



UNIVERSIDAD CATÓLICA ANDRÉS BELLO

**ESTUDIO, DESARROLLO Y APLICACIÓN DE
POLÍMEROS DE IMPRONTA MOLECULAR PARA LA
DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE
POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN
CON DETECCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA (HPLC-UV)**

Beatriz Soledad

ANEXO I

Cromatogramas y espectros FT-IR

Caracas, Octubre de 2016

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	Curva de Calibración de la ampicilina entre 0 y 10 ppm.....	9
	Figura 1. Solución patrón de ampicilina 2 ppm.....	9
	Figura 2. Solución patrón de ampicilina 4 ppm.....	9
	Figura 3. Solución patrón de ampicilina 6 ppm.....	10
	Figura 4. Solución patrón de ampicilina 8 ppm.....	10
	Figura 5. Solución patrón de ampicilina 10 ppm.....	10
	Figura 6. Valores de la curva de calibración de ampicilina (Solución patrón 10 ppm).....	11
2.	Cromatogramas obtenidos para la evaluación de los polímeros de impronta molecular y no impresos.....	12
2.1	Evaluación de las porciones de extracción.....	12
	Figura 7. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 1 a.....	12
	Figura 8. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 1 b.....	12
	Figura 9. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 1 c.....	13
	Figura 10. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 1 a.....	13
	Figura 11. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 1 b.....	13
	Figura 12. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 1 c.....	14
	Figura 13. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 1 a.....	14
	Figura 14. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 1 b.....	14
	Figura 15. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 1 c.....	15
	Figura 16. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 1 a.....	15
	Figura 17. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 1 b.....	15
	Figura 18. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 1 c.....	16
	Figura 19. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 1 a.....	16
	Figura 20. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 1 b.....	16
	Figura 21. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 1 c.....	17
	Figura 22. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 1 a.....	17
	Figura 23. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 1 b.....	17
	Figura 24. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 1 c.....	17
	Figura 25. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 2 a.....	18
	Figura 26. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 2 b.....	18
	Figura 27. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 2 c.....	18
	Figura 28. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 2 a.....	19
	Figura 29. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 2 b.....	19
	Figura 30. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 2 c.....	19
	Figura 31. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 2 a.....	20
	Figura 32. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 2 b.....	20
	Figura 33. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 2 c.....	20
	Figura 34. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 2 a.....	21
	Figura 35. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 2 b.....	21
	Figura 36. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 2 c.....	21
	Figura 37. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 2 a.....	22
	Figura 38. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 2 b.....	22
	Figura 39. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 2 c.....	22
	Figura 40. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 2 a.....	23
	Figura 41. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 2 b.....	23
	Figura 42. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 2 c.....	23

Figura 43. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 1 a	24
Figura 44. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 1 b	24
Figura 45. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 1 c	24
Figura 47. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 1 a	25
Figura 48. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 1 b	25
Figura 49. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 1 c	25
Figura 50. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 1 a	26
Figura 51. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 1 b	26
Figura 52. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 1 c	26
Figura 53. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 2 a	27
Figura 54. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 2 b	27
Figura 55. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 2 c	27
Figura 56. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 2 a	28
Figura 57. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 2 b	28
Figura 58. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 2 c	28
Figura 59. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 2 a	29
Figura 60. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 2 b	29
Figura 61. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 2 c	29

2.2 Evaluación de las porciones de carga, lavado y extracción de ampicilina en los diferentes polímeros de impronta molecular estudiados y en los polímeros no impresos

Figura 62. Cromatograma obtenido para el MIP 1 carga a	30
Figura 63. Cromatograma obtenido para el MIP 1 carga b	30
Figura 64. Cromatograma obtenido para el MIP 1 carga c	30
Figura 65. Cromatograma obtenido para el NIP 1 carga a	31
Figura 66. Cromatograma obtenido para el NIP 1 carga b	31
Figura 67. Cromatograma obtenido para el NIP 1 carga c	31
Figura 68. Cromatograma obtenido para el MIP 2 carga a	32
Figura 69. Cromatograma obtenido para el MIP 2 carga b	32
Figura 70. Cromatograma obtenido para el MIP 2 carga c	32
Figura 71. Cromatograma obtenido para el NIP 2 carga a	33
Figura 72. Cromatograma obtenido para el NIP 2 carga b	33
Figura 73. Cromatograma obtenido para el NIP 2 carga c	33
Figura 74. Cromatograma obtenido para el MIP 3 carga a	33
Figura 75. Cromatograma obtenido para el MIP 3 carga b	34
Figura 76. Cromatograma obtenido para el MIP 3 carga c	34
Figura 77. Cromatograma obtenido para el NIP 3 carga a	34
Figura 78. Cromatograma obtenido para el NIP 3 carga b	35
Figura 79. Cromatograma obtenido para el NIP 3 carga c	35
Figura 80. Cromatograma obtenido para el MIP 4 carga a	35
Figura 81. Cromatograma obtenido para el MIP 4 carga b	36
Figura 82. Cromatograma obtenido para el MIP 4 carga c	36
Figura 83. Cromatograma obtenido para el MIP 5 carga a	36
Figura 84. Cromatograma obtenido para el MIP 5 carga b	37
Figura 85. Cromatograma obtenido para el MIP 5 carga c	37
Figura 86. Cromatograma obtenido para el MIP 6 carga a	37
Figura 87. Cromatograma obtenido para el MIP 6 carga b	38
Figura 88. Cromatograma obtenido para el MIP 6 carga c	38
Figura 89. Cromatograma obtenido para el MIP 1 lavado a	38
Figura 90. Cromatograma obtenido para el MIP 1 lavado b	39
Figura 91. Cromatograma obtenido para el MIP 1 lavado c	39
Figura 92. Cromatograma obtenido para el NIP 1 lavado a	39

Figura 93. Cromatograma obtenido para el NIP 1 lavado b	40
Figura 94. Cromatograma obtenido para el NIP 1 lavado c	40
Figura 95. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado a	40
Figura 96. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado b	41
Figura 97. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado c.....	41
Figura 98. Cromatograma obtenido para el NIP 2 lavado a.....	41
Figura 99. Cromatograma obtenido para el NIP 2 lavado b.....	42
Figura 100. Cromatograma obtenido para el NIP 2 lavado c	42
Figura 101. Cromatograma obtenido para el MIP 3 lavado a	42
Figura 102. Cromatograma obtenido para el MIP 3 lavado b	43
Figura 103. Cromatograma obtenido para el MIP 3 lavado c.....	43
Figura 104. Cromatograma obtenido para el NIP 3 lavado a.....	43
Figura 105. Cromatograma obtenido para el NIP 3 lavado b.....	44
Figura 106. Cromatograma obtenido para el NIP 3 lavado c.....	44
Figura 107. Cromatograma obtenido para el MIP 4 lavado a	44
Figura 108. Cromatograma obtenido para el MIP 4 lavado b	45
Figura 109. Cromatograma obtenido para el MIP 4 lavado c.....	45
Figura 110. Cromatograma obtenido para el MIP 5 lavado a	45
Figura 111. Cromatograma obtenido para el MIP 5 lavado b	46
Figura 112. Cromatograma obtenido para el MIP 5 lavado c.....	46
Figura 113. Cromatograma obtenido para el MIP 6 lavado a	46
Figura 114. Cromatograma obtenido para el MIP 6 lavado b	47
Figura 115. Cromatograma obtenido para el MIP 6 lavado c.....	47
Figura 116. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción a.....	47
Figura 117. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción b.....	48
Figura 118. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción c.....	48
Figura 119. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción a	48
Figura 120. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción b	49
Figura 121. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción c	49
Figura 122. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción a.....	49
Figura 123. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción b.....	50
Figura 124. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción c.....	50
Figura 125. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción a	50
Figura 126. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción b	51
Figura 127. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción c	51
Figura 128. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción a.....	51
Figura 129. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción b.....	52
Figura 130. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción c.....	52
Figura 131. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción a	52
Figura 132. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción b	53
Figura 133. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción c	53
Figura 134. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción a.....	53
Figura 135. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción b.....	54
Figura 136. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción c.....	54
Figura 137. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción a.....	54
Figura 138. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción b.....	55
Figura 139. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción c.....	55
Figura 140. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción a.....	55
Figura 141. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción b.....	56
Figura 142. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción c.....	56
3. Cromatogramas de la ampicilina variando la longitud de onda	57

Figura 143. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 230 nm.....	57
Figura 144. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 235 nm.....	57
Figura 145. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 240 nm.....	57
Figura 146. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 245 nm.....	58
Figura 147. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 250 nm.....	58
Figura 148. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 254 nm.....	58
Figura 149. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 255 nm.....	59
Figura 150. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 260 nm.....	59
Figura 151. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 265 nm.....	59
Figura 152. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 270 nm.....	60
 4. Espectros FT-IR de los polímeros bajo estudio.....	 62
Figura 153. Espectro FT-IR del MIP 1 sin lavar	62
Figura 154. Espectro FT-IR del MIP 2 sin lavar	62
Figura 155. Espectro FT-IR del MIP 3 sin lavar	63
Figura 156. Espectro FT-IR del MIP 4 sin lavar	63
Figura 157. Espectro FT-IR del MIP 5 sin lavar	64
Figura 158. Espectro FT-IR del MIP 6 sin lavar	64
Figura 159. Espectro FT-IR del MIP 1 lavado.....	65
Figura 160. Espectro FT-IR del MIP 2 lavado.....	65
Figura 161. Espectro FT-IR del MIP 3 lavado.....	66
Figura 162. Espectro FT-IR del MIP 4 lavado.....	66
Figura 163. Espectro FT-IR del MIP 5 lavado.....	67
Figura 164. Espectro FT-IR del MIP 6 lavado.....	67
Figura 165. Espectro FT-IR del NIP 1	68
Figura 166. Espectro FT-IR del NIP 2	68
Figura 167. Espectro FT-IR del NIP 3	69
Figura 168. Espectro FT-IR del NIP 4	69
Figura 169. Espectro FT-IR del NIP 5	70
Figura 170. Espectro FT-IR del NIP 6	70
 5. Cromatogramas obtenidos en el desarrollo de un sistema de extracción de ampicilina en leche de vaca utilizando polímeros de impronta molecular	 71
5.1 Precipitación de proteínas.....	71
Figura 171. Cromatograma obtenido de precipitación de proteínas con ácido acético 1 N.....	71
Figura 172. Cromatograma obtenido de precipitación de proteínas con 0,5 mL ácido acético 1 N.....	71
Figura 173. Cromatograma obtenido después de la precipitación de proteínas con acetonitrilo (a) y (b)	72
Figura 174. Cromatograma obtenido después de la precipitación de proteínas con mezcla de ácido acético: acetonitrilo (2:8 v/v) (a) y (b)	72
5.2 Extracción de la grasa.....	73
Figura 175. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa con hidróxido de sodio 0.5 M (a) y (b).....	73
Figura 176. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa con frío (a) y (b) ..	73
Figura 177. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa combinada con precipitación de proteínas y evaporación de la muestra con calor a 40 °C.....	74
Figura 178. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa combinada con precipitación de proteínas y adición de cloroformo.....	74

