

5224-9.0.

496368-A.f

12/93

QO-1993

8

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Departamento: Química Inorgánica, Analítica y Química Física  
Química Orgánica  
Química Biológica

Materia: **Análisis Instrumental**

Carrera: Licenciatura en Ciencias Químicas Plan: 1987

Duración: cuatrimestral Carácter: Obligatorio

Carga horaria: Teóricas: 4 hs./sem. Laboratorio: 8 hs./sem.

Correlatividades: Estadística, Química Analítica, Química Orgánica II, Química Biológica, Química-Física II (T.P.).

Objetivos: Proporcionar una formación básica en los principios del análisis químico instrumental: a) sistemas analíticos que permiten la evaluación de concentraciones; b) sistemas analíticos que permiten la determinación de estructuras orgánicas complejas; c) aislamiento de sustancias biológicamente activas, su valoración cuantitativa y la determinación del tamaño molecular y otras características.

PROGRAMA ANALITICO.

Tema 1: Espectroscopia de emisión molecular y atómica: Introducción a la espectroscopia atómica y molecular. Niveles energéticos atómicos y moleculares (electrónicos y vibracionales). Instrumentación para espectroscopia óptica. Características: dispersión, poder de resolución, paso de banda espectral, luminosidad. Sistemas de iluminación. Selección de la longitud de onda: redes de difracción. Montajes ópticos para redes planas y cóncavas: monocromadores y policromadores. Detectores de radiación óptica: detectores fotoemisivos, fototubos multiplicadores, fotodiodos. Fuentes de vaporización atómica, excitación eléctrica para análisis espectroquímico: arco de corriente continua y de corriente alterna, chispa de corriente alterna de alto voltaje, descargas a presión reducida, plasmas generados por microondas y por acoplamiento inductivo de radiofrecuencia, plasmas transferidos (de corriente continua). Introducción de muestras líquidas en fuentes de plasmas. Configuraciones instrumentales para análisis multielemental secuencial y simultáneo. Sistema de detección y procesamiento de datos. Aplicaciones. Detectores espectrométricos selectivos para cromatografía líquida y gaseosa.

Tema 2: Espectrometría de absorción atómica: La llama como generador de vapor atómico para espectroscopias de emisión y absorción atómicas. Instrumentación: nebulizadores - quemadores. Llamas laminares premezcladas. Etapas en la conversión del analito en átomos libres. Atomizadores electrotérmicos: selección de las condiciones de operación. Vaporización química. Espectrometría de emisión con llama. Espectrometría de absorción atómica. Fundamentación teórica. Configuración instrumental; fuentes de excitación radiacional: lámparas de cátodo hueco, lámparas de

descarga sin electrodos (excitados por microondas y por radiofrecuencia). Absorción atómica con fuente de continuo. Espectrometría de fluorescencia atómica. Interferencias asociadas con llamas y atomizadores electrotérmicos: absorción no específica y métodos de corrección, interferencias espectrales, de vaporización y ionización. Aplicaciones. Análisis comparativo de las diferentes técnicas espectrométricas.

**Tema 3: Luminiscencia molecular.** Mecanismo de la emisión luminiscente. El diagrama de Jablonski. Características de la emisión fluorescente: corrimiento de Stokes; parámetros de excitación y de emisión. Tiempo de vida media de fluorescencia y rendimiento cuántico. Anisotropía de fluorescencia. Instrumentación: Espectros de excitación y emisión. El espectrómetro de luminiscencia. Fuentes de excitación. Monocromadores. Geometría de la celda para la muestra. Detectores: Photon Counting vs detección analógica. Corrección de espectros de excitación y de emisión. Instrumentos para la medición de fosforescencia. Análisis cualitativo y cuantitativo. Relación entre la intensidad fluorescente y la concentración. Curvas de calibración. El efecto de filtro interno. Sensibilidad y límite de detección. Interferencias. Relación entre la señal fluorescente y la estructura de la molécula. Efecto del solvente, temperatura y pH. Precauciones que deben observarse en la preparación de las soluciones y durante la medición. Medición del rendimiento cuántico de fluorescencia. Inhibición de la fluorescencia. Inhibidores. Diferentes tipos de mecanismos. Ecuación de Stern-Volmer. Aplicaciones de la inhibición de la fluorescencia. Introducción a las técnicas de fluorescencia resueltas en el tiempo. Aplicaciones de la luminiscencia al análisis de vestigios.

**Tema 4: Métodos separativos cromatográficos.** Principios generales. Comportamiento cromatográfico de solutos: retención, coeficiente de partición, relación de partición. Eficiencia de las columnas: altura y número efectivo de platos, asimetría de bandas, resolución. Procesos en la columna y ensanchamiento de bandas. Determinaciones cuantitativas. Instrumentación para cromatografía gaseosa: columnas detectores y otros componentes. Selección de fases líquidas y columnas. Optimización de condiciones experimentales: gas portador, operación isotérmica y con programación de temperatura. Cromatografía líquida de alta performance. Características operativas: elución isocrática y con gradiente. Instrumentación: bombas y componentes accesorios, inyectores, columnas, detectores. Aplicaciones a la determinación de vestigios.

