ESTUDIO CROMATOGRÁFICO (HPLC) DE CAFEINA EN MUESTRAS FARMACÉUTICAS Y CAFÉ SOLUBLE

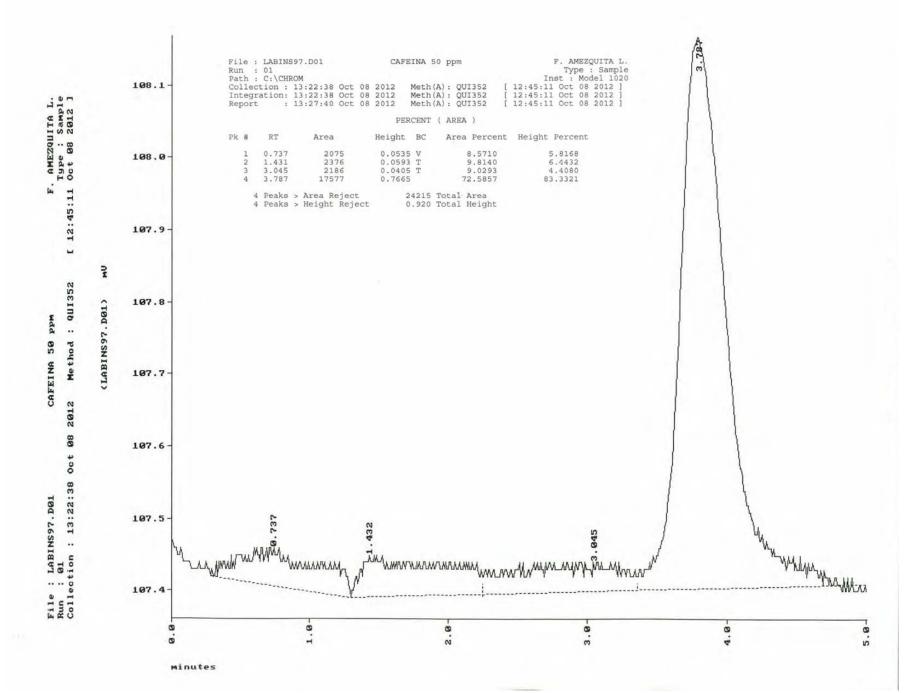
Fernando de J. Amézquita L.
Diana Mendoza O.
V. Odemarys Vallejo T.
Miguel Ángel Pérez Landeros

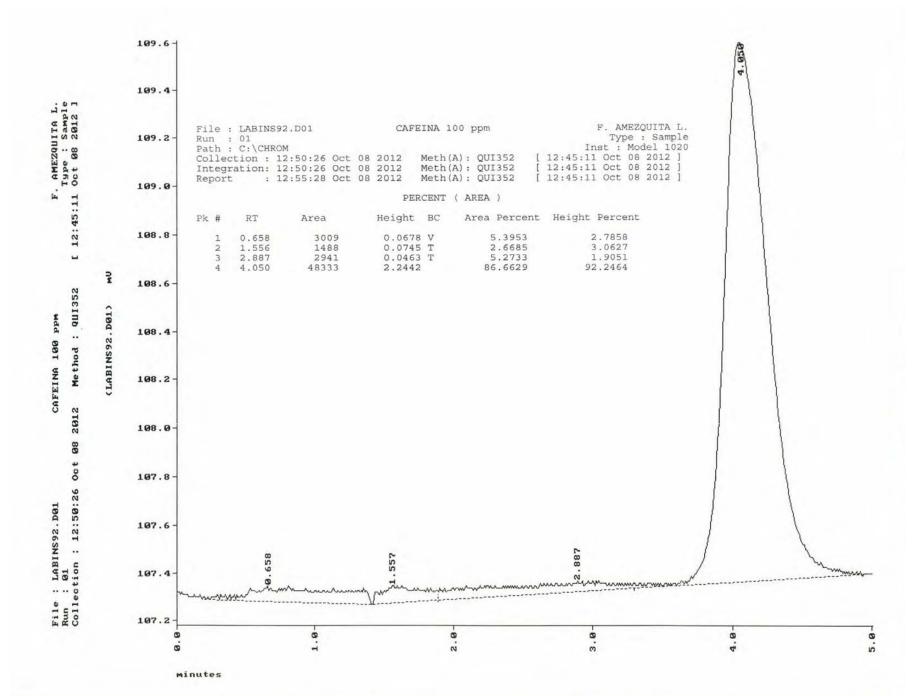


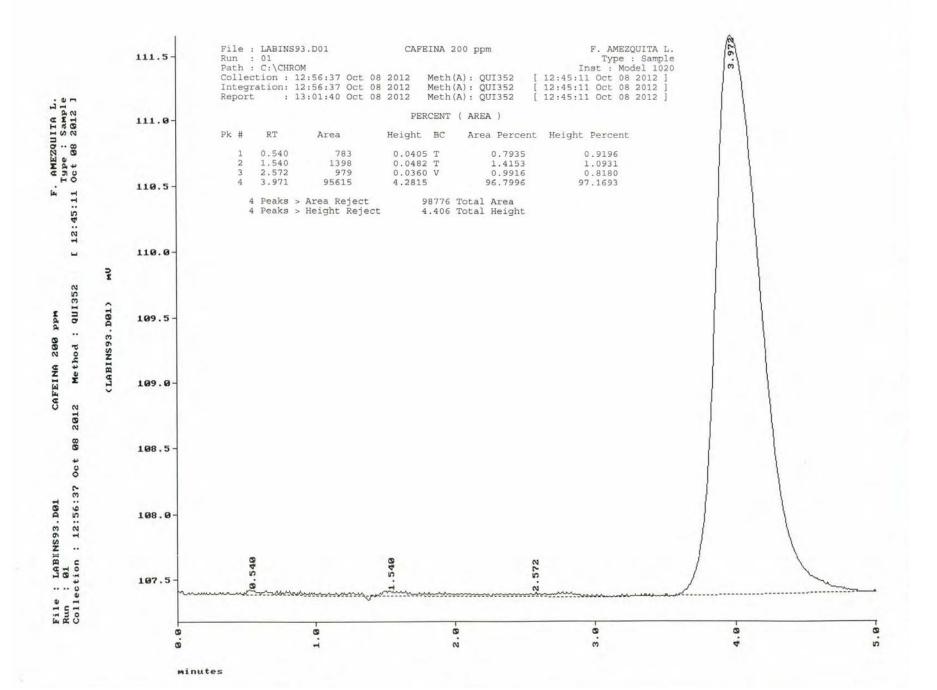
Universidad de Guanajuato

Primera parte obtención de la curva de calibración para la cafeína

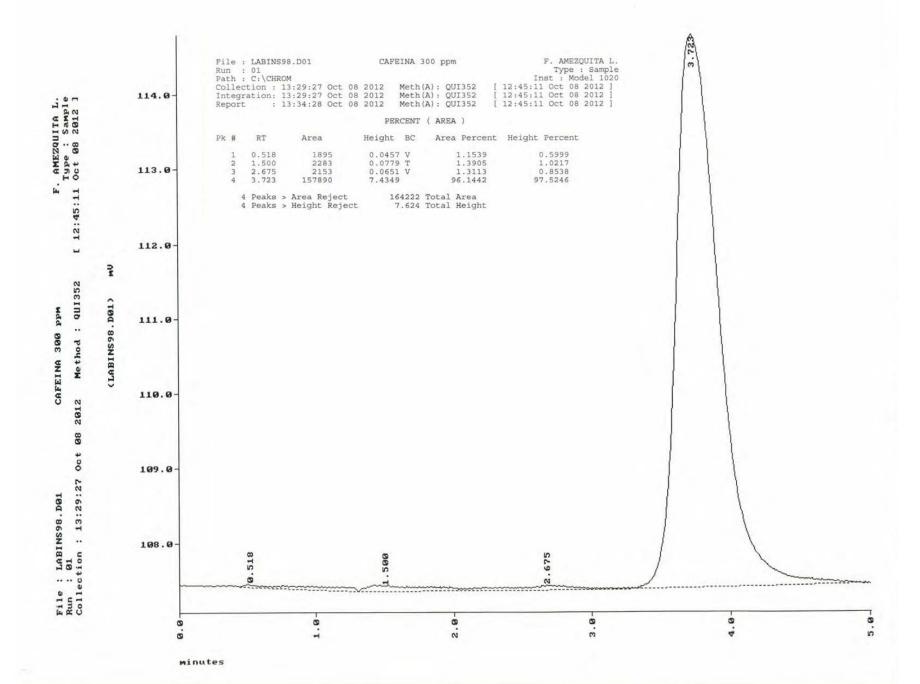
- En esta parte conocerás el tiempo de retención de la cafeína utilizando como fase móvil la mezcla MeOH/H₂O en la proporción 30:70 v, a un flujo de 1,5 mL/min, una columna marca Alltech con fase estacionaria de Adsorbosphore HS C18 7μ de 150 mm x 4,6 mm, dando un tiempo de 5 minutos para la elución y detectados a longitud de onda de 254 nm.
- Los cromatogramas fueron obtenidos para la cafeína a (50, 100, 200, 300 y 500) mg/L.