Figura 179. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa combinada con precipitación de proteínas con ácido acético 1 N	74
6. Adición de patrón o (estándar) (5 gramos de leche)	75
Figura 180. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 2 ppm.....	75
Figura 181. Cromatograma obtenido para el blanco (a) y (b)	75
Figura 182. Cromatograma obtenido para el eluato + 1 mL ampicilina 2 ppm (a) y (b).....	76
Figura 183. Cromatograma obtenido para leche con 1 mL ampicilina 2 ppm. (a) y (b).....	76
Figura 184. Cromatograma obtenido para leche con 1 mL ampicilina 2 ppm + 1 mL de ampicilina 2 ppm (a).....	77
Figura 185. Cromatograma obtenido para leche con 1 mL ampicilina 2 ppm + 1 mL de ampicilina 2 ppm (b).....	77
7. Curva de Calibración de la ampicilina entre 0 y 500 ppb.....	78
Figura 186. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 100 ppb.....	78
Figura 187. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 200 ppb.....	78
Figura 188. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 300 ppb.....	79
Figura 189. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 400 ppb.....	79
Figura 190. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 500 ppb.....	80
Figura 191. Resultados de la curva de calibración	80
8. Análisis cromatográfico de las soluciones provenientes de la extracción del cartucho MISPE con la solución patrón de ampicilina	81
8.1 Leche con ampicilina en concentración de 4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	81
Figura 192. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (a)	81
Figura 193. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (b)	81
Figura 194. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (c)	81
Figura 195. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (d)	82
Figura 196. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (e)	82
8.2 Leche con AMP en concentración de 3,2 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	83
Figura 197. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (a)	83
Figura 198. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (b)	83
Figura 199. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (c)	83
Figura 200. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (d)	84
Figura 201. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (e)	84
8.3 Leche con AMP en concentración de 4,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	85
Figura 202. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (a)	85
Figura 203. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (b)	85
Figura 204. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (c)	85
Figura 205. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (d)	86
Figura 206. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (e)	86

9. Cromatogramas obtenidos en la evaluación de la selectividad de los polímeros de impronta molecular frente a la amoxicilina, oxacilina y penicilina G.....	87
9.1 Curva de calibración de la amoxicilina.....	87
Figura 207. Solución patrón de amoxicilina 2 ppm	87
Figura 208. Solución patrón de amoxicilina 4 ppm	87
Figura 209. Solución patrón de amoxicilina 6 ppm	87
Figura 210. Solución patrón de amoxicilina 8 ppm	88
Figura 211. Solución patrón de amoxicilina 10 ppm	88
9.2 Curva de calibración de la oxacilina	89
Figura 212. Solución patrón de oxacilina 2 ppm.....	89
Figura 213. Solución patrón de oxacilina 4 ppm.....	89
Figura 214. Solución patrón de oxacilina 6 ppm.....	89
Figura 215. Solución patrón de oxacilina 8 ppm.....	90
Figura 216. Solución patrón de oxacilina 10 ppm.....	90
9.3 Curva de calibración de la penicilina G sódica	91
Figura 217. Solución patrón de penicilina G sódica 2 ppm	91
Figura 218. Solución patrón de penicilina G sódica 4 ppm	91
Figura 219. Solución patrón de penicilina G sódica 6 ppm	91
Figura 220. Solución patrón de penicilina G sódica 8 ppm	92
Figura 221. Solución patrón de penicilina G sódica 10 ppm	92
9.4 Mezcla de antibióticos	93
Figura 222. Cromatograma de la mezcla de antibióticos extracción a.....	93
Figura 223. Cromatograma de la mezcla de antibióticos extracción b	93
Figura 224. Cromatograma de la mezcla de antibióticos extracción c	93

