



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“ELABORACIÓN DE MATERIAL DIDÁCTICO IMPRESO, EN
QUÍMICA ANALÍTICA”**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

P R E S E N T A:

OSCAR VILLASEÑOR OLIVARES

ASESOR: Q.F.B. ELIA GRANADOS ENRIQUEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX. 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ASUNTO: **VOTOS APROBATORIOS**

**DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**



**ATN:L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Elaboración de material didáctico impreso, en química analítica.

Que presenta el pasante Oscar Villaseñor Olivares

Con número de cuenta: 09110174-9 para obtener el título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

Cuautitlan Izcalli, Mex. a 4 de Marzo de 2011

| | |
|---------------------|--------------------------------------|
| PRESIDENTE | <u>QFB. Delia Reyes Jaramillo</u> |
| VOCAL | <u>QFB. Elia Granados Enríquez</u> |
| SECRETARIO | <u>Q. Sonia Rincón Arce</u> |
| 1er SUPLENTE | <u>Dra. Adriana Morales Pérez</u> |
| 2º SUPLENTE | <u>Dr. Julio César Botello Pozos</u> |

Delia Reyes J.
[Firma]
[Firma]
[Firma]
[Firma]

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por que a pesar de todo hizo que en mi predominara la paciencia dando lugar a la sabiduría para concluir otra etapa de mi vida.

A mis padres:

Por ayudarme a enfrentar todos los obstáculos que la vida nos presenta, por su dedicación y sacrificios durante mi formación, por enseñarme la fortaleza y la entereza para fijar todos mis objetivos siendo siempre humilde.

A mis hermanos:

Omar y Sandra por su apoyo y comprensión, aunque sin muchas palabras siempre se que cuento con ellos. Gracias por ser mis mejores amigos de toda la vida es por eso que los quiero.

A mis amigas:

Hilda, Ana Iris, Erika Tinoco, Lucia, Olga y dulce la chepina por regalarme esos momentos en los que necesitaba de su apoyo. Además de una mención para Yolanda y Liz que a pesar de no haber convivido mucho tiempo con ustedes se les estima.

A mis amigos de generación diversos:

Que pasamos momentos de diversión, tristeza, alegría, orgullo y sobretodo de lealtad y sobre todo alas Karpas de la generación 32 de QFB por haberme aceptado en su círculo como uno más de sus compañeros. Así como a los bibliotecarios Oscar, Gerardo, que me ayudan y brindan su amistad.

A mis tíos:

Ezequiel y Antolín por brindarme su confianza, atención y apoyo en todo momento, ya saben que a ellos los considero como unos segundos padres; gracias por su apoyo y perseverancia que inculcaron en mi.

A mi abuelita:

Reina gracias por su comprensión, apoyo y formación que me inculco con valores de humildad desde la niñez.

A mi Amigo:

Gerardo Leyva por regalarme esos momentos de apoyo y ayuda cuando en verdad necesitaba un apoyo moral y el estuvo en esos momentos difíciles de mi vida, por eso primero dios nuestra amistad perdurara.

A mis profesores:

Sonia Rincón Arce, Enrique Ramos López, Elia Granados Enríquez, Martha Angélica Villegas González, Gerardo Cruz entre otros muchos que estoy omitiendo, que compartieron sus conocimientos con la intención de crear excelentes QFB's, por ahora brindarme su amistad y apoyo cuando los necesitaba no tengo otra palabra que decir que gracias.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÈXICO

Por demostrar una vez más que es la máxima casa de estudios de México y de Iberoamérica.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Que me prestó cada una de sus aulas para formarme como profesionista y persona. Por brindarme todas las facilidades y por que será siempre “mi escuela” .

A MI ASESORA

Q.F.B Elia Granados Enríquez (que siempre conté con ella para asesorarme y prestarme su atención demostrando su excelencia académica).

A LOS SINODALES

QFB. Delia Reyes Jaramillo, QFB. Elia Granados Enríquez, Q. Sonia Rincón Arce, Dra. Adriana Morales Pérez, Dr. Julio César Botello Pozos.

A todas las personas que conocí y confiaron en mí

ÍNDICE

| | páginas |
|--|---------|
| Presentación | 5 |
| Objetivo de trabajo y objetivos particulares..... | 6 |
| Objetivo general de la asignatura..... | 7 |
| Plan de trabajo (Calendarización)..... | 8 |
| Sistema de evaluación..... | 9 |
| Diseño experimental..... | 10 |
| Tratamiento de resultados..... | 11 |
| Reglamento..... | 12 |
| Protección personal y prevención de accidente..... | 14 |
| <u>PRÁCTICAS</u> | |
| ❖ ACTIVIDADES PARA LA SEMANA No. 1 Y 2 | 16 |
| ❖ PRACTICA1.- ESPECTROFOTOMETRÌA | 17 |
| DETERMINACION DE AZUL TIMOL POR LA TÉCNICA ESPECTROFOTOMETRICA UV/VIS | |
| ❖ PRACTICA 2.- ESPECTROFOTOMETRÌA | 25 |
| DETERMINACIÒN DE GLUCOSA EN SUERO POR ESPECTROFOTOMETRIA UV/VIS | |
| ❖ PRÁCTICA 3.- ABSORCIÒN ATÒMICA | 37 |
| DETERMINACIÒN DE Cu(II) EN JARABE POR LA TÉCNICA DE ABSORCIÒN ATÒMICA | |
| Ejercicios de Repaso 1 | 44 |
| ❖ PRACTICA 4.- CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS | 45 |
| DETERMINACIÒN DE ÀCIDO ÒRICO EN ORINA POR CROMATOGRAFIA DE LÍQUIDOS. | |
| ❖ PRACTICA 5.- ELECTROFORESIS CAPILAR | 63 |
| DETERMINACIÒN DE CAFEINA Y ASPIRINA EN CAFIASPIRINA POR ELECTROFORESIS CAPILAR | |
| ❖ PRACTICA 6.- POTENCIOMETRÌA | 72 |
| DETERMINACIÒN POTENCIOMETRICA DE Fe(II) EN GOTAS PEDIÁTRICAS(O EN JARABE) | |
| Ejercicios de Repaso 2 | 78 |
| ❖ PRACTICA DE DISEÑO (LIBRE) | 79 |
| Teléfonos de emergencia..... | 81 |
| Peligros de Reactivos Químicos..... | 82 |
| Aspectos Teóricos (apéndice) | 92 |
| Fichas de seguridad..... | 93 |
| Cromatografía Líquida de Alta Resolución..... | 97 |
| Cromatografía de Gases..... | 105 |
| Espectrofotometría Visible..... | 109 |
| Espectrofotometría Atómica..... | 118 |
| <i>Electroforesis Capilar</i> | 127 |
| <i>Potenciometría</i> | 133 |
| <i>Conclusiones</i> | 139 |

PRESENTACIÓN

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS DEL CURSO

Con la amplia gama de técnicas instrumentales de análisis con las que se cuenta en la actualidad y a su incesante desarrollo, el dominio de todos ellos es difícil de abordar en su totalidad en un curso de licenciatura, por lo tanto es necesario adquirir conocimiento de una manera general, que nos permita interpretar y manejar cualquiera de ellos y así poder efectuar la interpretación y manejo de la información obtenida.

Si buscamos algún punto en común entre la gran variedad de técnicas instrumentadas de análisis químico, tendríamos que reconocer que todas ellas se basan en una relación que existe entre la propiedad (absorbancia, índice de refracción, pH, área de pico, potencial, conductancia, intensidad de corriente, etc.) con la composición del sistema (análisis cualitativo) o bien la cantidad de alguno de sus componentes (análisis cuantitativo). Generalmente algunas de las técnicas se utilizan básicamente para el análisis cualitativo, otras más en el análisis cuantitativo y un buen grupo de ellas es capaz de cumplir con ambas funciones.

La propiedad a la que se a hecho referencia, no es solamente afectada por la composición del sistema si no también por variables como temperatura, presión, tiempo, perturbaciones ocasionadas al realizar la medida, presencia de sustancias químicas interferentes, etc.; es por esta razón que si se desea estudiar la relación entre la propiedad y la composición es necesario ejercer un control efectivo sobre las demás variables que además de la composición afectan la propiedad, todo esto a fin de obtener información útil desde el punto de vista analítico.

Desde un enfoque netamente analítico, solo interesara la relación que se establece entre la composición – propiedad, y de manera más particular aun, se relacionará la concentración (variable independiente) con la propiedad (variable dependiente) cuando se pretenda realizar análisis cuantitativo y se asume que las demás variables están controladas. Este tipo de análisis es tratado preferentemente durante este curso. Partiendo entonces de lo anterior, la información obtenida en un análisis cuantitativo dado, podrá ser tratada por el método seguido, haciendo uso en este curso de los tipos de metodología instrumentadas más comunes como son: Curvas de calibración, curvas de adiciones patrón, curvas de valoración y método del estándar Interno (Factor – Respuesta).

La química analítica apoya actualmente a una serie de actividades tan diversas y de gran importancia humana como (análisis químicos clínicos), económica (control de calidad industrial), ecológica (análisis de contaminantes), etc.; en el cual el químico clínico abarca dentro su currículo profesional.

OBJETIVO DEL TRABAJO :

Desarrollar un manual de prácticas para la asignatura de química analítica instrumental de la carrera de bioquímica diagnóstica (BQD) a fin de atender a la población estudiantil que cursa la asignatura en la facultad de estudios superiores cuautitlán (FES-UNAM) ya que su plan de estudios es nuevo.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Presentar al alumno las técnicas instrumentales, para su uso y aplicación en el procesamiento de muestras y, desempeño dentro del laboratorio para habilitarlo en el manejo de esta instrumentación.
- Enseñar al alumno a identificar y reconocer las diferentes partes de los equipos instrumentales utilizando los esquemas y fotografías que se presentan.
- Presentar al alumno los principios básicos de las técnicas instrumentales y su aplicación mediante las introducciones y los aspectos teóricos para que pueda realizar el tratamiento de datos obtenidos durante su experimentación.

OBJETIVO GENERAL DE LA ASIGNATURA:

Presentar los fundamentos analíticos de técnicas espectroscópicas UV / VIS, absorción atómica, cromatografía de líquidos de alta resolución, cromatografía de gases, electroforesis capilar y potenciométricas, con base en sus requerimientos instrumentales a fin de que el alumno sea capaz de aplicarlos en la cuantificación de analitos utilizados en medicina legal, área de diagnóstico, control ecológico, biotecnológico para que desarrolle habilidades y actitudes apropiadas en este tipo de mediciones.

OBJETIVO DE LAS PRÁCTICAS: Reafirmar los conocimientos teóricos ¿en la aplicación de las metodologías? empleando un equipo instrumental para identificar y cuantificar un analito en una muestra de interés en su área (bioquímica diagnóstica).

- 1) Conocer e identificar las partes básicas del equipo utilizado para aplicar el manejo adecuado a fin de obtener resultados confiables.
- 2) Conocer la información que el equipo genera y su uso para análisis cuantitativo.
- 3) Interpretar y relacionar variables a utilizar para efectuar el cálculo de contenido de un analito en una muestra real.

PROYECTOS DE DISEÑO: Proponer un diseño experimental fundamentado química e instrumentalmente para cuantificar un analito de interés en su área:

- 1) Estructurar y justificar un diseño experimental en base a reacciones conocidas de uso común en química.
- 2) Consultar la metodología propuesta con el asesor con la finalidad de mejorarlo.
- 3) Aplicar el diseño para la cuantificación de una muestra real.
- 4) Contrastar los resultados con el diseño propuesto a fin de identificar fuentes de error tanto de diseño teórico como experimental.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS
SECCIÓN DE QUÍMICA ANALÍTICA**

CALENDARIZACIÓN

CODIGO: FPE-CQ-DEX-01-02; FPE-CQ-DEX-03-02; FPE-CQ-DEX-04-02.

Nº de REVISIÓN: 0

Asignatura: QUÍMICA ANALÍTICA INSTRUMENTAL

Grupo: _____

Carrera: LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

Periodo: _____

| SEMANA ETAPA | ACTIVIDAD | FECHA | OBSERVACIONES (Entrega De productos) |
|-----------------|--|-------|---|
| 1 | Presentación, Manejo de balanza analítica y Aplicación del examen diagnóstico. | | |
| 2 | Preparación de Disoluciones. | | Pedir las formas de etiquetas para disoluciones con el laboratorista. |
| 3 | Práctica No. 1 Determinación de Azul Timol por Espectrofotometría UV/VIS. | | |
| 4 | Práctica No. 2 Determinación de glucosa en sangre por Espectrofotometría UV/VIS. | | Entrega del Informe de Trabajo práctica 1 |
| 5 | Práctica No 3 Determinación de Cu (II) en jarabe por Absorción Atómica. | | Entrega del Informe de Trabajo práctica 2 |
| 6 | Entrega y discusión de los de Ejercicios Unidad I / Primer Examen. | | Entrega del Informe de Trabajo práctica 3 |
| 7 | Práctica No 4 Determinación de ácido úrico en orina por Cromatografía de líquidos. | | |
| 8 | Práctica No. 5 Determinación de cafeína y aspirina en formulaciones por Electroforesis Capilar | | Entrega del Informe de Trabajo práctica 4 |
| 9 | Práctica No 6 Determinación de Fe (II) por Potenciometria Reparto de Diseño por equipos. | | Entrega del Informe de Trabajo práctica 5 |
| 10 | Entrega y discusión de los Ejercicios Unidad 2/ Segundo Examen. | | Entrega del Informe de Trabajo práctica 6 |
| 11 | Revisión de Avances del Formato de Diseño Experimental (FDE) (Y experimentos preliminares). | | |
| 12 | 1ª Sesión práctica de Diseño Experimental. | | Entrega FDE |
| 13 | 2ª Sesión práctica de Diseño Experimental. | | |
| 14 | Presentación oral del Diseño Experimental Tercer Examen. | | Entrega del Informe de Trabajo del Diseño Exp. |
| 15 | Entrega de Promedios finales Aplicación de la encuesta sistema general de calidad (SGC). | | (desocupar gavetas) |

SISTEMA DE EVALUACIÓN PROPUESTO

El sistema de evaluación propuesto para el laboratorio consta de los siguientes aspectos a evaluar.

- 1) Resultados experimentales (RE).** En este apartado se evalúa la calidad de los resultados experimentales, así como su tratamiento.
- 2) Informe de trabajo (IT).** Consiste en evaluar la estructura de un informe de trabajo en cuanto a claridad y presentación.
- 3) Manejo de equipo y material (ME).** En este apartado se asigna una calificación a la destreza adquirida en el manejo del equipo y material de laboratorio.
- 4) Valor de análisis de la muestra (VA).** Consiste en evaluar la consistencia entre los resultados experimentales y el resultado del análisis reportado, con la finalidad de estimar si la información se procesó adecuadamente.
- 5) Cuestionario previo (CP).** Se evalúa una pequeña investigación previa, así como algunos cálculos necesarios en la realización de la práctica.
- 6) Formato del diseño experimental (FD).** Se evalúa si el proyecto se llevará de manera adecuada a la solución del problema planteado, en caso contrario el asesor hará las recomendaciones correspondientes del mismo.
- 7) Examen (EX).** En el curso se proponen tres exámenes, dos escritos y otro oral.

La puntuación recomendada en una escala de 100 puntos como máximo se presenta en la siguiente tabla:

| Tipo de práctica | Aspecto a evaluar | Puntuación Máxima | # de prácticas realizadas | Total de puntos |
|------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|-----------------|
| CONVENCIONAL | ME, RE, VA, IT,CP | 9 | 6 | 54 |
| DISEÑO EXP. | ME, RE, VA, IT,FD | 16 | 1 | 16 |
| EXAMEN | VA, ME, | 10 | 3 | 30 |
| | | | | TOTAL 100 |

DISEÑO EXPERIMENTAL

Una de las actividades más importantes en el laboratorio es el diseño experimental, ya que nos permite poner en claro lo que se va hacer y lo que se espera obtener de una serie de experimentos. Por eso el diseño experimental constituye una de las actividades sobresalientes.

Para poder evaluar adecuadamente el desarrollo de los estudiantes en el diseño de experimentos; se ha elaborado un formato que debe considerarse como una guía para presentarlo a revisión.

El diseño experimental debe contener al menos los siguientes puntos:

- Los objetivos que se persiguen con la experimentación.
- Listado de actividades generales.
- Programa desglosado por cada actividad general (*).
- Distribución equitativa del trabajo para cada integrante del equipo de trabajo.
- Tratamiento de resultados experimentales, mediante un análisis estadístico.
- Bibliografía consultada.

* Se entiende por programa desglosado:

- a) Describir la actividad correspondiente. Por ejemplo 1) Listado del material, equipo y reactivos a utilizar, 2) Preparación de disoluciones y sistemas (si es necesario), 3) Calibración del equipo, etc.
- b) Enunciar hipótesis particulares de cada caso y el estudio preliminar de los fenómenos fisicoquímicos más relevantes que ocurren en esa actividad.
- c) Estimar el tiempo necesario para esa actividad.
- d) Dar medidas de seguridad en cada una de las etapas anteriores (Cuando sea necesario).
- e) Incluir referencias bibliográficas.

El informe de actividades final (después de efectuar la experimentación correspondiente) debe incluir los puntos anteriores así como las curvas del análisis y los cálculos de contenido de sustancia en la muestra.

COMENTARIO FINAL.

Por último, es necesario hacer una recomendación. La naturaleza misma del diseño experimental es dinámica ya que durante su desarrollo se requiere una retroalimentación continua y consciente para afinar los aspectos del diseño que se han contemplado. El hecho de que en esta asignatura se presente una guía para presentarlo a revisión no niega su dinámica intrínseca; esto es, aunque durante su elaboración de su diseño cada estudiante debe retroalimentarse con la información que poco a poco va obteniendo para ir modificando cada aspecto del diseño en forma lógica y armónica, debe plasmarlo en el formato que sea sugerido para que la evaluación de cada uno de los diseños experimentales pueda hacerse en forma más objetiva.

TRATAMIENTO DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

A) La estadística dentro del análisis químico nos lleva al estudio de la variación existente en los resultados experimentales.

Existen diferentes formas de hacer el análisis estadístico de mediciones experimentales, esto mediante curva normal de error o curva de Gauss, aquí los datos experimentales son estrictamente aleatorios y la línea que une estos puntos forman una campana, en donde se aprecian parámetros como **X** (media), **S** (desviación estándar), la media indica la extensión de la distribución expresado que tanto se agrupan los datos alrededor de la media. En cambio una "**S**" más pequeña indica que los datos están cerca de la **X**

Por lo tanto en una técnica experimental en la que tiene **S** pequeña es más confiable que otra con **S** más grande y por tanto hay más dispersión en la distribución.

B) El método de regresión lineal o de mínimos cuadrados se usa para encontrar la mejor línea recta que pase a través de una serie de puntos experimentales en una gráfica, por medio de este método se puede determinar valores que estén más de acuerdo a lo real; como se muestra en la figura 1A.

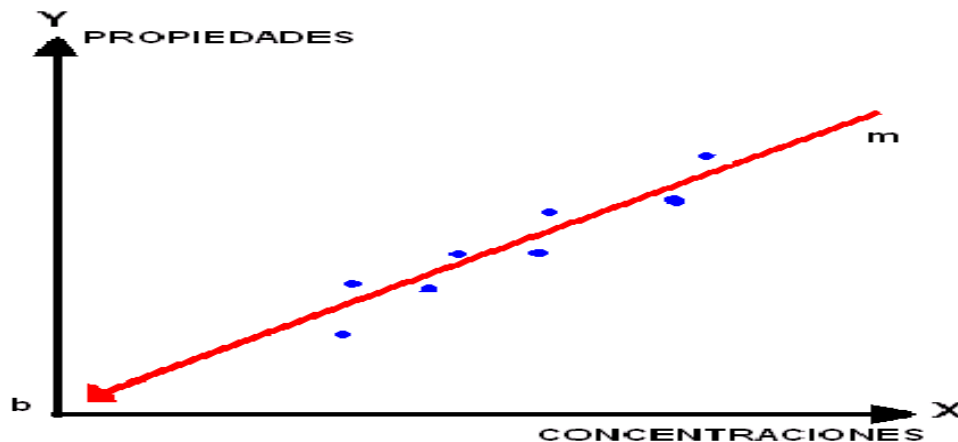


FIG 1A. GRÁFICO DE UNA FUNCIÓN LINEAL EN DONDE SE PUEDE UTILIZAR EL MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS; LA CUAL TIENE LA SIGUIENTE FUNCIÓN $Y = mX + b$.

En donde **m** es la pendiente y **b** es la ordenada al origen de la recta más satisfactoria que representa a casi la totalidad de los datos experimentales. Los procedimientos estadísticos que se utilicen deben dar confiabilidad a los resultados experimentales.



Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Departamento de Ciencias Químicas
Sección de Química Analítica

REGLAMENTO INTERNO DEL LABORATORIO

- 1.-** Es obligatorio el uso de bata y lentes de seguridad; además de guantes apropiados y cubrebocas en las prácticas donde se utilicen fluidos biológicos, en el laboratorio. No se permite quitarse el equipo de seguridad durante la sesión experimental.
- 2.-** Se deberán conservar limpias las instalaciones (en especial campanas de extracción, canaletas y tarjas de las mesas de laboratorio), el material y el equipo de trabajo (incluyendo balanzas analíticas) al inicio y al final de cada sesión experimental.
- 3.-** Antes de iniciar las actividades experimentales se le solicitará al laboratorista el material y equipo necesarios, para ello, una persona responsable del equipo dejará su credencial (de la UNAM) en depósito y firmará un vale por el material y equipo recibidos. En caso de que existiera un defecto en el material o equipo recibido, éste deberá ser anotado en el vale.
- 4.-** En caso de extravío o daño del material o equipo de laboratorio, se extenderá un vale de adeudo con los nombres de todos los integrantes del equipo y quedará retenida la credencial del responsable del daño o extravío del material o equipo hasta su reposición.
- 5.-** Se deberá guardar orden y disciplina dentro del laboratorio y durante la sesión experimental, y queda prohibida la entrada a personas ajenas al mismo.
- 6.-** Queda estrictamente prohibido fumar y consumir alimentos dentro del laboratorio, ya que muchas de las sustancias químicas que se emplean son inflamables y/o tóxicas.
- 7.-** Después de haber manipulado sustancias químicas es necesario lavarse las manos con agua y jabón.
- 8.-** Los desechos resultantes de cada experimento deberán eliminarse adecuadamente, previa consulta de las fichas de seguridad y con el apoyo del asesor.
- 9.-** Cuando un residuo no pueda ser eliminado deberá resguardarse, en un contenedor adecuado y debidamente etiquetado, posteriormente colocarlo en el anaquel destinado para ello.

10.- Al término de la sesión experimental, las disoluciones empleadas deberán regresarse a su lugar de resguardo ubicado en el anaquel.

11.- Para la extracción de líquidos que contengan sustancias químicas, se deberán emplear perillas de hule y nunca succionar con la boca.

12.- Los reactivos químicos no deberán ser manipulados con las manos, debiéndose usar los implementos adecuados como pipetas, espátulas, cucharas, etc.

13.- Si se utilizan mecheros, parrillas o cualquier otro aparato, se deberá estar atento en su manipulación para evitar un accidente.

14.- Es importante que antes de trabajar, el usuario conozca las características de las sustancias químicas que va a utilizar para que puedan ser manipuladas adecuadamente (consultar fichas de seguridad).

15.- En caso de ingestión, derrame o algún accidente dentro del laboratorio este deberá ser notificado al asesor o al laboratorista del grupo, con previa consulta de las fichas de seguridad.

16.- Los reportes de las prácticas y actividades realizadas deberán entregarse en la fecha señalada por el asesor.

17.- Cuando sea asignada, a los alumnos, una gaveta en el laboratorio, y por razones de olvido ó pérdida de la llave, queda prohibido forzarla, deberán hacer la solicitud de apertura al responsable del laboratorio, previa autorización del profesor del grupo en el que están inscritos los alumnos. La gaveta podrá usarse hasta la semana 15 del semestre por lo cual se deberá desocupar en dicha semana.

18.- Los alumnos que adeuden material de laboratorio, deberán reponerlo a la mayor brevedad posible o a más tardar el último día de realización de prácticas, de lo contrario los deudores serán reportados al Departamento de Servicios Escolares y no podrán inscribirse en el siguiente semestre.

19.- El número máximo de alumnos que podrán permanecer en el cuarto de balanzas (L-101-102) será el mismo que el número de balanzas disponibles.

20.- Es responsabilidad del alumno revisar el estado en que recibe el material, ya que al término de la sesión experimental lo debe regresar en buenas condiciones y perfectamente limpio.

PROTECCIÓN PERSONAL

CUANDO EMPIECES A TRABAJAR EN EL LABORATORIO: Te indicarán cómo se debe usar el material y los instrumentos que vayas a utilizar. Además, deberás saber dónde se encuentran los extintores, las mantas ignífugas, el botiquín, la ducha, los aparatos lavajos, y las salidas de emergencia.

ANTES DE EMPEZAR UNA REACCIÓN: Deberás conocer la peligrosidad de los reactivos que vayas a usar, así como de los productos que se obtienen de la propia reacción (toxicidad, inflamabilidad, riesgo de explosión, riesgos biológicos) y tomarás las precauciones apropiadas (por ejemplo, trabajar en la campana). En cualquier caso:

| SIEMPRE LLEVARAS PUESTA | NUNCA |
|------------------------------|---------------------------|
| LA BATA | TRABAJARAS SOLO |
| GAFAS DE PROTECCIÓN | LLEVARAS LENTES OSCURAS |
| GUANTES CUANDO SEA NECESARIO | COMERÁS, BEBERÁS ,FUMARAS |

AL TERMINAR UNA REACCIÓN: Tendrás que tratar los residuos para eliminar su peligrosidad o los almacenarás adecuadamente clasificados y etiquetados hasta que se retiren.

AL ABANDONAR EL LABORATORIO: Te asegurarás de que no queda activo ningún foco de peligro: gases, agitadores, calentadores, etc.

EN CADA CASO QUE TE VEAS INVOLUCRADO EN UN ACCIDENTE O UN INCIDENTE: En un accidente o un incidente (cortes, quemaduras, intoxicaciones, incendios, explosiones, etc.) pasarás una nota a la unidad administrativa, detallando lo ocurrido, después de atender la emergencia adecuadamente.

PREVENCIÓN DE ACCIDENTES EN EL TRABAJO CON SUSTANCIAS

- 1) Para la utilización de sustancias corrosivas es indispensable el uso de equipo de protección personal.
- 2) Para la transferencia de líquidos tóxicos o corrosivos se debe realizar con propipetas y pipetas; ya que queda estrictamente prohibido el succionar estos con la boca.
- 3) Nunca se debe verter agua en ácidos concentrados como pueden ser el ácido sulfúrico y ácido nítrico.
- 4) La manipulación de sustancias volátiles se deberá realizar en la campana de extracción.
- 5) Las sustancias que generen peróxidos (tetrahidrofurano, éter, etc.,) se revisaran en tiempos periódicos.

PRÁCTICAS



CROMATOGRAFO DE GASES



ELECTROFORESIS CAPILAR



ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA



CROMATOGRAFO DE LÍQUIDOS



ESPECTROFOTÓMETRO UV/VIS



POTENCIOMETRO

Manual de prácticas de laboratorio de Química Analítica Instrumental para la Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica.

- 1) Los alumnos deben cubrir las prácticas que comprende este manual.
- 2) Los alumnos deben de elaborar una bitácora; la cual debe contener un cuestionario previo con las preguntas que contendrá cada práctica; además debe anotar todos los cálculos realizados, las mediciones (pesadas, preparación de disoluciones, medidas de propiedad, cambios de procedimiento, etc.) y las observaciones de cada práctica.

ACTIVIDADES CONTEMPLADAS PARA LA SEMANA No.1

Las actividades que se realizarán en la primera semana del curso de laboratorio son las siguientes:

- 1º. El profesor expondrá una introducción sobre el curso de laboratorio, explicando las actividades por realizar y la forma de evaluación (ver apartado evaluación).
- 2º. Se incluirán las fechas en las actividades calendarizadas en el manual de prácticas
- 3º. Se le dará formato a la hoja de inscripción.
- 4º. Se les solicitará el siguiente material a los estudiantes, el cual estará bajo su propiedad y retirarán de las gavetas después del curso:

| INDIVIDUAL | POR EQUIPO (2-3 ESTUDIANTES) | POR GRUPO |
|----------------------|---------------------------------|------------------------|
| Bata blanca | Franela | 1 candado con 2 llaves |
| Bitácora | Etiquetas o masking-tape | Servitoallas |
| Marcador indeleble | 1 frasco de plástico de 50.0mL | Detergente líquido |
| Lentes de protección | 8 frascos de plástico de 50mL | |
| Guantes* | 2 frascos de plástico de 250mL | |
| | Perilla de hule | |
| | 2 barras magnéticas medianas | |
| | 1 escobillón | |

* Será indicado por el profesor.

- 5º. Se aplicará y resolverá el examen diagnóstico, al finalizar el profesor explicará con detalle la resolución del mismo.

ACTIVIDADES CONTEMPLADAS PARA LA SEMANA No.2

- 6º. Se revisará el material, los reactivos y el equipo que se utilizarán durante el curso de laboratorio.
- 7º. Los estudiantes realizarán los cálculos necesarios para preparar las disoluciones de la práctica correspondiente; en seguida, propondrán la forma en que deberán de prepararse las disoluciones y, finalmente, las prepararán experimentalmente.
- 8º. El profesor expondrá algunos comentarios sobre los residuos generados en el laboratorio y su manejo.



ESPECTROFOTOMETRO UV/VIS

PRÁCTICA #1

DETERMINACIÓN DE AZUL DE TIMOL POR LA TÉCNICA ESPECTROFOTOMÉTRICA UV/VIS.

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIMENTAL: 3 horas

Tema que cubre del programa: Estudio de la importancia de evaluación estadística a resultados instrumentales.

I OBJETIVOS:

- Efectuar tratamiento estadístico, para obtener resultados confiables en este tipo de análisis instrumental.
- Seleccionar la longitud de onda óptima para la cuantificación de azul de timol en una muestra problema.
- Interpretar y relacionar variables a utilizar para efectuar el cálculo de contenido de azul de timol en una muestra por una curva de calibración.

II INTRODUCCIÓN: Las curvas de calibración implican el uso de instrumentos ópticos y/o electrónicos para las mediciones, no del constituyente como tal, sino de alguna propiedad (absorbancia, potencial, fluorescencia, radiactividad, área de pico, etc.) la cual puede ser atribuida al analito de manera directa o indirecta.

Se preparan diluciones de un reactivo estándar concentrado (stock) de la misma naturaleza del analito a determinar en la muestra, en un intervalo de concentraciones en el que se encuentre la concentración del analito en la muestra o en la(s) dilución (es) de esta. Se colocan en el instrumento de medición y se obtiene una respuesta P para cada dilución del estándar y la muestra.

Los resultados se grafican $P = f$ (concentración de cada dilución del estándar) Debe ser una respuesta lineal y proporcional a la concentración del analito, ya que muchos instrumentos tienen este tipo de respuesta (la inspección gráfica nos dará la seguridad de esto), se efectúa la regresión lineal, para determinar la mejor línea recta que exprese mejor el comportamiento de la misma.

Si no se grafican antes los datos no se tiene la oportunidad de desechar los que son claramente defectuosos (prueba Q) es decir con esta prueba se aprueba o descarta un dato que parece incongruente respecto a los demás. Los resultados de un gran número de mediciones experimentales sigue una distribución gaussiana cuando los errores sean puramente aleatorios obedece a un comportamiento de la desviación estándar es tanto cuando más grande y más dispersa sea la distribución se refleja esto cuando se obtiene el intervalo de confianza.

Debido a que se utilizará un espectrofotómetro de absorción en la región visible del espectro, los módulos instrumentales se presentan en forma esquemática en la figura 1B:

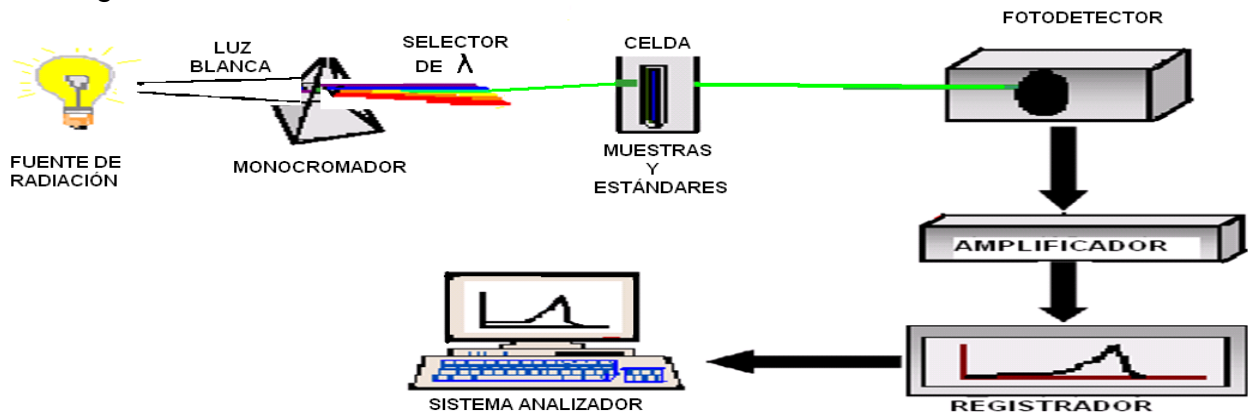


FIG 1B. ESQUEMA DE LAS PARTES DE UN ESPECTROFOTÓMETRO UV/VIS.

III. CUESTIONARIO PREVIO.

- 1.- Defina los siguientes términos: (5 puntos)
 - a) Regresión Lineal.
 - b) Distribución Gaussiana.
 - c) Desviación estándar.
 - d) Intervalo de Confianza.

- 2.- En que consiste la prueba Q y sus limitaciones. (1puntos)

- 3.- Para que se emplea el método de mínimos cuadrados. (1punto)

- 4.-En un ensayo se encontró que el contenido de ATP de cierto tipo de célula en ensayos repetidos son: 116.0, 97.9, 114.2, 106.8, 108.3, calcular la media, desviación estándar, intervalo de confianza al 90% y aplique la prueba Q para decidir si 97.9 debe descartarse. (3puntos)

IV. PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL POR EQUIPO

REACTIVOS

3 MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 10 mL.



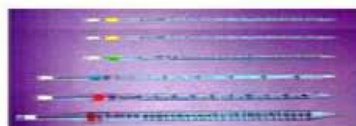
2 MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 100 mL.



1 MATRAZ VOLUMÉTRICO DE 50 mL.



1 PIPETA VOLUMÉTRICA DE 1,2,3,4,5 Y 10 mL.



20 TUBOS DE ENSAYE CON GRADILLA



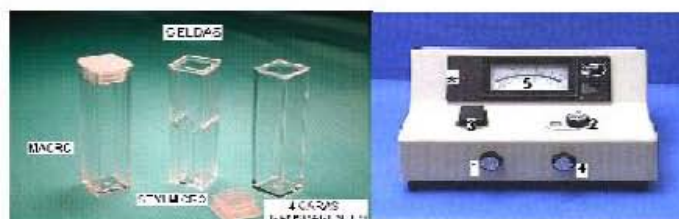
3 VASOS DE PRECIPITADO DE 50 mL.



PISETA, ESPÁTULA



CELDA ESPECTROFOTOMÉTRICA Y ESPECTROFOTOMETRO



AGUA DESTILADA.



NaOH REACTIVO ANALÍTICO.



ESTÁNDAR DE AZUL DE TIMOL



V.- PROCEDIMIENTO.

Anotar los datos de las cantidades exactas pesadas en libreta (bitácora de trabajo).

A) PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES.



PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

1) DISOLUCIÓN DE NaOH 0.1 MOLAR (M).



PESAR 0.5 g DE REACTIVO ANALÍTICO



AFORAR A 100 mL (POR EQUIPO)

2) DISOLUCIÓN ESTÁNDAR



PESAR 20 mg DEL ESTÁNDAR DE AZUL DE TIMOL



AFORAR A 100 mL CON AGUA DESTILADA (DISOLUCIÓN 1) POR GRUPO.



TOMAR UNA ALÍCUOTA DE 16 mL Y AFORAR A 100 mL. DISOLUCIÓN ESTÁNDAR 0.032 mg / mL.

3) DISOLUCIÓN PROBLEMA. AZUL DE TIMOL



El Profe...

SE PROPORCIONARÁ POR EL PROFESOR. EFECTUANDO LAS DILUCIONES PERTINENTES PARA, EN BASE A LA INTENSIDAD DE COLOR DE LOS ESTÁNDARES, PUEDA DAR LECTURA A LA CUAL PUEDA SER INTERPOLADA EN LA CURVA (POR EQUIPO).

B) Se prosigue a realizar el espectro de absorción para determinar la longitud de onda óptima. Calibración y medición de Absorbancia y % Transmitancia



→ Seleccionar la λ
De 500 a 650 nm →



Calibrar el espectrofotómetro de acuerdo al instructivo y las indicaciones del profesor

Comenzar con las lecturas de los sistemas, empezando con el más diluido al más concentrado, Registrar A y con el sistema anterior

Registrar los datos de Abs y %T ←

Nota : para cada cambio de λ se debe calibrar el equipo

RESULTADOS.

