

METODOS FÍSICOS GENERALES DE SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN PARTE I

BIOQ. CRISTHIAN MEDUS



PROCESO DE MEDIDA QUÍMICA

1. ETAPA PRE ANALÍTICA
2. ETAPA ANALÍTICA
3. ETAPA POST ANALÍTICA



ETAPA PRE ANALÍTICA

- ETAPA PREPARATIVA DE LA MUESTRA
- ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA
- SEPARACIÓN DE INTERFERENTES
- EXPUESTA A ERRORES

ANALITO E INTERFERENTES

- ANALITO: ESPECIE QUÍMICA OBJETO DE INTERÉS
- INTERFERENTE: ESPECIE QUÍMICA QUE IMPIDE LA MEDICIÓN DEL ANALITO
- MATRIZ: COMPONENTES TOTALES DE UNA MUESTRA : ANALITO + INTERFERENTES
- ALÍCUOTA: PORCIÓN DE UNA MUESTRA

ETAPA ANALÍTICA

- IDENTIFICACIÓN DETECCIÓN Y/O CUANTIFICACIÓN DEL ANALITO DE INTERÉS
- REQUIERE INSTRUMENTAL ESPECIFICO
- ANÁLISIS CUANTITATIVO
- ANÁLISIS CUALITATIVO

ETAPA ANALÍTICA

- ANÁLISIS CUANTITATIVO: MEDICIÓN CUANTITATIVA DEL ANALITO EN UNA CANTIDAD DETERMINADA Y ESPECIFICADA CON CIERTO MARGEN DE ERROR.
- EJ: GLUCOSA 108 MG/DL BENZOILECGONINA: 45 UG/ML

ETAPA ANALITICA

- ANÁLISIS CUALITATIVO: DETERMINA LA PRESENCIA DEL ANALITO, NO NOS DICE LA CANTIDAD EXACTA, SI ESTABLECE UN VALOR DE CORTE.
- VALOR DE CORTE O CUT OFF.



ETAPA ANALITICA

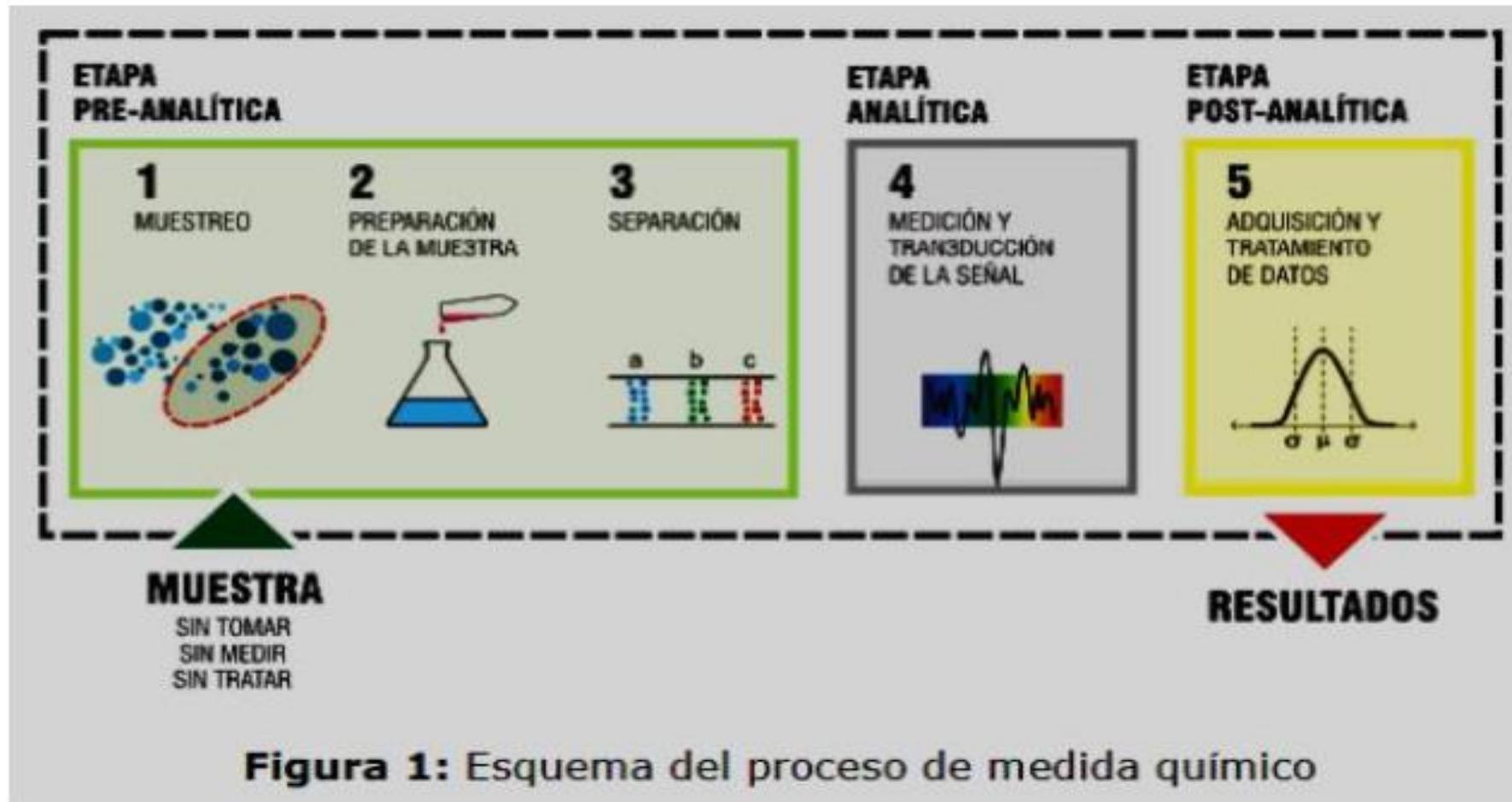
- ANÁLISIS CUALITATIVO: DETERMINA LA PRESENCIA DEL ANALITO, NO NOS DICE LA CANTIDAD EXACTA, SI ESTABLECE UN VALOR DE CORTE.
- VALOR DE CORTE O CUT OFF.