1. Curva de Calibración de la ampicilina entre 0 y 10 ppm

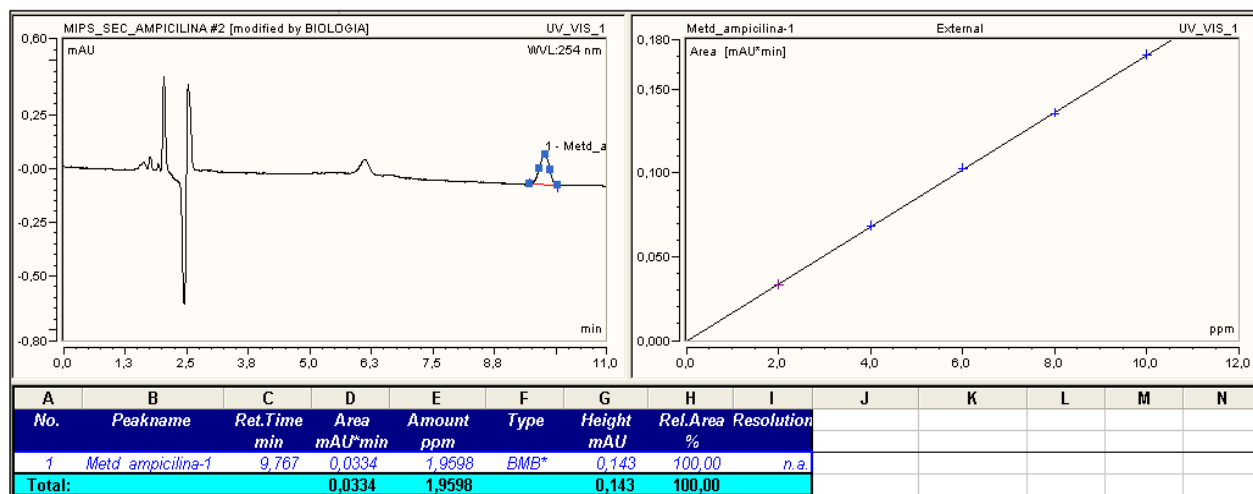


Figura 1. Solución patrón de ampicilina 2 ppm

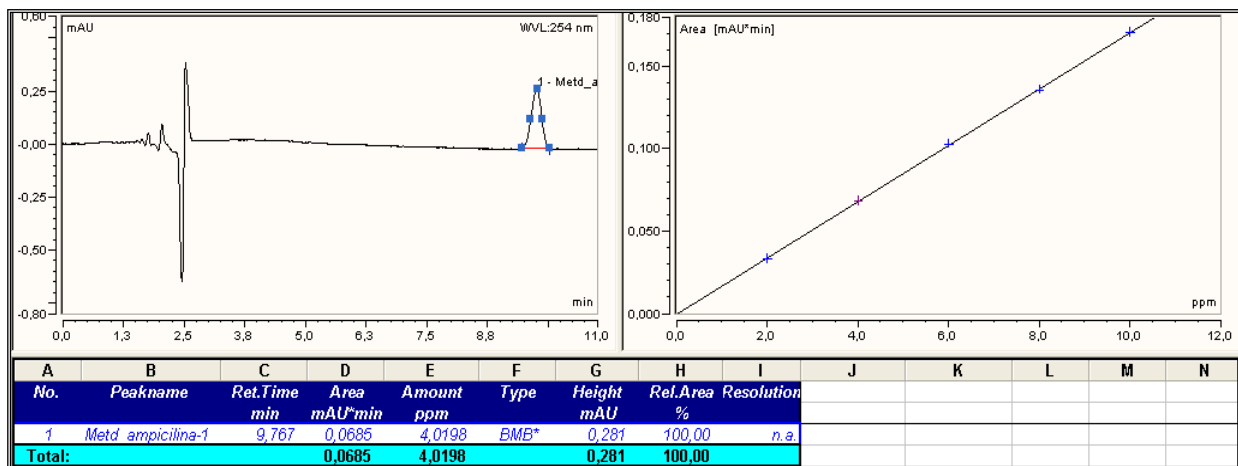


Figura 2. Solución patrón de ampicilina 4 ppm

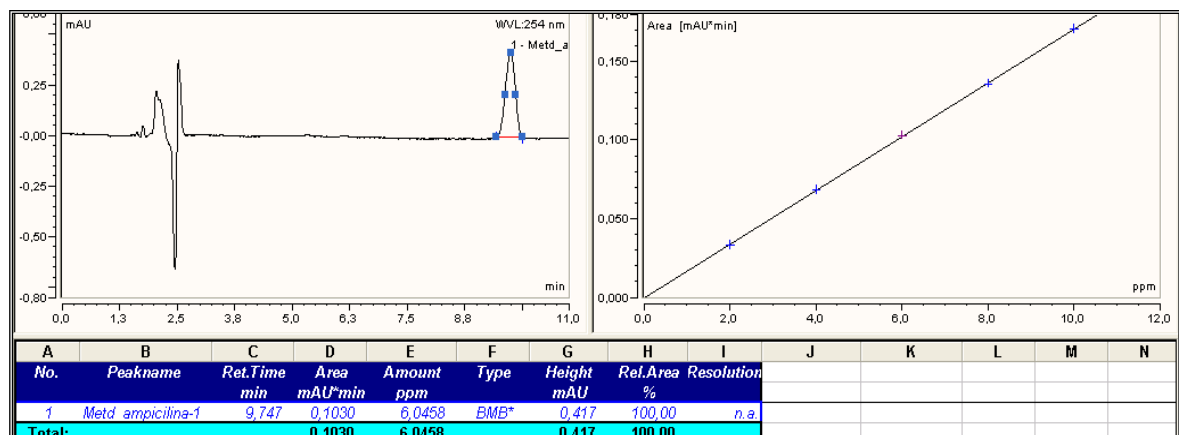


Figura 3. Solución patrón de ampicilina 6 ppm

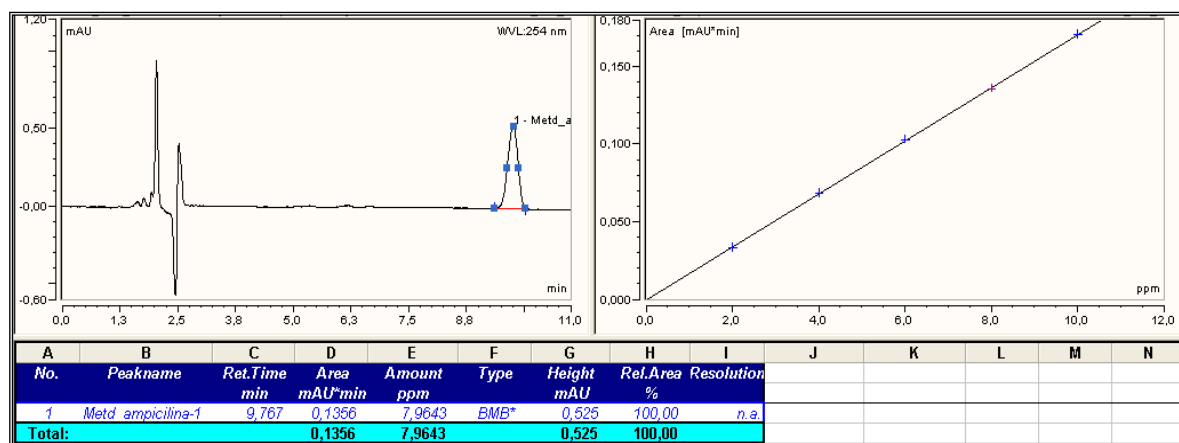


Figura 4. Solución patrón de ampicilina 8 ppm

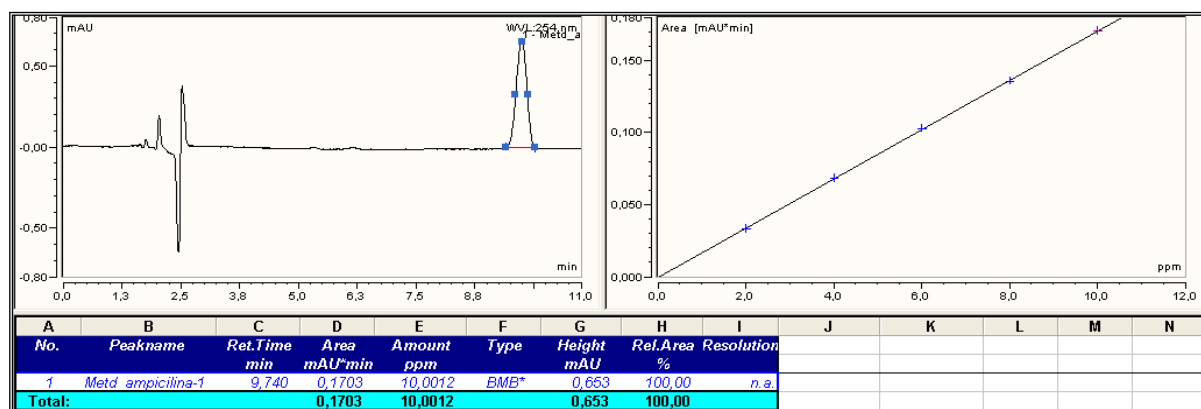


Figura 5. Solución patrón de ampicilina 10 ppm

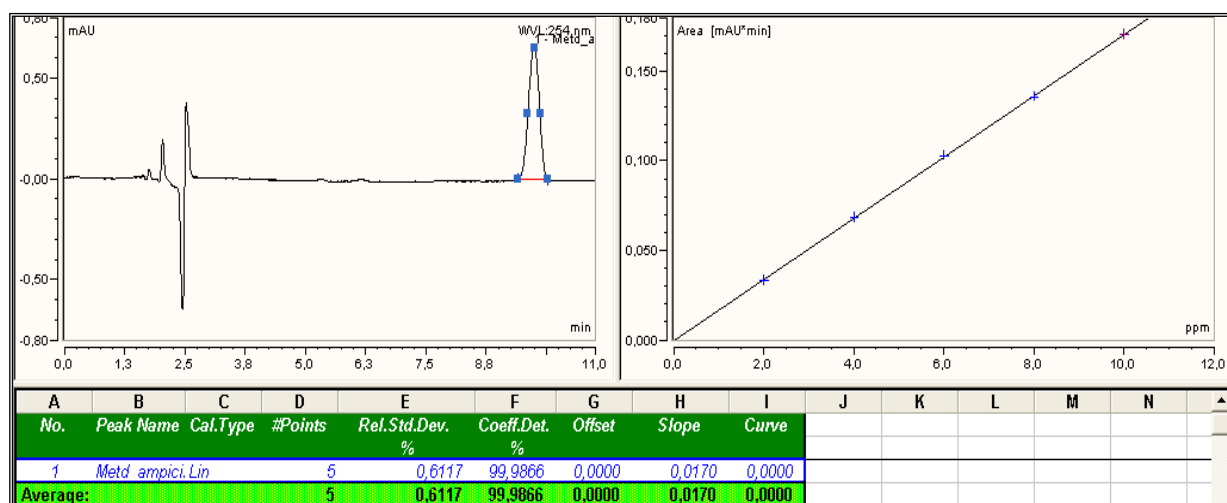


Figura 6. Valores de la curva de calibración de ampicilina (Solución patrón 10 ppm)