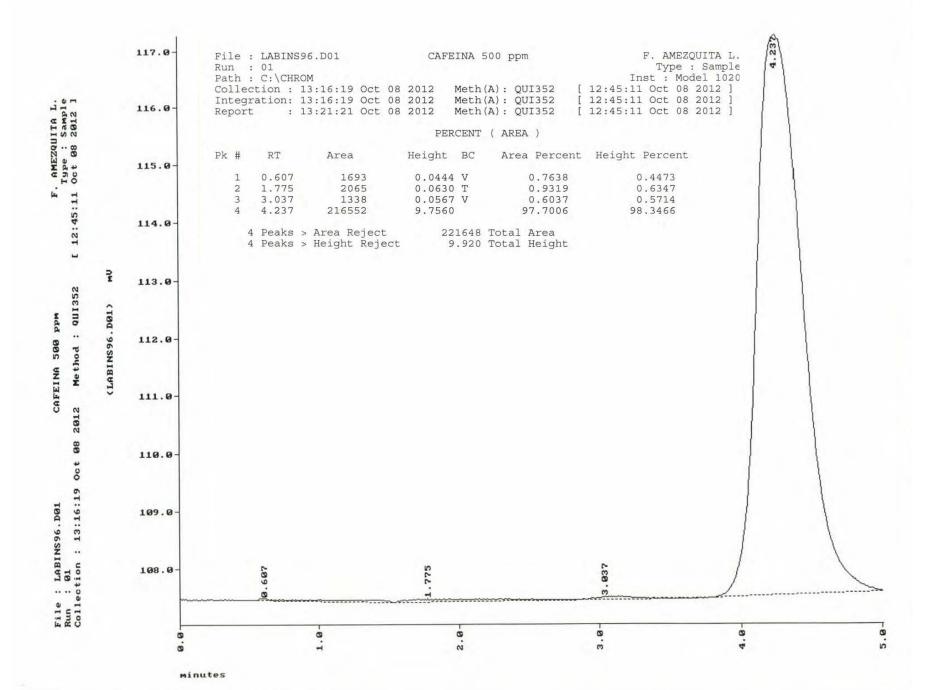






- Después de haber revisado los tres cromatogramas anteriores, es posible que ya puedas decir cual el tiempo de retención de la cafeína.
- ¿Cuál es?
- Recuerda que ese valor es una constante, atendiendo a la fase movil, tipo de columna y la velocidad de flujo.
- Revisa bien los cromatogramas. Observa las escalas.

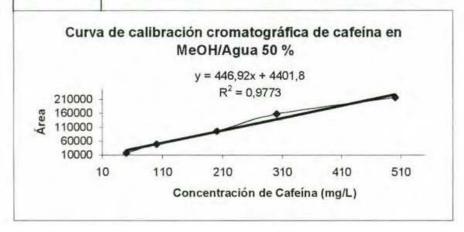




Con los datos de área del pico correspondiente a la cafeína elabora la curva de calibración, obtén la ecuación de la recta y pide el factor de correlación.

Cafeina	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	300 mg/L	500 mg/L
Atenuación	8	8	8	8	8
Vol. µL	10	10	10	10	10
Área	17577	48333	95615	157890	216552

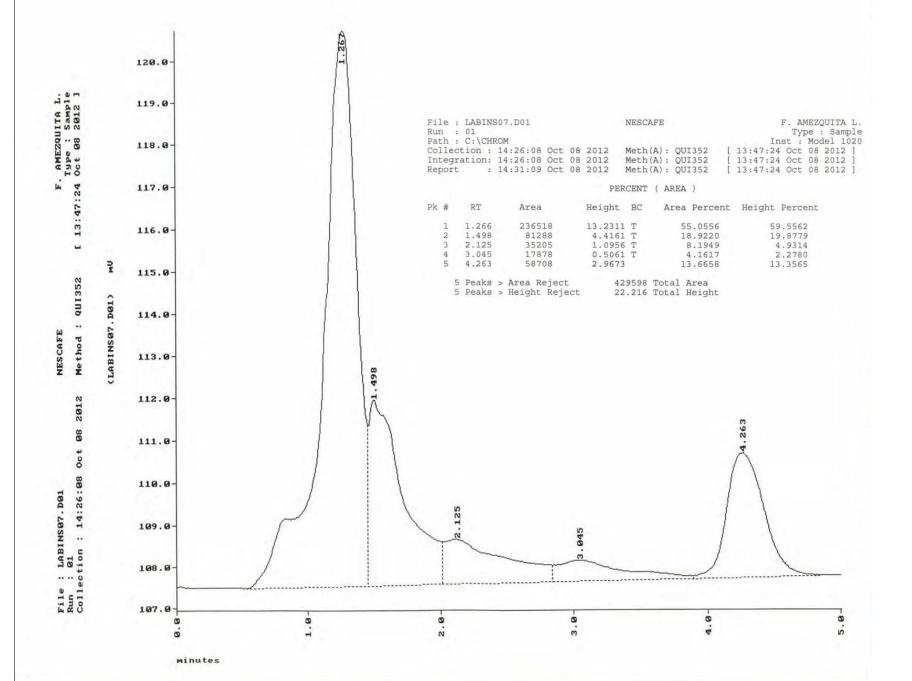
Gráfico 1

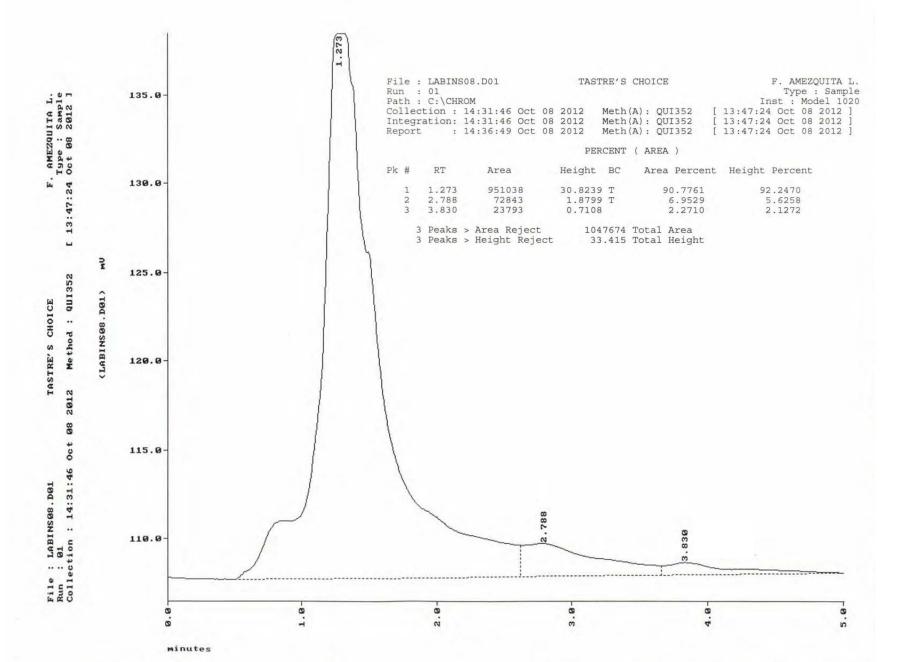


mg/L	Area
50	17577
100	48333
200	95615
300	157890
500	216552

Segunda parte:

- Toda vez que has conocido el tiempo de retención de la cafeína, ahora la identificarás en diferentes productos.
- Y utilizando la ecuación de la recta obtenida, haz el cálculo de las concentraciones de cafeína en cada muestra.