**Tema 5: Métodos eléctricos: voltamperometría.** Polarografía de pulso y de pulso diferencial. Voltamperometría de redisolución y cíclica.

*ve  
0.8  
Just*

**Tema 6: Espectrometría de masa (EM):** Introducción a la EM. Fundamentos. Producción de iones y factores que gobiernan su estabilidad. Determinación de peso y fórmula molecular. Abundancia isotópica. Fragmentación de iones. Potencial de aparición. Tipos de fragmentaciones. Ruptura de unión. Reordenamiento. Interpretación de espectros.

*J. de.../...*

**Tema 7:** El espectrómetro de masa. Características: Sensibilidad, resolución y rango de masa. Fuentes de producción de iones. Sistemas de enfoque. Registros de iones. Iones metaestables. Sistemas de análisis. Sistema acoplado cromatógrafo de gases - espectrómetro de masa. Sistema acoplado cromatografía líquida de alta resolución - espectrómetro de masa. Aplicaciones.

**Tema 8:** Resonancia Magnética Nuclear (RMN): Teoría de la RMN. Spin nuclear y momento magnético. Descripción del fenómeno de RMN. Frecuencia de Larmor. Frecuencia de resonancia de los núcleos más comunes. Magnetización y precesión. Susceptibilidad magnética.

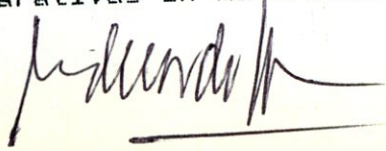
**Tema 9:** El espectro de RMN: origen del desplazamiento químico ( $\delta$ ). Efectos diamagnéticos y paramagnéticos. Desplazamiento químico de  $^1\text{H}$ , factores que lo afectan: densidad electrónica, anisotropía magnética, corrientes de anillos. Reactivos de desplazamiento. Desplazamiento químico de  $^{13}\text{C}$ , factores que lo afectan. Efectos  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ . Abundancia isotópica y sensibilidad de los núcleos más comunes. Predicción de desplazamientos químicos: uso de tablas.

**Tema 10:** Interacciones spin-spin: acoplamiento directo e indirecto (escalar). Mecanismo de las interacciones. Constante de acoplamiento escalar. Multiplicidad de las señales. Equivalencia de los núcleos. Sistemas fuerte y débilmente acoplados. Relación entre la constante de acoplamiento escalar, la estructura y la estereoquímica de un compuesto.

**Tema 11:** Observación de la RMN: técnicas de pulso. Inducción de la magnetización nuclear y decaimiento libre. Relajación del spin nuclear ( $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_2^*$ ). Correspondencia entre los dominios del tiempo y la frecuencia. Doble resonancia. Efecto nuclear de Overhauser. Desacoplamiento homo y heteronuclear: aplicaciones. Uso de los espectros de RMN en la elucidación de estructuras. Interpretación de los espectros. Seguimiento de reacciones por RMN. Espectros de sistemas variables. Intercambio isotópico. Colapso y separación de señales: efecto de la temperatura. Congelamiento conformacional. RMN de baja resolución: aplicaciones cuantitativas.

**Tema 12:** Cromatografía. Cromatografía en geles. Materiales constituyentes, poliacrilamida, agarosa, poliestireno, dextran y derivados. Características y límites de exclusión, aplicación a la separación de macromoléculas. Cromatografía por intercambio iónico. Grupos funcionales interactivos, criterios de elección para su aplicación biológica. Cromatografía de afinidad.

**Tema 13:** Electroforesis: Principios que rigen la electroforesis en medios soportes diversos, papel, acetato de celulosa, gel de agar, agarosa, gel de almidón y gel de poliacrilamida, aplicación a distintos materiales biológicos. Isoelectroenfoque, fundamentos, empleo de anfólitos, gradientes de pH. Técnicas analíticas y preparativas. Isotacoforesis. Fundamentos, aplicaciones analíticas y preparativas en materiales biológicos. Inmunotransferencia: aplicaciones biológicas.



**Tema 14: Inmunoensayos:** Detección de macromoléculas en fase líquida o sólida empleando inmunoensayo. Técnicas de conjugación, marcadores de mayor aplicación, radionucleidos, radioinmunoanálisis, autoradiografía. Sistema avidina-biotina. Enzima inmunoanálisis.

**Tema 15: Automatización:** Aplicación de la automatización en las determinaciones analíticas de materiales biológicos, aparatos de flujo continuo y discontinuo. Espectrofotometría de absorción por centrifugación. Robótica y sus aplicaciones. Computación aplicada a la automatización.