ETAPA POST ANALÍTICA

- INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS
- ANÁLISIS ESTADÍSTICO
- VALIDACIÓN DE LOS RESULTADOS

PROCESO DE MEDIDA QUÍMICA



MÉTODOS SEPARATIVOS

- EXTRACCIÓN: PROCESO EN EL CUAL EL ANALITO PASA DE UNA FASE A OTRA
- OBJETIVO: SEPARAR AL ANALITO DE LOS INTERFERENTES

MÉTODOS SEPARATIVOS

- EXTRACCIÓN FASE SOLIDA: SE UTILIZA COMO PASO PREVIO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA OTRAS TÉCNICAS COMO HPLC O GC
- SE BASA EN LA INTERACCIÓN ENTRE UNA FASE SOLIDA QUE ACTÚA COMO EXTRACTANTE Y UNA FASE LIQUIDA (MUESTRA)
- SE BASA EN LA DISTINTA AFINIDAD DEL ANALITO E INTERFERENTE POR LA FASE SOLIDA
- CONSTANTE DE AFINIDAD

MÉTODOS SEPARATIVOS

MECANISMOS:

1. FASE REVERSA
2. FASE NORMAL
3. INTERCAMBIO IÓNICO

CARTUCHOS COMERCIALES O JERINGAS DE SILICA GEL



MÉTODOS SEPARATIVOS

- EXTRACCIÓN LIQUIDO – LIQUIDO: SE BASA EN LA INTERACCIÓN DEL ANALITO ENTRE DOS FASES LIQUIDAS
- UTILIZA DOS LÍQUIDOS INMISCIBLES POR LO GENERAL UNO POLAR Y OTRO NO POLAR
- EL ANALITO PRESENTA AFINIDAD POR UNA DE LAS FASES : KD
- LEY DE NERNST



MÉTODOS SEPARATIVOS

LEY DE NERNST

- LEY DE NERNST

- A temperatura constante cualquier soluto se distribuirá entre dos solventes inmiscibles (sistema líquido bifásico) de forma tal que la relación de las concentraciones de equilibrio de la especie en una y otra fase es igual a una **CONSTANTE**, a esta constante la denominamos Constante de Distribución, Constante de Reparto o Coeficiente de Partición

$$Kd = \frac{\text{Conc. de analito en fase orgánica}}{\text{Conc. de analito en fase acuosa}}$$

