

MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA ENTREGA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO EN LOS EQUIPOS AGILENT HPLC INFINITY 1260 Y CG-EM 7890B- 5977A

Elaboró:

Dr. JEAN ALBERTO CASTILLO
BADILLO

Dr. JUAN MANUEL GERMÁN
ACACIO.

Abril 2015



CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS¹

De forma general se describen las características que debe de proporcionar el cliente sobre la(s) muestra(s) para que los análisis cromatográficos se lleven a cabo de forma óptima.

1. Especificar las características fisicoquímicas de la muestra: peso molecular aproximado, punto de fusión, termotolerancia, volatilidad, solubilidad, disolvente o medio en el que se encuentra, reactividad, pureza y/o posibles impurezas que contenga la muestra. En este punto el cliente debe especificar la termotolerancia (sensibilidad al calor de la muestra) ya que, de esto depende qué equipo se utilizará para el análisis HPLC o CG-EM.
2. Se requiere de 7 a 10 mg de muestra como mínimo (cantidad necesaria para una determinación).
3. Se deberán especificar las características de transporte y almacenamiento de la muestra (temperatura de refrigeración, fotosensibilidad, atmósfera inerte, etc).
4. La muestra deberá estar en un recipiente adecuado para su manipulación. Especificar si la muestra requiere solución amortiguadora (*buffer*)² y bajo qué condiciones o algún tratamiento en específico previo a ser inyectada. En este punto el cliente debe ser muy puntual para que los resultados de los análisis sean adecuados.
5. Es necesario que en el recipiente en el cual se transporte la muestra esté debidamente identificado conforme a los datos de la solicitud.
6. El recipiente deberá ser el adecuado de acuerdo a las características fisicoquímicas del compuesto a analizar. Se sugiere utilizar recipientes de color ámbar con cierre hermético.
7. Si el usuario cuenta con un estándar de referencia primario o secundario, así como impurezas o productos de degradación (sólo de ser necesario), es importante que se registre, etiqüete y envase del mismo modo que la muestra.
8. El cliente deberá especificar si cuenta con un método validado para la determinación de su muestra o si se requerirá la implementación y validación del método.
9. Si se tiene un método validado, éste será de gran ayuda ya que se podrán conocer las condiciones óptimas de operar el equipo y qué tipo de columna se debe utilizar.³

1 Se describen las características que deben tener la(s) muestra(s) para el equipo de HPLC y el CG-EM

2 Si la Unidad de Proteómica y Metabolómica no cuenta con los reactivos necesarios para la manipulación previa de la muestra antes de ser inyectada, el cliente deberá proporcionarlos.

3 En caso de que la Unidad de Proteómica y Metabolómica no cuente con alguna columna en específico, el cliente deberá proporcionarla.

Una vez recibida la muestra se procederá a:

1. Determinar el mejor eluyente o mezcla de eluyentes para el equipo HPLC. Los disolventes a utilizar como fase móvil en HPLC serán desgasificados por medio de un baño de ultrasonido. En el caso del CG-EM se utilizará el flujo de He ya predeterminado en el equipo, así también como las rampas de calentamiento ya predeterminados a menos que el cliente solicite que estos sean modificados. Para el HPLC, en caso de contar con un método validado, se utilizarán los parámetros y condiciones establecidos.
2. Preparar el estándar primario o secundario para elaborar la curva de calibración. Se podrá elaborar la curva de calibración preparando el estándar a diferentes concentraciones. Con los datos obtenidos, por medio de la interpolación y utilizando la curva se podrá determinar la concentración(es) de la(s) muestra(s).
3. Inyectar sucesivamente la solución estándar al sistema. Los datos se obtendrán directamente por el programa.
4. En caso de que el cliente solicite validar un método se determinarán los siguientes parámetros:
 - Linealidad.
 - Precisión.
 - Exactitud.
 - Rango
 - Selectividad

Se buscarán los parámetros y condiciones adecuados para la obtención de resultados óptimos.

5. En el caso del equipo CG-EM, se podrá hacer uso del espectrómetro de masas para la posible identificación de algún(os) componente(s) contenidos en la muestra.

Materiales necesarios para el análisis en el equipo HPLC antes de ser inyectada la muestra:

- Membranas filtrantes de polyestersulfone (0.20 μm X 25 mm)
- ACRODISC
- Viales 2 ml
- Columna de cromatografía

Materiales necesarios para el análisis en el equipo CG-EM antes de ser inyectada la muestra:

- Viales 2 ml