Tabla 1: Espectro de Absorción

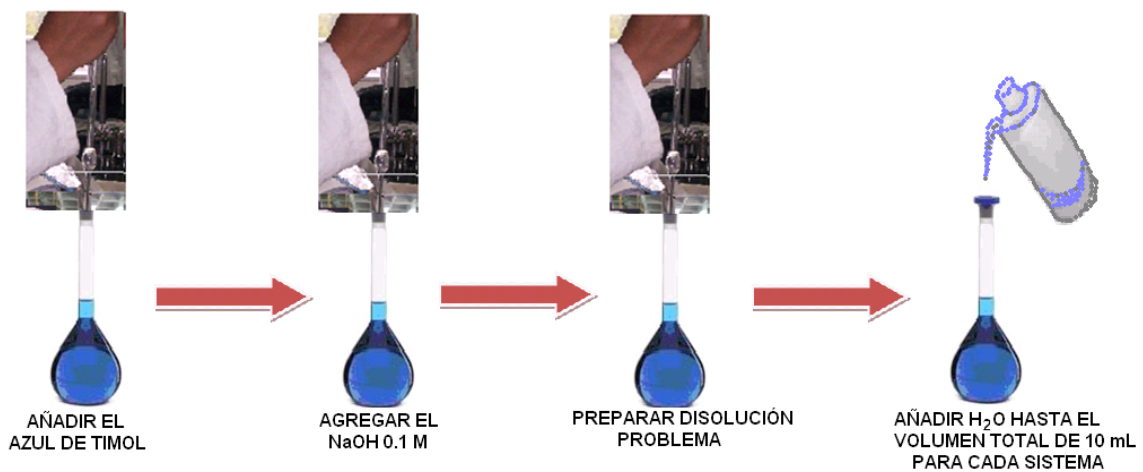
| λ /nm | 500 | 520 | 540 | 560 | 580 | 600 | 620 | 640 | 660 |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | | | | | | | | | |
| %T | | | | | | | | | |



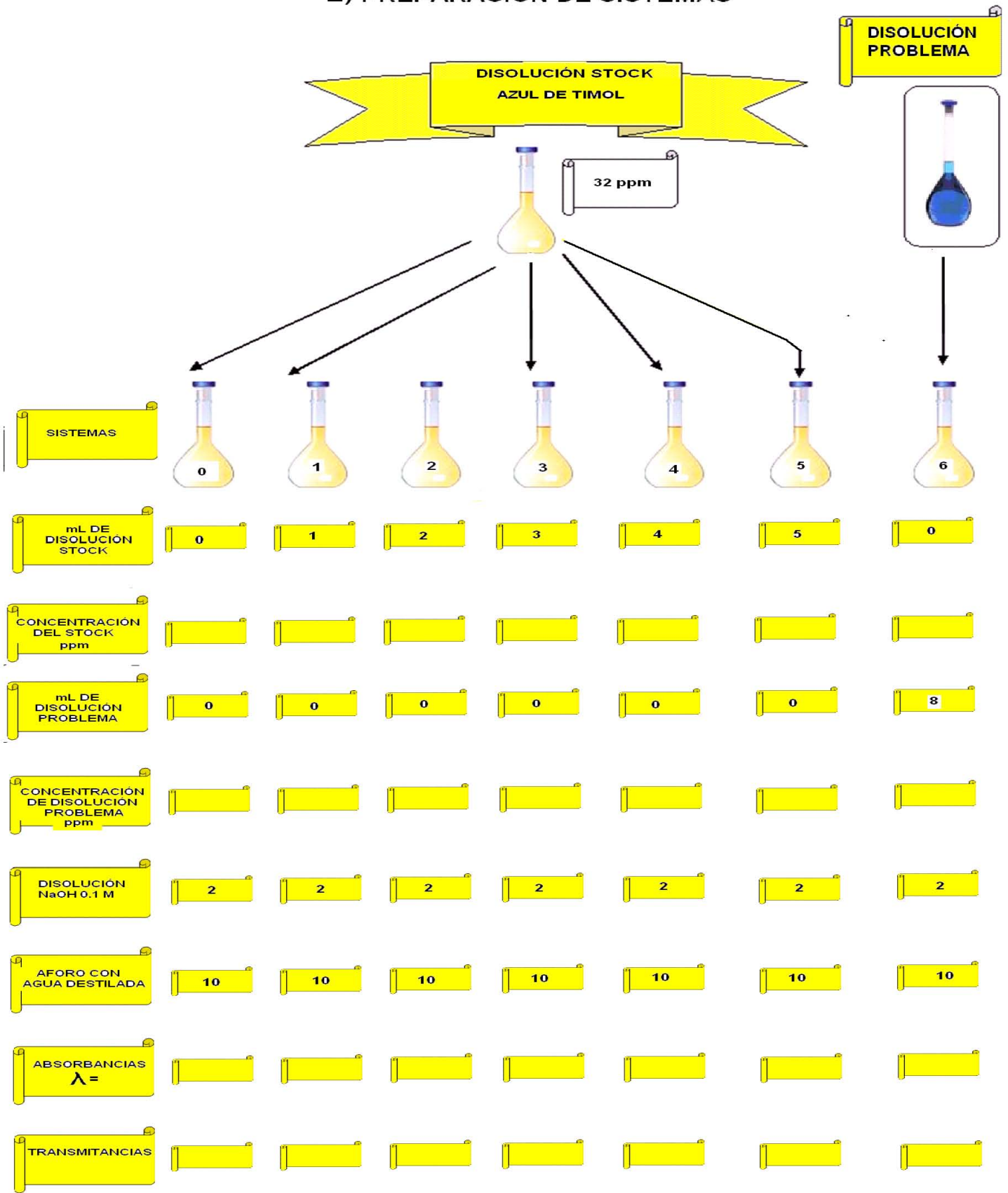
C) Medición de la Absorbancia: Posteriormente se leen 5 sistemas con la lectura óptima del espectro de absorción; esto se realiza por triplicado para realizar los tratamientos estadísticos. Tomar lectura de cada uno de los sistemas preparados, iniciando con el sistema más diluido al más concentrado, enjuagando la celda de lectura con el sistema siguiente (más concentrado) a la λ óptima obtenida.

| M_{AT} | A_1 | A_2 | A_3 | A_4 | A_5 | A_X | STD | % RSD |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

D) Preparación de los sistemas para la curva de calibración.



E) PREPARACIÓN DE SISTEMAS



NOTA: SE PREPARAN 4 VECES CADA SISTEMA.PARA REALIZAR LA ESTADÍSTICA REQUERIDA.LEYENDO A LA LONGITUD DE ONDA (λ) PREVIAMENTE OBTENIDA.

Para el caso de los sistemas 1, 2, 3,4 y 5 de los estándares (sistemas para la curva de calibración); para el caso único del sistema 6 (muestra problema de azul de timol).

TABLA 2.- CURVA DE CALIBRACIÓN.

| CONCENTRACIÓN (mg/ml) DE AZUL DE TIMOL | ABSORBANCIA PROMEDIO |
|--|----------------------|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

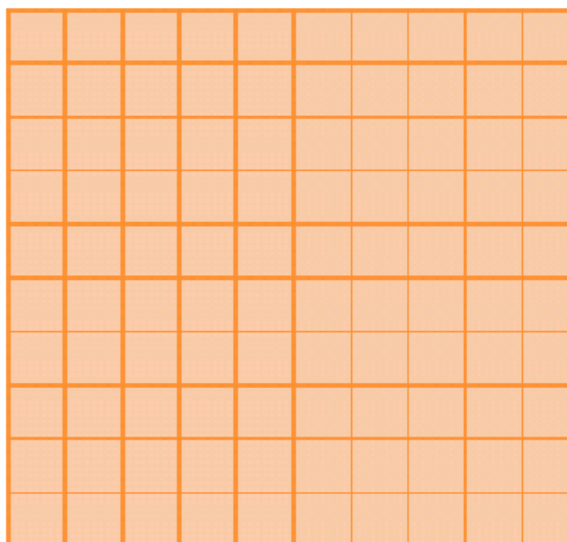


GRAFICO 2: DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

TABLA 3.- CURVA DE CALIBRACIÓN.

| CONCENTRACIÓN (M) DE AZUL DE TIMOL | ABSORBANCIA PROMEDIO |
|--------------------------------------|----------------------|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |



GRAFICO3: DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

VI. INFORME DE TRABAJO.
PUNTOS MÍNIMOS QUE DEBE CONTENER.

El informe de trabajo debe incluir: objetivos particulares, introducción, procedimiento experimental (diagrama de flujo, dibujos, etc.), resultados experimentales, análisis de resultados, observaciones, conclusiones y referencias bibliográficas.

Formato (2puntos)

Incluir los siguientes aspectos para el análisis de resultados:

- a) Calcular los parámetros estadísticos como: Media, desviación estándar(STD),
- b) % C.V. (STDR) intervalo de confianza para cada punto de la curva (3puntos)

- c) Trazar el gráfico $A = f(\lambda)$ espectro de absorción (1 punto)
Y Estimar el valor de la constante de proporcionalidad.
Graficar las Curvas: $A = f$ [molar (M) de azul timol] y
 $A = f$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$ de azul timol). (1punto)

- d) Analizar la linealidad de la función que sigue la respuesta gráfica, (1punto)

- e) Calcular la concentración M y mg/ml de azul timol (2puntos)

- f) Conclusiones.

DATOS:

Peso Molecular de azul de timol = 466.6 g/mol

pKa(s) del azul de timol = 2.0 , 8.7 (rojo, amarillo, azul)



ESPECTROFOTOMETRO UV/VIS

PRÁCTICA #2

DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SUERO SANGUÍNEO POR LA TÉCNICA ESPECTROFOTOMÉTRICA UV/VIS

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIMENTAL: 3 horas

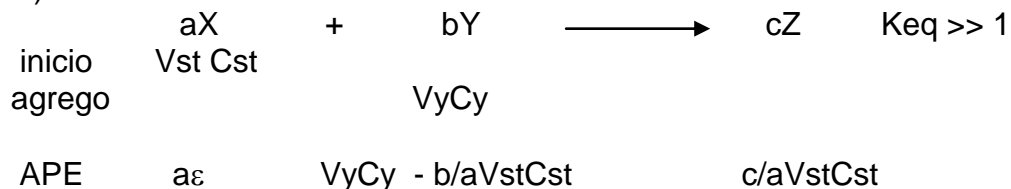
Tema que cubre del programa: Estudio de interpretación y cuantificación por técnicas espectrofotométricas UV/VIS.

I.-OBJETIVOS.

- Determinar glucosa en una muestra de suero sanguíneo mediante una curva de calibración indirecta para su cuantificación y así comparar con los valores de referencia normales.
- Evaluar la influencia de la longitud de onda, para seleccionar condiciones instrumentales óptimas de cuantificación.
- Reconocer la influencia de las condiciones químicas (pH en un análisis instrumental y el efecto en la propiedad medida).

II.-INTRODUCCIÓN.

Los principios de preparación y trazo de una curva de calibración ya fueron estudiados en la práctica anterior, donde se considera que la respuesta del instrumento es lineal respecto a la concentración de la sustancia a cuantificar, sin embargo debe considerarse que si la curva es indirecta existe una o varias reacciones efectuadas en los sistemas de preparación, dado que la sustancia de interés da señal muy pobre o no da señal, este reactivo que genera la reacción debe encontrarse en exceso, considerando el estado de equilibrio siguiente (caso general) :



En el caso de que Z (el producto) de la señal, el modelo matemático que describe la respuesta gráfica es : $P = K_z [Z]$ y considerando el estado de equilibrio anterior entonces $[Z] = c/aVstCst / Vaforo$, donde la función sería:

$$P = K_z [c/aVstCst / Vaforo]$$

a,b,c representan los coeficientes estequiométricos de la reacción V_{st} , V_y , V_{aforo} , representan los volúmenes respectivamente de los reactivos utilizados al preparar los sistemas del estándar, reactivo Y y el aforo utilizado. C_{st} , C_y representan las concentraciones molares del estándar (stock) y la concentración del reactivo Y agregado para generar la reacción. Se puede entonces graficar $P = f(V_{st} C_{st} / V_{aforo})$, obteniéndose una función de pendiente igual a K_{zc}/a y ordenada de origen cercano a cero. En esta práctica se propone la cuantificación indirecta de glucosa en plasma, formando una especie colorida que absorbe a una λ característica.

La glucosa se determina habitualmente en un análisis de sangre (glucemia) o en un análisis de orina (glucosuria). La glucosa es la principal fuente de energía para el metabolismo celular. Se obtiene fundamentalmente a través de la alimentación, y se almacena principalmente en el hígado, el cual tiene un papel primordial en el mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre (glucemia). Para que esos niveles se mantengan y el almacenamiento en el hígado sea adecuado, se precisa la ayuda de la insulina, sustancia producida por el páncreas. Cuando la insulina es insuficiente, la glucosa se acumula en sangre, y si esta situación se mantiene, da lugar a una serie de complicaciones en distintos órganos. Esta es la razón principal por la que se produce aumento de glucosa en sangre, pero hay otras enfermedades y alteraciones que también la provocan. Por tanto, la determinación de glucosa en sangre (glucemia) es útil para el diagnóstico de numerosas enfermedades metabólicas.

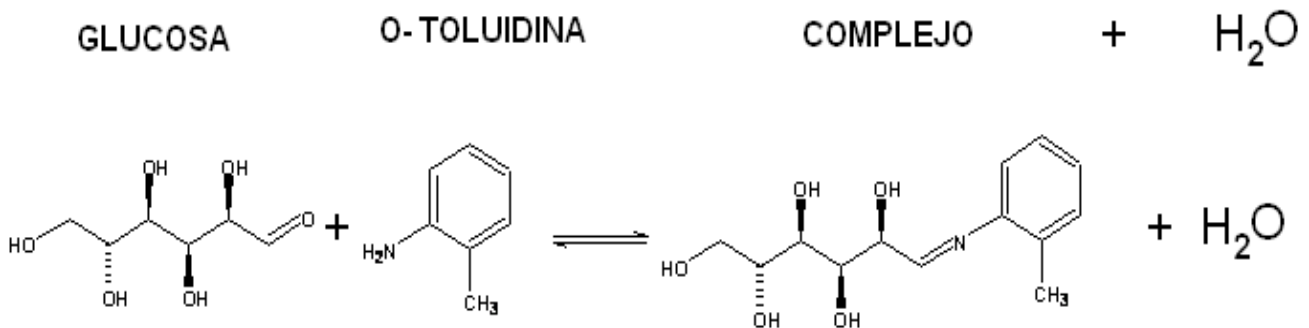
La determinación de los niveles de glucosa en plasma o suero sanguíneo y en líquidos corporales (orina, líquido cefalorraquídeo, ascítico, pleural, etc.) constituye una medición de primera línea para explorar las alteraciones del metabolismo en carbohidratos, enfermedades muy frecuentes en nuestro país y en el mundo.

Valores normales

suero o plasma: 70 a 100mg de glucosa/100ml.

Fundamento:

La orto-toluidina es una amina aromática primaria que en ácido acético reacciona con las aldohexosas para formar un complejo verde azulado.



III.-CUESTIONARIO PREVIO.

- 1) Describir el proceso de absorción y relacionar a la ley de Beer. (2puntos)

- 2) Dibujar un esquema de un espectrofotómetro indicando cada una de sus partes. (1punto)

- 3)¿Qué es un espectro de absorción y como se obtiene? (1punto)

- 4) Proponer la reacción que se efectuarán en la parte experimental. (1punto)

- 5) Con base en una tabla de variación de cantidades molares, en la reacción proponer la función $A = f(C)$, que se obtendrá, sabiendo que el complejo glucosa –o – toluidina es la especie absorbente. En presencia de tiourea en medio ácido. (3puntos)

- 6) Efectuar los cálculos necesarios para prepara las disoluciones de trabajo, considerando los reactivos con que se cuentan en el laboratorio. (2puntos)

MATERIALES

(por equipo de trabajo)

BALANZA ANALÍTICA



VACUTAINER
CON AGUJA



ESPÁTULA



TUBO PARA VACÍO
ROJO



VASO DE PRECIPITADOS
DE
50 mL



TORUNDAS DE
ALGODÓN



VARILLA DE VIDRIO



CENTRIFUGA



PIPETAS
VOLUMÉTRICAS DE
1,2,3,4,5,6,7,8,9,10.



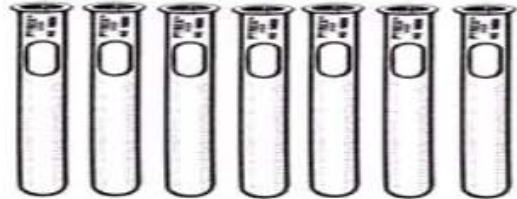
1 VASO DE
PRECIPITADOS
DE 250 mL



MATRACES
VOLUMÉTRICOS



7 TUBOS DE
ENSAYE



PISETA CON AGUA
DESTILADA



7 MATRACES
AFORADOS
DE 10 mL



LIGADURA



3 PIPETAS
VOLUMÉTRICAS
DE 1mL



1 GRADILLA



REACTIVOS

O-TOLUIDINA



ÁCIDO ACÉTICO
GLACIAL



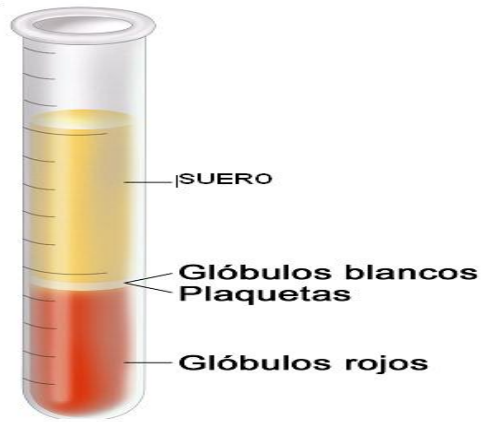
TIOUREA



AGUA DESTILADA

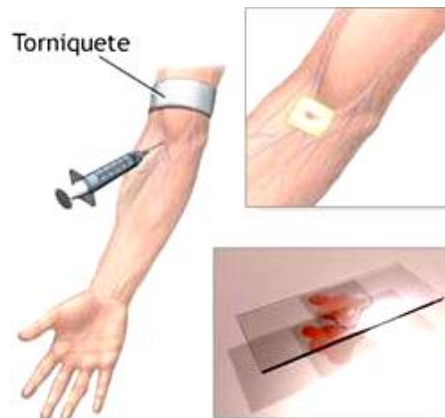


DISOLUCIÓN TOCK DE
GLUCOSA



MUESTRA BIOLÓGICA

V.-PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.



OBTENCIÓN DE SUERO

La muestra de sangre obtenida con tubo al vacío con tapón rojo se coloca en forma inclinada (mayor superficie de contacto) en el baño de incubación a 37° durante 10 minutos.

El coágulo se separa ligeramente de las paredes con un aplicador de madera, y se centrifuga a 2500rpm /5-10 min. El tubo se retira de la centrifuga y se separa el suero con una pipeta Pasteur vaciándolo en otro tubo de ensayo.

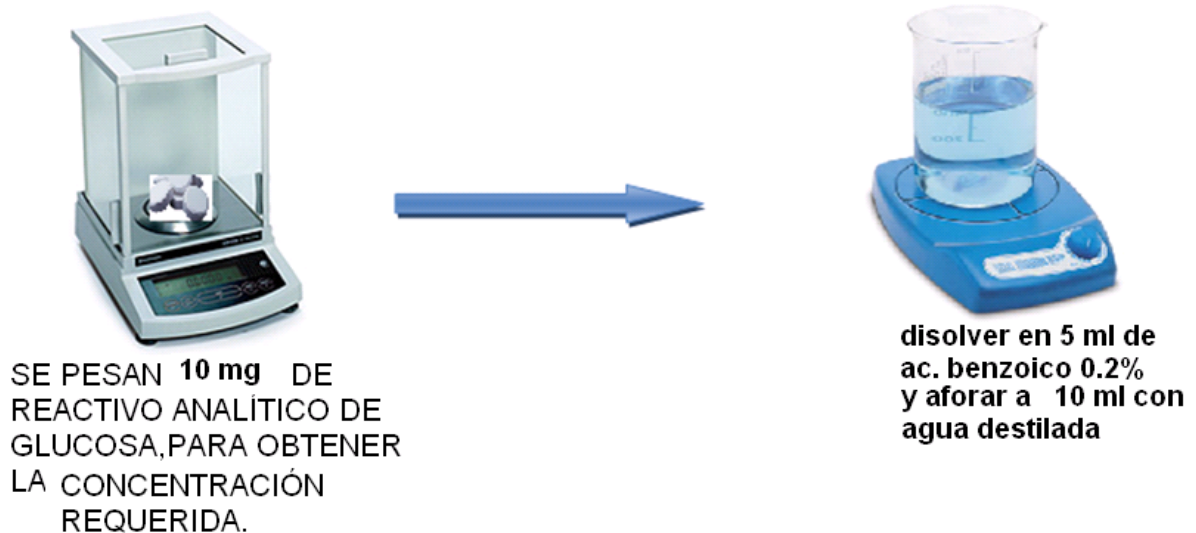
OBTENCIÓN DEL SUERO



PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

1.-DISOLUCIÓN ESTÁNDAR DE GLUCOSA: Pesar 10 mg de glucosa estándar y disolver en 5ml de disolución de ácido benzoico 0.2% y aforar a 10 ml.

1) DISOLUCIÓN STOCK DE GLUCOSA (ESTÁNDAR)



2) PREPARACIÓN DE TIUREA EN ÁCIDO ACÉTICO: Pesar 0.15 g de tiourea y adicionar a 94 ml de ácido acético glacial y agregar 6 ml de orto-toluidina (manipular en la campana extractora para no inhalar vapores tóxicos).

A) Determinación de la longitud de onda óptima (λ) realizando un espectro de absorción, con el sistema más concentrado sistema 6.

1. Girar el botón 2 para posicionarlo en una longitud de onda de 550 nm.
2. Como se muestra en la imagen el espectrofotómetro se calibra de la siguiente manera: El botón 1 se gira para calibrar con aire a cero de transmitancia.
3. Se introduce en el compartimiento 3 el sistema blanco y se gira el botón 4 a 100 % de transmitancia o cero de absorbancia.
4. Sacar el sistema blanco e introducir al compartimiento 3 el sistema más concentrado.
5. Tomar la lectura en % de transmitancia y absorbancia.
6. Variar la longitud de onda en el equipo de 550 a 750 nm a intervalos de 10 nm y medir las diferentes absorbancias y % de transmitancia del mismo sistema para cada valor de λ .

CALIBRACIÓN Y MEDICIÓN DE ABSORBANCIA Y % TRANSMITANCIA.



CALIBRAR EL ESPECTROFOTÓMETRO DE ACUERDO A LAS INDICACIONES DEL PROFESOR.

SELECCIONAR LA λ DE 550 A 750 nm



COMENZAR CON LAS LECTURAS DE LOS SISTEMAS. EMPEZANDO CON EL MÁS DILUIDO AL MÁS CONCENTRADO. REGISTRAR ABSORBANCIA Y CON EL SISTEMA ANTERIOR.

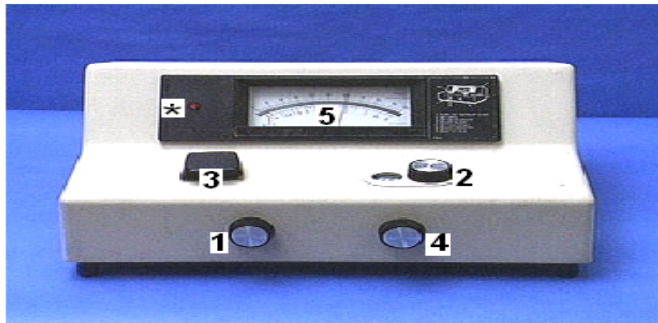


NOTA: PARA CADA DE λ SE DEBE CALIBRAR EL EQUIPO.

REGISTRAR LOS DATOS DE ABSORBANCIA Y % TRANSMITANCIA.

7. Anotar los datos obtenidos en la tabla 1 y gráfica 1.

**ESPECTROFOTOMETRO DE UN HAZ
SPECTRONIC - 20**



NOTA: PARA CADA CAMBIO DE λ SE DEBE CALIBRAR EL EQUIPO CON EL SISTEMA BLANCO.

EL ESPECTROFOTOMETRO ESTA FUNCIONANDO SÓLO SI EL FOCO PILOTO(*) ESTÁ ENCENDIDO.

- | CONTROL | FUNCIÓN |
|---------|--|
| 1 | Encendido y apagado, calibración a 0 % T. |
| 2 | Determina la longitud de onda. |
| 3 | Es el lugar donde se coloca la celda con la disolución. |
| 4 | Sirve para calibrar a 100% T. |
| 5 | Es la pantalla que registra los valores de absorbancia (0 % de transmitancia de las soluciones). |

RESULTADOS.

| λ (longitud de onda) | A | % T |
|------------------------------|---|-----|
| 530 | | |
| 550 | | |
| 570 | | |
| 590 | | |
| 600 | | |
| 610 | | |
| 620 | | |
| 630 | | |
| 640 | | |
| 650 | | |
| 670 | | |
| 690 | | |
| 710 | | |
| 730 | | |

TABLA 1: DIFERENTES ABS Y T DEL MISMO SISTEMA PARA CADA VALOR DE λ .



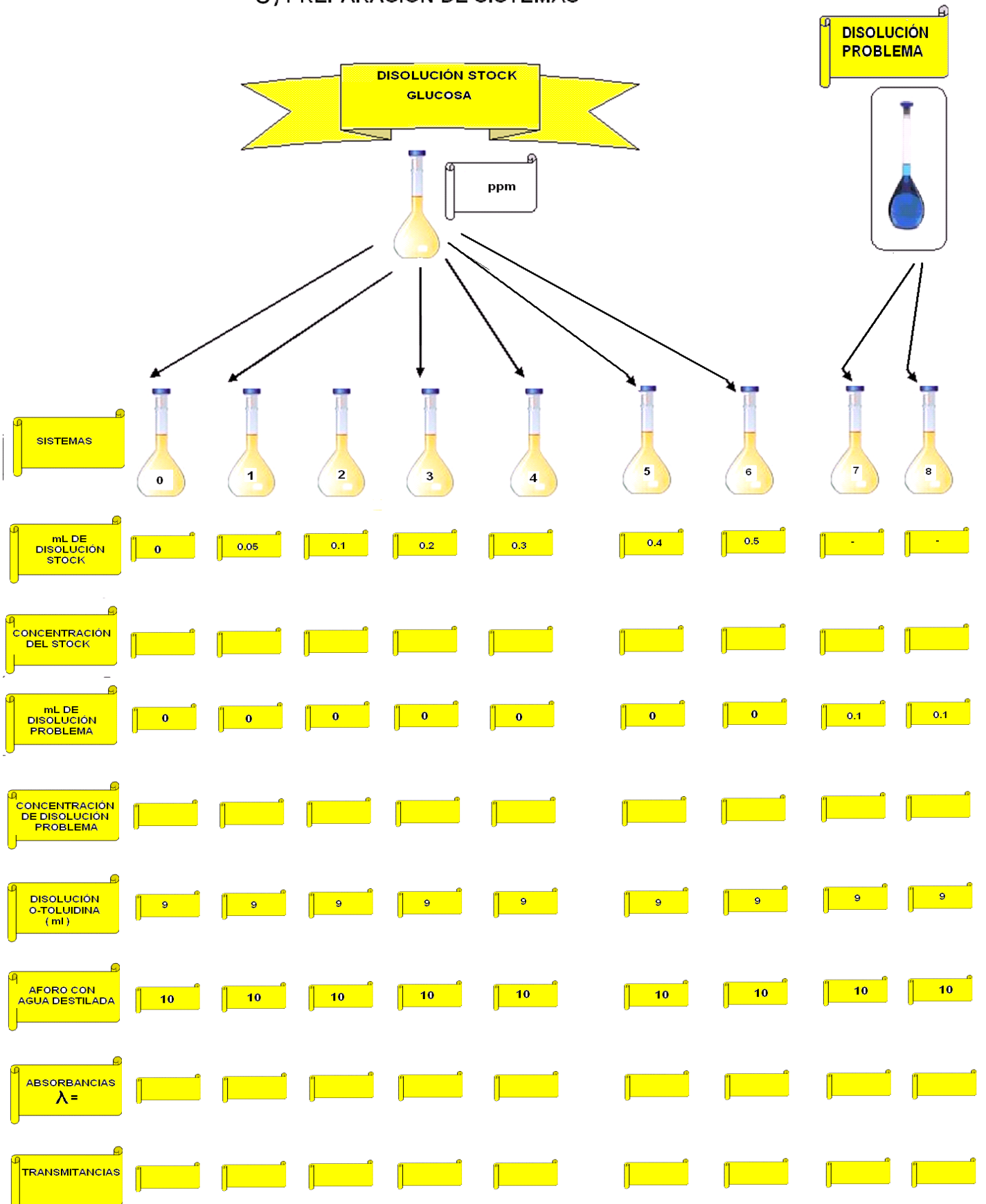
**GRÁFICO 1 : SE GRAFICAN LAS LONGITUDES DE ONDA
CONTRA LAS ABSORBANCIAS.**

B) Medición de la Absorbancia: Posteriormente se leen 6 sistemas con la lectura óptima del espectro de absorción. Tomar lectura de cada uno de los sistemas preparados, iniciando con el sistema más diluido al más concentrado, enjuagando la celda de lectura con el sistema siguiente (más concentrado) a la λ óptima obtenida.

C) Preparación de Sistemas

1. Para construir la curva de calibración se preparan los siguientes sistemas a partir de la solución stock de glucosa.
2. Cada sistema es preparado tomando el volumen indicado en la siguiente tabla y aforando a 10 ml.
3. Transferir a tubos de ensayo.
4. Calentar en baño maría durante 40 minutos.
5. Enfriar rápidamente en agua fría durante 2 minutos.
6. Sacar del agua fría, esperar 5 minutos y leer.
7. Tomar lectura de cada uno de los sistemas preparados, iniciando con el más diluido al más concentrado, enjuagando con el sistema siguiente a la λ óptima.
8. Anotar los resultados en la tabla.

C) PREPARACIÓN DE SISTEMAS

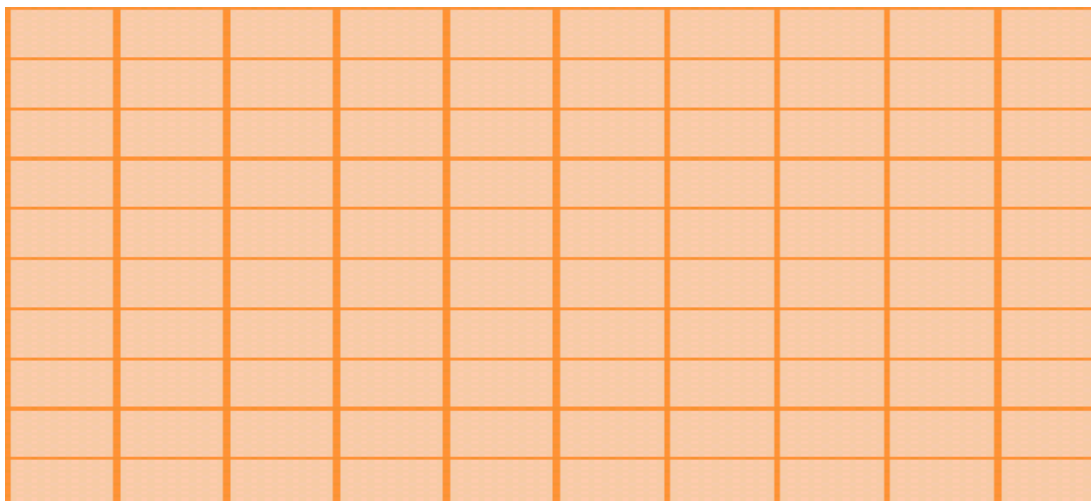


OBTENCIÓN DE LOS DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN

- 1) A la longitud de onda de máxima absorción seleccionada, se calibra.
- 2) Se toman lecturas de % transmitancia y absorbancia de cada uno de los sistemas de la curva(1-6),se introducen cada uno de los sistemas, por separado en el espectrofotómetro.
- 3) Se gráfica.

| Sistema | Concentración (mg/ml) | Concentración (M) | Abs | % T |
|---------|-----------------------|-------------------|-----|-----|
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| 4 | | | | |
| 5 | | | | |
| 6 | | | | |

TABLA 2: Obtención de datos experimentales.



GRÁFICA 2: CURVA DE CALIBRACIÓN INDIRECTA.

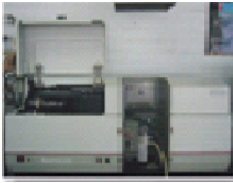
PROCEDIMIENTO DE DESECHO DE REACTIVOS

El restante de reactivos de trabajo guardarse para su posterior uso. Lavarse el material de vidrio utilizado con detergente y abundante agua caliente.

VI: INFORME DE TRABAJO.

Deberá contener como mínimo los siguientes puntos:

- 1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema incluyendo propiedades fisicoquímicas y metabolismo de la glucosa.
- 2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad (puede emplear dibujos). (Describir perfectamente el procedimiento de preparación de la muestra problema).
Formato (2puntos)
- 3.-Explicar que función tiene cada una de las disoluciones usadas. (1.5puntos)
- 4.-Proponer la reacción efectuada y calcular su constante condicional.
(1.5puntos)
- 5.-Graficar. (1punto)
 - a) Espectro de Absorción determinando la longitud de onda de máxima absorción.
 - b) Curva de calibración $A = f(M \text{ de glucosa})$.
- 6.-Analizar la linealidad de la función que sigue la respuesta gráfica, identificando sus términos. (1punto)
- 7.-Calcular el coeficiente de absortividad molar de la especie absorbente.
(1punto)
- 8.-Dar la concentración en mg de glucosa / dl de sangre. (2puntos)
- 9.-Enunciar sus conclusiones y recomendaciones de acuerdo a los objetivos.



PRÁCTICA #3

DETERMINACIÓN DE Cu(II)

EN JARABE (VITAVERAN FÓLICO)

POR LA TÉCNICA DE ABSORCIÓN ÁTOMICA.

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIMENTAL: 3 horas

Tema que cubre del programa: Estudio de interpretación y cuantificación por técnicas espectrofotométricas de absorción atómica

I.-OBJETIVOS:

- Conocer la forma de calibración y manejo del espectrómetro de absorción atómica, para obtener resultados confiables en este tipo de instrumentos.
- Seleccionar las condiciones instrumentales óptimas para la cuantificación de Cu(II) en un jarabe.
- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar adecuadamente el análisis de resultados en una curva de adiciones patrón.

II.-INTRODUCCIÓN: Debido a que en el método de curva de calibración se supone que la constante de proporcionalidad es idéntica para los estándares y para la muestra, puede ser sin embargo que el ambiente químico de la muestra sea bien diferente al usado por los estándares, deberíamos usar el mismo medio ¿pero que sucede si no se conoce?, se utiliza el método de adiciones patrón, mediante la cual la propia muestra proporciona el ambiente químico constante para los estándares.

Se mezclan la muestra con pequeñas adiciones del estándar y para cada adición se mide la respuesta P, las soluciones contendrán el analito de dos procedencias, provenientes de la muestra (C_x constante) y del estándar (C_s variable). Puesto que el medio químico permanece invariable podemos suponer que κ Es realmente constante, y por lo tanto obtenemos, la función: $P = \kappa [C_x + C_s]$ Si C_s se varía para obtener una serie de valores de P en función de C_s se obtendrá la figura 1A:

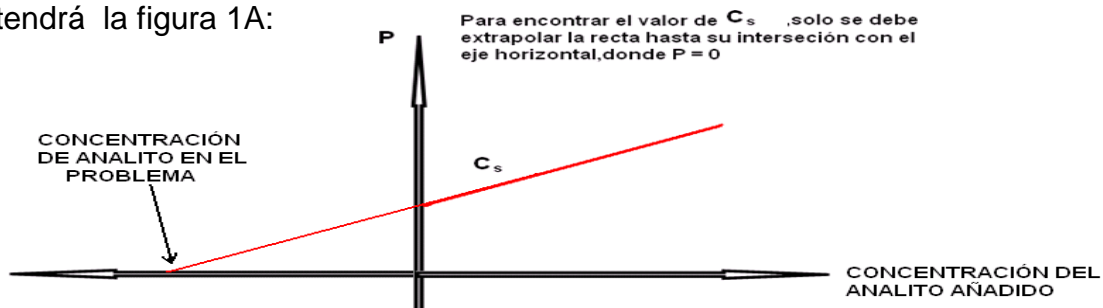


FIG 1A: Debido a que se utilizará un espectrofotómetro de Absorción Atómica, a continuación se presenta un esquema del equipo.

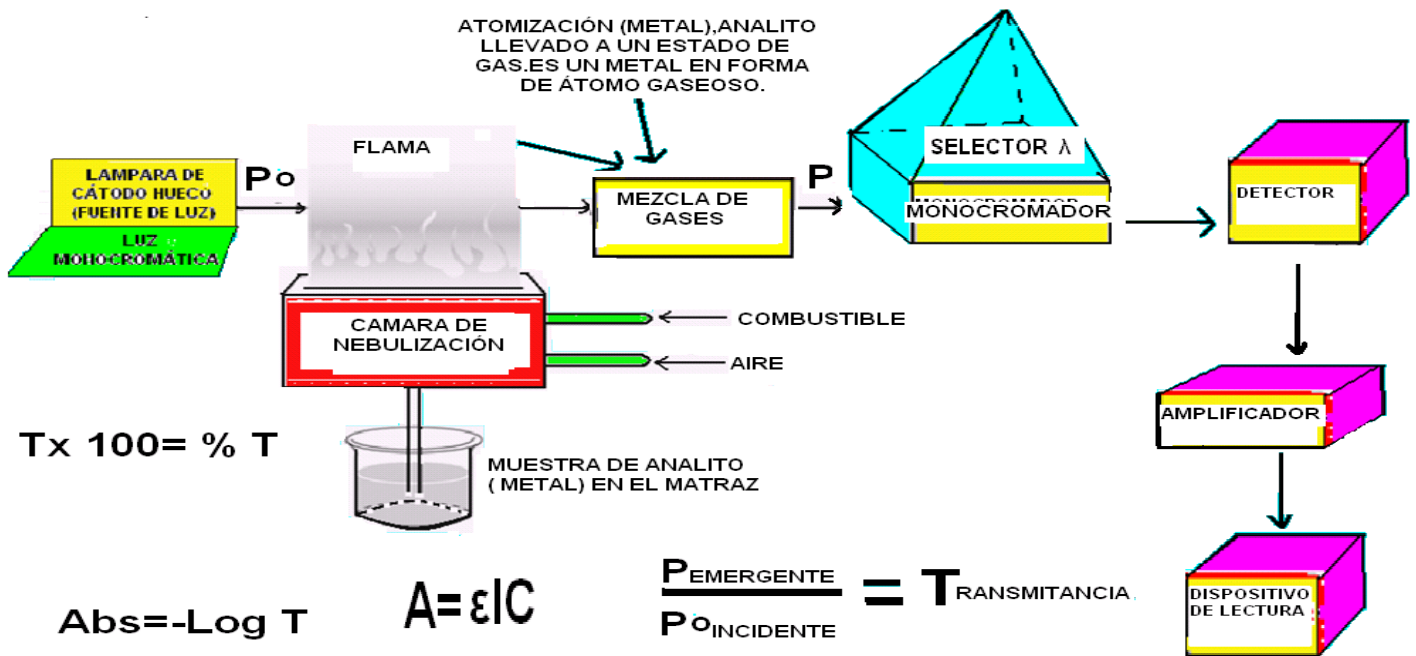


FIGURA 1B: ESQUEMA DE LAS PARTES DE UN ESPECTRÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

III.-CUESTIONARIO PREVIO

- 1.- ¿Qué tipo de sustancias pueden ser determinadas por absorción atómica?
(1.5puntos)

- 2.- Describir brevemente el proceso de atomización por flama de un analito.
(2puntos)

- 3.- ¿Qué tipo de mezcla de gases pueden ser utilizadas por este método y qué función tienen?
(1.5puntos)

- 4.- ¿Qué tipo de propiedad se manifiesta para efectuar la cuantificación?
(2puntos)

- 5.- Cálculo de la preparación de 50 ml de Cu(II) 100 ppm a partir de reactivo analítico(nitrato de cobre).
(3 puntos)

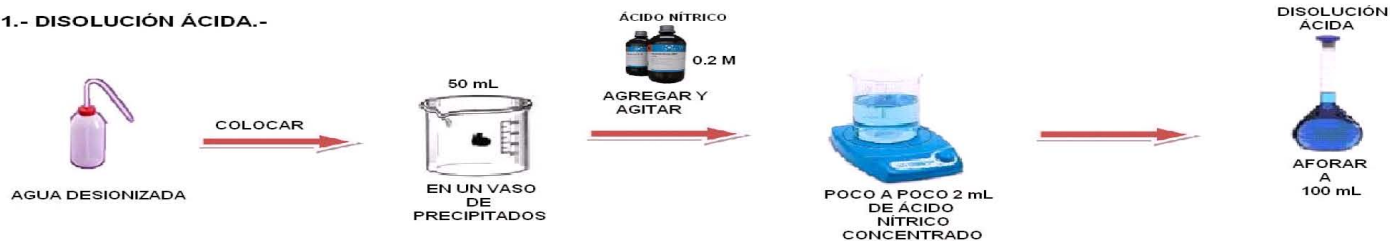
- verificar las especificaciones de los reactivos con que se cuenta en el laboratorio.

| REACTIVOS | MATERIAL Y EQUIPO (POR EQUIPO DE TRABAJO) |
|---|---|
| AGUA DESIONIZADA | 2 MATRACES AFORADOS DE 25 mL |
|  |  |
| REACTIVO ANALITICO DE HNO ₃ | 1 MATRAZ AFORADO DE 100 mL |
|  |  |
| ESTÁNDAR DE Cu(NO ₃) ₂ NITRATO DE COBRE REACTIVO ANALÍTICO | 5 MATRACES AFORADOS DE 10 mL |
|  |  |
| JARABE DE VITAVERAN FOLICO VITAMINAS Y MINERALES | PIPETAS VOLUMETRICAS DE 1, 2, 3, 4, Y 5 mL |
|  |  |
| | 1 PISETA Y 1 ESPÁTULA EMBUDO Y PAPEL FILTRO |
| |  |
| | 1 PIPETA GARADUADA DE 5 mL |
| |  |
| | 1 ESPECTROFOTOMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA |
| |  |
| | 1 AGITADOR MAGNÉTICO |
| |  |
| | 2 VASOS DE PRECIPITADO DE 50 mL |
| |  |

V.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

A) PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES.

