



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**UNIDAD DE ENSEÑANZA APRENDIZAJE
ANÁLISIS INSTRUMENTAL APLICADO
(336025)**

Comisión de actualización de la carta descriptiva

Dr. Gómez Hernández Martín

Dr. Sánchez Mendoza Ernesto

M. en C. Hurtado y de la Peña Marcela

Fecha de conclusión 17/10/2017

ÍNDICE

	Pág.
Datos generales	3
Introducción	4
Objeto de transformación	5
Problema eje	5
Objetivo general y específicos	5
Atributos del perfil de egreso que se alcanzarán al final de la UEA	
Modelos experimentales	6
Líneas de investigación	6
Programa de trabajo de la UEA	7
Mapa Curricular	8
Unidad I. Métodos de separación y cuantificación.	9
Unidad II. Métodos espectroscópicos y espectrométricos estructurales aplicados a muestras de interés farmacéutico.	13
Unidad III. Normatividad y tratamiento de desechos de análisis.	16
Sesiones Experimentales	17
Modalidades de conducción del proceso de enseñanza	30
Bibliografía	30
Modalidades de evaluación	31
Equivalencias	31

DATOS GENERALES

Nombre de la UEA:	ANÁLISIS INSTRUMENTAL APLICADO
Clave de la UEA:	3360025
Trimestre de impartición:	XII
Créditos:	45
UEA precedente:	OBTENCIÓN DE METABOLITOS DE INTERÉS INDUSTRIAL PARA LA SALUD (TRAYECTORIA A) EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS (TRAYECTORIA B Y C)
No. Hrs/teoría/semana:	15
No. Hrs/prácticas/semana:	15
No. Hrs/totales por trimestre:	330
No. Unidades	3
Fecha de elaboración	Noviembre de 2009
Comisión del diseño de la UEA	Julia Cassani Hernández, Norberto Manjarrez Alvarez, Cuauhtémoc Pérez González, Herminia Inés Pérez Méndez, Miguel Ángel Zavala Sánchez
Fecha de actualización:	Diciembre de 2016
Comisión de actualización de la UEA	Martín Gómez Hernández, Marcela Hurtado y de la Peña, Ernesto Sánchez Mendoza
Responsable de la actualización	Marcela Hurtado y de la Peña
Perfil idóneo del profesor de esta UEA	Profesor con formación de carrera de química o afines
No. De profesores requeridos para impartir la UEA.	2

ANÁLISIS INSTRUMENTAL APLICADO

Introducción

Las sustancias de interés farmacéutico son todas aquellas que afectan las funciones biológicas de un ser vivo, estas pueden ser fármacos y sus productos de degradación fisicoquímica o biológica, metabolitos secundarios de origen natural, plaguicidas o contaminantes, entre otros.

En muchas ocasiones es necesario separar, identificar, elucidar la estructura química y cuantificar estas sustancias por métodos analíticos instrumentales adecuados.

Las herramientas que existen para el aseguramiento de la calidad o la identificación de sustancias de interés farmacéutico son parte de instrumentación analítica. De ahí la gran importancia y especial énfasis en la capacitación del futuro profesional, en las técnicas instrumentales de más uso en la actualidad, que incluyen las espectroscopias de UV-Vis, FT-IR, RMN, espectrometría de masas (EM), y cromatografías de líquidos y gases.

Una actividad común en el quehacer del egresado de QFB, es el control analítico de formas farmacéuticas para garantizar su calidad, estudios de biodisponibilidad o estabilidad de las mismas.

La industria farmacéutica no es el único campo laboral que requiere el uso de este tipo de herramientas, también la agroquímica, la cosmetológica, las instituciones que realizan estudios de química legal o forense, de control ambiental, centros de investigación, etc., donde es frecuente la implementación de métodos analíticos.

Durante el desarrollo del trabajo experimental en el laboratorio químico, se generan sustancias de desecho que muchas veces por desconocimiento son eliminadas o liberadas incorrectamente al medio ambiente, lo que ocasiona grandes daños a la salud y alteran el equilibrio ecológico. Por ello, es necesario crear conciencia en el futuro profesional de la importancia que tiene el disponer correctamente de los desechos generados en su quehacer diario.

El químico analista dentro de su quehacer profesional debe guiarse bajo un estricto código ético ya que en la actualidad las regulaciones sanitarias y legales relacionadas con el manejo de sustancias de interés farmacéutico son cada vez más estrictas, un mal manejo pueden tener una importante repercusión en diferentes aspectos sociales como son la salud o ambiental.

Ubicación de la UEA **Análisis instrumental aplicado** en el Plan de Estudios.

Para cursar la UEA optativa: Análisis instrumental aplicado, se requiere que el estudiante tenga los siguientes antecedentes académicos: haber cursado las UEA del tronco interdivisional y divisional, así como tener los conocimientos básicos en: química general, orgánica, analítica, fisicoquímica, matemáticas e introducción a las técnicas espectroscópicas y cromatográficas. Debe tener conocimiento y habilidades para desempeñar las buenas prácticas de laboratorio.

Objeto de transformación: Diseño y desarrollo de estrategias para el análisis instrumental de muestras de interés farmacéutico.

Que el alumno sea capaz de diseñar e implementar estrategias para la separación, identificación y cuantificación de sustancias de interés farmacéutico a partir del conocimiento teórico-práctico de los métodos espectroscópicos y cromatográficos

En el diseño e implementación de una estrategia para realizar el análisis instrumental de una muestra de interés farmacéutico, es necesario que el estudiante comprenda el fundamento teórico de los métodos espectroscópicos y cromatográficos que se utilizan en el análisis de muestras, así mismo debe tener el conocimiento práctico del manejo correcto del equipo, y los conocimientos y habilidades necesarios para el manejo adecuado de las muestras.

Problema eje: Separación, identificación, cuantificación y elucidación estructural de sustancias de interés farmacéutico.

El problema que implica la separación, identificación, elucidación estructural y cuantificación del o los componentes de muestras de interés farmacéutico, radica en poder asegurar que la metodología propuesta y su desarrollo experimental originen resultados confiables y reproducibles. Por lo que es necesario que el egresado posea los conocimientos necesarios para la implementación de metodologías analíticas que permitan asegurar resultados exactos y precisos.

Objetivo General

Diseñar y desarrollar estrategias que involucren métodos instrumentales para la separación, identificación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico.

Objetivos Específicos

- Diseñar las estrategias para la separación de los componentes de una muestra de interés farmacéutico.
- Emplear las operaciones y procesos unitarios en la preparación de muestras en cada una de las técnicas analíticas.
- Aplicar las técnicas cromatográficas para la separación e identificación de los componentes de una muestra de interés farmacéutico.

- Aplicar las espectroscopias de UV-visible, infrarrojo y resonancia magnética nuclear, así como la espectrometría de masas a la elucidación y caracterización de compuestos de interés farmacéutico.
- Desarrollar métodos de análisis instrumental para la identificación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico.
- Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y desechos.

En esta UEA se plantea la integración de técnicas analíticas instrumentales estudiadas en UEA anteriores, así como las operaciones unitarias involucradas en la preparación de muestras.

Atributos del perfil de egreso que se alcanzarán al final de la UEA

- Profesional caracterizado por un comportamiento ético y responsable en el ejercicio de la profesión farmacéutica
- Con actitud crítica ante los determinantes de tipo económico, político y social de los problemas de salud en México
- Con capacidad de adoptar una perspectiva sustentable en la planeación de la producción de medicamentos y otros insumos para la salud
- Con una sólida formación básica que le permitirá acceder y desenvolverse exitosamente en el campo profesional, en los estudios de posgrado y la investigación
- Manejar y eliminar los desechos de los procesos de producción de la IQF con apego a las normas de seguridad, tratando de reducir al mínimo los riesgos personales y ecológicos
- Buscar, manejar e integrar la información y utilizar de manera apropiada los lenguajes formales propios de su campo de acción
- Manejar las herramientas estadísticas necesarias en el diseño y evaluación de procesos en la práctica profesional en la IQF
- Desarrollar y validar métodos analíticos para la Industria Químico Farmacéutica

Modelos experimentales

Separación, identificación, cuantificación y elucidación estructural de o los componentes de una muestra de interés farmacéutico, donde se apliquen las técnicas de análisis instrumental.

