



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Consulta Pública nº 1.234, de 15 de fevereiro de 2024
D.O.U de 20/02/2024

A GERENTE DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA DA AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, no exercício da competência que lhe foi delegada por meio do Despacho 77, de 10 de agosto de 2022, aliado ao art. 187, III, do Regimento Interno aprovado pela Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 585, de 10 de dezembro de 2021, resolve submeter à consulta pública, para comentários e sugestões do público em geral, proposta de ato normativo, em Anexo.

Art. 1º Fica estabelecido o prazo de 45 (quarenta e cinco) dias para envio de comentários e sugestões ao texto dos métodos gerais 5.1.3.2 Teste de friabilidade 5.2.14 Espectrofotometria no ultravioleta, visível e infravermelho, e 5.2.28 Determinação da osmolalidade, conforme Anexo.

Parágrafo único. O prazo de que trata este artigo terá início 7 (sete) dias após a data de publicação desta Consulta Pública no Diário Oficial da União.

Art. 2º A proposta de ato normativo estará disponível na íntegra no portal da Anvisa na internet e as sugestões deverão ser enviadas eletronicamente por meio do preenchimento de formulário eletrônico específico, disponível no endereço: <https://pesquisa.anvisa.gov.br/index.php/742315?lang=pt-BR>

§1º Com exceção dos dados pessoais informados pelos participantes, todas as contribuições recebidas são consideradas públicas e de livre acesso aos interessados, conforme previsto na Lei nº 12.527, de 18 de novembro de 2011 e estarão disponíveis após o encerramento da consulta pública, em sua página específica, no campo “Documentos Relacionados”.

§2º Ao término do preenchimento e envio do formulário eletrônico será disponibilizado número de identificação do participante (ID) que poderá ser utilizado pelo usuário para localizar a sua própria contribuição, sendo dispensado o envio postal ou protocolo presencial de documentos em meio físico junto à Agência.

§3º Em caso de limitação de acesso do cidadão a recursos informatizados será permitido o envio e recebimento de sugestões por escrito, em meio físico, durante o prazo de consulta, para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Coordenação da Farmacopeia – Cofar, SIA trecho 5, Área Especial 57, Brasília-DF, CEP 71.205-050.

§4º Excepcionalmente, contribuições internacionais poderão ser encaminhadas em meio físico, para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Assessoria de Assuntos Internacionais – AINTE, SIA trecho 5, Área Especial 57, Brasília-DF, CEP 71.205-050.

Art. 3º Findo o prazo estipulado no art. 1º, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária promoverá a análise das contribuições e, ao final, publicará o resultado da consulta pública no portal da Agência.

Parágrafo único. A Agência poderá, conforme necessidade e razões de conveniência e oportunidade, articular-se com órgãos e entidades envolvidos com o assunto, bem como aqueles que tenham manifestado interesse na matéria, para subsidiar posteriores discussões técnicas e a deliberação final da Diretoria Colegiada.

GRAZIELA COSTA ARAÚJO

ANEXO

PROPOSTA EM CONSULTA PÚBLICA

Processo nº: 25351.930989/2022-42

Assunto: Proposta de revisão dos métodos gerais 5.1.3.2 Teste de friabilidade 5.2.14 Espectrofotometria no ultravioleta, visível e infravermelho, e 5.2.28 Determinação da osmolalidade.

Agenda Regulatória 2024-2025: Tema nº 5.5 Atualização periódica dos compêndios da Farmacopeia Brasileira (FB)

Área responsável: Coordenação da Farmacopeia – Cofar

Diretor Relator: Rômison Rodrigues Mota

5.1.3.2 TESTE DE FRIABILIDADE

O teste de friabilidade possibilita determinar a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica. O teste se aplica, unicamente, a comprimidos não revestidos. A medida da friabilidade de comprimidos complementa outros testes físicos de resistência, como o teste de dureza.

O teste consiste em pesar um número determinado de comprimidos, submetê-los à ação do aparelho e retirá-los depois de efetuadas as rotações. Após remover qualquer resíduo de pó dos comprimidos, eles são novamente pesados. A diferença entre o peso inicial e o final representa a friabilidade, medida em função da porcentagem de pó perdido.