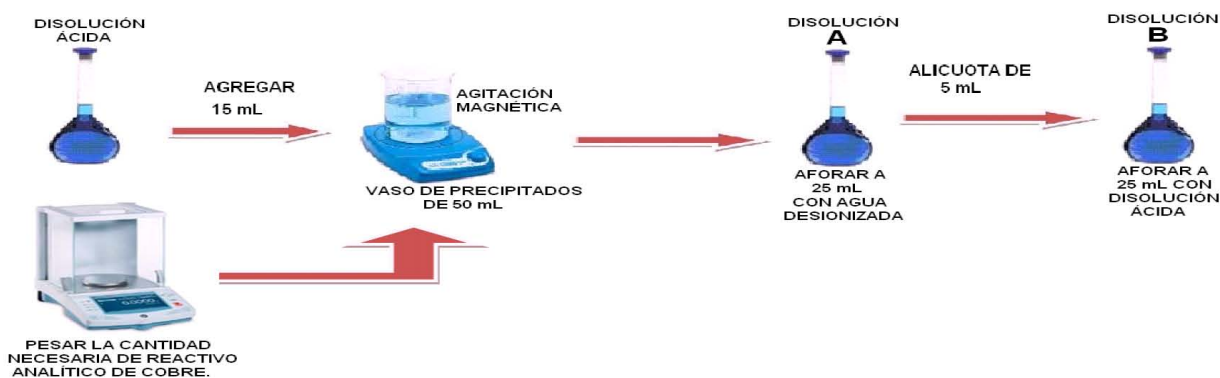
1.- DISOLUCIÓN ÁCIDA.-



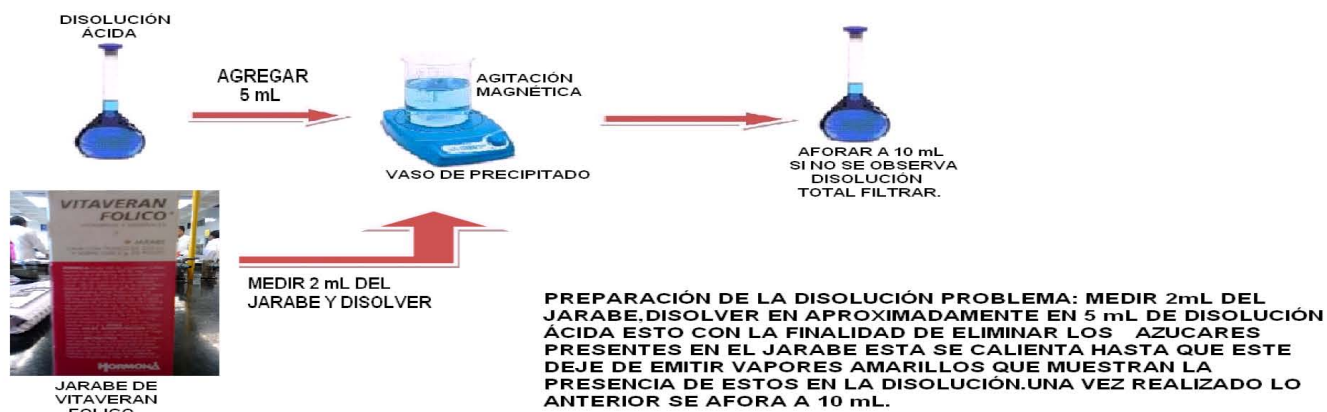
2.- DISOLUCIÓN ESTÁNDAR DE Cu (II).



PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN ESTÁNDAR

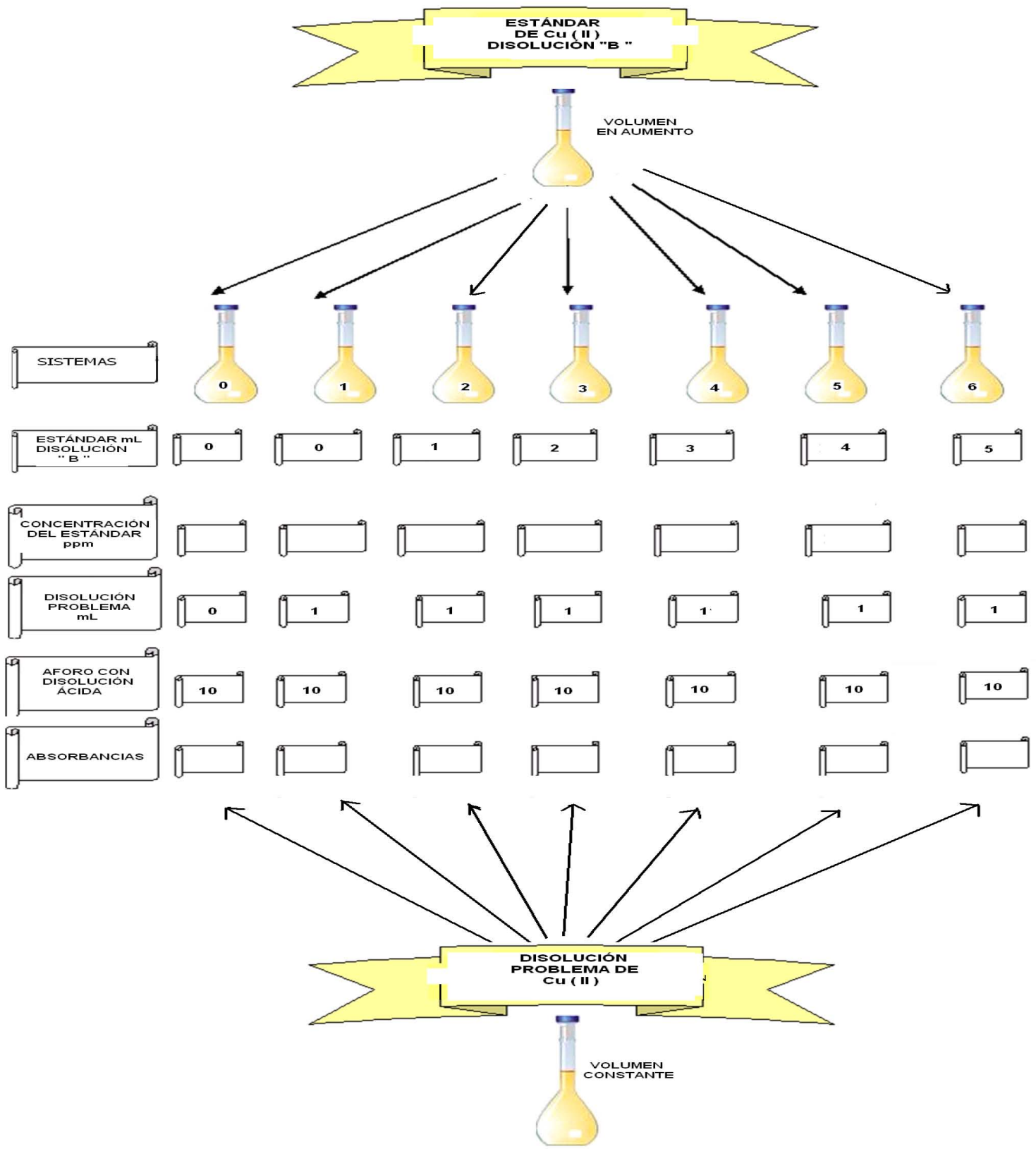


3.- DISOLUCIÓN PROBLEMA DE COBRE.



NOTA: SE CONSIDERA UN JARABE DE APROXIMADAMENTE 13.3 mg/100mL. EN CASO DE CONTENER SEGUN EL MEMBRETE OTRA CANTIDAD AJUSTAR EL VOLUMEN ANALIZADO EN LOS SISTEMAS.

B) PREPARACIÓN DE LOS SISTEMAS



C) Optimizar las condiciones de medición.

Siguiendo el programa que el manual del equipo describe, optimizar las condiciones del análisis, ejemplo: $\lambda = 324.8 \text{ nm}$, ancho de banda = 0.7, voltaje de la lámpara = 30 μA , mezcla de gases = acetileno /aire ,etc.

D) Calibración del espectrómetro de Absorción Atómica.

El procedimiento de calibración se realizará de acuerdo al manual y siguiendo las indicaciones del profesor.

E) Medición de la Absorbancia.

Considerando las indicaciones del programa de trabajo del equipo, tomar lectura de cada uno de los sistemas preparados iniciando con el sistema más diluido al más concentrado, anotar resultados.

VI.-RESULTADOS

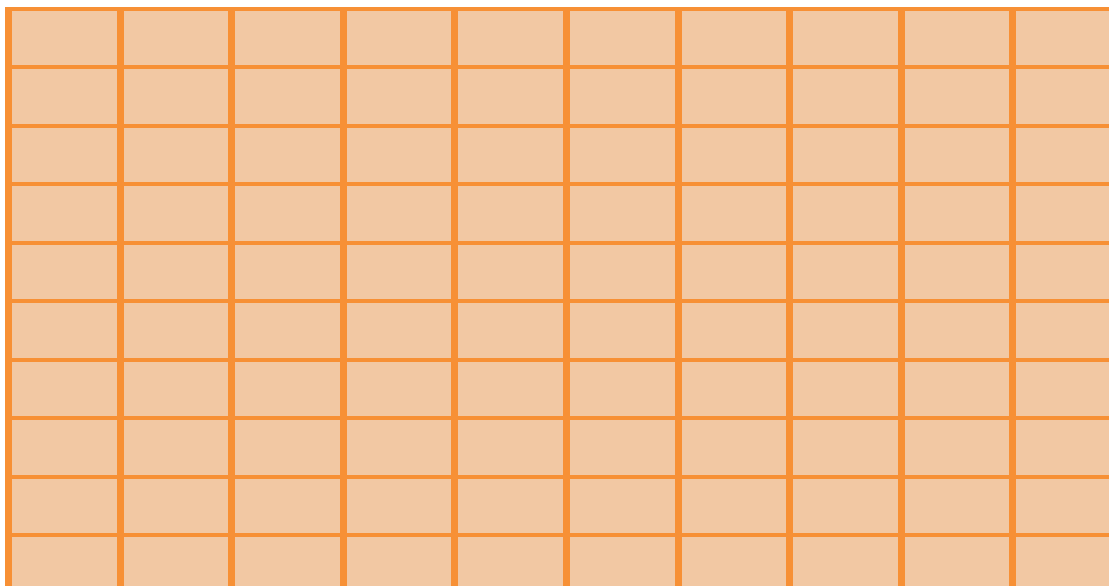
OBTENCIÓN DE LOS DATOS PARA LA CURVA ADICION PATRON

A) Se toman lecturas de absorbancia de cada uno de los sistemas; se apuntan los resultados en la tabla 1.

B) Se gráfica1.

| Sistema | Concentración (mg/ml) | Abs. |
|---------|-----------------------|------|
| 1 | | |
| 2 | | |
| 3 | | |
| 4 | | |
| 5 | | |
| 6 | | |

Tabla1: Resultados experimentales absorción atómica.



Grafica1: Curva de adición-patrón (experimental).

VII.- INFORME DE TRABAJO.

Deben de reportarse

1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema incluyendo propiedades farmacológicas del Cu. (1punto)

2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad (puede emplear dibujos). (Describir perfectamente el procedimiento de preparación de la muestra problema). (1punto)

3.-Elaborar gráficos de (1.5puntos)
a) Curva de adición patrón $A = f(M \text{ de Cu })$
b) Curva de adición patrón $A = f(mg /lt \text{ de Cu })$
Discusión de las diferencias entre estas.

4.- Establecer las ecuaciones que relacionan cada una de las variables en su gráfico correspondiente, indicando el valor de la pendiente y ordenada de origen en cada ecuación, mencionando sus unidades. (1punto)

5.- Los cálculos correspondientes para la determinación de los mg de Cu y el % de Cu sobre el contenido del membrete del producto analizado (utilizando las dos curvas). (3puntos)

7.-Calcular la constante de proporcionalidad. (Dar unidades) (1.5puntos)

8.-Observaciones y conclusiones. (1.0punto)

SESIÓN DE EJERCICIOS I

1.- Las cetonas aromáticas se pueden reducir a alcoholes en condiciones adecuadas en una disolución etanólica acuosa, 2 ml de una disolución desconocida de acetofenona (PM 120.16) se diluyó a 50 ml (disol. A) Además Se cuenta con un estándar de acetofenona $5.5 \times 10^{-3} \text{ M}$

Y se prepararon los siguientes sistemas

| | | | | | | |
|---|------|------|------|------|-------|-------|
| SISTEMA | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Disolución A | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Estándar $5.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Disolución Etanólica | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 10 |
| I(corriente de/red.) μA | 2.14 | 4.12 | 6.05 | 8.21 | 10.13 | 12.11 |

- Trazar la curva $I = f(/M/ \text{ de acetofenona})$, mencionando el tipo de método.
- Dar los parámetros de la regresión y asociarlo a la función correspondiente.
- ¿Cuántos mg/ml de acetofenona hay en la disolución desconocida?
- ¿Qué valor tiene la constante de proporcionalidad (dar unidades)?

2.- Un proceso para determinar proteínas, consiste en unir la proteína a un colorante y se obtiene un color azul, la intensidad del color es proporcional a la cantidad de proteína presente, se obtiene los siguientes datos:

| | | | | | |
|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Proteína(μg) | 0 | 9.36 | 18.72 | 28.08 | 37.44 |
| Absorbancia | 0.466 | 0.676 | 0.883 | 1.086 | 1.28 |

- Efectuar la regresión de los puntos por mínimos cuadrados.
- Graficar y cuantificar una muestra de un problema de proteína que tiene una absorbancia 0.973.

3.- El calcio en una muestra de un mineral pulverizado(%) se determinó 5 veces, se obtiene los siguientes resultados 0.0271, 0.0282, 0.0279, 0.0275, 0.0271, calcule la media, desviación estándar, intervalo de confianza y prueba Q para el punto 0.0282.



PRÁCTICA #4

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO EN ORINA POR CROMATOGRÁFIA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR).

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIMENTAL: 3 horas

Tema que cubre del programa: Estudio de interpretación y cuantificación por técnicas de separación cromatográficas.

I.-OBJETIVOS

- Conocer e identificar las partes básicas del cromatógrafo de líquidos de alta resolución para reconocer su manejo adecuado a fin de obtener resultados confiables
- Conocer la información que el equipo produce (cromatograma) y su uso para análisis cualitativo y cuantitativo.
- Interpretar y relacionar variables a utilizar para efectuar el cálculo de contenido de un analito en una muestra real mediante una curva de calibración.

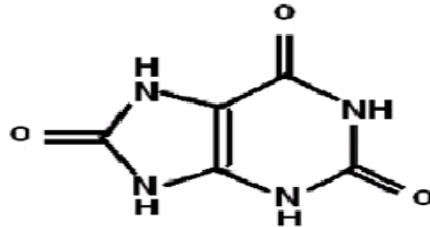
II.-INTRODUCCIÓN.-

La cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) es una técnica de separación, sensible, de fácil adaptación a determinaciones cuantitativas, es idónea para sustancias no volátiles o termolábiles de aplicación en la industria, investigación, organismos oficiales, hospitales, etc., excelente capacidad para el análisis de trazas.

El método del estándar externo, consiste en la preparación de estándares de concentración semejante al del analito en la muestra y en el ensayo cromatográfico de ambos, en las mismas condiciones operativas. La concentración del analito en la mezcla se determina comparando el área del pico con el área correspondiente al estándar de referencia, es decir (Ec.1) $A = K C_{st}$. Este método requiere, obviamente, el uso de un estándar de referencia y su exactitud dependerá ampliamente de la calidad del estándar utilizado. La precisión de los datos que se obtienen depende tanto de la preparación de la muestra y del estándar como de la inyección de ambos, ya que utilizando esta modalidad de trabajo, ninguna de las dos operaciones se compensa. La concentración del analito en la muestra puede obtenerse utilizando la ecuación 1, o bien gráficamente utilizando para ello una curva de calibración.

El **ácido úrico** es un compuesto orgánico de carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno. Su fórmula química es $C_5H_4N_4O_3$.

LA ESTRUCTURA DEL ANIÓN UREATO (EL ANIÓN DEL ÁCIDO ÚRICO) ES :



El ácido úrico es un producto de desecho del metabolismo de nitrógeno en el cuerpo humano (el producto de desecho principal es la urea), y se encuentra en la orina en pequeñas cantidades. En algunos animales, como aves, reptiles y muchos artrópodos, es el principal producto de desecho, y se expulsa con las heces; los animales que excretan mayoritariamente ácido úrico se denominan uricotélicos. El alto contenido de nitrógeno del ácido úrico es la razón por la que el guano es tan valioso como fertilizante en la agricultura.

En la sangre humana, la concentración de ácido úrico comprendida entre 2,5 a 6 para la mujer y hasta 7,2 para el hombre mg/dl es considerada normal por la asociación médica americana, aunque se pueden encontrar niveles más bajos en los vegetarianos.

La enfermedad denominada gota en el ser humano está asociada con niveles anormales de ácido úrico en el sistema. La saturación de ácido úrico en la sangre humana puede dar lugar a un tipo de cálculos renales (litiasis) cuando el ácido cristaliza en el riñón. Un porcentaje considerable de enfermos de gota llegan a tener cálculos renales de tipo úrico.

El aumento de ácido úrico en sangre no sólo puede estar relacionado con la gota, sino que puede ser simplemente una hiperuricemia, que presenta algunos de los síntomas anteriores o puede ser asintomática. Sin embargo cuanto mayor es el aumento de ácido úrico en sangre mayores son las posibilidades de padecer afecciones renales, artríticas, etc.

III.-CUESTIONARIO PREVIO:

1.- Investigar el fundamento de la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) (1.5puntos)

2.- ¿Qué tipos de fase móvil y estacionaria se utilizan en CLAR? (1punto)

3.- ¿Qué tipo de sustancias pueden separarse por CLAR fase reversa? (2puntos)

4.-Dibuje un diagrama de bloques con los principales componentes de un cromatógrafo de líquidos y explique su función brevemente. (2.5puntos)

5.- Calcular la concentración del ácido úrico estándar (99 % pureza) si se pesan 25 mg del reactivo y afora a 25 ml, expresarlo en. (3puntos)

a) mg/ml

b) mg/L

c) M

IV.- MATERIAL Y EQUIPO.

1 MATRAZ AFORADO DE 250 mL.



1 MATRAZ AFORADO DE 100 mL.



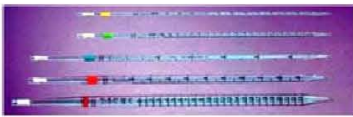
2 MATRACES AFORADOS DE 50 mL.



7 MATRACES AFORADOS DE 10 mL.



PIPETAS VOLUMÉTRICAS DE 1,2,3,4,5,6 Y 7 mL.



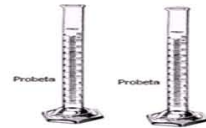
3 VASOS DE PRECIPITADOS DE 50 mL.



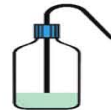
1 VASO DE PRECIPITADOS DE 250 mL.



2 PROBETAS DE 100 mL.



1 PISETA CON AGUA DESIONIZADA



1 PROPIPETA



V.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES.

Disolución de KH_2PO_4 de concentración $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ (0.005 M)



PESAR DE MANERA APROXIMADA LA CANTIDAD EN LA BALANZA ANALÍTICA

DISOLVER



CON AGUA DESMINERALIZADA

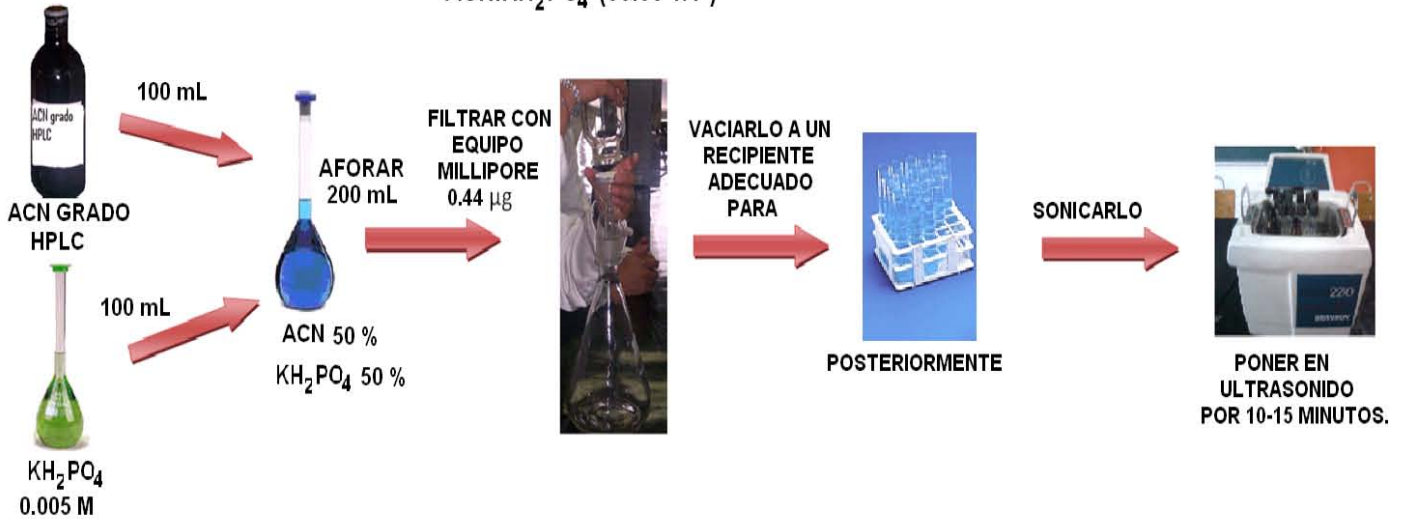
AFORARLO EN UN MATRAZ DE 250 mL



MEDIR EL PH A 4.6 APROX



**1.- PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL(200 mL).
ACN:KH₂PO₄ (50:50 v/v)**



2.- PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN ESTÁNDAR (1mg/mL)



3.- PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN PROBLEMA

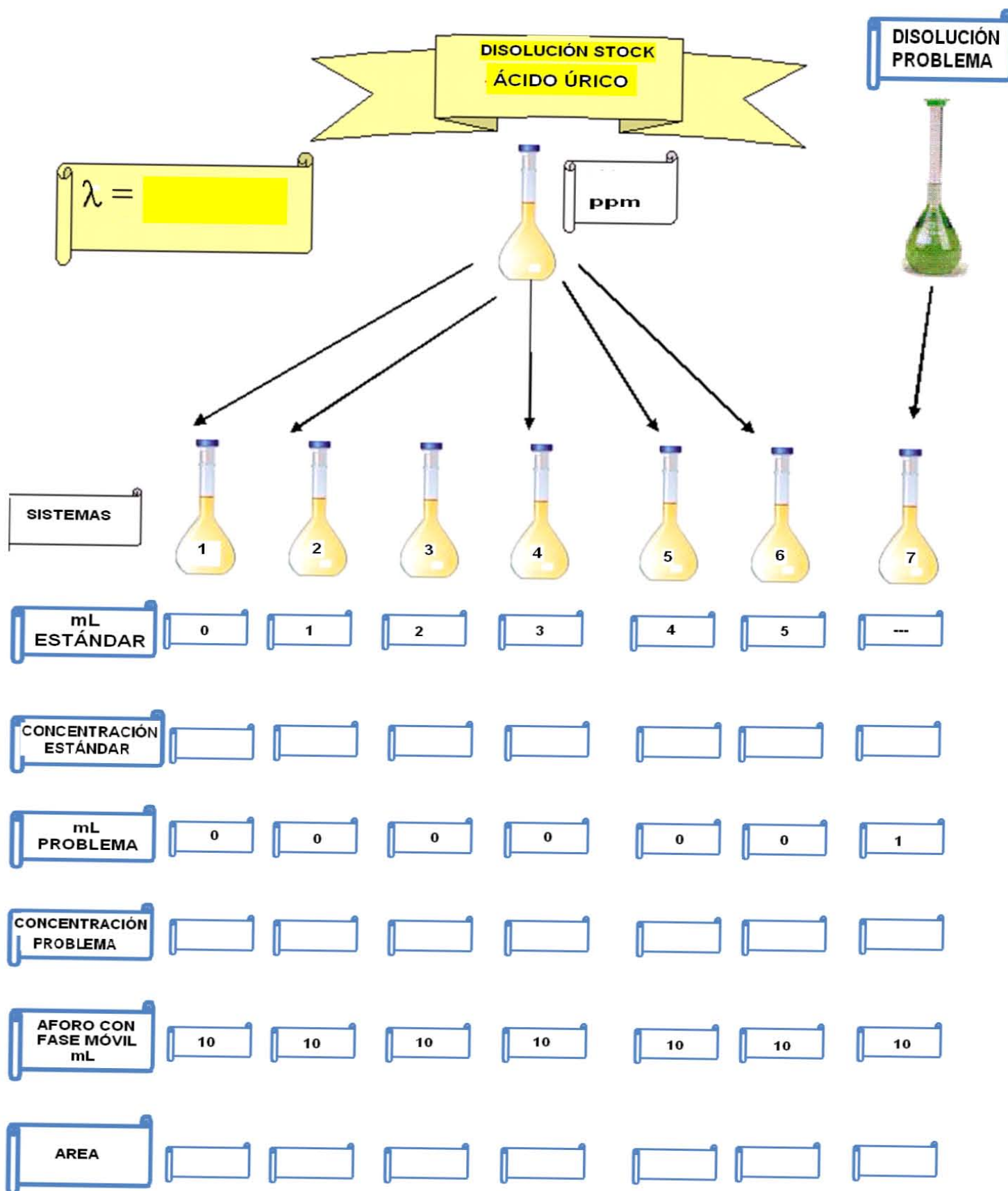
MUESTRA DE ORINA



SE TRANSFIEREN A UN TOBO CON TAPA DE ROSCA UNOS 10 mL Y LO DEMÁS SE DESECHA EN EL EXCUSADO.

SE DEBE RESELECCIONAR UNA MUESTRA DE 24 HORAS.

4.- PREPARACIÓN DE LOS SISTEMAS



5.- Se filtra el sistema 7 (muestra problema) con filtro Millex – SR 0.5 μm

6.- CALIBRACIÓN DEL EQUIPO DE CLAR. Medición de la propiedad (area bajo la curva). Considerando las indicaciones del programa de trabajo del equipo, se enciende y calibra según el procedimiento indicado por el instructor, colocando la fase móvil preparada.

- ✚ Blanco: Fase Móvil.
- ✚ Condiciones de Trabajo.
- ✚ Columna: C₁₈ (15 cm. de longitud).
- ✚ Flujo: 1.2 mL / min.
- ✚ Longitud de onda (λ); 292 nm.
- ✚ Detector UV/VIS de longitud variable.
- ✚ Volumen de inyección fijo 20 mL.

7.- INYECCIÓN DE LOS SISTEMAS.

1, 2, 3, 4, 5, 6,7(sistema problema). Se inyectan al cromatógrafo cada uno de los sistemas preparados, iniciando con el sistema más diluido al más concentrado, como se muestra en la fotografía 1.

Al sistema de registro (integrador) se adecuan las siguientes condiciones:

1) Vel. De carta 0.5 ml/min 2) Atenuación inicial 5, 3) límite de ruido 2

Después de la última inyección lavar la columna con una fase móvil ACN/ KH₂PO₄ 50/50(v/v) ,sin ajustar el pH., para eliminar los restos de sales en la columna.



Fotografía 1: Inyección de los sistemas.

PROCEDIMIENTO DE DESECHO DE DISOLUCIONES DE TRABAJO

Todas las disoluciones de ácido úrico pueden desecharse en la tarja, siguiendo la indicación de la ficha de seguridad. La fase móvil de desecho se almacena para recuperación de ACN.

VI.-ANÁLISIS DE RESULTADOS.

El tiempo de Retención obtenido en el cromatograma correspondiente puede ser usado como herramienta de diagnóstico para determinar cualitativamente la presencia de una sustancia en la muestra, contrastado contra un estándar. Como el área bajo la curva del pico (señal) está relacionada con la concentración $A = K$ [ácido úrico], se puede construir la curva de calibración. Registrar los resultados, tomados directamente de la carta que se obtiene como resultado de cada inyección; como se muestra en la figura 1A.

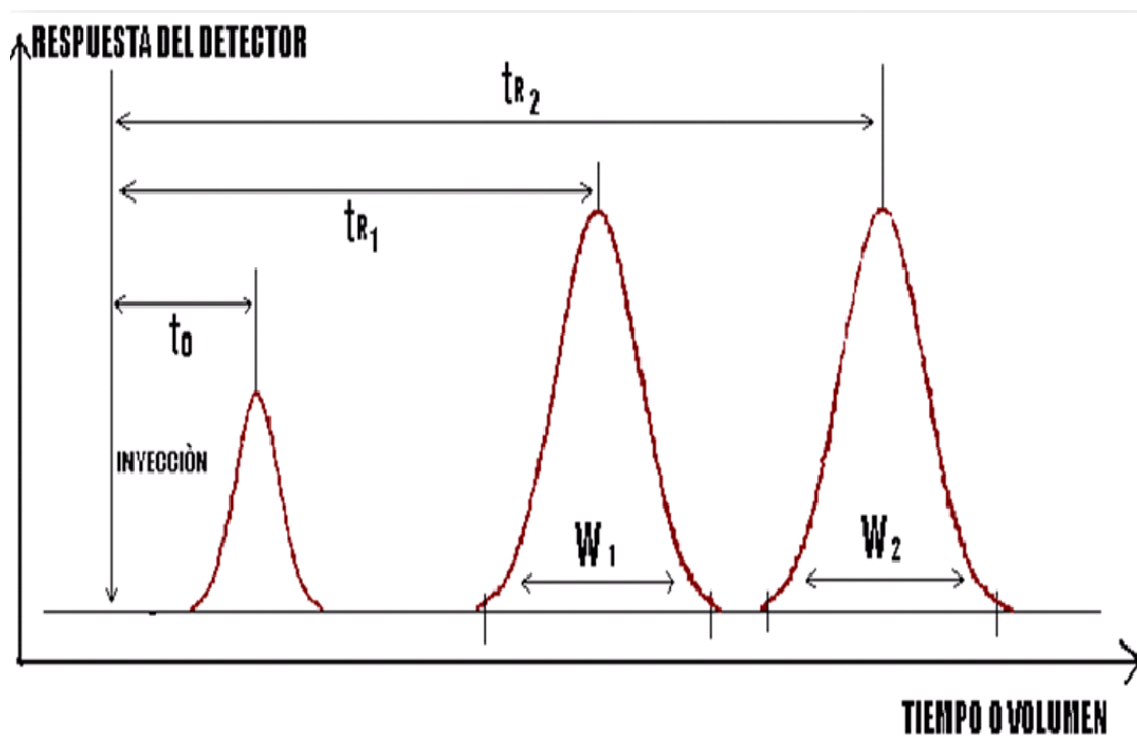


Figura 1A: Cromatograma mostrando tiempos de retención.

8.- OBTENCIÓN DE CROMATOGRAMAS; OBTENIENDO LOS SIGUIENTES DATOS.

- ✚ AREA (A).
- ✚ ANCHO DE PICO (W).
- ✚ TIEMPO DE RETENCIÓN (tr).

TABLA DE RESULTADOS 1

| Concentración de Acido Úrico estándar (Anotar unidades) | Tiempo de Retención (t_r) | Ancho de pío (w) | Área de pico (A) |
|--|-------------------------------|--------------------|--------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

ANOTAR OBSERVACIONES:

a

VII.-INFORME DE TRABAJO:

Debe contener los siguientes puntos:

- 1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema incluyendo propiedades del ácido úrico. (1punto)
- 2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad (puede emplear dibujos). (Describir perfectamente el procedimiento de preparación de la muestra problema). (1.0 punto)
- 3.- Gráfica de las curvas de calibración (1.5puntos)
 - a) $A = f [\mu\text{g/ml de ácido úrico }]$.
 - b) $A = f [M \text{ de ácido úrico }]$.
- 4.- Análisis de linealidad de las curvas. Ecuaciones que sigue cada respuesta, mencionando cada uno de sus términos. (1.5puntos)
- 5.-Calcular el t_r (tiempo de retención) promedio del ácido úrico, en estas condiciones de análisis, así como realizar un estudio estadístico calculando su desviación estándar y un intervalo de confianza al 95 % del t_r . (1punto)
- 6.-Calcular la concentración en la muestra problema (mg/ lt de orina) con ambas curvas. (2.5puntos)
- 7.-Calcular el N (número de platos teóricos) promedio así como realizar un estudio estadístico calculando su desviación estándar y un intervalo de confianza al 95 % de N, comentar acerca de la eficiencia en esta separación en base a este valor. (1.0punto)
- 8- Observaciones, conclusiones (0.5puntos)
- 9.- Referencias bibliográficas consultadas.



PRÁCTICA #4A

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO EN UN ENJUAGUE BUCAL POR LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIEMENTAL: 3 horas

Tema del programa: Cromatografía de gases (CG).

I.-OBJETIVOS:

- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para trabajar con el método de adición del estándar interno al realizar un análisis cuantitativo.
- Conocer e identificar las partes básicas del cromatógrafo de gases para reconocer su manejo adecuado a fin de obtener resultados confiables.

II.-INTRODUCCION: En cromatografía de gases (CG); la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elusión se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Después de pasar por la columna que contiene la fase estacionaria, los solutos separados fluyen por un detector, cuya respuesta se visualiza en un registrador o una computadora. La práctica propuesta de cromatografía de gases, consiste en un análisis cuantitativo de alcohol en un enjuague bucal mediante el método de adición del estándar Interno, el principio en que se base este método es que independientemente del volumen que se agregue la propiedad relativa de un componente respecto a los demás es siempre constante.

Los estándares internos tienen su máxima utilidad cuando se esperan pérdidas inevitables de la muestra. Si se agrega un estándar interno a una mezcla antes de cualquier pérdida, entonces la fracción de este estándar que se pierde es la misma que la fracción de la muestra que se pierde, y el cociente (C_{pb}/C_{est}) permanece constante. Para tener funciones de estándar interno, un compuesto debe reunir los siguientes requisitos:

- a) Que los picos de respuesta estén cercanos al componente(s) a determinar.
- b) Que sea estable y químicamente inerte.
- c) Estructura similar al componente a determinar.
- d) No estar presente en la muestra original.
- e) Debe tener alto grado de pureza.

Los enjuagues bucales llevan la finalidad primordial de corregir el mal aliento de origen bucal tornándolo agradable. Para ello deben controlar el desarrollo bacteriano y dejar la boca agradablemente fresca. Por eso integran en su composición etanol.

III.-CUESTIONARIO PREVIO.

1.- Cual es el fundamento de la cromatografía de gases (gas - líquido y gas - sólido). (1.5puntos)

2.- ¿Qué tipo de sustancias se pueden determinar por esta técnica?
(1.5 puntos)

3- Qué tipo de fase móvil y estacionaria se emplean en la cromatografía de gases. (1.5puntos)

4- Mencionar los componentes básicos de un cromatógrafo de gases y explique brevemente la función de cada uno de ellos. (2.5puntos)

5.- Efectuar el cálculo de la concentración (%v/v) de disoluciones (3puntos)

a) Se toman 2 ml de alcohol etílico al 100% y aforan a 10 ml.

b) Se toman 2 ml de alcohol propílico al 99.9 % y aforan a 10 ml.

IV.- MATERIAL Y EQUIPO

(POR EQUIPO DE TRABAJO)

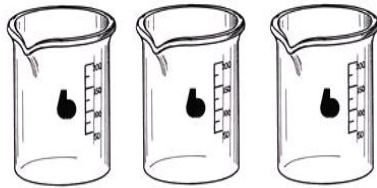
PISETA CON
AGUA DESIONIZADA



3 MATARCES
VOLUMÉTRICOS
DE 10 mL



3 VASOS DE PRECIPITADO
DE 50 mL



3 PIPETAS VOLUMÉTRICAS
DE 0,5, 1, 2 mL.



1 CROMATÓGRAFO DE GASES



REACTIVOS

PISETA CON AGUA
DESTILADA



ALCOHOL ETILICO
GRADO HPLC
(ETANOL)



N-PROPANOL
AL 99.99 %



ENJUAGUE BUCAL



MEDIDAS DE SEGURIDAD.

Ventilación adecuada al preparar las disoluciones (en la campana) usar gafas protectoras.

((((((((((En caso de Accidente))))))))))

Lavado con agua y jabón las partes contaminadas del cuerpo.

V.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

ESTÁNDAR 1 (EXTERNO) :



MEDIR CON PIPETA
VOLUMÉTRICA 2 mL
DE ALCOHOL ETÍLICO
AL 100%
(GRADO HPLC)



DISOLVER



AFORAR A 10 mL
CON AGUA
DESTILADA



ESTÁNDAR 2 (INTERNO)



MEDIR CON PIPETA
VOLUMÉTRICA 2 mL
DE N- PROPANOL AL
99.9 %.



DISOLVER



AFORAR A 10 mL
CON AGUA
DESTILADA



ESTÁNDAR DE ETANOL DILUIDO



TOMAR 1 mL DEL ESTÁNDAR DE ETANOL Y
AFORAR A 10 mL CON AGUA DESIONIZADA
(ETIQUETAR).



MEZCLA DE ESTÁNDARES



TOMAR 1 mL CON PIPETA VOLUMÉTRICA DEL ESTÁNDAR DE DISOLUCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO (ESTÁNDAR EXTERNO)



ADICIONAR 0.5 mL DE DISOLUCIÓN ESTÁNDAR DE N-PROPANOL (ESTÁNDAR INTERNO).

AFORAR A 10 mL CON AGUA DESIONIZADA Y ETIQUETAR PARA NO CONFUNDIR CON LOS OTROS AFOROS.

MUESTRA PROBLEMA

TOMAR UNA ALÍCUOTA DE 0.5 mL DE N - PROPANOL DEL ESTÁNDAR 2 (INTERNO)



ESTÁNDAR DE N-PROPANOL AFORADO A 10 mL.



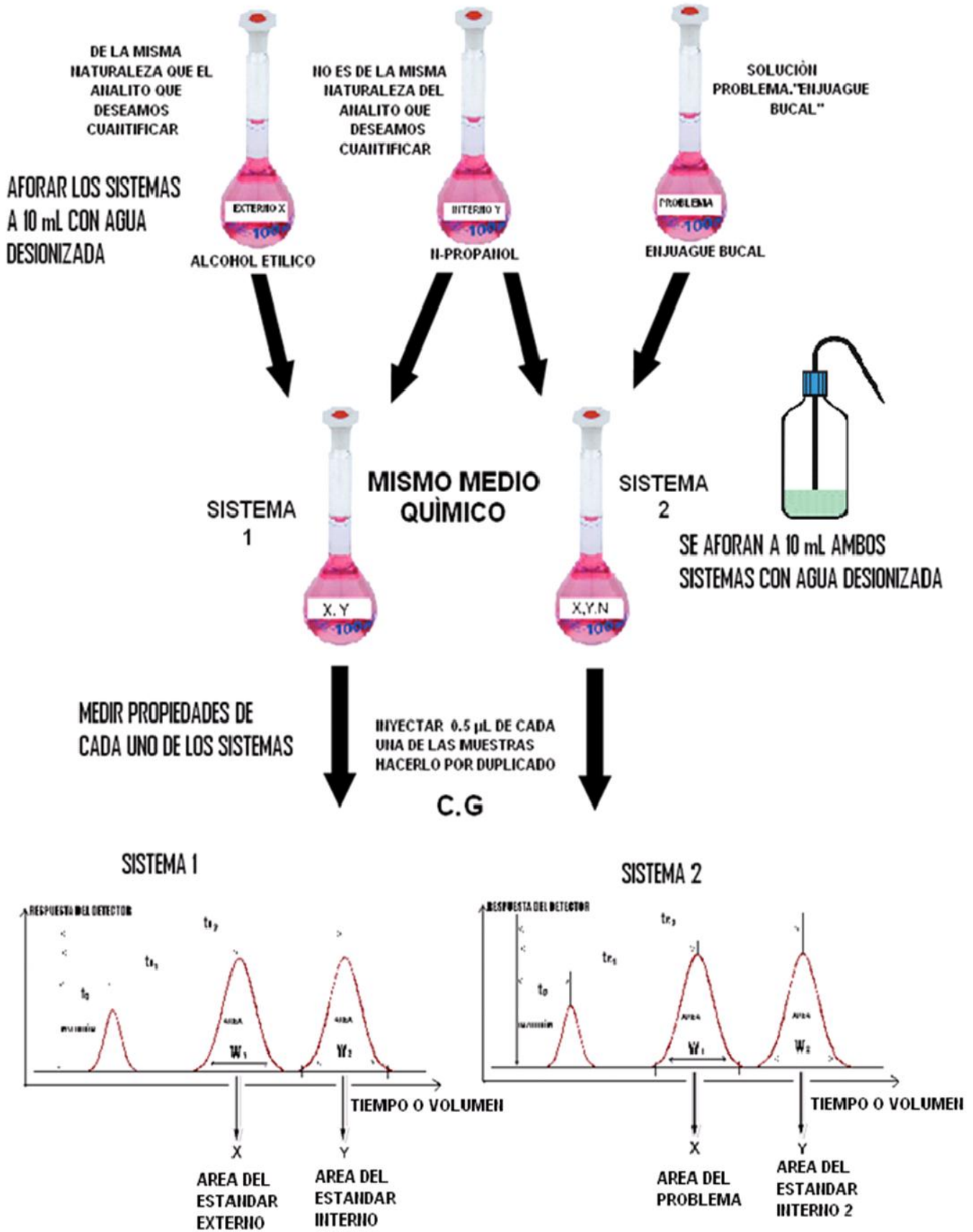
AFORAR A 10 mL CON AGUA DESIONIZADA Y ETIQUETAR PARA NO CONFUNDIR CON OTROS AFOROS.