Línea de investigación

Para el desarrollo de la investigación de la UEA: **Análisis instrumental aplicado**, se propone como línea de investigación: Estrategias para la separación, identificación, cuantificación y elucidación estructural del o de los componentes de muestras de interés farmacéutico. Esta UEA capacita de manera teórico-práctico al estudiante en el desarrollo de metodologías instrumentales acordes con su campo laboral.

UNIDAD I: Métodos de Separación y Cuantificación.

Objetivo general de la unidad: Diseñar la estrategia para la separación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico.

UNIDAD II. Métodos espectroscópicos y espectrométricos estructurales aplicados a muestras de interés farmacéutico.

Objetivo general de la unidad: Desarrollar la estrategia para el análisis de métodos espectroscópicos y espectrométricos estructurales aplicados a muestras de interés farmacéutico.

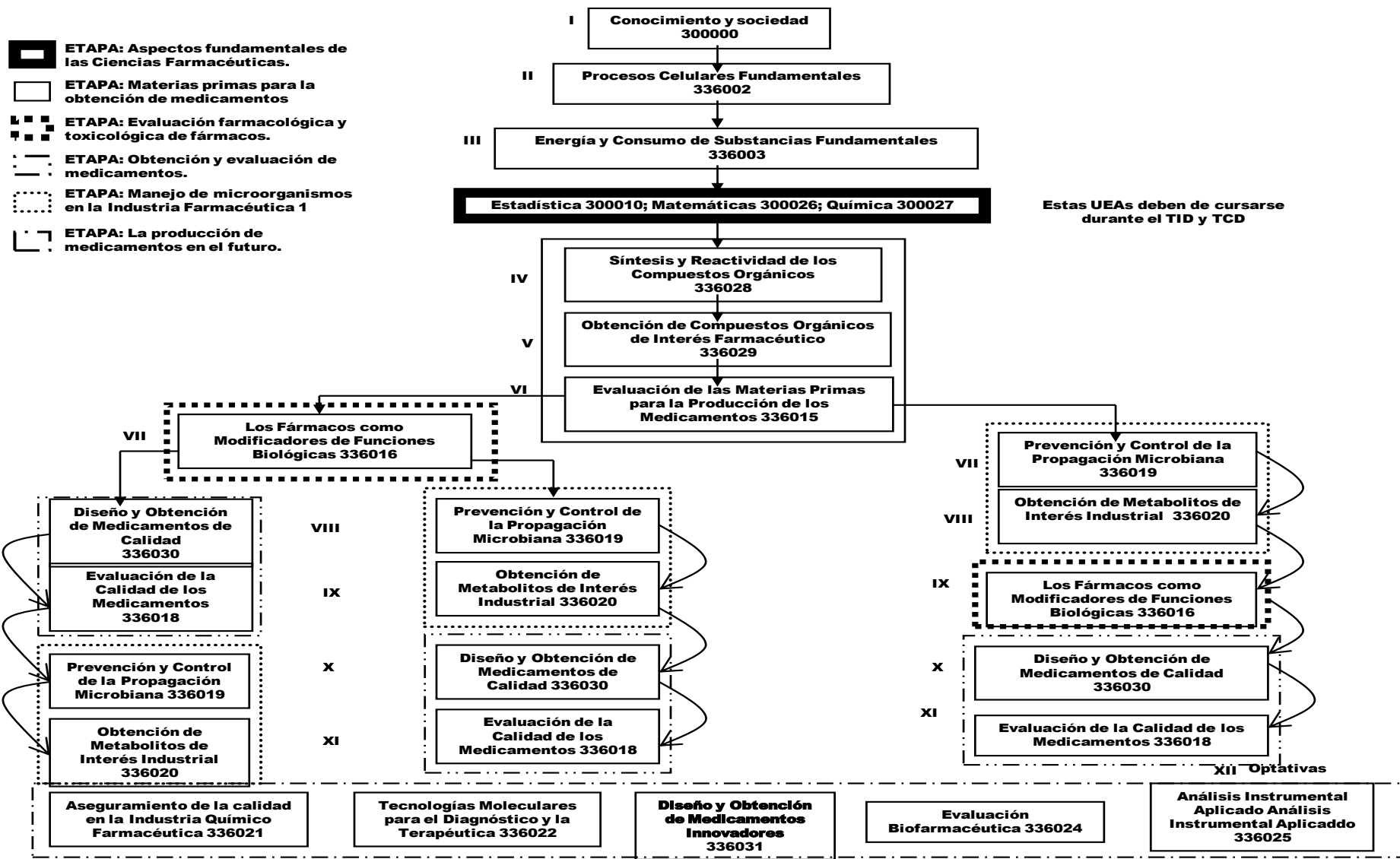
UNIDAD III. Normatividad y tratamiento de desechos de análisis.

Objetivo general de la unidad: Conocer las regulaciones sanitarias y legales relacionadas con el manejo de sustancias de interés farmacéutico

Programa de Trabajo de la UEA

Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Unidad	I				II				III		
Modelos Experimentales			1	1	1	1	1				
Trabajo de investigación			Selección de proyecto		Revisión bibliográfica y elaboración de protocolo		Desarrollo experimental			Entrega de reporte	Presentación final
Evaluaciones deseables	6 a 8										

MAPA CURRICULAR



UNIDAD I: Métodos de Separación y Cuantificación.

Objetivo general de la unidad: Diseñar la estrategia para la separación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico.

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones*	Bibliografía
<p>1.1 Identificación del tipo de muestra (sustancias puras o mezclas).</p> <p>1.1.1 Preparación de muestras para análisis cualitativo y cuantitativo.</p> <p>1.1.2 Clasificación de los métodos cromatográficos.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Adsorción -Reparto -Intercambio iónico -Exclusión molecular -Afinidad <p>1.1.3 Selección del método cromatográfico.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Cromatografía de gases -Cromatografía de líquidos (FPLC, HPLC, UPLC) <p>1.1.4 Determinaciones cualitativas y cuantitativas.</p>	<p>Aplicar las operaciones y los procesos unitarios para la preparación de una muestra.</p> <p>Elegir el método cromatográfico adecuado para el análisis cualitativo y cuantitativo de una muestra.</p> <p>Revisar las normas internacionales de calificación de equipos y validación de métodos analíticos.</p>	<p>Discusión y análisis de la necesidad y de las características que debe cumplir el desarrollo de métodos analíticos.</p> <p>Revisar las normas internacionales de validación de métodos analíticos.</p> <p>Discusión grupal de las diferentes operaciones y procesos unitarios para la extracción de una sustancia (pura o mezcla).</p> <p>Revisión bibliográfica y discusión grupal de los diferentes métodos de preparación de muestras para su análisis cualitativo y cuantitativo.</p> <p>Interpretar un cromatograma y analizar sus diferentes componentes.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Coeficiente de reparto -Tiempo de retención -Volumen de retención -Tiempo de retención ajustado -Retención relativa -Factor de capacidad <p>Revisar y discutir los conceptos de fase estacionaria y fase móvil, con la finalidad de optimizar un método por:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Líquido-Gas -Líquido-Líquido -Sólido-Líquido <p>Revisar y calcular la eficiencia de una columna:</p>	8	6, 7, 8, 14, 15, 16