APARELHAGEM

O aparelho (**Figura 1**) consiste de um cilindro rotativo, com $(287,0 \pm 4,0)$ mm de diâmetro e $(38,0 \pm 2,0)$ mm de profundidade, constituído de polímero sintético transparente com faces internas polidas, de baixa atividade estática, o qual gira em torno de seu eixo a uma velocidade de (25 ± 1) rotações por minuto. Uma das faces do cilindro é removível. Os comprimidos são recolhidos a cada volta do cilindro por uma projeção curva com raio interno de $(80,5 \pm 5,0)$ mm que se estende do centro à parede externa do cilindro, e levados a uma altura de $(156,0 \pm 2,0)$ mm, de onde caem repetidamente.

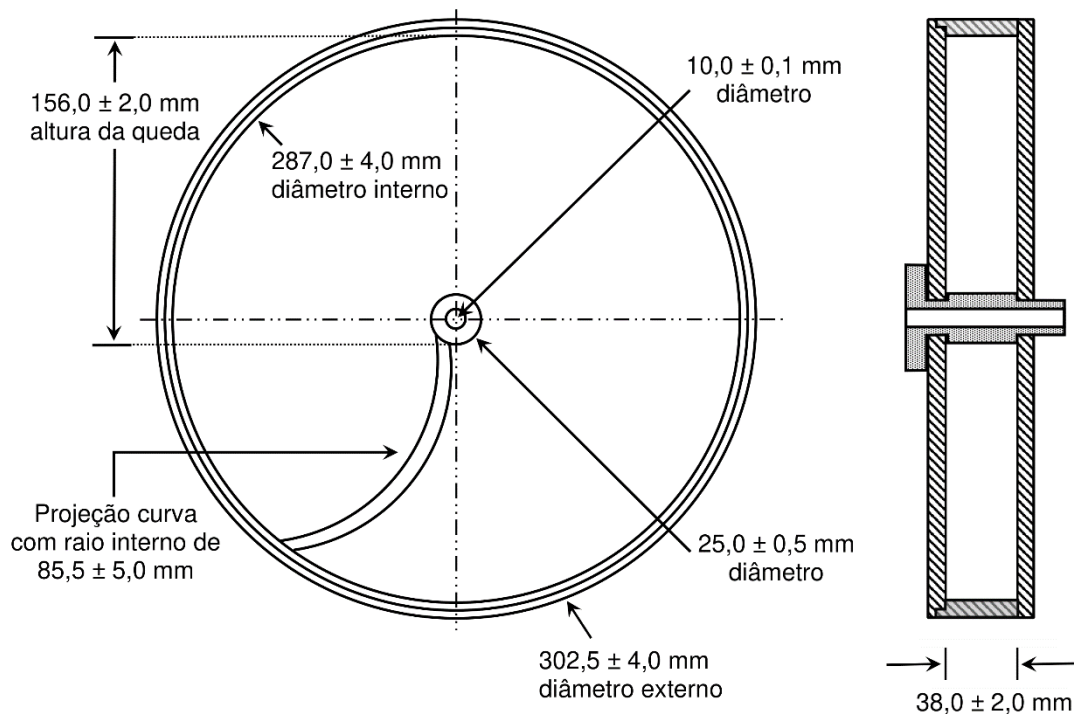


Figura 1 – Aparelho para teste de friabilidade (friabilômetro).

PROCEDIMENTO

Para comprimidos com peso unitário igual ou inferior a 650 mg, utilizar uma amostra de comprimidos intactos correspondente ao peso mais próximo possível de 6,5 g. Para comprimidos com peso médio superior a 650 mg, utilizar 10 comprimidos intactos. Pesar, com exatidão, os comprimidos e introduzi-los no aparelho. Girar o cilindro 100 vezes, com a velocidade de (25 ± 1) rotações por minuto. Concluídas as rotações, remover qualquer resíduo de pó da superfície dos comprimidos e pesar novamente.