ENJUAGUE BUCAL (MUESTRA PROBLEMA)

TOMAR UNA ALÍCUOTA DE 0.5 mL DE LA MUESTRA PROBLEMA.

MÉTODO DEL ESTANDAR INTERNO



* DISOLUCIONES A INYECTAR EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES



Figura 1. Cromatógrafo de gases

ACONDICIONAMIENTO Y MEDICIÓN INSTRUMENTAL

- A) Conectar y verificar las conexiones.
- B) Encender el equipo y calentarlo.
- C) Imponer las condiciones de análisis y los flujos deseados de gas de arrastre y del detector.
- D) Encender el detector.

CONDICIONES:

| | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| -Columna | DB-wax 60 m Megabore |
| - Gas acarreador | Nitrógeno 5 psi |
| - Detector | FID |
| -Temperatura de la columna. | Programada de 60°C a 220 °C |
| -Temperatura del detector. | 180°C |
| -Flujo de aire | 300 mL / mi |
| -Flujo de Nitrógeno | 20 mL / |
| -Flujo de Hidrógeno | 60 mL / min. |

- E) Inyectar 20 μ L de **disolución diluida de etanol** esperar a que se registre el pico del alcohol. (cada inyección hacerla por duplicado).
- F) Inyectar 20 μ L de **disolución mezcla de estándares** y esperar a que se registre el pico de los alcoholes.
- G) Inyectar 20 μ L de **disolución muestra** y esperar a que se registren los picos de los alcoholes.
- H) No olvide anotar los datos de cada muestra.
- K) Al terminar el análisis llevar a cabo el proceso de lavado (DEJAR 10 MINUTOS EL FLUJO DEL GAS DE ARRASTRE) y apagar el equipo.

DESECHOS DE REACTIVOS:

En el caso del alcohol y de otros reactivos se guardan en un recipiente que no contengan otras sustancias que al mezclarse reaccionen y provoquen un accidente. El desecho del alcohol es purificado mediante una destilación para posteriormente ocuparlo como reactivo.

VI.-TABLA DE RESULTADOS.

| Tipo de disolución | Conc. Promedio % (v/v) | | Área del Pico | | Tiempo de retención promedio | | Ancho del pico . | | No de platos teóricos | | Resolución $R = \frac{2(T_{re} - t_{rp})}{w_e + w_p}$ |
|------------------------------|------------------------|---|---------------|---|------------------------------|---|------------------|---|-----------------------|---|---|
| | E | P | E | P | E | P | E | P | E | P | |
| disolución diluida de Etanol | | | | | | | | | | | |
| Mezcla de Estándares | E | P | E | P | E | P | E | P | E | P | |
| Muestra | | | | | | | | | | | |

VII.-INFORME DE TRABAJO.

Deben de reportarse

1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema incluyendo propiedades fisicoquímicas del alcohol etílico y su uso en enjuagues.

(1.5puntos)

2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad (puede emplear dibujos). (1punto)

3.- Los gráficos de corrida cromatográfica de los estándares y de la muestra (0.5puntos).

4.- Tabla completa con los resultados obtenidos y parámetros requeridos, referidos a la eficiencia en la separación(N y R) (2puntos)

5.- Los cálculos de la concentración del problema analizado en %, V / V en la muestra comercial, considerando el método utilizado. (3puntos)

6.- Investigar sobre el contenido de etanol en productos del tipo analizado y comparar. (1punto)

d) Análisis de resultados y conclusiones (1punto)



PRÁCTICA #5

DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA Y ASPIRINA EN TABLETAS

MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELECTROFORESIS CAPILAR (EC).

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIMENTAL: 3 horas.

Tema que cubre del programa: Estudio de interpretación y cuantificación por técnicas de electroforesis Capilar.

I.-OBJETIVOS:

- Conocer la forma de calibración y manejo del equipo de electroforesis capilar, para obtener resultados confiables en este tipo de instrumentos.
- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar adecuadamente la cuantificación por una curva de calibración en electroforesis capilar.

II.-INTRODUCCIÓN:

La electroforesis capilar (EC) es una de las técnicas analíticas cuyas determinaciones son de gran exactitud. Se fundamenta en la diferencia de migración de los iones y el tiempo de esta migración a través de una columna capilar de diámetro interno que va de 10 a 100 μm y una longitud de 40 a 100 cm, el capilar une dos recipientes que contienen un tampón y dos electrodos de platino, la muestra se introduce en uno de los extremos del capilar y se aplica entre los dos electrodos un potencial de corriente continua del orden de 20 a 30 kv durante la separación. Los analitos una vez separados, llegan al detector, que está situado en el extremo opuesto a aquel por donde es introducida la muestra, ver figura 1A.

La separación depende de las diferentes velocidades de los analitos, que migran bajo la influencia de un campo eléctrico externo y debido a que se genera un flujo electroosmótico que actúa como una bomba que desplaza a las moléculas del analito a través de una segunda fase, la cual las retiene en un menor o mayor grado. La velocidad de migración de una especie dada depende de su carga y también de su tamaño. Las separaciones en consecuencia se basan en las diferencias en la relación carga- tamaño entre los diferentes analitos presentes en la muestra.

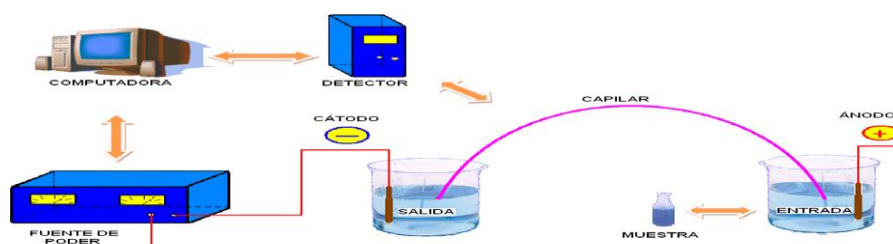


FIGURA 1A: COMPONENTES BÁSICOS DE UN SISTEMA DE EC

III.- CUESTIONARIO PREVIO:

1.-Explicar brevemente el fundamento de la electroforesis capilar. (1punto)

2.- ¿Qué tipo de factores afectan a las separaciones electroforéticas ? dar ejemplos. (1puntos)

3.- ¿Qué tipo de sustancias pueden separarse por electroforesis capilar ? (1punto)

4.- ¿ qué es el flujo electroosmótico ? (2puntos)

5.- Dar el nombre y describir las funciones de cada parte de un equipo de electroforesis capilar. (2puntos)

5.-Efectuar los cálculo de los mg a pesar para preparar 50 ml de una disolución donde se encuentren cafeína y aspirina estándar en 500 ppm cada uno (3puntos)

IV.- MATERIAL (POR GRUPO).

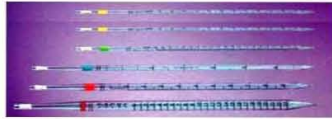
1 VASO DE
PRECIPITADOS DE 200 mL



5 MATRACES
AFORADOS DE 25 mL



1 PIPETA VOLUMETRICA
DE 1,2,3,4,5 Y 10 mL.



2 VASOS DE
PRECIPITADOS DE 50 mL.



1 MATRAZ AFORADO DE 50
Y 100 mL.



1 ESPATULA, PISETA Y
MORTERO.



EQUIPO

EMBUDO DE
FILTRACIÓN



ULTRASONIDO
Y
EQUIPO DE
ELECTROFORESIS



DETECTOR
ESPECTROFOTOMÉTRICO



pH CON ELECTRODO DE
VIDRIO Y CALOMEL



1 AGITADOR MAGNÉTICO



REACTIVOS

TETRABORATO DE
SODIO



ÁCIDO BÓRICO



AGUA DESIONIZADA



ESTANDAR DE ASPIRINA

Y

ESTANDAR DE CAFEINA



REACTIVO ANALITICO.

NaOH 0.1 M



V.-PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

A) Preparación de disoluciones.

1.- 100 ml de buffer de boratos pH = 8.4, pesar la cantidad equivalente de reactivo analítico de tetraborato de sodio $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ para tener una disolución 0.02 M y la cantidad de ácido bórico para tener una disolución 0.1M, mezclarse en aproximadamente 60 ml y se ajusta el pH a 8.5 con NaOH 0.1 M aforando a 100 ml.

2.- Estándares, pesar 50 mg del reactivo estándar de cafeína y aspirina por separado disolviendo y aforando a 50 mL con agua desionizada; de la cual se toma una alícuota de 10 mL y se lleva a un aforo de 25 mL (disolución estándar).

3.- PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES PROBLEMA.

MEDICAMENTO: Pesar de 3 a 5 tabletas de cafiaspirina(o un medicamento equivalente) y obtener el peso promedio, triturar y moler perfectamente.

Pesar 220 mg de polvo de tableta de cafiaspirina disolverlo en agua desionizada, mezclar por agitación magnética (adicionando unas gotas de metanol), aforar a 25 ml (filtrar los excipientes insolubles) etiquetar como disolución **A**. Se mide con una pipeta volumétrica 6 ml de la disolución **A** y se afora a 100 ml con agua desionizada disolución **B**.

NOTA: Con estas disoluciones se preparan los sistemas problemas a medir (ver preparación de los sistemas).

B) Preparación de los sistemas

Para construir la curva de calibración se prepararon los siguientes sistemas a partir de la disolución estándar (stock.) de cafeína. Cada dilución se preparó tomando el volumen adecuado y aforando a 10 ml con agua desmineralizada. Se preparan 7 diluciones de acuerdo a la siguiente tabla:

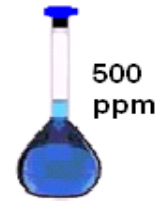
ESTANDARES DE CAFEÍNA Y ASPIRINA



PESAR 50mg DE CADA ESTÁNDAR



DISOLVERLOS EN APROXIMADAMENTE 50 mL DE AGUA DESIONIZADA



AFORAR A 50 mL CON AGUA DESIONIZADA



TOMAR UNA ALICUOTA DE 10 mL



AFORAR A 25 mL CON AGUA DESIONIZADA

PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES "A" Y "B" DEL MEDICAMENTO (CAFIASPIRINA)



PESAR DE 3 - 5 TABLETAS DE CAFIASPIRINAS ,OBTENER EL PESO PROMEDIO



TRITURAR Y MOLER PERFECTAMENTE



PESAR 220 mg DEL POLVO DE CAFIASPIRINA Ó MEDICAMENTO EQUIVALENTE



DISOLVER CON AGUA DESIONIZADA, SE LE AGREGAN UNAS GOTAS DE METANOL.



FILTRAR LOS EXCIPIENTES INSOLUBLES

DISOLUCIÓN "B" DEL MEDICAMENTO



AFORAR A 100 mL CON AGUA DESIONIZADA

TOMAR UNA ALICUOTA DE 6 mL CON UNA PIPETA VOLUMÉTRICA



DISOLUCIÓN "A" DEL MEDICAMENTO



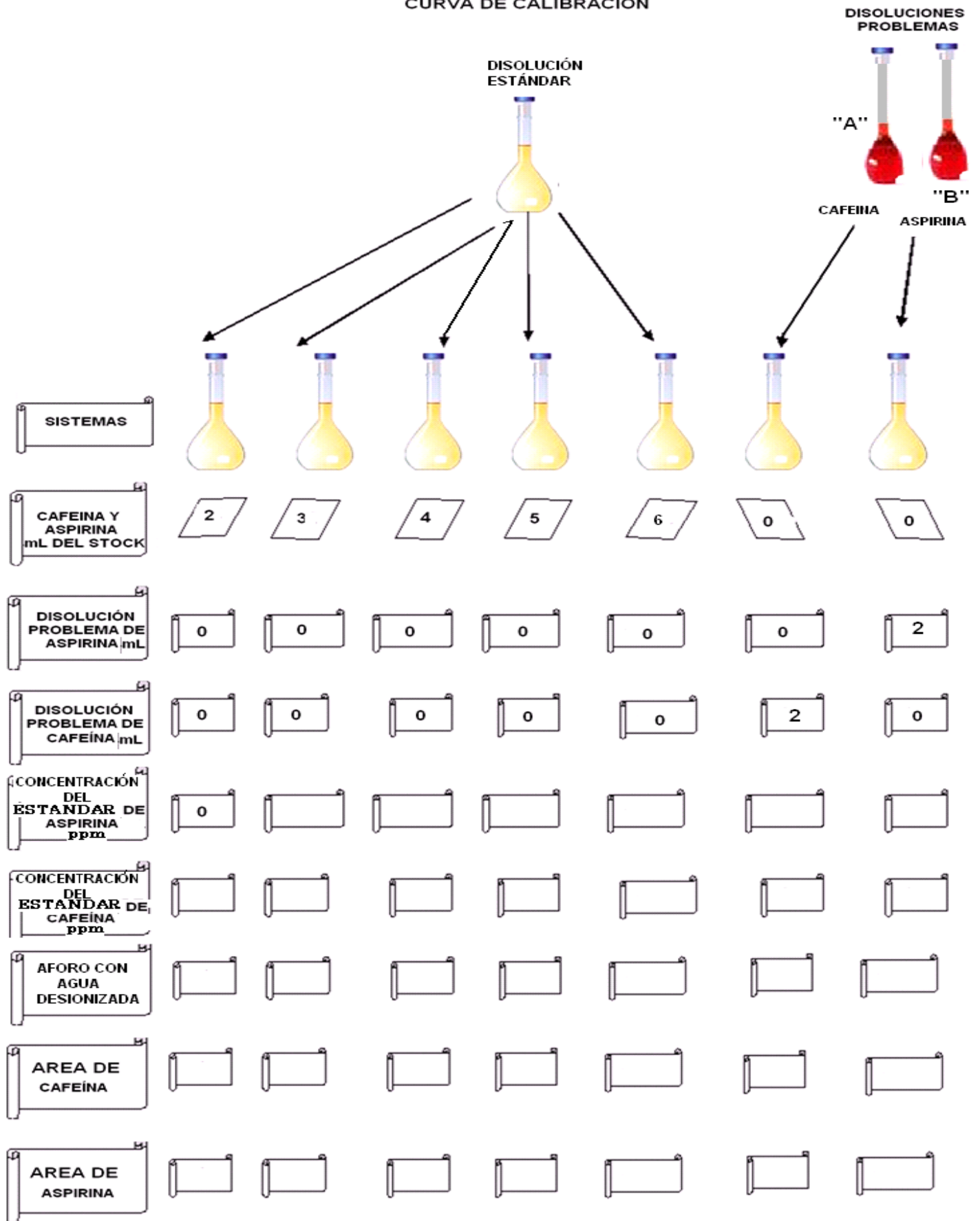
AFORAR A 25 mL AGUA DESIONIZADA



NOTA: Con estas disoluciones se preparan los sistemas problema a medir (ver preparación de sistemas).

PREPARACIÓN DE SISTEMAS

CURVA DE CALIBRACIÓN



Medición de la Propiedad (Área bajo la curva).

1.- Preacondicionar el capilar lavando al inicio con NaOH 0.1 M por 10 minutos a 20 psi y enjuagar con agua desmineralizada por 3 minutos a 20 psi.

2.- Equilibrar el capilar lavando con el buffer ,de corrida, boratos pH= 8.4.

Considerando las indicaciones del programa de trabajo del equipo, se enciende y calibra , y las condiciones de trabajo son las siguientes:

| Longitud capilar | Potencial (kV) aplicado | Detector | λ trabajo | inyección hidrodinámica |
|------------------|---------------------------|----------|-------------------|-------------------------|
| cm de largo | 25kV polaridad normal | UV/VIS | 214nm | 0.5 psi X 5 seg. |

Se corren cada uno de los sistemas preparados, iniciando con el sistema más diluido al más concentrado, anotar resultados.

Después de la última inyección lavar el capilar con disolución de NaOH 0.1 M., para eliminar los restos de sales en el capilar.

PROCEDIMIENTO DE DESECHO DE DISOLUCIONES DE TRABAJO:

Todas las disoluciones de cafeína y aspirina pueden desecharse en la tarja, dejando correr suficiente agua

VI.-ANÁLISIS DE RESULTADOS:

El tiempo de migración puede ser usado como herramienta de diagnóstico para determinar cualitativamente la presencia de una sustancia en la muestra, contrastado contra un estándar.

Como el área bajo la curva del pico (señal) está relacionado con la concentración $A = K [\text{Concentración}]$, se puede construir la curva de calibración correspondiente.

Registrar los resultados siguientes, tomados directamente de la carta que se obtiene como resultado de cada corrida.

Tabla de RESULTADOS.

| Concentración($\mu\text{g/ml}$) de CAFEÏNA Y ASPIRINA estándar | Tiempo de migración (t_r) | Ancho de pico (w) | Área de pico (A) | número de platos teóricos(N) |
|--|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

OBSERVACIONES Y ANALISIS DE RESULTADOS

VII.-INFORME DE TRABAJO:

Debe contener los siguientes puntos, al menos:

- 1.- Los objetivos particulares de la práctica y una breve introducción al tema incluyendo propiedades farmacológicas de la aspirina. (1 punto)
- 2.- Un diagrama de flujo con las actividades desarrolladas y desglosar el procedimiento de cada actividad (puede emplear dibujos). (Describir perfectamente el procedimiento de preparación de las muestras problema). Anexar las tablas de registro obtenidas. (2puntos)
- 3.- De acuerdo a los pKa(s) reportados para cafeína y aspirina, cuál fue el orden de migración de los compuestos a las condiciones del análisis. Justificar su respuesta. (2puntos)
- 4- a) Gráfica de la curva de calibración $A = f[\mu\text{g/ml de cafeína}]$.
a) Gráfica de la curva de calibración $A = f[\mu\text{g/ml de aspirina}]$. Discutir diferencias entre ambas curvas obtenidas por electroforesis capilar.
- 5- Análisis de linealidad de cada curva y las ecuaciones que siguen la respuesta, mencionando cada uno de sus términos. (2puntos)
- 7.-Calcular el t_r (tiempo de retención) promedio para cada sustancia en estas condiciones de análisis, así como realizar un estudio estadístico calculando su desviación estándar y un intervalo de confianza al 95 % del t_r (1punto)
- 8.-Calcular el contenido (mg) de cafeína y aspirina por tableta.(2.5puntos)
- 9.- Calcular la resolución entre cafeína y aspirina a las condiciones de análisis. (0.5puntos)
- 10.- Conclusiones y recomendaciones.

DATOS pKa aspirina = 3.49 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ Peso molecular 180.16 g / mol
pKa cafeína = 10.4 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ Peso molecular 194.19 g / mol



PRÁCTICA #6

DETERMINACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE Fe(II) EN UN PRODUCTO FARMACÉUTICO

TIEMPO DE LA ACTIVIDAD EXPERIMENTAL: 3 horas

Tema que cubre del programa: Estudio de interpretación y cuantificación por técnicas potenciométricas.

I.--OBJETIVOS.

- Efectuar la cuantificación de FeSO_4 en muestras de uso farmacéutico por medio de una curva de valoración potenciométrica con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ como valorante.
- Aplicar los conocimientos teóricos adquiridos para efectuar la identificación de las partes básicas del potenciómetro para reconocer su manejo adecuado a fin de obtener resultados confiables

II.-INTRODUCCIÓN.

Una *valoración potenciométrica* implica la medida del potencial de un electrodo indicador conveniente en función del volumen de agente valorante añadido. El punto final se detecta determinando el volumen al cual ocurre un cambio de potencial relativamente grande cuando se adiciona el agente valorante. Las valoraciones potenciométricas proporcionan datos que son más fiables que los obtenidos empleando indicadores químicos y son particularmente útiles cuando las disoluciones son coloreadas o turbias y para detectar especies insospechadas. La medida del potencial se puede emplear para poner de manifiesto el punto final en reacciones ácido-base, **redox**, precipitación y formación de complejos; para ello se selecciona el electrodo indicador adecuado y un electrodo de referencia que cierra la celda.

Para determinar el punto final se pueden utilizar varios métodos. El más directo se basa en representar el potencial en función del volumen de reactivo. Otro procedimiento más exacto consiste en representar el cambio de potencial por unidad de volumen de agente valorante ($\Delta E / \Delta V$) en función del volumen promedio V . De esta forma se obtiene una curva con un valor máximo que corresponde al punto final figura 1A.

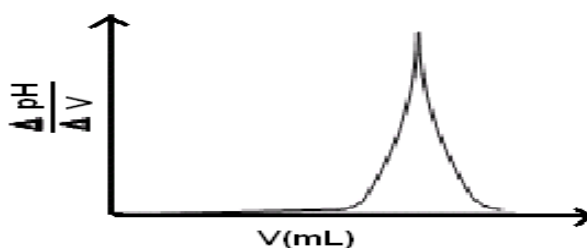


Figura 1A: Cambio de potencial por unidad de volumen

En esta práctica el hierro presente en una tableta de complementos minerales se disuelve en ácido se valora con dicromato de potasio y las variaciones del potencial durante el proceso se siguen con un potenciómetro, para obtener una gráfica de $E' = f(\text{ml de valorante})$ mediante la cual se determinara el volumen gastado para llegar al punto de equivalencia y así poder cuantificar el contenido de hierro en la tableta.

El grado en que ocurre la reacción (y por tanto la notoriedad del cambio de pendiente en el punto de equivalencia) depende de la constante condicional de formación, el efecto del pH en la titulación es un parámetro a considerar en el amortiguamiento del medio de reacción.

El circuito establecido con los electrodos permite medir el potencial para la oxidación del hierro en la superficie del electrodo de Pt.

III.-CUESTIONARIO PREVIO.

1.- Proponer la lista de material y equipo necesario para la realización de la práctica (consultar el procedimiento experimental).

(2puntos)

2.- Buscar en referencias bibliográficas los requisitos de un reactivo para emplearse como valorante.

(2puntos)

3.- Anote las especificaciones de los reactivos que empleará durante la sesión experimental

(2puntos)

| Nombre del Reactivo | Marca | Fórmula y peso molecular | Ensayo o pureza | Densidad o gravedad específica |
|---------------------|-------|--------------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | | | |
| | | | | |

4.- Efectuar los cálculos para preparar 100 ml de una disolución de $K_2Cr_2O_7$ 0.01 M y describir la preparación experimental.

(4puntos)

IV.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

A) PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES



AÑADIR 2 mL DE ÁCIDO FOSFÓRICO CONCENTRADO (REACTIVO ANALÍTICO)



DISOLUCIÓN ÁCIDA

AFORAR A 25 mL

- 2) COLOCAR 10 mL DE LA DISOLUCIÓN ÁCIDA EN UN VASO DE PRECIPITADO Y AGREGAR EL VOLUMEN DE DISOLUCIÓN OFTÁLMICA EQUIVALENTE A 25 mg DE FeSO_4 (VER EL CONTENIDO DEL MEMBRETE) O EN SU CASO UTILIZAR UN JARABE QUE CONTENGA Fe(II) : DISOLVER CON UN AGITADOR MAGNÉTICO.



DISOLUCIÓN ÁCIDA



10 mL



GOTERO

AGITADOR MAGNÉTICO

- 3.- PREPARAR 100 mL DE DISOLUCIÓN DE $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.01M



B) VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA

- 5.- EFECTUAR EL MONTAJE DEL POTENCIÓMETRO, CALIBRANDO PREVIAMENTE, Y LLENAR LA BURETA CON EL VALORANTE E INICIAR LA VALORACIÓN.



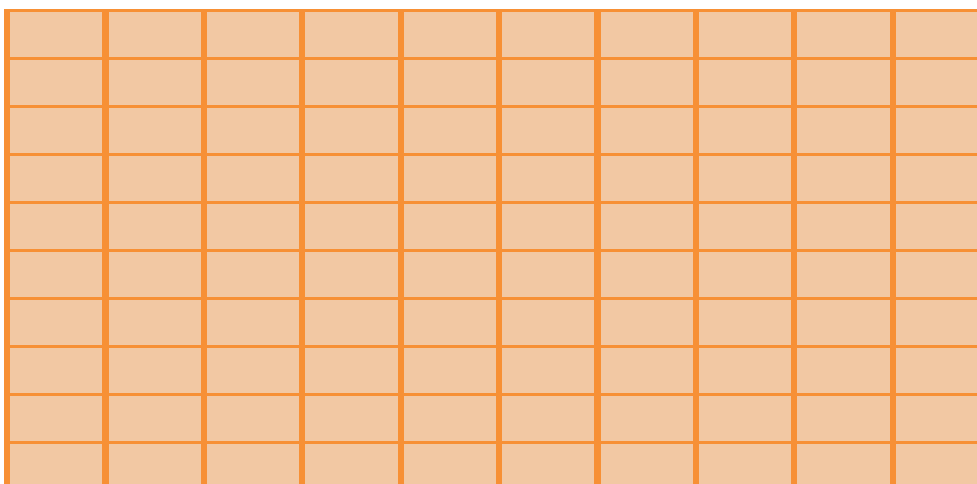
6.- Registrar el valor del potencial experimental; en la tabla 1A y representarlos en la grafica 1A para cada ml de $K_2Cr_2O_7$ 0.01 M añadido (y 0.5 en las cercanías del punto de equivalencia). (EFECTUAR LA VALORACIÓN POR DUPLICADO)

V.- RESULTADOS

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| ml de $K_2Cr_2O_7$ 0.01 M | | | | | | | | | | | |
| E´(potencial medido) | | | | | | | | | | | |

Tabla 1A: valores experimentales de la valoración potenciométrica.

7.- Graficar E´ medido (PROMEDIO) como función del volumen de valorante, corrigiendo respecto al potencial del electrodo de calomel.



Gráfica 1A: de los resultados experimentales de la valoración potenciométrica.

VI.-INFORME DE TRABAJO.

El informe de trabajo debe incluir objetivos particulares, introducción, procedimiento experimental (diagrama de flujo, dibujos, etc.), resultados experimentales, Análisis de resultados, observaciones, conclusiones, referencias bibliográficas. (2puntos)

Incluir los siguientes aspectos en el Informe de trabajo

- 1.- Una tabla con las soluciones empleadas y sus concentraciones exactas.
(en el procedimiento experimental) (1 punto)
- 2.-Calcular el pH y pPO_4 en el sistema de valoración.
(Incluir en Análisis de Resultados)
- 3.- Utilizando los diagramas anexos plantear el equilibrio representativo de la reacción de valoración y calcular el valor de la K_{eq} . (incluir en análisis de resultados) (2 puntos)
- 4.- Utilizar el gráfico de $E = f(\text{vol. De } Cr_2O_7^{2-})$ para
 - a) Determinar el volumen de punto de equivalencia.
 - b) Estimar el valor del E_o del par Fe(II)/Fe(III)
(en el análisis de resultados) (2puntos)
- 5.- Efectuar el cálculo de los mg de $FeSO_4$ / 100 ml de frasco gotero, contrastando con lo referido en el membrete del producto analizado.
(incluir en análisis de resultados y conclusiones) (3puntos)

DATOS:

H_3PO_4 $pK_{a(s)}$ 2.2 , 7.2 , 12.3

Complejos de Fe(II)

$Fe(OH)_n^+$ $\text{Log } \beta_1 = 4.5$

$Fe^{2+} + H_2PO_4^- \rightarrow Fe H_2PO_4^+$ $\text{log } K = 2.7$

$Fe^{2+} + HPO_4^{2-} \rightarrow Fe HPO_4$ $\text{log } K = 3.6$

Complejos de Fe(III)

$Fe(OH)_n^{3-n}$ $\text{Log } \beta_1 = 11.0$, $\text{Log } \beta_2 = 21.7$

$Fe^{3+} + H_2PO_4^- \rightarrow Fe H_2PO_4^{2+}$ $\text{log } K = 3.47$

$Fe^{3+} + HPO_4^{2-} \rightarrow Fe HPO_4^+$ $\text{log } K = 8.3$

Complejos de Cr(III)

$Cr(OH)_n^{3-n}$ $\text{Log } \beta_1 = 10.2$, $\text{Log } \beta_2 = 18.3$

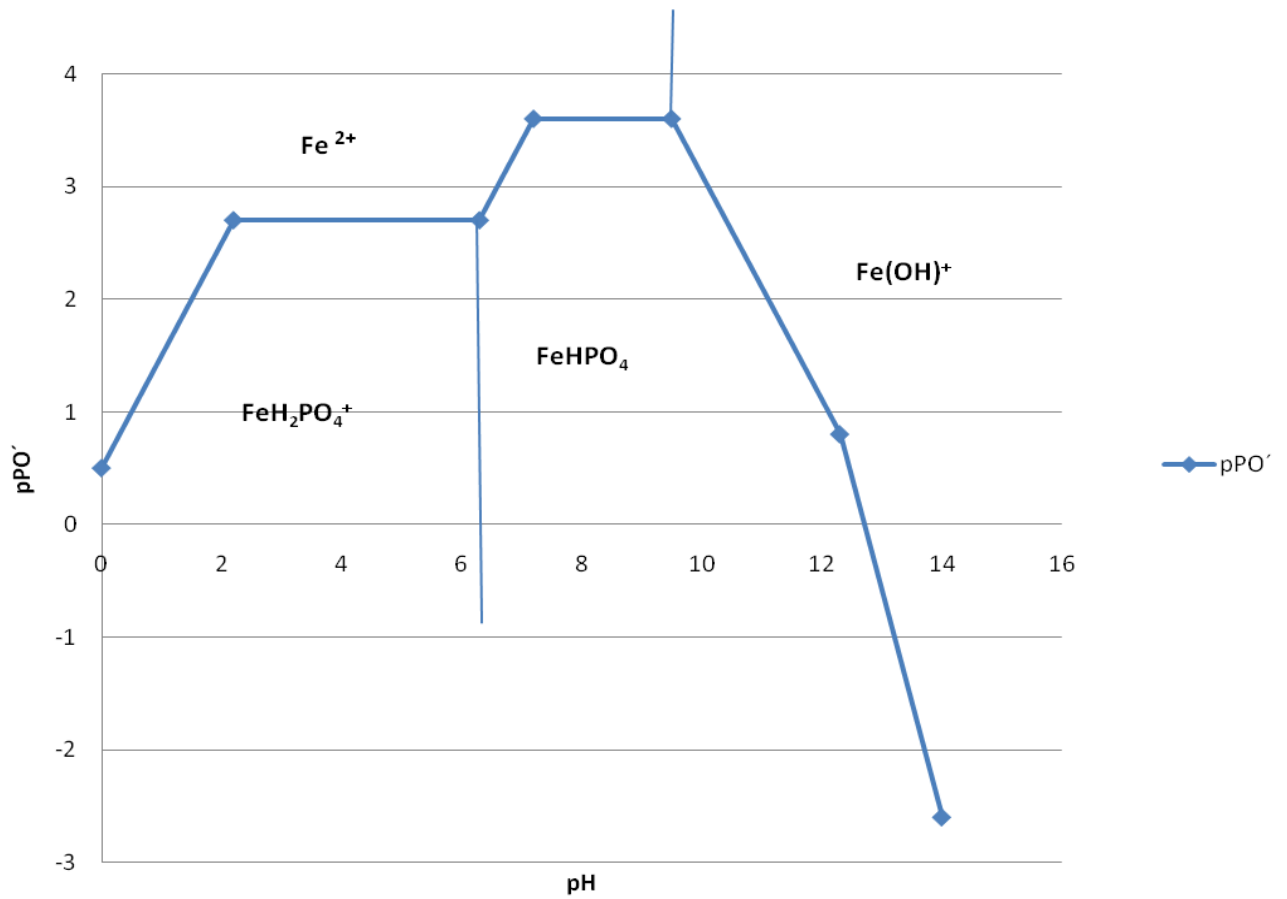
$Cr^{3+} + H_2PO_4^- \rightarrow Cr H_2PO_4^{2+}$ $\text{log } K = 2.56$

$Cr(OH)_3 \downarrow$ $pK_s = 30.3$

DIAGRAMAS $pPO_4 = f(\text{pH})$

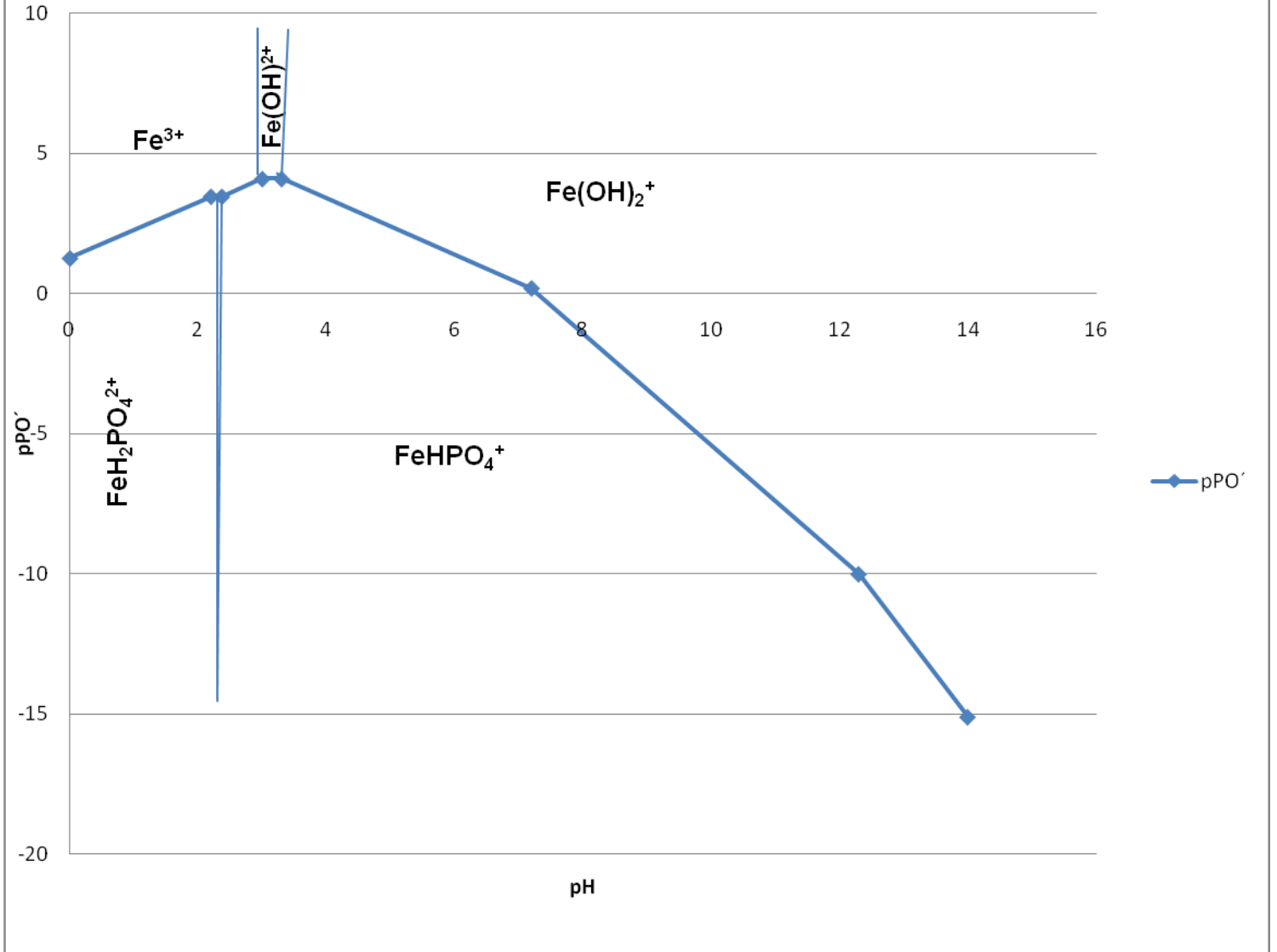
| pH | pPO ₄ ' |
|------|--------------------|
| 0 | 0.5 |
| 2.2 | 2.7 |
| 6.3 | 2.7 |
| 7.2 | 3.6 |
| 9.5 | 3.6 |
| 12.3 | 0.8 |
| 14 | -2.6 |

DIAGRAMAS DE ZONAS DE PREDOMINIO
 pPO₄' = f (pH) PARA Fe(II)

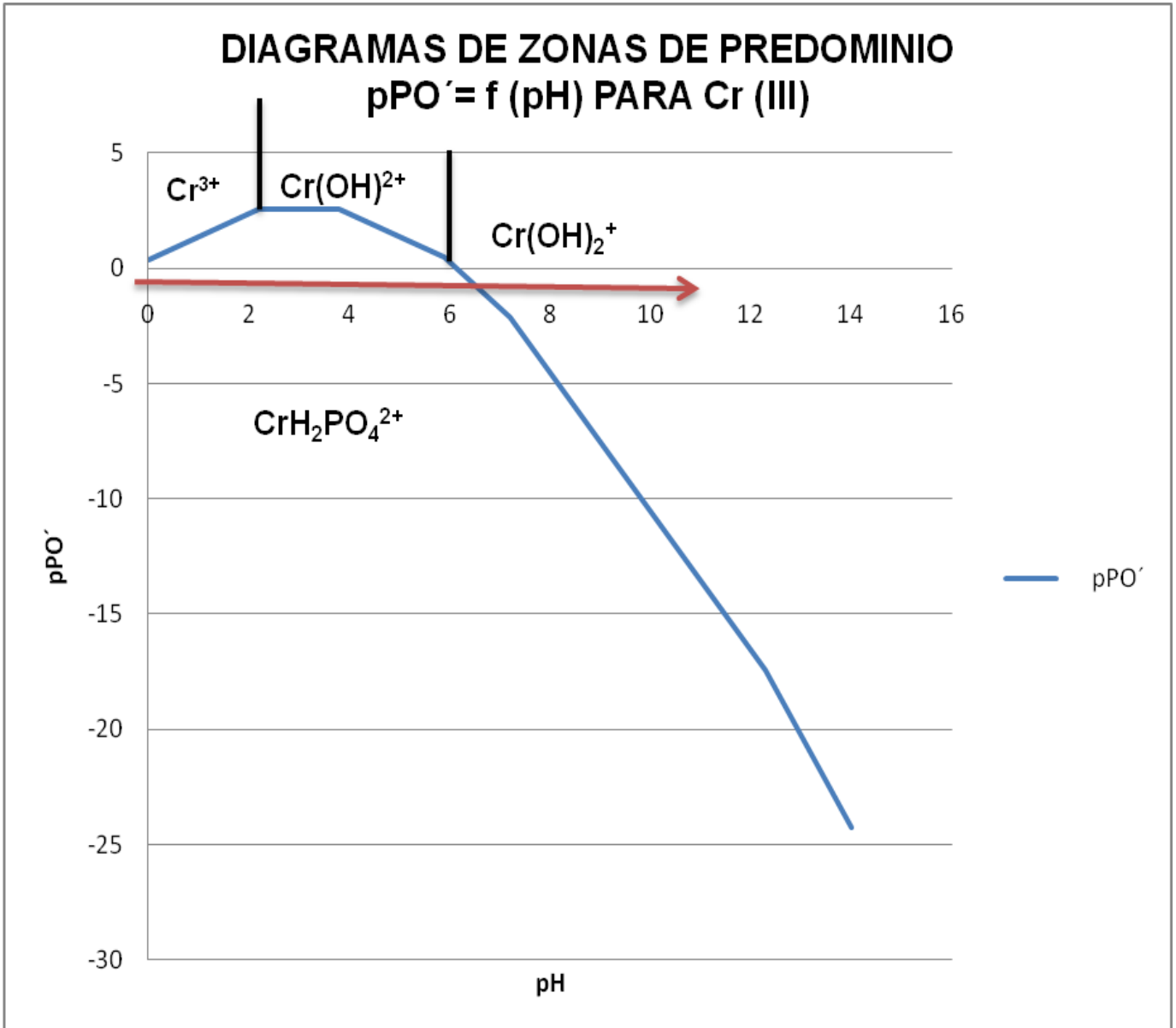


| pH | pPO' |
|------|-------|
| 0 | 1.27 |
| 2.2 | 3.47 |
| 2.37 | 3.47 |
| 3 | 4.1 |
| 3.3 | 4.1 |
| 7.2 | 0.2 |
| 12.3 | -10 |
| 14 | -15.1 |

