



Ministerio de Cultura y Educación
 Universidad Nacional de San Luis
 Facultad de Química Bioquímica y Farmacia
 Departamento: Química
 Área: Qca Analítica

(Programa del año 2014)

I - Oferta Académica

| Materia | Carrera | Plan | Año | Período |
|--------------------------------|--------------------|-------|------|-----------------|
| QUIMICA ANALITICA INSTRUMENTAL | LIC. EN BIOQUIMICA | 11/10 | 2014 | 1° cuatrimestre |

II - Equipo Docente

| Docente | Función | Cargo | Dedicación |
|-----------------------------|-------------------------|------------|------------|
| FERNANDEZ, LILIANA PATRICIA | Prof. Responsable | P.Asoc Exc | 40 Hs |
| GONZALEZ, SILVIA PATRICIA | Prof. Colaborador | P.Adj Exc | 40 Hs |
| KAPLAN, MARCOS MANUEL | Responsable de Práctico | JTP Exc | 40 Hs |
| SOMBRA, LORENA LUJAN | Responsable de Práctico | JTP Exc | 40 Hs |
| STEGE, PATRICIA WANDA | Auxiliar de Práctico | A.1ra Semi | 20 Hs |
| BONFIGLIOLI, TRISTAN ADOLFO | Auxiliar de Laboratorio | A.1ra Exc | 40 Hs |

III - Características del Curso

| Credito Horario Semanal | | | | |
|-------------------------|----------|-------------------|---------------------------------------|-------|
| Teórico/Práctico | Teóricas | Prácticas de Aula | Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc. | Total |
| 3 Hs | Hs | Hs | 2 Hs | 5 Hs |

| Tipificación | Periodo |
|--|-----------------|
| B - Teoria con prácticas de aula y laboratorio | 1° Cuatrimestre |

| Duración | | | |
|------------|------------|---------------------|-------------------|
| Desde | Hasta | Cantidad de Semanas | Cantidad de Horas |
| 12/03/2014 | 19/06/2014 | 15 | 80 |

IV - Fundamentación

El análisis instrumental en Bioquímica ha de resolver: la detección y cuantificación de compuestos biológicos, su aislamiento y purificación. El empleo de isótopos radiactivos y el uso de técnicas espectroscópicas son de obligada consideración para la detección y cuantificación de los compuestos biológicos. En cuanto a las técnicas encaminadas al aislamiento de biopolímeros, la ultracentrifugación, la electroforesis y la cromatografía, resultan de vital importancia.

Cada técnica instrumental se expone siguiendo un doble criterio: (1) estudio del fundamento físico-químico de la técnica y (2) análisis razonado de diversas aplicaciones. Se pretende establecer una íntima relación entre los contenidos teóricos de la disciplina, las demostraciones prácticas y el problema experimental que se plantea en la parte práctica del curso. Eso se logra a través de:

- Clases teóricas con presentaciones en diapositivas.
- Resolución de problemas relacionados con los contenidos teórico/prácticos de la asignatura.
- Realización de trabajos prácticos de laboratorio.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

La aprobación de la asignatura supone por parte del alumno:

- Conocer los principios básicos, características de funcionamiento y principales aplicaciones del análisis instrumental.
- Conocer e interpretar las propiedades analíticas que definen las características de interés de los métodos instrumentales.

- Saber interpretar la calidad de los resultados.
- Conocer y manejar en el laboratorio una representación de la instrumentación analítica utilizada.
- Interpretar, explicar y expresar correctamente las experiencias desarrolladas en el laboratorio en base a los conocimientos teóricos adquiridos y a través de la consulta bibliográfica.
- Definir y clasificar los errores analíticos y saber explicar cómo se detectan y corrigen, así como los efectos que producen.

VI - Contenidos

Bolilla 1

Los métodos instrumentales y su importancia en el análisis clínico. Generalidades. Tipos de métodos instrumentales. Generadores de señales, detectores, dispositivos de lectura, circuitos auxiliares. Parámetros de calidad de las medidas instrumentales. Curvas de calibrado. Relación entre señal y ruido instrumental. Aumento de la relación señal y ruido. Evaluación estadística de datos analíticos.