O teste é executado apenas uma vez. Caso na amostra testada seja observado, ao final do teste, algum comprimido nitidamente quebrado, lascado, rachado ou partido, a amostra não cumpre o teste. Se o resultado for de difícil interpretação ou, se a perda for superior ao limite especificado, repetir o teste por mais duas vezes, considerando-se, na avaliação, o resultado médio das três determinações. Uma perda de peso, do teste individual ou da média dos três testes, igual ou inferior a 1,0% é aceitável para a maioria dos produtos. Os comprimidos efervescentes e os comprimidos mastigáveis podem ter especificações diferentes quanto à friabilidade.

Se o tamanho ou a forma do comprimido causar um tombamento irregular, ajuste a base do cilindro de modo que a base forme um ângulo de cerca de 10° com a horizontal e os comprimidos não fiquem mais grudados quando colocados um ao lado do outro, o que os impede de cair livremente.

No caso de comprimidos higroscópicos, é necessário um ambiente adequado com controle de umidade para o teste. Também são permitidos cilindros com duas projeções curvas ou um aparelho com mais de um cilindro, para a execução de várias amostras ao mesmo tempo.

5.2.14 ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA, VISÍVEL E INFRAVERMELHO

As técnicas espectrofotométricas são fundamentadas na absorção da energia eletromagnética por moléculas, o que depende tanto da concentração quanto de suas estruturas químicas. De acordo com o intervalo de frequência da energia eletromagnética aplicada, a espectrofotometria de absorção pode ser dividida em ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelho (IV), podendo ser utilizada como técnica de identificação e quantificação de substâncias.

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

A radiação eletromagnética é uma forma de energia de propagação ondulatória e, geralmente, pode ser subdividida em regiões de comprimento de onda característico. Também pode ser considerada como um fluxo de partículas denominadas fótons (ou quanta). Cada fóton contém determinada energia cuja magnitude é proporcional à frequência e inversamente proporcional ao comprimento de onda. O comprimento de onda (λ) consiste na distância entre o ponto máximo de duas ondas adjacentes, e é, geralmente, especificado em nanômetros, nm (10^{-9} m), e em alguns casos em micrômetros, μm (10^{-6} m).

No caso do IV, a radiação eletromagnética pode ser descrita em termos de número de onda e expressa em cm^{-1} . As faixas de comprimento de onda de energia eletromagnética de interesse para a espectrofotometria são as descritas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Faixas de comprimento de onda de interesse para a espectrofotometria.

Região	Faixa de comprimentos de onda
Ultravioleta (UV)	200 – 400 nm
Visível (VIS)	400 – 800 nm
Infravermelho próximo (IVP)	800 – 2500 nm ($12500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$)
Infravermelho médio (IVM)	2,5 – 25 μm ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$)
Infravermelho distante (IVD)	25 – 300 μm ($400 - 33 \text{ cm}^{-1}$)

INTERAÇÃO ENERGIA-MATÉRIA

A energia total da molécula envolve a energia derivada da vibração (energia vibracional, devida ao movimento relativo de átomos ou grupos de átomos constituintes da molécula); da rotação (energia rotacional, devida à rotação da molécula em torno de um eixo) e da energia eletrônica, gerada pela

configuração de elétrons na molécula. As moléculas, ao absorverem energia, sofrem uma transição para um estado de maior energia ou estado excitado.

Na região do ultravioleta e visível, as transições são eletrônicas e são associadas a grupos da molécula denominados cromóforos. Estas transições compreendem promoções de elétrons de orbitais moleculares ocupados, geralmente, σ e π ligantes e não ligantes, para os orbitais de energia imediatamente superiores, antiligantes π^* e σ^* .