DIAGRAMA DE ZONAS DE PREDOMINIO pPO' = f(pH) PARA Fe (III)

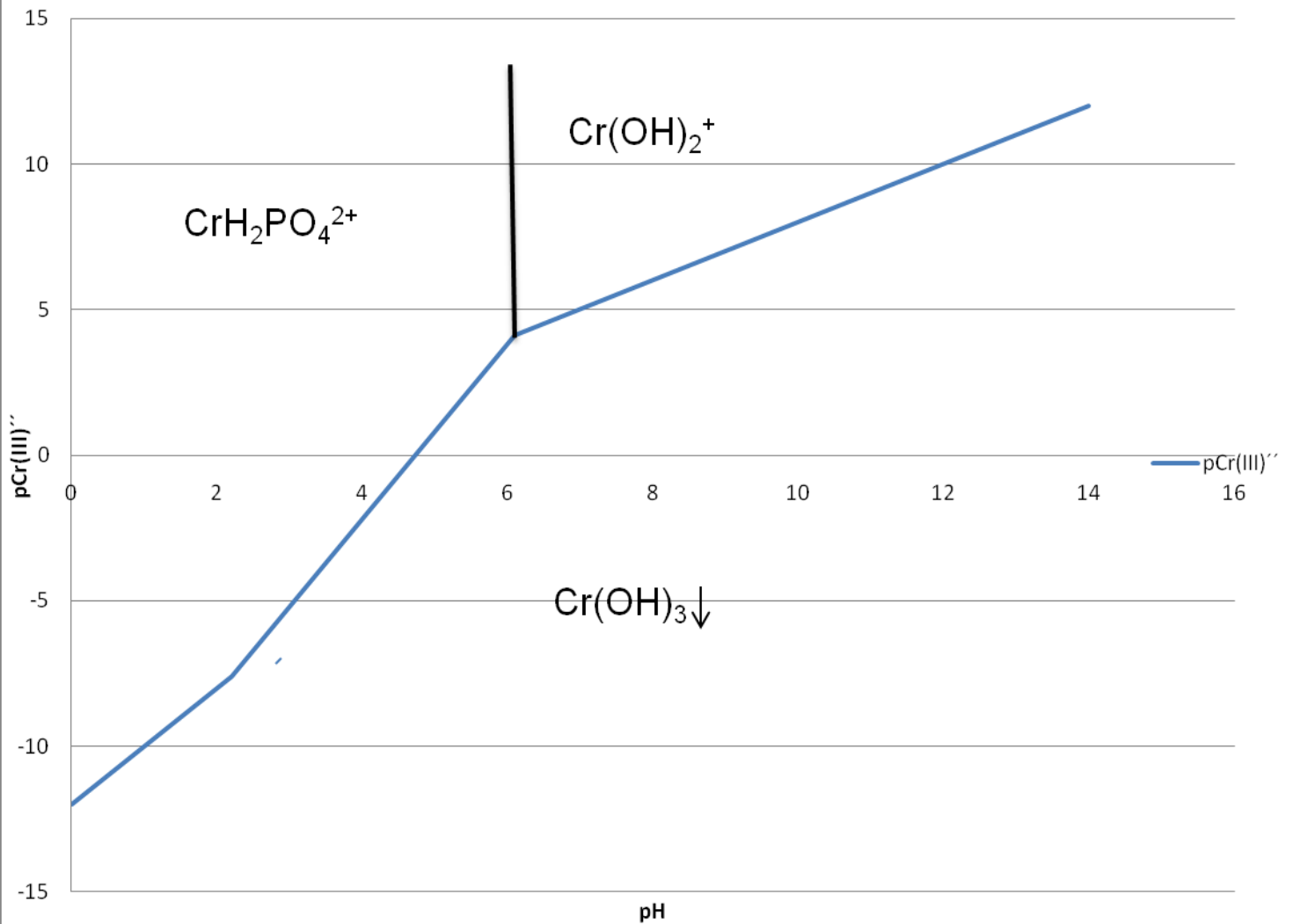


| pH | pPO' |
|------|--------|
| 0 | 0.36 |
| 2.2 | 2.56 |
| 3.8 | 2.56 |
| 5.9 | 0.46 |
| 7.2 | -2.14 |
| 12.3 | -17.44 |
| 14 | -24.24 |



| pH | pCr(III)'' |
|-----|------------|
| 0 | -11.99 |
| 2.2 | -7.59 |
| 6.1 | 4.11 |
| 14 | 12 |

**Diagrama de Existencia-Predominio
para el sistema Cr(III)-PO₄-H₂O a PO₄' = 0.07**



SESIÓN DE EJERCICIOS II

1.- Completar la tabla, calculando los parámetros que se piden y explicar si esta separación es eficiente, para al menos tres compuestos de la muestra, dibujando el cromatograma correspondiente.

| componente | Tr | W | K' | N | α | R |
|------------|------|------|----|---|----------|---|
| A | 21.5 | 0.96 | | | | |
| B | 25.1 | 0.99 | | | | |
| C | 22.3 | 0.95 | | | | |
| D | 27.9 | 0.87 | | | | |

Tiempo muerto (t_0) es de 2.0 min.

2.-Indicar el orden de elusión de los siguientes compuestos en una separación electroforética con un buffer pH = 8.0 : ácido salicílico $C_6H_4(OH)COOH$ pKa= 2.97 y Metilamina ($CH_3NH_3^+$) pKa = 10.64 , glicina ($^+NH_3CH_2COOH$) pKa(s) = 2.35 , 9.78 Justificar en base la carga.

3.- Determinación de hidroclorotiazida.

a) Se pesan 0.051mg del reactivo estándar(98%) se disuelven y aforan a 50 ml(sol. A) se toman 13 ml de sol. A y aforan a 50 ml (stock)

b) Se presan 3 tabletas de "capozide" peso promedio 251.6 mg , se trituran y pesan 500 mg y se aforó a 100 ml (disol. Problema)
Se preparan los siguientes sistemas

| Sistema | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Ml stock | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 0 |
| Sol. Prob. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| Aforo | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tm | 0.58 | 0.58 | 0.58 | 0.58 | 0.58 | 0.58 | 0.58 |
| A(u ²) | 958 | 1854 | 2698 | 3872 | 5083 | 5941 | 3840 |
| H (mm) | 8.3 | 15.5 | 22.3 | 32.0 | 42.8 | 48.9 | 32.2 |
| W | 0.07 | 0.05 | 0.05 | 0.06 | 0.07 | 0.06 | 0.05 |

Calcular:

- A) el contenido por tableta de hidroclorotiazida(mg/tableta) _____.
B) N explicando acerca de la eficiencia de la separación.

5.- Un método de análisis de contaminantes en muestras sólidas consiste en digerir las muestras en un digestor de microondas cerrado y analizar la disolución obtenida mediante cromatografía de líquidos de alta resolución Se digieren 0.56 g de muestra con 10 ml de ácido y se los lleva a un volumen final de 50 ml Se realiza una curva de calibración utilizando patrones acuosos cuya concentración C está entre 10 y 30 $\mu\text{g/ml}$ del contaminante y se obtiene la recta de regresión $A=0.012 + 0.0348C$

Si el área del contaminante en la muestra es de 1.02 ¿cuál es el % de contaminante en la muestra?

DISEÑO 1:

ANOTAR AQUÍ EN NOMBRE DEL DISEÑO

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS USADAS

RECUERDE QUE:

El formato del diseño experimental debe contener al menos los siguientes puntos:

- Objetivos que se persiguen con la experimentación.
- Listado de actividades generales.
- Programa desglosado por cada actividad general(*)
- Diagrama de flujo general incluyendo actividades, secuencia, tiempo y distribución equitativa del trabajo para cada integrante del equipo de trabajo.
- Bibliografía consultada.

* Se entiende aquí por programa desglosado:

- a) Describir la actividad correspondiente. Por ejemplo 1) Listado de material, equipo y reactivos a utilizar, 2) Preparación de disoluciones y sistemas (si es necesario), 3) calibración del equipo, etc.
- b) Enunciar hipótesis particulares en cada caso y el estudio preliminar de los fenómenos fisicoquímicos más relevantes que ocurren en esa actividad.
- c) Estimar el tiempo necesario para esa actividad.
- d) Dar medidas de seguridad en cada una de las etapas anteriores (cuando sea necesario).
- d) Incluir referencias bibliográficas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1.-SMITH R. AND MARTELL A. *Critical Stability Constants. Volume 4: Inorganic Complexes*, Plenum Press, 2ed, USA, 1989.

2.WILLARD H., Métodos Instrumentales de Análisis, Editorial Grupo Editorial Iberoamérica., Pág., 603, 604,616-618.

3- HARRIS DANIEL C. Análisis Químico Cuantitativo, Editorial Iberoamérica Pág. 657-671.

4.-ROBINSÓN / ROBINSÓN Química Analítica Contemporánea, Ed. Pearson Pág. 404 – 420, 425-430.

5.-SKOOG “Análisis Instrumental” 4ª Edición Editorial McGraw Hill 1994.

6.-CONNORS “Curso de Análisis Farmacéutico” Editorial Reverte S.A. 1980.

7.-PLUNKETT “Manual de Toxicología Industrial” Editoria URMO Ediciones 1974.

8.- MAZZA, J. “Hematología Clínica”. 3ed. Marbán. España. 2003 p. 489.

9.-Manual de Análisis Bioquímico Clínico. UNAM. México p.p.15, 59.

NORMA Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

NOM-009-STPS-1993, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo.

NOM-012-STPS-1993, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen, manejen, almacenen o transporten fuentes generadoras o emisoras de radiaciones ionizantes.

NOM-114-STPS-1994, Sistema para la identificación y comunicación de riesgos por sustancias químicas en los centros de trabajo.

NOM-052-ECOL-1993, Que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

NORMA Oficial Mexicana NOM-018-STPS-2000, Sistema para la identificación y comunicación de peligros.

“TELEFONOS DE EMERGENCIA”

INSTITUCIONES MUNICIPALES Y ESTATALES DE EMERGENCIA

| | |
|--|-----------------------------|
| Bomberos Cuautitlán Izcalli..... | 58996657/060 |
| Bomberos Naucalpan..... | 55603868 |
| Bomberos Tlalnepantla..... | 55653638/072 |
| Cruz Roja Cuautitlán Izcalli..... | 58733535/58733545 |
| Cruz Roja Cuautitlan México..... | 58720457/58726140 |
| Cruz Roja de Ecatepec..... | 57871540/57703548 |
| I.M.S.S Clínica 52 Infonavit Norte, C.Izcalli..... | 58710322 |
| Urgencias..... | 58710683 |
| I.M.S.S Clínica 62 Cuautitlán México..... | 58720243/58720066 |
| I.M.S.S Hospital Regional“La Quebrada”..... | 53100133/Urgencias Ext. 283 |
| I.S.E.M.Y.M. Cd. Satélite Naucalpan..... | 55624368 |
| I.S.E.M.Y.M. Cuautitlán Izcalli..... | 58713949 |
| Ministerio Público Cuautitlán Izcalli..... | 58732354 |
| Ministerio Público Cuautitlán México..... | 58720648/58732212 |
| Policía Cd. Satélite..... | 55620722 |
| Policía Cuautitlán México..... | 58720856 |
| Policía Judicial Cuautitlán México..... | 58721231 |
| Policía Naucalpan..... | 53730291/55605210 |
| Policía Tlalnepantla..... | 53663922/53663923/5390720 |
| Presidencia Cuautitlán Izcalli..... | 58642500 |
| Presidencia Cuautitlán México..... | 26207800 |
| Protección Civil Cuautitlán Izcalli..... | 58996658 |
| Seguridad Pública Cuautitlán Izcalli..... | 589966648 |
| Tránsito Cuautitlán Izcalli..... | 58737935 |
| Tránsito Cuautitlán México..... | 58720856 |

CIUDAD UNIVERSITARIA

| | |
|--|--|
| Auxilio UNAM..... | 22430 a la 22433/56160967/ 56161922 |
| Bomberos..... | 205665/ 20566 56161560 |
| Central de Emergencias..... | 56222440 / 56160289/56160914 ext.55 |
| Dirección de Servicios Generales..... | 26470 / 26491/56650302 Fax |
| Información del Centro Médico Universitario... | 20142 |
| Servicios Médicos Urgencias..... | 56160240/20202 |

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

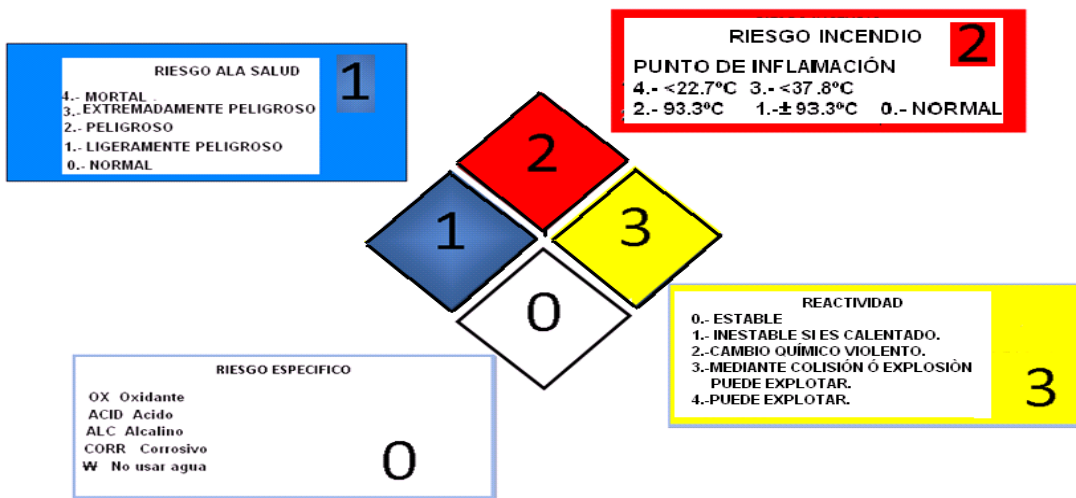
| | |
|---|---------------|
| Clínica Universitaria de Salud Integral (C.U.S.I) | |
| Dir. René Linares R..... | 58705701 |
| Protección a la Comunidad..... | 31931 |
| Servicios Médicos Campo 1..... | 32042 |
| Servicios Médicos Campo 4..... | 31933 |
| Unidad Jurídica..... | 31956 / 31957 |

CÒDIGO NFPA (National Fire Protection Association)

La National Fire Protection Association de los Estados Unidos, desarrollado un sistema para indicar los peligros químicos, que es especialmente útil para cualquier persona interesada en la seguridad, tanto para el transporte, almacenamiento o manejo de productos químicos, conocido como rombo o diamante para la identificación de peligro según la norma NFPA 704.

En cada uno de los espacios coloreados tiene un número que va de 0 a 4; donde el 0 corresponde al menor nivel de peligro, mientras que el 4 corresponde al nivel máximo.

ROMBO NFPA 704



ROJO: CON ESTE COLOR SE INDICAN LOS RIESGOS DE INFLAMABILIDAD.
AZUL: CON ESTE COLOR SE INDICAN LOS RIESGOS DE SALUD.
AMARILLO: CON ESTE COLOR SE INDICAN LOS RIESGOS POR REACTIVIDAD.
BLANCO: SE HACEN INDICACIONES ESPECIALES POR ALGUNOS PRODUCTOS. COMO SON LOS PRODUCTOS OXIDANTES, CORROSIVOS, REACTIVOS CON AGUA.

PELIGROS ESPECIALES



El siguiente cuadro muestra los niveles de peligrosidad, con su respectiva escala numérica

| NUMERO DE CÓDICO | AZUL- SALUD | ROJO-INFLAMABILIDAD | AMARILLO- REACTIVIDAD |
|------------------|--|---|--|
| 4 | SUSTANCIAS QUE CON UNA CORTA EXPOSICIÓN PUEDEN CAUSAR LA MUERTE O EN SU CASO DAÑO PERMANENTE AUN EN CASO DE ATENCIÓN MÉDICA RÁPIDA. Ej. ÁCIDO FLUORHÍDRICO | SON SUSTANCIAS QUE SE VAPORIZAN RÁPIDO O COMPLETAMENTE A LA TEMPERATURA Y PRESIÓN ATMOSFERICA NORMAL, OQUE SE QUEMEN O SE DISPERSEN FACILMENTE EN EL AIRE. Ej. ACETALDEHÍDO | MATERIALES QUE POR SI MISMOS SON CAPACES DE EXPLOTAR O DETONAR, O DE REACCIONES EXPLOSIVAS A TEMPERATURAS Y PRESIÓN NORMALES. Ej. NITROGLICERINA |
| 3 | SON SUSTANCIAS QUE BAJO O CORTA EXPOSICIÓN PUEDEN CAUSAR DAÑOS TEMPORALES O PERMANENTES AUNQUE SEA DE PRONTA ATENCIÓN MÉDICA. Ej. HIDROXIDO DE POTASIO. | SON LIQUIDOS Y SÓLIDOS QUE SE PUEDEN ENCENDER EN CASI TODAS LAS CONDICIONES NORMALES DE TEMPERATURA. Ej. ESTIRENO | MATERIALES QUE POR SI MISMOS SON CAPACES DE DETONAR O DE RECCIONES EXPLOSIVAS QUE REQUIERE DE UN FUERTE AGENTE INICIADOR O QUE SE DEBE CALENTAR EN CONFINAMIENTO ANTES DE IGNICIÓN, O QUE REACCIONAN EXPLOSIVAMENTE CON AGUA. Ej. DINITROANILINA. |
| 2 | MATERIALES QUE BAJO SU EXPOSICIÓN INTENSA O CONTINUA PUEDE CAUSAR INCAPACIDAD TEMPORALES O POSIBLES DAÑOSPERMANENTES, A MENOS QUE SE DE TRATAMIENTO MÉDICO RÁPIDO. Ej. TRIETANOLAMINA. | SON MATERIALES QUE DEBEN CALENTARSE MODERADAMENTE O EXPONERSE A TEMPERATURAS ALTAS ANTES DE QUE OCURRA EL INCENDIO. Ej. ORTO-CRESOL. | SON MATERILES INESTABLES QUEESTAN LISTOS A SUFRIR CAMBIOS QUÍMICOS VIOLENTOS PERO QUE NO DETONAN.TAMBIEN INCLUYE AQUELLOS MATERIALES QUE RACCIONAN VIOLENTAMENTE CON EL AGUA O QUE PUEDEN FORAMAR MEZCLAS POETENCIALMENTE EXPLOSIVAS CON EL AGUA. Ej. ÁCIDO SULFÚRICO. |
| 1 | MATERIALES QUE BAJO SU EXPOSICIÓN CAUSAN IRRITACIÓN PERO SON SOLO DAÑOS RSIDUALES MENORES AÚN EN AUSENCIA DE TARATAMIENTO MÉDICO. Ej. GLICERINA. | SON MATERILES QUE DEBEN PRECALENTARSE ANTES DE QUE OCURRA LA IGNICIÓN .Ej. ACEITE DE PALMA. | METERIALES QUE SON MUY ESTABLES, PERO QUE PUEDEN LLEGAR A SER INESTABLES SOMETIDOS A PRESIONES Y TEMPERATURAS ELEVADAS, O QUE PUEDEN REACIONAR EN CONTACTO CON EL AGUA, CON ALGUNA LIBERACIÓN DE ENERGÍA, AUNQUE NO EN FORMA NO MUY VIOLENTA. Ej. ÁCIDO NÍTRICO. |
| 0 | SON MATERIALES QUE BAJO SU EXPOSICIÓNEN CONDICIONES DE INCENDIO NO OFRECEN OTRO PELIGRO QUE EL MATERIAL COMBUSTIBLE ORDINARIO. Ej. HIDROGENO. | MATERILES QUE NO SE QUEMAN. Ej. ÁCIDO CLORHIDRICO. | MATERIALES DE QUE POR SI SON NORMALMENTE ESTABLES AÚN EN CONDICIONES DE INCENDIO O QUE NO REACCIONAN CON EL AGUA. Ej. CLORURO DE BARIO. |

RIESGOS QUÍMICOS

Se le llama riesgo químico a la posibilidad de recibir daños por efecto de un producto químico.

CONTAMINANTES QUÍMICOS

Cualquier producto químico del laboratorio se considera un contaminante químico porque todos pueden ser tóxicos, es decir, causar efectos adversos a las personas.

La **toxicidad** es la capacidad que tiene una sustancia para causar daños de origen químico a los seres vivos.

La toxicidad depende de varios factores, como son la forma química del agente tóxico, su estado físico, la vía de entrada al organismo, la dosis del agente tóxico absorbido, el estado fisiológico del individuo y su susceptibilidad individual.

LA IDENTIFICACIÓN DE LOS RIESGOS QUÍMICOS

Los productos químicos pueden ser peligrosos, las personas que los manipulen deberán contar para su protección con la información suficiente sobre dichos peligros y sobre las medidas de protección que deben aplicar. Los fabricantes son los responsables de proporcionar esa información, tanto en las fichas de seguridad como resumidas en las etiquetas de los recipientes en los que distribuyen dichos productos.

Las **fichas de seguridad** son documentos que dan información detallada de los riesgos del producto al que acompañan.

LA ETIQUETA DE SEGURIDAD

La etiqueta de seguridad proporciona información resumida, en pictogramas y en abreviaturas, de la peligrosidad de un producto químico y los consejos sobre su utilización y mantenimiento.

Las etiquetas incluyen información sobre los riesgos generales del producto, sobre los riesgos concretos y también consejos de seguridad y conservación.

- Los riesgos generales se indican mediante símbolos o pictogramas que advierten del efecto adverso concreto que se puede sufrir y de la peligrosidad de la sustancia que contiene el envase. Por norma, han de estar dibujados en negro en un cuadro que tiene el fondo de color amarillo – naranja. Ver figura 1A.



FIGURA 1A: PICTOGRAMAS DE IDENTIFICACIÓN DEL TIPO DE PELIGRO QUE PUEDEN PRESENTAR LAS DIVERSAS SUSTANCIAS QUÍMICAS.

- La información sobre riesgos concretos se resumen en las llamadas frases R. Las frases R son enunciados breves que especifican la naturaleza de los riesgos de las distintas sustancias químicas y preparados peligrosos. En el documento 1.0 se muestra la lista.

DOCUMENTO 1.0
FRASES R - RIESGOS CONCRETOS

- R1** Explosivo en estado seco.
- R2** Riesgo de explosión por choque, fricción, fuego u otras fuentes de ignición.
- R3** Alto riesgo de explosión por choque, fricción, fuego u otras fuentes de ignición.
- R4** Forma compuestos metálicos explosivos muy sensibles.
- R5** Peligro de explosión en caso de calentamiento.
Peligro de explosión en contacto o sin contacto con el aire.
- R6** Peligro de explosión en caso de calentamiento.
- R7** Puede provocar incendios.
- R8** Peligro de fuego en contacto con materias combustibles.
- R9** Peligro de explosión al mezclar con materias combustibles.
- R10** Inflamable.
- R11** Fácilmente inflamable.
- R12** Extremadamente inflamable.
- R14** Reacciona violentamente con el agua.
- R15** Reacciona con el agua liberando gases extremadamente inflamables.
- R16** Puede explosionar en mezcla con sustancias comburentes.
- R17** Se inflama espontáneamente en contacto con el aire.
Al usarlo pueden formarse mezclas aire-vapor explosivas/inflamables.
- R18** Puede formar peróxidos explosivos.
- R19** Puede formar peróxidos explosivos.
- R20** Nocivo por inhalación.
- R21** Nocivo en contacto con la piel.
- R22** Nocivo por ingestión.
- R23** Tóxico por inhalación.
- R24** Tóxico en contacto con la piel.
- R25** Tóxico por ingestión.
- R26** Muy tóxico por inhalación.
- R27** Muy tóxico en contacto con la piel.
- R28** Muy tóxico por ingestión.
- R29** En contacto con agua libera gases tóxicos.
- R30** Puede inflamarse fácilmente al usarlo.
- R31** En contacto con ácidos libera gases tóxicos.
- R32** En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
- R33** Peligro de efectos acumulativos.
- R34** Provoca quemaduras.
- R35** Provoca quemaduras graves.
- R36** Irrita los ojos.
- R37** Irrita las vías respiratorias.
- R38** Irrita la piel.
- R39** Peligro de efectos irreversibles muy graves.
- R40** Posibles efectos cancerígenos.
- R41** Riesgo de lesiones oculares graves.
- R42** Posibilidad de sensibilización por inhalación.
- R43** Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
Riesgo de explosión al calentarlo en ambiente confinado.
- R44** Riesgo de explosión al calentarlo en ambiente confinado.
- R45** Puede causar cáncer.
- R46** Puede causar alteraciones genéticas hereditarias.
- R48** Riesgo de efectos graves para la salud en caso de exposición prolongada.
- R49** Puede causar cáncer por inhalación.
- R50** Muy tóxico para los organismos acuáticos.
- R51** Tóxico para los organismos acuáticos.

- R52** Nocivo para los organismos acuáticos.
- R53** Puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.
- R54** Tóxico para la flora.
- R55** Tóxico para la fauna.
- R56** Tóxico para los organismos del suelo.
- R57** Tóxico para las abejas.
- R58** Puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente.
- R59** Peligroso para la capa de ozono.
- R60** Puede perjudicar la fertilidad.
- R61** Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto.
- R62** Posible riesgo de perjudicar la fertilidad.
- R63** Posible riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto.
- R64** Puede perjudicar a los niños alimentados con leche materna.
- R65** Nocivo: Si se ingiere puede causar daño pulmonar.
- R66** La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.
- R67** La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo.
- R68** Posibilidad de efectos irreversibles.

También es posible la combinación de las frases R, como por ejemplo:

COMBINACIÓN DE FRASES R

- R14/15** Reacciona violentamente con el agua, liberando gases extremadamente inflamables.
- R15/29** En contacto con el agua, libera gases tóxicos y extremadamente inflamables.
- R20/21** Nocivo por inhalación y en contacto con la piel
- R20/22** Nocivo por inhalación y por ingestión.
- R20/21/22** Nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel.
- R21/22** Nocivo en contacto con la piel y por ingestión.
- R23/24** Tóxico por inhalación y en contacto con la piel.
- R23/25** Tóxico por inhalación y por ingestión.
- R23/24/25** Tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel.
- R24/25** Tóxico en contacto con la piel y por ingestión.
- R26/27** Muy tóxico por inhalación y en contacto con la piel.
- R26/28** Muy tóxico por inhalación y por ingestión.

- Los consejos de seguridad y conservación, por su parte, están resumidos en las frases S. Se refieren básicamente a los consejos de uso, manipulación, conservación y almacenamiento de la sustancia. En el documento 1.1 se ve la lista completa. Al igual que las frases R, cuando es necesario proporcionar varios consejos, las frases S se pueden combinar, como en estos casos:

S7/9. Manténgase el recipiente bien cerrado y en lugar ventilado.

S36/37/39. Usar indumentaria y guantes adecuados y protección para ojos, la cara o ambos.

DOCUMENTO 1.1

FRASES S – CONSEJOS DE SEGURIDAD Y CONSERVACIÓN

S 1 Consérvese bajo llave.

S 2 Manténgase fuera del alcance de los niños.

S 3 Consérvese en lugar fresco.

S 4 Manténgase lejos de locales habitados.

S 5 Consérvese en...

S 5.1 Agua.

S 5.2 Petróleo.

S 6 Consérvese en...

S 6.1 Nitrógeno.

S 6.2 Argón.

S 6.3 Carbono dióxido.

S 7 Manténgase el recipiente bien cerrado.

S 8 Manténgase el recipiente en lugar seco.

S 9 Consérvese el recipiente en lugar bien ventilado.

S 12 No cerrar herméticamente el recipiente.

S 13 Manténgase lejos de alimentos, bebidas y piensos.

S 14 Consérvese lejos de...

S 14.1 Reductores, compuestos de metales pesados, ácidos y álcalis.

S14.2 Productos oxidantes y ácidos, compuestos de metales pesados.

S 14.3 Hierro.

S 14.4 Agua.

S 14.5 Ácidos.

S 14.6 Lejías.

S 14.7 Metales.

S 14.8 Productos oxidantes y ácidos.

S 14.9 Sustancias orgánicas inflamables.

S 14.10 Ácidos, medios de reducción.

S 14.11 Sustancias orgánicas inflamables.

S 15 Protéjase del calor.

S16 Protéjase de fuentes de ignición. No fumar.

S 17 Manténgase lejos de materias combustibles.

S18 Manipúlese y ábrase el recipiente con prudencia.

S 20 No comer ni beber durante su utilización.

S21 No fumar durante su utilización.

S 22 No respirar el polvo.

S23 No respirar los gases/humos/vapores aerosoles.

S 23.1 No respirar el gas.

S 23.2 No respirar el vapor.

S 23.3 No respirar el aerosol.

S 23.4 No respirar el humo.

S 23.5 No respirar el vapor aerosol.

S 24 Evítese el contacto con la piel.

S 25 Evítese el contacto con los ojos.

S 26 En caso de contacto con los ojos, lávenlos inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

S 27 Quítese inmediatamente la ropa manchada o salpicada.

S 28 En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con...

S 28.1 Agua.

S 28.2 Agua y jabón.

S 28.3 Agua y jabón, a ser posible también con polietilenglicol 400.

S 28.4 Polietilenglicol 300 y etanol (2.1) y después con abundante agua y jabón.

S28.5 Polietilenglicol 400.

S28.6 Polietilenglicol 400 y agua abundante.

S28.7 Agua y jabón ácido.

S29 No tirar los residuos por el desagüe.

S30 No echar jamás agua al producto.

S33 Evítese la acumulación de cargas electrostáticas.

S 34 Evítense golpes y rozamientos.

S35 Elimínense los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.

S35.1 Elimínense los residuos y sus recipientes después de un tratamiento con sodio hidróxido al 2%.

S 36 Usen indumentaria protectora adecuada.

S 37 Usen guantes adecuados.

S38 En caso de ventilación insuficiente, usen equipo respiratorio adecuado.

S39 Usen protección para los ojos/la cara.

S40 Para limpiar el suelo y los objetos contaminados por este producto, usar ...

S 40.1 Agua.

S41 En caso de incendio y/o de explosión, no respire los humos.

S42 Durante las fumigaciones/pulverizaciones utilícese equipo respiratorio adecuado.

S 43 En caso de incendio usar...

S 43.1 Agua.

S43.2 Agua o polvo extintor.

S43.3 Polvo extintor. No usar nunca agua.

S43.4 Carbono dióxido. No usar nunca agua.

S 43.5 Halógenos. No usar nunca agua.

S 43.6 Arena. No usar nunca agua.

S 43.7 Polvo extintor para metales. No usar nunca agua.

S43.8 Arena, carbono dióxido o polvo extintor. No usar nunca agua.

S 44 En caso de malestar, acuda al médico (si es posible, muéstrela etiqueta).

S45 En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico (si es posible, muéstrela etiqueta).

S 46 En caso de ingestión, acuda inmediatamente al médico y muéstrela etiqueta o el envase.

S 47 Consérvese a una temperatura no superior a °C.

S 48 Consérvese húmedo con

S 48.1 Agua.

S 49 Consérvese únicamente en el recipiente de origen.

S 50 No mezclar con...

S 50.1 Ácidos.

S 50.2 Lejías.

S 50.3 Ácidos fuertes, bases fuertes, metales no férricos y sus sales.

S 51 Usese únicamente en lugares bien ventilados.

S 52 No usar sobre grandes superficies en locales habitados.

S 53 Evítese la exposición - recábense instrucciones especiales antes del uso.

S 54 Obtener autorización de las autoridades de control de la contaminación antes de verter hacia las instalaciones de depuración de aguas residuales.

S 55 Trátese con las mejores técnicas disponibles antes de verter en desagües o en el medio acuático.

S 56 No verter en desagües o en el medio ambiente. Elimínense en un punto autorizado de recogida de residuos.

S 57 Utilícese un envase de seguridad adecuada para evitar la contaminación del medio ambiente.

S 58 Elimínese como residuo peligroso.

S 59 Remitir al fabricante proveedor para obtener información sobre su reciclado/recuperación.

S 61 Evitese su liberación al medio ambiente. Recabense instrucciones específicas de la ficha de datos de seguridad.

S 62 En caso de ingestión no provocar el vómito: acuda inmediatamente al médico y muéstrele la etiqueta o el envase.

S 60 Elimínese el producto y/o recipiente como residuos peligrosos.

S 63 En caso de accidente por inhalación, alejar a la víctima fuera de la zona contaminada y mantenerla en reposo.

S 64 En caso de ingestión, lavar la boca con agua (solamente si la persona esta consciente).

RECOMENDACIÓN GENERAL

- Antes de mezclar las sustancias, asegúrate de estudiar las incompatibilidades que pueda haber entre ellas, como pueden ser las combustiones, las explosiones o el desprendimiento de gases tóxicos. Ver tabla 2.0.

| |  |  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|---|--|--|
|  | SI | NO | NO | NO | NO | NO |
|  | NO | SI | NO | NO | NO | 2 |
|  | NO | NO | SI | NO | 1 | NO |
|  | NO | NO | NO | SI | SI | SI |
|  | NO | NO | 1 | SI | SI | SI |
|  | NO | 2 | SI | SI | SI | SI |

TABLA 2.0 INCOMPATIBILIDADES EN LAS COMBINACIONES DE PRODUCTOS QUÍMICOS.

SI: Son compatibles, NO: No son compatibles, 1: Pueden almacenarse juntos si los envases son de seguridad, 2: Pueden almacenarse juntos si se adoptan medidas especiales.