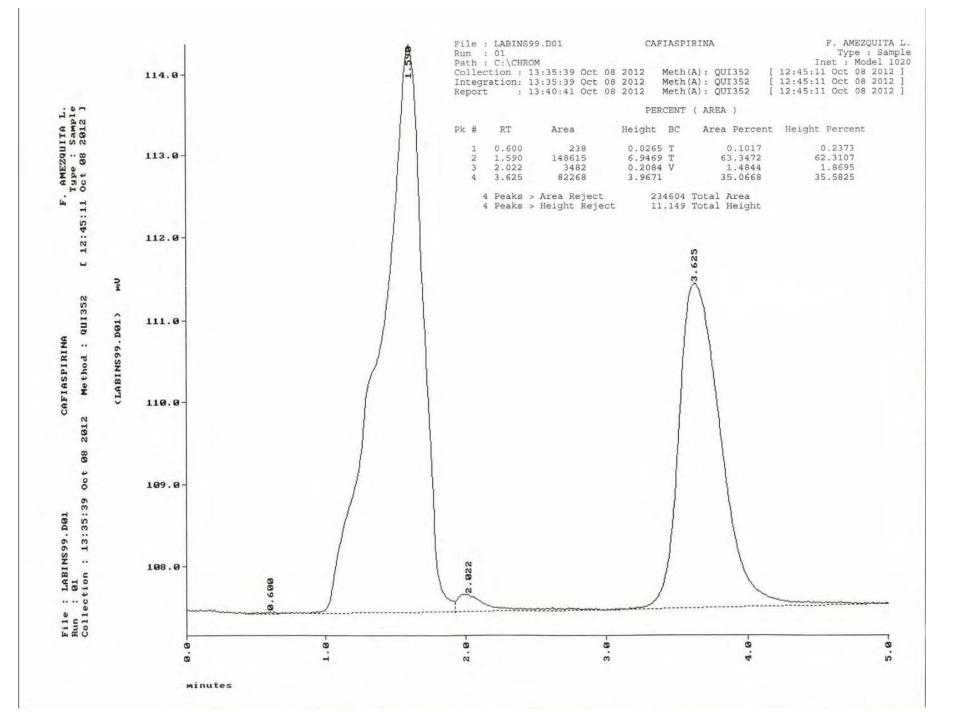


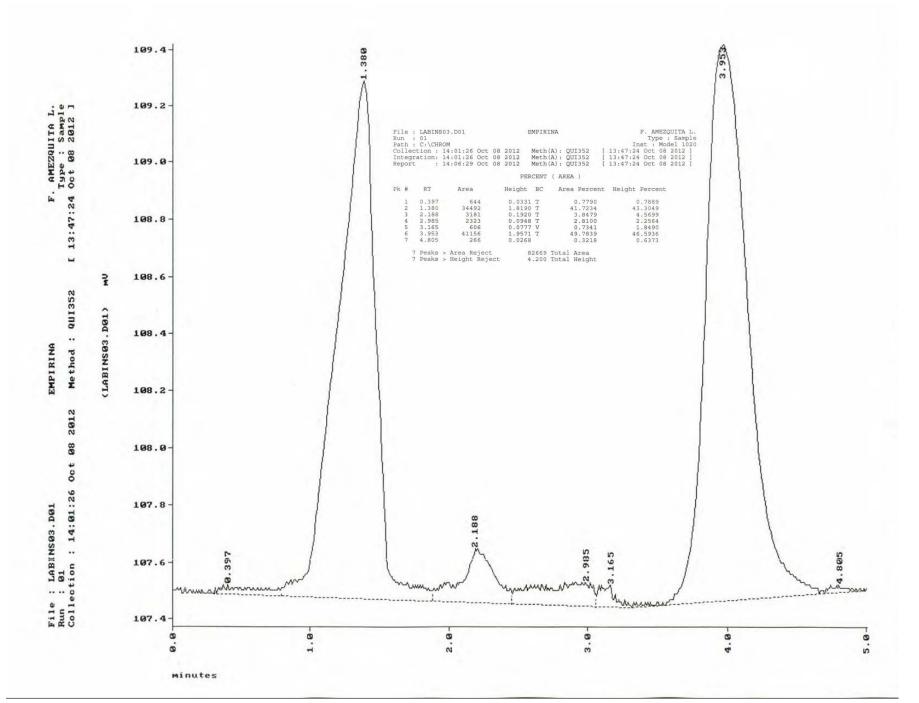


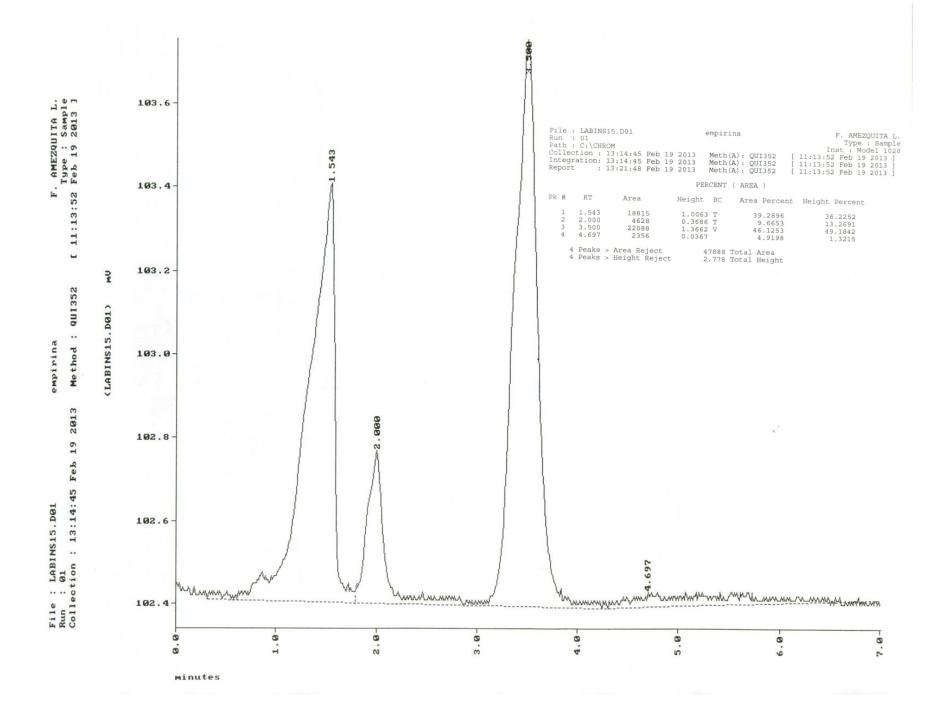
 Las muestras anteriores fueron de café soluble, la primera corresponde a un café con cafeína y el segundo a un café descafeinado. ¿Observas la diferencia?

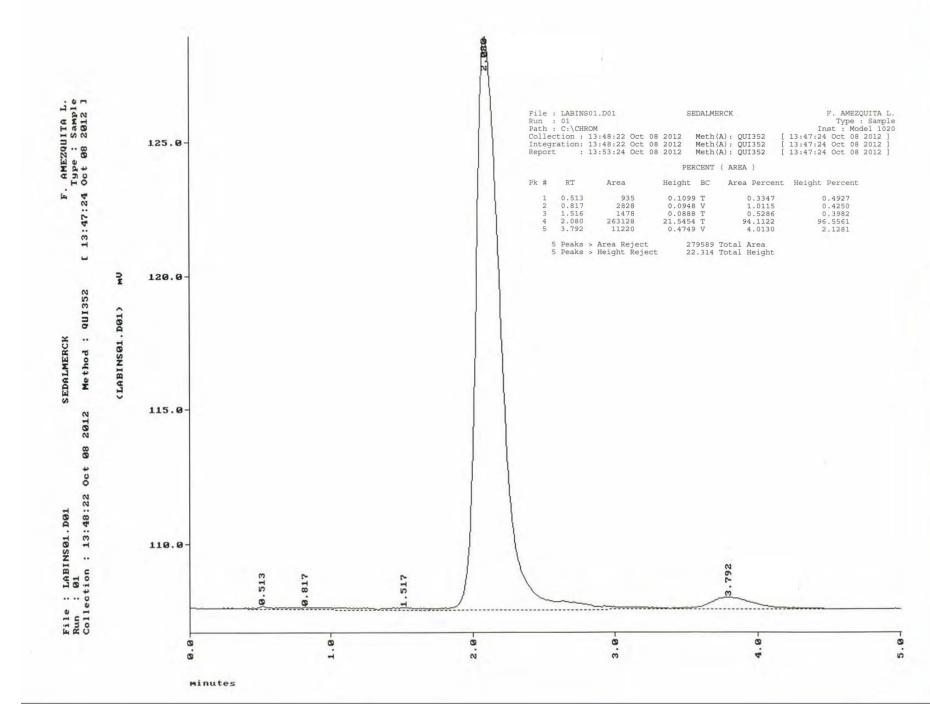
Tercera parte:

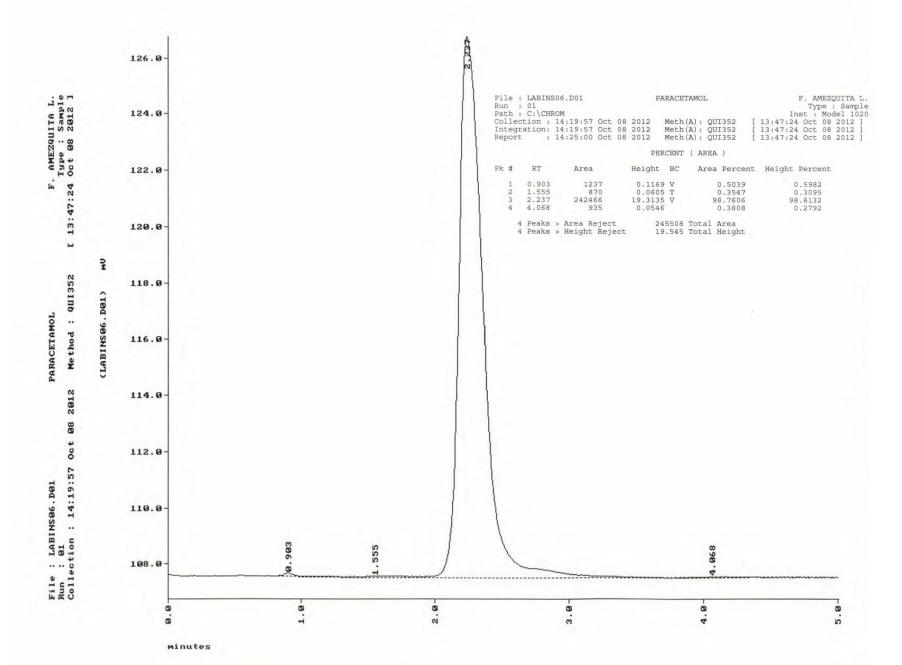
- Ahora se presentan los cromatogramas de los siguientes medicamentos:
- Cafiaspirina
- Empirina
- Sedalmerck
- Andox plus
- Sacidol
- Nordinet