Na região do infravermelho médio (IVM), ocorrem somente transições de energia vibracional por ser a radiação nesta região insuficientemente energética para promover transições eletrônicas. As vibrações induzidas por radiação infravermelha compreendem deformações axiais (estiramentos) ou deformações angulares de ligações inter-atômicas, que podem ser simétricas ou assimétricas. O espectro na região do infravermelho é único para qualquer composto químico com exceção dos isômeros ópticos que possuem espectros idênticos. Em algumas ocasiões, o polimorfismo pode ser responsável por diferenças no espectro IV de um composto no estado sólido. Os espectros no infravermelho próximo (IVP) são caracterizados pela absorção da radiação por transições harmônicas (*overtones*) e combinação de modos vibracionais fundamentais de ligações como C-H, N-H, O-H e S-H. As bandas de um espectro IVP, são, geralmente, mais fracas que as bandas do espectro IVM. Informações químicas e físicas, de característica qualitativa e quantitativa, podem ser obtidas a partir do espectro IVP. A espectrofotometria IVP é amplamente utilizada para análises físicas e químicas, como por exemplo: quantificação e identificação de fármacos e excipientes, avaliação de formas cristalinas e polimorfos, determinação do tamanho de partícula, padrão de desintegração e controle de processo.

MODOS DE AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS

Os espectros podem ser obtidos utilizando-se diferentes modos de aquisição. No caso da espectrofotometria UV/VIS o principal modo é a transmissão. No caso da espectrofotometria IVP e IVM os espectros podem ser adquiridos utilizando o modo transmissão e reflexão. Esta última subdivide-se em reflexão difusa e reflexão total atenuada. Há ainda a possibilidade da combinação dos modos de transmissão e reflexão, chamada de transreflexão.

Transmissão: é a medida da diminuição da intensidade da radiação em determinados comprimentos de onda quando a radiação passa através da amostra. A amostra é disposta na célula através da qual passa o feixe óptico entre a fonte e o detector.

A transmissão (T) pode ser calculada pela fórmula abaixo:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

em que

T = I_0 = intensidade da radiação incidente;

I = intensidade da radiação transmitida.

Os espectros em transmissão podem ser convertidos para absorvância:

Reflexão difusa: a radiação emitida pela fonte do equipamento atinge a amostra sólida finamente pulverizada e é refletida em várias direções de forma difusa. A radiação refletida é medida pelo detector. Este modo fornece a medida da reflectância, que é dada pela razão entre a intensidade da luz refletida pela amostra e a intensidade de luz refletida pela superfície reflexiva de referência.

Reflexão total atenuada: a radiação propaga-se no interior de um cristal com alto índice de refração, através de reflexões nas paredes deste material. A amostra é colocada em contato direto com este cristal, onde interage com a radiação. Uma onda evanescente é formada e penetra levemente na amostra, de forma que parte da energia é absorvida. A reflexão total é atenuada e gera um espectro de absorção.

Transreflexão: na medida por transreflexão, um espelho ou uma superfície reflexiva são usados para refletir a radiação transmitida através da amostra. Esta radiação incide uma segunda vez na amostra, de forma a dobrar o caminho óptico. Este modo fornece a medida da reflectância da transmitância, que é dada pela razão entre a intensidade da luz transmitida e refletida pela amostra e a intensidade de luz refletida na ausência da amostra.

INSTRUMENTAÇÃO

Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) e visível (VIS)