ASPECTOS TEÓRICOS

APÉNDICE

FICHAS DE SEGURIDAD QUÍMICA

| Nombre | Ácido Acetilsalicílico | | Fórmula | $C_9H_8O_4$ |
|-------------------|--|--|---------|-------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Aire limpio, reposo, respiración artificial si estuviera indicada y someter a atención médica. | | |
| | Ingestión | Enjuagar la boca y someter a atención médica. | | |
| | Contacto con ojos | Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad). Después, consultar a un médico. | | |
| | Contacto con piel | Aclarar la piel con agua abundante o ducharse y solicitar atención médica. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | NO verter en el alcantarillado. Barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente, eliminar el residuo con agua abundante y trasladarlo a continuación a un lugar seguro. (Protección personal adicional: equipo autónomo de respiración). | | | |
| DESECHOS | Esta sustancia puede ser peligrosa para el ambiente. Debería prestarse atención especial al agua | | | |

| Nombre | Ácido Bórico | | Fórmula | H_3BO_3 |
|-------------------|---|--|---------|-----------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Aire limpio, reposo. Proporcionar asistencia médica | | |
| | Ingestión | Enjuagar la boca. Proporcionar asistencia médica. | | |
| | Contacto con ojos | Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica | | |
| | Contacto con piel | Quitar las ropas contaminadas. Aclarar y lavar la piel con agua y jabón. Proporcionar asistencia médica | | |
| FUGAS Y DERRAMES | <p>Precauciones personales: Utilizar todos los elementos de protección personal correspondientes incluyendo respirador de filtro P2 contra partículas nocivas.</p> <p>Métodos de limpieza: Barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente; si fuera necesario, humedecer el polvo para evitar su dispersión. Eliminar el residuo con agua abundante.</p> | | | |
| DESECHOS | Los restos de producto químico deberían disponerse de acuerdo a tecnología aprobada y a la legislación local. El envase contaminado, debe tratarse como el propio residuo químico. No verter en ningún sistema de cloacas, sobre el piso o extensión de agua. | | | |

| Nombre | Ácido Úrico | | Fórmula | $C_5H_4N_4O_3$ |
|-------------------|---|--|---------|----------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Aire limpio, reposo. Proporcionar asistencia médica | | |
| | Ingestión | Enjuagar la boca. Proporcionar asistencia médica. | | |
| | Contacto con ojos | Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica | | |
| | Contacto con piel | Quitar las ropas contaminadas. Aclarar y lavar la piel con agua y jabón. Proporcionar asistencia médica | | |
| FUGAS Y DERRAMES | <p>Precauciones personales: Utilizar todos los elementos de protección personal correspondientes incluyendo respirador de filtro P2 contra partículas nocivas.</p> <p>Métodos de limpieza: Barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente; si fuera necesario, humedecer el polvo para evitar su dispersión. Eliminar el residuo con agua abundante.</p> | | | |
| DESECHOS | Los restos de producto químico deberían disponerse de acuerdo a tecnología aprobada y a la legislación local. El envase contaminado, debe tratarse como el propio residuo químico. No verter en ningún sistema de cloacas, sobre el piso o extensión de agua. | | | |

| Nombre | Agua Desionizada | | Fórmula | H ₃ O y OH |
|-------------------|--|--------------|---------|-----------------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | No Requerido | | |
| | Ingestión | No Requerido | | |
| | Contacto con ojos | No Requerido | | |
| | Contacto con piel | No Requerido | | |
| FUGAS Y DERRAMES | Disponer conforme a las regulaciones locales vigentes para este tipo de sustancia, se puede verter el producto por el desagüe. | | | |
| DESECHOS | No hay peligro ambiental. | | | |

| Nombre | Alcohol Etílico | | Fórmula | CH ₃ CH ₂ OH |
|-------------------|---|---|---------|------------------------------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Trasladar al aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial. Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Mantener la víctima abrigada y en reposo. Buscar atención médica inmediatamente. | | |
| | Ingestión | Lavar la boca con agua. Inducir al vómito. No administrar eméticos, carbón animal ni leche. Buscar atención médica inmediatamente (puede tratarse de alcohol desnaturalizado). | | |
| | Contacto con ojos | Lavar con abundante agua, mínimo durante 15 minutos. Levantar y separar los párpados para asegurar la remoción del químico. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica. | | |
| | Contacto con piel | Lavar la piel con abundante agua. Retirar la ropa contaminada y lávela con abundante agua y jabón. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | Mantener alejadas fuentes de ignición. Cubrir el área de derrame con rocío de agua para diluir el producto y eliminar vapores. En caso de pequeños derrames utilizar material inerte absorbente. Evitar que el producto sea conducido al drenaje. | | | |
| DESECHOS | Se puede realizar una incineración controlada del material una vez ha sido absorbido o se puede dejar evaporar. | | | |

| Nombre | Alcohol Propílico | | Fórmula | H ₃ C-CH ₂ -CH ₂ OH |
|-------------------|---|---|---------|--|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Trasladar al aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial. Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Mantener la víctima abrigada y en reposo. Buscar atención médica inmediatamente. | | |
| | Ingestión | Tomar carbón activado. Buscar atención médica inmediatamente. | | |
| | Contacto con ojos | Lavar con abundante agua, mínimo durante 15 minutos. Levantar y separar los párpados para asegurar la remoción del químico. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica. | | |
| | Contacto con piel | Retirar la ropa y lavar la piel con abundante agua y jabón. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | Mantener alejadas fuentes de ignición. Cubrir el área de derrame con rocío de agua para diluir el producto y eliminar vapores. En caso de pequeños derrames utilizar material inerte absorbente. Evitar que el producto sea conducido al drenaje. | | | |
| DESECHOS | Se puede realizar una incineración controlada del material una vez ha sido absorbido o se puede dejar evaporar. | | | |

| Nombre | Cafeína | | Fórmula | $C_8H_{10}N_4O_2$ |
|-------------------|--|---|---------|-------------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Aire limpio, reposo. Proporcionar asistencia médica | | |
| | Ingestión | Enjuagar la boca. Dar a beber una papilla de carbón activado y agua. Provocar el vómito (UNICAMENTE EN PERSONAS CONSCIENTES). Proporcionar asistencia médica. | | |
| | Contacto con ojos | Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica. | | |
| | Contacto con piel | Quitar las ropas contaminadas. Aclarar la piel con agua. Proporcionar asistencia médica. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | <p>Precauciones personales: Utilizar todos los elementos de protección personal correspondientes incluyendo respirador de filtro P2 contra partículas nocivas.</p> <p>Métodos de limpieza: Barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente, si fuera necesario, humedecer el polvo para evitar su dispersión. Recoger cuidadosamente el residuo, trasladarlo a continuación a un lugar seguro.</p> | | | |
| DESECHOS | Los restos de producto químico deberían disponerse de acuerdo a tecnología aprobada y a la legislación local. El envase contaminado, debe tratarse como el propio residuo químico. No verter en ningún sistema de cloacas, sobre el piso o extensión de agua. | | | |

| Nombre | Cianometano | | Fórmula | C_2H_3N/CH_3CN |
|-------------------|--|--|---------|------------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Aire limpio, reposo, respiración artificial si estuviera indicada y proporcionar asistencia médica | | |
| | Ingestión | La boca, dar a beber agua abundante, provocar el vómito (UNICAMENTE EN PERSONAS CONSCIENTES) y proporcionar asistencia médica. | | |
| | Contacto con ojos | Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica | | |
| | Contacto con piel | Quitar las ropas contaminadas, aclarar la piel con agua abundante o ducharse y proporcionar asistencia médica. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | <p>Precauciones personales: Traje de protección completo incluyendo equipo autónomo de respiración.</p> <p>Métodos de limpieza: Ventilar. Eliminar todas las fuentes de ignición. Recoger el líquido procedente de la fuga en recipientes herméticos, absorber el líquido residual en arena seca o absorbente inerte y trasladarlo a lugar seguro.</p> | | | |
| DESECHOS | Los restos de producto químico deberían disponerse de acuerdo a tecnología aprobada y a la legislación local. El envase contaminado, debe tratarse como el propio residuo químico. No verter en ningún sistema de cloacas, sobre el piso o extensión de agua. | | | |

| Nombre | Hidróxido de sodio | | Fórmula | NaOH |
|-------------------|---|---|---------|------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Trasladar al aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial. Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Mantener a la persona abrigada y en reposo. | | |
| | Ingestión | Lavar la boca con agua. Si está consciente, suministrar abundante agua. No inducir el vómito. Buscar atención médica inmediatamente. | | |
| | Contacto con ojos | Lavar con abundante agua, mínimo durante 15 minutos. Levantar y separar los párpados para asegurar la remoción del químico. Colocar una venda esterilizada. Buscar atención médica. | | |
| | Contacto con piel | Retirar la ropa y calzado contaminado. Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón, mínimo durante 15 minutos. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | Evacuar o aislar el área de peligro. Restringir el acceso a personas innecesarias y sin la debida protección. Ubicarse a favor del viento. Usar equipo de protección personal. Ventilar el área. No permitir que caiga en fuentes de agua y alcantarillas. Los residuos deben recogerse con medios mecánicos no metálicos y colocados en contenedores apropiados para su posterior disposición. | | | |
| DESECHOS | Debe tenerse presente la legislación ambiental local vigente relacionada con la disposición de residuos para su adecuada eliminación. Los residuos de este material pueden ser llevados a un relleno sanitario legalmente autorizado para residuos químicos para su debida neutralización. | | | |

| Nombre | Fosfato de Potasio | | Fórmula | K_2HPO_4 |
|-------------------|--|--|---------|------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Traslade a un lugar con ventilación adecuada. Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Solicite atención medica de inmediato | | |
| | Ingestión | De a beber inmediatamente agua o leche. Nunca de nada por la boca a una persona que se encuentre inconsciente. Solicitar asistencia medica de inmediato. | | |
| | Contacto con ojos | Lavar suavemente con agua corriente durante 15 min. Abriendo ocasionalmente los párpados. | | |
| | Contacto con piel | Lavar con agua corriente durante 15 min. Al mismo tiempo quitarse la ropa contaminada y calzado. Solicite atención medica | | |
| FUGAS Y DERRAMES | Use equipo de protección personal; con una pala limpia (plástico), coloque cuidadosamente el material dentro de un recipiente limpio (cubeta de plástico y/o bolsa de polietileno), seco y cubra; retire del área. Lave el área del derrame con agua, pero evitando que el agua de lavado escurra, contener para evitar la introducción a las vías fluviales, alcantarillas, sótanos o áreas confinadas. | | | |
| DESECHOS | | | | |

| Nombre | Tetraborato de Sodio | | Fórmula | $Na_2B_4O_7$ |
|-------------------|--|---|---------|--------------|
| PRIMEROS AUXILIOS | Inhalación | Aire limpio, reposo. | | |
| | Ingestión | Provocar el vómito (UNICAMENTE EN PERSONAS CONSCIENTES) someter a atención médica. | | |
| | Contacto con ojos | Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica. | | |
| | Contacto con piel | Lavar con agua corriente durante 15 min. Al mismo tiempo quitarse la ropa contaminada y calzado. Solicite atención médica. | | |
| FUGAS Y DERRAMES | <p>Precauciones personales: Respirador de filtro P2 para partículas nocivas.</p> <p>Precauciones ambientales: En caso de incendio en el entorno, están permitidas.</p> <p>Métodos de limpieza: Barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente, recoger cuidadosamente el residuo, trasladarlo a continuación a lugar seguro.</p> | | | |
| DESECHOS | Los restos de producto químico deberían disponerse de acuerdo a tecnología aprobada y a la legislación local. El envase contaminado, debe tratarse como el propio residuo químico. No verter en ningún sistema de cloacas, sobre el piso o extensión de agua. | | | |

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

(CLAR)

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) en los últimos diez años ha incrementado su importancia en las diferentes áreas analíticas, tanto en la industria como a nivel de investigación. Muchas de las técnicas de control de calidad de fármacos, alimentos, muestras biológicas, clínicas, aditivos y contaminantes se realizan por el método de CLAR.

El CLAR tiene las siguientes ventajas con respecto a la cromatografía de gases.

- + Su difusión en la fase móvil es mínima, esto se debe a la rapidez del análisis.
- + Por el calor no tiene efectos negativos, generalmente se realiza a temperatura ambiente o por un calentador de columnas a temperaturas menores a 100°C.
- + La muestra no se destruye por lo que se puede volver a utilizar para usos posteriores.

El CLAR es una técnica de separación físico-química que utiliza una fase móvil líquida, esta es ideal para la separación de macromoléculas de interés biológico y de compuestos iónicos ya que no depende de la volatilidad de los componentes. Entre estas macromoléculas se encuentran las proteínas, lípidos, aminoácidos y ácidos nucleídos. Esto se basa en la solubilidad de los compuestos; por lo tanto hay que escoger los disolventes apropiados para que esta pueda llevar a la muestra a través de la columna, también hay que tomar en cuenta que los compuestos se adsorben en menor o mayor en la fase estacionaria y que gracias a las altas presiones con la que se mueve la fase móvil, se obtiene una rápida separación de los componentes de la mezcla.

CLAR esta destinado a aquellas separaciones que no se pueden realizar utilizando la cromatografía de gases (CG), cuando los compuestos no son volátiles, o no se pueden obtener derivados volátiles de ellos de manera simple, o cuando los compuestos a analizar son térmicamente inestables. Más del 70% de las separaciones deben realizarse por CLAR.

La **Cromatografía de Fase Normal**, se basa en la competencia que existe entre las moléculas de la muestra y las de la fase móvil o disolvente por ocupar los sitios activos de las superficies de partículas sólidas que componen la fase estacionaria. Un sólido muy frecuentemente usado es el gel de sílice muy finamente dividido. Su superficie es de naturaleza polar porque su estructura está formada por grupos **Si - O - Si** y **Si - OH** que interactúan con las moléculas de la muestra; esto se muestra en la siguiente figura 1A.

La fase móvil se le llama **eluyente**. Cuando emerge por la salida de la columna se denomina **eluato**. Este proceso que consiste en hacer pasar un líquido (o un gas) a lo largo de una columna de una columna de cromatografía se llama **elusión**.

CLAR es en esencia un método separativo. La columna, se puede considerar el corazón del sistema cromatográfico, alrededor de la cual se monta un equipo de mayor o menor complejidad. El cual consta de las siguientes partes más fundamentales, de las cuales se muestran en la figura 2A.

- **RESERVORIO:** Es el solvente que alimenta al sistema con fase móvil.
- **INYECTOR:** Este sistema permite la introducción de la muestra.
- **BOMBA:** Un sistema para forzar el pasaje de la muestra y la fase móvil a través de la columna.
- **DETECTOR:** Es un sistema de monitoreo; este muestra la concentración del analito de estudio.
- **REGISTRADOR:** Es un sistema de registro de datos.

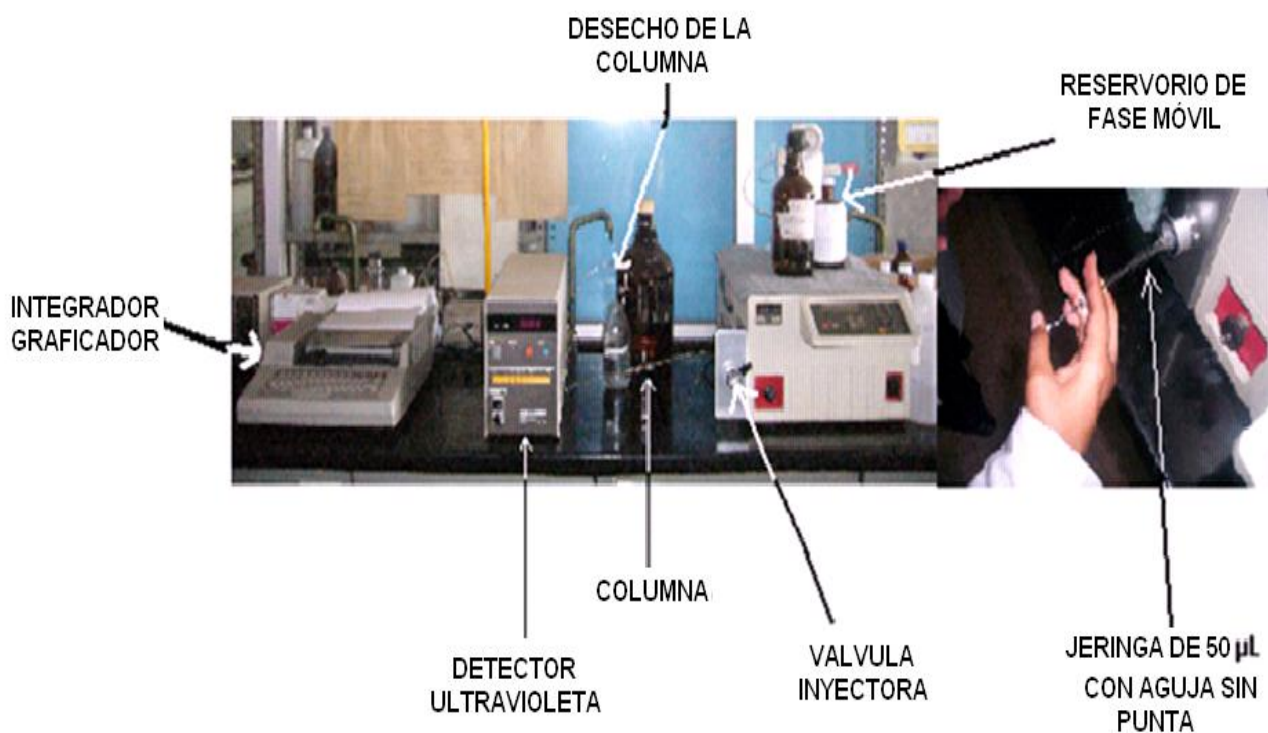


FIGURA 2 A: COMPONENTES BÁSICOS DE UN CROMATÓGRAFO DE LÍQUIDOS

PARAMETROS CROMATOGRÁFICOS

La cromatografía tiene un lenguaje especial su nomenclatura; por lo tanto algunos términos cromatográficos importantes para analizar los resultados obtenidos en una corrida cromatográfica son.

- Cromatograma.
- Volumen de elución.
- Volumen muerto.
- Línea base.
- Tiempo de retención.
- Factor de capacidad.
- Factor de separación.
- Resolución.
- Ancho de pico.
- Platos teóricos.

CÀLCULOS EN CROMATOGRÀFIA

Con los datos que proporciona un cromatograma es posible realizar una serie de cálculos sencillos para conocer parámetros como la eficiencia de la columna, además, si aplicamos técnicas de estándares se puede conocer la concentración del analito problema. A continuación se desarrollan los cálculos más comunes y útiles en cromatografía.

Volumen de Elución (V_e).

También conocido como volumen de retención (V_R).

$$V_R = t_R \times F$$

t_R = Tiempo de retención.

F = Velocidad de flujo (expresado generalmente en ml / min.)

Volumen muerto (V_o)

Es el volumen total de la fase móvil entre el punto de inyección y el de detección, exceptuando al correspondiente a las partículas de la fase estacionaria. Comprende al volumen que la fase móvil puede ocupar entre las partículas, entre las partículas y la pared de la columna, en el interior de las tuberías, uniones, filtrados, etc.

Línea Base.

Es la porción del cromatograma donde solo se aprecia la elusión de la fase móvil, sin señal debida al soluto.

Número de Platos Teóricos (N): Mide la eficiencia de la columna cromatografica y por lo tanto su poder separativo; no hay un valor establecido mientras más grande es más eficiente la columna. Se considera una buena eficiencia en la resolución cuando el número de equilibrios es mayor a 1000 platos teóricos por columna.

N = Número de platos teóricos.

t_R = Tiempo que transcurre desde la inyección

hasta el centro del pico del componente.

ΔW = Ancho del pico del componente.

t_R y ΔW se expresan en las mismas unidades (tiempo, volumen, distancia, etc.).

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{\Delta W} \right)^2$$

Altura Equivalente de un Plato Teórico (AEPT).

Este parámetro de un plato teórico puede considerarse la longitud de la columna necesaria para establecer un equilibrio de distribución entre la fase estacionaria del soluto y la fase móvil.

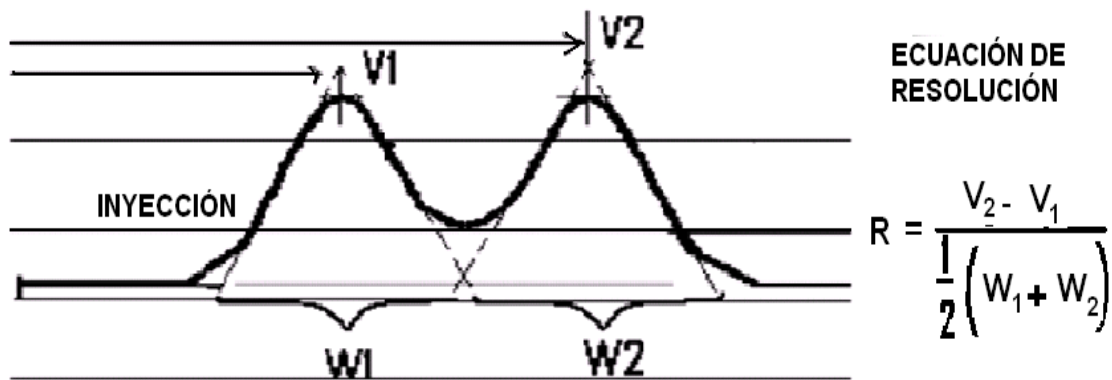
AEPT = Altura equivalente de un plato teórico.

N = Número de platos teóricos.

L = Longitud de la columna.

$$AEPT = \frac{L}{N}$$

Cálculo de la Resolución (Rs): Es el grado de definir la señal de un producto que no se sobreponga. Con este parámetro podemos medir la separación entre componentes. Cuando es **mayor a 1.5** se dice que los picos están resueltos; es decir no se traslapan los anchos. Esto se muestra en la ecuación de resolución 2A.



2A: RESOLUCIÓN ENTRE DOS PICOS CROMATOGRÁFICOS.

$t_1 = V_1$ = Distancia desde la aplicación hasta el centro del pico 1.

$t_2 = V_2$ = Distancia desde la aplicación hasta el centro del pico 2

W_1 y W_2 = Ancho de los picos 1 y 2.

Tiempo de Retención (t_R): Que tanto permanece en la columna el analito. Este es un parámetro de identificación. Tiempo que tarda un analito después de la inyección hasta emerger el máxima del pico. Es el tiempo que toma el soluto en recorrer toda la columna. Tiempo de Retención Neto o Relativo (t'_R).

• Tiempo muerto (t_0).

Tiempo Muerto (t_0): Distancia que tiene el analito no retenido. Es el tiempo de permanencia en el sistema de retención. El tiempo de retención de un pico no retenido (t_M o t_0) es el tiempo requerido por un compuesto no retenido para viajar a través de toda la columna.

Factor de Capacidad (Factor de retención) (K): Tiempo que pasa el analito en fase estacionaria. El factor de capacidad (K') es otra medida de la retención. Es la relación de tiempo que gasta el soluto en las fases estacionaria y móvil.

$$K' = \frac{\text{Número de moles de soluto en la fase estacionaria}}{\text{Número de moles de soluto en la fase móvil}}$$

Puede demostrarse que K' es proporcional al tiempo de retención del soluto y se calcula para el pico enésimo como:

$$K' = \frac{(V_R - V_0)}{t_0}$$

$$K' = \frac{(t_R - t_0)}{V_0}$$

La K' es una operación muy frecuente, ya que su valor se emplea tanto para evaluar la retención como para ajustar la separación. Así, el valor de K' se regula entre 2 y 10 para mezclas de pocos componentes, o entre 0.5 y 20 si fuera necesario hacer lugar en el cromatograma para alojar un gran número de picos.

Factor de separación ò Selectividad (α): es una medida del tiempo o distancia entre el máximo de dos picos. Es una medida del tiempo o distancia entre el máximo de dos picos. Se calcula utilizando la siguiente ecuación si $\alpha = 1$, entonces los picos tienen el mismo tiempo de retención y co – eluyen.

K'_1 = Factor de capacidad para el primer pico.

$$\alpha = \frac{K'_2}{K'_1}$$

K'_2 = Factor de capacidad para el segundo pico.

Ancho de Pico (W): Es para medir la eficacia de la columna, la resolución. Esta mediación se puede efectuar con varios objetivos: Es para calcular la eficacia de la columna (Platos teóricos), la resolución, para el cálculo manual del área de picos y de algunos integradores electrónicos se ingresa como dato de ajuste de integración.

Existen diversos métodos para el cálculo de concentraciones en un sistema cromatográfico. Los hay sencillos, pero poco confiables, pues no utilizan ninguna sustancia de referencia, y los hay más elaborados con mayor grado de confiabilidad, estos métodos son:

1. Normalización.
2. Estándar interno.
3. Estándar externo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HERNANDEZ SALDAÑA, Martha Berenice. Manual de operación para el manejo del cromatografo Clar waters y del software milenium 2010 en el ambiente multimedia, México UNAM, 2001. 4- 19 págs.
- VERDE CALVO, José Ramón.et al. Manual de prácticas de química analítica II, México, UAM, 1999,126 (45-50 pág.)126 págs.

CROMATOGRAFÍA DE GASES ***(CG)*** ***INTRODUCCIÓN***

La cromatografía de líquidos como de gases tienen mucho en común, ambas técnicas utilizan un sistema similar para suministrar la fase móvil. Usan el mismo sistema de introducción de muestra, ya que ambas utilizan columnas cromatograficas para realizar separaciones y ambas requieren de sistema de detección que da lugar a los cromatogramas. El análisis cuantitativo y cualitativo que se realizan en ambos sistemas. Por tal motivo es recomendable que el alumno aprenda los principios que se utilizaron en la cromatografía de líquidos de alta resolución.

La diferencia más notable entre ambas cromatografías es que la cromatografía de gases utiliza una fase móvil gaseosa es llamada gas portador. Las propiedades físicas de los gases son muy distintas a las de los líquidos. Debido a este hecho, existen diferencias notables en el instrumental usado en estos dos tipos de cromatografía.

Los principios fundamentales de la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) expuestos anteriormente son aplicables a la cromatografía de gases (CG) con algunas modificaciones; resultado de las diferencias entre el estado líquido y el gaseoso, principalmente su difusión.

Las muestras en la cromatografía de gases, para su separación requieren de las siguientes condiciones:

- Compuestos en estado gaseoso; o en su caso en estado líquido y sólido, con presiones de vapor de 0.3 mm de mercurio a la temperatura máxima de la fase estacionaria empleada.
- No descomponerse por el calor a la temperatura de separación.
- No adsorbibles o descomponibles por el soporte sólido de la columna.
- Detectables a la salida.

GAS PORTADOR

El gas portador es suministrado a alta presión pero además es un gas que como característica principal tiene una gran pureza, su elección va depender del detector que se este utilizando. La bala llega por lo regular en el laboratorio a 2500 psi y conteniendo 250 pies cúbicos de un gas a temperatura y presión estándar (STP). También cuenta con un regulador de presión con dos indicadores para ayudar a controlar el flujo del gas portador.

INTRODUCCIÓN DE MUESTRAS

Para la introducción de muestras en la columna del cromatógrafo, es mediante la utilización de una jeringuilla hipodérmica y con tapón de silicona "Septem". La aguja de la jeringuilla es introducida a través del "Septem" en el tubo central. El sistema de inyección generalmente se calienta para producir la evaporación de la muestra líquida. Generalmente el horno es calentado a 30°C por encima del punto de ebullición del compuesto de la muestra que lo tenga más alto. Esto garantiza que las muestras pequeñas de líquido sean vaporizadas instantáneamente y sean elevadas rápidamente dentro de la columna.

COLUMNAS DE CROMATOGRFIA GASEOSA

Hay dos grandes grupos de columnas de cromatografía de gases:

- 1) **COLUNAS RELLENAS O EMPAQUETADAS:** Una columna rellena se prepara llenando una determinada longitud de tubo con un material de relleno, el más utilizado es un tubo de 1/8 de pulgada de diámetro externo; también se utilizan otros diámetros, más grandes o más pequeños. Los materiales más utilizados son acero inoxidable y vidrio. El tubo de la columna está enrollado en su conjunto con un diámetro adecuado para la instalación de la columna en el horno. La columna de acero inoxidable, el enrollamiento se realiza después de haber llenado la columna; en el caso de la columna de vidrio se realiza antes de llenar la columna.
- 2) **COLUMNA CAPILAR:** Están preparadas de vidrio o de sílice fundida. Tiene un diámetro exterior de 0.8 mm y 0.25 mm de diámetro interno; y las longitudes más utilizadas son de 30 y 60 metros.

DETECTORES

Se manejan alrededor de 10 tipos de detectores que pueden adquirirse para un cromatógrafo de gases. Concerniente a los laboratorios clínicos; se utilizan tres tipos de detectores distintos. El primero es el detector de conductividad térmica que se utiliza en la identificación de bacterias anaerobias. El segundo es el detector de ionización en llama de hidrógeno que es bastante común en toxicología. El tercer tipo de detector es el espectrofotómetro de masas que se usa en algunos laboratorios de toxicología de alta capacidad.

Como ya se mencionó la fase móvil se denomina gas portador, el cual es un gas inerte que transporta los componentes volátiles de la muestra a través de la columna. Las cuales un tubo relleno con sustancias porosas que están impregnadas con un líquido de alto punto de ebullición, que constituye la fase estacionaria. Su base en la separación es la distribución reparto de los componentes de la mezcla entre la fase líquida y la fase gaseosa.

En la figura 1A se esquematiza la constitución de una columna empacada con una fase estacionaria y el proceso de partición para la mezcla de dos componentes (● y ○) sobre una fase líquida estacionaria. El gas portador fluye continuamente a través de la columna. Las moléculas de los dos componentes se distribuyen entre el gas portador y la fase líquida. El componente que volátil y que es mas soluble en la fase estacionaria (●) tarda más tiempo en la fase estacionaria. Por el contrario el componente más volátil (○) es más soluble en la fase gaseosa móvil, por lo que se desplaza a mayor velocidad en la columna.

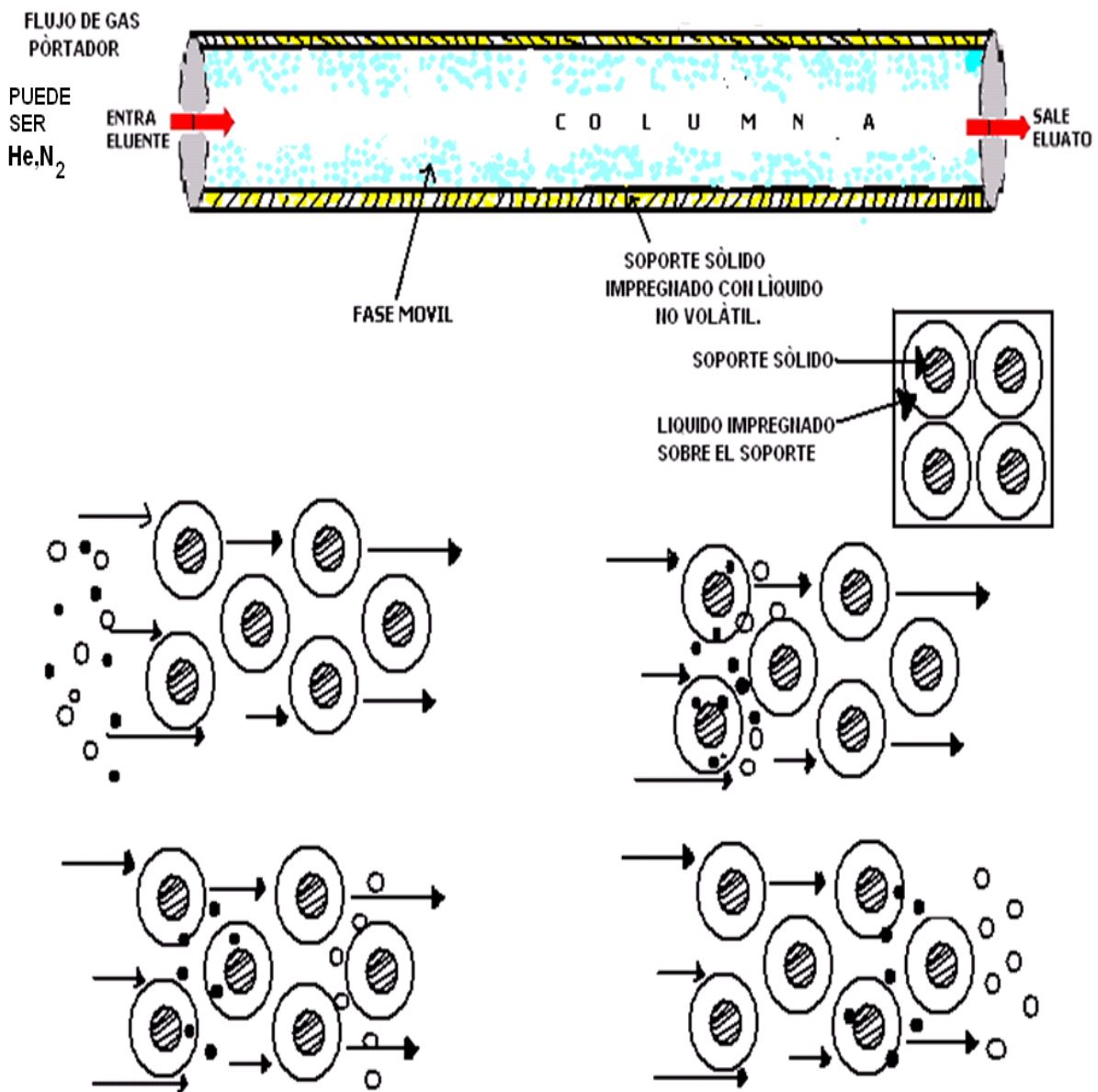


FIGURA 1A: ESQUEMA DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE DOS SUSTANCIAS.

CROMATOGRAFÍA DE GASES

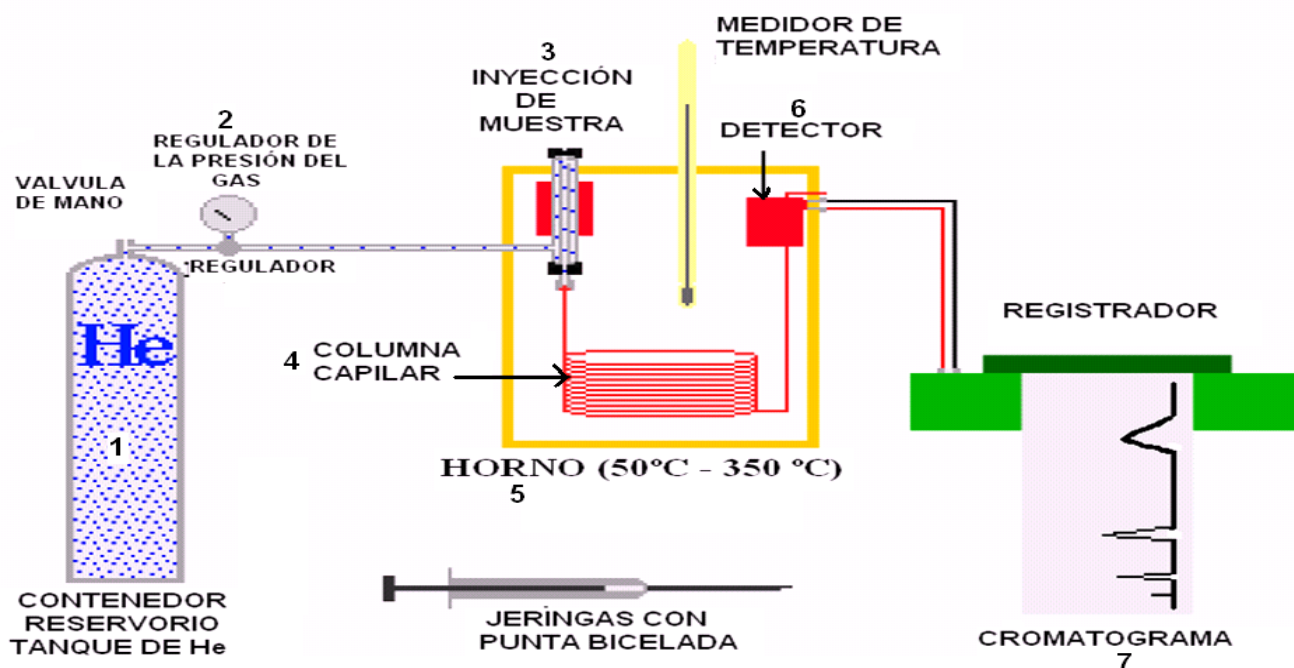


FIGURA 1B: COMPONENTES BÁSICOS DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES.

ESQUEMA DE CROMATOGRAFO

- 1.- Gas portador (N_2 o He) fluye desde un cilindro.
- 2.- Al inyector, horno y luego al detector. El gas portador se regula con un regulador de presión.
- 3.- Inyección de la muestra con una jeringa graduada en microlitros (0.001 mL), en el inyector.
- 4.- La columna que es por donde corre el analito.
- 5.- Se regula la temperatura, la columna termina en el horno termostático.
- 6.- Proporciona una señal eléctrica que es proporcional al monto de vapor que emerge de la columna; esta señal pasa al detector.
- 7.- La intensidad de la señal, registrada en función del tiempo constituye el gráfico denominado cromatograma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

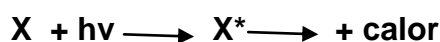
- VERDE CALVO, José Ramón. et al. Manual de prácticas de química analítica II, México, UAM, 1999, 126 (45-50 pág.) 126 págs.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA- VISIBLE

INTRODUCCIÓN:

La espectrofotometría se refiere al uso de la luz para medir concentraciones de sustancias químicas. La espectrofotometría de absorción en las regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético es el más utilizado en la práctica de análisis cuantitativo de todas las técnicas espectroscópicas.

Esta se basa en la absorción de la radiación ultravioleta y visible por el analito, como consecuencia se origina un estado activado que posteriormente elimina su exceso de energía en forma de calor, en un proceso que se esquemáticamente se representa así:



En la región ultravioleta, hay que indicar que la zona de mayor interés en la práctica analítica ordinaria es la denominada como **ultravioleta próximo** (longitud de onda entre 200 y 400 nm), pues el **ultravioleta lejano** (de 10 a 200 nm) presenta el inconveniente que el oxígeno atmosférico absorbe en esa región, siendo necesario eliminarlo del instrumento de medida. Debido a ello, la espectrofotometría en esa región espectral no sea desarrollado lo suficiente.

Cuando un ion o un compuesto es capaz de absorber luz es colocado en una celda en un espectrofotómetro, cierta cantidad de luz monocromática será absorbida por dicho compuesto y el resto saldrá de la celda para ir a incidir sobre el fototubo que la detectara. Este comportamiento es aprovechado para conocer la concentración de los compuestos. Es decir que cuando un haz de radiación monocromática de una determinada longitud de onda atraviesa una capa de disolución conteniendo una especie absorbente, la potencia(energía por unidad de tiempo y unidad de área) de haz incidente P_0 se atenúa, disminuyendo hasta P como se muestra en la figura 1A.

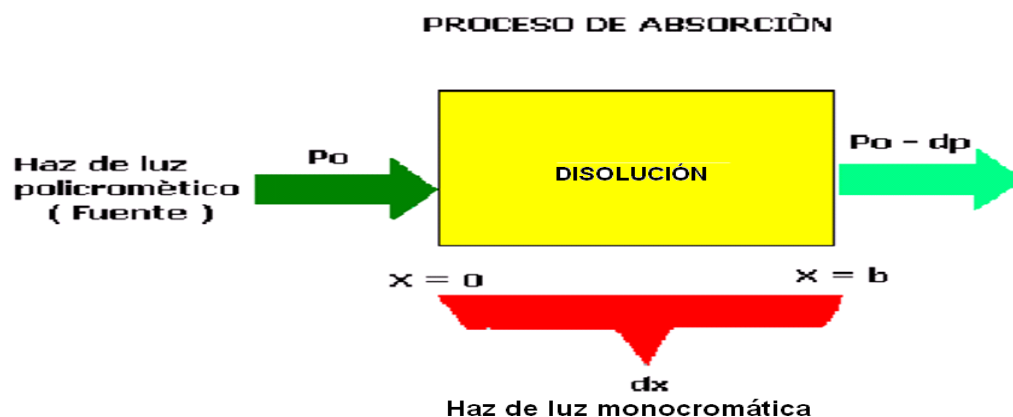


FIGURA 1A: ABSORCIÓN DE RADIACIÓN

LEY DE BEER

Existe una disminución exponencial de la energía radiante transmitida con un incremento en la concentración. Esta ley relaciona la absorbancia (A) de una muestra con su concentración (c), la trayectoria recorrida (b) y la absorptividad molar (ϵ).

LEY DE BOUGUER – LAMBERT-BEER

$K = \epsilon$ = Coeficiente de Absorptividad Molar ($M^{-1} cm^{-1}$).

K (Engloba a K_1 y K_2)

b = Espesor de la celda (cm)

C = Concentración (M)

A = Absorbancia (adimensional)

$$\text{Transmitancia (T)} = \frac{P}{P_0}$$

$$\text{Absorbancia (A)} = \frac{P_0}{P} = -\log T$$

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Los cuadrantes de los espectrofotómetros generalmente llevan dos escalas, una graduada en unidades de absorbancia y la otra en transmitancia por ciento (ver figura 1B).



FIGURA 1 B: ESCALAS DE UN ESPECTROFOTÓMETRO.

La Transmitancia (T): En una disolución es la fracción de intensidad o de la fuerza de la luz incidente, P_0 , que se transmite verdaderamente a través de la disolución en donde P es la intensidad de la luz que sale de la muestra.

$$\text{Transmitancia (T)} = \frac{P}{P_0} = 100 \left(\frac{P_0}{P} \right)$$

La Absorbancia (A): En una disolución es la luz que absorbe, no la que se transmite; la cual esta definida por la siguiente ecuación:

$$\text{Absorbancia (A)} = \frac{P_0}{P} = -\log T = \log \frac{P_0}{P}$$

La Ley de Beer establece que a una longitud de onda dada, la absorbancia es proporcional a la concentración de la especie absorbente en una disolución, esto esta definido en la siguiente ecuación:

LEY DE LAMBERT - BEER

$$A = \epsilon bc$$

$$\epsilon = \frac{A}{bc}$$

A = Es la absorbancia que se está trabajando.

b = Es el recorrido del haz de luz en la celda.

c = Es la concentración molar.

ϵ = La constante de proporcionalidad es la absorptividad molar. Su valor numérico depende de las unidades que se expresen b y c.

Si la b está dada en cm. y c en moles por litro, se denomina coeficiente de absorptividad molar y recibe el símbolo de ϵ .

Desviaciones de la ley de Beer: Esto se da cuando un analito se disocia, asocia o reacciona con un disolvente, para dar lugar a un producto que presenta un espectro de absorción diferente que el del analito. Es decir una gran parte de compuestos absorbentes siguen bien la ley de Beer en disoluciones diluidas; pero existen otras sustancias que la propiedad de la muestra no se comporta de manera lineal es decir que la concentración de la sustancia no directamente proporcional a la propiedad medida, a este comportamiento se le llama desviaciones de la ley de Beer.

Para tal comportamiento se recomienda trabajar con una curva de calibración la cual se va a trabajar con un intervalo de concentraciones para que la relación sea lineal. Las desviaciones que se dan pueden ser por varias causas de las cuales podemos mencionar:

Muestras muy concentradas o muy diluidas, por variación del equilibrio químico de la sustancia que absorbe o por limitaciones del instrumento utilizado. Para tener el mínimo de problemas con las desviaciones se recomienda trabajar con concentraciones que van de 10^{-2} M a 10^{-6} M.

Celdas: Son depósitos transparentes especialmente diseñados para contener la disolución de prueba o el disolvente de referencia (Blanco) durante los estudios espectrofotométricos. Existen celdas de diferente tamaño y forma esto depende de los diferentes modelos de los espectros comerciales (ver figura 1C). Las celdas más comunes para medir espectro en la región UV / VIS están fabricados con cuarzo y tienen un paso de luz de 1.0 cm. Las celdas de vidrio óptico son apropiadas solo para mediciones en la región visible, ya que absorben la radiación ultravioleta.

Las características de transmisión de las celdas de varias longitudes de onda son función de los materiales de fabricación. Por ejemplo, el vidrio pyrex transmite en un intervalo de los 320 a los 3 500 nm.



CELDA ESPECIAL: Micro (capacidad < 1 mL), de gran capacidad (capacidad > 4 mL), cilíndricas, de materiales especiales, etc
Principales características de celdas estándar.

| MATERIAL | RANGO | UTILIZACIÓN | CAPACIDAD |
|-----------------|--------------|-------------|------------|
| CUARZO | 190-750 nm | Múltiple | 1.5 – 4 MI |
| VIDRIO ESPECIAL | 300 – 750 nm | Múltiple | 1.5 – 4 MI |
| METACRILATO | 300 -700 nm | Un solo uso | 1.5 – 4 mL |
| POLIESTIRENO | 400- 700 nm | Un solo uso | 1.5 – 4 MI |

PROPIEDADES DE LA LUZ: La luz se describe en términos tanto de partícula como de onda. Las ondas de luz están constituidas por un campos eléctricos y magnéticos, perpendiculares entre si. Esto se muestra en la siguiente figura 2A.