PARTE A: Métodos físico-químicos de análisis

Bolilla 2

Propiedades de la radiación electromagnética. Propiedad ondulatoria. Interacción de la radiación con la materia. Absorciometría: teoría. Ley de Lambert-Beer. Desviación de la Ley de Beer. Errores. Aplicaciones. Espectrometría en UV-Visible. Instrumentación. Fuentes de error y precauciones operacionales. Aplicaciones en análisis químico y biológico.

Bolilla 3

Fluorescencia y fosforescencia molecular: teoría. Variables que afectan a la fluorescencia y a la fosforescencia. Medición de fluorescencia. Instrumentos. Fluorímetros y espectrofluorímetros. Aplicaciones en el campo del análisis clínico.

Refractometría: Principios generales. Índice de refracción. Instrumentos. Aplicaciones.

Polarimetría: Principios generales. Refracción doble. Compuestos ópticamente activos. Variables que afectan la rotación óptica. Polarímetros. Aplicaciones.

Bolilla 4

Espectrometría de llama y Absorción Atómica: Introducción. Espectros de absorción y de emisión. Instrumentación: Fuentes de radiación, atomizadores con y sin llama, monocromadores, modulación de la señal, detector y sistemas de lectura y registro. Sensibilidad y límite de detección. Interferencias: clasificación y modos de eliminación. Modos de evaluación directo, agregado patrón y patrón interno. Aplicaciones analíticas.

Espectrometría de Emisión Óptica asociada al Plasma acoplado Inductivamente (ICP-AES). Introducción. Principios y mecanismos. Instrumentación. Aplicaciones.

Bolilla 5

Métodos Electroanalíticos. Definición de celda electroquímica. Celdas galvánicas y electrolíticas. Potenciales de celdas. Ecuación de Nernst. Potencial estándar de electrodo. Tipos de electrodos: Electrodo de referencia. Electrodo indicadores

Métodos electroanalíticos. Clasificación: Potenciométricos: Potenciometrías directa. Titraciones potenciométricas. Conductimetrías. Medidas de conductividad y titulaciones conductimétricas. Voltametrías: Polarografía.

PARTE B: Técnicas Separativas

Bolilla 6

Importancia de las separaciones en el campo analítico. Generalidades. Extracción líquido-líquido: aspectos termodinámicos y cinéticos. Equilibrios de distribución: Volúmenes de las fases y Extracciones sucesivas. Relación de distribución. Influencia del pH en la extracción. Factor de recuperación y selectividad de la extracción. Extracción de quelatos metálicos y pares iónicos. Aplicaciones analíticas y biológicas.

Ultracentrifugación Ultracentrifugación analítica y preparativa. Aplicaciones de la ultracentrifugación preparativa para muestras biológicas. Ultracentrifugación diferencial. Obtención de fracciones subcelulares.

Bolilla 7

Cromatografía: definiciones y clasificación. Descripción general del proceso cromatográfico. Conceptos. Migración diferencial y ecuación de Van Deemter. Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC). Instrumentación: Bomba, Inyectores, Columnas y Detectores. Modalidades de HPLC. Teoría. Mecanismos de retención de cromatografía de adsorción, con fases químicamente ligadas, de intercambio iónico, de filtración por geles. Cromatografía de gases: generalidades. Cromatografía gas-líquido. Instrumentación. Sistema de muestreo, columnas empaquetadas, capilares y tipos de fases estacionarias. Sistema de detección. Cromatografía en placa fina. Generalidades. Análisis cualitativo y cuantitativo por cromatografía. Aplicaciones clínicas.

Bolilla 8

Electroforesis: Concepto. Propiedades generales de los electrolitos y de los sistemas dispersos. Fenómenos de transporte en disoluciones y en medios estabilizantes. Clasificación. Electroforesis libre, posibilidades y limitaciones. Aplicaciones.

Electroforesis Capilar. Principios generales. Instrumentación. Modos de operación. Modos electroforéticos: Electroforesis Capilar de zona, Isoelectroenfoque Capilar,

Electroforesis Capilar de geles, Isotacoforesis. Modos Cromatográficos: Cromatografía Capilar Micelar Electrocinética, Cromatografía Capilar Quiral, Electro cromatografía Capilar. Inmunofinidad. Aplicaciones en el campo del análisis clínico.

