GUÍA DE ESTUDIO SOLEMNE 3  
ANÁLISIS INSTRUMENTAL Y AUTOMATIZACIÓN 2025-10

1. Explique el experimento original de Mikhail Tsvet (característica de la fase  
estacionaria, característica de la fase móvil y orden de elución

Fase estacionaria: Componente inmóvil en donde se produce la separación de analitos, características: inmovilidad física y química, no debe arrastrarse ni disolverse en la fase móvil

Estabilidad química y térmica bajo las condiciones del análisis

Alta superficie de contacto para maximizar las interacciones de los analitos

Selectividad de los analitos dependiendo de su propiedad química o físicas.

Puede ser un solido

Fase móvil: Componente móvil de una cromatografía que arrastra consigo los analitos, este componente puede ser un liquido  
Características: Es compatible con la fase estacionaria sin disolverla ni arrastrarla.   
Permite un buen flujo de los analitos, flujo continuo y reproducible.   
Capacidad para disolver la MUESTRA para poder tener mas contacto con los analitos presente en la muestra  
Es estable y puro, para no generar interferentes en la prueba cromatografía.   
Características de sistema de elución: Mientras mas un analito interactúe con la fase estacionaria, este se moverá mas lentamente, esto es por la característica molecular de estos, Lo semejante atrae lo semejante, es decir si la fase estacionaria es una fase apolar y si el analito para analizar molecularmente es apolar, este interactúa mas con la fase estacionaria, quedándose mas tiempo en la columna cromatografía saliendo mas tarde que otros compuestos como los polares, que al interaccionar menos con la fase estacionaria estos saldrán antes

2. ¿Cuáles son las características generales de la fase estacionaria y la fase móvil  
en cualquier sistema cromatográfico?

Fase estacionaria: es un componente inmóvil en un sistema cromatográfico, en donde se produce la separación de los analitos, este componente puede ser solido o un líquido suspendido en un soporte sólido.   
  
Fase móvil: Es de un componente móvil en donde se arrastra los analitos para analizar, este componente puede ser liquida (cromatografía liquida) o puede ser gaseosa (cromatografía de gases)

3. ¿Cómo se clasifican los métodos cromatográficos según el principio de  
separación?

Reparto: se basa en la solubilidad selectiva entre la fase estacionaria y la fase móvil inmiscible, ambas en estado líquido. Donde regla general es que lo semejante es soluble en lo semejante   
Adsorción: se basa en que los analitos se concentren en la fase estacionaria solida.  
Intercambio iónico: intercambio iónico estiquiometrico reversible de iones entre la fase móvil en donde compite con la fase estacionaria iónica  
Exclusión: se basa en la selectividad de las moléculas mas pequeñas en donde los solutos mas pequeños logran penetrar una fase estacionaria porosa

4. ¿Qué valor de α y Rs se suficiente para concluir una buena separación? ¿Por qué  
pueden dar resultados contradictorios entre sí?

Valores de alpha para una buena separación: mayor a 1.5  
Rs: 1.5 una separación del 99.7% 2.5 es una separación total (100%)  
Porque el factor de separación mide la afinidad del analito por la fase estacionaria, midiendo así la afinidad que tiene un analito con otro, la resolución cromatografía mide la separación real de estos analitos, si alpha es alto significa que hay una buena diferencia de afinidad entre los analitos pero si la resolución es baja, significa que hubo una pobre separación estos dos analitos, mostrando peaks altos y asolapados por la velocidad en que se eluyen estos analitos   
Esto se puede deber a una baja cantidad de platos teóricos, osea una mayor tamaño de partícula.

5. Explique el efecto que tiene sobre el proceso cromatográfico el largo de la  
cadena alifática en una HPLC reversa.

En una cadena alifática se usan componentes apolares en la fase estacionaria, como C18, esto actúa en la elución de los analitos dependiendo de su polaridad, es decir, los componentes más apolares, se retendrán más tiempo en la fase móvil, saliendo mucho después que los componentes menos apolares o más apolares que se retendrán menos

6. Explique cómo separaría mediante cromatografía de intercambio iónico un  
ácido o una base débil. ¿A que pH carga la muestra? ¿Qué carga tiene el analito  
y la FE? ¿a qué pH eluye cada analito de interés?

En un ácido débil:

El analito en un pH menor a 3 es sin carga iónica, en cambio un pH mayor a 7 es con carga iónica (-)  
La fase estacionaria será de una carga positiva   
La fase móvil: los sin carga iónica (pH menor a 3) se eluyen más rápido, en cambio los con carga iónica (pH mayor a 7), se retendrán más tiempo, esto es porque en una cromatografía iónica se cumple la regla que lo no semejante atrae a lo no semejante (lo opuesto se atraen entre sí)  
En una base débil:   
El analito a un pH menor a 8 es con carga catiónica (+) un pH mayor a 12 es sin carga catiónica.   
La fase estacionaria será de una carga negativa  
La fase móvil: los con carga catiónica (pH menor a 8) se verán más atraídos por la fase estacionaria, en cambio los sin carga catiónica (pH mayor a 12) se eluyen más rápido por su poca afinidad por la fase estacionaria.

7. Explique que efecto posee sobre una HPLC el cambio de tamaño de partícula  
de la fase estacionaria. Considere beneficios y eventuales perjuicios.

El cambio de tamaño partícula radica en la superficie de contacto en donde interactúa el analito, a una menor tamaño de partícula es una mayor superficie de contacto pero aumenta considerablemente la presión necesaria para poder mover los analitos en la fase móvil, a una mayor tamaño de partícula hay una considerable menor superficie de contacto pero la presión igual es considerablemente menor para poder mover el analito en la fase móvil.

