peak area absorbance values were established at the appropriate wavenumbers.

The analysis of binary and ternary mixtures was carried out using the mathematical treatment indicated below.

Mathematical Treatment

Treatment of binary mixtures

For a mixture of two compounds O and M, in the same spectrum, it follows readily from the Beer-Lambert law that

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\epsilon_1}{\epsilon_2} \frac{[O]}{[M]} \quad (1)$$

where A_1 and A_2 are the measured absorbance values at the two wavenumbers chosen such that the characteristic peaks for O and M do not overlap, ϵ_1 is the molar absorptivity for O at wavenumber 1, ϵ_2 is the molar absorptivity for M at wavenumber 2, and [O] and [M] are the concentrations of O and M.

For mixtures of compounds O and P, and M and P, respectively, the relevant equations are

$$\frac{A_1}{A_3} = \frac{\epsilon_1}{\epsilon_3} \frac{[O]}{[P]} \quad (2)$$

$$\frac{A_2}{A_3} = \frac{\epsilon_2}{\epsilon_3} \frac{[M]}{[P]} \quad (3)$$

Experimentally the relationship between two compounds in a sample is established from the absorbance values at two wavenumbers characteristic of each of these compounds and from the ratio of their molar absorptivities.

The ratio of the characteristic molar absorptivities of the compounds can be determined not only from a sample

* To whom correspondence should be addressed.

containing a known proportion of both compounds^{6,7} but also from the regression between a series of samples in which the [O]:[P] or [M]:[P] ratios are known and $A_1:A_3$ or $A_2:A_3$ was determined experimentally. In this sense two regression models were employed, a linear model, which is directly obtained from eqns. (2) and (3), and a double logarithmic model, which permits the linearization of the relationship between $A_1:A_3$ and [O]:[P] for samples containing very different proportions of both compounds.

When the linear model is used the ratio $\varepsilon_1:\varepsilon_3$ can be obtained from the slope of the regression line, and for the double logarithmic model $\varepsilon_1:\varepsilon_3$ is obtained from the intercept.

Treatment of ternary mixtures

When the three compounds considered, O, M and P, are present in the same sample a theoretical parameter, total absorbance, A_T , can be established which is the sum of the experimental absorbance values obtained at each wavenumber considered

$$A_T = A_1 + A_2 + A_3 \quad (4)$$

and taking into account the Beer-Lambert law for all the compounds in the same IR spectrum

$$A_T = b\varepsilon_1 [O] + b\varepsilon_2 [M] + b\varepsilon_3 [P] \quad (5)$$

where b is the absorption pathlength.

The ratio of the absorbance of one component of the mixture to the total absorbance does not depend on the thickness of the absorption cell and so a general expression, in which A_i , ε_i and $[i]$ correspond to any of the three compounds considered, can be written as follows

$$\frac{A_i}{A_T} = \frac{\varepsilon_i [i]}{\varepsilon_1 [O] + \varepsilon_2 [M] + \varepsilon_3 [P]} \quad (6)$$

If $\varepsilon_1 = \varepsilon_2 = \varepsilon_3 = \varepsilon_i$, then eqn. (6) can be modified to

$$\frac{A_i}{A_T} = \frac{[i]}{[O] + [M] + [P]} \quad (7)$$

which directly relates the concentration of one component of the mixture to the experimental results, independently of the optical pathlength of the cell.

In order to obtain the expression given in eqn. (7) it is necessary to determine the coefficient which multiplied by ε_2 provides the value of ε_1 and that which can transform ε_3 to ε_1 . From the rearrangement of eqns. (1)-(3) the following equations can be obtained

$$\varepsilon_2 = \varepsilon_1 \frac{A_2 [O]}{A_1 [M]} \quad (8)$$

$$\varepsilon_3 = \varepsilon_1 \frac{A_3 [O]}{A_1 [P]} \quad (9)$$

and from these the coefficients k_1 and k_2 can be obtained as follows:

$$k_1 = \frac{A_2 [O]}{A_1 [M]} = \frac{\varepsilon_2}{\varepsilon_1} \quad (10)$$

$$k_2 = \frac{A_3 [O]}{A_1 [P]} = \frac{\varepsilon_3}{\varepsilon_1} \quad (11)$$

By using the k_1 and k_2 values the absorbance values, A_2 and A_3 , at the wavenumber characteristic of M and P can be written as:

$$A_2 = bk_1\varepsilon_1 [M] \quad (12)$$

$$A_3 = bk_2\varepsilon_1 [P] \quad (13)$$

and so,

$$\frac{A_2}{k_1} = b\varepsilon_1 [M] \quad (14)$$

and

$$\frac{A_3}{k_2} = b\varepsilon_1 [P] \quad (15)$$

Eqn. (5) can be written as:

$$A_1 + \frac{A_2}{k_1} + \frac{A_3}{k_2} = \varepsilon_1 k_1 ([O] + [M] + [P]) \quad (16)$$

and the percentage of each of the components in a ternary mixture can be found.

$$\begin{aligned} [\text{O}] \text{ in } \% &= \frac{[\text{O}]}{[\text{O}] + [\text{M}] + [\text{P}]} \times 100 \\ &= \frac{A_1}{A_1 + A_2/k_1 + A_3/k_2} \times 100 \quad (17) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{M}] \text{ in } \% &= \frac{[\text{M}]}{[\text{O}] + [\text{M}] + [\text{P}]} \times 100 \\ &= \frac{A_2/k_1}{A_1 + A_2/k_1 + A_3/k_2} \times 100 \quad (18) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{P}] \text{ in } \% &= \frac{[\text{P}]}{[\text{O}] + [\text{M}] + [\text{P}]} \times 100 \\ &= \frac{A_3/k_2}{A_1 + A_2/k_1 + A_3/k_2} \times 100 \quad (19) \end{aligned}$$

By using the values of A_1 , A_2 and A_3 obtained by experiment and from the values of k_1 and k_2 , previously established from eqns. (10) and (11), the concentration of each component can be determined. However, in order to establish the k_1 and k_2 values different approaches can be used.

Therefore, k_2 is a constant equal to $\varepsilon_3/\varepsilon_1$. This parameter can be obtained from the inverse of the slope of the regression line between $A_1:A_3$ and [O]:[P] or from the intercept of the regression of

$$\text{Log } \frac{A_1}{A_3} = \text{log } \frac{1}{\varepsilon_3/\varepsilon_1} + \text{log } \frac{[\text{O}]}{[\text{P}]} \quad (20)$$

However, for pure solvents or solutions of high concentration it was observed that ε_1 , ε_2 and ε_3 did not remain constant for all the different levels of concentration of [O], [M] and [P] and so it is possible to obtain a function which relates k_1 and [O]:[M] or k_2 and [O]:[P]. In order to establish more accurately the percentage of each component in a ternary mixture the optimum value of k_1 or k_2 must be obtained from the k_1 and k_2 functions.

For this purpose several models, such as

$$k_1 = f([\text{O}]/[\text{M}]) \quad (21)$$

$$k_1 = f(\text{log } ([\text{O}]/[\text{M}])) \quad (22)$$

$$\text{Log } k_1 = f(\text{log } ([\text{O}]/[\text{M}])) \quad (23)$$

can be employed to obtain the k_1 value to be used in the analysis of a ternary mixture from the previous determination of the relationship between these two components in the mixture. In these expressions f indicates that k_1 , or $\text{log } k_1$ is a function of the ratio of [O] to [M].

Apart from these three basic models, k_1 and k_2 can be obtained from the linear part of the simple logarithmic or the double logarithmic relationship between k and the ratio of the two compounds being studied, providing a series of numerical approaches based on the determination of an optimum estimation of the parameters k_1 and k_2 , for the sample considered.

Resolution of Ternary Mixtures Using Equations

Another way to determine [O], [M] and [P] in a ternary mixture, without the need to use a cell of known thickness is to

use a compatible and determinate system of three equations which includes the three unknowns.

From eqns. (1), (2) and (3) the ratio of the concentrations of two components in the mixture can be expressed as:

$$\frac{[O]}{[M]} = \frac{A_1 \epsilon_2}{A_2 \epsilon_1} = U \quad (24)$$

$$\frac{[O]}{[P]} = \frac{A_1 \epsilon_3}{A_3 \epsilon_1} = W \quad (25)$$

$$\frac{[M]}{[P]} = \frac{A_2 \epsilon_3}{A_3 \epsilon_2} = Z \quad (26)$$

hence the following equations can be written

$$[O] - U[M] = 0 \quad (27)$$

$$[O] - W[P] = 0 \quad (28)$$

$$[M] - Z[P] = 0 \quad (29)$$

taking into account that in a pure ternary system only three components are considered

$$[O] + [M] + [P] = 1 \quad (30)$$

From eqns. (27)–(30) three systems can be written as follows:

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & -U & 0 \\ 1 & 0 & -W \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (31)$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & -U & 0 \\ 0 & 1 & -Z \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (32)$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 & -W \\ 0 & 1 & -Z \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (33)$$

On the other hand a series of equations can be considered which relates the proportion of each component in the mixture to the experimental data.

From binary mixtures a series of equations similar to those found for ternary mixtures [eqns. (17)–(19)] can be obtained

$$\frac{[O]}{[O] + [M]} = \frac{A_1}{A_1 + A_2/k_1} = R \quad (34)$$

$$\frac{[O]}{[O] + [P]} = \frac{A_1}{A_1 + A_3/k_2} = S \quad (35)$$

$$\frac{[M]}{[M] + [P]} = \frac{A_2}{A_2 + A_3/k_3} = T \quad (36)$$

and

$$k_3 = \frac{\epsilon_3}{\epsilon_2} \quad (37)$$

These equations can be written as a function of [O], [M] and [P] as follows:

$$[O] = [O] R + [M] R \quad (38)$$

$$[O] = [O] S + [P] S \quad (39)$$

$$[M] = [M] T + [P] T \quad (40)$$

which are equivalent to:

$$[O] (1 - R) - [M] R = 0 \quad (41)$$

$$[O] (1 - S) - [P] S = 0 \quad (42)$$

$$[M] (1 - T) - [P] T = 0 \quad (43)$$

For a sample containing only [O], [M] and [P] using eqn. (30) and eqns. (41)–(43) the following three systems can be proposed to determine [O], [M] and [P].

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 - R & -R & 0 \\ 1 - S & 0 & -S \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (44)$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 - R & -R & 0 \\ 0 & 1 - T & -T \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (45)$$

$$\begin{pmatrix} [O] \\ [M] \\ [P] \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 - S & 0 & -S \\ 0 & 1 - T & T \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (46)$$

Thus, [O], [M] and [P] are obtained from the experimental values of A_1 , A_2 , A_3 and k_1 , k_2 and k_3 obtained from the IR spectra of binary mixtures using the different strategies described above.

This treatment, and also the other proposed system, can be used for dilute samples if the total concentration of the compounds determined is known, taking into account that in this instance $[O] + [M] + [P] = c_T$ and not 1 as stated previously.

Results and Discussion

Infrared Spectra of *ortho*-, *meta*- and *para*-Xylene

The transmittance spectra of the three compounds considered are shown in Fig. 1(a), while in Fig. 1(b) the absorbance bands, in the range between 870 and 630 cm^{-1} , corresponding to *o*-xylene, which has a characteristic band at 743 cm^{-1} , *m*-xylene, which has two bands at 770 and 693 cm^{-1} , and *p*-xylene, which has a band at 796 cm^{-1} , can be seen.

As indicated above, a common baseline between 820 and 670 cm^{-1} can be defined for all the bands considered and, as can be seen in Fig. 2, the characteristic bands of the compounds do not overlap.

For the determination of *o*-, *m*- and *p*-xylene, absorbance peak heights or absorbance areas can be employed. As indicated in Fig. 2(b), wavenumber intervals from 4 to 14 cm^{-1} were selected in order to determine the absorbance area.

Analysis of Binary Mixtures

For the analysis of binary mixtures of xylenes several options such as the selection of the absorbance band and the use of absorbance peak heights or peak areas are available. On the

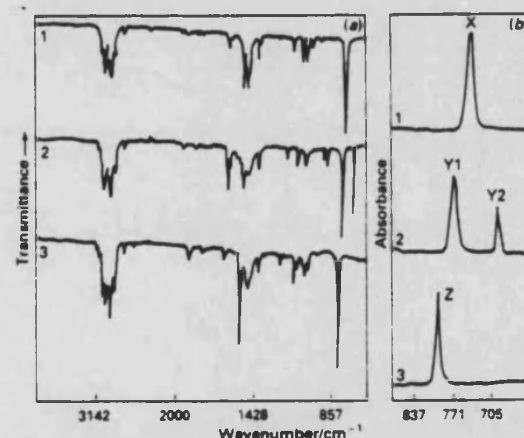


Fig. 1 FTIR spectra of pure 1, *o*-xylene, 2, *m*-xylene and 3, *p*-xylene. (a) Transmittance spectra; and (b) absorbance spectra in which the more interesting bands between 870 and 630 cm^{-1} of X, *o*-xylene; Y1 and Y2, *m*-xylene and Z, *p*-xylene are indicated

other hand, linear or double logarithmic adjustments can be used in order to determine the coefficients which relate the ratio of experimental absorbance data to the ratio of the compounds considered.

Band selection

For the analysis of binary mixtures of *m*-xylene with the other compounds considered, each of the two characteristic bands of *m*-xylene or the sum of the absorbance of both can be used.

The k_1 values found for each of these three possibilities using both a linear regression model and a double logarithmic model are given in Table 1. It can be seen that in all instances good correlation coefficients were obtained, corresponding to the maximum sensitivity being achieved by the use of the M2 band ($\nu = 692 \text{ cm}^{-1}$). However, good sensitivity and accuracy are obtained and a minimum of data treatment is required using only the band at 769 cm^{-1} (Table 2); therefore, this band was selected for the analysis of binary mixtures of *m*-xylene with the other xylenes.

Use of peak heights versus peak areas in the analysis of binary mixtures

As indicated in Fig. 2 it is possible to use both peak heights and peak areas to determine the ratio of two absorbance bands corresponding to each of the two components of a binary mixture. On the other hand it is possible to take different values of the peak area as a function of the wavenumber interval used for the calculations.

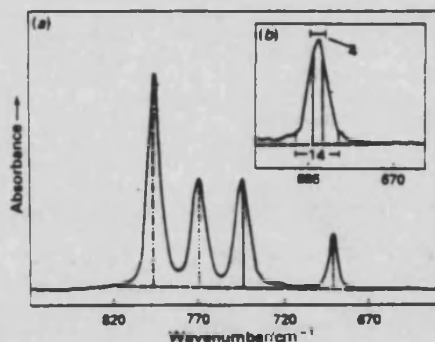


Fig. 2 FTIR spectra of a ternary mixture of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene in which the common baseline of all the bands considered and the point at which peak height values were measured, in each instance, is indicated; and (b) absorbance band of *m*-xylene in which the two different intervals employed to determine the peak area are indicated

For binary mixtures of *o*- and *p*-xylene the linear adjustment of the experimental data and the double logarithmic adjustment were employed for peak height and peak area values. The values obtained for the regression parameters and the k_2 values are summarized in Table 3.

The use of band ratios minimizes the sensitivity enhancement obtained from the use of peak area values instead of peak height values.

The sensitivity, expressed as the slope of the analytical curve, provides a value of approximately 1.10 in all instances. However, when area values, with a 14 cm^{-1} wavenumber interval, were employed, a sensitivity enhancement of 15% was obtained. On the other hand it appears that the use of peak height values (see Table 4) provides the most accurate results in the analysis of synthetic samples, especially for samples with a low content of *o*-xylene, hence use of the ratio of peak height values is recommended.

From the experiments carried out it can be concluded that a double logarithmic adjustment of the ratio of absorbance peak heights of the characteristic bands of *o*-, *m*- and *p*-xylene and the ratio of two of these compounds in pure binary mixtures provide the best analytical performance. These relationships for the three binary mixtures considered are depicted in Fig. 3, which corresponds to the following calibration equations:

$$\text{Log} \frac{A_o}{A_m} = 0.863 \log \frac{[o]}{[m]} + 0.41$$

$$\text{Log} \frac{A_o}{A_p} = 0.882 \log \frac{[o]}{[p]} + 0.23$$

$$\text{Log} \frac{A_m}{A_p} = 0.900 \log \frac{[m]}{[p]} - 0.09$$

where $[o]$, $[m]$ and $[p]$ are the concentrations of *o*-xylene, *m*-xylene and *p*-xylene, respectively and A_o , A_m and A_p their absorbances, respectively.

Analysis of binary mixtures of xylenes

By using peak height values of the bands at 744 , 769 and 796 cm^{-1} for *o*-, *m*- and *p*-xylene, respectively, synthetic samples of binary mixtures were analysed by FTIR. The results were obtained using a previous double logarithmic adjustment of experimental data of a series of samples of known composition are given in Table 5 and it can be seen that good accuracy is achieved using the recommended procedure.

The analytical figures of merit of the FTIR analysis of binary mixtures are summarized in Table 6, which indicates the improved performance of the double logarithmic data adjustment.

Table 1 Adjustment of the experimental data to the $[o]:[m]$ ratio as a function of the bands considered for *m*-xylene

Adjustment	Bands considered		
	X ($\nu = 744 \text{ cm}^{-1}$) Y ($\nu = 770 \text{ cm}^{-1}$)	X ($\nu = 744 \text{ cm}^{-1}$) Y ($\nu = 770 \text{ cm}^{-1} + \nu = 693 \text{ cm}^{-1}$)	X ($\nu = 744 \text{ cm}^{-1}$) Y ($\nu = 693 \text{ cm}^{-1}$)
Linear	$\frac{A_1}{A_2} = 1.19 \frac{[o]}{[m]} + 0.26$ $r = 0.998$ $k_1^* = 0.840 \pm 0.014$	$\frac{A_1}{A_2} = 0.763 \frac{[o]}{[m]} + 0.17$ $r = 0.997$ $k_1 = 1.31 \pm 0.02$	$\frac{A_1}{A_2} = 2.13 \frac{[o]}{[m]} + 0.50$ $r = 0.997$ $k_1 = 0.499 \pm 0.010$
Double logarithmic	$\text{Log} \frac{A_1}{A_2} = 0.863 \log \frac{[o]}{[m]} + 0.41$ $r = 0.9993$ $k_1 = 0.66 \pm 0.02$	$\text{Log} \frac{A_1}{A_2} = 0.859 \log \frac{[o]}{[m]} - 0.03$ $r = 0.9992$ $k_1 = 1.03 \pm 0.03$	$\text{Log} \frac{A_1}{A_2} = 0.854 \log \frac{[o]}{[m]} + 1.01$ $r = 0.9991$ $k_1 = 0.364 \pm 0.015$

* $k_1 = e_2/e_1 \pm \sigma$.

Table 2 Determination of the [o] : [m] ratio in binary mixtures as a function of the bands considered

Band	Sample	Added [o] : [m]	Found			
			Linear adjustment		Double logarithmic adjustment	
			[o] : [m]	Error (%)	[o] : [m]	Error (%)
<i>Y1 (ν = 770 cm⁻¹)</i>						
	1	0.20880	0.1408	-32.6	0.2322	11.2
	2	0.64324	0.6545	1.7	0.6498	1.0
	3	1.08701	1.1018	1.4	1.0499	-3.4
	4	2.3948	2.6045	8.8	2.5330	5.5
	5	3.9859	3.7213	-6.6	3.7254	-6.5
			$\bar{E}_r = 10.2$		$\bar{E}_r = 5.6$	
<i>Y1 (ν = 770 cm⁻¹) + Y2 (ν = 693 cm⁻¹)</i>						
	1	0.20880	0.1354	-35.2	0.2213	6.0
	2	0.64324	0.6471	0.6	0.6253	-2.8
	3	1.08701	1.0911	0.4	1.0106	-7.0
	4	2.3948	2.6013	8.6	2.5014	4.5
	5	3.9859	3.7076	-7.0	3.6641	-8.1
			$\bar{E}_r = 10.4$		$\bar{E}_r = 5.7$	
<i>Y2 (ν = 693 cm⁻¹)</i>						
	1	0.20880	0.1209	-42.1	0.2288	9.6
	2	0.64324	0.6285	-2.3	0.6425	-0.1
	3	1.08701	1.0659	-1.9	1.0380	-4.5
	4	2.3948	2.5865	8.0	2.5319	5.7
	5	3.9859	3.6726	-7.9	3.7179	-6.7
			$\bar{E}_r = 12.4$		$\bar{E}_r = 5.3$	

 \bar{E}_r = Average relative error.Table 3 Comparison between the use of peak height and peak area in the analysis of binary mixtures of *o*- and *p*-xylene

Adjustment	Height	Area (4)*	Area (6)	Area (8)	Area (10)	Area (12)	Area (14)
<i>Linear—</i>							
Slope	1.022	1.030	1.056	1.088	1.122	1.155	1.185
Intercept	0.21	0.22	0.21	0.22	0.19	0.17	0.16
<i>r</i>	0.9988	0.9987	0.9989	0.9991	0.9993	0.9994	0.9994
$k_2 \pm \sigma$	0.978 ± 0.011	0.971 ± 0.011	0.947 ± 0.011	0.919 ± 0.010	0.891 ± 0.008	0.866 ± 0.007	0.844 ± 0.006
<i>Double logarithmic—</i>							
Slope	0.882	0.880	0.885	0.892	0.901	0.910	0.919
Intercept	0.23	0.25	0.26	0.28	0.29	0.30	0.31
<i>r</i>	0.99967	0.99967	0.99967	0.99968	0.99969	0.99970	0.99970
$k_2 \pm \sigma$	0.794 ± 0.016	0.779 ± 0.016	0.771 ± 0.015	0.756 ± 0.015	0.748 ± 0.015	0.741 ± 0.015	0.733 ± 0.015

* Numbers in parentheses indicate the wavenumber interval, in cm⁻¹, employed to determine the band area. $k_2 = \epsilon_1/\epsilon_2 \pm \sigma$.Table 4 Results of the determination of the *o*-xylene : *p*-xylene ratio using peak height and peak area values

Sample	Added	Found													
		Peak height	Error (%)	Peak area (4)*	Error (%)	Peak area (6)	Error (%)	Peak area (8)	Error (%)	Peak area (10)	Error (%)	Peak area (12)	Error (%)	Peak area (14)	Error (%)
1	0.21601	0.2177	0.8	0.2143	-0.8	0.2131	-1.2	0.2107	-2.5	0.2104	-2.6	0.2096	-3.0	0.2085	-3.5
2	0.59955	0.6191	3.3	0.6193	3.3	0.6254	4.3	0.6233	4.0	0.6265	4.5	0.6279	4.7	0.6243	4.1
3	1.14659	1.1180	-2.5	1.1108	-3.1	1.1183	-2.5	1.1151	-2.7	1.1237	-2.0	1.1300	-1.4	1.1270	-1.7
4	2.1534	2.0428	-5.1	2.0374	-5.4	2.0526	-4.7	2.0478	-4.9	2.0631	-4.2	2.0741	-3.7	2.0676	-4.0
5	3.9715	3.9600	-0.3	3.9301	-1.0	3.9401	-0.8	3.9109	-1.5	3.9197	-1.3	3.9239	-1.2	3.8964	-1.9
		$\bar{E}_r, \uparrow = 2.4$		$\bar{E}_r = 2.7$		$\bar{E}_r = 2.7$		$\bar{E}_r = 3.1$		$\bar{E}_r = 2.9$		$\bar{E}_r = 2.8$		$\bar{E}_r = 3.0$	

* Numbers in parentheses indicate the wavenumber interval, in cm⁻¹, employed to determine the band area. $\uparrow \bar{E}_r$ = Average relative error.**Analysis of Ternary Mixtures of Xylenes Using k Constants and Functions**

As has been indicated, in the mathematical treatment of the results, the analysis of ternary mixtures can be carried out using a relationship between the absorbance at a wavenumber characteristic of each compound and the sum of the absorbance peak heights of the three bands considered, only if the molar absorptivities of all compounds are corrected in order to obtain equivalent data which permit the use of eqns. (17)–(19).