Espectrofotômetros utilizados na região do ultravioleta e visível são dotados, fundamentalmente, de fonte de radiação; seletor de comprimento de onda (monocromador); detector de radiação (sendo este um tubo fotomultiplicador ou fotodiodos, em instrumentos mais modernos) e uma unidade de leitura e de processamento de sinal. As lâmpadas geralmente empregadas como fonte de radiação na espectrofotometria são de deutério na região do ultravioleta compreendida entre 160 e 380 nm e tungstênio, na região do visível compreendida entre 320 e 2500 nm. Os instrumentos para as regiões do UV/VIS são, geralmente, equipados com um ou mais monocromadores ou filtros para isolar a banda de comprimento de onda desejada, de forma que somente a banda de interesse seja detectada e medida. Os monocromadores, geralmente, possuem uma rede de difração, enquanto os filtros podem ser de interferência ou de absorção. Os compartimentos utilizados para receber a amostra são denominados de cubetas ou celas, que devem apresentar janelas que sejam transparentes na região espectral de interesse. Para a região do UV, são necessárias cubetas de quartzo, ao passo que, para a região do VIS, pode-se empregar cubetas de vidro ou acrílico. Os principais tipos de detectores são os fototubos, os arranjos de fotodiodos e os dispositivos de transferência de carga. Os fototubos são os detectores mais simples e sua resposta está baseada no efeito fotoelétrico. O detector de arranjo de diodos permite que todos os comprimentos de onda possam ser monitorados simultaneamente. Os dispositivos de transferência de carga têm sido empregados em número crescente em instrumentos espectroscópicos. Os espectrofotômetros podem ser encontrados na configuração de feixe único, feixe duplo e multicanal. Os instrumentos de feixe duplo apresentam a vantagem de compensar qualquer flutuação na potência radiante da fonte, quando comparados com os instrumentos de feixe único. Já os instrumentos multicanal utilizam detectores do tipo arranjo de diodo e dispositivos de transferência de carga, permitindo a obtenção do espectro total de uma amostra. Nestes instrumentos, o sistema dispersivo é um espectrógrafo de rede colocado após a célula da amostra. Espectrofotômetros podem dispor de registradores gráficos que permitem a obtenção de espectros de absorção. Atualmente, a maior parte dos espectrofotômetros apresenta conexão a um microcomputador e programa apropriado, que permitem a obtenção dos espectros de absorção em meio digital das substâncias.

Espectrofotometria na região do infravermelho médio (IVM) e infravermelho próximo (IVP)

Os espectrofotômetros utilizados para aquisição de espectros no infravermelho médio e próximo consistem em uma fonte de luz, monocromador ou interferômetro e detector, e permitem a obtenção de espectros na região compreendida entre 12500 a 4000 cm^{-1} . Atualmente, os espectrofotômetros no infravermelho médio (4000 a 400 cm^{-1}) utilizam o interferômetro ao invés do monocromador e a radiação policromática incide sob a amostra, sendo os espectros obtidos no domínio da frequência com auxílio da transformada de Fourier. Células de transmissão, acessórios para reflexão difusa e reflexão total atenuada são os acessórios mais comuns para a aquisição dos espectros. A espectrofotometria no infravermelho próximo (IVP) é uma técnica que permite a obtenção de espectros na região compreendida entre 12500 a 4000 cm^{-1} (800 a 2500 nm). Os espectrofotômetros na região do IVP são constituídos de fonte de radiação apropriada, monocromador ou interferômetro e detector. Cubetas convencionais, fibras ópticas, células de transmissão e acessórios para reflexão difusa são mais comuns para aquisição dos espectros.

IDENTIFICAÇÃO POR ESPECTROFOTOMETRIA

A identificação de diversas substâncias farmacêuticas pode ser feita utilizando as regiões ultravioleta, visível, infravermelho médio e infravermelho próximo. De maneira geral, a espectrofotometria nas regiões UV/VIS requer soluções com concentração na ordem de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ da substância. Apesar de mais sensíveis, os espectros obtidos nas regiões do UV/VIS apresentam menor especificidade quando comparados com os espectros na região do IVM. Para fins de identificação farmacopeica, deve ser considerado além do valor do comprimento onda de absorção máxima (eixo x), a absorvidade, expressa pela intensidade do valor de absorvância para concentração pré estabelecida (eixo y). Recomenda-se realizar a comparação do espectro obtido frente ao espectro da substância química de referência (SQR).

Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) e visível (VIS)

Diversas monografias incluem espectros de absorção no ultravioleta como prova de identificação. Nestes casos, haverá especificação da extensão da varredura, solvente, concentração da solução e espessura da cubeta (caminho óptico). Alguns fármacos requerem o uso de padrões de referência. As leituras de padrão e amostra são efetuadas simultaneamente e em condições idênticas quanto ao comprimento de onda, tamanho de cubeta, etc. Para a caracterização utilizando a espectrofotometria UV/VIS, o fármaco é dissolvido utilizando solvente apropriado. Dentre estes estão a água, álcoois, éteres e soluções ácidas e

alcalinas diluídas. Deve-se verificar se os solventes não absorvem na região espectral que está sendo utilizada.