		<ul style="list-style-type: none"> -Altura de platos -Número de platos -Resolución <p>Discutir los alcances y limitaciones de los diferentes métodos cromatográficos.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Eficacia en la separación cromatográfica. -Concepto de Resolución <p>Discusión grupal y aplicación de las determinaciones cualitativas y cuantitativas por:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Curva patrón -Análisis con Estándar Interno -Análisis con Estándar Externo. <p>Resolución de problemas de análisis cuantitativo.</p> <p>Desarrollar una propuesta para adaptar un método analítico</p>		
<p>1.2 Uso de la cromatografía de gases al análisis cualitativo y cuantitativo de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>1.2.1 Selección de la fase estacionaria.</p> <p>1.2.2 Módulos de un cromatógrafo de gases.</p> <p>1.2.3 Introducción de la muestra.</p> <p>1.2.4 Análisis por gradiente de temperatura.</p> <p>1.2.5 Aplicación para el análisis de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>1.2.6 Ventajas y desventajas de la cromatografía de gases.</p>	<p>Aplicar la cromatografía de gases al análisis cualitativo y cuantitativo de muestra de interés farmacéutico.</p> <p>Utilizar el cromatógrafo de gases para el análisis de sustancias puras o mezclas.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y sus desechos en la cromatografía de gases.</p>	<p>Conocer y discutir el uso de la cromatografía de gases para el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Enlistar las partes de un cromatógrafo de gases y entender su funcionamiento.</p> <p>Conocer y discutir la utilidad de los diferentes tipos de columna en cromatografía de gases:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Abiertas -Empaquetadas -Tipo de fase estacionaria -Fase móvil -Índice de retención <p>Conocer y discutir la aplicación de los diferentes detectores usados en cromatografía de gases:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Conductividad térmica -Ionización de flama -Captura electrónica -Nitrógeno-fósforo -Fotoionización -Quimioluminiscencia de azufre -Emisión atómica 	5	2, 6, 7, 14, 15, 16

		<p>-Masas</p> <p>Revisar y discutir los factores que afectan los procesos de separación cromatográfica:</p> <p>-Influencia de la temperatura y la presión</p> <p>-Inyección de la muestra: inyección con división, inyección sin división (condensación por disolvente y condensación por frío), inyección en columna</p> <p>Realizar un análisis experimental de una muestra de interés farmacéutico.</p>		
<p>1.3 Uso de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) al análisis cualitativo y cuantitativo a muestras de interés farmacéutico.</p> <p>1.3.1 Selección de las columnas. (fase reversa, fase normal, par ónico, quirral, entre otros).</p> <p>1.3.2 Gradientes en HPLC.</p> <p>1.3.3 Separación a nivel preparativo.</p> <p>1.3.4 Aplicación para el análisis de muestras de interés farmacéutico.</p>	<p>Aplicar la cromatografía de líquidos de alta eficiencia al análisis cualitativo y cuantitativo de muestra de interés farmacéutico.</p> <p>Utilizar un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia para el análisis de sustancias puras o mezclas.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y sus desechos en la cromatografía de líquidos de alta eficiencia.</p>	<p>Conocer y discutir el uso de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia en el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Enlistar y entender el funcionamiento de las partes de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia.</p> <p>Conocer y discutir la utilidad de los diferentes tipos de columna:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Preparativas -Semi-preparativas -Analíticas -Tipo de fase estacionaria -Fase móvil <p>Conocer y entender la utilidad de los detectores más utilizados en cromatografía de líquidos de alta eficiencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Espectrofotométricos UV- Vis (longitud de onda multivariable, arreglo de diodos) -Índice de refracción -Dispersión de luz (evaporativo y multiángulo) -Electroquímico - Espectrometría de masas <p>Discusión grupal de los factores que afectan los procesos de separación:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Influencia de la temperatura - el tamaño de partícula - flujo - elución isocrática y en gradiente 	6	2, 6, 7, 8, 14, 15, 16

		<p>-Inyección de la muestra (válvula de inyección, volumen de inyección)</p> <p>Calcular los parámetros de la eficiencia cromatográfica en cromatografía de líquidos de alta resolución.</p> <p>Realizar ejercicios para la interpretación de cromatogramas de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Resolución de problemas de análisis cuantitativo utilizando estándar interno y estándar externo.</p> <p>Analizar experimentalmente una muestra de interés farmacéutico y adaptar un método analítico.</p> <p>Validar parcialmente un método analítico para cuantificar un principio activo o para impurezas.</p>		
--	--	--	--	--

UNIDAD II. Métodos espectroscópicos y espectrométricos estructurales aplicados a muestras de interés farmacéutico.

Objetivo general de la unidad: Desarrollar la estrategia para el análisis de métodos espectroscópicos y espectrométricos estructurales aplicados a muestras de interés farmacéutico.

<p>2.1 Propiedades generales de la interacción radiación-materia.</p>	<p>Entender el origen de las técnicas espectroscópicas a través de interacción de la radiación electromagnética (REM)- materia.</p>	<p>Definir el término espectroscopia.</p> <p>Definir y clasificar a la REM con base en sus propiedades: energía, frecuencia, longitud de onda, amplitud.</p> <p>Clasificar los tipos de las interacciones REM-materia y su respuesta.</p> <p>Identificar las técnicas analíticas asociadas a cada interacción.</p>	<p>1</p>	<p>1, 6, 14, 16</p>
<p>2.2 Espectroscopía UV-Vis.</p> <p>2.2.1 Identificación de grupos cromóforos.</p> <p>2.2.2 Cálculos de λ de absorción y manejo de los coeficientes de absorptividad.</p> <p>2.2.3 Cuantificación de compuestos en mezclas.</p> <p>2.2.4 Aplicación de UV-Vis como método de identificación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico.</p>	<p>Comprender el fundamento de la espectroscopía Ultravioleta-Visible y aplicarla a la cuantificación de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y sus desechos en UV-Vis.</p>	<p>Conocer y discutir las características estructurales de las moléculas capaces de absorber radiación UV-Vis.</p> <p>Calcular las longitudes máximas de absorción: Reglas de Woodward-Fieser.</p> <p>Discutir la ley de Lambert-Beer, sus condiciones de validez, la ley de aditividad, análisis de mezclas.</p> <p>Discutir el efecto de pH en las longitudes de máxima absorción de los grupos cromóforos.</p> <p>Revisar los componentes principales de los espectrofotómetros de UV-Vis: Fuentes, monocromadores, recipientes para muestras, celdas fotoeléctricas, amplificadores.</p> <p>Discusión grupal de la preparación de muestras para el análisis cuantitativo y cualitativo.</p>	<p>4</p>	<p>2, 3, 6, 10, 14, 16</p>
<p>2.3 Espectroscopia Infrarrojo.</p> <p>2.3.1 Frecuencias de Absorción de diferentes grupos funcionales y factores experimentales que la</p>	<p>Aplicar la Espectroscopia Infrarrojo en el análisis de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Analizar e interpretar los espectros de</p>	<p>Identificar los factores experimentales que afectan la absorción de los diferentes grupos funcionales de una muestra (sólida y líquida).</p> <p>Conocer y discutir la clasificación de las vibraciones.</p>	<p>3</p>	<p>1, 6, 10, 13, 14, 16</p>