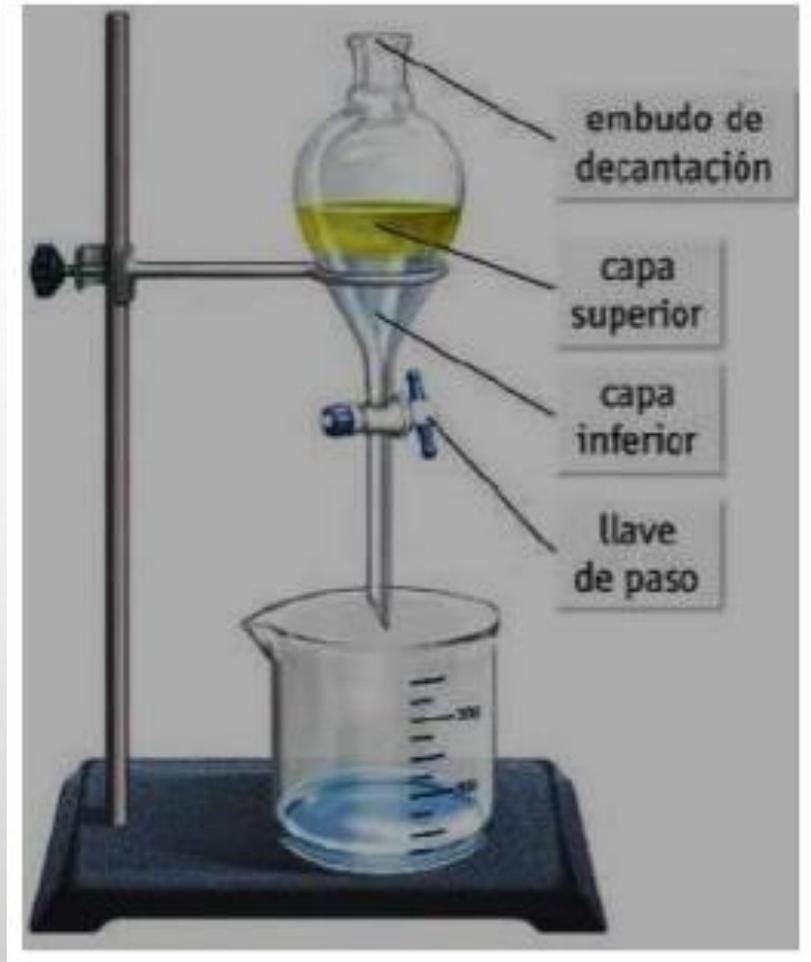
Fase orgánica: solvente utilizado para la extracción

Fase acuosa: constituida por la solución muestra

MÉTODOS SEPARATIVOS

VARIABLES QUE AFECTAN AL MÉTODO LIQUIDO:

1. SOLVENTE
2. VOLUMEN DE SOLVENTE Y VOLUMEN DE MUESTRA
3. FUERZA IONICA
4. KD
5. PH



MÉTODOS SEPARATIVOS



Ecuación 15

MÉTODOS SEPARATIVOS

RENDIMIENTO DE UN PROCESO EXTRACTIVO

$$W_n = \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right]^n$$

MÉTODOS SEPARATIVOS

- RENDIMIENTO DE UN PROCESO EXTRACTIVO

Supongamos tener 100 ml de una muestra acuosa que contiene 10 mg de fenobarbital (psicofármaco derivado del ácido barbitúrico) y planteamos un protocolo extractivo que incluye dos extracciones sucesivas con dietiléter previo acondicionamiento del pH a un valor de 3 y efectuamos el cálculo teórico del rendimiento extractivo que se tiene con una extracción y luego con dos ensayos sucesivos. Los datos con que contamos son:

K_d éter/aqua = 5

Volumen de extractante (V_o) = 200 ml para c/ensayo

$W_1 = 1,67$ mg

MÉTODOS SEPARATIVOS

- DESTILACIÓN