Espectrofotometria na região do infravermelho médio (IVM)

A espectrofotometria no IVM é um ensaio de identificação por excelência, sendo capaz de diferenciar estruturalmente substâncias. Dentre as três regiões do infravermelho (próximo, médio e distante), a região compreendida entre 4000 a 400 cm^{-1} (infravermelho médio) é a mais empregada para fins de identificação. O preparo da amostra a ser analisada varia de acordo com seu estado físico e com o modo de aquisição. A quantidade de amostra a ser empregada deve propiciar bandas de absorção com intensidade na faixa de 5 a 80% de transmitância no espectro obtido. Os espectros de transmissão podem ser obtidos pelos seguintes métodos:

Pastilhas de KBr ou KCl: triturar cerca de 1 a 2 mg da amostra sólida com aproximadamente 300 mg de brometo de potássio ou cloreto de potássio de grau espectroscópico, previamente dessecado. Comprimir a mistura de pós em uma prensa, de forma a obter uma pastilha transparente e uniforme.

Pastas: triturar cerca de 5 mg da amostra sólida com uma gota de óleo mineral de grau espectroscópico ou outro líquido adequado, de forma a obter uma pasta homogênea. Espalhar a pasta entre duas janelas de brometo de potássio ou cloreto de sódio, evitando a formação de bolhas de ar.

Soluções de amostras sólidas ou líquidas: preparar uma solução da amostra em solvente adequado de grau espectroscópico, em concentração de 10 a 100 g/L. Introduzir a solução obtida em uma cela de transmissão, com espessura de 0,1 a 0,5 mm. Neste caso, o espectro do solvente deve ser obtido separadamente e subtraído do espectro de absorção da amostra.

Líquidos: examinar a amostra líquida empregando janelas de brometo de potássio ou cloreto de sódio, ou celas de transmissão com espessura adequada para propiciar a obtenção de espectros com intensidade de absorção suficiente para identificação. Os solventes orgânicos a serem utilizados devem ser isentos de água.

Gases: remover o ar do interior da cela para gases e introduzir a amostra gasosa até pressão adequada. Se necessário, a pressão na cela pode ser ajustada empregando-se um gás transparente na região do infravermelho, como nitrogênio ou argônio, ou por meio de purga com dióxido de carbono.

Os espectros por reflexão difusa ou reflexão total atenuada podem ser obtidos conforme descrito a seguir:

O modo de reflexão difusa se aplica a amostras sólidas, opacas à transmissão da radiação na região do infravermelho. A amostra na forma de pó deve ser triturada com brometo de potássio de grau espectroscópico, previamente dessecado, em concentração de aproximadamente 5% (p/p) e disposta no acessório de reflexão difusa. Neste acessório, a radiação incide diretamente na amostra em pó. Parte da radiação é absorvida e em seguida refletida de forma difusa em direção ao detector.

Ainda, o espectro de amostras sólidas ou líquidas pode ser obtido utilizando acessório para reflexão total atenuada. A amostra deve ser disposta sob o cristal de alto índice de refração, onde entra em contato com a radiação na região do infravermelho, não exigindo preparo prévio da amostra. Este modo de aquisição de espectros apresenta a vantagem de ser um método não destrutivo.

UTILIZAÇÃO QUANTITATIVA DA ESPECTROFOTOMETRIA

Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) e visível (VIS)

A análise espectrofotométrica quantitativa por absorção tem como princípio a relação direta existente entre a quantidade de luz absorvida e a concentração da substância, segundo a Lei de Beer. Quando a concentração (c) é expressa em $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e o caminho óptico (b) em centímetros, a equação torna-se:

$$A = \epsilon b c$$

em que

A = absorvância, logaritmo do inverso da transmitância ($A = -\log T$);

ϵ = absortividade molar;

T = transmitância.