The k_1 and k_2 values required to correct the absorbance values obtained by experiment can be calculated from the relationship between $A_o : A_m$ and [o] : [m] and from that of $A_o : A_p$ and [o] : [p] using both the linear adjustment and the double logarithmic adjustment (as can be seen in Tables 1 and 3). However, when experimental values of the $\epsilon_m : \epsilon_o$ and $\epsilon_p : \epsilon_o$ obtained from synthetic binary samples with a known proportion of xylenes are plotted versus the *o*- : *m*-xylene ratio and *o*- : *p*-xylene ratio, respectively, a function and not a constant value is obtained. This may be due to the high

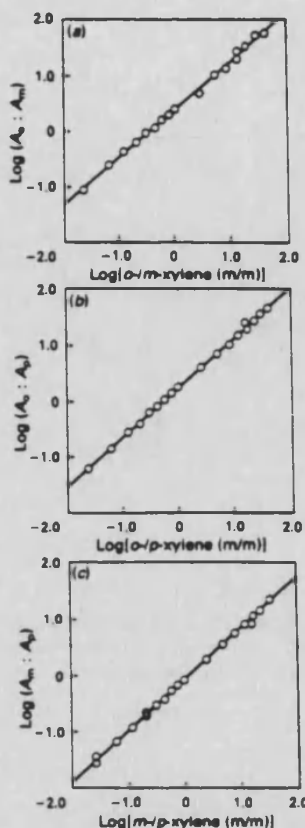


Fig. 3 Calibration equations for binary mixtures of (a) *o-m*-xylene; (b) *o-p*-xylene; and (c) *m-p*-xylene. The graphs relate the logarithm of the ratio of the absorbance at each wavenumber characteristic of each compound and their relation in binary mixtures

Table 5 Analysis of binary mixtures of *o*-, *m*- and *p*-xylene by FTIR

System	Sample	<i>o</i> -Xylene (%)		
		Added	Found	Error (%)
<i>o-m</i> -Xylene	1	17.23	18.84	9.3
	2	39.14	39.39	0.6
	3	52.08	51.22	-1.6
	4	70.54	71.69	1.6
	5	79.94	78.84	-1.4
				$\bar{E}_r = 2.9$
<i>o-p</i> -Xylene	1	17.76	17.87	0.6
	2	37.48	37.86	1.0
	3	53.41	52.77	-1.2
	4	68.29	67.13	-1.7
	5	79.88	79.84	0.0
				$\bar{E}_r = 0.9$
		<i>m</i> -Xylene (%)		
		Added	Found	Error (%)
<i>m-p</i> -Xylene	1	18.49	18.47	-0.1
	2	36.21	36.26	0.1
	3	50.31	50.28	0.0
	4	68.66	68.08	-0.8
	5	82.06	82.01	-0.1
				$\bar{E}_r = 0.2$

* \bar{E}_r = Average relative error.

Table 6 Parameters for the analysis of binary mixtures of xylenes by FTIR. A linear and a double logarithmic calibration line between the ratio of absorbance peak height and the ratio of the two components considered in each mixture were employed

System	Sensitivity		Relative standard deviation (%)		Accuracy (%)	
	Linear	Double logarithmic	Linear	Double logarithmic	Linear	Double logarithmic
<i>o-m</i> -xylene	1.19	1.51	0.3*	0.3*	6.8	2.9
<i>o-p</i> -xylene	1.022	1.26	0.5†	0.5†	8.8	0.9
<i>m-p</i> -xylene	0.786	0.914	0.4‡	0.4‡	4.2	0.2

* Calculated for a ratio [o] : [m] of 0.64324.
 † Calculated for a ratio [o] : [p] of 2.1534.
 ‡ Calculated for a ratio [m] : [p] of 1.01238.

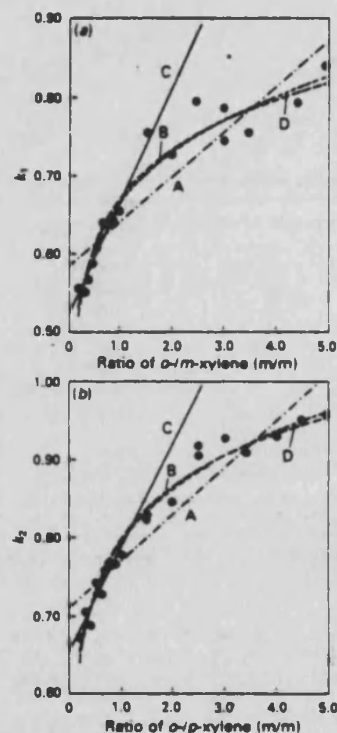


Fig. 4 Relationship between (a) k_1 and the *o-m*-xylene ratio and (b) k_2 and the *o-p*-xylene ratio. For both, experimental values of k are indicated and A, linear; B, logarithmic; and C, double logarithmic adjustments can be made. A linearization of the first ten experimental values can also be carried out to give the curve D

concentration of the samples which are pure xylene mixtures without any inert solvent, hence, under these conditions it is understandable that Beer's law was not obeyed because of interactions between the different xylenes.

The relationship between k_1 and the [o] : [m] ratio and k_2 versus [o] : [p] is shown in Fig. 4. From these data three adjustment models can be employed. In all instances ternary mixtures can be processed from the previous determination of [o] : [m] and [o] : [p] ratios, as recommended earlier, and the appropriate k_1 and k_2 values can be obtained from each of the models described, and from the linear portion of the logarithmic relationships.

Table 7 Coefficients employed for the analysis of ternary xylene mixtures

	k_1	k_2
From the calibration lines—		
Linear adjustment	0.840	0.978
Double logarithmic adjustment	0.664	0.794
From $k = f(\text{relationship})$ —		
Linear*	$k = 0.58 + 0.060 \frac{[o]}{[m]}$	$k = 0.71 + 0.06 \frac{[o]}{[p]}$
Linear†	$k = 0.515 + 0.151 \frac{[o]}{[m]}$	$k = 0.668 + 0.108 \frac{[o]}{[p]}$
Logarithmic	$k = 0.67 + 0.093 \log \frac{[o]}{[m]}$	$k = 0.800 + 0.098 \log \frac{[o]}{[p]}$
Double logarithmic	$\text{Log } k = 0.137 \log \frac{[o]}{[m]} - 0.41$	$\text{log } k = 0.120 \text{Log} \frac{[o]}{[p]} - 0.23$

* In the adjustment all the values were considered.

† In the adjustment only the first ten values were considered.

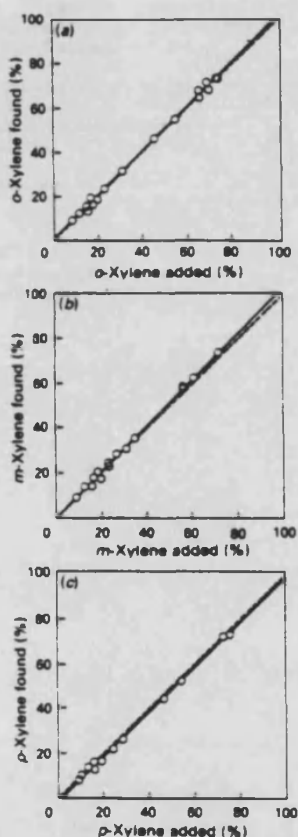


Fig. 5 Regression between the results found and the amount of compound added in the determination of (a) *o*-xylene; (b) *m*-xylene; and (c) *p*-xylene in ternary mixtures using the logarithmic relationships between k_1 and $\log [o] : [m]$ and k_2 and $\log [o] : [p]$. The solid line indicates the experimental values found and the broken line indicates the theoretical values corresponding to a slope of 1 and an intercept of 0

The values of k_1 and k_2 and the respective equations are summarized in Table 7.

By using all these treatments, a series of synthetic samples of *o*-, *m*- and *p*-xylene were analysed and the average relative error was used as a control parameter in an attempt to select the most appropriate analytical procedure. The regression between the results found, using the k_1 and k_2 values obtained from the logarithmic relationship between k_1 and $\log([o] : [m])$ and that between k_2 and $\log([o] : [p])$ and the real values of the spiked samples are shown in Fig. 5. It can be seen that relative errors lower than 7.0% were obtained in all instances, 3.4% being the average relative error of the total sample population assayed.

Analysis of Ternary Mixtures Using Equations

The use of the equations obtained from the relationships between $[o] : [m]$, $[o] : [p]$ and $[m] : [p]$ and those from $[o] : ([o] + [m])$, $[o] : ([o] + [p])$ and $[p] : ([m] + [p])$, taking into account the total concentration of xylenes in the samples considered, provides equations such as those indicated in eqns. (31)–(33) and (44)–(46) and from these the determination of *o*-, *m*- and *p*-xylene can be carried out.

Results obtained using these six systems and also those found from the average of the concentrations obtained for both sets of systems were evaluated using the average relative error of the analysis of 12 synthetic samples as a control parameter. The most accurate results were obtained using the system described by eqn. (32) which provides relative errors of about 1.6%. The results found for each component in each of the samples as compared with the spiked values are given in Table 8.

Conclusions

The use of the ratio of absorbance peak heights of different compounds, in both binary and ternary mixtures, provides accurate results for the determination of each of the sample components without the need to use sample cells with a known optical pathlength.

Results found in the analysis of xylene mixtures provide highly accurate values which can be used in the characterization of paint solvents.

Table 8 FTIR analysis of ternary mixtures of xylenes using an equation system

Sample	o-Xylene			m-Xylene			p-Xylene		
	Added	Found	Error (%)	Added	Found	Error (%)	Added	Found	Error (%)
1	11.78	11.98	1.7	14.52	14.11	-2.8	73.70	73.91	0.3
2a	17.76	17.24	-2.9	27.43	27.62	0.7	54.81	55.13	0.6
2b	17.76	17.97	1.2	27.43	27.38	-0.2	54.81	54.65	-0.3
3a	30.84	30.41	-1.4	23.04	23.85	3.5	46.12	45.74	-0.8
3b	30.84	30.85	0.0	23.04	22.78	-1.1	46.12	46.37	0.5
4a	45.48	45.26	-0.5	30.66	30.53	-0.4	23.86	24.21	1.5
4b	45.48	45.58	0.2	30.66	30.18	-1.6	23.86	24.24	1.6
5	55.22	54.39	-1.5	34.98	35.38	1.1	9.80	10.22	4.3
6a	66.02	66.64	0.9	17.63	17.07	-3.2	16.34	16.29	-0.3
6b	66.02	65.72	-0.5	17.63	17.52	-0.6	16.34	16.76	2.5
7a	73.36	73.07	-0.4	13.27	13.33	0.5	13.37	13.60	1.7
7b	73.36	72.56	-1.1	13.27	13.60	2.5	13.37	13.84	3.5
8	23.32	23.22	-0.4	61.69	61.62	-0.1	14.99	15.15	1.1
9a	14.70	14.32	-2.6	56.53	56.08	-0.8	28.77	29.59	2.8
9b	14.70	15.12	2.8	56.53	55.61	-1.6	28.77	29.27	1.7
10	9.23	9.52	3.2	72.31	70.97	-1.8	18.46	19.50	5.7
11	18.70	18.34	-1.9	9.47	9.07	-4.3	71.83	72.60	1.1
12a	70.18	69.57	-0.9	18.88	19.09	1.1	10.94	11.33	3.6
12b	70.18	70.72	0.8	18.88	18.40	-2.5	10.94	10.87	-0.6

S. G. acknowledges the grant of the Conselleria d'Educació i Ciència de la Generalitat Valenciana to carry out PhD studies.

References

- Mackenzie, M. W., *Advances in Applied FTIR Spectroscopy*, Wiley, Chichester, 1988.
- Nyquist, A. R., Leugers, M. A., McKelvy, M. L., Papenfuss, R. R., Putzig, C. L., and Yurga, L., *Anal. Chem.*, 1990, 62, 223R.
- McDonald, R. S., *Anal. Chem.*, 1984, 56, 349.
- de la Guardia-Cirugeda, M., Carrión-Domínguez, J. L., and Medina-Esriche, J., *Analyst*, 1984, 109, 457.
- Carrión-Domínguez, J. L., Sagiado, S., and de la Guardia-Cirugeda, M., *Anal. Chim. Acta*, 1986, 185, 101.
- de Benzo, Z. A., Gómez, C., Menéndez, S., de la Guardia-Cirugeda, M., and Salvador, A., *Microchem. J.*, 1989, 40, 271.
- de Julián-Ortiz, J. V., and de la Guardia-Cirugeda, M., *Can. J. Spectrosc.*, 1990, 25, 44.
- Garrigues, S., and de la Guardia-Cirugeda, M., *Anal. Chim. Acta*, 1991, 242, 123.
- Durrans, T. H., *Solvents*, Chapman and Hall, London, 1971.
- Morgans, W. M., *Outlines of Pains Technology*, Griffin, London, 1982.
- Lagowski, J. J., *The Chemistry of Non-aqueous Solvents*, Academic Press, New York, 1978.

Paper 1101763B
Received April 16th, 1991
Accepted June 12th, 1991

Flow-injection Fourier transform infrared spectrometric analysis

M. de la Guardia *, S. Garrigues and M. Gallignani

Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, 50 Dr. Moliner St., 46100 Burjassot, Valencia (Spain)

J.L. Burguera and M. Burguera

Department of Analytical Chemistry, University of Los Andes, Mérida 5101-A (Venezuela)

(Received 23rd July 1991)

Abstract

A method has been developed for obtaining and storing the complete Fourier transform spectrum, of a sample in a flowing stream in only 19 s. A resolution of 4 cm^{-1} is recommended. The determination of *o*-xylene in xylol was employed as a test system, using hexane as a carrier and diluent in all the experiments. A classical liquid flow cell and a demountable flow-through cell were compared. The best limit of detection obtained was 0.01% (v/v). The effects of flow-rate and injection volume were studied for the two cells used. The relative standard deviation (0.4% *o*-xylene, $n = 5$) was ca. 1%.

Keywords: Flow system; Infrared spectrometry; Xylene

In recent years, flow-injection analysis (FIA) methodology has been incorporated most branches of analytical chemistry [1–4]. The second edition (1988) of Ruzicka and Hansen's book [1] included 588 references to the use of FIA in UV-visible determinations, 123 in atomic absorption spectrometry and 72 in spectrofluorimetry. However, only four references to FIA-IR were cited.

The reasons for the lack of development in this area must be attributed to problems relating to the quantitative use of IR techniques, problems arising from obtaining adequate information from transient IR signals from the injected samples and the fact that published work has been carried out with sophisticated cells (such as a circle cell) [5,6] and in uncommon solvents (e.g., supercritical fluids [7] and water [5,6]).

We found only one reference, in which the isocyanate group was determined, to FIA-IR us-

ing a flow-through cell and carbon tetrachloride solutions [8]. However, a variable-filter IR spectrometer was used, which does not allow the exact determination of the baseline and necessitates the analysis being carried out at a fixed wavenumber, which may be disadvantageous when the shape of the IR band varies.

The use of Fourier transform IR (FT-IR) [9,10] permits the rapid recording of IR spectra in only few seconds, so it is possible to develop an adequate method for the treatment of transient signals based on the control of the spectra in an appropriate wavenumber range, which permits the accurate measurement of the baseline and the exact determination of the absorbance maximum, avoiding the undesirable use of a fixed wavenumber [11,12].

In this work an FIA-FT-IR method was developed, based on the use of a simple manifold with inexpensive cells, and suitable software was writ-

ten to obtain and accumulate the IR spectra of a sample zone which is transported to the manifold by organic solvents as carrier and diluents.

The determination of *o*-xylene was studied by FIA-FT-IR using two flow cells, a classical micro flow cell and a micro demountable flow-through cell, using hexane as carrier and solvent.

EXPERIMENTAL

Apparatus and reagents

A Perkin-Elmer Model 1750 FT-IR spectrometer with an FR-DTGS temperature-stabilized coated detector and equipped with a Series 7700 data station was employed for absorbance measurements with a nominal resolution that can be varied from 2 to 64 cm^{-1} .

Two models of IR cells were used: a Specac (Orpington, UK) micro flow cell with KBr windows, and a Spectra Tech (Warrington, UK) demountable micro flow-through cell.

The manifold was a single-channel assembly (see Fig. 1). A Gilson P-2 Minipuls peristaltic pump with Viton (Iso-Versinic) 0.15 cm i.d. pump tubing was used to transport carrier and samples. A Rheodyne Type 50 injection valve with various fixed-volume loops was used for sample introduction. All the connecting tubes were made of PTFE 50 (0.8 mm i.d.).

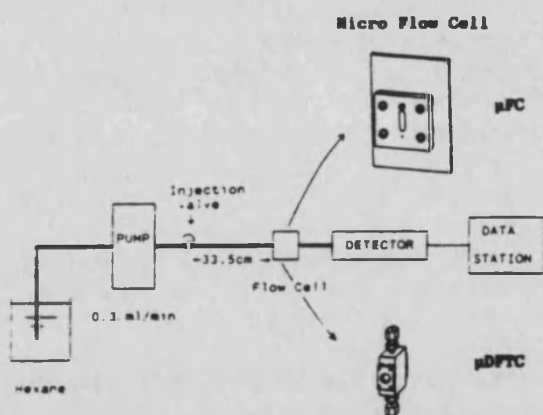


Fig. 1. Manifold used for the FIA-FT-IR determination of *o*-xylene in hexane solutions. μ FC = micro flow cell; μ DFTC = micro demountable flow-through cell.

Software programs

For continuous absorbance measurements, a series of computer programs were developed.

The "FIA-FTIR.oy" program, written in OBEY, allows the FT-IR spectra to be obtained and stored, as a function of time, with Perkin-Elmer apparatus, equipped with a Model 7700 data station, controlled by a CDS program.

The "CALCULAR.oy" program, written in OBEY, was developed to obtain the corrected peak-height absorbance values, taking into account the selected baseline and the exact position of the absorbance maximum.

The "FIAGRAMA" program, written in BASIC, permits the recording, as a function of time, the absorbance values established by the use of "CALCULAR.oy". This programme is loaded by the corresponding "FIAGRAMA.oy" program, written in OBEY.

All the software was developed in the laboratory of the Department of Analytical Chemistry in Valencia University and can be obtained from the authors.

General procedure

As the aim of this work was to develop a method for FT-IR analysis using a flow system, the general procedure was designed to allow both the development of suitable software and the study of the effect of the experimental conditions.

Two currently used, inexpensive, liquid cells were chosen for the determination of *o*-xylene in hexane solutions. The effects of cell thickness, injection volume and carrier flow-rate on the sensitivity, limit of detection and reproducibility of the measurements were studied.

Recommended procedure

Calibration solutions were prepared by dissolving 0.04-1% of *o*-xylene in hexane. A $200\ \mu\text{l}$ volume of *o*-xylene solution (standard or sample) in a hexane carrier was injected at a flow-rate of $0.28\ \text{ml min}^{-1}$ and absorbance measurements were made at $743\ \text{cm}^{-1}$, using a liquid flow cell with a 0.12-mm spacer, which provides a total volume of $5\ \mu\text{l}$.

The FT-IR spectra have been recorded between 850 and $650\ \text{cm}^{-1}$ with a nominal resolu-

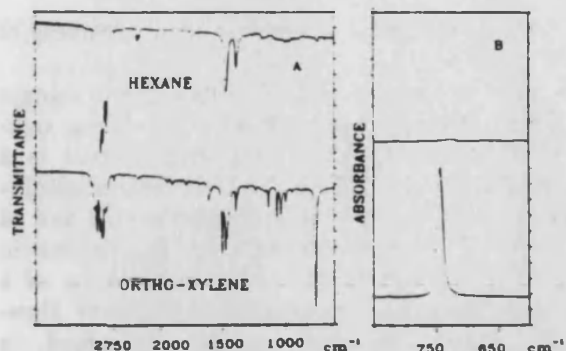


Fig. 2. (A) FT-IR spectra of hexane and *o*-xylene. (B) Absorbance measurements on pure solvent (top) and 0.5% (v/v) *o*-xylene in hexane (bottom).

tion of 4 cm^{-1} , and the baseline was established between 820 and 670 cm^{-1} .