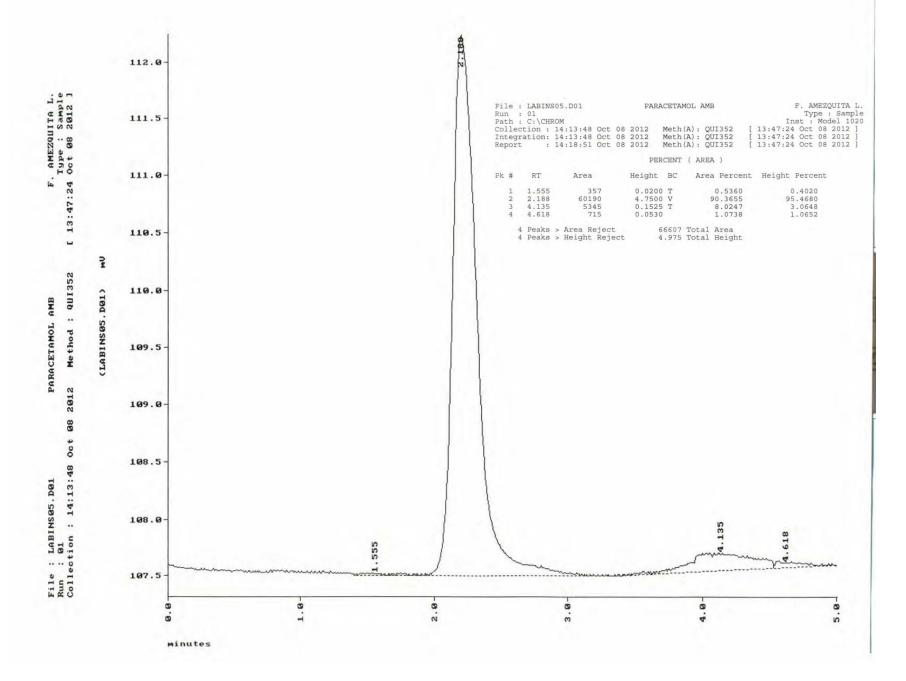


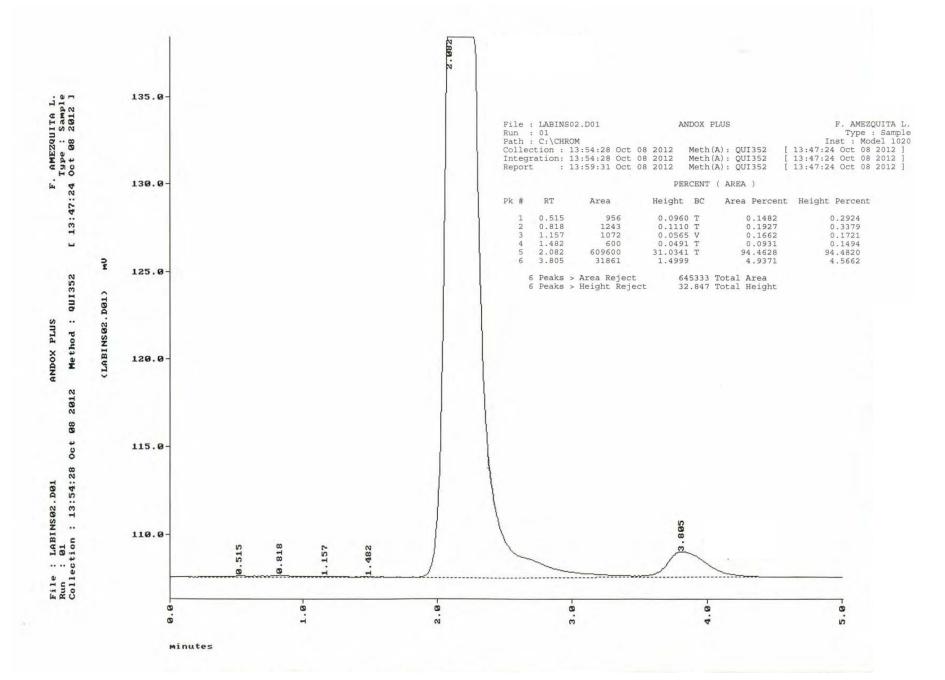






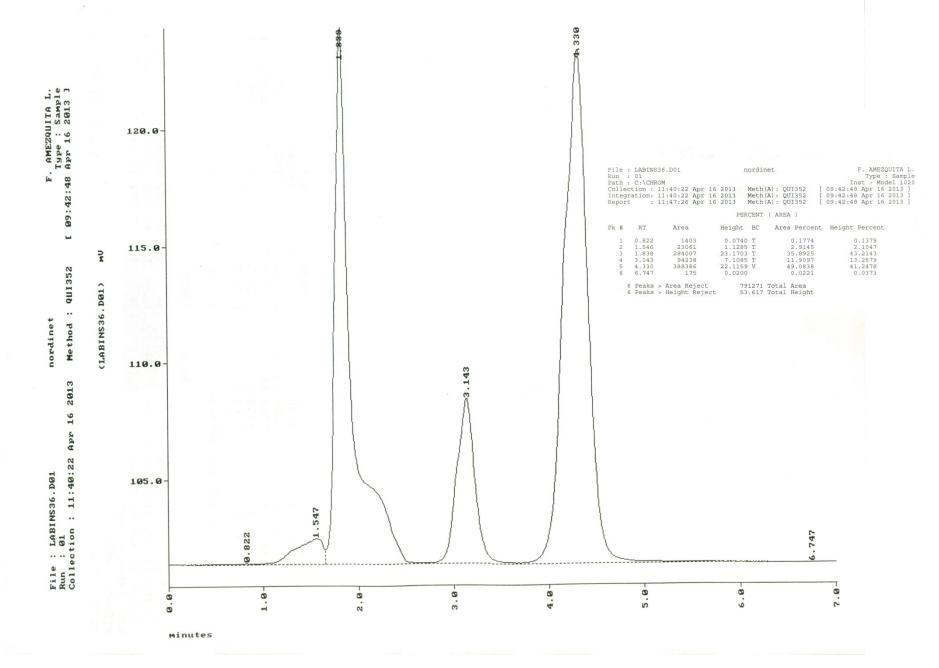






P.N

minutes



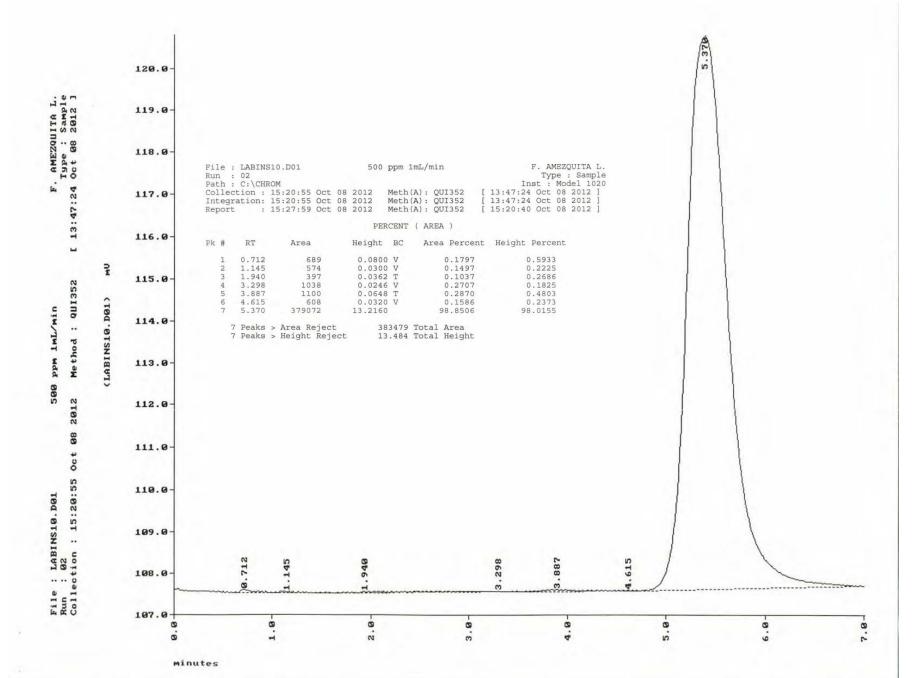
- Los medicamentos tienen las siguientes formulaciones:
- Cafiaspirina (cafeína y ac. Acetil salicílico -AAS).
- Empirina (cafeína, AAS y fenacetina).
- Andox plus (cafeína y paracetamol).
- Sedalmerck, lo hay con dos (cafeína, fenilefrina y paracetamol) y (cafeína y paracetamol).
- Sacidol (cafeína, paracetamol y AAS).
- Nordinet (cafeína, AAS, fenacetina y acetanilida).
- A partir de la señal de cafeína podrás ir identificando cada compuesto. Auxíliate de los cromatogramas de paracetamol.

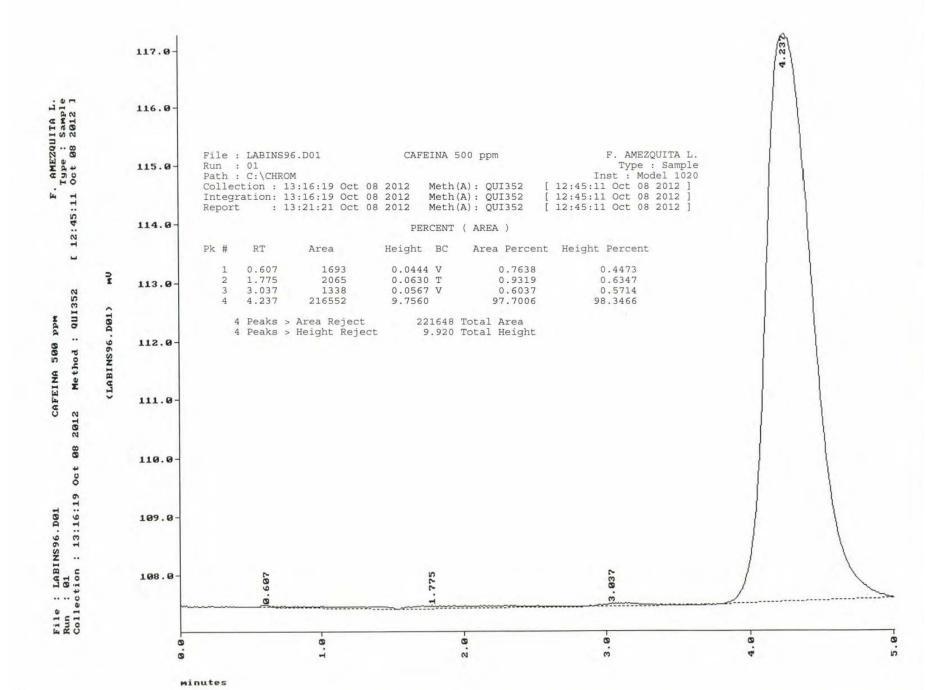
Tercera parte:

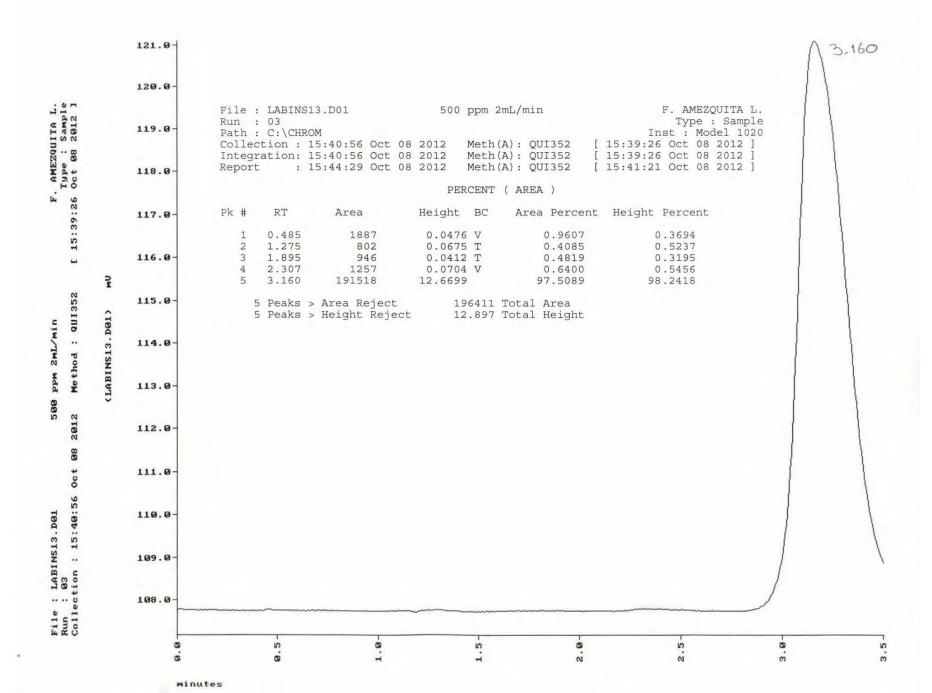
Ahora harás el estudio del efecto de la velocidad de flujo en el tiempo de retención.

Consiste en inyectar la misma muestra a diferentes velocidades. Al finalizar haz el gráfico del tiempo de retención en función del flujo.

Y para concluir llena la plantilla con los datos.