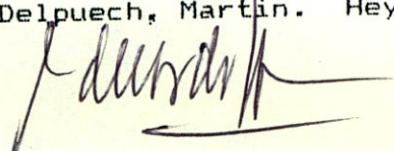
## BIBLIOGRAFIA

### Tema 1 a 5:

- Dean, J.D., Rains, T.C., "Flame emission and atomic absorption spectroscopy". Vol. I (1969) y II (1971).
- Kirkbright, G.F.; Sargent, M. "Atomic Absorption and Fluorescence Spectroscopy", Academic Press 1974.
- Winefordner, J.D., Schulman, S.G., O'Haver, T.C. "Luminescence Spectrometry in Analytical Chemistry". Interscience Inc. 1972.
- Parker, C.A.; "Photoluminescence of solutions". Elsevier, 1968.
- Lakowicz, J. "Principles in Fluorescence Spectroscopy", 1987.
- Rendell, D. "Fluorescence and Phosphorescence. Ed. Analytical Chemistry by Open Learning, J. Wiley & Sons, 1987.
- Modern Fluorescence Spectroscopy. (Vol.1, 2, 3 y 4). Ed. by E.L. Wherry, Plenum Press, 1976-1981.
- Willard, H.H., Lynne, L., Dean, J., Settle, F., "Instrumental Methods of Analysis", 7 Ed. 1988.
- Orio, O.; López, A.; Herrero, E.; Perez, C.; Anunziata, O.; "Cromatografía en fase gaseosa", EDIGEM S.A., Bs.As., 1986.
- McNair, H.M.; Benjamin Esquivel, H., "Cromatografía líquida de alta presión", Monografía DEA.
- Snyder, L.; Kirkland, J. "Introduction to Modern Liquid Chromatography" 2a edición. J. Wiley, 1979.
- Bond, A.M.; Decker, M., "Modern Polarographic methods in Analytical Chemistry", 1980.
- Wang, J. "Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications", VCH Publishers, Inc. USA, 1985.

### Tema 6 a 11:

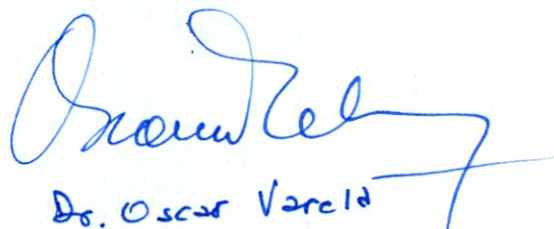
- Espectrometría de masa. J. Seibl - Ed. Alhambra 1973.
- Introducción a la espectrometría de masa de sustancias orgánicas, D.R. Gottlieb y R. Braz Filho - Monografía DEA.
- Introduction to mass spectrometry. H.C. Hill, Heyden & Son, 1966
- Advanced mass spectrometry. Urs P. Schlungger, Pergamon Press.
- Interpretación de los espectros de masas. F.W. Mc Lafferty, Ed. Reverté, 1974.
- Interpretation of the mass spectra of organic compounds. H. Budziliwicz, C. Djerrassi, D.H. Williams; Holden-Day Inc., San Francisco, 1967.
- High resolution NMR. E. Becker. Academic Press, 1969.
- Pulse and Fourier Transform NMR. T.C. Farrar and E. Becker, Academic Press, 1971.
- Practical NMR Spectroscopy. Martin, Delpuech, Martin. Heyden 1980.

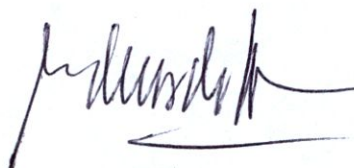


- Modern NMR Spectroscopy. A guide for chemists, J.M. Saunders and B.K. Hunter, Oxford Univ. Press, 1988.
- Spectrometric identification of organic compounds. R.M. Silverstein, G. Clayton Bassler, T.C. Morrill; Wiley & Sons, 1981.

Tema 12 a 15:

- Work, T.S., Work, E. Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology. Tomos I-V. North Holland Publish Co., Amsterdam, Holanda.
- Goodwin, T.W., Instrumentation in Biochemistry, Academic Press. London.
- Caro, R.; Ciscato, V.; Piccini, E.: Metodología de radioisótopos en el laboratorio modelo. Editorial Panamericano. Bs.As.
- Andrews, A.T.; Electrophoresis. Theory, Techniques and Clinical Applications. Clarendon Press, Oxford.
- Pharmacia Fine Chemicals:
  - #Gel Filtration: Theory and Practice (Laboratory Separation Division).
  - #Ion exchange chromatography
  - #Affinity chromatography
  - #Polyacrylamide gel electrophoresis
  - #Chromatofocusing
  - #Isoelectric Focusing: principles and methods.
- Everaerts, F.M., Beckers, J.L., Verheggen, T.H., Isotacophoresis Theory, instrumentation and applications. Elsevier Scientific Publish Co, Londres.
- Faires, R.A., Parks, B.H., Radioisótopos. Técnicas de laboratorio. EUDEBA. Bs. As.

  
Dr. Oscar Varela



Dr. EDUARDO B. GROS  
DIRECTOR DTD QUÍMICA ORGÁNICA