Sabendo-se que a transmitância é o quociente entre a intensidade da radiação transmitida pela solução (I) e a intensidade da radiação incidente (I_0), tem-se:

$$\log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = A = \epsilon b c$$

A intensidade da absorção da luz ultravioleta por substâncias cromóforas é, em geral, expressa como absorvidade molar, nas condições de máxima absorção. É possível expressar a intensidade de absorção também pela equação da absorvidade específica, $A(1\%, 1 \text{ cm})$, que corresponde à absorvância de uma solução a 1% (p/v) da substância, quando o caminho óptico é 1 cm:

$$A_{(1\%, 1 \text{ cm})} = \frac{A}{bc}$$

Para evitar possíveis desvios na Lei de Beer, deve-se trabalhar com soluções diluídas (na ordem de 0,01 M), evitando associações entre as moléculas. Para fins quantitativos, a concentração de uma solução amostra pode ser determinada pela comparação da sua leitura de absorvância com aquela obtida com a solução da substância química de referência, preparada nas mesmas condições. Alternativamente à utilização da substância química de referência, a concentração da amostra pode ser calculada empregando-se o valor de $A(1\%, 1 \text{ cm})$ da substância, em comprimento de onda específico.

Espectrofotometria na região do infravermelho próximo (IVP)

A quantificação por meio da espectrofotometria no IVP pode ser realizada utilizando dados obtidos de um método de referência ou a partir de um conjunto de calibração com amostras de composição conhecida. Os espectros podem ser obtidos utilizando os modos de transmissão ou reflexão, com o auxílio de acessórios adequados. Em um primeiro momento, os dados espectrais são tratados por meio de transformações matemáticas, com o objetivo de reduzir fontes de variação indesejadas antes da etapa de calibração. O processo de calibração consiste na construção de um modelo matemático que relaciona a resposta do espectrofotômetro a uma propriedade da amostra. Existem vários algoritmos quimiométricos que podem ser utilizados na calibração. Geralmente, estes algoritmos estão disponíveis em softwares e disponibilizados juntamente com o espectrofotômetro. Os principais algoritmos de calibração são: regressão linear múltipla (do inglês, *multiple linear regression* - MLR), mínimos quadrados parciais (do inglês, *partial least squares* - PLS) e regressão de componentes principais (do inglês, *principal component regression* - PCR). A validação de um método que emprega a espectrofotometria IVP é semelhante àquela requerida para qualquer procedimento analítico e, geralmente, é estabelecida a partir de técnicas quimiométricas. Métodos quantitativos por IVP apresentam as vantagens de serem rápidos, geralmente não destrutivos e requererem pouco ou nenhum preparo de amostra.

5.2.28 DETERMINAÇÃO DA OSMOLALIDADE

A osmolalidade é uma medida da concentração osmótica do número total de partículas osmoticamente ativas de soluto, por quilograma de solvente (mol/kg), fornecendo uma indicação da pressão osmótica da solução. Quando essa concentração for definida em volume denomina-se osmolaridade (mol/L).

A unidade da osmolalidade é osmol por quilograma (osmol/kg), mas a unidade mais comumente utilizada é miliosmol por quilograma (mosmol/kg), sendo 1 mosmol igual a $10^{-3} \times$ osmol.

A osmolalidade de uma solução aquosa contendo n solutos é dada pela expressão:

$$\xi_m = \sum v_n m_n \Phi_{m,n}$$

em que

ξ_m = osmolalidade;

v_n = se o soluto não é ionizado, v é igual a 1, no entanto, v é o número total de íons sempre presente ou formado pela dissociação em solução de uma molécula de soluto;

m_n = molalidade da solução, que é o número de mols do soluto por quilograma de solvente;

$\Phi_{m,n}$ = coeficiente osmótico molar, sendo um fator adimensional.

O coeficiente osmótico molal é uma medida do desvio do comportamento da solução ideal. Em uma solução ideal, a osmolalidade é igual à molalidade ($\Phi = 1$).

No caso de uma solução real e não ideal, o coeficiente osmótico molal é influenciado pelas interações que ocorrem entre os componentes (ou seja, moléculas, íons, solvente) da solução. Quanto mais complexa for a composição da solução, mais difícil se torna determinar Φ .