<p>afectan.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Clasificación de las vibraciones: estiramientos y flexiones -Frecuencias características de los grupos funcionales -Vibraciones del enlace con hidrógeno (X-H) -Vibraciones de enlaces múltiples (dobles, triples) -Factores que influyen en la posición de las bandas de absorción -Factores intramoleculares -Asociación soluto-disolvente -Asociación soluto-soluto <p>2.3.2 Interpretación de espectros de infrarrojo en muestras de interés farmacéutico.</p> <p>2.3.3 Análisis cuantitativo de muestras de interés farmacéutico.</p>	<p>una muestra en las diferentes matrices.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y sus desechos en IR.</p>	<p>Analizar los factores que influyen en la posición e intensidad de las bandas de absorción.</p> <p>Resolver ejercicios de espectros de muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Analizar muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Corroborar experimentalmente las modificaciones espectroscópicas que sufre una molécula en una síntesis.</p> <p>A través de un seminario analizar el uso cuantitativo de IR.</p>		
<p>2.4 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.</p> <p>2.4.1 Interpretación de espectros de primer y segundo orden de protón (RMN-¹H).</p> <p>2.4.2 Interpretación de espectros de carbono 13 (RMN-¹³C).</p> <p>2.4.3 Introducción a la resonancia magnética bidimensional.</p> <p>2.4.4 Interpretación de experimentos bidimensionales homonucleares (COSY, TOCSY y NOESY) y heteronucleares (HSQC, HMBC).</p> <p>2.4.5 Aplicación de la RMN-2D a la</p>	<p>Aplicar la espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) mono y bidimensional a la elucidación estructural de moléculas de interés farmacéutico.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y sus desechos en Resonancia Magnética Nuclear.</p>	<p>Discutir los fundamentos de la espectroscopía de RMN:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Núcleo magnéticamente activos - Importancia de los campos magnéticos - Secuencias de pulsos - Transformada de Fourier <p>Discutir la importancia del desplazamiento químico y el acoplamiento escalar a la elucidación estructural de moléculas.</p> <p>Interpretar experimentos de ¹H y ¹³C.</p> <p>Interpretar experimentos en dos dimensiones heteronucleares y homonucleares: COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC.</p> <p>Aplicar la interpretación de los experimentos bidimensionales a la elucidación de estructuras moleculares.</p>	5	1, 5, 6, 10, 13, 14, 16

elucidación e identificación de compuestos de interés farmacéutico.				
<p>2.5 Espectrometría de Masas.</p> <p>2.5.1 Fundamentos de espectrometría de masas.</p> <p>2.5.2 Ionización por impacto electrónico.</p> <p>2.5.3 Mecanismos generales de fragmentación.</p> <p>2.5.4 Interpretación de espectros de Masas por impacto electrónico aplicado a muestras de interés farmacéutico.</p> <p>2.5.5 Otros métodos de ionización para muestras de interés farmacéutico (MALDI, ES, FAB, CI).</p>	<p>Aplicar la espectrometría de Masas a la elucidación de estructuras moleculares.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo de muestras y sus desechos en la espectrometría de Masas.</p>	<p>Discutir los fundamentos de la espectrometría de masas:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Masa molecular promedio e isotópica -Ionización por impacto electrónico -Analizadores másicos <p>Discusión grupal sobre las aplicaciones de la espectrometría de masas por impacto electrónico.</p> <p>Interpretar espectros de masas por impacto electrónico.</p> <p>Discutir los fundamentos de las técnicas de ionización suaves.</p> <p>Discutir las aplicaciones y limitaciones de las técnicas de ionización suaves.</p>	4	1, 4, 6, 9, 10, 13, 14, 16

UNIDAD III. Normatividad y tratamiento de desechos de análisis.

Objetivo general de la unidad: Conocer las regulaciones sanitarias y legales relacionadas con el manejo de sustancias de interés farmacéutico.

<p>3.1 Clasificación de los desechos químicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Identificación y clasificación del tipo de desechos: puros o mezclas -desechos industriales - desechos de fluidos biológicos -desechos de productos vegetales <p>3.2 Legislación sobre desechos químicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Normatividad y tratamiento en los desechos de materiales en la identificación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico -Aspectos éticos en la identificación y cuantificación de muestras de interés farmacéutico -Aspectos éticos sobre el uso y manejo de muestras de interés farmacéutico -Aspectos relevantes en el tratamiento de desechos aplicando los principios de la química verde <p>3.3 Tratamiento de los desechos de los análisis.</p>	<p>Realizar la investigación bibliográfica sobre la clasificación, normatividad, legislación y la metodología a seguir para el tratamiento de los desechos generados en el análisis de las muestras de interés farmacéutico.</p> <p>Aplicar los aspectos éticos y legales en el manejo y tratamiento de muestras de interés farmacéutico.</p>	<p>El alumno revisará la bibliografía y discutirá sobre la clasificación, normatividad, legislación y la metodología a seguir para el tratamiento de los desechos generados en el análisis de las muestras de interés farmacéutico.</p> <p>El alumno identificará y clasificará el tipo de desechos que se genera en el análisis de una muestra de interés farmacéutico.</p> <p>El alumno diseñará la metodología adecuada para eliminar los residuos resultantes del análisis de la muestra de forma correcta y amigable con el ambiente, de acuerdo con las características de los reactivos empleados durante el mismo.</p> <p>El alumno realizará el tratamiento de los desechos generados en el análisis de la muestra.</p> <p>El profesor dirigirá y orientará al alumno en el proceso de tratamiento de los desechos de los análisis.</p>	<p>2</p>	<p>11, 12</p>
---	---	--	-----------------	----------------------

*Se dedicarán cuatro sesiones para realizar los modelos experimentales y diez para desarrollar el proyecto de investigación.

SESIONES EXPERIMENTALES

CALIBRACIÓN DE EQUIPO (Balanza analítica, pH-metro y espectrofotómetro)

Elaborado por: Dr. Martín Gómez Hernández

Introducción

En un laboratorio de análisis químico el tiempo y el uso pueden alterar el funcionamiento de los instrumentos y el equipo, debido a las fluctuaciones del entorno y al envejecimiento de los componentes mecánicos, ópticos o electrónicos. El funcionamiento también puede resultar afectado por reparaciones o por la sustitución de módulos o componentes. En el caso de un equipo nuevo debe ser sometido a prueba para establecer si cumple las especificaciones. En un laboratorio de análisis instrumental todos estos aspectos del trabajo analítico se controlan, para evitar los posibles errores instrumentales, por medio de unos procedimientos periódicos de mantenimiento y calibración preventivos. La forma en que se controla el funcionamiento de los instrumentos y el equipo (para referirse a este proceso se utilizan los términos verificación o calificación del funcionamiento), y la frecuencia de las calibraciones (intervalo), deben estar estipuladas en los procedimientos normalizados de trabajo. La verificación del funcionamiento debe basarse en pruebas que no se ajusten específicamente a un método concreto y en las que se utilicen calibradores y patrones rastreables, permitiendo así que el equipo pueda ser comparado entre laboratorios.

Los pequeños cambios en las mediciones instrumentales pueden pasar desapercibidos e inducir a error en los resultados obtenidos.

Objetivo:

Verificar el funcionamiento de los instrumentos de medición, pH-metro, balanza analítica y espectrofotómetro ultravioleta visible, desarrollando un procedimiento ya establecido para evaluar precisión, exactitud y linealidad.

Realizar la calibración espectrofotométrica, utilizando curvas de calibración con estándar interno y con estándar externo, y/o una curva de adiciones patrón.

Equipo o instrumentos

Balanza analítica, con serie de pesas para verificar calibración.

Balanza granataria

pH-metro (potenciómetro), con electrodo de membrana de vidrio y disoluciones amortiguadoras de pH

Espectrofotómetro ultravioleta-visible, con celdas de cuarzo.

Micropipetas de 200 y de 500 microlitros.

Reactivos

Ácido Salicílico,

Cafeína

Ácido Clorhídrico concentrado.

Etanol

Ácido Sulfúrico.

papel filtro

Ácido Benzoico,

Metronidazol

Hidróxido de Sodio

Dicromato de Potasio

Sulfato de Cobre.