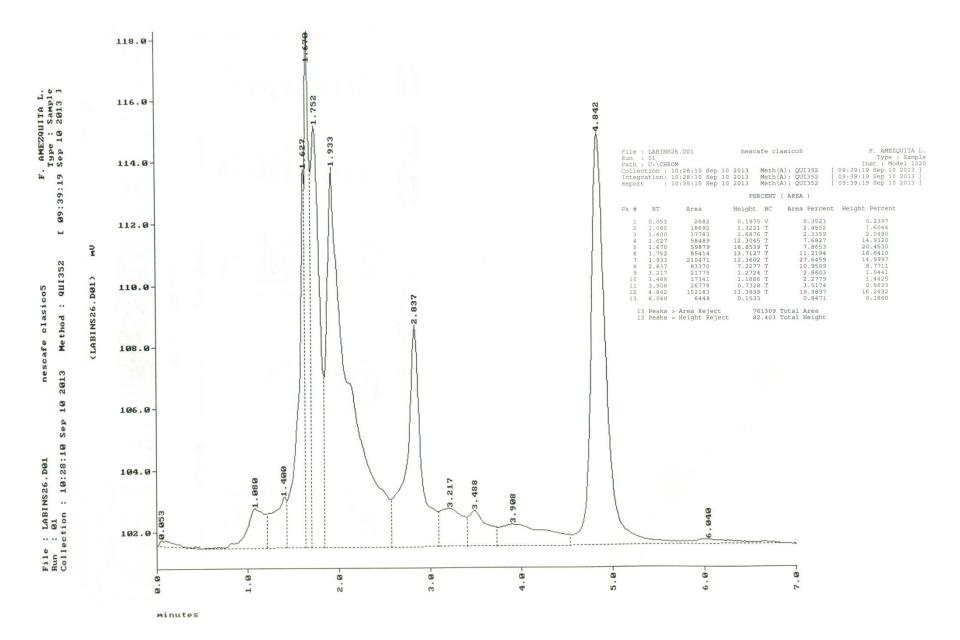




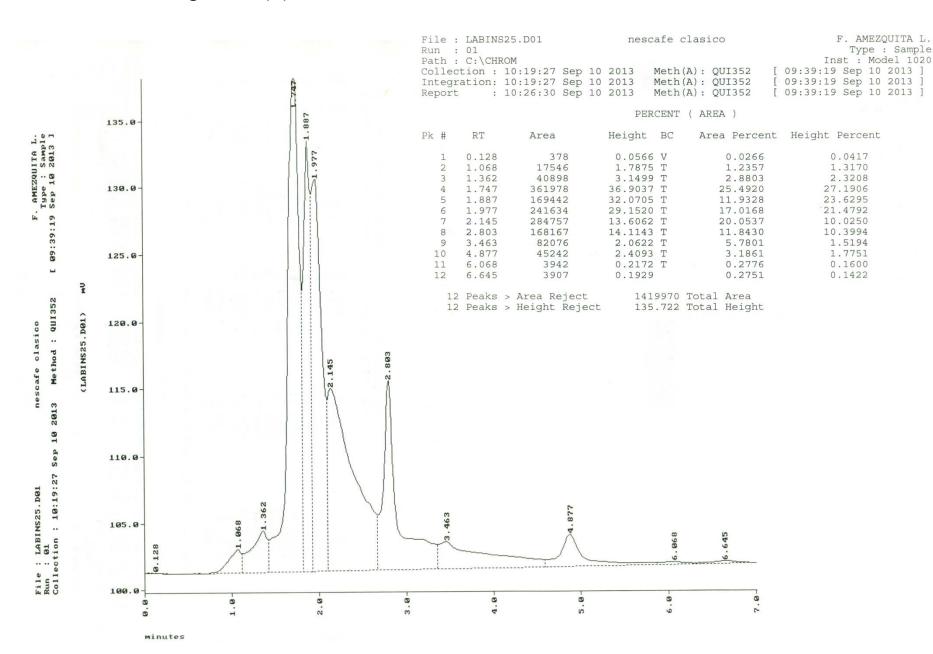
Cuarta parte:

Como una aplicación adicional se presentan dos cromatogramas de café soluble comercial de la marca Nescafé, tipo Clásico. Uno de ellos corresponde a la presentación normal y otro a Descafeinado. ¿Notas la diferencia? ¿Qué opinas? es cierto que son lo mismo según dice el comercial.

Cromatograma (a)



Cromatograma (b)



50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	300 mg/L	500 mg/L
8	8	8	8	8
10	10	10	10	10
17577	48333	95615	157890	216552
	8	8 8 10 10	8 8 8 10 10 10	8 8 8 8 10 10 10 10

Gráfico 1

		OH/Agua	a 50 %		
		y = 446,92	x + 4401,8		
210000		$R^2 = 0$,9773		-
160000			1		
110000					
60000	_				
10000	110	210	310	410	510

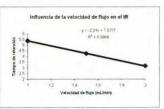
mg/L	Area
50	17577
100	48333
200	95615
300	157890
500	216552

Muestra	(Nescafé 5g/L)	Taster's choice (10 g/L)	Cafiaspirina Bayer (1:4)	Sedalmerck (1:50)	Empirina (1:4)	Andox plus (1:10)	mg de cafeina en 2 g de Nescafe	mg de cafeina en 2 g de Taster's Choice	
Atenuación	8	8	8	8	8	8	24,3024	17,3554_	
flujo mL/min	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	48,6049 8,677		
Vol. µL	10	10	10	10	10	10	48,6049 8,677		
tR (min) de la cafeina	4,263	3,83	3,625	3,792	3,953	3,805			
Área	58708	23793	82268	11220	41156	31861			
Altura	2,9673	0,7108	3,9671	0,4749	1,9571	1,4999			
% de Área	13,6658	2,271	35,0668	4,013	49,7839	4,9371			
% de Altura	13,3565	2,1272	35,5825	2,1281	46,5936	4,5662			
Concentración	121,512127	43,3885259	174,228497	15,2559742	82,2388794	61,4409738			

Muestra	Paracetamol (1:50)	Paracetamol ambar (1:50)
Atenuación	8	8
Flujo mL/min	1,5	1,5
Vol. µL	10	10
tR (min) del Paracetamol	2,237	2,188
Área	242466	60190
Altura	19,3135	4,75
% de Área	98,7606	90,3655
% de Altura	98,8132	95,468

Cafeina	1,0 mL/min	1,5 mL/min	2.0 mL/min
Atenuación	8	8	8
Vol. µL	10	10	10
tR (min) de la cafeina	5,37	4,237	3,16
Área	379072	216552	191518
Altura	13,216	9,756	12,6699
% de Área	98,8506	97,7006	97,5089
% de Altura	98,0155	98,3466	98,2418