Por essa razão, a medição de uma propriedade coligativa, como a diminuição do ponto de congelamento, é usada como um meio prático de determinar a osmolalidade, obtendo uma medida global da contribuição dos vários solutos presentes em uma solução. A propriedade coligativa de uma solução é uma característica tal como pressão osmótica, diminuição do ponto de congelamento, elevação do ponto de ebulição, etc., que depende não do tipo de soluto, mas do número total de todas as espécies moleculares.

A menos que especificado de outra forma, a osmolalidade é determinada medindo-se a diminuição do ponto de congelamento (ΔT_c) de uma solução. A relação entre osmolalidade e diminuição do ponto de congelamento é dada pela seguinte expressão:

$$\Delta T_c = k_c \times \xi_m$$

em que,

ΔT_c = diminuição do ponto de congelamento;

k_c = constante crioscópica molal, que varia conforme o solvente. Para a água, o valor de k_c é 1,86 °C/osmol (ou seja, adicionar 1 mol de um soluto não dissociante a 1 kg de água resulta em uma diminuição de 1,86 °C no ponto de congelamento); e

ξ_m = osmolalidade.

EQUIPAMENTO

Existem vários tipos de osmômetros com diferentes princípios de funcionamento. Assim, os resultados entre estes instrumentos nem sempre são comparáveis.

O equipamento, osmômetro, utilizado para medir a diminuição do ponto de congelamento, comumente consiste de:

- um recipiente adequado para a amostra;
- um sistema de resfriamento para a amostra;
- uma resistência sensível à temperatura, com um dispositivo de medição adequado de corrente ou de diferença de potencial que pode indicar uma diminuição de temperatura ou fornecer diretamente valores de osmolalidade; e
- um sistema para homogeneizar a amostra e/ou induzir a solidificação quando ocorre o super-resfriamento.

MÉTODO

Calibração

Solução referência. Preparar a solução referência utilizando massa cloreto de sódio, previamente dessecado à temperatura de 110 °C por duas horas, em 1 kg de água purificada, conforme descrito na **Tabela 1**. Soluções comercialmente disponíveis para calibração de osmômetros, com osmolalidades iguais ou semelhantes às listadas na **Tabela 1**, podem ser utilizadas.

Calibrar o equipamento de acordo com as instruções do fabricante, utilizando água purificada para determinar o valor zero e pelo menos duas das soluções referência listadas na **Tabela 1**. Confirmar a calibração usando pelo menos uma solução referência adicional com uma osmolalidade conhecida (consulte a **Tabela 1**). Para essa confirmação, selecionar uma solução referência com uma osmolalidade, preferencialmente, dentro de ± 50 mosmol/kg do valor esperado para a solução a ser examinada ou próxima ao centro da faixa de osmolalidade esperada para as soluções a serem examinadas. Recomenda-se que a leitura obtida da solução referência escolhida esteja dentro de ± 4 mosmol/kg da osmolalidade prevista.

Tabela 1 - Informações para preparar-se a solução de referência para a calibração do Osmômetro.

Cloreto de sódio em água (g/kg)	Osmolalidade ξ_m (mosmol/kg)	Diminuição do ponto de congelamento ΔT_c (°C)
3,087	100	0,186
6,260	200	0,372
9,463	300	0,558
12,684	400	0,744
15,916	500	0,930
19,147	600	1,116
22,380	700	1,302

Procedimento

Programar o equipamento para iniciar a solidificação a partir de uma temperatura definida abaixo do ponto de congelamento esperado para a solução a ser examinada. Enxaguar o recipiente que receberá a amostra com a solução a ser examinada antes de cada medição. Introduzir um volume apropriado da solução a ser examinada no recipiente e inicie o procedimento de resfriamento de acordo com as instruções do fabricante. O equipamento, normalmente, indica quando o equilíbrio for alcançado.

Realizar o teste sob as mesmas condições (temperatura de resfriamento e volume) usadas para calibrar o equipamento. Dependendo do tipo de equipamento, a osmolalidade pode ser lida diretamente ou calculada a partir da diminuição do ponto de congelamento medida.

O teste é considerado válido somente se a osmolalidade medida da solução a ser examinada estiver dentro da faixa de osmolalidade calibrada.