Material

Pipetas volumétricas de 1, 2, 3 y 5 mL

Pipetas graduadas de 5 y 10 mL

Vasos de precipitado de 10, 20 y 50 mL

Vasos de precipitados de 100 y 250 mL

Matraces volumétricos de 5 mL

Matraces volumétricos de 10 mL

Matraces volumétricos de 25 mL
Matraces volumétricos de 100 mL
Piseta

Varilla de vidrio
Propipeta
Embudo de vidrio

El material será por equipo y la cantidad estará de acuerdo al procedimiento experimental que propongan los alumnos.

Procedimiento experimental

El procedimiento se debe basar en los conocimientos previos, en la revisión bibliográfica y en procedimientos establecidos en la FEUM.

Cada equipo puede verificar dos instrumentos y hacer una curva de calibración utilizando un estándar externo. Se debe:

- Verificar los equipos de laboratorio
- Aplicar una técnica de calibrado
- Evaluar linealidad y precisión.
- Cuantificar en una muestra problema.

Medidores del pH

Parámetro a calibrar: Exactitud y linealidad del pH.

Método: Los indicadores preparados comercialmente o los indicadores estándar (que pueden buscarse en cualquier farmacopea) han de utilizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Utilizar soluciones amortiguadoras de pH 4.01, 7.0 y 10.

De ser posible construir la gráfica de potencial (mV) en función del pH y calcular el valor de la pendiente de dicha gráfica.

Balanzas

Antes de su utilización, las balanzas deben ser comprobadas para asegurarse de que están limpias y equilibradas en la superficie en que se encuentren.

Las balanzas utilizadas para realizar mediciones fundamentales deben disponer como mínimo de un certificado de calibración. Estos certificados deben ser emitidos por un organismo acreditado externo o por un personal de laboratorio adecuadamente capacitado. Los certificados deben ser renovados anualmente.

Parámetro a calibrar: exactitud.

Método: Los pesos de referencia se utilizan de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El usuario puede decidir, cuando así lo exijan los resultados requeridos, utilizar unos patrones de peso con un nivel de exigencia mayor que los preparados por el fabricante. Una secuencia típica sería controlar el punto cero de la balanza con el platillo vacío y a continuación poner en éste el peso de referencia y ajustar la lectura para que refleje el valor correcto. Obsérvese que los patrones de peso deben manejarse con gran cuidado utilizándose pinzas con las puntas lisas, ya que las puntas rugosas pueden dañarlos. Las balanzas electrónicas modernas frecuentemente disponen de sistemas internos de calibración del peso y el control se realiza de forma automática de acuerdo con una secuencia prefijada por el fabricante o, en su caso, por el usuario.

Intervalo de calibración: Las microbalanzas utilizadas para preparar patrones de referencia deben ser controladas diariamente o, si no se utilizan diariamente, cada vez que lo sean. También deben realizarse controles de la calibración cada vez que se mueva la balanza de sitio.

Espectrofotómetros de radiación ultravioleta-visible

Parámetro a calibrar: Exactitud de la longitud de onda y repetibilidad, exactitud fotométrica.

Método: La absorción de las longitudes de onda de las radiaciones UV se controla con filtros de holmio y didimio, que deben ser suministrados por el fabricante. La exactitud de la longitud de onda y la repetibilidad se controlan en toda la gama de radiación UV-visible. Han de obtenerse por lo menos dos espectros. La desviación máxima ha de ser $\pm 1,0$ nm.

La calibración del espectrofotómetro ultravioleta visible se puede realizar también utilizando una disolución de dicromato de potasio que contenga 60.06 mg en 1000 mL de una disolución 0.005 molar de ácido sulfúrico, tal como lo establece la FEUM.

Se debe construir una curva de calibración espectrofotométrica para ácido salicílico y para metronidazol, considerando como estándar interno el ácido benzoico y la cafeína. Se debe considerar las propiedades fisicoquímicas y las características espectroscópicas ya informadas para estos compuestos. Para disminuir la incertidumbre en las mediciones se debe cumplir con un intervalo de absorbancias menores a 1.5.

Resultados y Análisis de resultados

Entregar la hoja de verificación de cada equipo o instrumento, desarrollar un formato que incluya la precisión y la linealidad.

De las curvas de calibración, se deben entregar y analizar los datos de precisión, linealidad y determinar la concentración de la muestra problema considerando un intervalo de confianza.

Utilizar las herramientas estadísticas de análisis de regresión lineal, evaluación de la incertidumbre y propagación de la incertidumbre en un análisis instrumental.

Conclusiones

En el laboratorio de análisis instrumental se deben controlar los posibles errores instrumentales por medio de unos procedimientos periódicos de mantenimiento y calibración preventivos.

La calibración es el conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

La precisión es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto, se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad.

La exactitud es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

La linealidad es la capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

La curva de calibración es el conjunto de concentraciones que describen el rango en el cual se cuantifica el compuesto por analizar.

La estadística es la herramienta para evaluar la incertidumbre en los resultados de un análisis químico.

Bibliografía.

1. General criteria of competence for calibration and testing laboratories, UKAS, Teddington, Reino Unido. <https://www.ukas.com/technical-services/publications/publications-relating-to-laboratory-accreditation-3/>. 31 de octubre de 2016.
2. Görög, S. (1995). Ultraviolet-visible spectrophotometry in pharmaceutical analysis, Ed. CRC Press, USA.
3. Harris D.C., (2012). Análisis químico cuantitativo, 3ª ed. (sexta edición original), Ed. Reverte, España.
4. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable.
5. Organización Internacional de Normalización, ISO 9001:2008. Quality management systems – Requirements. http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=46486. 31 de octubre de 2016.
6. Secretaría de Salud. (2011), Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 10ª ed., México.
7. SEMARNAT, (1999). Minimización y manejo ambiental de los residuos sólidos, Ed. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México
8. Skoog, D.A., Holler, J.H., Crouch, S.R., (2010). Principios de análisis instrumental, 6ª. ed., Ed. CENGAGE Learning, México.
9. Willard, H.H., Merrit, L. Jr., Dean, J.A., Settle, F.A. (2001). Métodos instrumentales de análisis, Ed. Iberoamérica, México.

Verificación de espectrofotómetro

Elaborado por: M. en C Marcela Hurtado y de la Peña

Introducción

El progreso en la ciencia siempre ha estado íntimamente ligado a los avances en la capacidad de medición. Las mediciones son un medio para describir los fenómenos naturales en forma cuantitativa. La ciencia comienza donde empieza la medición, no siendo posible la ciencia exacta en ausencia de mediciones

La Metrología se considera habitualmente dividida en tres categorías, cada una de ellas con diferentes niveles de complejidad y exactitud: 1. La Metrología Científica, que se ocupa de la organización y el desarrollo de los patrones de medida y de su mantenimiento (el nivel más alto). 2. La Metrología Industrial, que asegura el adecuado funcionamiento de los instrumentos de medición empleados en la industria y en los procesos de producción y verificación. 3. La Metrología Legal, que se ocupa de aquellas mediciones que influyen sobre la transparencia de las transacciones comerciales, la salud y la seguridad de los ciudadanos.

La calibración, según el Vocabulario internacional de términos metroológicos (VIM) es el conjunto de operaciones que establecen, en condiciones especificadas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento de medida o un sistema de medida, o los valores representados por una medida materializada o por un material de referencia, y los valores correspondientes de esa magnitud realizados por patrones.

La calibración determina las características metroológicas del instrumento o del material de referencia y se realiza mediante comparación directa con patrones de medida o materiales de referencia certificados. La calibración da lugar a un Certificado de Calibración y, en la mayoría de los casos, se fija una etiqueta al instrumento calibrado. La verificación, por su parte, consiste en revisar, inspeccionar, ensayar, comprobar, supervisar, o realizar cualquier otra función análoga, que establezca y documente que los elementos, procesos, servicios o documentos están conformes con los requisitos especificados.

Algunos, indebidamente, le llaman calibración a un proceso de **comprobación** o **verificación** que permite asegurar que entre los valores indicados por un aparato o un sistema de medición y los valores conocidos correspondientes a una magnitud medida, los desvíos sean inferiores a los errores máximos tolerados [1].