Bolilla 9

Intercambio iónico: Introducción. Generalidades. Resinas cambiadoras. Propiedades generales. Capacidad. Cambiadores inorgánicos. Equilibrio del intercambio iónico. Coeficiente de selectividad. Cinética del intercambio iónico. Aplicaciones: purificación de disolventes y reactivos. Separación de interferencias. Concentración de vestigios.

PARTE C : Misceláneos

Bolilla 10

Métodos radioquímicos: Concepto e importancia. Procesos de desintegración radiactiva. Instrumentación. Detectores de radiación. Análisis de activación de neutrones. Clasificación. Métodos de dilución isotópica. Principios.

Aplicaciones.

Bolilla 11

Métodos automatizados de análisis. Generalidades del instrumental automático y de la automatización. Análisis por inyección en flujo. Sistemas automáticos discontinuos. Separaciones continuas no-cromatográficas. Sistema líquido-líquido: Diálisis. Aplicaciones en química clínica.

Bolilla 12

Immunoanálisis. Introducción. Antígenos y anticuerpos. Diseño del ensayo. Clasificación. Separación de fracciones. Radioimmunoanálisis. Fluoroimmunoanálisis. Enzimoimmunoanálisis. Otras técnicas de immunoanálisis. Aplicaciones

VII - Plan de Trabajos Prácticos

0)- Normas de seguridad

1)- Absorciometría espectrofotométrica I: Trazado de la curva espectral

2)- Absorciometría espectrofotométrica II: Trazado de la curva de calibración. Aplicaciones bioquímicas.

3)- Fluorescencia molecular. Trazado de espectros de excitación y de emisión. Aplicaciones bioquímicas.

4)- Cromatografía líquida de alta performance: Aplicaciones analíticas a muestras biológicas.

5)- Electroforesis: Aplicaciones analíticas a muestras biológicas.

6)- Absorción atómica: Determinación de iones metálicos en muestras de interés.

7)- Espectrometría de llama: Determinación de sodio y potasio en suero humano.

8)-Potenciometría ácido-base: Métodos volumétricos con detección potenciométrica del punto final. Aplicaciones en el campo del análisis clínico.

9)- Problemas de aplicación de cada una de las temáticas desarrolladas

Laboratorios optativos (estas actividades serán realizadas a demanda de los alumnos interesados en horarios y fechas a convenir con los Jefes de Trabajo Prácticos correspondientes).

Op1- Determinación de proteínas totales mediante absorciometría UV-vis.

Op2- Determinación de cafeína mediante quenching fluorescente.

Op3- Determinación de cadmio mediante fluorescencia en fase sólida.

VIII - Regimen de Aprobación

El programa de la asignatura se desarrolla básicamente con los siguientes métodos de enseñanza: clases teóricas, trabajos prácticos de laboratorio y trabajos prácticos de aula.

Sistemas y criterios de evaluación

Para obtener la regularidad de la asignatura, además de los parciales, será necesario aprobar el 100% de las prácticas de laboratorio.

Las clases prácticas de laboratorio serán evaluadas mediante un cuestionario escrito y una evaluación continua, en la que se dará especial importancia a los resultados obtenidos, así como a la elaboración de un informe escrito en el cuaderno de laboratorio, incluyendo una breve introducción, resultados y conclusiones. Los gráficos deberán presentarse en papel milimetrado.

Se realizarán tres exámenes parciales con las temáticas desarrolladas en los prácticos de laboratorio y de aula, contando con cuatro instancias de recuperación y una más para los alumnos que hayan presentado certificado de trabajo en tiempo y forma.

La asignatura se apoya sobre una serie de fundamentos previos, conceptos fisicoquímicos y detalles tanto de los elementos

constitutivos de los instrumentos como de su funcionamiento que hace imprescindible una actitud muy activa por parte del alumno. Por ello la asistencia regular a las clases teóricas como otras actividades es extremadamente importante. La asistencia a las clases teóricas será obligatoria entre el 100-80 % para los alumnos en condiciones de promocionar. Estos alumnos deberán aprobar al menos dos de los tres parciales de regulares de primera instancia así como uno de los dos parciales integradores de teoría.