2. Cromatogramas obtenidos para la evaluación de los polímeros de impronta molecular y no impresos

2.1 Evaluación de las porciones de extracción

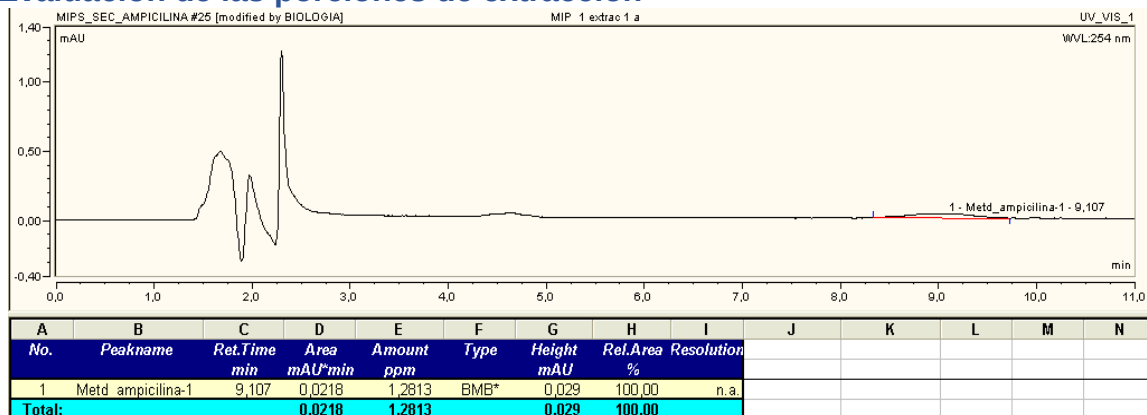


Figura 7. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 1 a

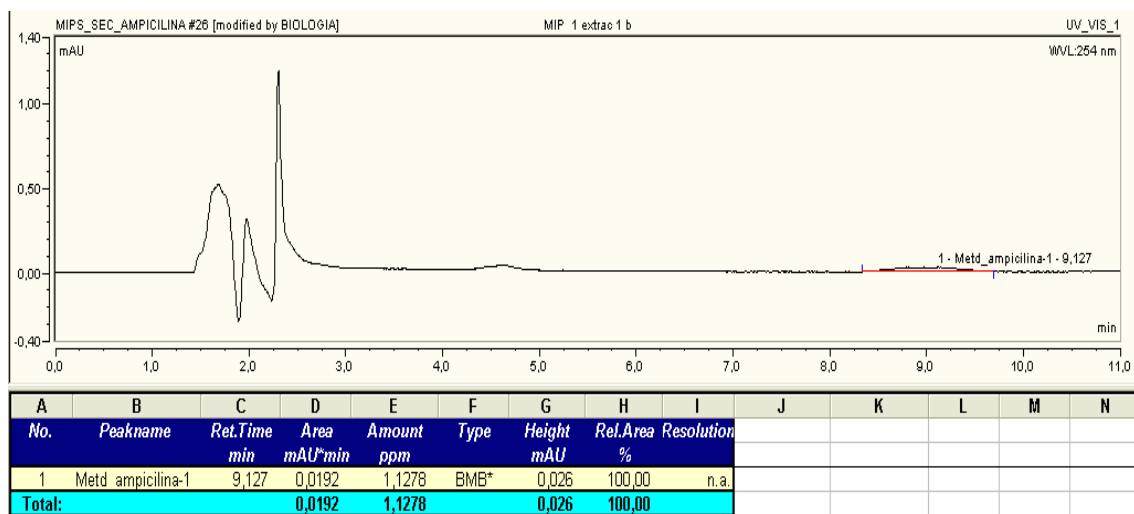


Figura 8. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 1 b

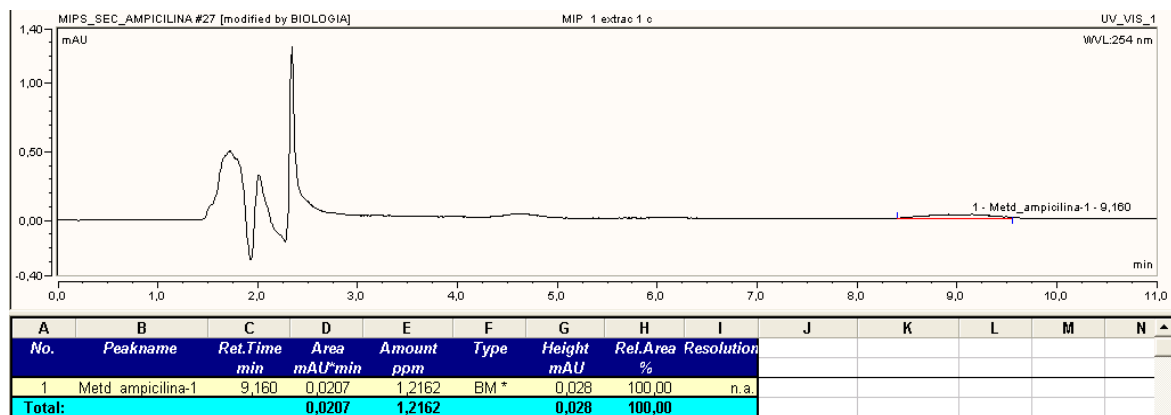


Figura 9. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 1 c

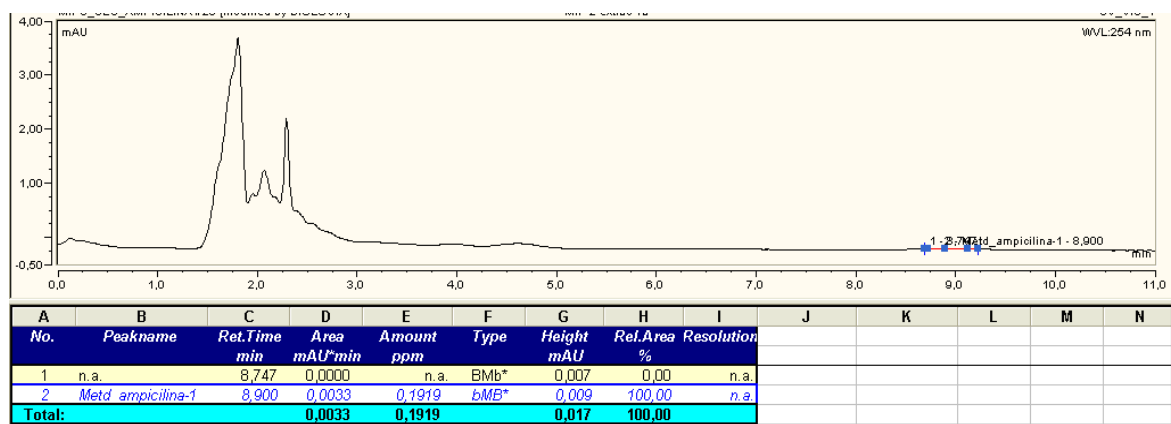


Figura 10. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 1 a

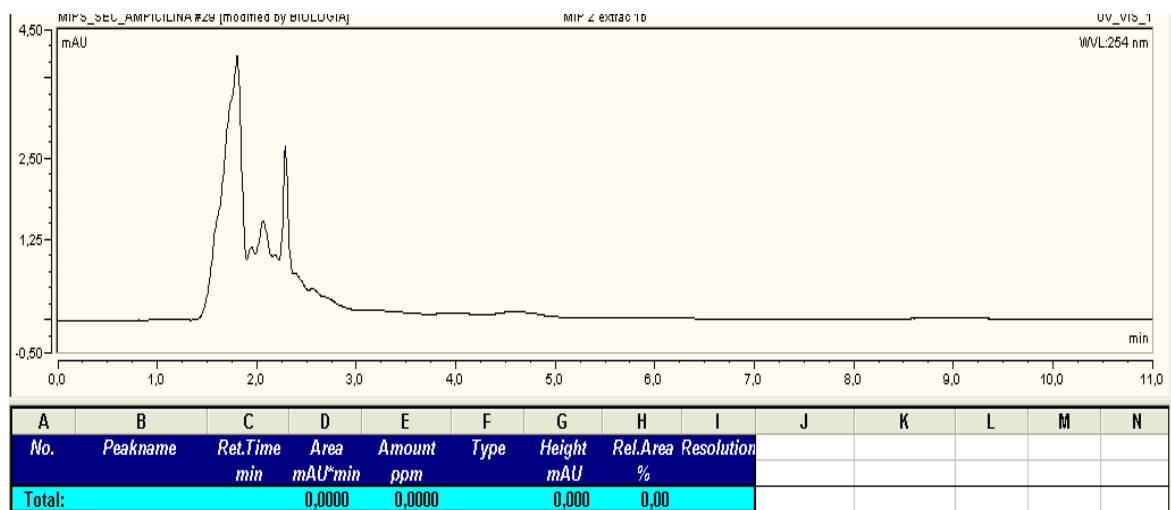


Figura 11. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 1 b

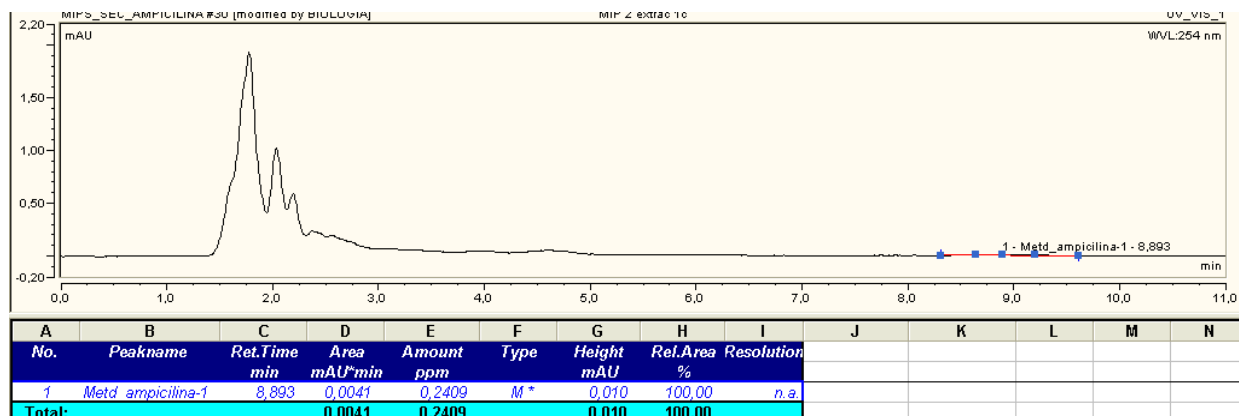


Figura 12. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 1 c

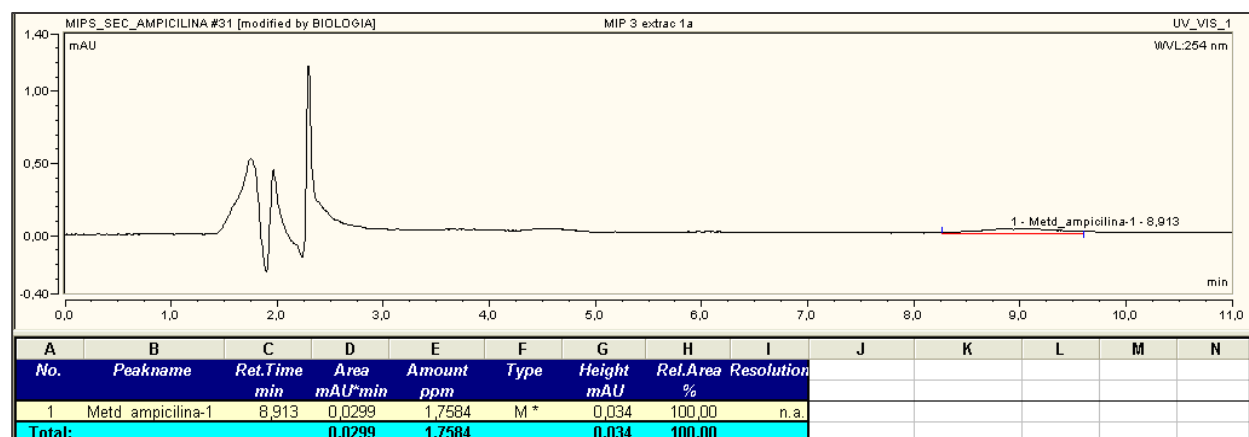


Figura 13. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 1 a

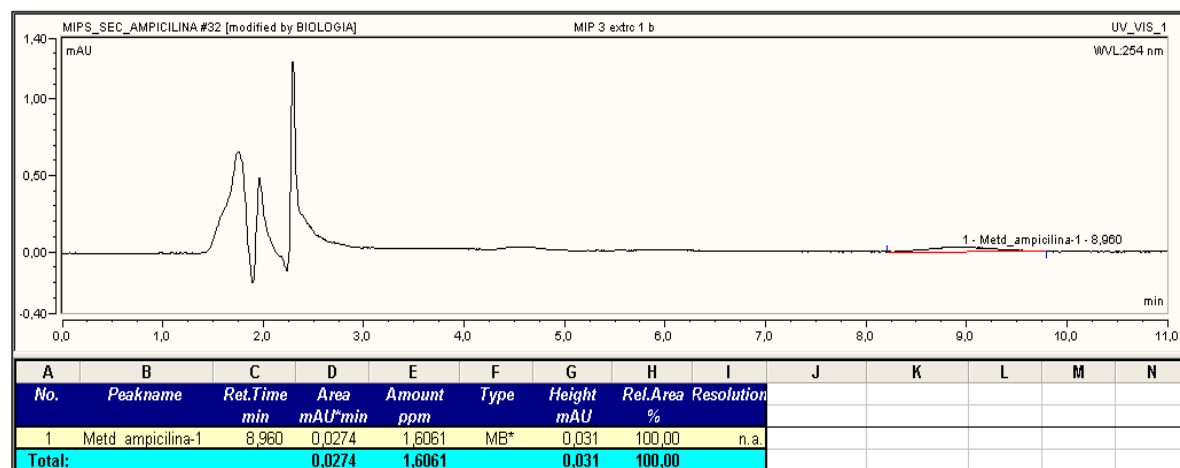


Figura 14. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 1 b

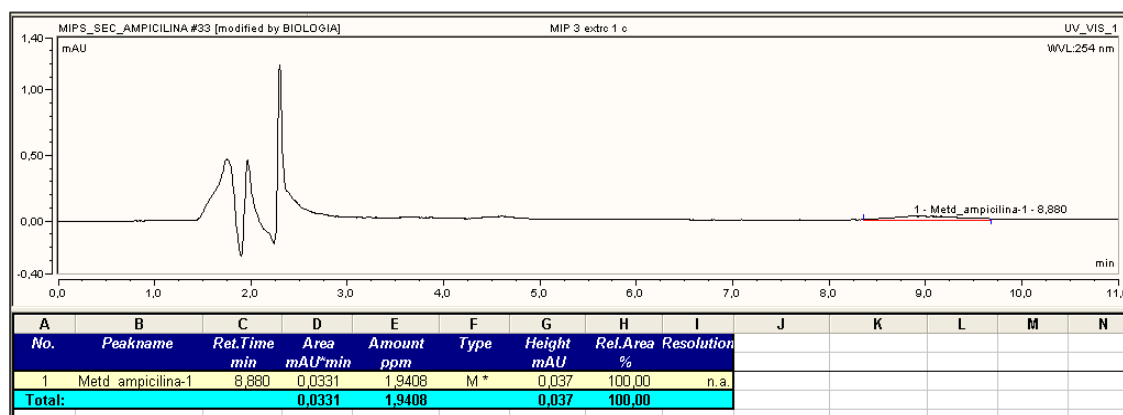