El tamaño de partícula adecuada es de 3um a 5um

8. Identifique los principales componentes involucrados en una cromatografía  
gaseosa, explicando como / donde se inyecta la muestra. ¿Qué efecto posee  
cambiar la temperatura?

1.- Reservorio de gas y controlador de presión o de vació. Componente donde se almacena el gas de la fase móvil y donde se regula la presión necesaria para que este se movilice atravesando la fase estacionaria.   
2.- Inyector (Vaporizador) de la muestra. Componente donde se inserta la muestra y se volatiliza, es decir que mediante la temperatura elevada, esta muestra se vuelve a estado gaseoso, pudiendo ser arrastrada por la fase móvil. Muestra que tengan punto de ebullición aproximadamente a 300 C° y que sean termoestables.   
3.- Columna de cromatografía y horno de columna. Componente donde se encuentra la fase estacionaria y la fase móvil, el horno de columna es la encargada de dar temperatura necesaria para que la muestra se volatilice.  
4.- Detector. Componente que detecta el componente del analito ya volatilizado   
5.- Amplificador de señal: Amplifica la señal que detecta el detector  
6.- Registro de señal. Es el registro de la señal amplificada que detecta el detector.   
El efecto que posee el cambiar la temperatura es el tiempo de retención, en donde a mayor temperatura, es mayor la presión de vapor y mayor la velocidad de migración, lo que da como resultado una menor tiempo de retención.

9. ¿Cuál es la diferencia entre CMD y LOD?

CMD: Masa de analito que genera un peaks mayor o 3 veces la cantidad de ruido (Ruido: señal proviniendo del instrumento y no al detectar el analito. Señal (S) Ruido (N)   
S/N=3  
LOD: Cantidad de analito que genera un peaks con razón S/N=3 por unidad de tiempo,  
Es decir, la cantidad de analito que su peaks es mayor o 3 veces a el peaks de ruido pero mantenido en el tiempo.   
La diferencia entre ellos dos es que en CMD se mide el peaks que genera la masa, pero en LOD se mide la unidad de tiempo en que este peaks se mantiene  
A una alta S/N genera un peaks alto pero con disminuido ancho de base, pero una S/N Baja o 1   
(mismo ruido de masa analito y ruido) genera un peaks bajo y con un ancho considerable.  
Entonces es decir, CMD es la concentración mínima detectable pero no cuantificable con precisión, en cambio LOD es la concentración minina y detectable pero cuantificable, garantizando la precisión   
  
  
  
10. Explique en detalle como la cromatografía puede ayudar en el diagnóstico de  
dos patologías.

Los analizadores cromatográficos de química clínica pueden ser útil en el diagnostico de diabetes y otras patologías como daño hepático, esto lo logra mediante el análisis de analitos como la glucosa, proteínas, enzimas, electrolitos, etc  
Los analizadores cromatográficos hematológicos son útiles para diagnosticar patologías a la sangre como la anemia, ya que estos tienen la capacidad de recuento de glóbulo rojos, plaquetas y glóbulos blancos.

11. Respecto a la incorporación del proceso de automatización en los laboratorios  
clínicos, identifique razones para su implementación y beneficios que trae su  
uso.

La incorporación de procesos automáticos reduce los errores humanos y el tiempo necesario para completar dichas pruebas, facilitando el procesamiento y disminuir los errores, garantizando una buena precisión al entregar los resultados y diagnóstico, razones para implementar estos métodos es para aumentar la esperanza de vida poblacional, la aparición de nuevos patógenos y/o patologías con enfermedades emergentes, por un presupuesto clínico acotado, una mayor exigencia en la precisión y exactitud en los análisis,

12. Identifique las principales diferencias entre un analizador automatizado de flujo  
y uno discreto.

Analizador automatizado de flujo, Eficiencia: Para volúmenes grandes y repetitivos  
Velocidad en rutina: Rápido, porque para analizar un solo analito se puede analizar de diferentes muestras  
Flexibilidad: Poca, no muy personalizable.  
Adaptabilidad: Poca, se mantiene estable en establecimientos de flujo constante de muestras  
Mantenimiento: Requiere mucho más cuidado, como una adecuada limpieza de tubo y flujo  
Obsolescencia: Tecnología anticuada, en desuso en muchos entornos

Analizador discreto: Eficiencia: Alta, diversidad de pruebas y urgencias  
Velocidad en rutina: Mas lento si hay mucha repetición  
Flexibilidad: Alta, muy personalizable para el tipo de muestras.   
Adaptabilidad: Buena, ideal para laboratorios con diferentes pruebas o urgentes  
Mantenimiento: Menor dependencia de componentes hidráulicos.  
Obsolescencia: Tecnología moderna y actual, usado en diversos laboratorios.

13. Explique como la técnica de CLIA se usa con alta sensibilidad y especificidad  
como sistema de detección en equipos automatizados.

La CLIA es altamente sensible ya que detecta señales de luz extremadamente débiles y es altamente especifico por el uso de anticuerpos muy selectivos, ideal para diagnósticos de moléculas pequeñas y de difícil cuantificación.   
La CLIA (Inmunoensayo asociado a la quimioluminiscencia) se basa en el fenómeno de la quimioluminiscencia que en donde se libera energía química de una reacción que se convierte en luz, esto pasa cuando las moléculas químicas excitadas químicamente regresan a su estado fundamental, liberando fotones  
En base a esto se utilizan anticuerpos selectivos, estos anticuerpos se unen al analito a analizar, estos liberan fotones gracias a la reacción química enzimática y estos fotones que se detectan como señales de luz