Campo eléctrico: se sitúa en el plano XY

Campo magnético: se sitúa en el plano XZ

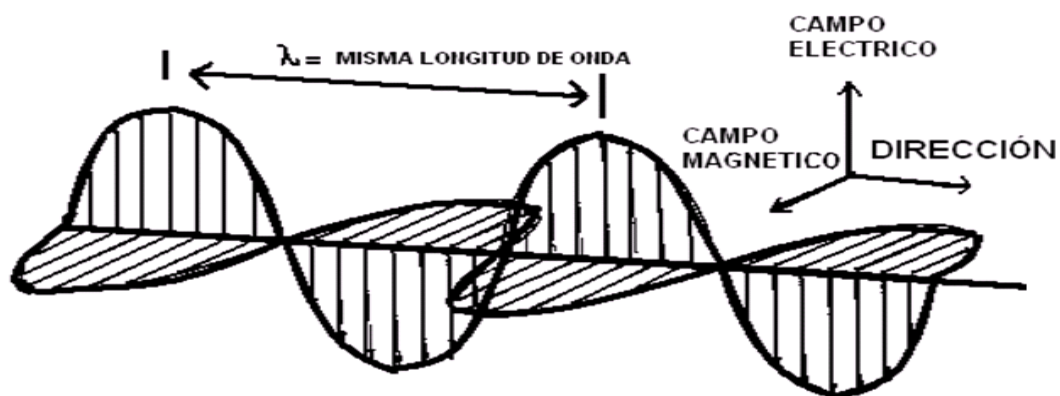


FIGURA 2A: RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA CON LOGITUD DE ONDA λ POLARIZADA EN UN PLANO Y QUE SE PROPAGA A LO LARGO DEL EJE X.

La longitud de onda (λ) es la distancia entre cresta y cresta de una onda. La frecuencia (ν) es el número de oscilaciones completas de la onda por segundo (oscilaciones /seg = Hertz) (ver figura 2B)

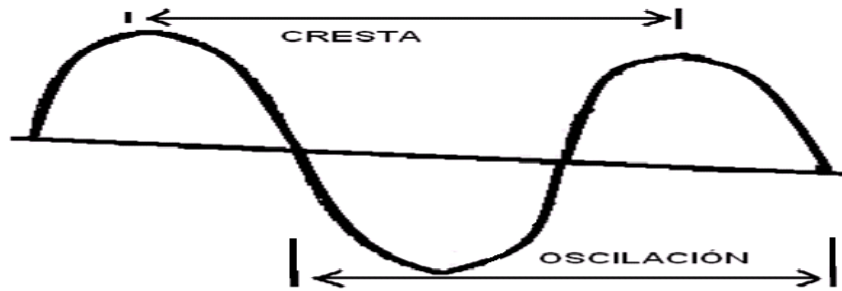


FIGURA 2B: LONGITUDES DE ONDA Y OSCILACIONES DE PROPAGACIÓN.

CAMPO ELÉCTRICO:

La λ y ν se relacionan con la velocidad:

$$c = \lambda * \nu \dots \dots \text{(ecuación 1)}$$

c: Velocidad de la luz ($2.99792458 * 10^8$ m/s en el vacío)

En otro medio

$$\lambda * \nu = u$$

$c/n = u$, $n =$ índice de refracción. Como $n \geq 1$ la luz se propaga más lentamente.

ÍNDICE REFRACCIÓN:

| MEDIO | n^* |
|------------------------|--------|
| Aire | 1.0003 |
| Agua | 1.333 |
| 50% de sucrosa de agua | 1.420 |
| Disulfuro de carbono | 1.628 |
| Cuarzo cristalino | 1.553 |
| Diamante | 2.417 |

*medido con una radiación de 589.3 nm

CAMPO MAGNÉTICO:

La luz está constituida por partículas llamadas **FOTONES**. Cada fotón tiene una energía. Desde el punto de vista energético, es conveniente considerar a la luz constituida por fotones, cada fotón tiene energía E, la cual está dada:

$$E = h * \nu \dots \dots \text{(ecuación 2)}$$

$h =$ Cte. De Planck ($6.6260755 * 10^{-34}$ Js)

Combinando despejando de la ecuación 1 ν y sustituyendo en la ecuación 2, se obtiene:

$$E = h * c / \lambda$$

La energía es inversamente proporcional a λ .

Las regiones más importantes del **espectro electromagnético** se presentan en la figura 3A. Debe observarse que la radiación visible (luz), la que el ojo humano puede detectar, solo presenta una fracción muy pequeña del espectro electromagnético.

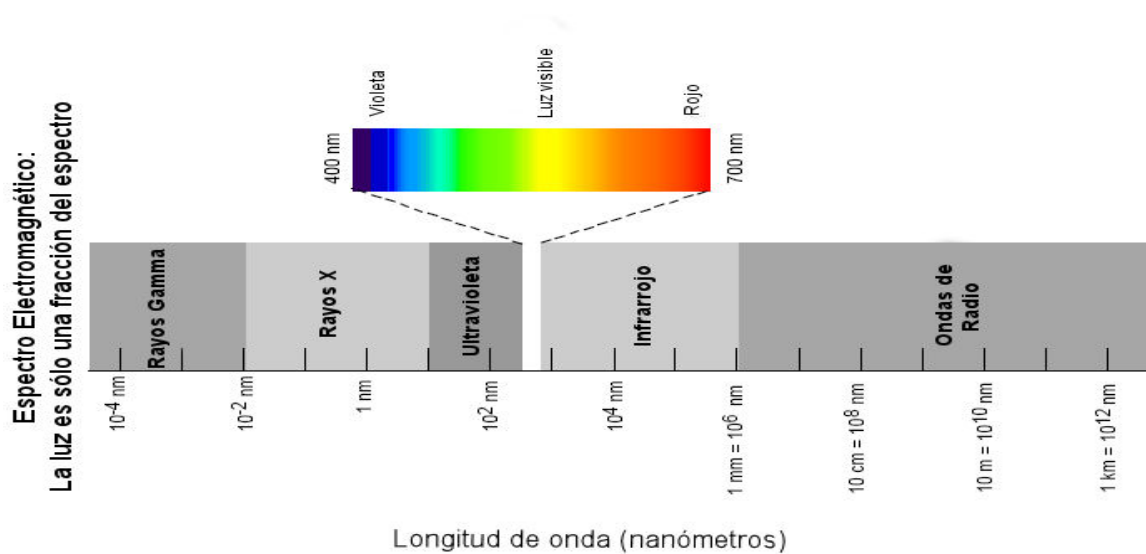
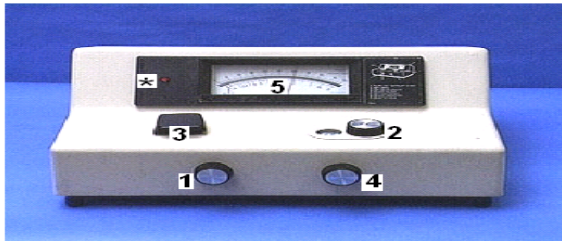


FIGURA 3A: ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO, EL ESPECTRO VISIBLE VA DESDE UNA LONGITUD DE ONDA DE 380 A 780 nm ($1\text{ nm} = 10^{-9}\text{ m}$).

En el laboratorio escolar, la forma de medir la absorbancia de luz visible es mediante el espectrofotómetro Spectronic 20 que se muestra en la figura 3B. Este instrumento tiene una fuente de luz simple lámpara de tungsteno cuya emisión cubre el espectro visible completo, extendiéndose en las regiones del ultravioleta y el infrarrojo. La luz es dispersada en las diferentes longitudes de onda que la componen mediante una rejilla, y solo una banda estrecha de longitudes de onda pasa a través de la muestra. El detector es un fototubo que crea una corriente eléctrica proporcional a la potencia radiante de la luz que incide en el tubo. La señal de salida se transmite a un medidor que permite efectuar lecturas de transmitancia y absorbancia, es importante saber en que escala se realizan las lecturas. El Spectronic 20 es un espectrofotómetro de haz simple, así llamado porque el haz de luz sigue un camino único a través de una sola muestra. Para medir la absorbancia de la muestra, debe medirse primero el valor de P_0 con un blanco de referencia por separado. Este proceso no es muy práctico, debido a que deben colocarse dos muestras diferentes en el haz de manera alternada. Ello causa inexactitud, porque tanto la intensidad de la fuente como la respuesta del detector fluctúan en el transcurso del tiempo. Si hay un cambio en alguna de ellas entre la medición de la disolución de referencia y de la muestra, la absorbancia aparente tendrá error. Un instrumento de haz simple es poco apropiado para mediciones continuas de absorbancia.

ESPECTROFOTOMETRO DE UN HAZ SPECTRONIC - 20



NOTA: PARA CADA CAMBIO DE λ SE DEBE CALIBRAR EL EQUIPO CON EL SISTEMA BLANCO.

EL ESPECTROFOTOMETRO ESTA FUNCIONANDO SÓLO SI EL FOCO PILOTO(*) ESTÁ ENCENDIDO.

FIGURA 3B: ESPECTROFOTÓMETRO SPECTRONIC 20

| CONTROL | FUNCIÓN |
|---------|--|
| 1 | Encendido y apagado, calibración a 0 % T. |
| 2 | Determina la longitud de onda. |
| 3 | Es el lugar donde se coloca la celda con la disolución. |
| 4 | Sirve para calibrar a 100% T. |
| 5 | Es la pantalla que registra los valores de absorbancia (0 % de transmitancia de las soluciones). |

PARTES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DE HAZ SIMPLE

El espectrofotómetro básico está formado por:

- Una **fente de luz**.
- Un selector de longitudes de onda (**monocromador**), que dispersa la luz procedente de la fuente en longitudes de onda muy concretas. Girando el regulador del monocromador se varia la longitud de onda de la luz que penetra en el comportamiento en el que esta la muestra. Además, dispone de otro botón que se utiliza para la calibración del equipo.
- Un compartimiento en el que se ubica la muestra disuelta (**celdas**).A medida que la luz atraviesa, su intensidad disminuye y, por tanto, la luz que alcanza el detector es menos intensa que la inicial.
- Un **detector**, que convierte la energía luminosa en energía eléctrica.
- Un **registrador**, que recibe la energía eléctrica procedente del detector y la transforma en cifras.

USO DEL ESPECTROFOTÓMETRO DE HAZ SIMPLE

1. Calibrar el equipo, es decir ponerlo en marcha vacío. El resultado en el registrador debe ser 0 de absorbancia (100% de transmitancia); si no es así, debe ajustarse a 0 con el botón de calibración.
2. Colocar la disolución blanco en la celda (el instrumento debe blanquearse antes de cada lectura), teniendo cuidado de no manchar la celda con los dedos. La disolución blanco es una disolución que tiene todos los componentes de la muestra que se estudia. Excepto la sustancia que va ser medida. El objetivo es cuantificar la densidad óptica de todos los demás componentes de la disolución – es como el tarado de una balanza).

3. Después de colocar la celda con el blanco dentro del espectrofotómetro, volver a ajustar a 0 de absorbancia.
4. Colocar la cubeta con la disolución problema y anotar la absorbancia correspondiente a la muestra, a partir de la cual se obtendrá la concentración de la sustancia problema.

Debido a que se utilizará un espectrofotómetro de absorción en la región visible del espectro, los módulos instrumentales se presentan en forma esquemática en la figura 3C:

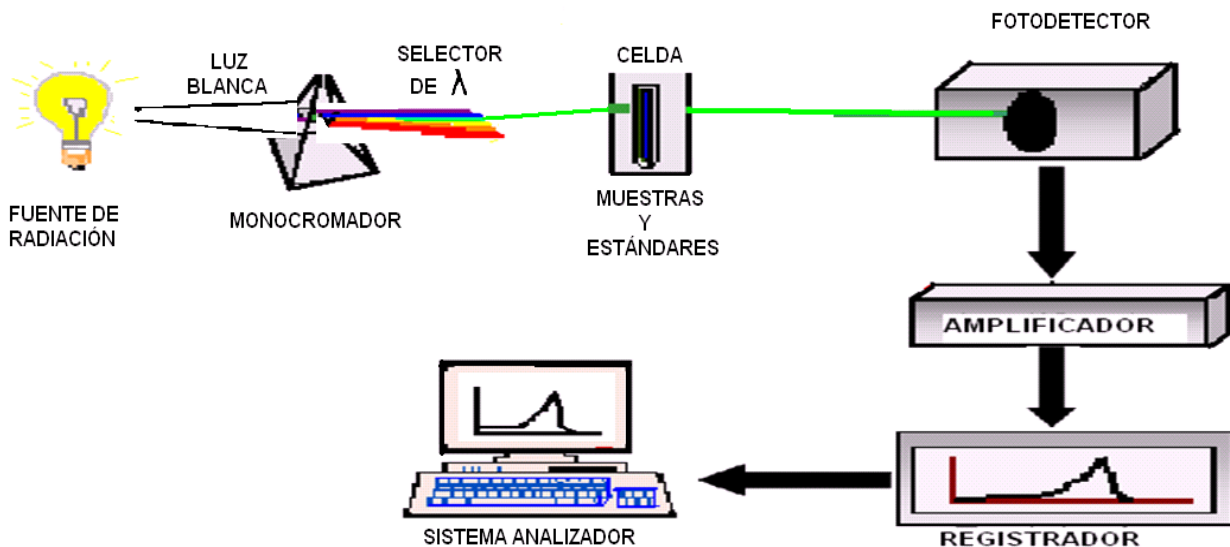


FIGURA 3C: ESQUEMA DE LAS PARTES DE UN ESPECTROFOTÓMETRO UV/VIS.

USO DEL ESPECTROFOTÓMETRO DE DOBLE HAZ SIMPLE

En un espectrofotómetro de doble haz (figura 3D), la luz pasa alternadamente por las celdas de muestra y blanco (referencia). Esto se realiza mediante un motor que hace girar un espejo dentro y fuera de la trayectoria de la luz. Cuando el espejo obturador intermitente (entrecortador) no desvía el haz, la luz pasa a través de la muestra, y el detector mide la potencia radiante $P_o(P_s)$. Cuando dicho espejo desvía el haz a través de la celda del blanco, el detector mide $P(P_r)$. De esta forma, la luz es desviada varias veces por segundo, y el circuito compara automáticamente P_o y P para obtener la absorbancia. La absorbancia de la referencia (blanco) se resta entonces de la propia de la muestra para obtener la absorbancia real de esta última a cualquier longitud de onda.

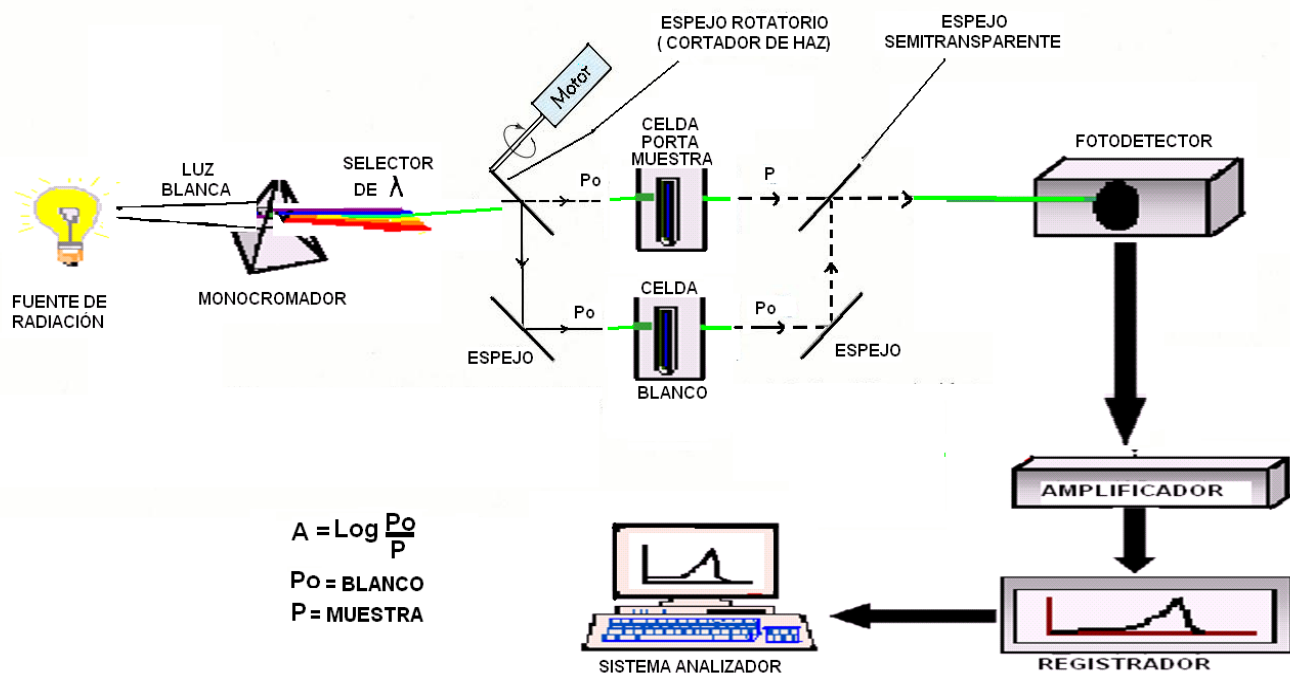


FIGURA 3D: DIAGRAMA DE BLOQUES DE UN ESPECTROFOTÓMETRO DE DOBLE HAZ. EL HAZ INCIDENTE SE HACE PASAR ALTERNADAMENTE A TRAVÉS DE LAS CELDAS DE MUESTRA Y DE REFERENCIA (BLANCO) MEDIANTE UN ESPEJO OBTURADOR (ENTRECORTADOR) DEL HAZ.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VERDE CALVO, José Ramón. et al. Manual de prácticas de química analítica II, México, UAM, 1999, 126 (45-50 pág.) 126 págs.
- ORTEGA PÉREZ, Arturo. Realización de análisis clínicos elementales, España, Altamar, 2007, (150-151 pág.) 239 págs.
- DANIEL C. Harris, Análisis Químico Cuantitativo, México, Iberoamérica, 1991, (495-509) 886 págs.

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

(EAA)

La espectroscopia de absorción atómica (EAA), esta técnica espectroscópica de absorción empleado para detectar elementos metálicos en estado gaseoso, para el análisis cuantitativo de metales en matrices complejas.

Esta técnica tiene en común con otras que el instrumento empleado consta de una fuente de radiación, un portamuestras, un monocromador y un detector. Las discrepancias son, en primer lugar que el porta muestras en EAA es generalmente una llama y en segundo, que la fuente, son unas líneas en vez de una fuente continua. Además de estas diferencias, las medidas son las típicas de otros tipos de espectroscopias de absorción.

La mayoría de las sustancias se descomponen en átomos en fase gaseosa cuando se calientan a temperaturas suficientemente alta. Una característica es que cada elemento tiene su propio espectro característico. Las cuales son líneas muy estrechas, y normalmente hay una superposición entre los espectros de los diferentes elementos de la misma muestra que se esta analizando.

En la EAA las muestras que se desean analizar se tiene que vaporizar a altas temperaturas, y las concentraciones de los átomos seleccionados de los elementos analizados se determinan midiendo la absorción o la emisión en sus longitudes de onda características. Debido a su alta sensibilidad y a la facilidad con la cual muchas muestras pueden analizarse, por lo cual la espectroscopia de absorción atómica es una de las principales herramientas de la química analítica. Especialmente en el medio industrial. Las concentraciones de los analitos que es muy común determinar son en partes por millón (ppm).

ABSORCIÓN, EMISIÓN Y FLUORESCENCIA

La EAA comprende etapas designadas comúnmente de absorción, fluorescencia y de emisión. Con los instrumentos actuales es posible realizar experimentos de absorción y de emisión con la misma facilidad. El equipo de la espectroscopía de absorción atómica se muestra en la figura 1A. La muestra líquida se aspira hacia la flama (o llama) con temperatura que van de 2000 a 3000 K. La muestra se atomiza (se separa en átomos) en la flama, la cual corresponde a la celda de la espectrofotometría ordinaria. El trayecto óptico de la flama suele ser de 10 cm. Para medir la absorbancia de luz producida por átomos de Fe en la llama, en la fuente de radiación se utiliza un cátodo hecho de Fe. Esta fuente emite luz con las frecuencias características de los átomos de hierro. El resto del aparato no es muy distinto de un espectrofotómetro ordinario.

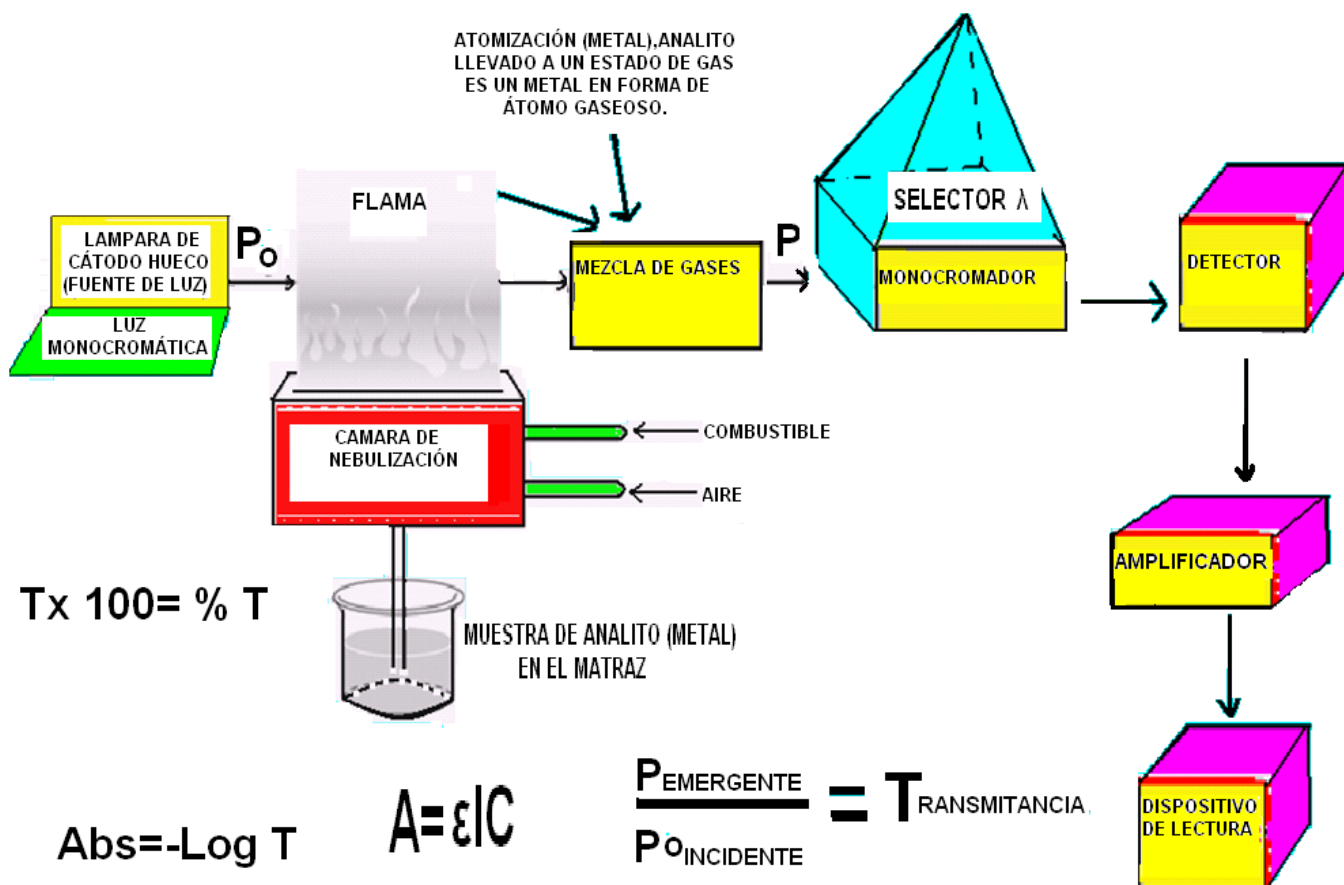


FIGURA 1A: ESQUEMA DE UN ESPECTRÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

MÉTODOS DE ÁTOMIZACIÓN

En el análisis EAA se emplean hornos, para la atomización de sólidos, líquidos y soluciones. Durante el calentamiento es fundamental mantener al horno en atmosfera inerte para reducir al mínimo las reacciones químicas indeseables, con los analitos atomizados. Como el horno se calienta eléctricamente, el proceso se llama **atomización electrotérmica** (absorción atómica). Ocasionalmente estos hornos se emplean para evaporar muestras que se (emplean) alimentan a una antorcha de un plasma para el análisis por emisión atómica.

ATOMIZACIÓN: FLAMAS, HORNOS Y PLASMA

La diferencia esencial en EAA es que la muestra se debe atomizar. Esto se realiza normalmente con una flama, con un horno calentado eléctricamente, o con un plasma de radiofrecuencia. La sensibilidad y los efectos de interferencia que se observan en la espectroscopia atómica dependen de los detalles del método de calentamiento.

MECHERO DE PREMEZCLA: NEBULIZACIÓN

La mayoría EAA usan un mechero de premezcla (También llamado quemador de premezclado o de premix) como el que se muestra en la siguiente figura 1B, en la cual la muestra, el oxidante el combustible se reúnen antes de su introducción en la flama. la muestra en la solución la cual no es necesario que sea acuosa es aspirada hacia el nebulizador por el flujo rápido del oxidante el cual por lo común es aire la cual pasa por la punta del capilar por donde circula la muestra. El líquido se divide en un fino aerosol al salir de la punta del nebulizador. El aerosol se dirige con gran rapidez contra una esfera de vidrio, sobre las cual las gotas se dividen en partículas más pequeñas. La formación de estas pequeñas gotas se denomina **nebulización**.

El aerosol, el oxidante y el combustible deben atravesar luego una serie de obstáculos que favorecen el mezclado y evitan que pasen gotas grades de liquido. El liquido se colecta en la parte inferior de la cámara de aerosol se elimina por drenado. Solo una neblina la cual es muy fina que contiene aproximadamente el 5 % de la muestra inicial alcanza la flama.

MECHERO DE PREMEZCLA

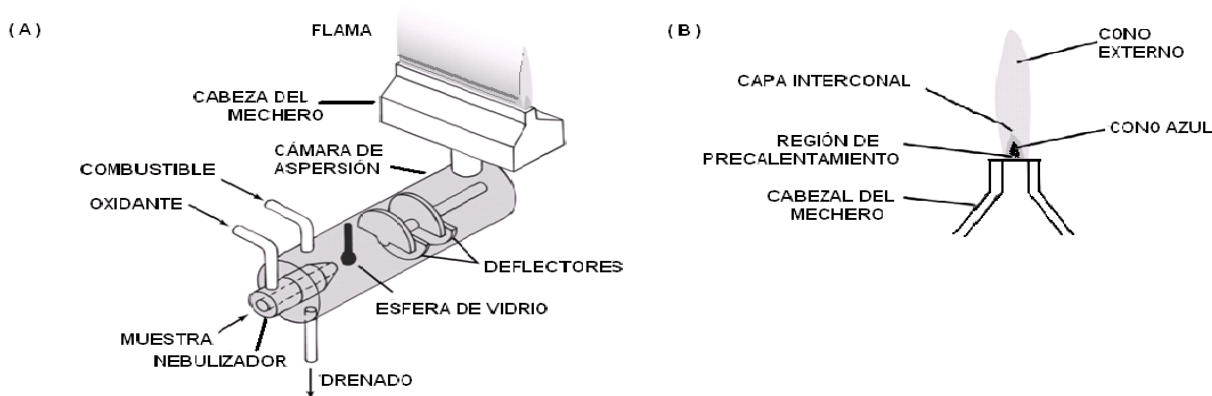


FIGURA 1B: DIAGRAMA DE UN MECHERO DE PREMEZCLA;ASÍ COMO VISTA DEL EXTREMO DE LA FLAMA.

LA FLAMA

Las flamas también se ocupan como atomizadores para el análisis de líquidos o disoluciones por las técnicas de emisión y absorción atómica. Las fuentes de atomización de flama han alcanzado un alto grado de confiabilidad en los últimos 50 años. Sin embargo, como los gases de flama diluyen la muestra, se debe emplear una flama larga para lograr más sensibilidad, por medio de un mechero de rendija. Se usan diversos combustibles y oxidantes y la elección depende de la temperatura deseada y los elementos que se vayan a determinar.

La combinación más usual de combustible y oxidante es el acetileno y el aire, la cual produce una temperatura de ~ 2400 a 2700 K, en la tabla 1.1 se mencionan otros combustibles y oxidantes usuales. Cuando se requiere una flama más caliente, se utiliza la combinación acetileno – oxido nitroso en la anterior figura se muestra el perfil de una flama. El gas que se encuentra en la región de precalentamiento del cabezal del mechero se calienta por conducción y por radiación proveniente de la zona de reacción primaria (el cono azul). La combustión se completa en el cono externo, donde el aire circundante es atraído a la flama. Cada flama tiene su propio espectro de emisión, y por lo tanto enmascara el espectro del analito en ciertas regiones. Las gotas que penetran en la flama primero pierden su agua por evaporación; después, lo que queda de la muestra debe vaporizarse y descomponerse en átomos. Muchos elementos forman óxidos a medida que ascienden por el cono externo.

Los óxidos no tienen el mismo espectro que los elementos libres que lo constituyen, de manera que la señal atómica que resulta es menos intensa. Si la flama se mantiene relativamente rica de combustible (flama reductora o rica), hay un exceso de especies carbonadas, las cuales pueden reducir los óxidos metálicos y por lo tanto incrementar la sensibilidad.

TABLA 1.1
Temperaturas máximas de flamas

| TIPOS DE FLAMA | | |
|--|-----------------------|--------------------------|
| TIPOS DE FLAMA (combustible / oxidante) | TEMPERATURA (°C) | VELOCIDAD (cm/ seg) |
| Metano- aire | 1700-1900 | 39-43 |
| Metano-oxigeno | 2700-2800 | 370-390 |
| Hidrogeno-aire | 2000-2100 | 300-440 |
| Acetileno-aire | 2100-2400 | 158-266 |
| Acetileno-oxigeno | 3050-3150 | 1100-2480 |
| Acetileno-oxido nitroso | 2600-3800 | 285 |

HORNOS

Los hornos que son calentados eléctricamente presentan mayor sensibilidad de la que es posible en los métodos a la flama, y requieren menor volumen de muestra. En la figura 2A se muestra un horno de grafito colocado en el haz de un espectrómetro. se puede inyectar entre 1µL y 100µL de muestra en el horno a través del orificio central. En cada extremo del horno se encuentra una ventana transparente para el haz de luz. La temperatura máxima para un horno de grafito es de unos 3000°C.

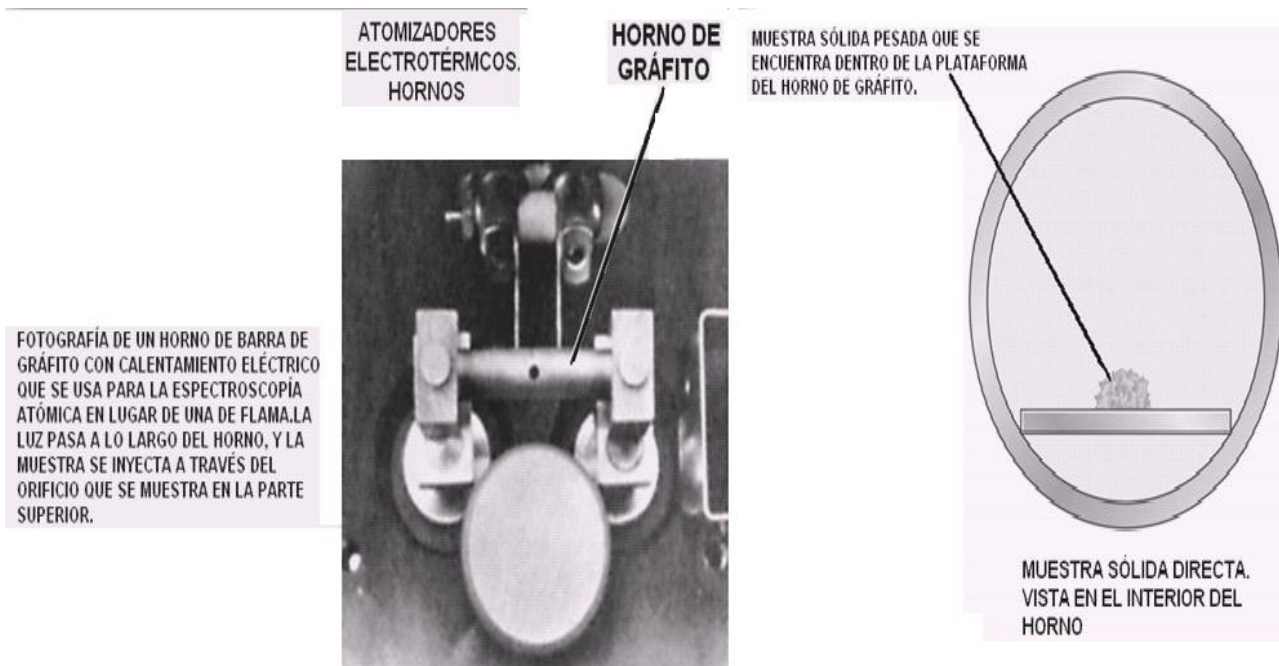


FIGURA 2A: HORNO DE BARRA DE GRÁFITO CON CALENTAMIENTO ELÉCTRICO.

Los hornos de grafito tienen una mayor sensibilidad porque la muestra completa se confina en el paso de la luz por unos cuantos segundos. En la espectroscopia de flama, la muestra es muy diluida después de la nebulización, y permanece sólo una fracción de segundo en el paso de la luz mientras va ascendiendo por la flama. La flama requiere un volumen mucho mayor de muestra, debido a que esta fluye constantemente en la flama. Mientras que para el análisis a la flama se requieren 1 o 2 mL, para un horno es adecuado incluso 1 μ L. Los hornos proporcionan mayor sensibilidad y requieren menos muestra que las de flama, pero tienen menor precisión.

PLASMAS ACOPLADOS POR INDUCCIÓN

Un plasma es un gas ionizado a temperaturas elevadas como buen atomizador. El tipo más empleado en emisión atómica es la antorcha de plasma de acoplamiento inductivo. La energía para mantener la antorcha caliente y los gases ionizados proviene de un microondas, similar a los hornos de microondas comunes. Los plasmas sirven para atomizar muestras gaseosas o disoluciones y hay antorchas especialmente diseñadas para recibir alimentación de partículas sólidas microscópicas sin obstruirse.

Este es un tipo de flama que alcanza temperaturas mucho más altas que las de flama de combustión ordinaria, y es útil para la espectroscopia de emisión. Su alta temperatura y gran sensibilidad eliminan muchas interferencias y fuentes de error que se tienen con las flamas ordinarias. Por estas características el plasma de acoplamiento inductivo la cual empieza a sustituir a las flamas de mecheros ordinarios. La desventaja principal de los equipos de flama es el costo de adquisición y de operación.

TIPOS DE ATOMIZACIÓN

| TIPO DE ATOMIZACIÓN | TEMPERATURA °C | QUE MIDEN EVENTOS |
|--|-------------------|------------------------------------|
| FLAMA | 1700 – 3100 | ABSORCIÓN EMISIÓN FLUORESCENCIA |
| ELECTROTÉRMIICO (HORNO DE GRÁFITO) | 1200- 3100 | ABSORCIÓN EMISIÓN FLUORESCENCIA |
| PLASMA ACOPLADO | 6000-8000 | ABSORCIÓN FLUORESCENCIA |
| ARCO ELECTRICO | 3000- 8000 | EMISIÓN FLUORESCENCIA |

Lámpara de cátodo hueco: Casi todos los EAA utilizan una lámpara de cátodo hueco como fuente de radiación. La lámpara de cátodo hueco es una buena fuente de emisión de líneas atómicas. La lámpara está fabricada con cátodo hueco del analítico metálico de interés. Estos consisten en un tubo de vidrio conteniendo argón o neón a baja presión de 1-5 torr y dos electrodos. El ánodo suele ser de vidrio de Wolframio, y el cátodo del cual tiene forma cilíndrica, está construido con el metal que se desea determinar como se menciona en el párrafo anterior. En la siguiente figura se muestra como está constituida una lámpara de cátodo hueco figura 2B.

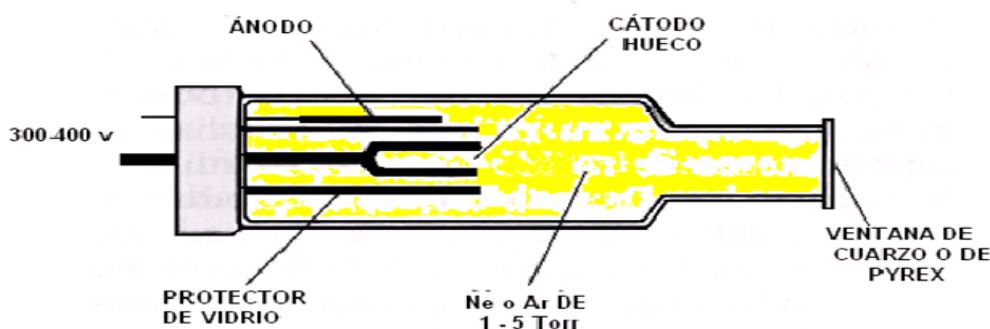


FIGURA 2B: SECCIÓN TRANSVERSAL DE UNA LÁMPARA DE CÁTODO HUECO.

Cuando se aplica una diferencia de potencial suficiente entre los dos electrodos tiene lugar la ionización del gas y los cationes gaseosos son acelerados hacia el cátodo, adquiriendo la suficiente energía cinética para arrancar algunos átomos metálicos del material catódico. De los cuales algunos son excitados al chocar con los iones gaseosos, y al regresar a su estado basal emiten radiación característica.

Cuando se apaga la lámpara de cátodo hueco, los átomos metálicos vaporizados tienden a depositarse sobre las paredes del cátodo o sobre las paredes del vidrio del tubo, siendo mínima esta posibilidad por su diseño del cátodo.

Ya que se determinan cada elemento uno a uno en la técnica de absorción atómica hace de esta que sea útil en el análisis cuantitativo, no siendo efectiva para la identificación de los elementos presentes en una muestra.

EQUIPO INSTRUMENTAL EN EAA DE UNHAZ SENCILLO

Es el modelo menos complicado en EAA, su recorrido típico de haz sencillo es el que se muestra en la siguiente figura 3A, de la cual se mencionara cada uno de sus componentes.

COMPONENTES BÁSICOS DE UN ESPECTRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA

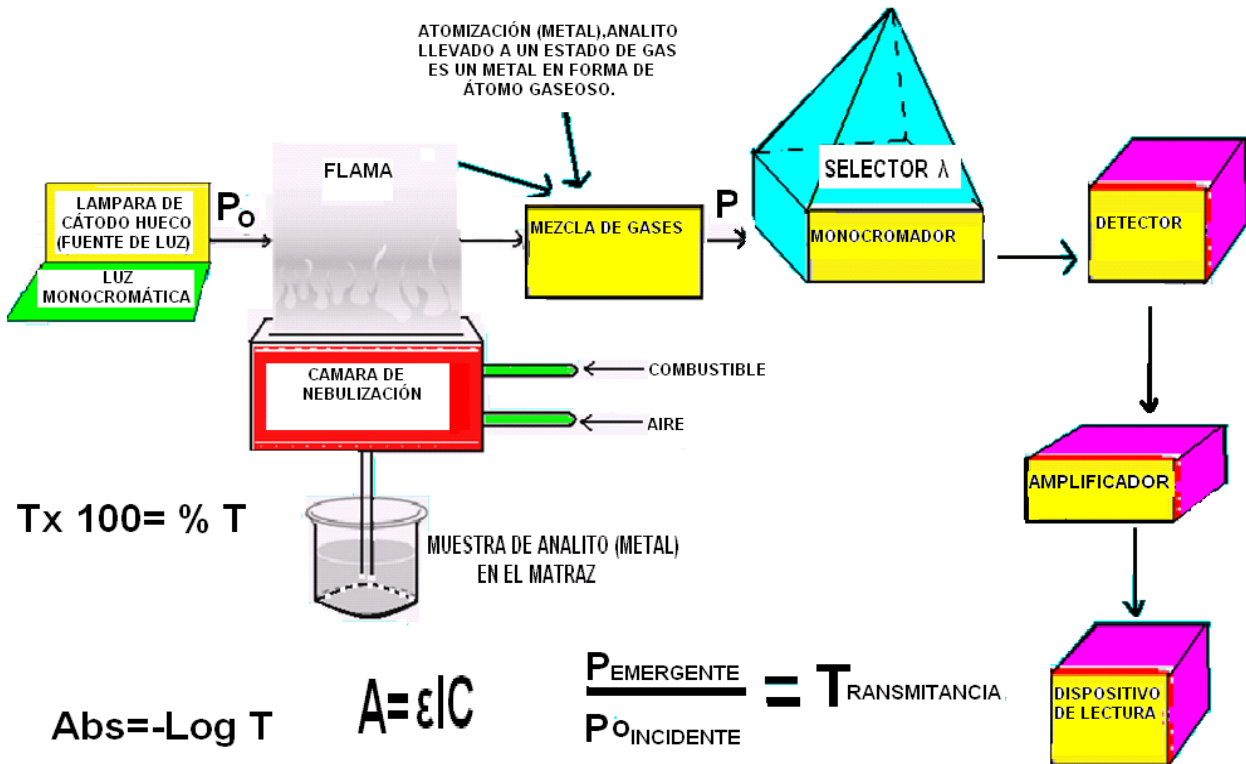


FIGURA 3A: ESQUEMA DE UN ESPECTRÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

MONOCROMADOR: Seleccionar de todo el espectro electromagnético la longitud de interés para realizar las lecturas.