Figura 15. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 1 c

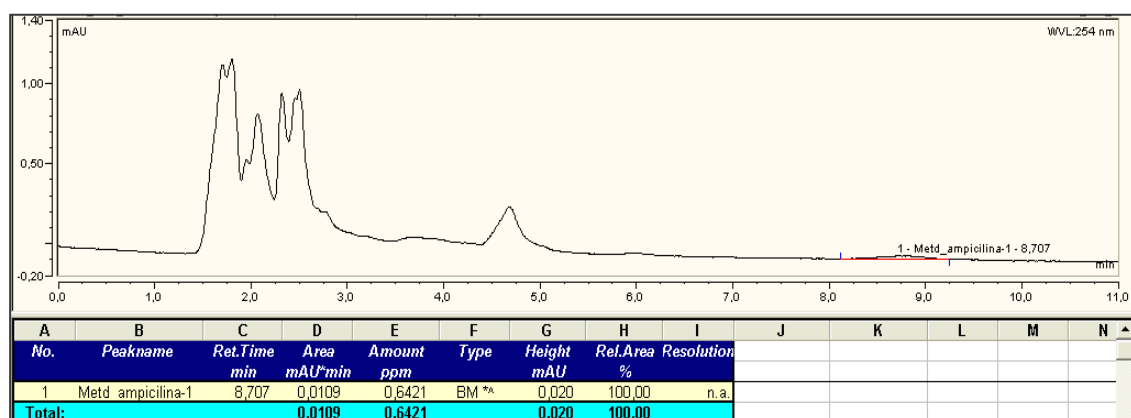


Figura 16. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 1 a

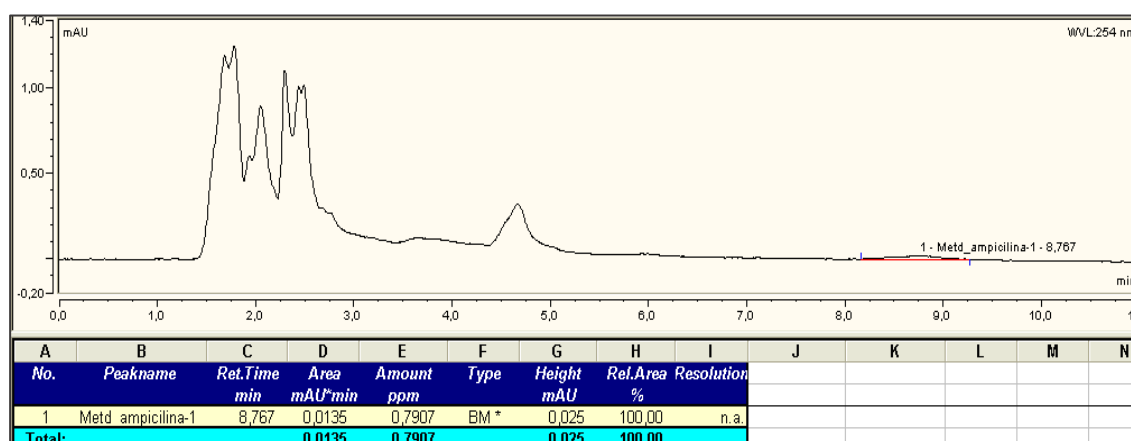


Figura 17. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 1 b

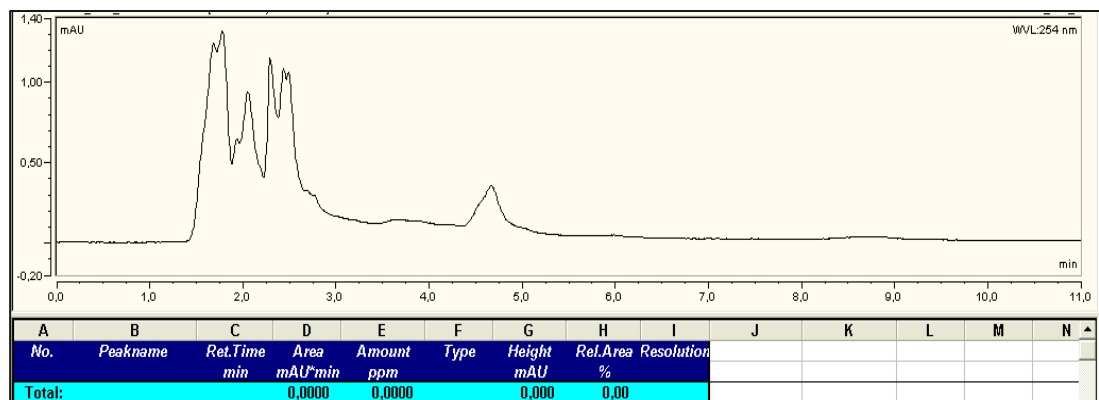


Figura 18. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 1 c

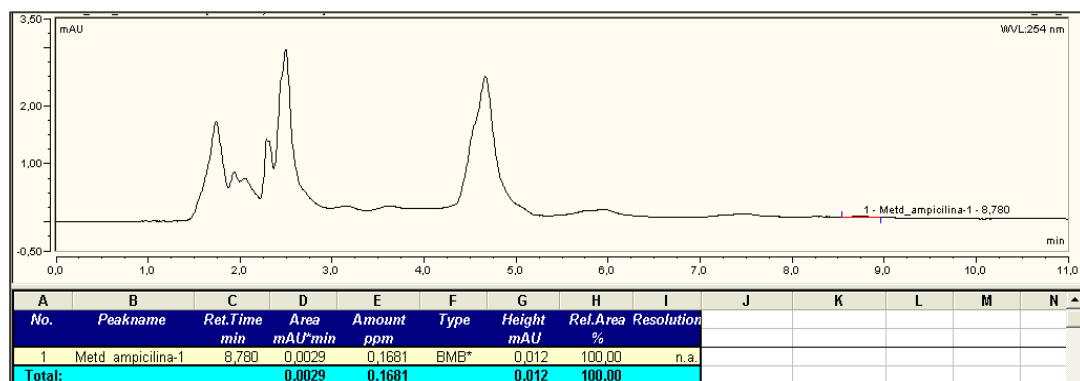


Figura 19. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 1 a

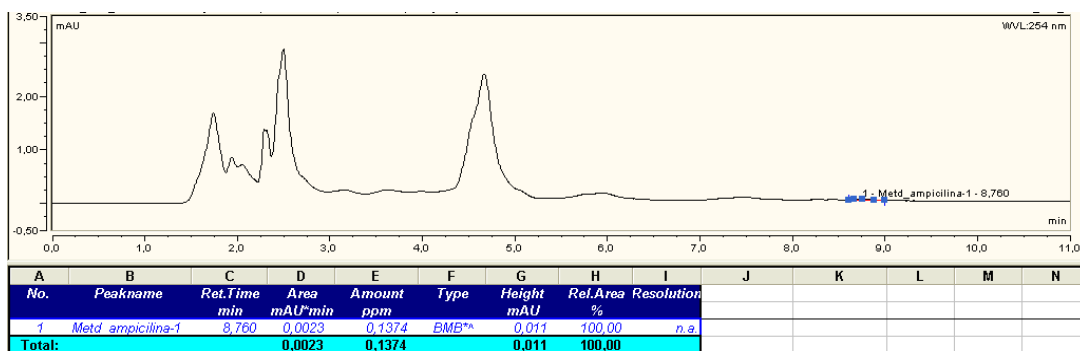


Figura 20. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 1 b

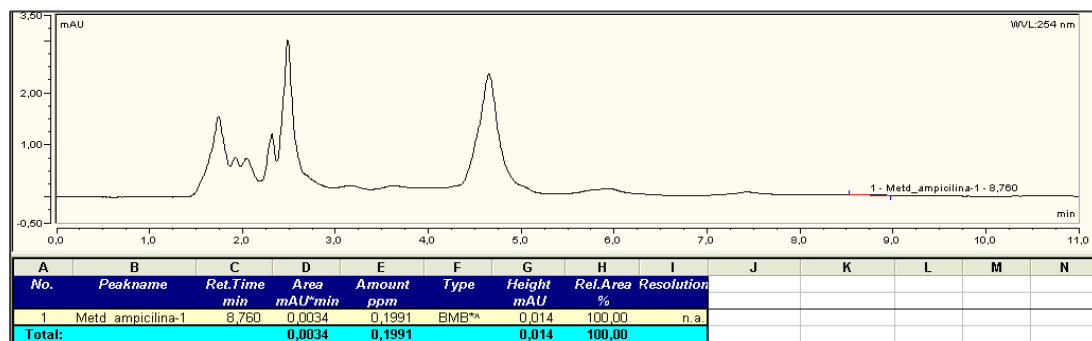


Figura 21. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 1 c

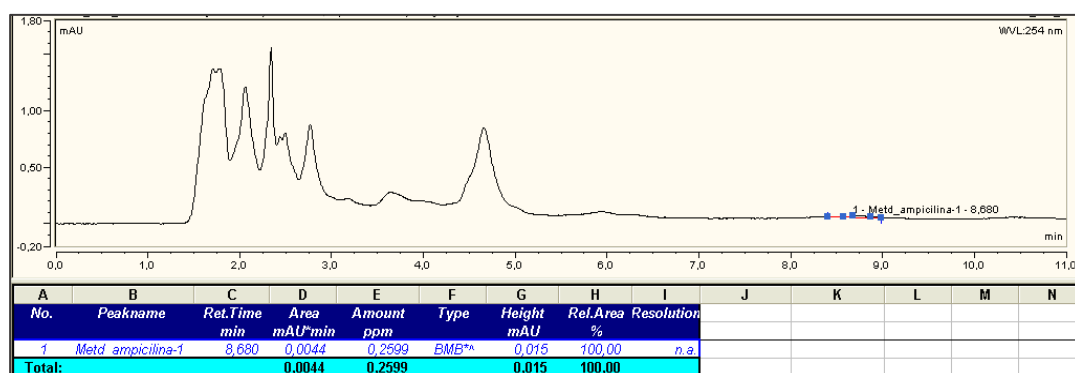


Figura 22. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 1 a

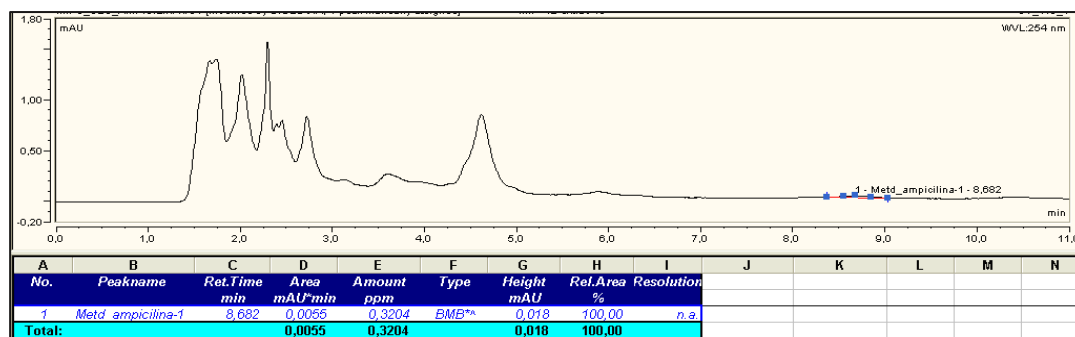


Figura 23. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 1 b

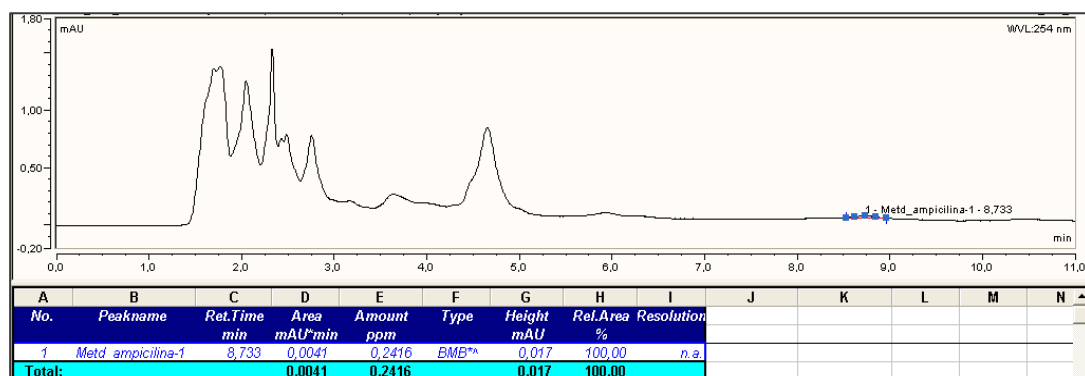


Figura 24. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 1 c