The developed procedure could be applied to the analysis of paint solvents using, in all instances, peak-height absorbance measurements and standards of pure *o*-xylene in hexane, because the determination of this compound is not affected by the presence of *m*-xylene, *p*-xylene and other compounds, such as butyl acetate and butanol, which are currently used in paint products.

RESULTS AND DISCUSSION

o-Xylene has a typical transmittance spectrum with well defined bands in the fingerprint region (see Fig. 2A); the band at 743 cm^{-1} is the most

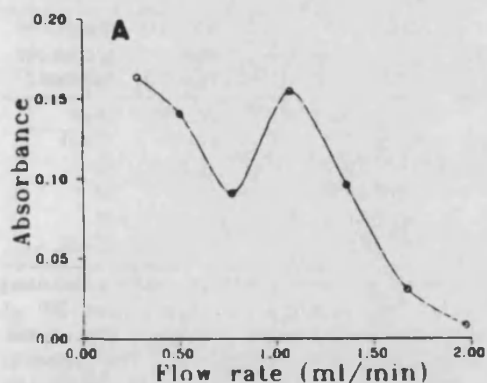


Fig. 4. Effect of flow-rate on the FIA peaks, using a micro flow cell. Sample volume, $200 \mu\text{l}$.

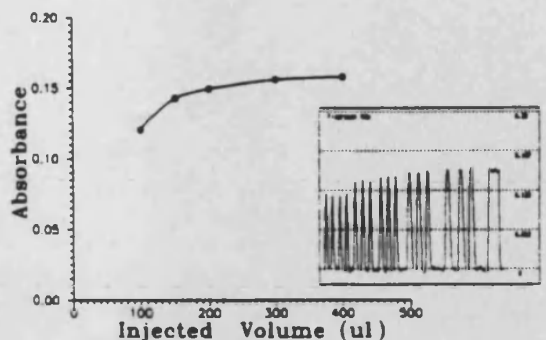


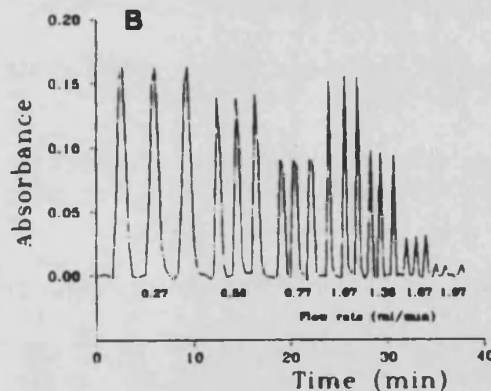
Fig. 3. Effect of the sample volume injected on the peak height of the FIA recording using a micro demountable flow-through cell. The absorbance measurement for the continuous introduction of *o*-xylene in hexane is shown on the right.

sensitive and is well resolved. In hexane solutions, this band does not suffer interference from the solvent and, as can be seen in Fig. 2B, working in the absorbance mode, a linear baseline can be established from 820 to 670 cm^{-1} . Hexane was therefore selected as the solvent and carrier for the determination of *o*-xylene.

Effect of FIA parameters

The effect of the flow-rate and the sample volume injected on the peak height and shape were studied using both cells.

Figure 3 indicates that, at a flow-rate of 0.28 ml min^{-1} , and using the demountable flow cell, the peak height increases when the sample volume injected increases, until absorbance values comparable to those found for continuous intro-



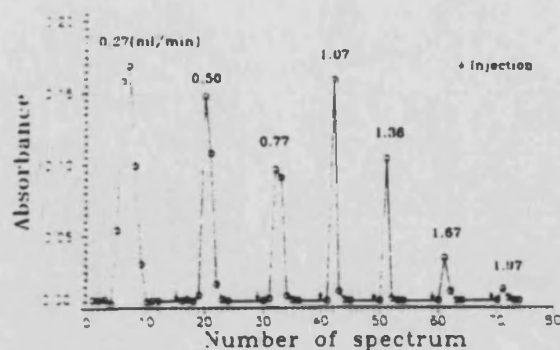


Fig. 5. Effect of the carrier flow-rate on the FIA peaks obtained for 200- μ l samples using the micro flow cell.

duction of *o*-xylene solutions are obtained for an injection volume $> 300 \mu\text{l}$. Similar results were obtained with the conventional flow cell.

For a fixed sample volume injected, the flow-rate of the carrier solutions affects both the shape and height of the FIA recording. In this instance the use of high flow-rates must be avoided because it can cause problems in obtaining and storing the IR spectra.

As can be seen in Fig. 4, the peak height decreases when the pump flow-rate increases. However, for higher flow-rates ($> \text{ca. } 0.5 \text{ ml min}^{-1}$), problems arise from possible imperfect coincidence between the sample flow through the cell and the moment of measurement, causing the variable trend in Fig. 4. Similar results were obtained with the demountable cell. Therefore, lower flow-rates are necessary to obtain well defined peaks, thus decreasing the number of samples that could be analysed per hour.

Figure 5 shows the effect of the pump flow-rate on the FIA peaks for the micro flow cell with an injection volume of 200 μl . It can be seen that an increase in the carrier flow-rate decreases the number of spectra that could be obtained for a particular sample zone.

Effect of the nominal resolution of the FT-IR spectra on the analytical signal

The time required to obtain the interferogram of a sample decreases when the nominal resolution (cm^{-1}) of the spectrum increases, and this

fact could be used to obtain a rapid recording of FT-IR spectra.

For a flow-rate of 0.28 ml min^{-1} , and using a micro flow liquid cell, 200 μl of a *o*-xylene solution in hexane (0.5%, v/v) were injected in a hexane carrier, making the absorbance measurement with nominal resolutions between 2 and 64 cm^{-1} . The results obtained are summarized in Table 1. It can be concluded that the use of a better resolution provides higher sensitivity. However, longer measurement time is required, to obtain fewer spectra, with an absorbance value higher than the background. Hence, in order to obtain good sensitivity and reproducibility, in a short time, a compromise value of the nominal resolution could be to use 4 cm^{-1} .

Analytical figures of merit of the determination of *o*-xylene by FIA-FT-IR

To evaluate the analytical performance of the method, a series of calibration graphs were obtained using each of the cells employed and, from the results, the figures of merit, such as dynamic range, limit-of detection (LOD) and the relative standard deviation (R.S.D.) for five independent analyses of the same sample, were obtained.

Figure 6 shows a typical example of a calibration graph, with its associated peaks, obtained by using the micro flow cell. Those obtained with a demountable cell were very similar.

TABLE 1

Effect of the nominal resolution on the analytical signal

Nominal resolution (cm^{-1})	Absorbance ^a	R.S.D. (%)	Measure-ment time ^b (s)	Number of spectra per injection ^c
2	0.372 ± 0.003	0.7	27.0	8-9
4	0.295 ± 0.003	1.1	19.0	9-10
8	0.178 ± 0.002	1.0	15.0	12
16	0.0985 ± 0.0001	0.1	13.5	14
32	0.0389 ± 0.0003	0.8	12.0	15
64	0.0140 ± 0.0002	1.4	11.0	15-16

^a Mean \pm standard deviation ($n = 5$) for a sample containing 0.5% (v/v) *o*-xylene in hexane. Injection volume, 200 μl , flow-rate, 0.28 ml min^{-1} ; spacer, 0.12 mm. ^b The time required to record and save one spectrum. ^c The number of spectra was established as that which provides absorbance values different to the background.

TABLE 2

Analytical figures of merit obtained for the determination of *o*-xylene by FIA-FT-IR using different cells

Flow cell	Spacer (mm)	Cell volume (μ l)	Calibration equation ^a	R^2 ^b	Maximum of linear calibration range (% v/v)	LOD ^c (% v/v)	R.S.D. ^d (%)
Conventional	0.22	9	$A = 0.0020 + 0.5542C$	0.9997	0.6	0.01	1.1
	0.12	5	$A = 0.0008 + 0.3279C$	0.9994	1.0	0.04	0.6
Demountable	0.20	2	$A = 0.0001 + 0.5376C$	0.9993	0.6	0.01	1.4
	0.10	1	$A = 0.0009 + 0.3208C$	0.9998	1.0	0.04	1.1
	0.05	0.5	$A = 0.0004 + 0.1666C$	0.9994	2.0	0.05	1.5
	0.025	0.25	$A = 0.0010 + 0.0756C$	0.9998	5.0	0.1	2.0
	0.015	0.15	$A = 0.0005 + 0.0269C$	0.9994	15.0	0.4	2.0

^a A = absorbance; C = concentration (% v/v). ^b Correlation coefficient. ^c Limit of detection. ^d Relative standard deviation for five independent analyses of the same sample containing 0.4% (v/v) *o*-xylene in hexane.

Table 2 summarizes the above parameter values for different spacer values of each cell. From the results obtained, it can be concluded that the sensitivity, dynamic range and LOD are comparable for both cells, when comparable dimensions for the spacer are used. The use of spacer values higher than those reported provides a higher contribution to the blank measurement of the carrier solvent, giving a poor LOD.

The use of the Fourier transform technique provides multi-wavenumber detection, which permits strict control of the baseline, and can be allowed the simultaneous determination of several compounds in the same sample.

Studies are in progress to develop appropriate

methods for the determination of benzene in gasoline, pesticides in organic extracts and drugs in pharmaceutical preparations.

M. Galignani acknowledges a grant from the Agencia Española de Cooperación Internacional and S. Garrigues a grant from the Conselleria de Cultura, Educació i Ciència de la Generalitat Valenciana, both for PhD studies.

REFERENCES

- 1 J. Ruzicka and E.H. Hansen. Flow Injection Analysis. Wiley, New York, 2nd edn., 1988.
- 2 M. Valcarcel and M.D. Luque de Castro. Flow Injection Analysis. Principles and Applications. Horwood, Chichester, 1987.
- 3 J.L. Burguera (Ed.). Flow Injection Atomic Spectrometry. Dekker, New York, 1989.
- 4 J.B. Karlberg and G.E. Pacey. Flow Injection Analysis—A Practical Guide. Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 5 D.K. Morgan, N.D. Danielson and J.E. Katon. Anal. Lett., 18 (1985) 1979.
- 6 B.E. Miller, N.D. Danielson and J.E. Katon. Appl. Spectrosc., 42 (1988) 401.
- 7 S.V. Olesick, S.B. French and M. Novotny. Anal. Chem., 58 (1986) 2256.
- 8 O.J. Curran and W.G. Collier. Anal. Chim. Acta, 177 (1985) 259.
- 9 J.R. Ferraro and J.R. Barile (Eds.). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Academic, New York, 1982.
- 10 S. Garrigues and M. de la Guardia. Anal. Chim. Acta, 242 (1991) 123.
- 11 S. Garrigues and M. de la Guardia. Analyst, 116 (1991) 1159.
- 12 M. Galignani, S. Garrigues and M. de la Guardia. paper presented at the XXVII CSI. Bergen, Norway, June 1991, paper B-PO-29.

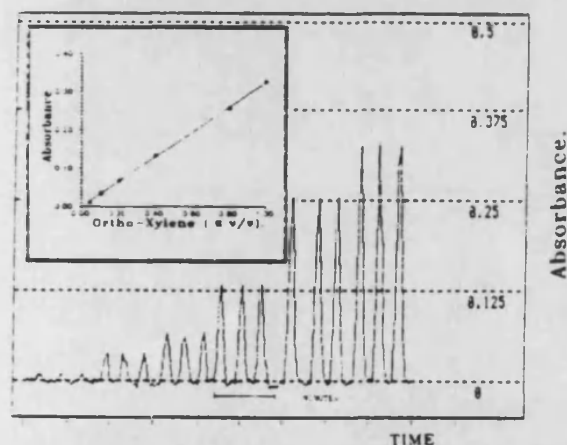


Fig. 6. Typical calibration results obtained with a micro flow cell. A 200- μ l sample injection volume and a carrier flow-rate of 0.28 ml min⁻¹ were used in both instances, with a spacer of 0.12 mm.

Simultaneous Determination of *ortho*-, *meta*- and *para*-Xylene by Flow Injection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

Salvador Garrigues, Máximo Galignani and Miguel de la Guardia†

Departamento de Química Analítica, Universidad de Valencia, C/ Dr. Moliner 50, 46100-Burjassot, Valencia, Spain

A method has been developed for the direct simultaneous determination of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene in xylol by Fourier transform infrared spectroscopy. The method is based on the injection of samples, diluted in hexane, into a carrier solution of hexane. The absorbance measurements were carried out at 743, 770 and 796 cm^{-1} , respectively, with a resolution of 4 cm^{-1} . The limit of detection corresponds to 0.03% v/v for *ortho*- and *meta*-xylene and to 0.02% v/v for *para*-xylene using a 0.13 mm pathlength micro flow cell. The method does not require the use of sophisticated cells or complex data treatment, it is precise and provides accurate results in the analysis of spiked and real samples; results obtained are comparable to those found using a reference method based on the ratio of the peak height absorbances of the different compounds studied.

Keywords: Fourier transform infrared spectroscopy; simultaneous multicomponent analysis; flow injection; determination of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene

Flow injection (FI) offers an inexpensive and versatile means for the automation of analytical procedures and hence it has been incorporated in many different techniques.¹⁻⁴ Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) is a powerful technique for qualitative and quantitative organic analysis^{5,6} and this has led to the development of FI procedures for use with FTIR analysis.

The use of FI in conjunction with IR analysis provides⁷ a simple and reproducible means to fill and clean the liquid cells, a rapid means for the automation of the determinations and the economical use of reagents and consumables.

The use of FTIR permits⁸⁻¹³ an increase in the sensitivity, by accumulating a series of scans in the stopped-flow mode, continuous monitoring of the baseline of the spectra and accurate determination of the maximum of the absorbance bands.

However, most of the papers published, both on FI-IR and FI-FTIR, have been limited to the analysis of only one component in each sample and have neglected the fact that the interferograms are collected by an FTIR instrument at a very fast rate over a sufficiently wide wavenumber range and that this could provide an additional advantage to the use of FI-FTIR for simultaneous multicomponent analysis.

Only two examples of multicomponent analysis by FI-FTIR have been reported to date, viz., the determination of two choline compounds in pharmaceutical samples⁹ and the analysis of synthetic mixtures of acetone, ethanol and tetrahydrofuran.¹¹ In both instances total reflectance cells and/or the use of a sophisticated commercial software package was necessary.

In this paper the principles of FI-FTIR have been applied to the direct simultaneous determination of xylene isomers in synthetic mixtures and real samples of xylol (one of the most commonly used solvents in the paint industry^{14,15}) by using a single FI manifold equipped with a transmittance micro flow cell with KBr windows and low-cost software developed in this laboratory.

Experimental

Apparatus and Reagents

A Perkin-Elmer Model 1750 Fourier transform infrared spectrometer, equipped with a temperature stabilized coated

detector (FR-DTGS) and a Model 7700 data station, was employed to carry out the absorbance measurements with a resolution of 4 cm^{-1} using a SPECAC micro flow cell with KBr windows and a lead spacer of 0.13 mm.

The manifold employed was a single-channel assembly, as described previously,^{12,13} consisting of a Gilson P-2 Minipuls peristaltic pump with Viton (isoversinic) 3 mm o.d. and 1 mm i.d. pump tubes. Samples were injected using a Rheodyne Type 50 injection valve with various fixed volume loops; all the connecting tubes were made from poly-(tetrafluoroethylene) (PTFE) and had an i.d. of 0.8 mm.

A series of computer programs, developed in this laboratory, were employed to obtain and store the FTIR spectra, to carry out all the calculations and to construct the FI recordings from the previously stored spectra.

Analytical-reagent grade *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene (Probus) and hexane of industrial grade, previously distilled, were used as reagents.

Recommended Procedure

For the direct determination of xylenes in xylol, take an appropriate amount of sample and dilute it in hexane, then inject 200 μl of sample solution into the FI manifold and record, continuously, the IR spectrum. The spectral baseline is defined between 820 and 655 cm^{-1} [see Fig. 1(b) as an example] and the peak height absorbance values, corresponding to *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene, are measured at 743, 770 and 796 cm^{-1} , respectively. The peak height absorbance values are obtained from the FI recordings of the samples, and interpolated using the calibration graphs previously constructed with standard solutions of the pure xylene isomers in hexane.

An FTIR procedure,¹⁶ based on the use of a series of equations obtained from the ratio of the absorbance at two well-defined wavenumbers, corresponding to each of the compounds studied, was used as a reference method.

Results and Discussion

FTIR Spectra of *ortho*-, *meta*- and *para*-Xylene

As can be seen in Fig. 1, the xylene isomers exhibit well-defined bands in the range between 820 and 670 cm^{-1} which can be clearly identified in mixtures of the three compounds diluted in hexane [Fig. 1(b)]. Hence the peak height absorbance at 743 cm^{-1} for *ortho*-xylene, that at 770 or 693 cm^{-1}

* Presented at the XXVII Colloquium Spectroscopicum Internationale (CSI), Bergen, Norway, June 9-14, 1991.

† To whom correspondence should be addressed.

1850

for *meta*-xylene and that at 796 cm^{-1} for *para*-xylene can be employed for the direct determination of xylenes in xylol.

However, as has been reported¹⁶ the band at 770 cm^{-1} provides the best analytical sensitivity for the determination of *meta*-xylene and it enables a common baseline to be defined for the three compounds studied [see Fig. 1(b)].

Effect of FI Parameters

By using the FI manifold, described under Experimental, the effect of the FI parameters (such as the carrier flow rate and the sample volume injected) on the sensitivity and repeatability of the absorbance measurements was studied.

Fig. 2 shows, as an example, the effect of the carrier flow rate on the FI recording obtained for *meta*-xylene. In this instance the use of a carrier flow rate higher than 0.27 ml min^{-1} , which corresponds to 100 units of the pump control [see Fig. 2(c)], leads to a decrease in the sensitivity and also a loss of precision, because at the faster flow rates the sample does not remain in the cell at its maximum concentration for sufficient time to enable a complete interferogram to be recorded.

As regards the effect of the sample volume injected (see Fig. 3 corresponding to *para*-xylene), it was found that volumes greater than $400\text{ }\mu\text{l}$, for a carrier flow rate of 0.27 ml min^{-1} , yield absorbance values comparable to those obtained for continuous passage of the sample through the cell. However, in order to obtain a fast methodology a sample volume of $200\text{ }\mu\text{l}$, which results in only an 8.1% reduction in sensitivity and enables a higher number of measurements per hour to be carried out, is recommended.

Similar results to those reported here were obtained for *ortho*-xylene and hence it can be concluded that the best analytical results, taking into account the sensitivity, repeatability and sample throughput, are obtained with a carrier flow rate of 0.27 ml min^{-1} and a sample volume of $200\text{ }\mu\text{l}$. Under these conditions a sample throughput of 20 injections per hour can be obtained.

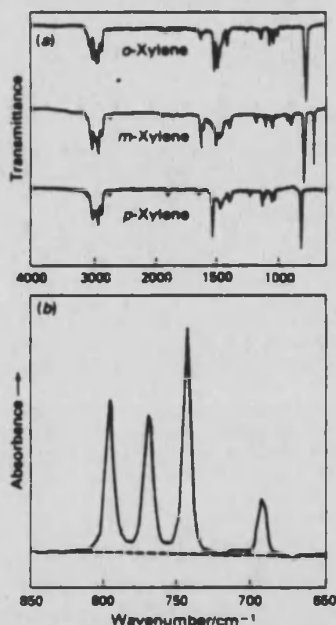


Fig. 1 FTIR spectra of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene. (a) Transmittance spectra obtained in solution for each compound. (b) Absorbance spectra of a 1 + 1 + 1 mixture of the three compounds in hexane solution

Analytical Figures of Merit of the Direct FI-FTIR Determination

As can be seen in Fig. 4 the continuous monitoring of the FTIR spectra, between 850 and 650 cm^{-1} , enables the presence, in the carrier flow, of each of the three compounds studied to be determined. At the same time it provides continuous control of the baseline. Under the experimental

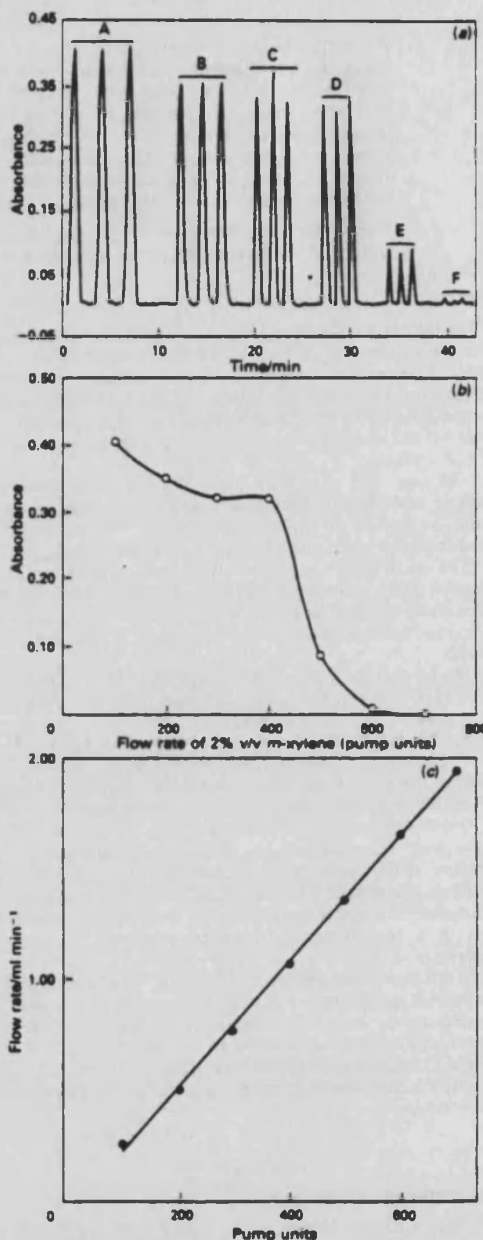


Fig. 2 Effect of the carrier flow rate on the absorbance of *meta*-xylene. (a) FI recording obtained for different carrier flows, for an injected volume of $200\text{ }\mu\text{l}$. A, 100; B, 200; C, 300; D, 400; E, 500; and F, 600 pump units. (b) Effect of the flow rate on the peak height absorbance. (c) Relationship between the potentiometric pump units and the actual carrier flow values

conditions reported earlier, and for a nominal resolution of 4 cm^{-1} , a period of 17 s is required to record and store the FTIR spectrum in the selected wavenumber range.