DETECTOR: Detectar la cantidad de energía emergente que un determinado analito no absorbe. El detector usado en absorción atómica es el tubo fotomultiplicador, ya que ningún otro sistema ofrece la misma sensibilidad en el margen de longitudes de onda utilizando esta técnica.

FUENTE: Dispositivo que provee de energía radiante.

FOTOMULTIPLICADOR: Son detectores más empleados en la actualidad, su principio se basa en el efecto de emisión de electrones secundarios.

ETAPAS DE LA ATOMIZACIÓN DE UN ELEMENTO

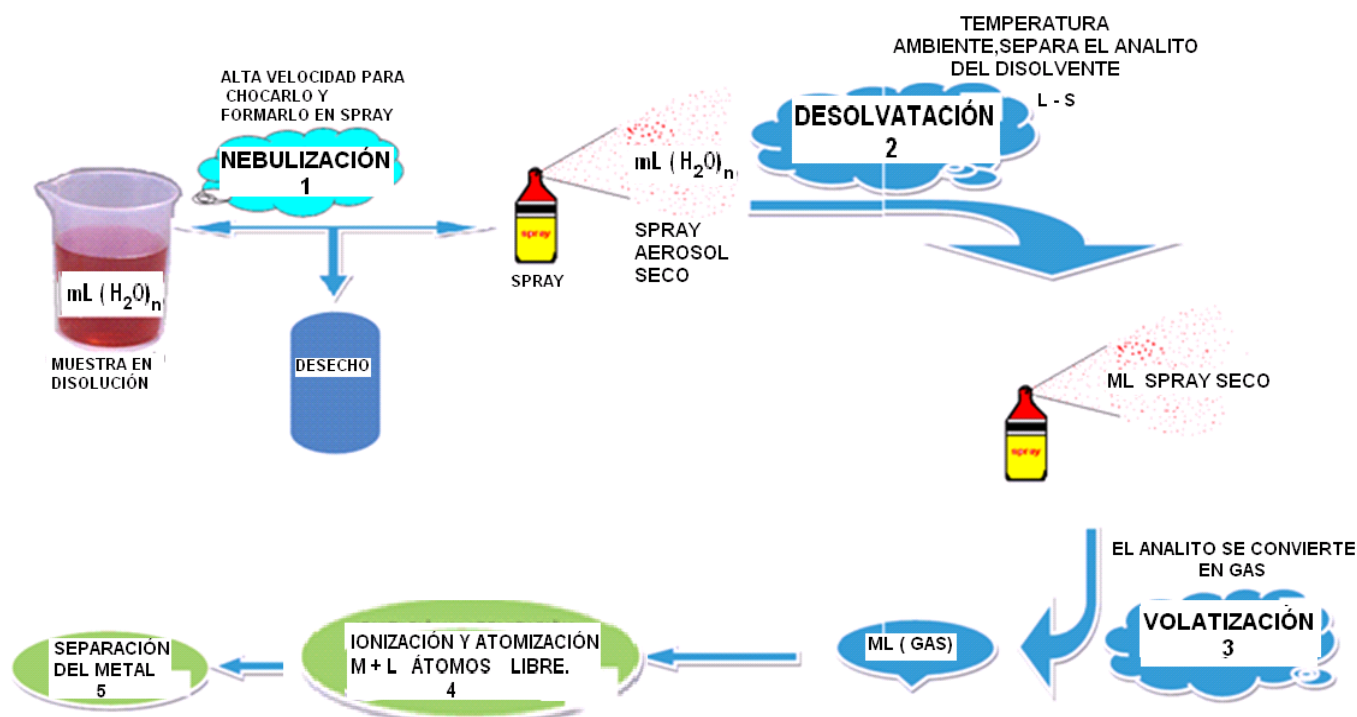


FIGURA 3B: ETAPAS DE LA ATOMIZACIÓN.

La muestra líquida es succionada por el capilar hacia el nebulizador por el flujo rápido de aire que pasa por el capilar. El aire circula a altas presiones, por lo cual se consigue que el líquido se convierta en aerosol, este se dirige a gran velocidad contra una esfera de impacto, sobre la cual las gotas del aerosol se dividen en partículas más pequeñas; a esta etapa se le denomina **NEBULIZACIÓN**.

A continuación de este proceso las gotas penetran a la flama en la cual suceden los siguientes fenómenos.

1. Pérdida del agua por evaporación con lo cual la muestra es ahora sólida.
 2. Vaporización de la muestra sólida, con lo cual se descomponen en átomos.
 3. Por último ocurre la separación del metal.
- TIENE LAS SIGUIENTES CARACTERÍSTICAS LA ABSORCIÓN ATÓMICA
- ✓ Se cuantifican concentraciones en el orden de ppm.
 - ✓ Tiene buena precisión.
 - ✓ Es rápida.
 - ✓ Es simple.
 - ✓ Es repetible.

CAMPOS DE APLICACIÓN.

- ✚ Analitos de agua.
- ✚ Productos farmacéuticos.
- ✚ Petroquímica.
- ✚ Mineralogía.
- ✚ Metalurgia.
- ✚ Alimentos y bebidas.
- ✚ Química clínica.

INTERFERENCIAS: Este va depender mucho del principio de la materia de la muestra.

- ✚ Formación de hidruros.
- ✚ Interferencias por moléculas o partículas que dispersan o absorben las radiaciones. se emplean modificadores químicos para alterar la velocidad del analito.



INTERFERENCIAS FISICAS:

- ✚ Viscosidad.
- ✚ Densidad.
- ✚ Tensión superficial.

INTERFERENCIAS QUIMICAS: Son aquellas en las que un compuesto químico está presente, o se forma en la llama, con la consiguiente disminución de la población de átomos libres. El tipo de interferencias más común es la formación de óxidos, hidróxidos, carburos o nitruros metálicos térmicamente estables. Esto se evita operando con llamas más calientes, ya que el grado de disociación de estos compuestos aumenta con la temperatura.

CUANTIFICACIÓN: Una espectrometría atómica se observa una dependencia lineal simple entre la concentración y la respuesta, con frecuencia se emplea el método de adición de estándar en espectrofotometría atómica. Dicho método ayuda a corregir las diferencias de eficiencia de atomización o nebulización y los efectos de la matriz en la respuesta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 💧 DANIEL C.Harris.Análisis químico cuantitativo.México, Iberoamericana, 1992(págs. 579-599).Pág. 886.
- 💧 ROUESSAC, Francis.Análisis químico (Métodos y técnicas instrumentales modernas).5ed, España, Mc Graw Hill, 2000,441 pág.
- 💧 BENDER, Gary J.Métodos instrumentales de análisis en química clínica.España, Acribia.1992, 385 pág.

ELECTROFORESIS CAPILAR

(EC)

INTRODUCCIÓN

Las técnicas electroforéticas se realizaban en geles hidrofílicos y otros medios de soporte. Últimamente se han llevado a cabo en capilares de sílice fundida de unas cuantas micras de diámetro interno.

La electroforesis es la migración de iones presentes en una disolución por influencia de un campo eléctrico. El aparato de electroforesis capilar dispone de un voltaje de 30Kv y separa los componentes en una disolución dentro de un tubo capilar de sílice fundida (SiO_2) de 50 cm de longitud y un diámetro interior de 25 a 75 μm . Los distintos solutos tienen diferentes movilidades y por lo consiguiente migración a través del capilar con diferente velocidad. Modificando el aparato se pueden separar tanto moléculas neutras como iones.

ELECTROFORESIS:

Ha sido definida como el movimiento o desplazamiento diferencial de especies cargadas (iones), sustancias neutras o migración pasiva, por atracción o repulsión en un campo eléctrico.

Electroforesis capilar

El empleo de capilares para la separación de sustancias neutras o iones cargados eléctricamente, apareció en 1967 en una experiencia desarrollada por Hjerten empleando capilares milimétricos, los que eran rotados a través de su sección longitudinal para evitar los efectos de la convección.

La electroforesis capilar (EC) es una técnica separativa basada en la migración de las especies de la muestra en disolución, portadoras de una carga eléctrica global, bajo el efecto de un campo eléctrico y en contacto con un soporte adecuado. Permite separar bastante bien biomoléculas y compuestos de pequeña masa molecular.

En esta técnica se utiliza un tubo capilar abierto en sus extremos, fabricado de sílice fundida, y con un diámetro muy pequeño (15 a 150 μm). Este capilar, cuya longitud oscila entre 20 y 80 cm., está lleno de una disolución buffer. La diferencia de potencial aplicada puede llegar a los 600 V/cm, pero la intensidad no debe sobrepasar una centena de mA, con el fin de que la energía disipada se mantenga inferior a 3 W. Para limitar el calentamiento del capilar es preferible situarlo dentro de un recinto termostático.

El detector se encuentra ubicado a una distancia del extremo anterior del capilar, y cerca del compartimiento catódico. La señal obtenida es la base de la obtención del "electroferograma" que nos muestra el registro de la composición de la muestra. Sólo se detectarán las especies que se dirigen hacia el cátodo.

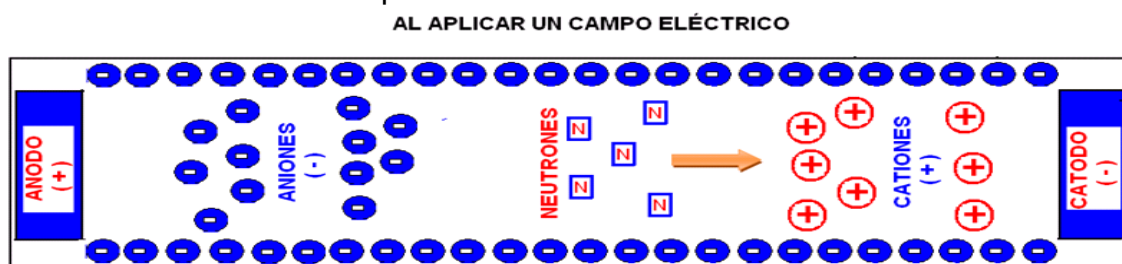
En la electroforesis capilar, la muestra se inyecta en una disolución tamponada retenida en el interior de un tubo capilar. Cuando se aplica un campo eléctrico a este tubo, los componentes de la muestra migran gracias a dos tipos de movilidad: movilidad electroforética y movilidad electroosmótica. La movilidad electroforética es la respuesta del soluto al campo eléctrico aplicado; así los cationes se desplazan hacia el cátodo de carga negativa, los aniones hacia el ánodo de carga positiva y las especies neutras, que no responden al campo eléctrico, permanecen estacionarias. La otra contribución a la migración de los solutos es el flujo electroosmótico, que se produce cuando la disolución tampón se mueve por el capilar en respuesta al campo eléctrico aplicado. En condiciones normales, la disolución tampón se desplaza hacia el cátodo, arrastrando con ella a la mayoría de los solutos, incluso a los aniones.

La electroósmosis se produce porque las paredes del tubo capilar poseen carga eléctrica. La superficie del capilar de sílice contiene un gran número de grupos silanol (Si-OH). Con un pH superior a 2 o 3, los grupos silanol se ionizan y forman iones de silanato con carga negativa. Algunos cationes se unen fuertemente a los iones silanato, formando una capa interna o fija. Otros cationes se unen de forma más laxa, formando una capa externa o móvil. El conjunto de estas dos capas se denomina doble capa. Los cationes de la capa externa migran hacia el cátodo. Como estos cationes están solvatados, arrastran consigo a la disolución, produciendo el flujo electroosmótico.

La velocidad total o neta del soluto es la suma de su velocidad electroforética (desplazamiento del soluto a través del medio conductor gracias a su movilidad electroforética) y la velocidad del flujo electroosmótico (movimiento del soluto a través del capilar por efecto del flujo electroosmótico). Por tanto, los cationes salen primero, pero según un orden que corresponde a su movilidad electroforética, con los cationes pequeños y de carga elevada antes que los cationes de carga menor y de mayor tamaño. Las especies neutras salen en una sola banda, con una velocidad de elución que corresponde a la velocidad del flujo electroosmótico. Por último, los aniones son los últimos componentes en salir, siendo los más pequeños y de mayor carga los que tienen un tiempo de elución más largo.

PROCESO DE SEPARACIÓN ELECTROFORETICA

En un sistema dado; las especies cargadas (iones) se mueven o separan bajo la influencia de un campo eléctrico en función de su distinta velocidad de migración. Sus partes básicas son un par de electrodos, una fuente de poder y un medio conductor ver esquema 1A.



ESQUEMA 1A: PROCESO DE SEPARACIÓN ELECTROFORETICA

ELECTROFORESIS CAPILAR

Ha aumentado el interés desde el punto de vista analítico. Sus ventajas son alta resolución, alta eficiencia de separación, corto tiempo de análisis, cantidades pequeñas de muestra y separación de un sin número de compuestos que proporciona una separación selectiva.

La EC depende de las diferencias entre las propiedades eléctricas de los analitos más que las diferencias en la forma en que se distribuyen entre una fase móvil y una estacionaria. En la EC los componentes de una mezcla se transportan a través de un tubo capilar dispuesto horizontalmente (parcialmente enrollado) por efecto de un elevado potencial de corriente continua que se aplica a lo largo de la longitud del tubo.

Esta técnica consiste en introducir en un capilar una mezcla de especies (cargadas o neutras), que se separan en función de su carga y su movilidad iónica en el medio en que se encuentren bajo la influencia de un campo eléctrico, como se muestra el esquema anterior.

La EC cuenta con las siguientes partes en su equipo de detección, ver figura 1B.

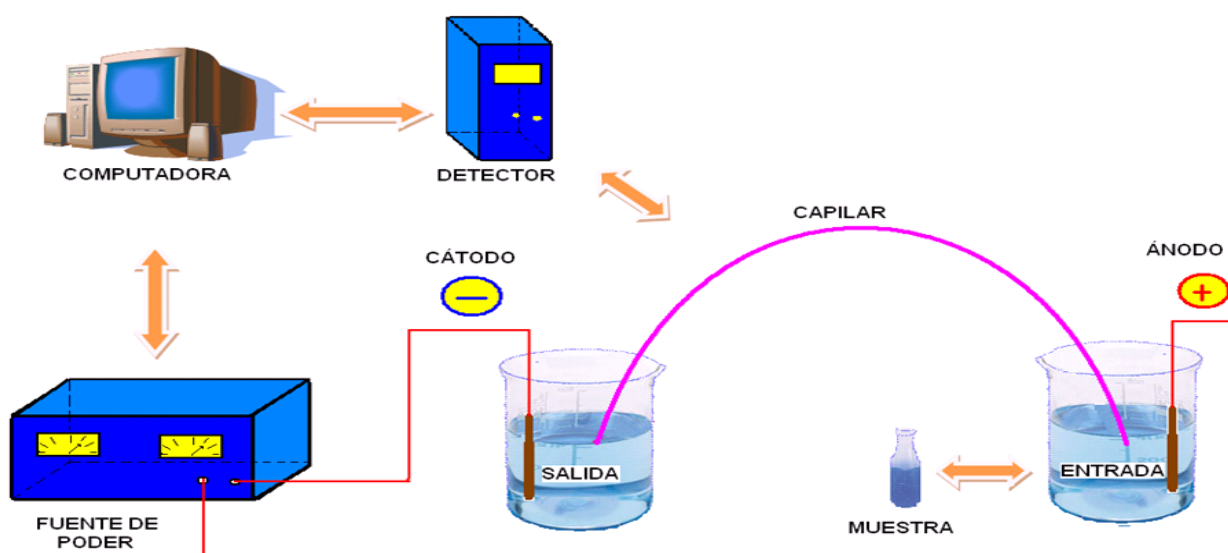


FIGURA 1B: COMPONENTES BÁSICOS DE UN SISTEMA DE EC

Este método es utilizado para separar y determinar disoluciones dependiendo de su carga eléctrica.

El orden de salida en función de la carga hacia el cátodo (-), es el siguiente:

1. ++
2. +
3. Neutro
4. (-) presenta mayor resistencia.

La EC requiere una instrumentación relativamente sencilla como lo demuestra la figura 1B. Requiere de una fuente de poder, un capilar cuyos extremos se encuentran sumergidos, junto con dos electrodos, en dos viales que contienen una disolución buffer, un detector y un sistema de adquisición de datos.

CAPILAR DE SEPARACIÓN

Se llena con un electrolito soporte (buffer) y se coloca entre dos depósitos que también lo contengan; los electrodos son conectados a una fuente de poder, que genera hasta 30Kv y se sumergen en los depósitos por separado. La inyección de una muestra se realiza substituyendo un deposito de buffer por el contenedor (generalmente es un vial) con la muestra durante este proceso. Un volumen de muestra definido es introducido en un tubo capilar, ya sea por presión o por la aplicación de un pequeño voltaje. Después se aplica cierta cantidad de potencial para realizar la separación.

Las especies iónicas en la muestra problema migran con la dirección y velocidad determinados por su carga y masa; eventualmente pasan de un detector y la señal obtenida se conoce como electroferograma. Los capilares utilizados son de una medida que va de 10,200 μm de diámetro interno.

FUNDAMENTO DE LA TÉCNICA

Los cationes (+) se trasladan hacia el cátodo (-) y los aniones (-) hacia el ánodo (+) a velocidades que van a depender del equilibrio entre la fuerza impulsora del campo eléctrico sobre los iones cargados de la muestra y las fuerzas de reparto entre las moléculas que migran y el medio circulante, que son fuerzas de fricción electroosmóticas. El material de la muestra está suspendido en el buffer para que se lleve a cabo el fenómeno electroforético. La corriente se mantiene por todo el circuito ya que los electrodos están sumergidos en viales que contienen el buffer durante la separación en los electrodos se producen iones hidroxilo e hidrogeno en el cátodo, mientras que en el ánodo se forman oxígeno e iones hidrogeno.

FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE MIGRACIÓN DEL ANALITO

- ✚ Carga.
- ✚ Tamaño.
- ✚ Forma.

FACTORES QUE AFECTAN LA SEPARACIÓN DEL COMPUESTO DE INTERES

- ✚ Composición.
- ✚ Concentración.
- ✚ pH del electrolito.
- ✚ Voltaje aplicado.

MEDIO DE SOPORTE

Es el material del cual está hecho el capilar. Se utilizan capilares hechos de sílice fundida porque posee la excelente transparencia a la radiación Uv además de ser química y eléctricamente inerte, flexible, robusta y económica.

ELECTROOSMOSIS

Es el resultado de una carga relativa que se produce entre las moléculas del agua del buffer y de la superficie del medio de soporte. La ionización de estos grupos generalmente produce iones oxonio (H_3O) cargados positivamente

FLUJO ELECTROSMÓTICO (FEO)

Es el flujo que origina la presencia del campo eléctrico en una solución iónica cuando entra en contacto con la superficie sólida cargada. Una característica del FEO es que posee un perfil del flujo casi plano; en lugar del parabólico que caracteriza al HPLC.

Además de las moléculas del soluto cargadas, la disolución buffer también se desplaza por el capilar bajo la influencia de un campo eléctrico. Este fenómeno se le denomina flujo electroosmótico.

La corriente electroosmótica (FEO) generada por los grupos silanol de la superficie interna del capilar da como resultado una corriente plana del frente del líquido que contrasta con el frente parabólico de la cromatografía líquida de alta resolución ver figura 2A.



FIGURA 2A: COMPARACIÓN ENTRE EC Y CLAR

Una característica del flujo electroosmótico es que presenta un perfil de distribución plano, el cual solo se desvía unos cuantos nm de la pared, de forma que proporciona la misma velocidad a todos los solutos, sea cual sea su posición en la columna. Debido a este hecho, el flujo electroosmótico no contribuye de manera significativa al ensanchamiento de banda por difusión longitudinal, como si se ve y observa el perfil parabólico que se obtiene en el HPLC cuando el líquido se impulsa por presión hidrostática.

CARACTERÍSTICAS DE EC

- Rapidez.
- Altas eficacias.
- Pequeños volúmenes (nanolitros).
- Amplio campo de aplicaciones (modos de EC).
- Automatización.

SISTEMA DE DETECCIÓN

La detección se realiza directamente en el capilar, lo que significa que sirve como celda de detección. El tipo de detector dependerá de los analitos a determinar, y siempre que se pueda, se escogerá aquel que proporcione una sensibilidad elevada para todos los compuestos. Al igual que en cromatografía de líquidos y en cromatografía de gases existen diferentes detectores que se pueden utilizar en EC, como son los siguientes.

- Absorción UV – Vis.
- Fluorescencia (no todos tienen fluorescencia).
- Amperométrica (no se disipa la corriente residual).
- Electroquímica.

TIPOS DE MOLÉCULAS QUE PUEDEN SER SEPARADOS POR CE

- Proteínas.
- Péptidos.
- Aminoácidos.
- Ácidos nucleídos.
- Iones inorgánicos.
- Bases orgánicas.
- Ácidos orgánicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DANIEL C.Harris.Análisis químico cuantitativo. México, Iberoamericana, 1992, 886 Pág.
- BENDER, Gary J.Métodos instrumentales de análisis en química clínica. España, Acribia.1992, 385 pág.
- MIRIAM A. de Castillo Rodríguez.Desarrollo de un programa ambiente multimedia sobre electroforesis capilar, Unam, 2001, págs. 13- 29.

POTENCIOMETRÍA

INTRODUCCIÓN:

La potenciometría que es uno de los métodos electroquímicos abarcan una amplia variedad de técnicas, que se basan en los diferentes fenómenos que se llevan a cabo dentro de una celda electroquímica. Por lo cual se han clasificado los métodos electroquímicos en:

1. Potenciometría.
2. Voltametría.
3. Conductimetría.

Todos los métodos electroquímicos se caracterizan por su alto grado de precisión y selectividad que tienen para el analito de interés que se desea estudiar.

Los métodos potenciométricos están basados en la medida de la diferencia de potencial entre dos electrodos introducidos en una disolución. Los electrodos y la disolución constituyen lo que se conoce con el nombre de *celda electroquímica*. El potencial entre ambos electrodos es normalmente medido con la ayuda de un equipo conocido como potenciómetro. Uno de los electrodos involucrado en el proceso se denomina indicador, el cual tiene una respuesta respecto de una especie particular presente en el seno de la disolución y cuya actividad se mide durante el experimento y el otro recibe el nombre de referencia, cuya característica más importante es que el potencial de semicelda de este electrodo permanece siempre constante.

Los potenciales de semicelda de la mayoría de los electrodos indicadores responden como ya se ha comentado a los cambios en la actividad de las especies a ser determinadas de acuerdo a la ecuación de Nernst. Así por ejemplo, un electrodo de plata introducido en una disolución de iones Ag^+ .

CELDAS ELECTROQUÍMICAS

Son dos tipos de celdas que se utilizan: La galvánica y la electrolítica. La galvánica también es conocida con el nombre de celda voltaica o electrocelda, en esta tiene lugar una reacción química espontánea la cual genera una tensión eléctrica; para lo cual uno de los reactivos debe oxidarse y el otro debe reducirse y no debe haber contacto entre ambos (Harris 1992 pág. 305). La electrolítica es cuando se suministra energía eléctrica a una celda, con una fuente de poder.

ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES.

Estos responden selectivamente a una especie presente en la disolución, estos electrodos tienen una delgada membrana delgada que separa la muestra problema y el interior del electrodo. La parte interna del electrodo contiene la solución del ion problema que se desea determinar el cual tiene una actividad constante. En cambio la parte externa está en contacto con una muestra de composición variable. la diferencia de potencial a través de la membrana depende de la diferencia en la actividad de la especie del analito entre la solución interna y la muestra problema.

ELECTRODOS DE REFERENCIA

Como característica principal de esta es que es de potencial conocido y constante; los cuales están constituidos por una hemicelda interna de referencia que por lo común es de plata, cloruro de plata o de calomel (cada uno de ellos con su respectivo valor de potencial referencia estándar); el cual tiene un electrolito de puente salino y un pequeño canal en la punta del electrodo; a través del cual fluye muy lentamente el electrolito, permitiendo el contacto con los otros componentes de la celda.

ELECTRODOS DE CALOMEL(O CALOMELADOS).

Estos electrodos contienen platino el cual es un elemento no atacable; el cual está en contacto con mercurio; cloruro mercurioso (calomel) y con una disolución neutra de cloruro de potasio el cual es de concentración conocida la cual se encuentra saturada con cloruro mercurioso, ver figura 1A.

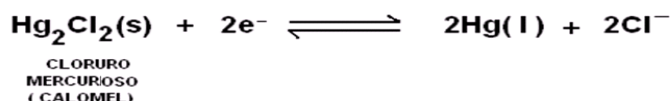
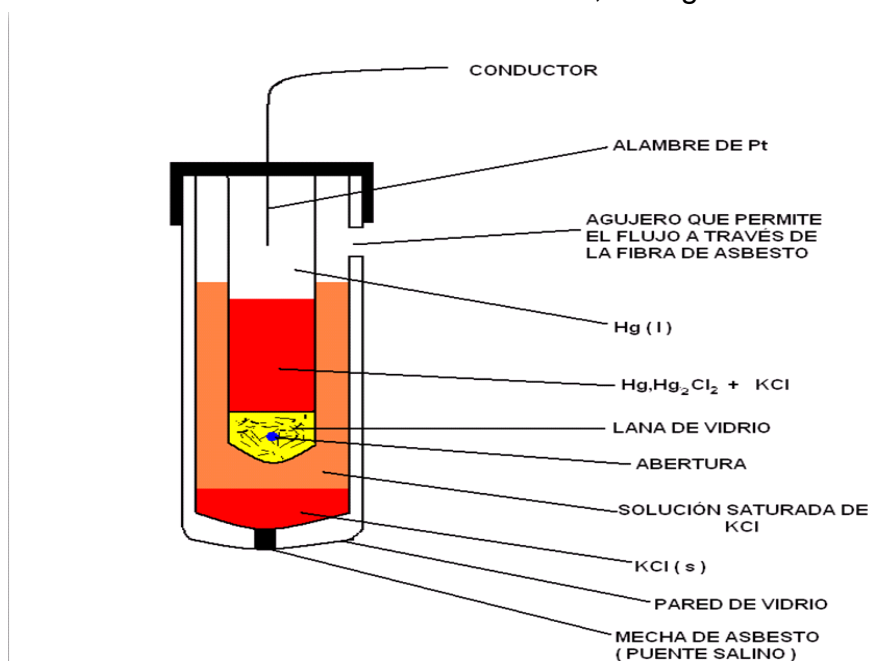


FIGURA 1A: ELECTRODO DE CALOMEL SATURADO (E.C.S)

Hay tres versiones del electrodo de calomel de los cuales el electrodo de calomel saturado (E.C.S) don de la disolución de KCl es de una concentración normal de 4.2 N además de que los electrodos de tienen una concentración de 1.0 N o 0.1 N de la disolución de KCl.El potencial estándar (E°) es de + 0.268 V, además la semicelda está saturada de KCl a 25°C; la actividad del Cl^{-} es tal que el potencial del electrodo es de + 0.241 V. Además los dos electrodos de referencia que más comúnmente se utilizan son el de plata- cloruro de plata y el de calomel, ver figura 1B.

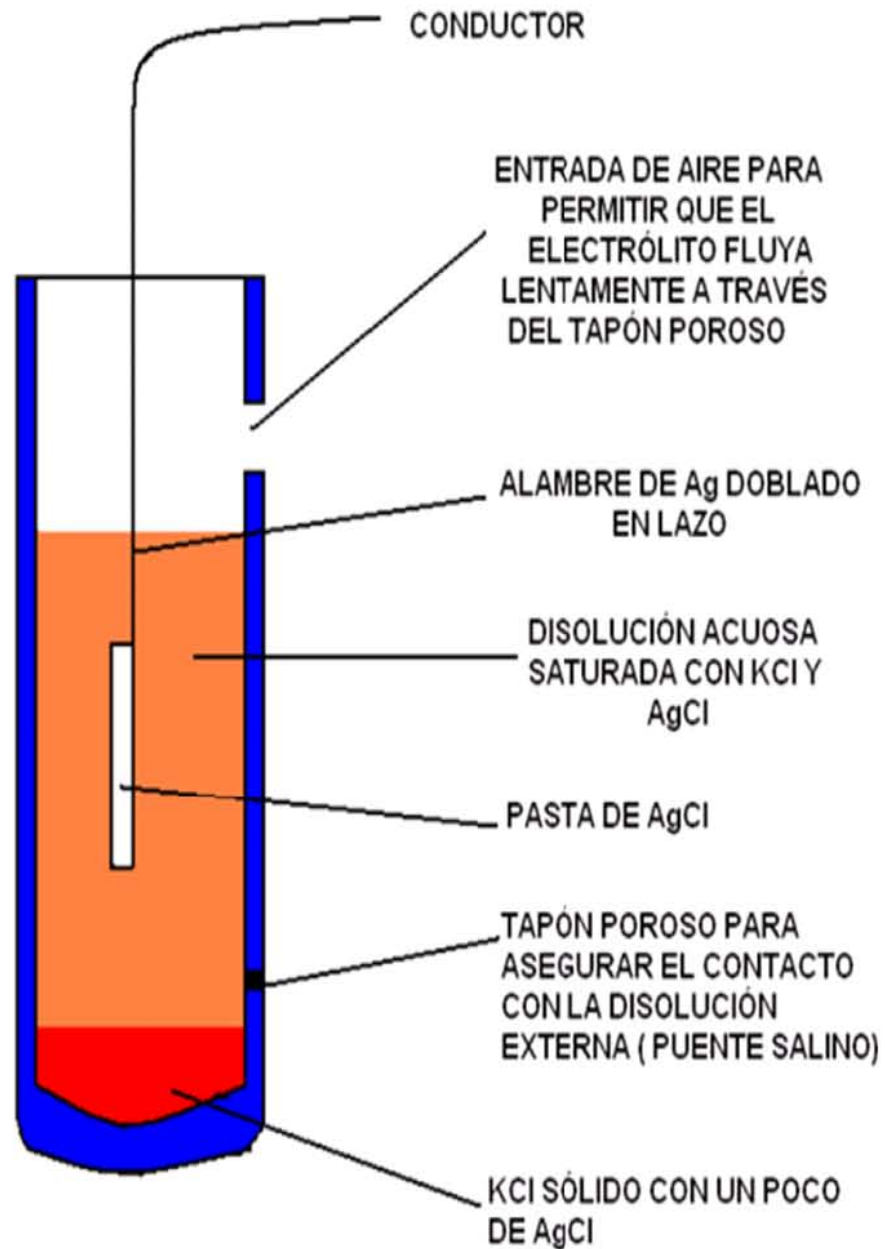


FIGURA 1B: ELECTRODO DE REFERENCIA DE PLATA-CLORURO DE PLATA

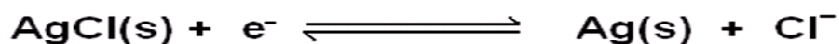
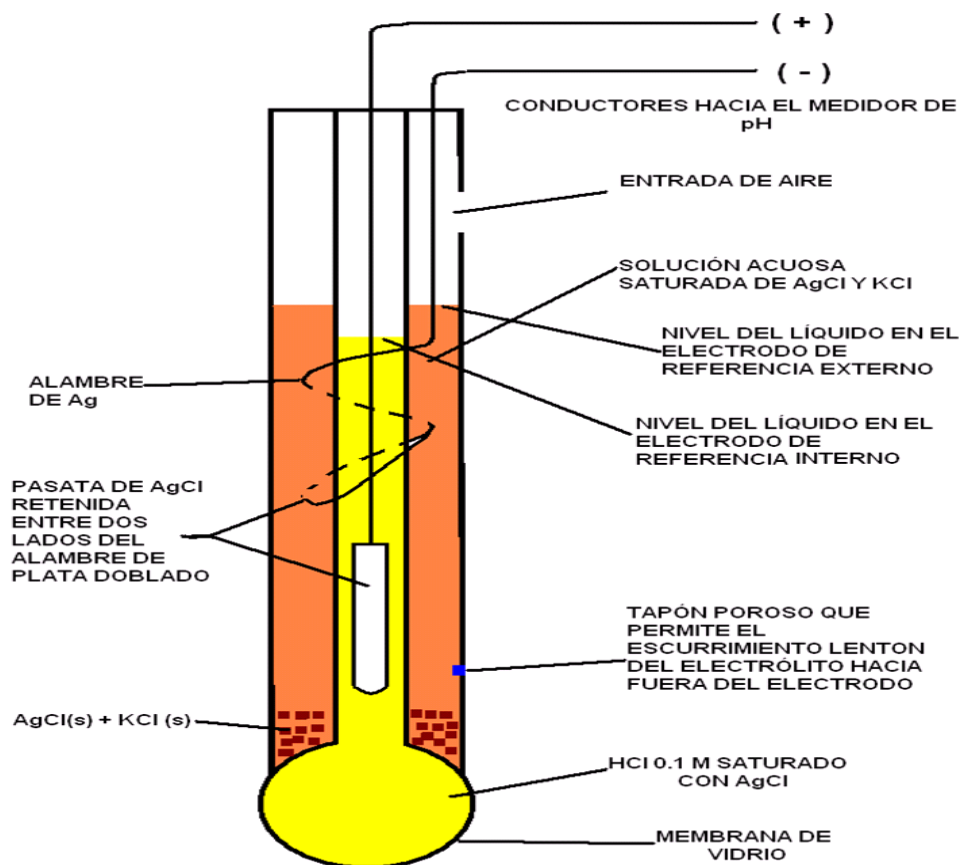
Los electrodos de plata – cloruro de plata.

Este electrodo tiene un alambre de plata recubierto con una capa de cloruro de plata la cual está sumergida en una disolución de cloruro de potasio la cual tiene una concentración conocida, que además está saturada con cloruro de plata.

Electrodo de vidrio combinado de pH

Este es un electrodo selectivo de iones el cual es el más empleado; en este se incorpora el electrodo de vidrio y el de referencia en un solo cuerpo. Este es el más utilizado en el análisis químico cuantitativo.

En la siguiente representación el electrodo de vidrio se sumerge en una disolución de pH desconocido hasta una profundidad tal que el tapón poroso, situada en la parte inferior derecha, se encuentra por debajo del nivel del líquido. Los electrones de plata permiten medir la diferencia de potencial entre las caras de la membrana de vidrio, ver figura 2A.



$$E^\circ = + 0.222 \text{ V}$$

$$E (\text{ saturado con KCl}) = + 0.197 \text{ V}$$

FIGURA 2A: ELECTRODO COMBINADO DE VIDRIO CON ELECTRODO DE REFERENCIA DE PLATA-CLORURO DE PLATA.

Como se puede observar en el anterior esquema en la parte interna del electrodo de vidrio hay un alambre de plata con uno de los extremos sumergidos en la disolución de HCl 0.1 M. El bulbo de la parte inferior del electrodo está fabricado de vidrio de composición especial. La superficie interior de esta membrana de vidrio está en contacto con una disolución de HCl 0.1 M ; y en la superficie externa con una disolución que se desea determinar en ambas superficies de la membrana de vidrio esta absorbe agua la cual forma una capa de gel.

En estudios que se han realizado con tritio (H^3) como un trazador radiactivo, se ha demostrado que los iones hidrogeno no atraviesan la membrana de vidrio del electrodo de pH. Las dos caras de la membrana están en equilibrio con H^+ además que los iones de Na^+ transportan las cargas a través de la membrana. La diferencia de potencial entre los electrodos de plata, cloruro de plata interno y externo depende de la concentración del ion cloruro en el compartimiento de cada electrodo, como también la diferencia de potencial que existe entre las caras de la membrana.

La concentración del cloruro es constante en cada uno de los compartimentos; en cambio la concentración de H^+ es fija en la parte interna de la membrana de vidrio, el único factor que provoca un cambio en el potencial es la variación del pH de la disolución del analito en la parte externa de la membrana del electrodo (Harris ,1992). Cada cambio en la unidad de pH en un analito da como resultado un cambio de potencial de 59.16 mV. El electrodo de pH responde a la actividad de H^+ y no a su concentración. Los electrodos reales llegan a responder en forma muy cercana a lo predicho por la ecuación de Nernst. Los electrodos de pH se deben de calibrar antes de ser utilizados y en caso de uso continuo se debe de calibrar cada dos horas el pH de los patrones de calibración debe de comprender el valor de pH de la disolución problema.

Una celda galvánica puede utilizarse como detector de una especie química cuando se conocen las actividades de todas las demás especies. Esto es , cuando se conocen las actividades de todas las especies excepto de una de ellas en una celda, la fuerza electromotriz de la celda es indicador de la actividad de la especie que se desconoce. La medición de las fuerzas electromotrices de celdas para obtener información química de denomina **potenciometría**

En una disolución que tiene una especie electroactiva cuya concentración se desea determinar (Una especie electroactiva es aquella que puede ceder o aceptar electrones proporcionados por un electrodo).La disolución que tiene a la especie problema puede transformarse en una semicelda si se sumerge en ella un electrodo (como un alambre de Pt) con el fin de transferir electrones desde o hacia la especie de interés. Puesto que el electrodo responde directamente al analito, se denomina **electrodo indicador**.

A continuación se conecta esta semicelda a otra semicelda mediante un puente salino. La segunda semicelda debe tener una composición invariable y conocida, de manera que tenga un potencial constante al cual se le va denominar **electrodo de referencia**. El potencial de celda es la diferencia entre un potencial constante del electrodo de referencia y un potencial variable que refleja cambios en la actividad del analito.

BIBLIOGRAFÍA:

- Harris Daniel C. Análisis Químico Cuantitativo, México, Edit. Iberoamérica, 1992 Pág. 343- 360.
- VERDE CALVO, José Ramón.et al. Manual de prácticas de química analítica II, México, UAM, 1999,126 (105 – 109 pág.)126 págs.
- ORTEGA PÉREZ, Arturo, et al. Realización de análisis clínicos elementales.España, Altamar, 2007 (106-114pág.) 239 págs.

CONCLUSIONES

Se realizó este manual en el laboratorio de química analítica como apoyo para la asignatura de química analítica instrumental que llevará la nueva carrera licenciado en bioquímica diagnóstica en la FES-Cuautitlán.

Este manual contiene prácticas instrumentales que le permiten al alumno desarrollar la destreza en las diferentes técnicas así como la correcta utilización de reactivos, toma y procesamiento de muestras y llevar un buen desempeño durante el desarrollo de cada práctica de laboratorio.

Se presentaron los principios básicos que ayudan a guiar al alumno en el conocimiento de las técnicas instrumentales de este manual; así como las características de los métodos instrumentales más comunes como son: Curvas de calibración, curvas de adiciones patrón y el método del estándar interno para el correcto tratamiento de sus datos.

Se considera un aporte importante dado que la asignatura es para una carrera que en principio es nueva; y permite al alumno tener una guía para un desempeño experimental adecuado que le ahorre tiempo y esfuerzo a los profesores permitiendo dedicar más atención al alumno. Y también puede ser un apoyo a otras instituciones que impartan carreras afines a la analítica instrumental.