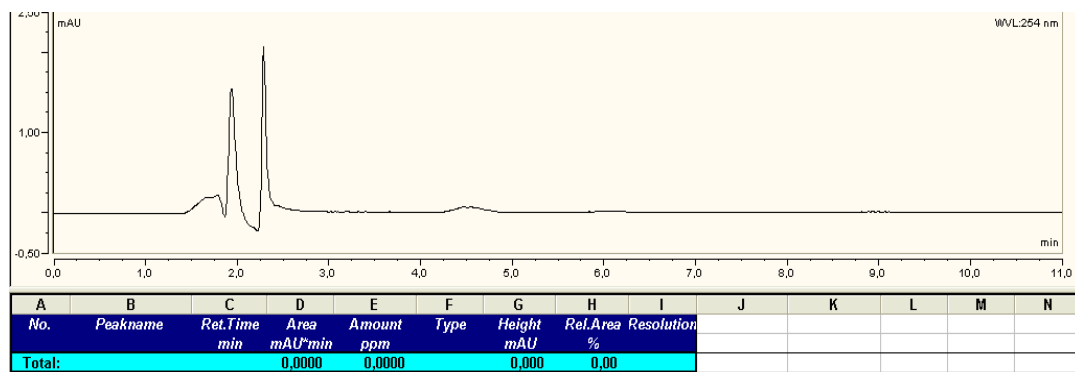


Figura 25. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 2 a

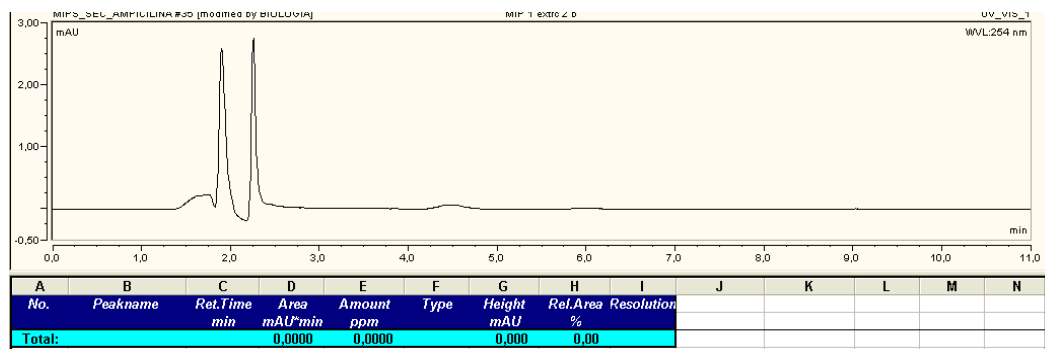


Figura 26. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 2 b

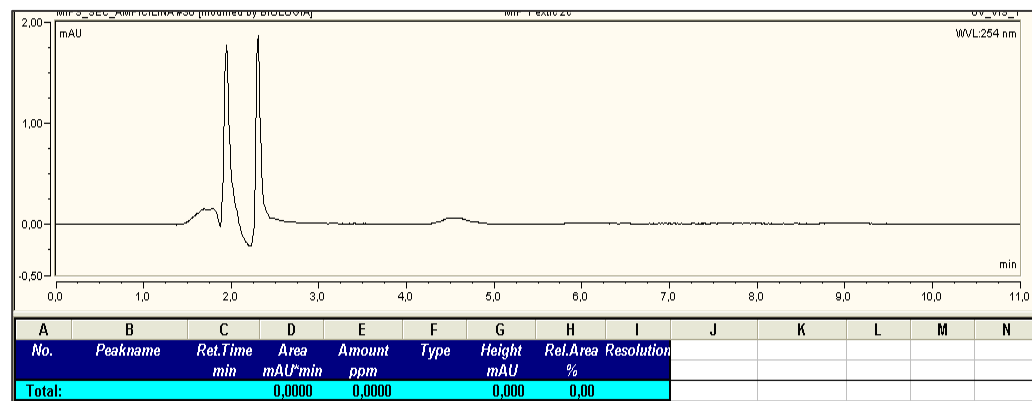


Figura 27. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción 2 c

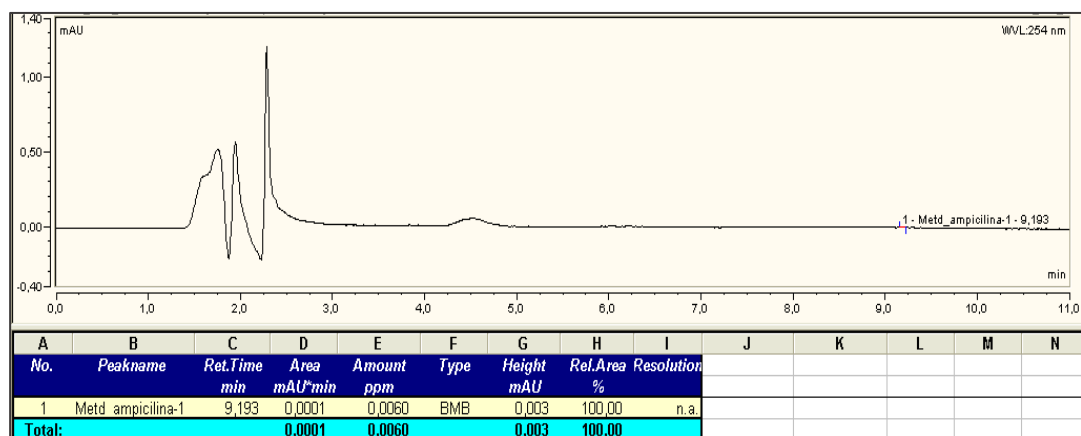


Figura 28. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 2 a

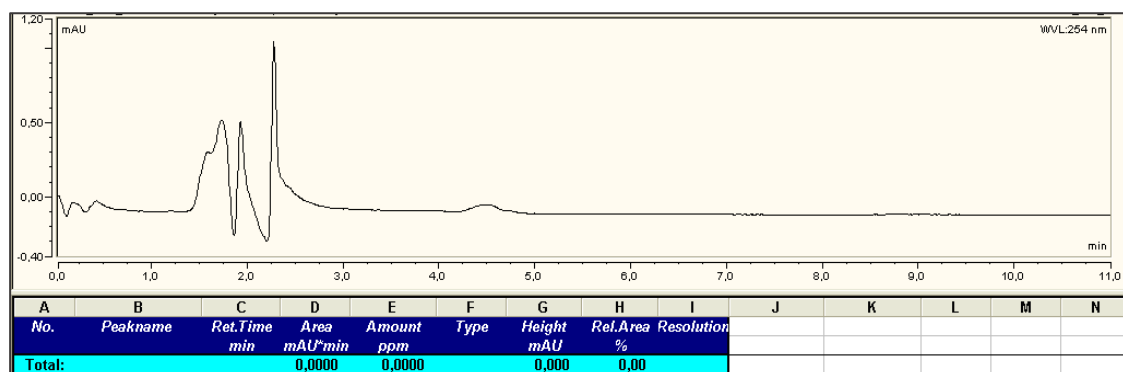


Figura 29. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 2 b

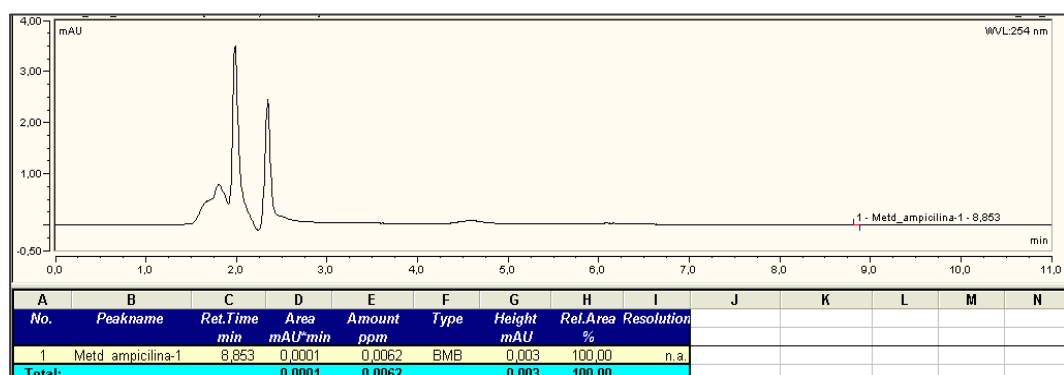


Figura 30. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción 2 c

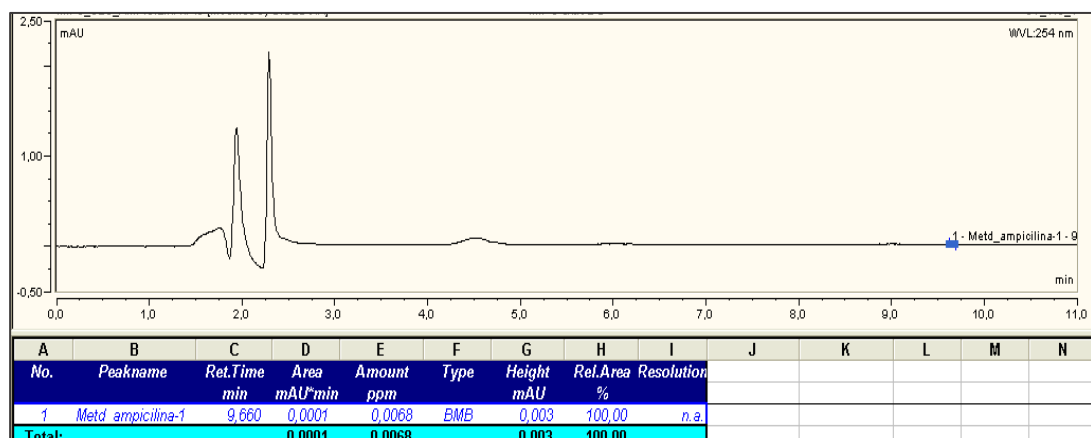


Figura 31. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 2 a

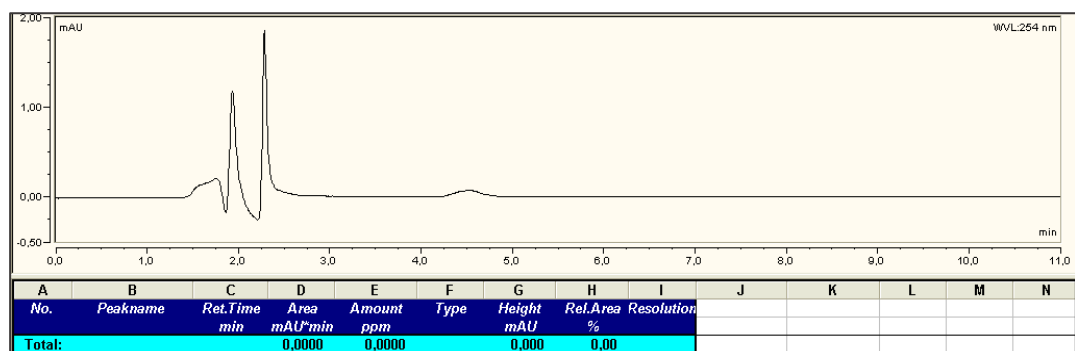


Figura 32. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 2 b

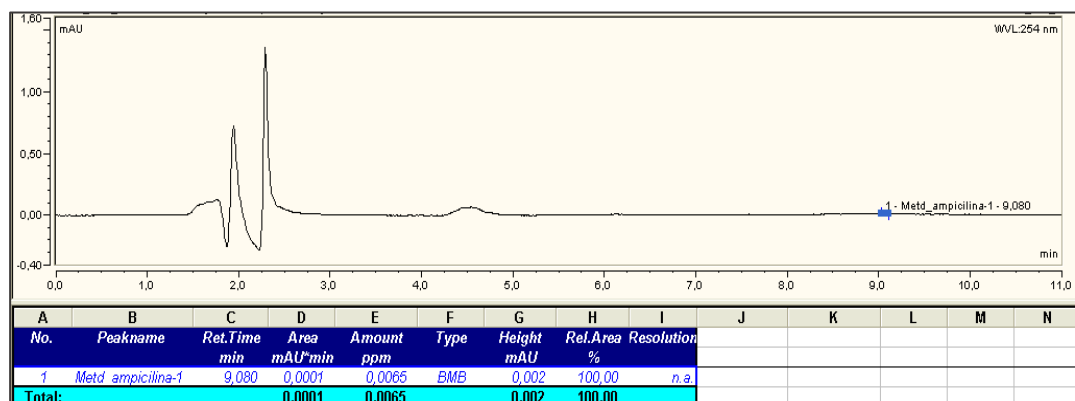


Figura 33. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción 2 c

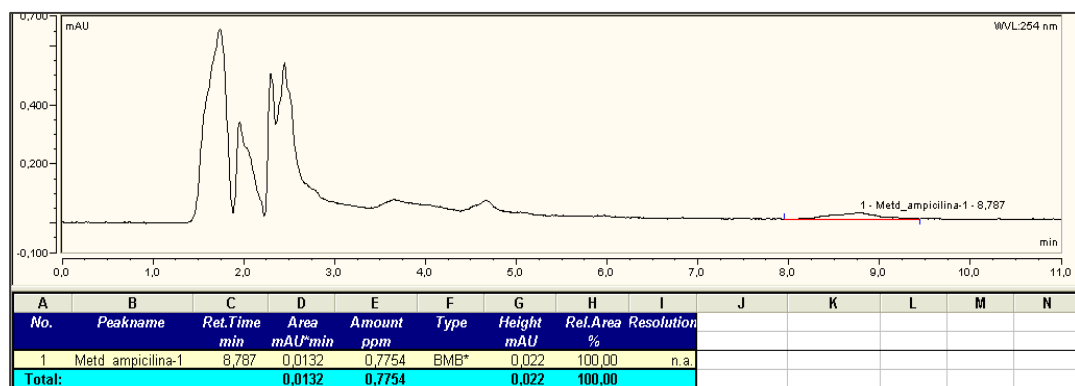


Figura 34. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 2 a