From these spectra, the FI recording corresponding to each compound can be constructed. Hence the computer program developed enables the exact position of the absorbance maxima of each xylene isomer in each spectrum to be determined (wavenumber shifts of $\pm 1\text{ cm}^{-1}$ were found on the same days for different concentration levels of the same compound) and this provides an enhancement of the repeatability and dynamic range of the calibration graphs.

Fig. 5 shows, as an example, a typical FI recording for *para*-xylene and demonstrates that the FI-FTIR procedure provides precise measurements and good dynamic ranges.

The calibration graphs obtained, on the same day, for *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene correspond to: $A = 0.010 + 0.337c_{ortho}$ ($r = 0.9993$); $A = 0.0025 + 0.222c_{meta}$ ($r = 0.9997$); and $a = 0.0004 + 0.239c_{para}$ ($r = 0.9998$), respectively, for the injection of 200 μl standards into a carrier flow

of 0.27 ml min^{-1} . It was confirmed that similar calibration graphs were obtained on different days and with different operators.

From the slope of the right portion of the analytical curves, and taking into account the bandpass employed, the sensitivity values were calculated. The limits of detection were calculated for a confidence level of 95% ($K = 3$) and the relative standard deviations (RSDs) for five independent analyses of a sample containing 1.4% v/v of each of the three xylene isomers. Table 1 summarizes these data, and, as can be seen, the RSDs obtained are better than those reported previously for multicomponent analysis by FI-FTIR.^{9,11}

Use of Band Ratios

In previous papers¹⁶⁻²⁰ it has been shown that the use of the ratio of the height of the absorbance bands of two compounds enables the proportion of the two compounds in a sample to be determined. This treatment can also be applied to the analysis of ternary mixtures. In this instance, the use of equations which describe the *ortho*-*meta*-, the *ortho*-*para*- and the *meta*-*para*-xylene concentrations, and also the total concentration of these compounds, provides the most accurate results in the analysis of xyloil samples.¹⁶

The above-mentioned procedure, previously developed for batch analysis,¹⁶ was employed as a reference method in order to evaluate the accuracy of the direct analysis by FI. The maximum absorbance value for each compound in the FI recording of each sample was used in order to carry out the corresponding calculations.

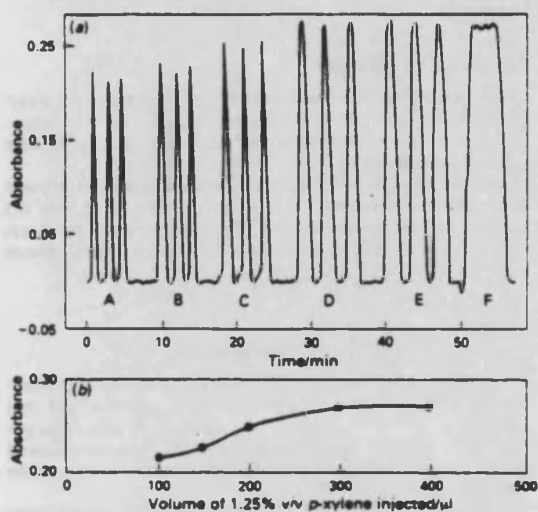


Fig. 3 Effect of the injected sample volume on absorbance of *para*-xylene. (a) FI recording obtained for different volumes injected and also for continuous passage of a 1.25% v/v solution of *para*-xylene in hexane. Carrier flow rate, 0.27 ml min^{-1} . A, 100; B, 150; C, 200; D, 300; E, 400 μl ; and F, ∞ . (b) Effect of the injected volume on the peak height

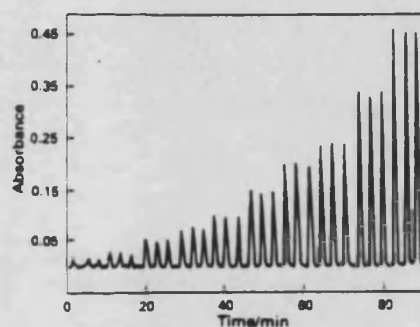


Fig. 5 FI recording obtained for *para*-xylene

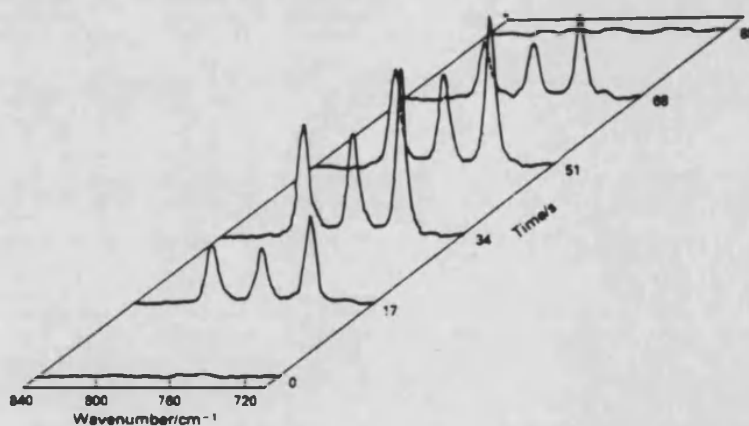


Fig. 4 FTIR scans obtained, as a function of time, for the injection of 200 μl of a sample containing 1.4% v/v of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene in a carrier flow of 0.27 min^{-1} of hexane

In the analysis by FI, using the band ratio, the equations presented in Table 2, which relate the ratio of the height of the absorbance bands to the ratio of two components in the mixture, were obtained. As can be seen, the power adjustment of the data affords better linearity than the simple linear model and also provides more precise and accurate results (values not shown).

From the experimental absorbance data, the *ortho*-/*meta*- and *ortho*-/*para*- ratios were calculated, using the power model and from these values the percentage of each of the

three compounds studied was determined. These results are independent of the sample dilution.

Analysis of Spiked Samples

Eight spiked samples, containing the compounds studied, were prepared and analysed by direct FI-FTIR and by the band ratio method, applied to the FI recording. As can be seen in Table 3, both methods provide accurate results, with an average relative error (for all the compounds in all the samples) of 2.8% for direct FI-FTIR and 1.1% for the band ratio method.

The versatility of both methods is shown by the fact that in the analysis of spiked samples prepared without one of the three compounds, the results found for the component not included were lower than 1.0% v/v.

The results presented above demonstrate that both the methodologies applied are suitable for the determination of xylenes and provide more accurate results than those reported previously for the multicomponent analysis of these types of samples.²¹

Analysis of Real Samples

Three commercial xylol samples were analysed by both direct FI-FTIR and by the band ratio method. In the latter instance, analyses were carried out in solution and also in hexane solutions measured by FI.

As can be seen in Table 4 all the methods used provide comparable results and hence it can be concluded that the accuracy of the determination of xylene isomers by direct FI-FTIR is similar to that obtained by the use of absorbance band ratios, with a less complex data treatment.

Conclusions

It has been shown that FI-FTIR allows the direct determination of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene in synthetic and real samples of xylol with sample throughput of 20 injections per hour. The method is precise and accurate. The use of band ratio values between the different xylene isomers enhances the accuracy of the direct method.

Table 1 Analytical parameters of the direct FI-FTIR determination of xylene isomers

Compound	Analytical parameter		
	Sensitivity as conc (% v/v)	LOD* (% v/v)	RSD† (%)
<i>ortho</i> -Xylene	2.58	0.03	0.9
<i>meta</i> -Xylene	1.70	0.03	1.4
<i>para</i> -Xylene	1.83	0.02	0.7

* LOD = Limit of detection.

† RSD = Relative standard deviation for five analyses of a sample containing 1.4% v/v of all the compounds studied.

Table 2 Calibration graphs obtained for the determination of xylene isomers by the use of the band ratio method. $h\nu_1$ = Height of the absorbance band; $h\nu_2$ corresponds to *ortho*-xylene, $h\nu_3$ to *meta*-xylene and $h\nu_4$ to *para*-xylene. $[o]$, $[m]$ and $[p]$ = Concentration of *ortho*-, *meta*- and *para*-xylene in % v/v. r = Regression coefficient, n = Number of standards. In all instances a dynamic range with proportions of the two components studied of between 10:1 and 1:10 was used

Band ratio	Linear model	Power model
<i>ortho</i> -/ <i>meta</i> -	$\frac{h\nu_1}{h\nu_2} = 0.18 + 1.34 \frac{[o]}{[m]}$ $r = 0.998$ $n = 10$	$\ln \frac{h\nu_1}{h\nu_2} = 0.45 + 0.927 \ln \frac{[o]}{[m]}$ $r = 0.9998$ $n = 10$
<i>Ortho</i> -/ <i>para</i> -	$\frac{h\nu_1}{h\nu_3} = 0.10 + 1.323 \frac{[o]}{[p]}$ $r = 0.9998$ $n = 10$	$\ln \frac{h\nu_1}{h\nu_3} = 0.392 + 0.947 \ln \frac{[o]}{[p]}$ $r = 0.9999$ $n = 10$

Table 3 Analysis of spiked samples by the band ratio method and by direct FI-FTIR. The concentration of each compound is expressed in % v/v ± the standard deviation of a series of independent analyses

Sample	<i>ortho</i> -Xylene			<i>meta</i> -Xylene			<i>para</i> -Xylene		
	Added	Found		Added	Found		Added	Found	
		Band ratio method	Direct FI-FTIR		Band ratio method	Direct FI-FTIR		Band ratio method	Direct FI-FTIR
1	77.78	77.4 ± 0.4	76.1 ± 0.4	11.11	11.4 ± 0.2	12.1 ± 0.2	11.11	11.3 ± 0.3	11.8 ± 0.4
2	60.00	59.6 ± 0.2	58.9 ± 0.2	30.00	30.47 ± 0.08	30.69 ± 0.07	10.00	9.9 ± 0.2	10.4 ± 0.2
3	13.51	13.8 ± 0.1	13.9 ± 0.2	37.84	37.7 ± 0.4	37.5 ± 0.4	48.65	48.5 ± 0.3	48.6 ± 0.3
4	38.89	39.0 ± 0.4	39.1 ± 0.4	44.44	44.4 ± 0.3	43.7 ± 0.3	16.67	16.6 ± 0.3	17.2 ± 0.3
5	6.67	6.7 ± 0.2	6.0 ± 0.3	33.33	33.7 ± 0.3	33.8 ± 0.2	60.00	59.58 ± 0.03	60.19 ± 0.03
6	36.36	36.3 ± 0.2	36.4 ± 0.2	31.82	32.1 ± 0.2	32.1 ± 0.1	31.82	31.6 ± 0.1	31.5 ± 0.1
7	25.00	24.3 ± 0.7	25.5 ± 0.8	75.00	74.9 ± 0.5	73.5 ± 0.4	0.00	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3
8	80.00	78.4 ± 0.3	78.0 ± 0.3	0.00	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.2	20.00	20.7 ± 0.2	21.3 ± 0.2

Table 4 Determination of xylene isomers in real samples. (All the results are the average of three analyses carried out on the same sample and are based on only one scan per analysis using an apodization mode normal)

Sample	<i>ortho</i> -Xylene			<i>meta</i> -Xylene			<i>para</i> -Xylene		
	BR/solution*	BR/FI†	Direct FI	BR/solution*	BR/FI†	Direct FI	BR/solution*	BR/FI†	Direct FI
A	15.8 ± 0.3	17.3 ± 0.2	16.8 ± 0.2	63.5 ± 0.1	62.9 ± 0.5	62.0 ± 0.5	21.13 ± 0.07	19.7 ± 0.3	21.1 ± 0.3
B	7.7 ± 0.1	7.8 ± 0.3	7.0 ± 0.4	77.2 ± 0.3	77.1 ± 0.2	76.2 ± 0.2	15.3 ± 0.2	15.0 ± 0.4	16.8 ± 0.4
C	11.9 ± 0.1	11.1 ± 0.3	10.7 ± 0.5	77.0 ± 0.5	77.9 ± 0.3	77.0 ± 0.3	11.4 ± 0.3	11.0 ± 0.3	12.3 ± 0.3

* BR/solution = band ratio method applied in solution.

† BR/FI = band ratio method applied in FI.

S. G. thanks the Conselleria de Cultura, Educació i Ciència de la Generalitat Valenciana, for a grant to carry out Ph.D. studies. M. G. thanks the Agencia Española de Cooperación Internacional for a grant to carry out Ph.D. studies, and financial support from the Los Andes University, Venezuela.

References

- 1 Růžicka, J., and Hansen, E. H., *Flow Injection Analysis*, Wiley, New York, 2nd edn, 1988.
- 2 Varcárcel, M., and Luque de Castro, M. D., *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- 3 *Flow Injection Atomic Spectrometry*, ed. Burguera, J. L., Marcel Dekker, New York, 1989.
- 4 Karlberg, J. B., and Pacey, C. E., *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*, Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 5 *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, eds. Ferraro, J. R., and Barrie, J. R., Academic Press, New York, 1982.
- 6 Griffiths, P. R., and de Haselh, J. A., *Fourier Transform Infrared Analysis*, Wiley, New York, 1986.
- 7 Curram, O. J., and Collier, W. G., *Anal. Chim. Acta*, 1985, 177, 259.
- 8 Morgan, D. K., Danielson, N. D., and Katon, J. E., *Anal. Lett.*, 1985, 18, 1979.
- 9 Miller, B. E., Danielson, N. D., and Katon, J. E., *Appl. Spectrosc.*, 1988, 42, 401.
- 10 Olesick, S. V., French, S. B., and Novotny, M., *Anal. Chem.*, 1986, 58, 2256.
- 11 Guzman, M., Růžicka, J., Christian, G. D., and Shelley, P., *Vib. Spectrosc.*, 1991, 2, 1.
- 12 Galignani, M., Garrigues, S., de la Guardia, M., Burguera, J. L., and Burguera, M., *Anal. Chim. Acta*, 1992, 261, 53.
- 13 Galignani, M., Garrigues, S., and de la Guardia, M., unpublished work.
- 14 Morgans, W. M., *Outline of Pain Technology*, Griffin, London, 1982.
- 15 Durrans, T. H., *Solvents*, Chapman and Hall, London, 1971.
- 16 Garrigues, S., and de la Guardia, M., *Analyst*, 1991, 116, 1159.
- 17 de la Guardia-Cirugeda, M., Carrión-Dominguez, J.-L., and Medina-Escriche, J., *Analyst*, 1984, 109, 457.
- 18 de Julián-Ortiz, J. V., and de la Guardia, M., *Can. J. Spectrosc.*, 1989, 25, 44.
- 19 Benzo, Z. A., Gómez, C., Menéndez, S., de la Guardia, M., and Salvador, A., *Microchem. J.*, 1989, 40, 271.
- 20 Garrigues, S., and de la Guardia, M., *Anal. Chim. Acta*, 1991, 242, 123.
- 21 Haaland, D. M., and Easterling, R. G., *Appl. Spectrosc.*, 1982, 6, 665.

Paper 2/02276A
Received May 1, 1992
Accepted June 16, 1992

FIA-FT-IR DETERMINATION OF IBUPROFEN IN PHARMACEUTICALS

SALVADOR GARIBUÉS, MAXIMO GALLIGNANI and MIGUEL DE LA GUARDIA*

Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, 50 Dr Moliner St. 46100 Burjassot, Valencia, Spain

(Received 25 March 1992. Revised 29 April 1992. Accepted 30 April 1992)

Summary—A method has been developed for the determination of Ibuprofen (2-[4-isobutylphenyl]-propionic acid) in pharmaceuticals by FT-IR, using the carbonyl band which this compound presents at 1710 cm^{-1} in carbon tetrachloride solutions. Samples are dissolved in carbon tetrachloride. In this solvent the excipients are not soluble and so the drug can be directly determined without any additional treatment. The use of a simple FIA manifold permits one to carry out this analysis with a low consumption of reagent and the FT-IR provides a continuous monitoring of the spectral base-line which permits an accurate determination of the maximum in the absorbance band. Also, the FIA system permits easy and fast sampling and cleaning of the measurement cell. The method has a dynamic range between 0.5 and 20 mg/ml with a sensitivity of $0.366 \pm 0.004\text{ au} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{ml} \cdot \text{mm}^{-1}$ and a variation coefficient of 0.8% for 5 independent measurements of a real sample containing 200 mg of Ibuprofen per capsule. The developed procedure provides concentration values comparable with those found by UV spectrophotometry in the analysis of real samples but is free from matrix interferences.

Infrared spectrometry (IR) provides a useful way for the identification of drugs.¹⁻⁴ However, the traditional techniques employed to obtain the IR spectra, such as alkali halide disks, mulls and thin films, are not adequate for quantitative analysis, and because of this, ultraviolet spectrometry⁵ is usually employed in the analysis of pharmaceuticals rather than IR.

The use of flow cells for handling appropriate solvents and with spacers opens the possibility of carrying out quantitative IR determinations of drugs in pharmaceuticals, especially for the development of automated procedures based on flow injection analysis (FIA).⁶⁻⁹ There are few precedents in the use of FIA in infrared analysis¹⁰⁻¹⁶ and until now only two papers have been applied to pharmaceutical analysis.^{14,15}

Ibuprofen (2-[4-isobutylphenyl]-propionic acid) is a non-steroidal anti-inflammatory analgesic^{1,2} commercialized under different proprietary names, such as Amersol, Brufen, Ebufac, Fembil, Inabrin, Inflam, Librofem, Motrin, Nurofen, Poxofen, Proflex, Reicofen, Seclodin and Unipufen. Ibuprofen is determined by chromatography,¹⁷⁻²² spectrometry²³⁻²⁵ and also titrimetric methods.²⁶ However, only one paper has been published concerning the determi-

nation of Ibuprofen by infrared spectrometry,²⁷ and this is a time consuming procedure.

In the present paper, a FIA-Fourier transform infrared procedure has been developed in order to determine Ibuprofen in capsules of ALTIORTM.

EXPERIMENTAL

Apparatus

A Perkin Elmer Fourier transform infrared spectrometer 1750 equipped with a temperature stabilized coated detector FR-DTGS was employed to carry out the absorbance measurements, with a resolution of 4 cm^{-1} .

The spectrometer is controlled by a 7700 data station and the absorbance continuously measured using a series of computer programs written in OBEY and BASIC, which permits us to obtain and store the FT-IR spectra as a function of time with a frequency of 17 sec, search the exact position of the absorbance maximum peak and correct the peak height absorbances from the base-line values, and record the FIA peaks. All these programs have been developed in our laboratory and can be supplied on request.

The scanning of a full interferogram is carried out in only two seconds and the software permits the storage on a micro floppy

*Author for correspondence.

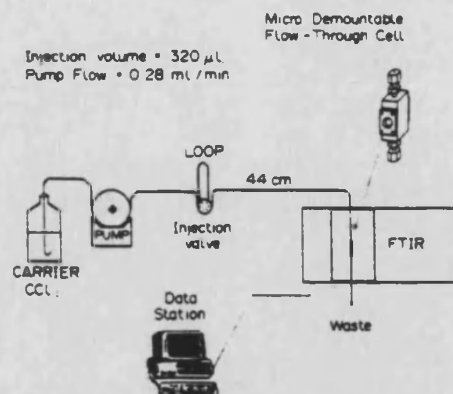


Fig. 1. Manifold.

disk in 15 sec. This process takes place during the FIA run and, after that, the corrected absorbance peak height values are established, the FIA recording obtained, and the calculations carried out.

The manifold employed (see Fig. 1) is a monochannel assembly with: a Gilson P-2 Minipulse peristaltic pump with solvent resistant Viton (Iso-versinic) 0.1 cm internal diameter pump tubes, a Rheodyne injection valve, type 50, with various fixed volume loops, PTFE connecting tubes with 0.8 mm internal diam-

eter and a Spectra-Tech (Warrington, U.K.) microdemountable flow through cell.

Reagents

Ibuprofen (2-[4-isobutylphenyl]-propionic acid) standards were prepared from the crystalline compound (ESTEVE, Barcelona, Spain).

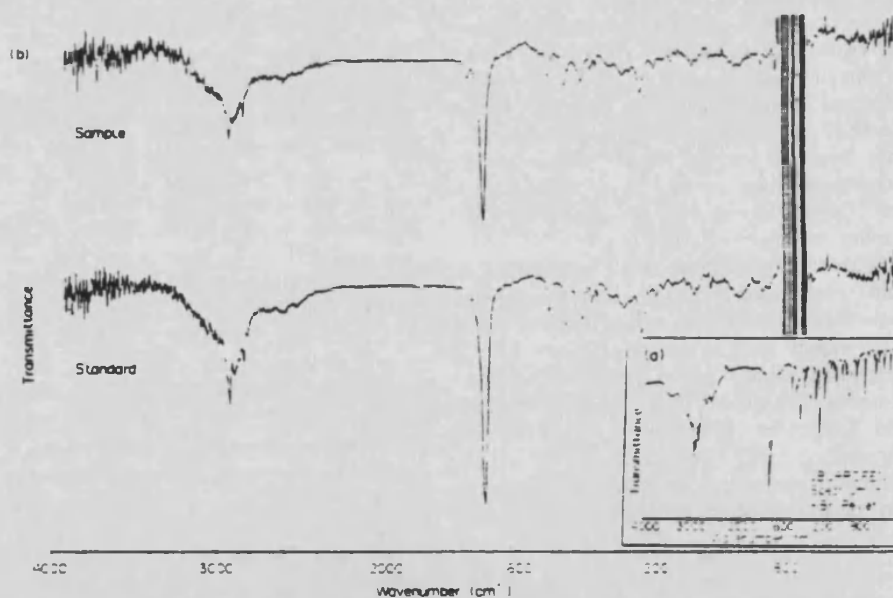
Analytical grade carbon tetrachloride (Panreac, Barcelona, Spain) was employed as carrier and also for the preparation of standards and samples.