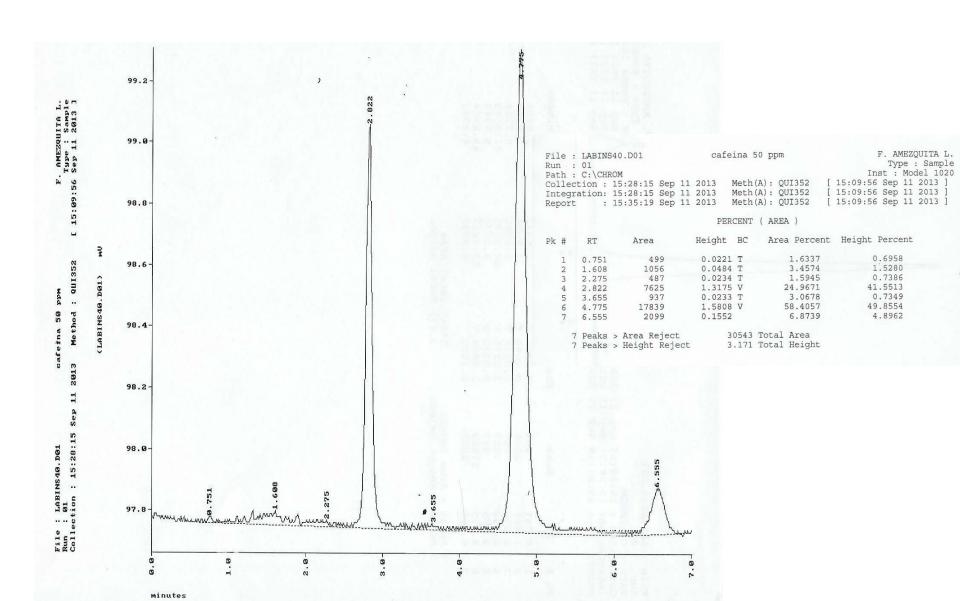
Gráfico 2

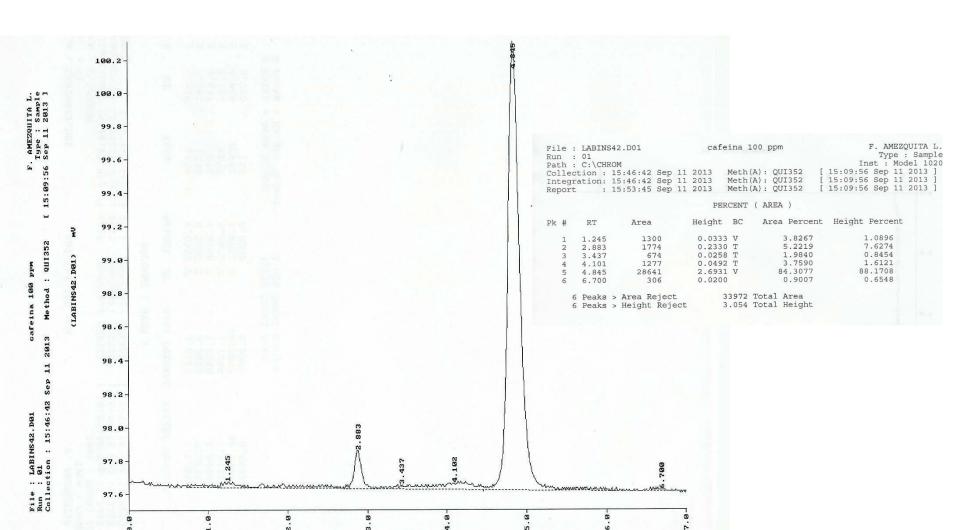


mL/min	tR
1	5,37
1,5	4,237
2	3,16
1 mL/min	7 minutos

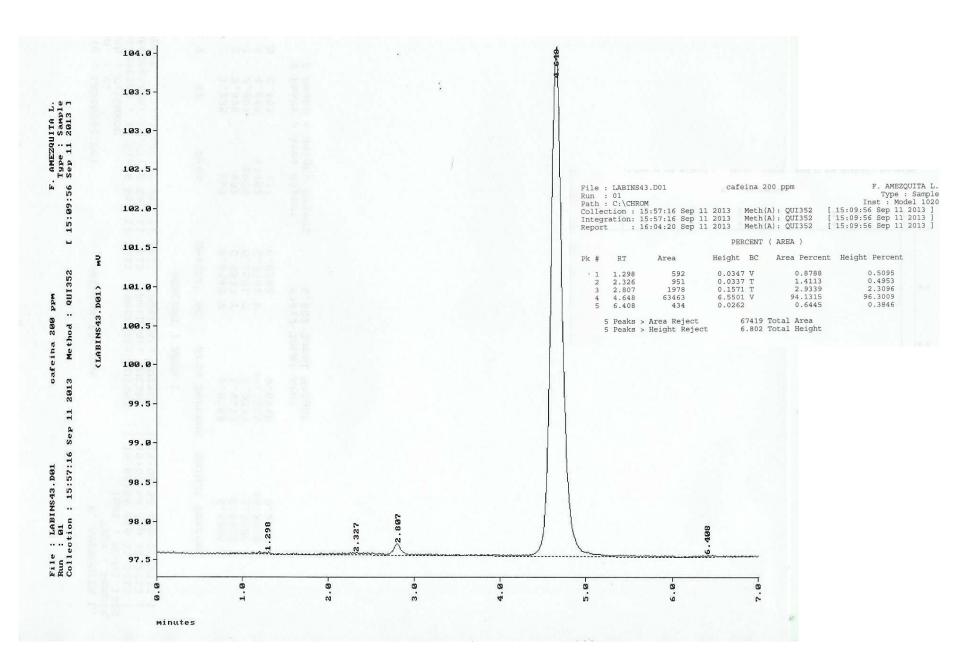
A continuación encontrarás cinco cromatogramas de cafeína que fueron obtenidos bajo las mismas características que en la primera parte, modificando solamente el flujo a 1 mL/min.

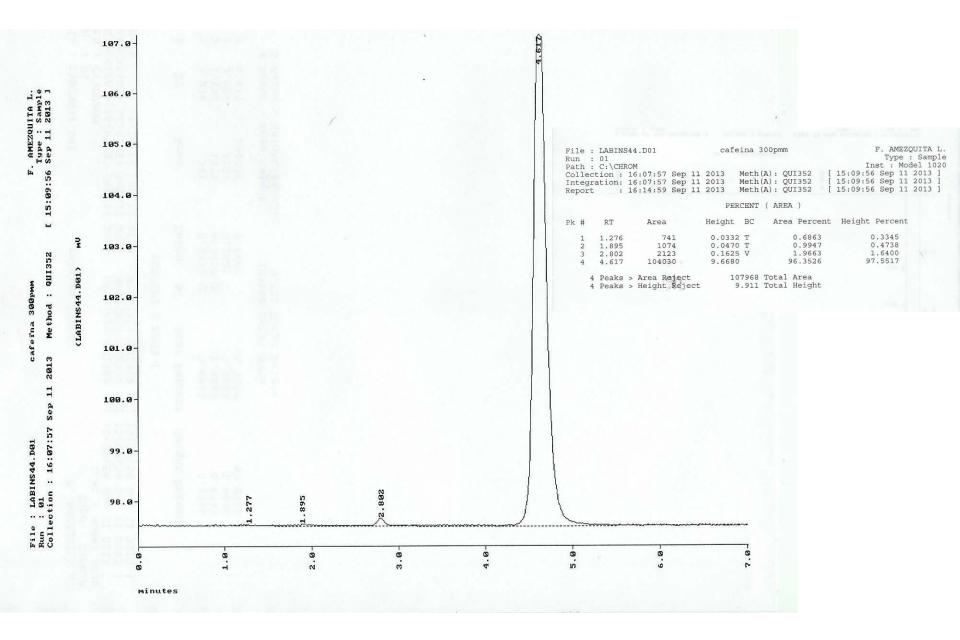
- (a)¿Te queda claro porque la elución se hizo a 7 minutos?
- (b) Anota en tus observaciones todas las diferencias que notes en ellos respecto a los de la primera parte.

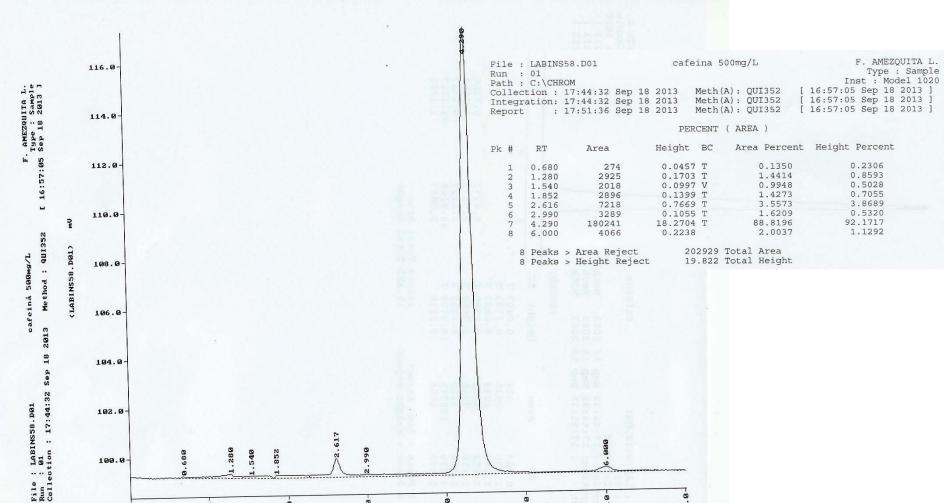




minutes







5.8

4.0

3.6

2.0

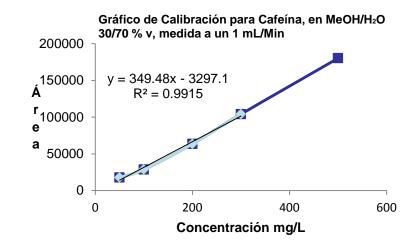
minutes

6.9

7.0

Con los datos de Área y concentración repite la curva de calibración y anota en tus observaciones lo que consideres importante al hacer el análisis de los datos.

mg/L	Área
50	17839
100	28641
200	63463
300	104030
500	180241



Ahora obtén el cromatograma a las mismas condiciones de velocidad de flujo para los medicamentos:

Andox plus a 7 min

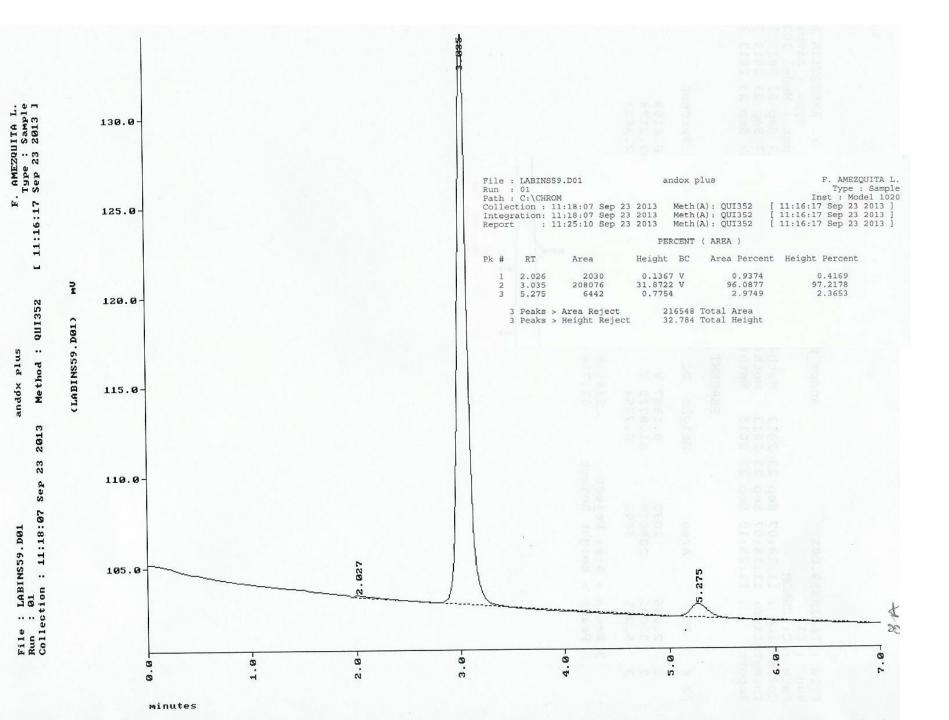
Sacidol a 7 min

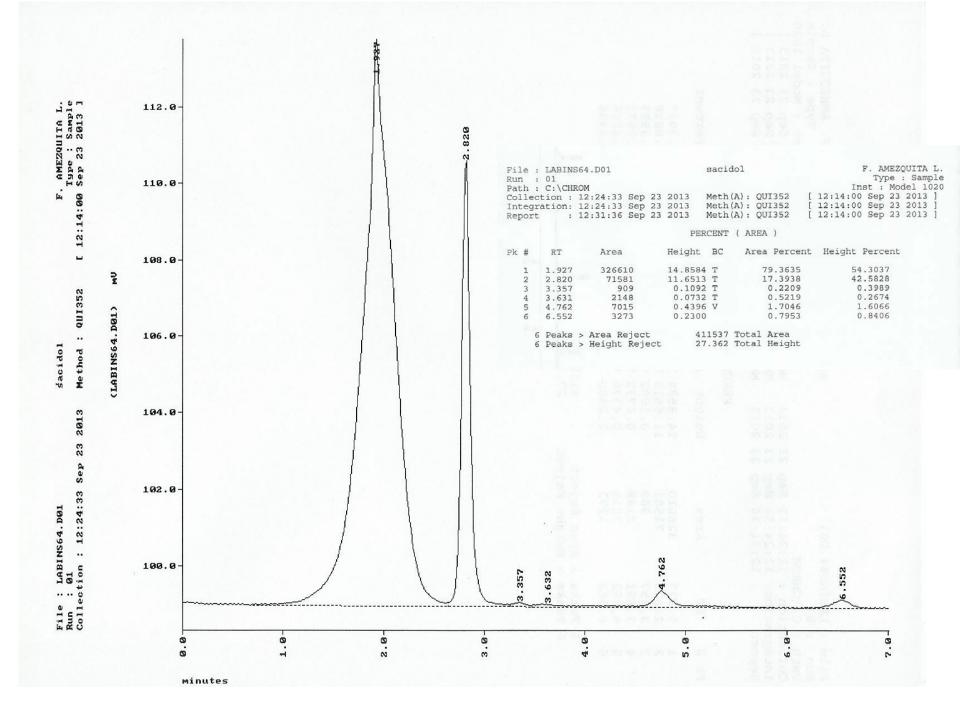
Empirina a 7 min

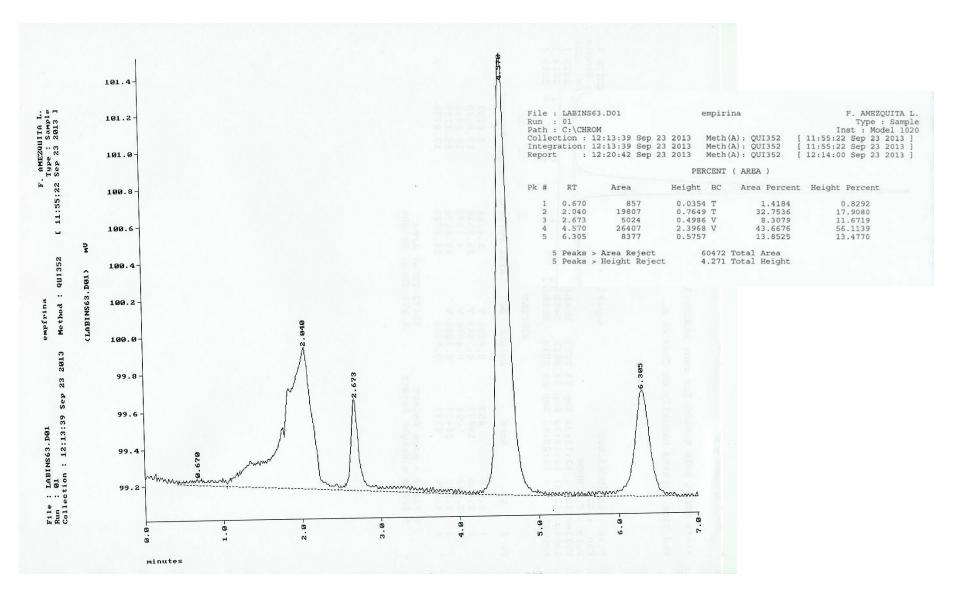
Nordinet a 15 min

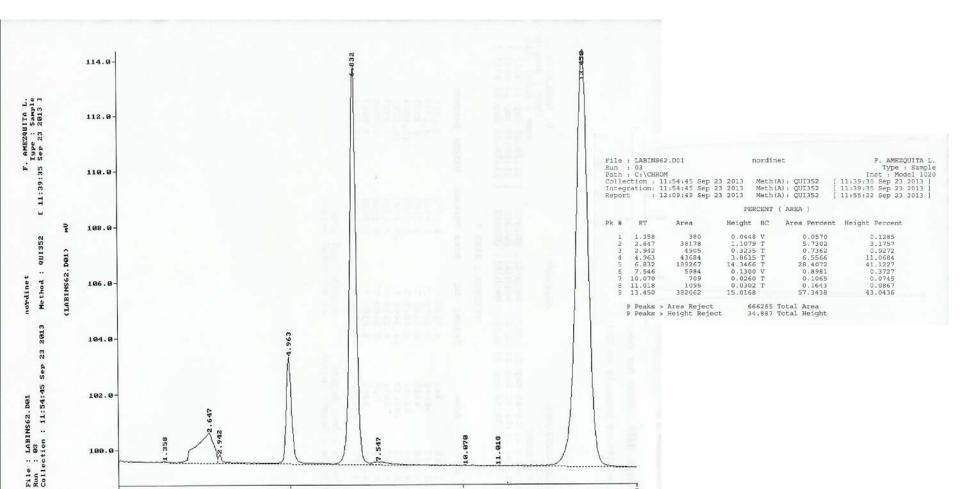
Sigue el orden propuesto. Sabiendo la formulación haz la identificación de cada constituyente en el cromatograma, el cálculo de la cafeína en cada uno y anota tus conclusiones en el manual.

¡Esperamos que hayas disfrutado la práctica!









18.8-

5.0

8.8

minutes

15.0