Los alumnos regulares serán evaluados mediante un examen final de modalidad oral, logrando la aprobación de la asignatura con una calificación mínima cuantitativa de cuatro (4) puntos (Art.31 Ord 13/03 CS). Esta evaluación permitirá apreciar de manera completa el dominio alcanzado por el alumno sobre la totalidad de los contenidos del curso y las competencias necesarias para su futuro desempeño profesional.

IX - Bibliografía Básica

- [1] [1] D. Skoog, A. Douglas, F. Holler, F. James, Crouch, Principio del Análisis Instrumental 6ª Ed. Cengage Learning, 2011.
- [2] [2] D. Skoog y J. Leary, "Análisis instrumental", Mac Graw Hill, 1996.
- [3] [3] Skoog, Douglas A. , Holler, F. James, Nieman, Timothy A., Martín Gómez, María del Carmen, Principios de análisis instrumental, 5ª ed. McGraw-Hill , 2003
- [4] [4] Skoog, Douglas A., Soller, F. James, Crouch, Stanley R Principles of instrumental analysis 6ª ed. Thomson Brooks-Cole, 2007.
- [5] [5] Satinder Ahuja, Neil Jespersen, Modern Instrumental Analysis, 47, ed.Elsevier, 2006.
- [6] [6] Guía de estudio de la Asignatura. Versión 2010.

X - Bibliografía Complementaria

- [1] [1] H. Seiler, A. Sigel, H. Sigel Eds., "Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry", Marcel Dekker, Inc.,1994.
- [2] [2] R. Kellner, J. M. Mermet, M. Otto, H. M. Widmer Eds., "Analytical Chemistry", Wiley VCH, 1998.
- [3] [3] Publicaciones periódicas de Química Analítica.

XI - Resumen de Objetivos

- Conocer los principios básicos, características de funcionamiento y principales aplicaciones del análisis instrumental.
- Conocer e interpretar las propiedades analíticas que definen las características de interés de los métodos instrumentales.
- Saber interpretar la calidad de los resultados.

XII - Resumen del Programa

- 1)- Los Métodos Instrumentales. Generalidades.
- 2)- Propiedades de la radiación electromagnética. Interacción de la radiación con la materia. Absorciometría. Teoría. Ley de Lambert-Beer. Espectrometría en UV-Visible. Instrumentación. Aplicaciones.
- 3)- Fluorescencia y fosforescencia molecular: teoría. Instrumentos. Fluorímetros y espectrofluorímetros. Aplicaciones. Refractometría. Instrumentos. Aplicaciones. Polarimetría. Principios generales. Polarímetros. Aplicaciones.
- 4)- Espectrometría de Llama, Absorción Atómica, ICP. Instrumentación. Sensibilidad y límite de detección. Interferencias. Aplicaciones.
- 5)- Métodos electroquímicos de análisis: Concepto e importancia. Celdas electroquímicas. Clasificación. Conductimetría. Potenciometría.
- 6)- Separaciones Cuantitativas. Generalidades Extracción. Extracción de quelatos. Concepto. Importancia. Aplicaciones. Ultracentrifugación.
- 7)- Cromatografía. Generalidades. Distintos tipos. Aplicaciones. Cromatografía gas-líquido. Teoría. Aplicaciones. Cromatografía de Afinidad. Concepto. Aplicaciones.
- 8)- Electroforesis: Conceptos. Clasificación. Aplicaciones. Electroforesis Capilar.
- 9)- Intercambio iónico. Generalidades. Tipos de intercambiadores. Aplicaciones.
- 10)- Métodos radioquímicos. Generalidades. Equipamiento. Técnicas de evaluación. Aplicaciones.
- 11)- Métodos Automatizados de Análisis: Generalidades. Análisis por inyección en flujo. Separaciones continuas no-cromatográficas. Aplicaciones.
- 12)- Inmunoanálisis. Radioinmunoanálisis. Fluoroimmunoanálisis. Enzimoimmunoanálisis.

XIII - Imprevistos

No se preveen.

XIV - Otros