IR spectroscopy grade potassium bromide (Merck, Darmstadt, Germany) was employed to obtain the FT-IR spectrum of Ibuprofen in pellet disks.

RESULTS AND DISCUSSION

FT-IR spectrum of Ibuprofen

The FT-IR spectrum of disks of Ibuprofen standards diluted in potassium bromide exhibits acid bands around 3000 cm^{-1} [see Fig. 2(A)], the transmittance band of the carbonyl group at 1710 cm^{-1} , and also the characteristic fingerprint of the disubstituted aromatic hydrocarbons. Ibuprofen is very soluble in carbon tetrachloride and it has been confirmed that in the treatment of ALTIORTM formulations with this solvent the drug is completely dissolved and the excipients remain undissolved. So, the transmittance IR spectra of standards and samples

Fig. 2. FT-IR transmittance spectra of Ibuprofen in KBr disks (2A) and in CCl₄ solution (2B).

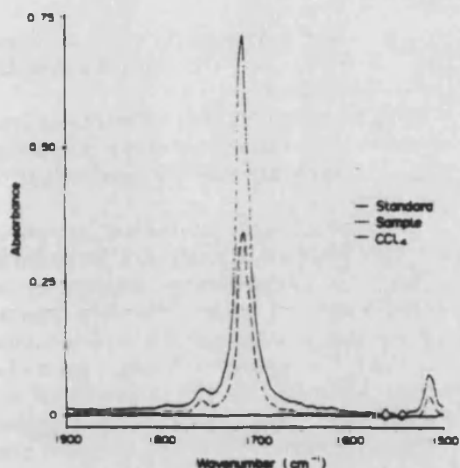


Fig. 3. FT-IR absorbance in the carbonyl region of blank solutions, sample and standard of Ibuprofen in CCl_4 .

treated with carbon tetrachloride are identical and provide a way for the direct determination of Ibuprofen in pharmaceuticals [Fig. 2(B)].

In the present study the carbonyl band at 1710 cm^{-1} was selected for the quantitative determination of Ibuprofen because this band is very strong and appears in a transparent region of the CCl_4 (as can be seen in Fig. 3). The base-line of the absorbance spectrum was established between 1785 and 1650 cm^{-1} .

Effect of the FIA parameters on the absorbance of Ibuprofen

For a fixed concentration of 10 mg/ml Ibuprofen using a 0.1-mm cell (which provides a measurement volume of $1\text{ }\mu\text{l}$) the effect of both the injection volume and the carrier flow were studied, in a univariate mode. Figure 4 indicates

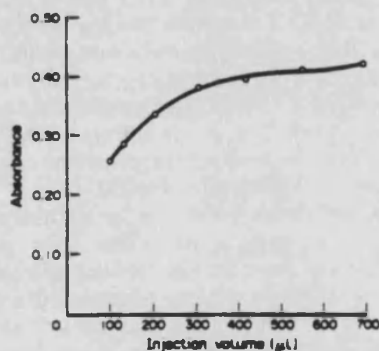


Fig. 4. Effect of the sample injection volume on the absorbance of Ibuprofen at 1710 cm^{-1} . Carrier flow: 0.28 ml/min .

that an increase in the injected volume of sample provides an increase in the absorbance. However, this also increases the time required to carry out the analysis due to an increasing peak width. On the other hand (see Fig. 5), an increase in the carrier flow reduces drastically the absorbance readings and affects the precision of the measurements because, at the faster flow rates the sample does not remain in the cell at its maximum concentration for a long enough time to measure a full interferogram.

From these experiments a compromise value of $320\text{ }\mu\text{l}$ injection volume and 0.28 ml/min carrier flow were selected in order to obtain the highest sensitivity with good repeatability in the fastest experimental conditions.

Calibration of the system

Under the experimental conditions, previously selected, the absorbance of a series of 11 Ibuprofen standards dissolved in carbon tetrachloride was measured. A typical calibration equation of $A = -0.012 + 0.0358C$ (in mg/ml) was obtained with a regression coefficient R of 0.99959 [Fig. 6(B)].

Figure 6(A) shows the FIA recordings obtained by plotting the corrected absorbance peak height values found as a function of time, after the computer treatment of the monitored spectra.

Preparation of samples

As previously indicated, water soluble excipients are not solubilised in carbon tetrachloride and so Ibuprofen can be directly determined in pharmaceuticals, such as ALTIOR™, which does not contain other active ingredients. ALTIOR™ has a nominal content of 200 mg of

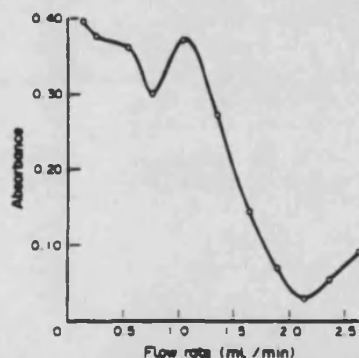


Fig. 5. Effect of the carrier flow on the absorbance of $320\text{ }\mu\text{l}$ of Ibuprofen. Concentration of Ibuprofen: 10 mg/ml .

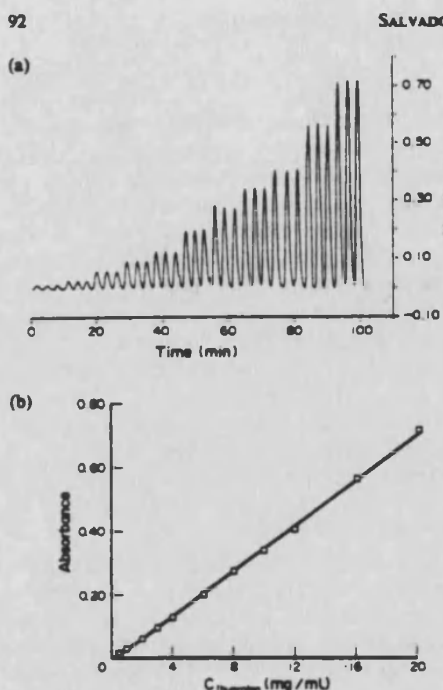


Fig. 6. FIA recording obtained from CCl_4 solutions of Ibuprofen (6A) for the FT-IR absorbance data of Ibuprofen solutions.

Ibuprofen per capsule and in order to obtain a good absorbance value, the following procedure is recommended.

Take five capsules of the pharmaceutical and grind to obtain a fine powder. Weigh accurately the amount of sample necessary to provide approximately 100 mg of Ibuprofen and extract with 10 ml of carbon tetrachloride. Filter to retain the excipient and inject 320 μl of the sample solution in the FIA manifold, using a carrier flow of 0.28 ml/min, and select the FT-IR spectrum between 1900 and 1500 cm^{-1} . Establish the spectral base-line from 1785 to 1650 cm^{-1} and record the absorbance, at the maximum of the carbonyl band, as a function of time. Interpolate the peak height of the FIA recording in the calibration graph, previously established from carbon tetrachloride solutions of pure Ibuprofen.

Analytical performance of the developed procedure

The sensitivity of the direct FIA-FT-IR analysis of Ibuprofen corresponds to a 0.366 ± 0.004 absorbance units $\text{mg}^{-1} \cdot \text{ml} \cdot \text{mm}^{-1}$ and this value could be increased using higher

injection volumes or working in the stop flow mode. However these latter strategies diminish the sample frequency.

Using the recommended conditions, the limit of detection of the method (for a probability level of 95%) corresponds to a concentration of 0.08 mg/ml.

As compared with the method previously published for batch IR analysis of Ibuprofen in tablets,²⁷ the dynamic range obtained by us (from 0.5 to 20 mg/ml) is of the same order as that reported and the coefficients of variation, obtained for 5 independent measurements of a sample containing 10 mg of Ibuprofen per ml, is 0.8% in our case, five-fold lower than that reported by Husain *et al.*²⁷ The developed procedure could also be applied using a dispersive instrument working at a fixed wavenumber. However in this latter case the spectral base-line cannot be monitored and it produces a poorer linearity of the calibration lines and lower reproducibility.

The FIA-FT-IR method proposed has the inherent advantages of automated methods, such as speed, reproducibility and low consumption of reagents. Using the instrument described, it is possible to carry out 20 measurements per hour, which is a throughput 20-fold higher than that of the batch method of Husain *et al.*²⁷

Compared with the UV reference method² the methodology developed provides matrix effect free measurements, because the excipient is not soluble in carbon tetrachloride and a higher dynamic range.

Analysis of real samples

Different lots of ALTIORTM pharmaceutical, with a nominal content of 200 mg per capsule, have been analysed spectrophotometrically at 265 nm by a pharmaceutical laboratory and by the proposed FIA-FT-IR procedure. As can be seen in Table I results found are of the same order as those previously reported and compare well with the theoretical content.

The differences found with the UV analysis in terms of the *t*-test, could be due to the lack of information about the standard deviation of the spectrophotometric values, which avoids a more rigorous comparison. In this sense Table I shows that differences between values found by two different laboratories, using the same UV method, are higher than those between FT-IR and UV.

Table 1. Analysis of different lots of ALTIOR™ pharmaceutical

Sample	Ibuprofen found (mg/capsule)			
	FIA-PT-IR		UV Analysis	
	$\bar{X} \pm \text{sec}$	t_{exp}	Lab 1 Reference	Lab 2
1	204 ± 3	1.10	207.3	196.2
2	209.0 ± 0.6	1.83	207.9	202.4
3	200.4 ± 1.5	0.47	201.1	213.6
4	206.7 ± 0.9	3.44	209.8	188.5
5	200.9 ± 0.7	9.57	194.2	204.1
6	201.0 ± 0.6	6.17	197.3	199.8
7	199.3 ± 0.9	4.89	203.7	215.7
8	202.8 ± 0.6	11.0	196.2	208.3
9	206.2 ± 0.3	15.33	201.6	190.8
10	195.6 ± 0.6	4.17	198.1	186.4

*Theoretical content: 200 mg per capsule.

t_{exp} values have been obtained from $(X - \bar{X})/\text{sec}$, X being the value obtained by the reference laboratory (Lab 1), \bar{X} our average value for each sample and sec the standard deviation of three independent measurements. For a probability level of 0.95% and $n = 2$ and t_{exp} correspond to 4.303.

CONCLUSIONS

The FIA-FT-IR quantitative analysis of Ibuprofen in ALTIOR™ capsules can be carried out directly on carbon tetrachloride solutions of the pharmaceutical. In this solvent the excipient remains undissolved and so the only sample treatment is the dissolution of the drug and the filtration of the excipient. The injection of sample solutions in a carbon tetrachloride carrier stream provides very precise and accurate analysis of Ibuprofen with a good limit of detection and a sample throughput of 20/hr. The method requires low consumption of reagents and can be applied over a wide dynamic range. Results obtained in the analysis of real samples agree with those found by two independent laboratories using a UV reference method.

Acknowledgements—Salvador Garrigues acknowledges a grant from the Conselleria de Cultura Educació i Ciència de la Generalitat Valenciana, and Máximo Galignani a grant from the Agencia Española de Cooperación Internacional, both for PhD studies. Authors acknowledge PENSA (Grupo ESTEVE, Barcelona, Spain) for the standards and samples supplied.

REFERENCES

1. *United States Pharmacopeia*, 22 revision, 1989 USP Convention Inc. Rockville, Md, U.S.A.
2. A. C. Moffat (ed.), *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd Ed. The Pharmaceutical Society of Great Britain, London, 1986.
3. M. J. de Faubert Maunder, *Practical Hints on Infrared Spectrometry with Particular Reference to Forensic Analysis*, Adam Hilger, London, 1971.
4. R. G. J. Miller and B. B. Stace, *Laboratory Methods in Infra-Red Spectrometry*, Heyden, Chichester, 1972.
5. S. Gorog, M. Renyai and B. Herenyi, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, 7, 1527.
6. J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2nd Ed., Wiley, New York, 1988.
7. M. Valcarcel and M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester.
8. M. D. Luque de Castro and M. Valcarcel, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, 7, 1291.
9. J. C. Berridge, *ibid.*, 1989, 7, 1313.
10. D. J. Curran and W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, 177, 259.
11. S. V. Olesick, S. B. French and M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, 58, 2256.
12. M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Galignani, J. L. Burguera and M. Burguera, *Anal. Chim. Acta*, 1992, 261, 53.
13. M. Galignani, S. Garrigues and M. de la Guardia, Communication Presented at XXVII CSI, B PO29, 1991, Bergen, Norway.
14. D. K. Morgan, N. D. Danielson and J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1988, 8, 1979.
15. B. E. Miller, N. D. Danielson and J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, 42, 401.
16. M. Guzmán, J. Ruzicka, G. D. Christian and P. Shelley, *Vib. Spectrosc.*, 1991, 2, 1.
17. B. M. Lampert and J. T. Stewart, *J. Chromatogr.*, 1990, 504, 381.
18. S. Husain, A. S. R. K. Murty and R. Narasimha, *Indian Drugs*, 1989, 26, 557.
19. J. H. Satterwhite and F. D. Boudinot, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1989, 89, 330.
20. G. Berner, R. Staab and H. M. Wagener, *J. Anal. Chem.*, 1990, 336, 238.
21. P. J. Stroete, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1989, 87, 179.
22. G. Geislinger, K. Dietzel, D. Loew, D. Schuster, G. Rav, G. Lachmann and K. Brune, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1989, 83, 139.
23. C. S. P. Sastry, A. S. R. P. Tipirneni and M. V. Suryanarayana, *Analyst*, 1989, 26, 704.
24. V. H. Bhalla, K. Krishnan, S. G. Deshpande and C. V. Shah, *Indian Drugs*, 1990, 27, 580.
25. M. H. Abdel-Hay, M. A. Korany, M. M. Bedair and A. A. Gazy, *Anal. Lett.*, 1990, 23, 281.
26. P. Parimoo, R. R. Sethuraman, A. Amalraj and N. Seshadri, *Indian Drugs*, 1989, 26, 704.
27. S. Husain, A. S. R. K. Murty and A. R. Rao, *ibid.*, 1989, 26, 185.

Determination of Carbaryl in Pesticide Formulations by Fourier Transform Infrared Spectrometry With Flow Analysis

Máximo Gallignani, Salvador Garrigues, Annabelle Martínez-Vado and Miguel de la Guardia*
 Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, 50 Dr. Moliner St., 46100-Burjassot (Valencia), Spain

A procedure is proposed for the Fourier transform infrared spectrometric determination of carbaryl in pesticide formulations. The method is based in the dissolution of carbaryl in dichloromethane from solid powdered samples and direct measurement of the absorbance at 1747 cm^{-1} using a spectral baseline established from 1850 to 1650 cm^{-1} . Absorbance measurements can be carried out in the continuous-flow or stopped-flow mode. In both instances the method provides accurate and reproducible results but the stopped-flow mode is the more sensitive. Under the optimum experimental conditions, for an optical pathlength of 1.0 mm and using five accumulated scans, the limit of detection obtained in the stopped-flow mode corresponds to $1.6\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ of carbaryl. Real samples of powdered pesticide formulations containing carbaryl were analysed by the proposed procedure and the results were compared with those obtained by a reference spectrofluorimetric procedure.

Keywords: Fourier transform infrared spectrometry; flow analysis; carbaryl; 1-naphthyl methylcarbamate; pesticide formulations

Pesticide formulations containing carbaryl (1-naphthyl methylcarbamate) are widely used to prevent insect pests on fruit, vegetables, cotton and other crops.¹ Chromatographic methods have been proposed for the determination of carbaryl in formulations and also in treated crops and ground waters by using thin-layer², gas^{3,4} or high-performance liquid chromatography.⁵⁻⁸ Ultraviolet spectrophotometry⁹ and visible spectrophotometry can be applied to the determination of carbaryl, but in the latter instance a previous derivatization step must be carried out.¹⁰⁻¹² Luminescence techniques, such as room temperature phosphorimetry^{13,14} and spectrofluorimetry,¹⁵⁻¹⁸ provide a high sensitivity for the determination of carbaryl but suffer from serious interference due to the quenching effects of several matrix components. On the other hand, the use of micellar media provides an enhancement of the analytical performance of the spectrofluorimetric determination of carbaryl in pesticide formulations and natural waters.^{19,20}

Infrared (IR) spectrometry has been employed in the high-performance liquid chromatographic determination of carbaryl and other carbamate pesticides²¹⁻²³ and also a batch procedure has been proposed for the IR determination of carbaryl in pesticide formulations after dissolution in chloroform.²⁴

In recent years, major efforts have been made to develop automated methods, especially using flow injection (FI),^{27,28} but so far only one procedure has been proposed for the determination of carbaryl in waters based on FI-spectrofluorimetry.²⁹

The on-line control of the finished products in manufactured formulations of pesticides could save considerable time, reagents and effort, and one of the aims of this work was to develop a method for the flow analysis-Fourier transform (FT) IR determination of carbaryl in technique products and formulations, because the IR spectrum of carbaryl provides interesting information from the qualitative and quantitative points of view. However there are few precedents to the use of FI in IR analysis,³⁰⁻³⁹ probably owing to the lack of suitable flow cells and problems in obtaining adequate information from transient IR signals. Fortunately, this situation has begun to change and recent papers on FI-FTIR have demonstrated that accurate and quantitative results can be

obtained in the analysis of real samples^{31,32,37} and also in multi-component analysis by using both continuous-flow^{37,38} and stopped-flow approaches.³⁴

Experimental

Apparatus and Reagents

A Perkin-Elmer Model 1750 FTIR spectrometer with a DTGS temperature-stabilized detector and equipped with a Model 7700 data station was employed.

The manifolds shown in Fig. 1 were used in absorbance measurements in both the (a) continuous-flow and (b) stopped-flow modes. Two Gilson P-2 Minipuls peristaltic pumps were used to transport the dichloromethane carrier solution and to introduce the samples into the flow cell. Viton flexible tubes with of 0.15 cm i.d. were used throughout to obtain an adequate flow of samples and standards. The use of a second pump, to fill the injection valve or to introduce samples into the measurement cell, avoids bubble formation and reduces contamination and memory effects.

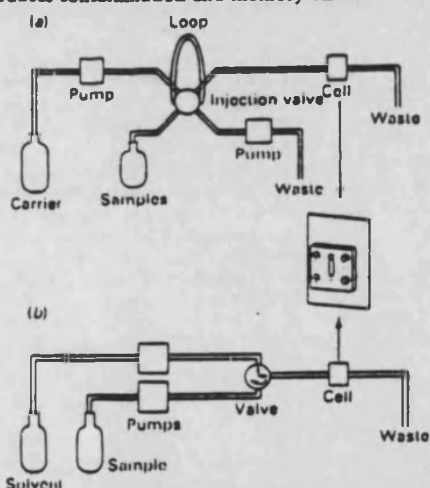


Fig. 1 Manifolds employed for the determination of carbaryl by FTIR spectrometry with flow analysis in both the (a) continuous and (b) the stopped-flow mode

* To whom correspondence should be addressed.

For continuous-flow analysis a Rheodyne Type 50 injection valve, with various fixed-volume loops, was used for sample introduction, but in the stopped-flow mode only a three-way directional valve is necessary to select the solvent flow and the sample or standards flow alternately. In all instances a micro flow cell with KBr windows (Specac) and lead spacers was used for the FTIR measurements, and poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) tubes of 0.8 mm i.d. were employed to connect the different components of the manifolds.

A series of computer programs were developed in order to process absorbance measurements in the continuous-flow mode, as described previously.³⁴

A Shimadzu RF520 difference spectrofluorimeter equipped with a xenon lamp and a U.135s recorder was employed to carry out fluorescence measurements using 1 cm fused-silica cells.

Carbaryl was obtained from Union Carbide and Nemol K-1030 (a nonylphenol-ethylene oxide condensate with average degree of condensation 11.7) was purchased from Massó & Carol. Analytical-reagent grade dichloromethane (Panreac) and xylene (Probus) were used as received.

FTIR Determination of Carbaryl

Weigh an appropriate amount of sample (containing between 40 and 60 mg of carbaryl) and dissolve it in 10 ml of CH_2Cl_2 . Filter or centrifuge to separate the undissolved material and, for continuous-flow measurements, inject 300 μl of the sample solution in a carrier flow of 0.81 ml min^{-1} of CH_2Cl_2 and record the FTIR spectrum continuously as a function of time. Select the range between 2000 and 1500 cm^{-1} and determine the spectral baseline between 1850 and 1650 cm^{-1} . Measure the peak height absorbance of the FTIR recording at 1747 cm^{-1} for samples and standards and establish from the latter the appropriate calibration equation. For the stopped-flow mode, fill the flow cell with the CH_2Cl_2 solution of the sample and accumulate five scans working with a nominal resolution of 4 cm^{-1} . Subsequently, measure the absorbance at 1747 cm^{-1} using a baseline from 1850 to 1650 cm^{-1} . Establish the appropriate calibration line under the same conditions for CH_2Cl_2 solutions of carbaryl.

When a 1.0 mm pathlength is employed, the concentration of carbaryl in CH_2Cl_2 must be lower than 1 mg ml^{-1} .