Espectrofotometría

La interacción entre la radiación y la materia es un área de gran interés en la química analítica. La mayoría de los fármacos absorben radiación en la región ultravioleta y algunos que tienen color absorben en la región visible del espectro. La absorción de la radiación en la región UV/Visible tiene lugar por la excitación de electrones que pasan de orbitales de enlace de baja energía hacia orbitales de anti-enlace (excitados), los electrones capaces de hacer esta transición a longitudes de onda mayores a 200 nm son electrones que ocupan orbitales π , ya que estos enlaces son más débiles que los enlaces δ y requieren menor energía para producir un estado excitado, mientras que un orbital δ permanecerá estable en una radiación de longitud de onda del intervalo UV/visible. Por lo tanto es condición para la absorción en la región ultravioleta/visible la presencia de electrones en orbitales π , y si estos están en conjugación la absorción presentará un desplazamiento de la absorción hacia una mayor longitud de onda (desplazamiento batocrómico). Finalmente el espectro de absorción de una molécula es debida a la combinación de los grupos cromóforos (responsables de la absorción) y auxocromos (grupos auxiliares en la absorción) presentes en la estructura.

La ley de Lambert y Beer establece una relación directa entre la absorbancia y la concentración de la molécula absorbente en solución:

$$A = \xi b C$$

Donde ξ es la absorptividad molar

b el camino óptico y C la concentración

Pero hay varios requisitos que cumplir:

La luz utilizada debe ser monocromática (una longitud de onda).

Las concentraciones del compuesto se encuentran en el intervalo lineal.

El camino óptico es un dato conocido.

Y finalmente se cuenta con un instrumento calibrado para la medición.

Objetivo

Aplicar el procedimiento de verificación de espectrofotómetro de la BP de:

- a) La escala de absorbancia
- b) La escala de longitud de onda
- d) Resolución
- e) Luz parásita

Equipo

Espectrofotómetro marca Varian modelo Cary 50

Preparación de soluciones

- 1.- Ácido sulfúrico 0.005 M
- 2.- Solución 0.0065% p/V de dicromato de potasio en la solución de ácido sulfúrico 0.005 M.
- 3.- Solución al 5% p/V de perclorato de holmio
- 4.- Solución 0.02% p/v de tolueno en hexano
- 5.- Solución 1.2 % p/v de KCl en agua

Nota: Se requiere muy poco volumen de cada solución 10 a 25 mL serían más que suficiente.

Verificación de la calibración del espectrofotómetro

- a) Escala de absorbancia

Se hace un Scan de longitud de onda con la solución de dicromato de potasio y se determina las absorbancias a:
235nm, 257 nm, 313 nm, 350 nm.

Con el dato de la concentración de dicromato de potasio y la absorbancia obtenida se calcula la

$A^{1\%}_1$ para cada longitud de onda los valores deben ser:

235 (122.9-126.2)

257 (142.4-145.7)

313 (47.0-50.3)

350 (104.9-108.2)

- b) Escala de longitud de onda

Se realiza un scan de longitud de onda con la solución de perclorato de holmio y los máximos deben ser identificados a:

242.15 ± 1 nm, 287.15 ± 1nm, 361.5 ± 1 nm

- c) La resolución Instrumental (ancho del slit)

Se utiliza la solución de tolueno en hexano, se debe leer a 269 nm y a 266 nm, el cociente de la absorbancia a 269 sobre la absorbancia a 266 debe ser al menos de 1.5.

- d) Determinación de luz parásita (luz que proviene de fuentes externas al instrumento, y da lugar a falsos valores bajos de absorbancia).
Esta se determina con la solución de KCl al 1.2 % contra blanco de agua a 200 nm si la absorbancia de la muestra es menor a 2 significa que la luz parásita está presente y el instrumento debe ser revisado.

Análisis de resultados:

Realizar las comparaciones con los valores especificados y establecer si el equipo espectrofotométrico cumple con los requisitos de verificación.

Bibliografía:

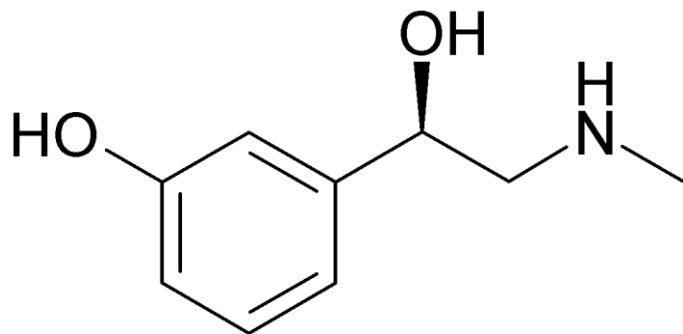
Marbán Rocío. , Pellecer C. Julio A. Metrología para no Metrologos, segunda edición 2002, Sistema Interamericano de Metrología, OEA).
Connors K.A. A Textbook of Pharmaceutical Analysis, Ed. Wiley-Interscience Publications second edition 1975).
Watson D.G. Pharmaceutical analysis. A Textbook for pharmacy students and Pharmaceutical Chemist, Harcourt Publishers Limited 1999.

Determinación de pKa de un fármaco por espectrofotometría

Elaborado por: M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

Introducción

La Fenilefrina incluye un grupo fenólico que actúa como auxocromo aportando al anillo bencénico dos pares de electrones en condiciones ácidas y tres pares en condiciones básicas, presentando un desplazamiento batocrómico importante a pH básico desde un máximo de 273 nm en HCl 0.1 N ($E_{1\%}^{1cm} = 110$) a 292 en NaOH 0.1N ($E_{1\%}^{1cm} = 182$). Esta característica de una absorptividad distinta debida al grupo ionizable hace posible la determinación del valor del pKa mediante espectrofotometría.



[1] PM = 167.17

La ecuación de Henderson Hasselbalch:

$$pKa = pH - \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \text{Ecuación (1)}$$

Suponiendo que A⁻ y HA presentan diferente espectro de absorción, se pueden seleccionar una longitud de onda donde las absorptividades de las dos especies son diferentes.

$$A_{HA} = a_{HA} b c_{HA} \quad (\text{a un pH donde predomine la forma ácida}) \quad \text{Ecuación (2)}$$

$$A_{A^-} = a_{A^-} b c_{A^-} \quad (\text{a un pH donde predomine la forma básica}) \quad \text{Ecuación (3)}$$

$$A_{obs} = a_{obs} b c \quad (\text{a un pH cercano al Pka esperado}) \quad \text{ecuación (4)}$$

$$\text{donde } c = c_{HA} + c_{A^-}$$

$$a_{obs} (c_{HA} + c_{A^-}) = a_{HA} c_{HA} + a_{A^-} c_{A^-} \quad \text{Ecuación (5)}$$

$$\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} = \frac{a_{obs} - a_{HA}}{a_{A^-} - a_{obs}} \quad \text{Ecuación (6)}$$

Si las concentraciones se mantienen constantes en todas las determinaciones las absorptividades pueden ser sustituidas por las absorbancias y una ecuación alternativa será:

$$pKa = PH - \log \frac{A_{obs} - A_{HA}}{A_A - A_{obs}}$$

Ecuación (7)

Objetivo:

Hacer la determinación del pKa de finilefrina mediante espectrofotometría, con base en el desplazamiento batocrómico por ionización.

Equipo

Espectrofotómetro : marca Varian modelo Cary 50

Balanza analítica

Reactivos

Solución de HCl 0.1 N

Solución de NaOH = 0.1 N

Solución amortiguadora de boratos pH 8.5

Metanol R.A

Preparación de estándares:

Preparar una solución stock de finilefrina en metanol de 1 mg/ mL y a partir de ésta preparar tres curvas de calibración de fenilefrina en cada una en soluciones preparadas (HCl 0.1N, NaOH 0.1N y buffer pH 8.5) en un intervalo de concentraciones de: 20, 30, 50 60 y 70 μ g/mL.