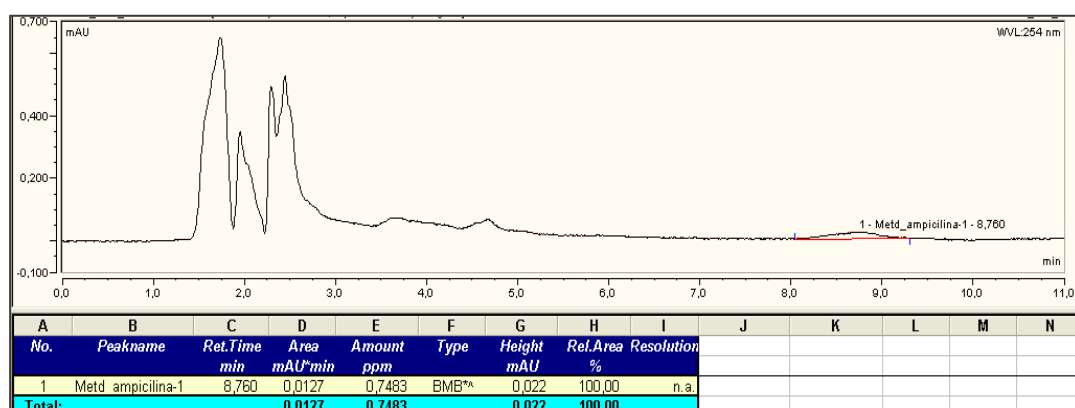


Figura 35. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 2 b

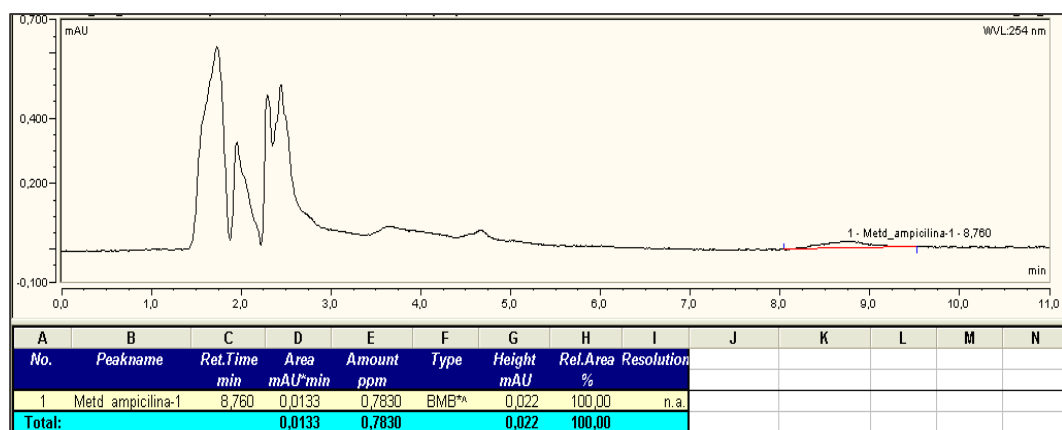


Figura 36. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción 2 c

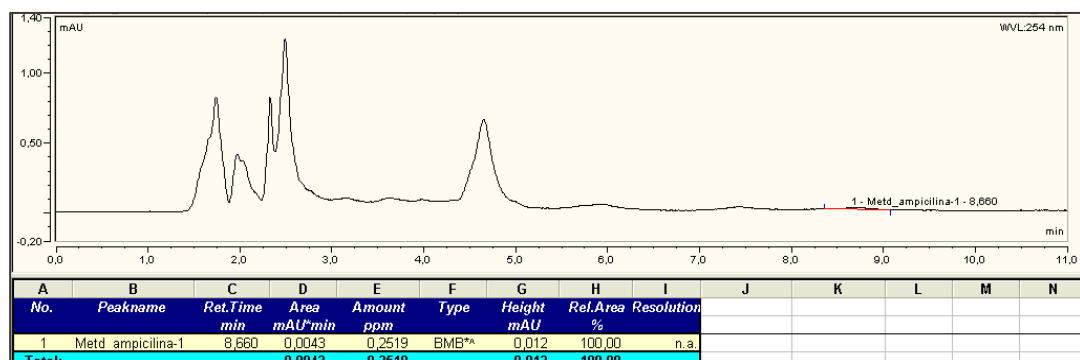


Figura 37. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 2 a

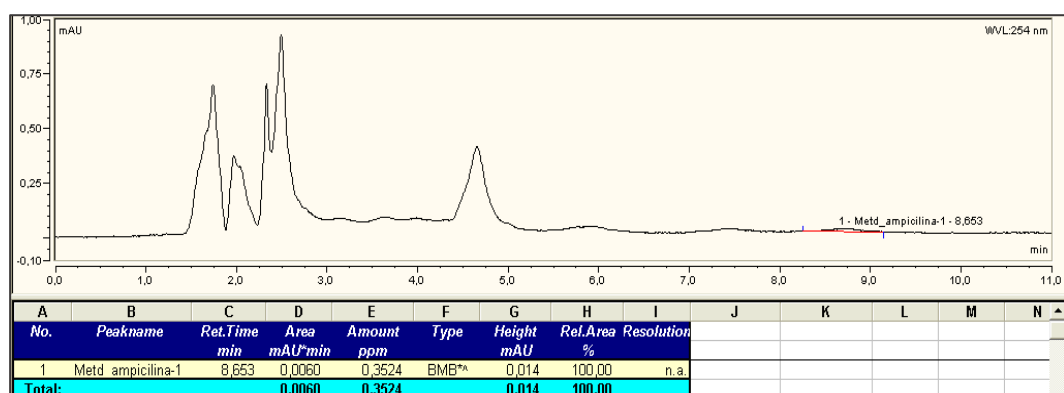


Figura 38. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 2 b

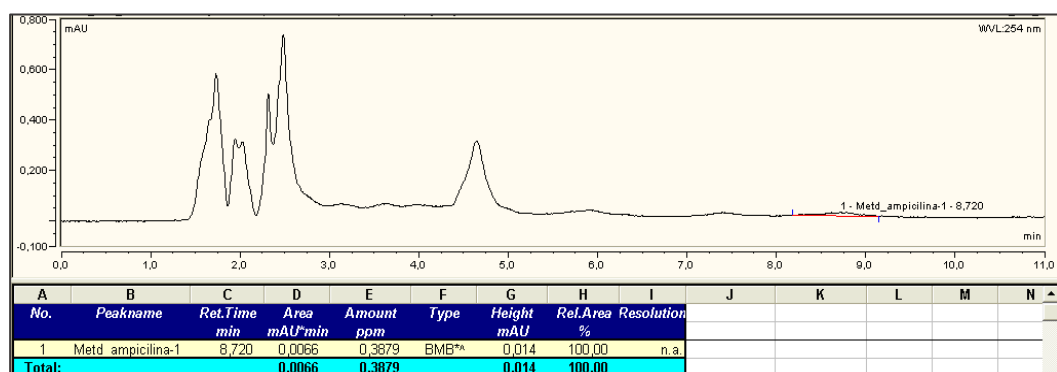


Figura 39. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción 2 c

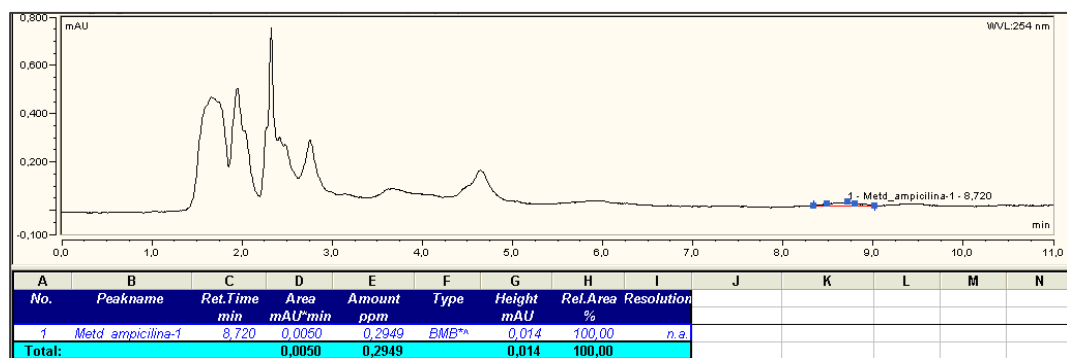


Figura 40. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 2 a

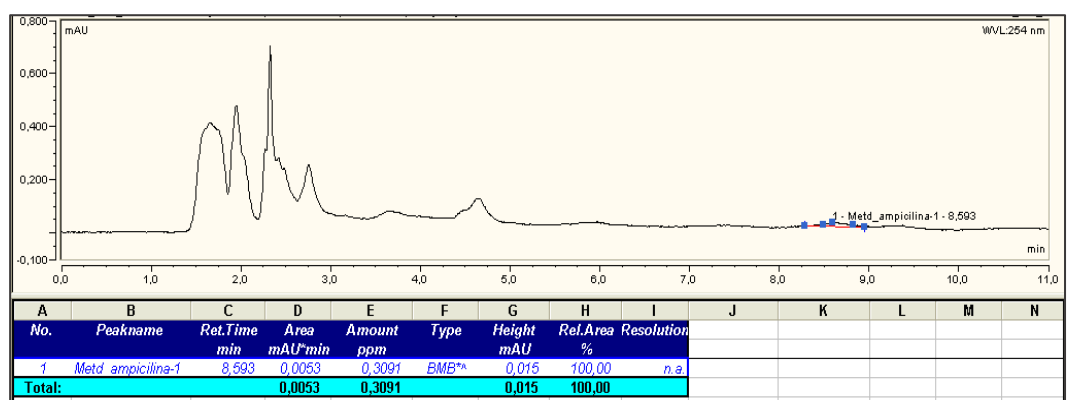


Figura 41. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 2 b

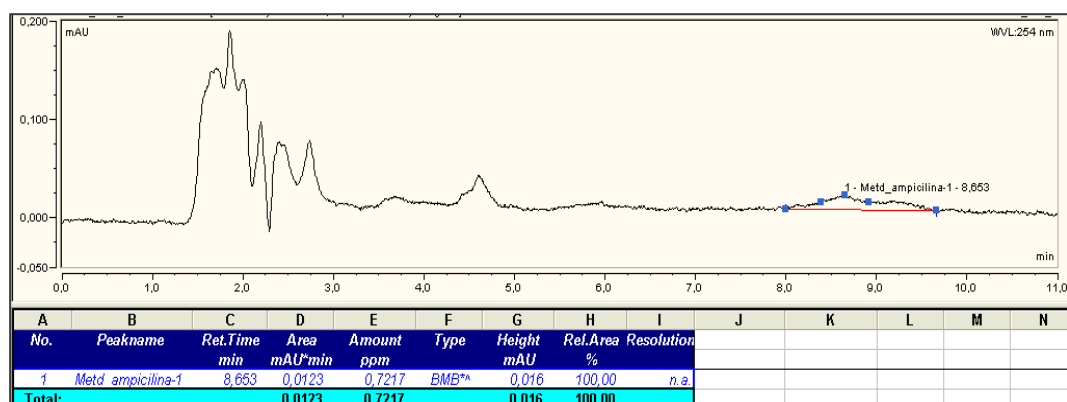


Figura 42. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción 2 c

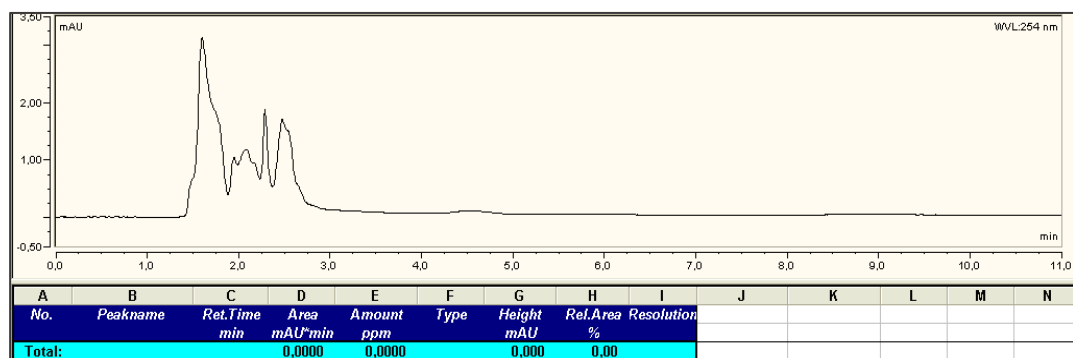


Figura 43. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 1 a

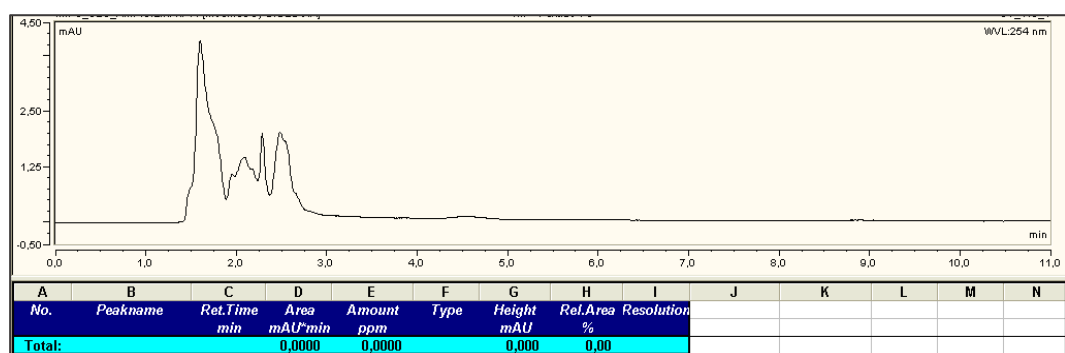