Spectrofluorimetric Determination of Carbaryl

In order to compare the results obtained in the analysis of real samples by FTIR spectrometry with flow analysis, the same pesticide formulations were analysed by the following spectrofluorimetric procedure.¹⁹

Take a known amount of sample and shake it vigorously for 5 min with 10 ml of xylene. Separate and take 5 ml of the xylene solution and extract it with 10 ml of 1 mol l^{-1} NaOH solution for 10 min. Separate the aqueous phase and add 5 ml of a 12% m/v aqueous solution of Nemol K-1030 to 5 ml of the alkaline extract. After 5 min, measure the fluorescence of carbaryl, as 1-naphtholate, using an excitation wavelength of 336 nm and an emission wavelength of 454 nm. Established the calibration line under the same conditions from alkaline solutions of carbaryl in the presence of Nemol K-1030.

Alternatively, spectrofluorimetric measurements were carried out in the absence of surfactant and after the previously described separation.

Results and Discussion

FTIR Spectrum of Carbaryl

The FTIR transmittance spectrum of carbaryl, obtained with KBr discs, shows well defined bands for N-H ($\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$), carbonyl ($\sim 1750 \text{ cm}^{-1}$) and aromatic groups (in the fingerprint range). However, the spectra of commercial formula-

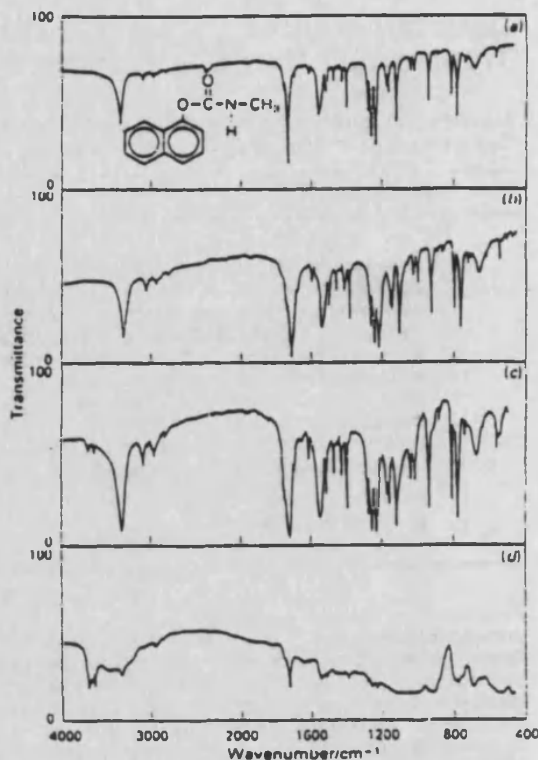


Fig. 2 Transmittance spectra of carbaryl and pesticide formulation samples containing carbaryl using KBr discs. (a) Carbaryl standard. (b) sample containing 90% m/m of carbaryl. (c) sample with 80% m/m of carbaryl and (d) sample with 7.5% m/m of carbaryl

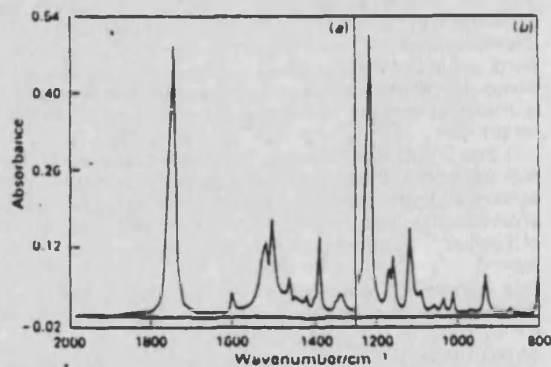


Fig. 3 FTIR absorbance spectrum of a CH_2Cl_2 solution containing 10.0 mg ml^{-1} of carbaryl. (b) Solvent absorbance. The lower lines correspond to the background of the micro flow cell filled with CH_2Cl_2

tions containing carbaryl show serious matrix effects that inhibit the direct determination of the pesticide content, as can be seen in Fig. 2.

Dichloromethane is a good solvent for carbaryl, but it does not dissolve the excipients commonly employed in pesticide formulations containing carbaryl. Therefore, the treatment of samples and standards with CH_2Cl_2 offers a direct means for the determination of carbaryl in commercial products.

Dichloromethane is very transparent in the wavenumber ranges 2000–1300 cm^{-1} and 1250–900 cm^{-1} , as shown in Fig. 3, and in this region the carbonyl band of carbaryl appears well resolved with a maximum absorbance at 1747 cm^{-1} . This wavenumber was therefore chosen instead of the 1225 cm^{-1}

band, because the latter is too near to the non-transparent region of the solvent and presents a poor baseline.

Continuous-flow FTIR Determination of Carbaryl

Using the manifold indicated in Fig. 1(a), CH₂Cl₂ solutions of carbaryl were injected in a CH₂Cl₂ carrier flow and the corresponding FI recording was obtained as a function of time. The effect of the sample injection volume and carrier flow rate on the sensitivity and repeatability of the FTIR measurements were established for a 5.0 mg ml⁻¹ carbaryl solution.

Fig. 4 shows that an injection volume of ≥300 μl avoids the dilution of sample in the FI manifold and provides absorbance values at 1747 cm⁻¹ comparable to those found in the batch mode.

An increase in the carrier flow rate reduces drastically the peak height of the FI recording and, as can be seen in Fig. 5, at faster flow rates the sample does not remain in the cell at its maximum concentration for a sufficiently long time to obtain a well defined peak, owing to the long time required to obtain and store the full interferogram as a function of time (more than 17 s are required working with a nominal resolution of 4 cm⁻¹ when using the Model 7700 data station). Hence a carrier flow rate of 0.81 ml min⁻¹ provides the best sensitivity and sampling frequency.

At a carrier flow rate of 0.81 ml min⁻¹ and a sample volume of 300 μl, and using an optical pathlength of 0.117 mm, carbaryl can be determined in a dynamic range from 0.25 to 10 mg ml⁻¹ with a sensitivity of 0.408 A mg⁻¹ ml mm⁻¹. This

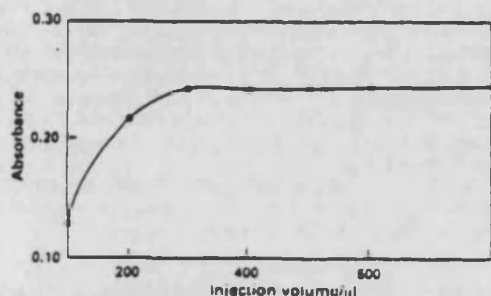


Fig. 4 Effect of the sample injection volume on the peak height of the FI recording for a fixed carrier flow of 0.81 ml min⁻¹. Carbaryl concentration: 5.0 mg ml⁻¹

sensitivity is three times higher than that reported for the batch procedure, probably owing to the use of CH₂Cl₂ instead of CHCl₃. The sampling frequency of the procedure corresponds to 53 injections per hour.

Determination of Carbaryl in the Stopped-flow Mode

One of the main advantages of Fourier transformation is the possibilities of accumulating a large number of scans, which could provide a better limit of detection of the IR measurements. However, this possibility does not exist when working in a continuous-flow mode. Hence the manifold in Fig. 1(b) was used to fill the micro flow liquid cell and absorbance measurements of carbaryl solutions in CH₂Cl₂ were carried out in the stopped-flow mode. In this way the maximum sensitivity and repeatability can be obtained.

The effects of the nominal resolution and the number of accumulated scans on the sensitivity, repeatability and time required to obtain the absorbance measurements were studied. The nominal resolution value does not affect the intensity of the blank measurements; however, as can be seen in Fig. 6, an increase in the nominal resolution provides a decrease in the absorbance of the carbaryl band at 1747 cm⁻¹. Therefore, a nominal resolution of 4 cm⁻¹ must be employed for analytical purposes.

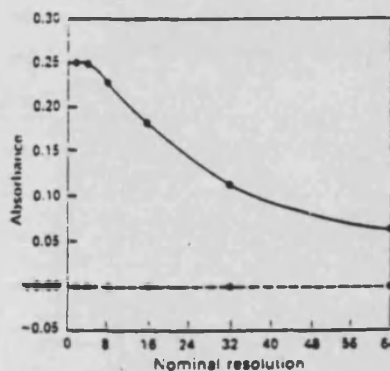


Fig. 6 Effect of the nominal resolution on the absorbance of carbaryl. Concentration of carbaryl: 5.0 mg ml⁻¹. Broken line: blank measurement of CH₂Cl₂

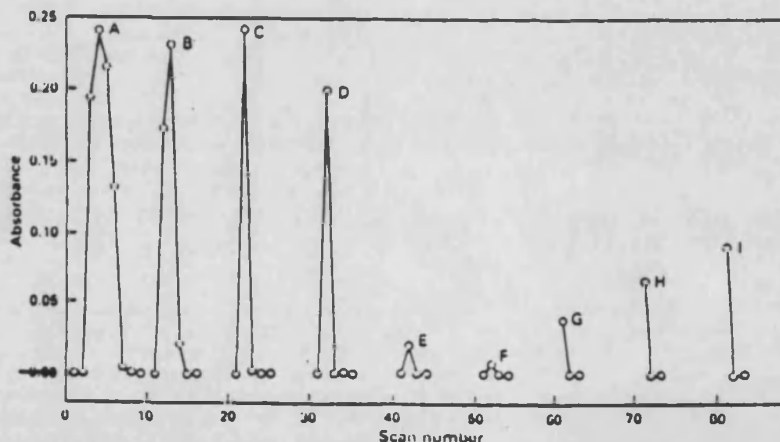


Fig. 5 Influence of the carrier flow on the peak height of the FI recording. Carbaryl concentration: 5.0 mg ml⁻¹. Points in the figure indicate the different scans from which the FI recordings were obtained. Arrows indicate the injection times. Flow rates: A, 0.27; B, 0.54; C, 0.81; D, 1.08; E, 1.35; F, 1.62; G, 1.89; H, 2.16; and I, 2.43 ml min⁻¹

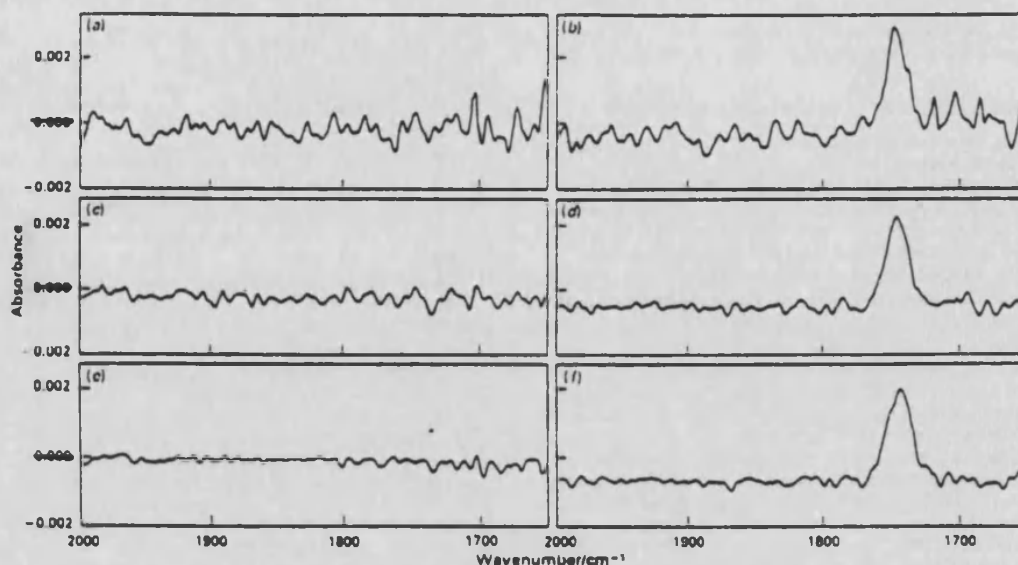


Fig. 7 Influence of the accumulated number of scans on the FTIR absorbance in the stopped-flow mode: (a) and (b), 1 scan; (c) and (d) 5 scans; and (e) and (f) 25 scans. (a), (c) and (e), Blank solutions of CH_2Cl_2 ; and (b), (d) and (f) $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ carbaryl solutions. In all instances an optical pathlength of 0.117 mm was employed

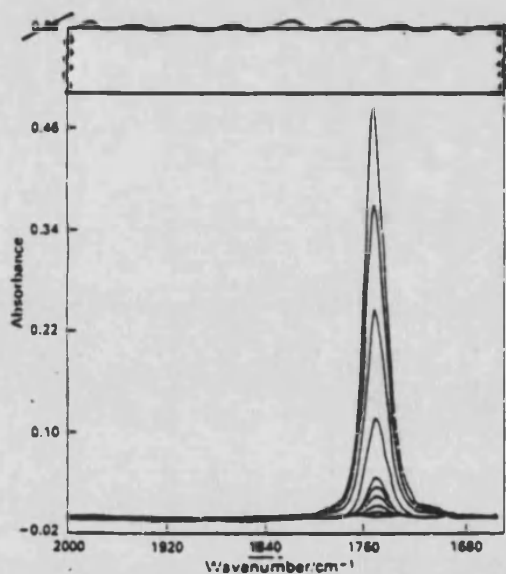


Fig. 8 FTIR absorbance spectra of carbaryl solutions, obtained in the stopped-flow mode from five accumulated scans

Under these conditions, the sensitivity is 9.5% of that obtained using a nominal resolution of 2 cm^{-1} , but the time required to obtain and store the spectra is only 40 s, compared with 63 s necessary when 2 cm^{-1} is used.

An increase in the number of accumulated scans does not affect the absorbance of carbaryl solutions at 1747 cm^{-1} but reduces the background drastically, so a better signal-to-noise ratio can be obtained with increasing number of scans. As can be seen in Fig. 7, the use of five scans seems to be a good compromise in order to obtain a good limit of detection for a high sample frequency.

Under the above conditions, and using an optical pathlength of 0.117 mm, a dynamic range between 0.125 and

10 mg ml^{-1} of carbaryl with a sensitivity of $0.423 \text{ A mg}^{-1} \text{ ml mm}^{-1}$ was found, which provides a 3.6% increase in the sensitivity as compared with values obtained in the continuous-flow mode. On the other hand, a limit of detection of $11 \mu\text{g ml}^{-1}$ is obtained in the stopped-flow mode for a probability level of 99.6% ($k = 3$),⁴⁰ owing to the good signal-to-noise ratio obtained when working with five accumulated scans. The sampling frequency in this instance is 90 injections per hour.

Fig. 8 shows a typical calibration line obtained for CH_2Cl_2 solutions of carbaryl and the FTIR absorbance spectra of these standards from 2000 to 1650 cm^{-1} .

Analytical Performance of the FTIR Determination of Carbaryl

Table 1 summarizes the figures of merit of the FTIR determination of carbaryl in CH_2Cl_2 solutions using both the continuous-flow and stopped-flow modes and for two values of the optical pathlength. As can be seen, the procedure is very sensitive and reproducible and permits a limit of detection of the order of $1.6 \mu\text{g ml}^{-1}$.

The use of a 1 mm optical pathlength increases the sensitivity of the procedure and permits a good limit of detection. However, when measurements are carried out in the continuous-flow mode, a sample injection volume of 500 μl was necessary to avoid sample dilution into the flow cell and so the sampling frequency was reduced to 42 injections per hour. On the other hand, an increase in the optical pathlength does not modify the sample frequency in the stopped-flow mode.

Analysis of Pesticide Formulations

Three commercial samples of pesticide formulations with theoretical contents of 7.5, 85 and 90% m/m of carbaryl were analysed by FTIR spectrometry using the stopped-flow and continuous-flow modes and alternatively by a spectrofluorimetric procedure.¹⁹ The results are summarized in Table 2.

All the methods provided comparable precisions of the analytical results, but FTIR provides better reproducibility at both concentration levels of carbaryl, owing to the high dilution required to obtain fluorescence emission readings in

Table 1 Analytical parameters for the determination of carbaryl by FTIR spectrometry with flow analysis

Parameter*	Continuous-flow mode		Stopped-flow mode	
Optical pathlength/mm	0.117	1.0	0.117	1.0
Sensitivity/A mg ⁻¹ ml mm ⁻¹	0.406	0.425	0.423	0.446
LOD/ μ g ml ⁻¹	—	—	11	1.6
Repeatability of the absorbance measurement:				
RSD(1) (%)	0.5	0.8	0.2	0.3
$x \pm s$	0.224 \pm 0.001	0.245 \pm 0.002	0.2929 \pm 0.0005	0.2591 \pm 0.0007
Repeatability of the analysis of samples:				
RSD(2) (%)	0.5	—	0.8	—
Dynamic range/mg ml ⁻¹ carbaryl	0.25–10	0.05–1.0	0.125–10	0.0125–1.0
Sampling frequency/h ⁻¹	53	42	90	90

* LOD = limit of detection ($k = 3$ for a probability level of 99.6%). ⁴⁰RSD (1) = relative standard deviation for ten independent measurements of a solution with an absorbance $x \pm$ standard deviation s . RSD (2) = relative standard deviation for four independent analyses of a sample with a theoretical content of 7.5% m/m of carbaryl.

Table 2 Results obtained in the analysis of pesticide formulations containing carbaryl

Sample No.	Theoretical content	Carbaryl in commercial samples (% m/m)*			
		FTIR-flow analysis		Spectrofluorimetric analysis	
		Continuous-flow mode	Stopped-flow mode	Aqueous media	Micellar media
1	7.5	7.28 \pm 0.04	7.20 \pm 0.06	7.3 \pm 0.2	7.4 \pm 0.2
2	85	84 \pm 1	83.67 \pm 0.04	83 \pm 1	84 \pm 1
3	90	92.0 \pm 0.1	91.4 \pm 0.2	87.5 \pm 0.9	89 \pm 1

* Mean \pm standard deviation ($n = ?$).

Table 3 Effect of sample dilution on the FTIR-flow analysis of a commercial sample containing theoretically 7.5% m/m of carbaryl

Sample dilution (% m/m)	Carbaryl found (% m/m)*
0.25	7.3 \pm 0.1
0.50	7.28 \pm 0.09
0.75	7.16 \pm 0.03
1.00	7.20 \pm 0.06
2.50	7.27 \pm 0.02
5.00	7.25 \pm 0.02
7.50	7.21 \pm 0.02
10.00	7.27 \pm 0.02

* Mean \pm standard deviation ($n = ?$).

the dynamic range for the spectrofluorimetric analysis of pesticide formulations.

The sensitivity obtained with the developed procedure and the high concentration of carbaryl in the samples analysed permits work at different levels of dilution of sample into CH₂Cl₂. In this respect, the data in Table 3 indicate that the accuracy of the FTIR determination of carbaryl is not affected by the amount of sample employed to carry out the determinations and only the repeatability of these measurements decreases when the concentration decreases by about 1.5 orders of magnitude.

On the other hand, the sensitivity obtained in the stopped-flow measurement of the IR absorbance opens up possibilities for the FTIR determination of carbaryl residues in waters and crops after appropriate extraction with CH₂Cl₂.

Conclusions

These studies have indicated that carbaryl in pesticide formulations can be determined accurately, precisely and rapidly by FTIR spectrometry with flow analysis after dissolution of the samples with CH₂Cl₂. The use of the stopped-flow mode, accumulating five scans, with a nominal resolution of 4 cm⁻¹ provides a high repeatability of the measurements and a limit of detection of the order of 1.6 μ g ml⁻¹.

M. Gallignani acknowledges a grant from the Agencia Española de Cooperación Internacional to carry out Ph.D. studies and financial support from Los Andes University and CONICIT. S. Garrigues acknowledges a grant from the Conselleria de Cultura, Educació i Ciència de la Generalitat Valenciana to carry out Ph.D. studies. A. Martínez-Vado acknowledges financial support from the University of Valencia to enable her to travel from the University of León (Nicaragua) to carry out studies in Spain.

References

- Martin, H., and Worthing, C. R., *Pesticide Manual*, British Crop Protection Council, Worcestershire, 5th edn., 1976.
- Ernst, G. F., Roder, S. J., Tjan, G. H., and Jansen, J. T. A., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1975, 58, 1015.
- Osselton, M. D., and Snelling, R. D., *J. Chromatogr.*, 1986, 348, 265.
- Sakane, S., *Agric. Biol. Chem.*, 1987, 51, 1239.
- Krause, R. T., and Agust, E. M., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1983, 66, 234.
- Deberardinis, M., and Wargia, W. A., *J. Chromatogr.*, 1982, 246, 89.
- Krause, R. T., *J. Chromatogr.*, 1988, 442, 333.
- McGarvey, B. D., *J. Chromatogr.*, 1989, 481, 445.
- Carbaryl, EPA, 1 October 1975.
- Appaiah, K. M., Ramakrishna, R., Sabbarao, R. R., and Kapur, O., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1982, 65, 32.
- Sastry, C. S. P., and Vijaya, D., *Talanta*, 1987, 34, 372.
- Sastry, C. S. P., Vijaya, D., and Magala, D. S., *Analyst*, 1987, 112, 75.
- Su, S. Y., Asafu-Adjaye, E., and Odu, S., *Analyst*, 1984, 109, 1019.
- Campiglia, A. D., and Lima, C. G., *Anal. Chem.*, 1987, 59, 2822.
- Argauer, R. J., *Pesticides in Analytical Methodology*, American Chemical Society, Washington, DC, 1980.
- Laskin, M. J., and Day, M. J., *Anal. Chim. Acta*, 1979, 108, 425.
- Files, L. A., and Winefordner, J. D., *J. Agric. Food Chem.*, 1967, 35, 471.
- García-Sánchez, F., and Cruces-Blanco, C., *Talanta*, 1990, 37, 573.
- Sancenón, J., Carrión, J. L., and de la Guardia, M., *Talanta*, 1989, 36, 1165.