Determinación del pKa:

Leer cada curva de calibración a 292 nm y calcular la absorbividad molar del analito a 292 nm y estimar el pKa de acuerdo a la ecuación propuesta. Hacer una revisión teórica para confirmar el dato obtenido con respecto al dato reportado.

Bibliografía:

Watson D.G. Pharmaceutical Analysis, Ed. Harcourt Publishers Limited 1999

Connors K.A. A Textbook of Pharmaceutical Analysis, Ed. Wiley-Interscience Publications second edition 1975

Cromatografía de Gases

Elaborado por: M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

Introducción

La cromatografía es una técnica física de separación análisis y cuantificación de componentes químicos o mezclas complejas, el nombre se debe Mikhail Tswett, botánico ruso quien acuñó el término a principios de 1900. Tswett separó varios pigmentos, incluyendo xantofilas y clorofilas, haciendo pasar soluciones de esas mezclas por columnas de vidrio empacadas con carbonato de calcio finamente dividido. Cada pigmento recorrió las columnas con distinta velocidad y terminó apareciendo como bandas de color. De este modo se originó el nombre cromatografía, de *chroma* palabra griega para color, y *graphein*, que significa “escribir”.

Todas las formas de cromatografía se basan en una mezcla que se pone en contacto con dos fases, y entonces en una de éstas se mueve en relación con la otra. Éstas se llaman fase móvil y fase estacionaria. Los componentes de la muestra se distribuye en dos fases de acuerdo con sus solubilidades (o afinidades) relativas hacia ellas. [1]

En general la cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil (gas o líquido) y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido. De acuerdo a la naturaleza de las fases involucradas y a los mecanismos de separación, la cromatografía se divide en:

Cromatografía de gases

Cromatografía	Mecanismo de separación
Gas –líquido	Partición
Gas-sólido	Adsorción

Cromatografía de líquidos

Cromatografía	Mecanismo de separación
Plana	En capa delgada (adsorción)
	En papel (partición)
En columna	Líquido-sólido (adsorción)
	Líquido-sólido (partición)
	De intercambio iónico
	De exclusión

Cromatografía de Gas-Líquido (CGL): Es uno de los métodos más importantes y generalizados para separar y determinar componentes químicos de mezclas complejas. En este caso la fase estacionaria es un líquido que esta inmovilizado sobre la superficie de un soporte solido por adsorción o por enlace químico, o bien se encuentra recubriendo la pared interna de una columna capilar. La velocidad de migración de un analito a través de la columna está determinada por su relación y distribución entra la fase liquida inmovilizada y la fase gaseosa [2].

La secuencia de una separación cromatográfica de gases es como sigue. Una muestra que contiene los solutos se inyecta en un bloque de calentamiento, donde se vaporiza instantáneamente y se arrastra en forma de vapor por medio de un gas portador. Cada soluto se moverá a su propia velocidad a través de la columna y, por consiguiente, se formará una banda por cada soluto. Las bandas se separarán en una magnitud dependiente de las porciones de partición de los solutos y del grado de desplazamiento de las bandas. Los solutos se eluyen sucesivamente en orden creciente de sus proporciones de partición y entran a un detector conectado a la salida de la columna. Las señales aparecen en forma de una curva de la composición de la corriente del gas portador en función del tiempo. El tiempo de retención de un pico identifica a un componente, y el área de dicho pico indica la concentración del componente de la mezcla [3].

Detector de ionización de llama FID: Es el más extensamente utilizado en CG, los compuestos presentes en el efluente de la columna se pirroliza en una llama de hidrógeno y aire, y producen una corriente de electrones que conducen electricidad a través de la llama, la corriente generada se dirige a un amplificador, este detector responde a moléculas con átomos de carbono y por lo tanto es útil para la mayoría de los compuestos orgánicos. [2]

Objetivo:

Determinar mediante cromatografía de gases la linealidad del sistema para dos moléculas de interés farmacéutico: Cafeína y Acido Valproico

Equipo:

Cromatógrafo de gases, marca Varian modelo CP-3380

Soluciones estándar:

Solución stock de cafeína a una concentración. de 10 mg/mL en cloroformo.

Solución stock de ácido valproico a una concentración, de 10 mg/mL en cloroformo.

Curva de calibración para los compuestos de interés, seguir el procedimiento indicado en la tabla 1.

Tabla 1. Preparación de curvas de calibración

N° de solución	mL de solución stock	Aforar con cloroformo	Concentración. final en mg/mL
1	1	10	1
2	2	10	2
3	3	10	3
4	4	10	4
5	5	10	5

Condiciones cromatográficas:

Columna capilar 30 m

Diámetro interno 0.320 mm

Límites de temperatura -60 a 325 °C

Programar la rampa de temperatura correspondiente y el programa para válvula de inyección en el cromatógrafo, de acuerdo al compuesto de interés.

Rampa de temperatura para cafeína tabla 2, tabla de rampa de temperatura para ácido valproico tabla 3.

Tabla2. Rampa cafeína.

Etapa	Temp °C	Vel (°C/min)	Dur. (min)	Total (min)
Inicial	150	-----	2	2
1	250	20	5	12.0

[4]

Tabla 3. Rampa de temperatura para Ac. Valpropico.

Etapa	Temp °C	Vel. (°C/min)	Dur. (min)	Total (min)
Inicial	100	-----	2	2
1	140	60	2.33	5
2	180	40	2	8

[4]

Programar las válvulas de inyección para los analitos de acuerdo a la propuesta en la tabla 4.

Tabla 4. Programa para válvulas de inyección

Tiempo	1	2	3	4	5	6	7
Inicial	+	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-

[4]

Una vez programadas las condiciones cromatográficas y preparadas las soluciones de las curvas de calibración:

- 1.- Inyectar las soluciones, siguiendo cuidadosamente las instrucciones del manual de procedimiento del equipo analítico [4].
- 2.- Recuperar del programa los datos para área bajo la curva de cada inyección (consultar PNO del equipo [4]).
3. Realizar los ajustes correspondientes de concentración vs respuesta y reportar los resultados.

Bibliografía:

- [1].- Higson S.P.J., Química analítica, Editorial Mc Graw Hill Interamericana 2007.
- [2].- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., Principios de Análisis Instrumental. McGraw-Hill/ Interamericana de España 2001.
- [3].- Willard H.H., Merritt L.L., Dean J.A., Settle F.A., Métodos Instrumentales de Análisis. Grupo editorial Iberoamérica 1991.
- [4].- Audelo Castillo María de los Ángeles. Informe del servicio Social. “Desarrollo de Métodos Analíticos por cromatografía de gases para su aplicación en la enseñanza de cromatografía en la licenciatura de Q.F.B.” 2002.

Cromatografía de líquidos.

Elaborado por: M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

Introducción

La cromatografía de líquidos es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada. Las razones de su popularidad son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para automatizarla, su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles, pero sobre todo, su amplia aplicabilidad a sustancias que son importantes en la industria, muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales son aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una variedad de sustancias inorgánica.

La cromatografía de reparto, es la más usada de entre los tipos de cromatografías aplicables en cromatografía de líquidos, en esta clase; la fase estacionaria es un segundo líquido que es inmiscible con la fase móvil, y se encuentra unido químicamente al soporte, lo que da por resultado rellenos muy estables e insolubles en la fase móvil, las columnas de fase unida y son compatibles con las técnicas de elución con gradiente.

En cromatografía de reparto, los soportes para casi todos los rellenos de fases unidas químicamente se preparan con sílice rígida o composiciones constituidas básicamente por sílice.

Con base en las polaridades relativas de las fases móvil y estacionaria, se distinguen dos tipos de cromatografía de reparto:

Cromatografía de fase normal:

Cuando la fase estacionaria tiene grupos funcionales polares; como fase móvil se emplea un solvente relativamente no polar, como el hexano o el isopropiléter.

Cromatografía de fase inversa

La fase estacionaria tienen un carácter no polar, con frecuencia un hidrocarburo, y la fase móvil es un solvente relativamente polar, como agua, metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano.

Se calcula que tal vez más de las tres cuartas partes de todas las separaciones mediante cromatografía de líquidos de alta resolución se llevan a cabo en la actualidad en columnas con rellenos de fase inversa.

La principal ventaja de las separaciones en fase inversa es que el agua se puede utilizar como fase móvil. El agua es barata, no tóxica, es un solvente transparente a la radiación UV y compatible con los solutos biológicos. Asimismo, la transferencia de masas es rápida con fases estacionarias no polares, como el equilibrio de solvente después de la elución con gradiente. Lo más común es que el grupo R del siloxano en estos revestimientos sea una cadena C₈ (*n*-octilo) o una cadena C₁₈ (*n*-octildecilo) [1].

Objetivo:

Determinación de Naproxeno en tabletas mediante cromatografía de líquidos de alta presión.

Equipo:

Cromatógrafo de Líquidos de alta resolución marca Knauer, modelo CHANCE. Bomba isocrática

Detector longitud de onda fija de 254 nm

Inyector manual marca Knauer D-14163 Berlin Num. 78098

Columna ODS (C18)

Condiciones cromatográficas:

Flujo: 1mL/min

Volumen de inyección: 20µl

Fase móvil: ácido fosfórico 0.03%:acetonitrilo 30:70

Preparación del estándar:

Pesar 10 mg de estándar de naproxen y aforar a 10 mL con acetonitrilo, (1 mg/ml), si se plantea el uso de un estándar interno se recomienda indometacina a la concentración de 1 mg/ml.

Diluir 1 mL de cada una de las dos soluciones anteriores y aforar a 25 mL con fase móvil.

Preparación de la muestra

Pesar 10 tabletas de naproxeno y determinar el peso promedio tableta. Pulverizar, homogenizar y pesar polvo de tableta equivalente a 200 mg de naproxeno. Pasar a un matraz aforado de 100 ml y agregar 40 ml de metanol, sonicar 10 minutos aforar en el mismo disolvente y agitar. Filtrar y del filtrado tomar una alícuota de 1 mL del filtrado agregar 2 mL de la solución stock de estándar interno de indometacina (1mg/mL) y aforar a 50 mL con fase móvil.

Una vez programadas las condiciones cromatográficas y estabilizado el equipo:

1. Inyectar la preparación estándar y la preparación muestra, siguiendo cuidadosamente las instrucciones del manual de procedimiento del equipo analítico [2].
2. Recuperar del programa los datos para área bajo la curva de cada uno de los picos de cada inyección (consultar PNO del equipo [2]).
3. Realizar los cálculos correspondientes (considerando la presencia del estándar interno) para concentración de fármaco en preparación muestra, comparando con la preparación estándar, aplicar factor de dilución y llevar a contenido de principio activo por tableta.
4. Establecer si el porcentaje de etiqueta del contenido de naproxeno cumple con especificaciones farmacopéicas.

Bibliografía:

[1].- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., Principios de Análisis Instrumental. McGraw_Hill/ Interamericana de España 2001.

[2].- Nieto Ramírez María de Jesús. Informe del servicio Social. "Modelos Experimentales para prácticas de cromatografía de Líquidos de alta Resolución. Análisis Farmacéutico" 2014.

MODALIDADES DE CONDUCCIÓN DEL PROCESO DE ENSEÑANZA-APRENDIZAJE

Se plantea una estrategia operativa que consiste en efectuar simultáneamente actividades de distinto nivel cognoscitivo y metodológico alrededor del trabajo de investigación, que funciona como eje integrador de la construcción del conocimiento.

Los aspectos teóricos se llevan a cabo mediante discusiones grupales presentación de seminarios, y los prácticos a través de sesiones experimentales y desarrollo en el laboratorio de protocolos previamente discutidos y aprobados por el docente del grupo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Crews, P., Rodríguez, J., Jaspars, M., (2010). Organic structure analysis, 2nd. Ed., Ed. Oxford University Press, USA.
2. Ermer, J., Miller, J. McB., (2009). Method validation in pharmaceutical analysis: A guide to best practice, Ed. Wiley, USA.
3. Görög, S., (1995). Ultraviolet-visible spectrophotometry in pharmaceutical analysis, Ed. CRC Press, USA.
4. Gross, J.H., (2011). Mass spectrometry, 2nd. Ed., Ed. Springer, German.
5. Günther, H., (2013). NMR spectroscopy. Basic principles, concepts and applications in chemistry, 2nd. Ed., Ed. John & Sons, USA.
6. Harris D.C., (2012). Análisis químico cuantitativo, 3ª Ed. (sexta edición original), Ed. Reverte, España.
7. Journal of Chromatography (A - C), Ed. Elsevier.
8. Kazakevich, Y.V., LoBrutto, R., (2007). HPLC for pharmaceutical scientists. Ed. Wiley, USA.
9. McLafferty, F.W.; Turecek, F., (1993). Interpretation of mass spectra. 4th Ed., Ed. University Sciences Books, USA.
10. Pretsch, E., Clerc, T., Seibl, J., Simon, W., (2001), Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. 2a. Ed., Ed. Alhambra, México.
11. Secretaria de Salud. (2011), Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 10ª Ed., México.
12. SEMARNAT, (1999). Minimización y manejo ambiental de los residuos sólidos, Ed. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
13. Silverstein, R.M., Webster, F.X., Klemle, D.J., (2005), Spectrometric identification of organic compounds, 7a. Ed., Ed. John Wiley and Sons Inc., USA.
14. Skoog, D.A., Holler, J.H., Crouch, S.R., (2010). Principios de análisis instrumental, 6ª. Ed., Ed. CENGAGE Learning, México.
15. Snyder, L.R., Kirkland, J.J., Dolan, J.W. Introduction to liquid chromatography. 3th. Ed., Ed. Wiley, USA.
16. Willard, H.H., Merrit, L. Jr., Dean, J.A., Settle, F.A., (2001). Métodos instrumentales de análisis, Ed. Iberoamérica, México.

MODALIDADES DE EVALUACIÓN

EVALUACIÓN GLOBAL

Evaluación Objetiva	40%
Participación grupal	20%
Trabajo de investigación	40%

Clave de calificaciones

8.67 – 10	MB	Muy bien
7.34 – 8.66	B	Bien
6.0 – 7.33	S	Suficiente
0 – 5.9	NA	No acreditado

IMPORTANTE: Para acreditar la UEA se requiere obtener el 60% en cada uno de los rubros mencionados.

EVALUACIÓN DE RECUPERACIÓN

El alumno deberá presentar una evaluación escrita de la totalidad de los contenidos de la UEA y una evaluación práctica que permita determinar la habilidad del alumno en el manejo de técnicas, cálculo e interpretación de resultados y una propuesta escrita del diseño experimental referente al tema que se le asigne para la evaluación práctica, los últimos dos puntos podrán acreditarse presentando el trabajo de investigación aprobado y avalado por el docente.

El derecho de evaluación práctica estará sujeto a la aprobación de la evaluación escrita.

La calificación final será el promedio de los tres rubros anteriores, siempre y cuando sean aprobatorios. Si alguno de ellos es inferior a 6, la calificación final será NA

EQUIVALENCIAS

Evaluación	Desde	Hasta	Significa
MB	8.67	10.00	Muy bien
B	7.34	8.66	Bien
S	6.00	7.33	Suficiente
NA	cero	5.99	No acreditado