- 20 Sancenón, J., Carrión, J. L., and de la Guardia, M., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1990, 336, 389.
- 21 Papadopoulou-Mourkidou, E., Iwata, Y., and Guatber, F. A., *J. Liq. Chromatogr.*, 1981, 4, 1663.
- 22 Ting, K. C., Kho, P. K., Musselman, A. S., Root, G. A., and Tichelaar, G. R., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1984, 33, 538.
- 23 Fujimoto, C., Oosuka, T., and Jiano, K., *Anal. Chim. Acta*, 1985, 178, 159.
- 24 Wilcox, C. D., and Phelan, R. M., *J. Chromatogr. Sci.*, 1986, 24, 130.
- 25 Wachholz, S., Grissler, H., Permer, G., and Bleck, J., *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 1988, 329, 768.
- 26 *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, ed. Horwitz, W., AOAC, Washington, DC, 12th edn., p. 114.
- 27 Růžička, J., and Hansen, E. H., *Flow Injection Analysis*, Wiley, New York, 2nd edn., 1988.
- 28 Valcárcel, M., and Luque de Castro, M. D., *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- 29 Sancenón, J., and de la Guardia, M., *Quim. Anal.*, in the press.
- 30 Curran, D. J., and Collier, W. G., *Anal. Chim. Acta*, 1985, 177, 259.
- 31 Morgan, D. K., Danielson, N. D., and Katon, J., *Anal. Lett.*, 1985, 18, 1979.
- 32 Olesik, S. V., French, S. B., and Novotny, M., *Anal. Chem.*, 1986, 58, 2256.
- 33 Müller, B. E., Danielson, N. D., and Katon, J. E., *Appl. Spectrosc.*, 1988, 42, 401.
- 34 Guzman, M., Růžička, J., and Christian, G. D., *Vib. Spectrosc.*, 1991, 2, 1.
- 35 McKittrick, P. T., Danielson, N. D., and Katon, J. E., *Microchem. J.*, 1991, 44, 105.
- 36 de la Guardia, M., Garrigues, S., Gallignani, M., Burguera, J. L., and Burguera, M., *Anal. Chim. Acta*, 1992, 261, 53.
- 37 Garrigues, S., Gallignani, M., de la Guardia, M., *Talanta*, 1993, 40, 89.
- 38 Garrigues, S., Gallignani, M., and de la Guardia, M., *Analyst*, 1992, 117, 1849.
- 39 Gallignani, M., Garrigues, S., and de la Guardia, M., *Anal. Chim. Acta*, 1993, 274, 267.
- 40 IUPAC, *Anal. Chem.*, 1976, 48, 2294.

Paper 2106934B

Received December 31, 1992

Accepted February 15, 1993

ΤΑΛΑΝΤΑ
TALANTA

The International Journal of Pure & Applied Analytical Chemistry

From the Joint Editor-in-Chief
Professor Elo H. Hansen
Chemistry Department A
Building 207
The Technical University of Denmark
DK - 2800, Lyngby
Denmark
Tel. +45 42 88 31 11
Fax. +45 42 88 05 06



Published by PERGAMON PRESS
Oxford · New York · Seoul · Tokyo

May 21, 1993
MS No EH93344

Professor Miguel de la Guardia
Department of Analytical Chemistry
University of Valencia
50 Dr Moliner St.
E-46100 Burjasot (Valencia)
Spain

Dear Professor de la Guardia,

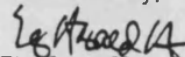
I am pleased to inform you that your revised manuscript "Simultaneous Determination of Acetylsalicylic Acid and Caffeine in Pharmaceuticals by Flow Injection with Fourier Transform Infrared Detection" has been accepted for publication in *Talanta*.

The technical editor will check technical details to ensure accuracy for the authors and readers. Should there be any questions that require clarification, you will be contacted by the technical editor. Please respond promptly to queries so that production is not delayed. These are best handled by fax.

You will be sent proofs to check prior to publication.

Thank you for your contribution. I look forward to receiving further papers from you and your colleagues in the future.

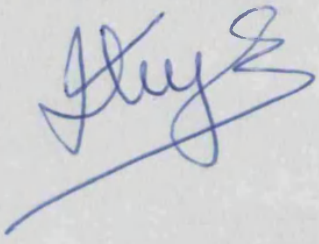
Yours sincerely,


Elo Harald Hansen

Reunido el Tribunal que suscribe, en el día de la fecha,
acordó otorgar, por unanimidad, a esta Tesis doctoral de
D. SALVADOR GARRIGUES MATEO
la calificación de APTO CUM LAUDE

Valencia, a 16 de SEPTIEMBRE de 1993

El Secretario,



El Presidente



**ANÁLISIS CUANTITATIVO POR
ESPECTROMETRÍA INFRARROJA EMPLEANDO
LA TRANSFORMADA DE FOURIER**

Fe de erratas y adenda



TD-Q 346

Ri. 18663394.

Fe de erratas

Página 18, línea 8: en lugar de de "...con el término análisis cuantitativo." debe indicarse **"...con los términos de análisis o determinación."**

Página 20: debe incluirse al inicio de la misma el siguiente texto: **"los trabajos que aparecen en ellas en función de la técnica analítica que los autores"** (en este anexo se ha incluido una copia de esta página con la corrección ya efectuada).

Página 21: en el encabezamiento de la figura debe indicarse **"Analytica Chimica Acta"** en lugar de "Analytical Chimica Acta".

Página 23, figura 0.6: en las leyendas de las gráficas cuando se indica "Transmitancia" debe incluirse también **"y Reflectancia"**.

Página 33, referencia 0.34: el año de publicación es **1993** en lugar de 1992.

Página 81, ecuación [2.16]: en el segundo término de la igualdad debe aparecer **"b"** en lugar de " K_1 ".

Página 82, ecuaciones [2.17 a 2.19]: en el denominador del segundo término de la primera igualdad debe figurar **"[O]+[M]+[P]"** en lugar de "[O]+[M] [P]".

Página 116, referencia II.9: el año de publicación es **1993** en lugar de 1992.

Página 132, línea 3: debe indicarse **"aumenta"** en lugar de "disminuye".

Página 190, referencia 5.12: el año de publicación es **1993** en lugar de 1992.

Página 209, tabla 6.I: la sensibilidad viene expresada en **"ua conc⁻¹ mm⁻¹"** en lugar de "ua conc mm⁻¹".

Página 238, tabla 7.I: la sensibilidad se expresa en **"ua mg⁻¹ mL mm⁻¹"** en lugar de "ua mg mL⁻¹ mm⁻¹".

Página 266, tabla 8.IIB: en la leyenda debe figurar **"... 1 L de una disolución de carbaryl de 0.262 µg mL⁻¹"** en lugar de "... 100 mL de una disolución de carbaryl de 2.62 µg mL⁻¹".

los trabajos que aparecen en ellas en función de la técnica analítica que los autores emplearon. Se han considerado conjuntamente todos los trabajos en los que se ha empleado técnicas de espectrometría vibracional a la hora de establecer el porcentaje que supone esta técnica frente resto de técnicas de análisis en el número total de trabajos publicados. En las figuras 0.4 y 0.5 se indican los resultados encontrados para las revistas *The Analyst* y *Analytica Chimica Acta*. Destaca el escaso porcentaje que supone el empleo de técnicas de espectrometría vibracional que, en ambas revistas, supone aproximadamente un 1 % del total de los trabajos, excepto en la revista *The Analyst* para el año 1992 para la que está en torno al 4 % (en este año la revista editó un número especial dedicado al *XXVII Colloquium Spectroscopicum Internationale*, celebrado en Bergen (Noruega), y en el que se presentaron bastantes trabajos que empleaban técnicas de espectrometría vibracional).

A finales del año 1990 apareció el primer ejemplar de la revista *Vibrational Spectroscopy*, editada como una sección de *Analytica Chimica Acta*, que publica trabajos basados en técnicas de espectroscopía vibracional. Se ha establecido la distribución de los trabajos aparecidos en esta publicación con la intención de comparar el porcentaje de trabajos de análisis cuantitativo que aparecen en esta revista específica de las técnicas vibracionales con los encontrados para las anteriores revistas fundamentales de Química Analítica. En la figura 0.6 se han indicado los resultados encontrados para los tres primeros volúmenes de *Vibrational Spectroscopy* y, como se observa, el porcentaje que suponen los trabajos de aplicaciones al análisis cuantitativo empleando tanto la espectrometría IR como la espectroscopía Raman es reducido en relación al número total de trabajos publicados.

Adenda

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ACETYLSALICYLIC ACID AND CAFFEINE IN PHARMACEUTICALS BY FLOW INJECTION WITH FOURIER TRANSFORM INFRARED DETECTION

SALVADOR GARRIGUES, MÁXIMO GALLIGNANT and MIGUEL DE LA GUARDIA*

Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, 50 Dr. Moliner St. 46100, Burjassot,
Valencia, Spain

(Received ?)

Summary—A fast quality control methodology has been developed for the simultaneous determination of acetylsalicylic acid (ASA) and caffeine in pharmaceuticals by flow injection-Fourier Transform Infrared Spectrometry. The method is based on the solubilization of ASA and caffeine in CH_2Cl_2 and the use of a flow system to introduce samples and standards in the spectrometer. Two solutions, containing 90 and 110% of the reported concentration of the two active principles in the sample, were employed in order to control the extreme tolerance levels accepted by the International Pharmacopoeia for the composition of formulations. A 300 μl volume of each solution was injected in turn, into a carrier stream of the sample, and their absorbances were measured at wavenumbers of 1770 and 1661 cm^{-1} for ASA and caffeine, respectively. The absorbance values obtained for the carrier, at the same wavenumbers, were interpolated between those obtained for the standards. This rapid methodology provides a simultaneous quantitative evaluation of the concentration of ASA and caffeine in pharmaceuticals. The method permits us to carry out 53 injections/hr and provides a sensitivity of 0.231 absorbance units/mg ml/mm for ASA and 1.065 for caffeine. Accurate results were obtained for the analysis of different samples containing one or both compounds in the presence of excipients which are insoluble in CH_2Cl_2 and also in the presence of other active principles, such as acetaminophen or ergotamine tartrate.

Flow-injection (FI) is a well established sample handling methodology, based on the injection of samples or standards in a continuous flow carrier stream, which provides the automatization of different steps in the quantitative analysis.¹⁻³

The use of FI in Infrared Spectrometric analysis (FI-IR) provides a simple and reproducible means of filling and cleaning the measurement cells⁴ and offers important advantages in terms of reproducibility and saving of time and consumables. Moreover, the use of the Fourier Transform permits continuous monitoring of the spectral baseline⁵ and simultaneous analysis of different components of the same sample.⁶⁻⁸

The few papers published until now on the use of FI-IR⁴ and FI-FT-IR⁵⁻¹³ have shown some of the possibilities offered by the synergistic combination of FI and infrared spectrometry. Some of these papers have been focused on the study of IR detectors in flow systems by means of the use of test molecules^{4,10,11} and others have provided alternative

methods for the analysis of paint solvents,^{5,7,8} gasolines,¹³ pesticides¹⁴ and pharmaceuticals.^{6,9,12} In this latter case several products, such as choline compounds,⁶ aliphatic esters⁹ and Ibuprofen¹² were determined in real samples.

In the analysis of pharmaceutical products, infrared spectrometry provides a suitable method for the identification¹⁵ of drugs and also for their quantitative determination.^{16,17} However, active principles in pharmaceuticals are usually determined by other spectrometric techniques, such as ultraviolet-visible spectrophotometry,¹⁸ or by chromatographic methods,¹⁹ specially when a multicomponent analysis must be made.

There are various reasons why IR quantitative analysis procedures have not been extensively developed for quality control of pharmaceuticals: (i) the excessive sample handling and time required for the traditional IR techniques, such as the use of alkali halide disks, mulls or thin films, (ii) the poor reproducibility of absorbance values obtained with liquid cells filled manually, (iii) the difficulty of establishing and controlling of an appropriate baseline,

*Corresponding author.

especially when dispersive instrumentation is used, and (iv) the interferences among some active principles and also those due to the excipients commonly employed. However, most of these difficulties can be avoided by the hyphenation between FI and FT-IR and so, one of the objectives of the present paper is to evidence that FI-FT-IR can be a good choice for the simultaneous control analysis of different active principles in the same pharmaceutical product. Acetylsalicylic acid (ASA) and caffeine have been used as test molecules to prove the applicability of the FI-FT-IR for this purpose and so, a new analytical procedure has been developed for the simultaneous determination of these two compounds in pharmaceuticals.

Traditionally, ASA and caffeine are determined by volumetric procedures in non-aqueous media¹⁸ or by ultraviolet-visible spectrometry.²⁰⁻²³ Recently a series of chromatographic methods, based on the use of gas chromatography,²⁴ high performance thin layer chromatography (HPTLC)^{25,26} or high performance liquid chromatography (HPLC), has been developed. This latter technique has been applied for the determination of ASA,²⁷ caffeine^{28,29} or both³⁰⁻³² using ultraviolet detection.

FT-IR has been also employed as the detector for the analysis of mixtures of caffeine and ASA by HPLC^{33,34} and by TLC.³⁵ Near infrared has been employed for the quantitative determination of caffeine³⁶ and mixtures of caffeine and ASA³⁷ and also FT-IR in the medium range, has been used for the quantitative determination of caffeine in pharmaceuticals³⁸⁻⁴⁰ and for the determination of ASA.⁴¹ However, to the best of our knowledge, no paper has been published on the simultaneous determination of caffeine and ASA by FT-IR either in batch or the flow analysis mode.

Direct injection of samples in a FI manifold is a convenient procedure to obtain a fast analysis but it provides, in general, an excessive dispersion of samples. In the present study, taking into account the reduced sensitivity of the infrared techniques, we have employed two alternative strategies in order to reduce the sample dispersion in the flow injection system: (i) the stopped-flow mode,^{7,14} which enhances the limit of detection of the analytical measurements, by improving the signal to noise ratio in a series of accumulated scans, and (ii) the reversed mode flow injection, which was first suggested by Johnson and Petty⁴² and has been

extensively employed in ultraviolet-visible spectrometric analysis by the Valcárcel group.⁴³⁻⁴⁵ This consists in injecting standards in a carrier stream of samples. In the case of analysis of pharmaceuticals, this opens up new possibilities in order to develop fast analytical procedures for the quality control of these materials.

EXPERIMENTAL

Apparatus

A Perkin-Elmer Fourier Transform Infrared spectrometer, model 1750, with a temperature stabilized DTGS detector and equipped with a 7700 data station, was used to carry out infrared measurements, both in the stopped-flow and in the reversed flow mode. In all cases a micro-flow cell SPECAC (Orpington, U.K.) with KBr windows, with a 5 μ l volume, for a 0.117 mm Pb spacer, was employed. To carry out the simultaneous FT-IR measurements in the reversed flow mode, a series of computer programmes, developed by us and previously described,^{5,4} were employed.

The manifolds indicated in Fig. 1 permit a fast and reproducible filling and cleaning of the micro-flow cell for the stopped-flow measurements (1A) and the reversed FT-IR flow analysis of pharmaceuticals (1B).

Two Gilson P-2 Minipuls peristaltic pumps with Viton (iso-versinic) flexible tubes of 0.15 cm internal diameter were used to transport CH_2Cl_2 or the corresponding carrier solutions and to introduce samples and standards into the flow cell. The use of a second pump to fill the injection valve, or to introduce the sample into the cell, avoids bubble formation, contamination and memory effects. The presence of

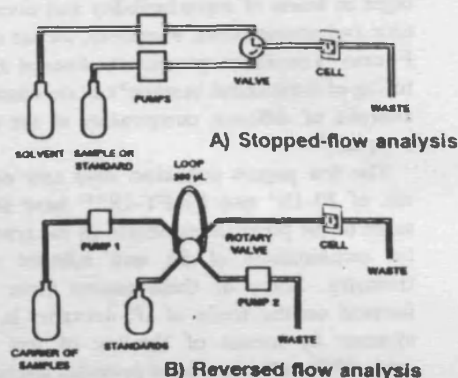


Fig. 1. Manifolds employed for: (A) stopped-flow FT-IR measurement, and (B) reversed flow analysis.

bubbles, observed when only one pump was employed in a single channel manifold, can be attributed to the low boiling point of CH_2Cl_2 , which causes gas (vapour phase) formation in the coils when injected samples remain stopped inside flexible tubes during a period of time. So, the use of a second channel, employed for the continuous transport of samples is very convenient and avoids the formation of bubbles. On the other hand the use of a second pump permits reduction of the consumption of reagents because it is not necessary to operate continuously as when a second channel of the same pump is employed. A rheodyne 50 injection valve, with a fixed volume loop of $300\ \mu\text{l}$, was employed for the standard injection in the reversed flow mode, but, in the stopped-flow procedure, only a three way directional valve is required to select the solvent or the sample flow alternately.

All the tubes to connect the different parts of the two manifolds are made in TEFLON[™] and they have a 0.8 mm internal diameter.

Reagents

Acetylsalicylic acid and caffeine standards were obtained from FLUKA (Switzerland). Analytical grade dichloromethane (Panreac, Barcelona, Spain) was dried by using 4 Å molecular sieves obtained from SDS (France) and employed for the preparation of standards and samples. The choice of CH_2Cl_2 is due to the fact that it is very transparent to infrared radiation and it completely solubilizes ASA and caffeine but, in the samples excipients remain undissolved and so it avoids some matrix effects. Other solvents more commonly employed in IR analysis, such as CCl_4 and hexane, were not employed because they do not solubilize ASA.

The six following analgesic formulations were analyzed by FI-FT-IR: ASPIRINA[®] (from Bayer) tablets containing 500 mg of ASA per unit; CAFIASPIRINA[®] (from Bayer) tablets containing 500 mg of ASA and 50 mg of caffeine per unit; MEJORAL[®] (from Bayer) tablets containing 500 mg of ASA and 30 mg of caffeine per unit; CAFERGOT[®] (from Sandoz) sugar coated pills containing 100 mg of caffeine and 1 mg of ergotamine tartrate per unit; FIORINAL[®] (from Sandoz) capsules containing 200 mg of ASA, 40 mg of caffeine and 300 mg of acetaminophen per unit; NEOCIBALENA[®]

(from Ciba-Geigy) tablets containing 200 mg of ASA, 50 mg of caffeine and 150 mg of acetaminophen per unit.

GENERAL PROCEDURE

FI-FT-IR determination of ASA and caffeine

To determine ASA and caffeine in a pharmaceutical preparation, an appropriate amount of sample must be accurately weighed and dissolved with CH_2Cl_2 in order to obtain an ASA concentration of approximately 10 mg/ml and a caffeine concentration of 1 mg/ml. Both compounds are highly soluble in CH_2Cl_2 , but excipients in general and other active principles cannot be dissolved and thus, after manually shaking for a few seconds, the samples can be filtered or centrifuged to separate the undissolved part. After that, sample solutions are continuously introduced as the carrier in the manifold in Fig. 1(b) using a constant flow of 0.81 ml/min, and the absorbance peak height is measured at 1770/cm for ASA and 1661/cm for caffeine, using a common base-line established between 1900 and 1537/cm. $300\ \mu\text{l}$ of a CH_2Cl_2 standard solution, containing ASA and caffeine in a concentration equal to 90% of the theoretical concentration of the sample to be analyzed, is injected in the above-mentioned sample carrier flow. After that, the same volume of another standard solution, containing 110% of the theoretical concentration of ASA and caffeine in the sample, is injected, and the absorbance measurements are carried out for both standard solutions in the same conditions employed for the samples. The two standards injected correspond to the lower and upper level permitted by the Pharmacopocia for the specifications of pharmaceuticals. So, the absorbance values for the sample carrier must be between those found for the standards. To determine the ASA and caffeine concentrations, the absorbance peak height values of the sample are interpolated between the two points of the calibration line established for the two standard solutions injected. For the analysis of each sample, the carrier and the concentrations of the standard solutions must be changed according to the pharmaceutical to be analyzed.

RESULTS AND DISCUSSION

FT-IR spectra of ASA and caffeine

The FT-IR absorbance spectra of ASA and caffeine, obtained in CH_2Cl_2 solutions, present

*All the names of the analgesic formulations analyzed are trade names registered in Spain by the Pharmaceutical Laboratories.

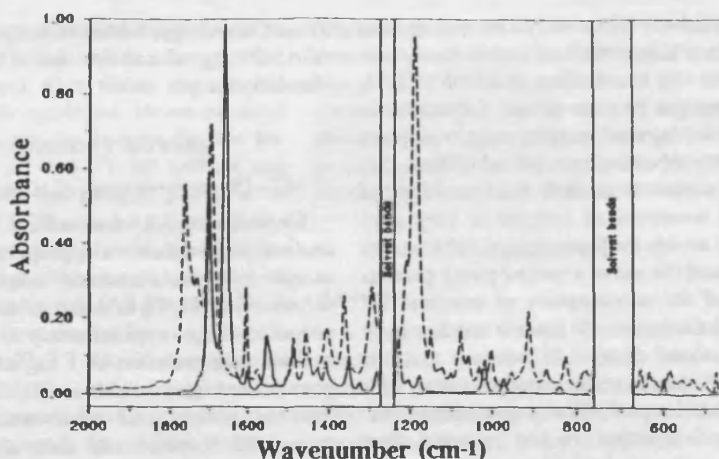


Fig. 2. FT-IR spectra of pure solutions of acetylsalicylic acid 20 mg/ml (---) and caffeine 8 mg/ml (—) in CH_2Cl_2 .

well defined and very intense bands in the wavenumber range between 1800 and 1200/cm, being those at 1198/cm for ASA and 1661/cm for caffeine the most sensitive (see Fig. 2).

The ASA band at 1198/cm is too close to the non-transparent range of the CH_2Cl_2 and it is overlapped with small bands of caffeine. In the range between 1800 and 1675/cm ASA presents a series of intense bands. However, as it can be seen in Fig. 3, an increase in the concentration

of ASA in the range between 0.2 and 20 mg/ml, modifies the relative intensity of these bands, being that at 1703/cm the most sensitive only for concentrations higher than 5 mg/ml. The band of ASA at 1770/cm is the only one which obeys Beer's law, as it can be seen in Fig. 3(c) and which is not overlapped with those of caffeine, and so it seems the most appropriate for the ASA determination.

Caffeine has been determined by IR spec-

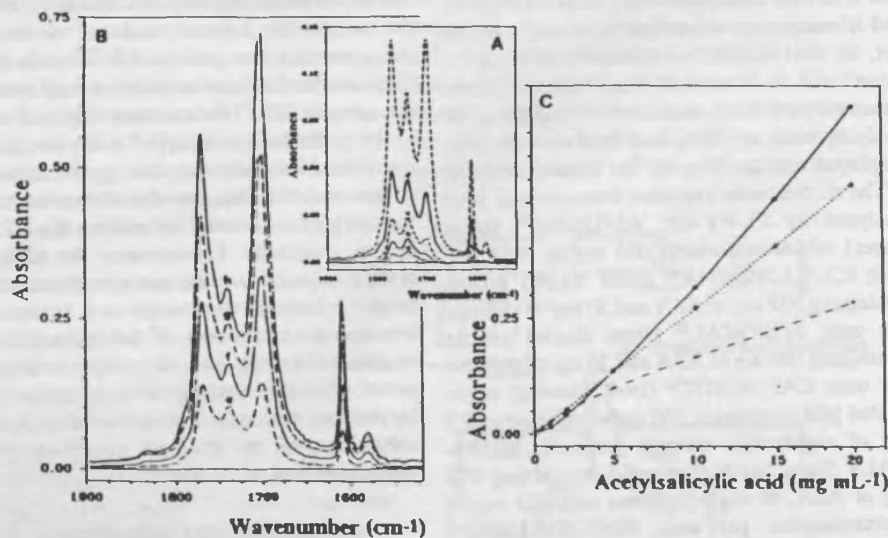


Fig. 3. FT-IR spectra of CH_2Cl_2 solutions of acetylsalicylic acid at different concentration levels: (A) (a) 0.2 mg/ml, (b) 0.5 mg/ml, (c) 1 mg/ml, (d) 2 mg/ml, (e) 5 mg/ml. (B) (f) 10 mg/ml, (g) 15 mg/ml, (h) 20 mg/ml. (C) calibration lines obtained for pure acetylsalicylic acid solutions in CH_2Cl_2 , measured at different wavenumbers: (O) 1703/cm, (◊) 1770/cm and (*) 1738/cm.

trospectroscopy in the region between 650 and 400/cm.⁴⁰ However, caffeine bands in this range are less sensitive than that at 1661/cm. Thus this latter band represents the best potential wavenumber for the determination of caffeine in the presence of ASA.

A common baseline between 1900 and 1520 or between 1900 and 1537/cm can be established for bands considered for the determination of ASA and caffeine. In standard solutions, both baselines provide comparable results, but in complex samples, which include other active principles, the baseline between 1900 and 1537/cm avoids interferences and provides the most accurate results.

Direct determination of ASA

Stopped-flow measurements, carried out in the above mentioned conditions, provides a typical calibration line for ASA (in the concentration range between 1 and 20 mg/ml) which corresponds to $A = 0.000_6(\pm 0.0006) + 0.0270, (\pm 0.00006)C_{(\text{in mg/ml})}$ with a regression coefficient, R , of 0.99998. This equation is close similar to that obtained for another series of standards in the presence of a 1:10 caffeine:ASA proportion, which corresponds to an equation $A = 0.000_5(\pm 0.0005) + 0.0270, (\pm 0.00005)C_{(\text{in mg/ml})}$ with $R = 0.99998$. So, a calibration line, defined from pure solutions of ASA in CH_2Cl_2 , can be used for the direct determination of ASA in pharmaceuticals containing also caffeine. Accurate results can be also obtained in the presence of other compounds, such as acetaminophen, which do not interfere with the 1770/cm bands of ASA.

Interference of ASA in the FT-IR determination of caffeine

ASA interferes on the FT-IR determination of caffeine as it can be seen in Fig. 4. For a fixed concentration of 1 mg/ml of caffeine, ASA concentrations lower than 8 mg/ml cause a little negative interference in the absorbance of caffeine which provides a maximum interference of the order of -5% in relative absorbance. Higher concentrations of ASA cause a positive interference in the caffeine absorbance measurements; for an ASA:caffeine proportion higher than 20:1, the relative error of the absorbance is higher than +10%.

The interference of ASA on the caffeine determination by FT-IR can be attributed to the proximity between the absorbance bands of

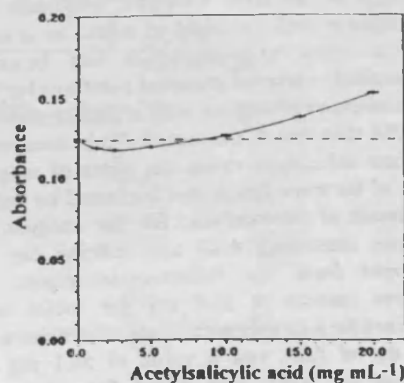


Fig. 4. Effect of the ASA concentration on the absorbance values of caffeine at 1661/cm for a fixed concentration of caffeine of 1 mg/ml.

these compounds and this is aggravated by the high concentration of ASA in pharmaceuticals containing caffeine. For low ASA concentrations this interference is very little and the small errors caused are due to changes in the baseline which reduces the peak height of the caffeine absorbance at 1661/cm. In this case caffeine concentrations lower than real ones were obtained due to the variation of the absorbance of ASA at 1703/cm as indicated in Fig. 3. The positive interference found at high ASA concentration levels must be attributed to the contribution of the intense band of ASA at 1703/cm which increases with the ASA concentration and overlaps with the 1661/cm band of caffeine.

The change in the relative absorbance of ASA at 1703/cm, as a function of the ASA concentration (Fig. 3), hinders the possibility of correcting its interference in the caffeine determination by means of the use of derivative measurements.

FT-IR determination of caffeine

A typical calibration line obtained from pure standards of caffeine in CH_2Cl_2 , in a concentration range between 0.1 and 2 mg/ml, corresponds to an equation $A = 0.0008(\pm 0.0004) + 0.1246(\pm 0.0004)C_{(\text{in mg/ml})}$ with $R = 0.99997$. This equation has a slope of the same order than that obtained from standard solutions containing ASA and caffeine in a 10:1 proportion, which is $A = 0.003(\pm 0.001) + 0.123(\pm 0.001)C_{(\text{in mg/ml})}$ with $R = 0.9998$. For this proportion, the interference of ASA has a minimum value (see Fig. 4); however, the high value of the

intercept in this latter equation, evidences the overlapping with the band of ASA.

From these experiments it can be recommended to prepare standard solutions for the determination of caffeine with a similar content of ASA than that of the samples to be analyzed.

Some indications about the order of magnitude of the error which can be found by using standards of pure caffeine for the analysis of samples containing ASA and caffeine can be obtained from the following examples. A caffeine amount of 33.4 mg per tablet was obtained for a sample with 30 mg of caffeine and 500 mg of ASA and a value of 50.1 mg of caffeine per tablet was found for a sample containing 50 mg of caffeine and 500 mg of ASA. Using a calibration line in which ASA was added to the caffeine standards, the above mentioned samples provide values of 29.6 mg per tablet and 49.6 mg, respectively.

Effect of the sample weight

The high dynamic range provided by the FT-IR determination of ASA and caffeine, in the above mentioned conditions, makes possible to work at different dilution levels of the sample, and accurate and precise results were found for a sample amount from 50 to 750 mg dissolved in 25 ml of CH_2Cl_2 .

Figures of merit of the FT-IR determination of ASA and caffeine

In the above mentioned conditions, the main figures of merit of the FT-IR determination of ASA and caffeine have been established from the characteristics of the analytical lines and also from a series of analysis carried out at

different concentration levels. Table 1 summarizes the values found for the dynamic range, sensitivity, limit of detection and repeatability obtained for each compound considered.

The sensitivity was obtained from the slope of the calibration line and taking into account the bandpass of the cell employed for measurements.

The limit of detection was established for a probability level of 99.86% ($k = 3$), from the standard deviation of 10 independent measurements of a blank solution (3σ) and from the corresponding sensitivity for each compound.

The repeatability was calculated in terms of the variation coefficient (relative standard deviation expressed in percentage) obtained for five absorbance measurements of a same solution containing 12 mg/ml of ASA and 1.2 mg/ml of caffeine and the precision from the variation coefficient for three independent analysis of the same sample.

From results obtained, it can be concluded that FT-IR provides an adequate sensitivity and reproducibility for the determination of ASA and caffeine in pharmaceuticals; the sensitivity for this latter compound at 1661/cm in CH_2Cl_2 solutions being five times higher than that obtained for ASA at 1770/cm.

Analysis of real samples

Samples described in the Experimental section were analyzed in the stopped-flow mode by using a common calibration line obtained with standards containing ASA and caffeine in a 10:1 proportion. Results obtained are summarized in Table 2 and, although all the values found are in the range tolerated by the Pharmacopoeia, it could be convenient to use appropriate sets of standards for each kind of samples.

Reversed flow-injection-FT-IR simultaneous determination of ASA and caffeine

As has been previously indicated, FI-FT-IR can provide simultaneous information about different components of the same sample⁴ and, as can be seen in Fig. 5, which shows the spectra of three solutions with different concentrations of ASA and caffeine, it is possible to obtain, from the same spectrum, absorbance peak values from which both ASA and caffeine can be simultaneously determined. Arrows in this figure indicate the ASA and caffeine peaks obtained for each solution. Bold lines show the maximum absorbance values reached for ASA and dotted lines evidences that the carrier sol-

Table 1. Figures of merit of the FT-IR determination of ASA and caffeine in CH_2Cl_2 solutions

Parameter	ASA	Caffeine
Dynamic range mg/ml	0-20	0-4
Sensitivity au/mg ml/mm	0.231	1.065
Limit of detection $\mu\text{g/ml}$ (3σ)	22	5.8
Repeatability *RSD%	0.14	0.16
Precision RSD%	0.5	1.1
$n^* = 5$		
$n^{**} = 3$		

RSD: relative standard deviation, $n^ = 5$ measurements of a sample containing 12 mg/ml ASA and 1.2 mg/ml caffeine, $n^{**} = 3$ independent analysis of the same sample.

Table 2. Analysis of real samples by FI-FT-IR spectrometry

Pharmaceutical	Active principle	Theoretical content (mg per tablet)	Results found (mg per tablet)	
			Stopped-flow	Reversed-FI
Aspirina	ASA	500	509	501
Cafaspirina	ASA	500	504	501
	Caffeine	50	49.6	50.0
Mejoral	ASA	500	497	495
	Caffeine	30	34.1	29.6
Fiorinal	ASA	200	186	198
	Caffeine	40	38.6	43.2
Neocibalena	ASA	200	182	187
	Caffeine	50	43.6	47
Cafergot	Caffeine	100	94	101

ution of the sample to be analyzed (B) provides an absorbance peak value between those found for the two standard solutions injected (A and C). The sample effect can be also observed for caffeine by measuring the peak height at 1661/cm.

The use of reversed-flow injection FT-IR permits rapid determination of ASA and caffeine in pharmaceuticals. As has been described in the Experimental Part, the injection of standard solutions containing ASA and caffeine (in the same relative proportion as the samples) in a carrier stream of a CH_2Cl_2 solution of each sample provides reference values which can be used for the quantitative analysis of these two compounds. This basic idea, taken

from the principles of reversed flow analysis⁴²⁻⁴⁵ and on-line standard additions,^{46,47} offers new possibilities in fast quality control of pharmaceuticals by providing a comparison of the samples with the extreme values permitted by the Pharmacopoeia for the content of active principles in pharmaceutical preparations (from 90 to 110% of the reported value).

Figure 6 shows the FI recording established at 1770 and 1661/cm, for the injection of two standard solutions containing 9 mg/ml ASA and 0.9 mg/ml caffeine and 11 mg/ml ASA and 1.1 mg/ml caffeine, respectively in a carrier of a sample of ASA and caffeine. As can be seen the carrier solution provides absorbance values between those obtained for the injected standards

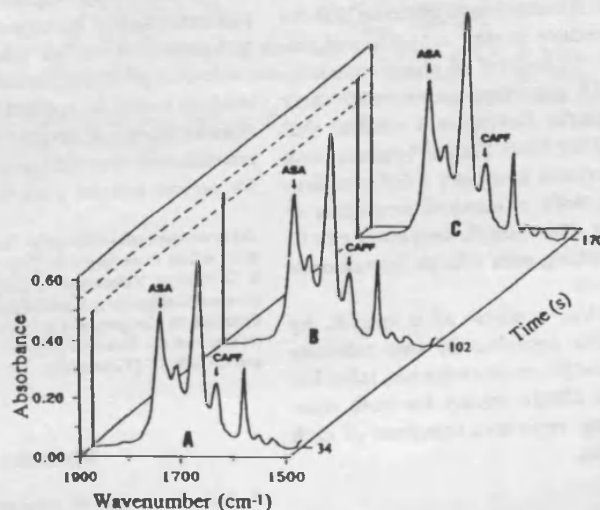


Fig. 5. FT-IR spectra obtained, as a function of time, for: (a) the injection of a standard solution of ASA and caffeine in CH_2Cl_2 containing 9 mg/ml ASA and 0.9 mg/ml caffeine, (b) a carrier solution of a sample with a theoretical content of 10 mg/ml ASA and 1 mg/ml caffeine and (c) the injection of a standard solution containing 11 mg/ml ASA and 1.1 mg/ml caffeine. These figures show only the maximum absorbance values reached for each one of the three solutions considered; intermediate values have been deleted in order to present the spectra from which the flow injection peak height values can be established.

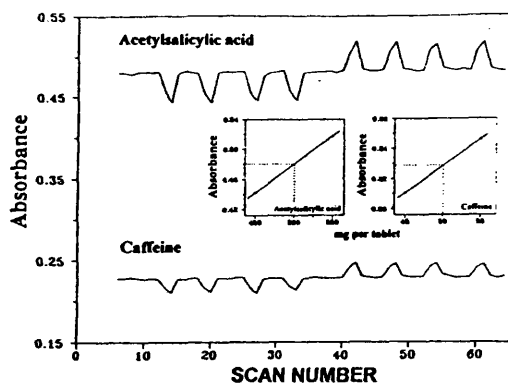


Fig. 6. Flow injection recording obtained by the reversed mode for the simultaneous determination of acetylsalicylic acid and caffeine in a pharmaceutical preparation. Inset: calibration lines obtained for the determination of ASA and caffeine from the injection of the two standard solutions in the sample carrier stream.

and it evidences that the concentration of the active principles in the sample agree with the reported value. Moreover, the content of ASA and caffeine in the sample can be determined from the peak height values found for sample and standards, by interpolation as described in the insets of this figure.

Following this procedure (described in the Experimental section) a series of real samples were analyzed and results found are summarized in Table 2. Results found evidence that the developed procedure is very accurate and permits a fast quality control of pharmaceuticals.

The FI-FT-IR procedure permits us to carry out 53 injections/hr (taking into account that the use of the 7700 Data Station requires more than 17 sec to obtain and store a full interferogram, working with a nominal resolution of 4/cm). However, this sample frequency can be increased by working with a faster instrumentation and software.

The quantitative analysis of a sample, by using the on-line injection of two reference standards in a sample carrier solution, takes less than 15 min to obtain results for both compounds from four repetitive injections of each standard solution.

CONCLUSIONS

ASA can be directly analyzed in pharmaceuticals by FT-IR at 1770/cm; caffeine, ac-

etaminophen and ergotamine tartrate do not interfere with this determination.

The interference of ASA on the FT-IR determination of caffeine at 1661/cm can be avoided by using a base-line established between 1900 and 1537/cm and standard solutions with an ASA:caffeine proportion similar than that expected for samples.

The reversed FI-FT-IR procedure developed for the determination of ASA and caffeine in pharmaceuticals is very accurate and precise and permits us a fast quality control of these two active principles in formulations. This basic strategy could be applied for the simultaneous determination of several compounds in other pharmaceuticals and opens up new possibilities for on-line control analysis.

Acknowledgements—Salvador Garrigues acknowledges the grant of the Conselleria de Cultura, Educació i Ciència de la Generalitat Valenciana to carry out Ph.D. studies, and Máximo Gallignani acknowledges the grant of the Agencia Española de Cooperación Internacional to carry out Ph.D. studies and the financial support of Los Andes University and CONICIT (Venezuela).

REFERENCES

1. J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2nd Ed. John Wiley, New York, 1988.
2. M. Valcarol and M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis. Principles and Applications*. Ellis Horwood, Chichester, 1987.
3. B. Karlberg and G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*. Elsevier, Oxford, 1989.

4. D. J. Curran and W. G. Collier, *Anal. Chim. Acta*, 1985, 177, 259.
5. M. de la Guardia, S. Garrigues, M. Galignani, J. L. Burguera and M. Burguera, *Anal. Chim. Acta*, 1992, 261, 53.
6. B. E. Miller, N. D. Danielson and J. E. Katon, *Appl. Spectrosc.*, 1988, 42, 401.
7. M. Guzman, J. Ruzicka, G. D. Christian and P. Shelley, *Vib. Spectrosc.*, 1991, 2(1), 1.
8. S. Garrigues, M. Galignani and M. de la Guardia, *Analyst*, 1992, 117, 1849.
9. D. K. Morgan, N. D. Danielson and J. E. Katon, *Anal. Lett.*, 1988, 18, 1979.
10. S. V. Olesick, S. B. French and M. Novotny, *Anal. Chem.*, 1986, 58, 2256.
11. P. T. McKittrick, N. D. Danielson and J. E. Katon, *Microchem. J.*, 1991, 44, 105.
12. S. Garrigues, M. Galignani and M. de la Guardia, *Talanta*, 1992, 40, 89.
13. M. Galignani, S. Garrigues and M. de la Guardia, *Anal. Chim. Acta*, 1993, 274, 267.
14. M. Galignani, S. Garrigues, A. Martínez-Vado and M. de la Guardia, *Analyst*, 1993, in press.
15. A. C. Moffat (Ed.), *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd Ed. The Pharmaceutical Society of Great Britain, London, 1986.
16. M. J. de Faubert Maunder, *Practical Hints on Infrared Spectrometry with Particular Reference to Forensic Analysis*. Adam Hilger, London, 1971.
17. R. G. J. Miller and B. B. Stace, *Laboratory Methods in Infra-red Spectrometry*. Heyden, Chichester, 1972.
18. *United States Pharmacopeia*, 22nd revision, 1989 USP Convention Inc, Rockville MD, USA.
19. R. K. Gilpin and L. A. Pachia, *Anal. Chem.*, 1991, 63, 130R.
20. G. Sala, S. MasPOCH, H. Iturriaga, M. Blanco and V. Cerdá, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1988, 6, 765.
21. B. Webb, *Lab. Pract.*, 1990, 39, 85.
22. K. K. Verma and A. Jain, *Anal. Chem.*, 1986, 58, 821.
23. M. S. Karawya, A. M. Diab and N. Z. Swelem, *Anal. Lett.*, 1984, 17, 77.
24. S. Markovic and Z. Kusoc, *Pharmazie*, 1990, 45, 935.
25. J. Sherma, S. Stellmacher and T. J. White, *J. Liq. Chromatogr.*, 1985, 8, 2961.
26. M. El-Sadck, A. El-Shanawany, A. Aboul-khier and G. Ruecker, *Analyst*, 1990, 115, 1181.
27. A. Verstraeten, E. Roets and J. Hoogmartens, *J. Chromatogr.*, 1987, 388, 201.
28. I. Sakano and S. Kokubo, *Anal. Sci.*, 1989, 5, 623.
29. M. E. El-Kommos and K. M. Emara, *Talanta*, 1989, 36, 678.
30. P. Cockaerts, E. Roets and J. Hoogmartens, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1986, 4, 367.
31. K. K. Verma, S. K. Sanghi, A. Jain and D. Gupta, *J. Pharm. Sci.*, 1987, 76, 551.
32. I. M. Jalal and S. I. Sa Sa, *Talanta*, 1984, 31, 1015.
33. J. J. Gagel and K. Biemann, *Mikrochim Acta*, 1988, II, 185.
34. S. Shah and L. T. Taylor, *LC-GC*, 1989, 7, 340.
35. R. L. White, *Anal. Chem.*, 1985, 57, 1819.
36. E. W. Ciurczak and R. P. Torlini, *Spectroscopy (Springfield, Oreg.)*, 1987, 2, 41.
37. E. W. Ciurczak and T. A. Maldacker, *Spectroscopy (Springfield, Oreg.)*, 1986, 1, 36.
38. L. Yin and Y. Liu, *Fenxi Huaxue*, 1986, 14, 307; *Anal. Abstr.* 4901E005.
39. L. Yin and Y. Liu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 1986, 6, 139; *Anal. Abstr.* 4903A029.
40. M. Bauoells, N. Ferrer, G. Lacort and M. Roura, *Quim. Anal.*, 1991, 10, 211.
41. A. S. R. Krishnamurthy, R. Shailaja and S. Husain, *Indian Drugs*, 1986, 23, 513.
42. K. S. Johnson and R. L. Petty, *Anal. Chem.*, 1982, 54, 1185.
43. M. D. Luque de Castro and M. Valcárcel Cases, *Analyst*, 1984, 109, 413.
44. A. Rius, M. D. Luque de Castro and M. Valcárcel, *Analyst*, 1984, 109, 1487.
45. M. D. Luque de Castro and M. Valcárcel, *Trends Anal. Chem.*, 1986, 5, 71.
46. J. F. Tyson and A. B. Idris, *Analyst*, 1984, 109, 23.
47. V. Carbonell, A. R. Mauri, A. Salvador and M. de la Guardia, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 1991, 6, 581.