Figura 44. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 1 b

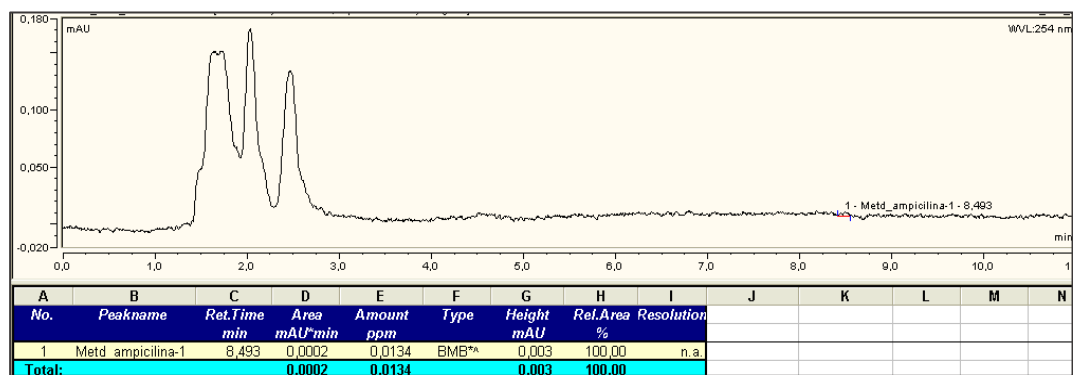


Figura 45. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 1 c

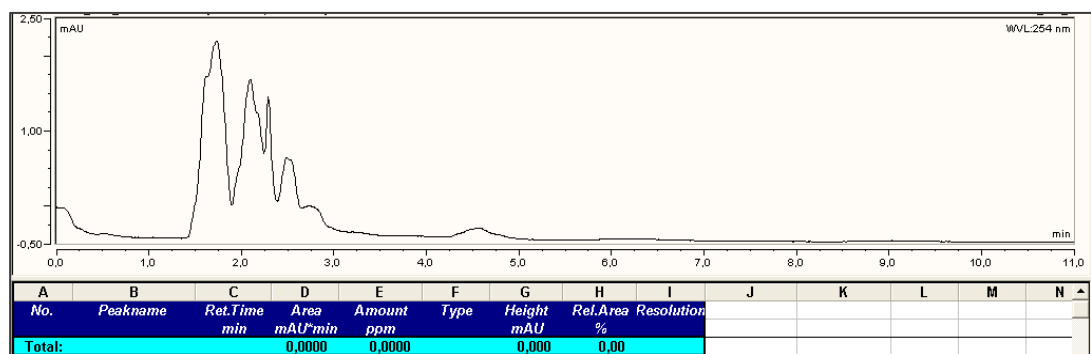


Figura 47. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 1 a

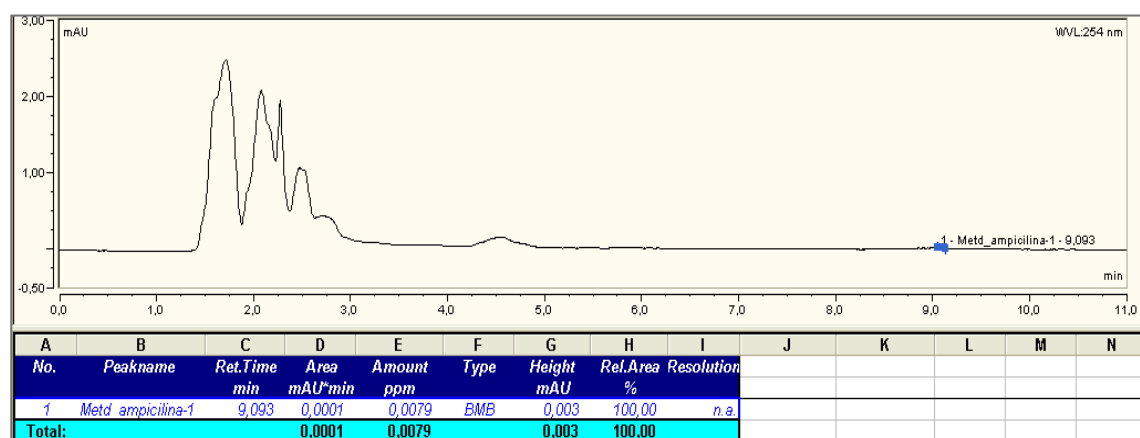


Figura 48. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 1 b

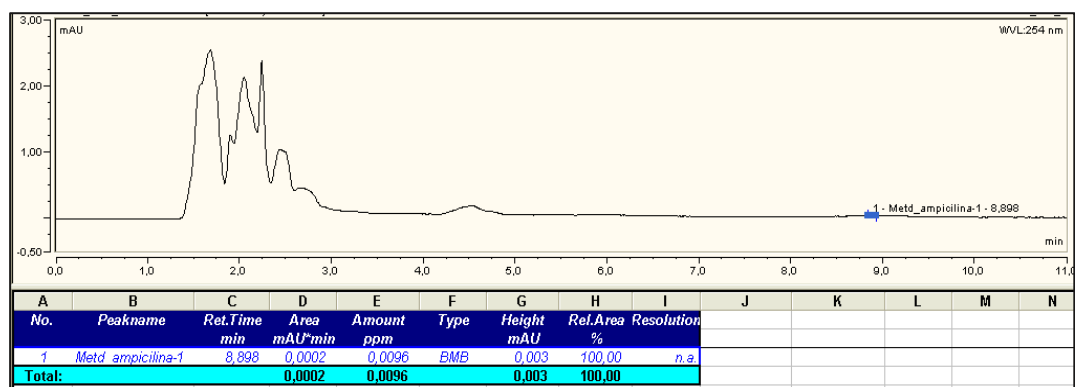


Figura 49. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 1 c

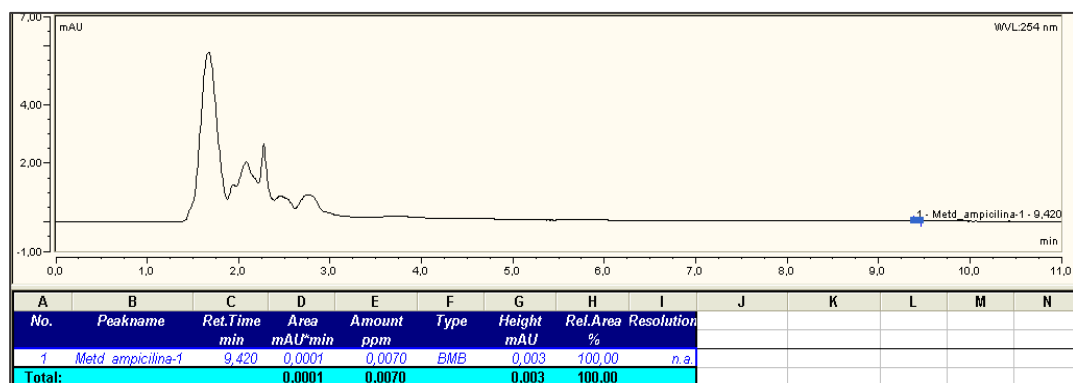


Figura 50. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 1 a

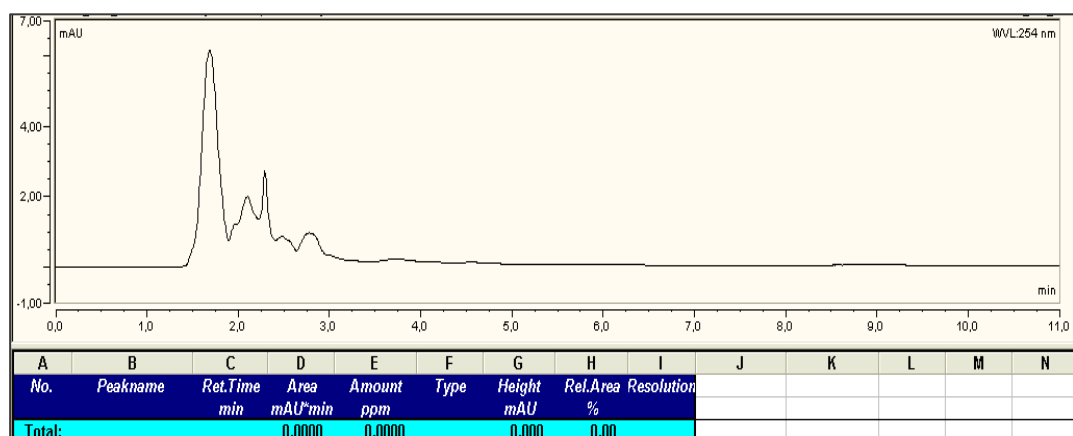


Figura 51. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 1 b

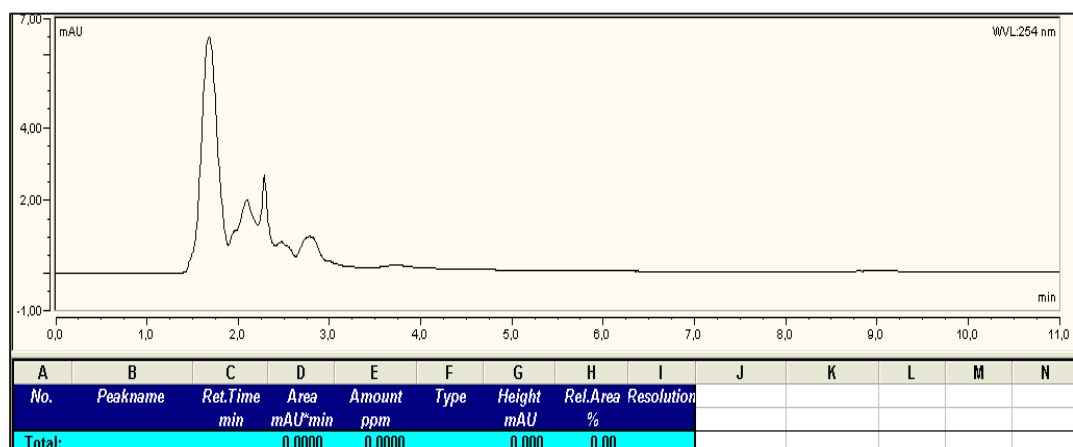


Figura 52. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 1 c

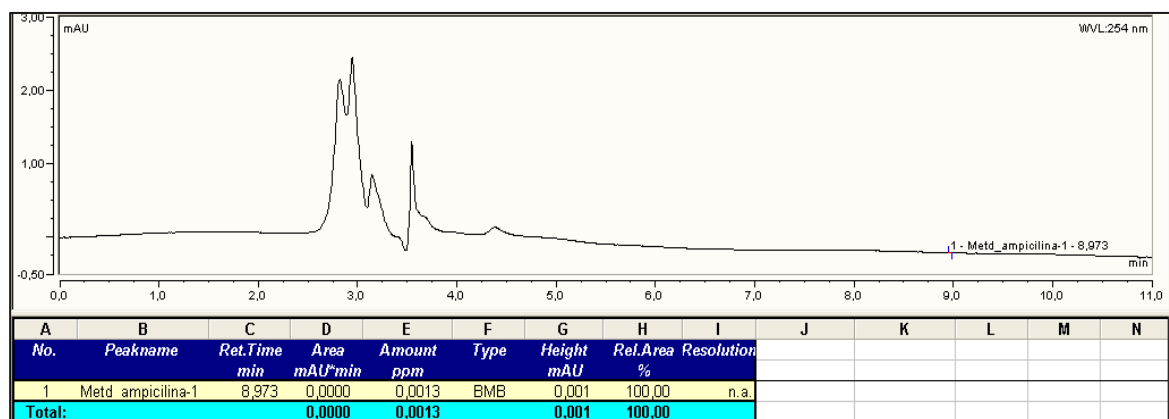


Figura 53. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 2 a

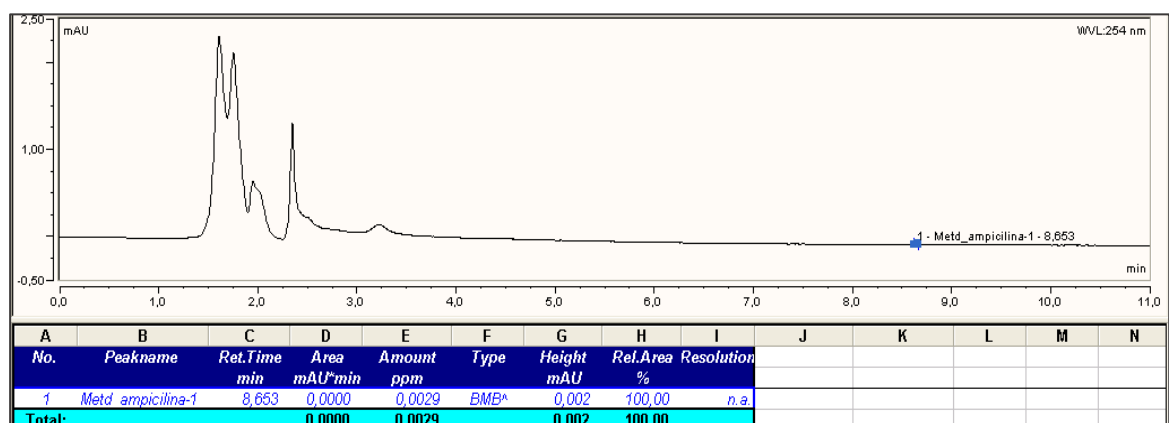


Figura 54. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 2 b

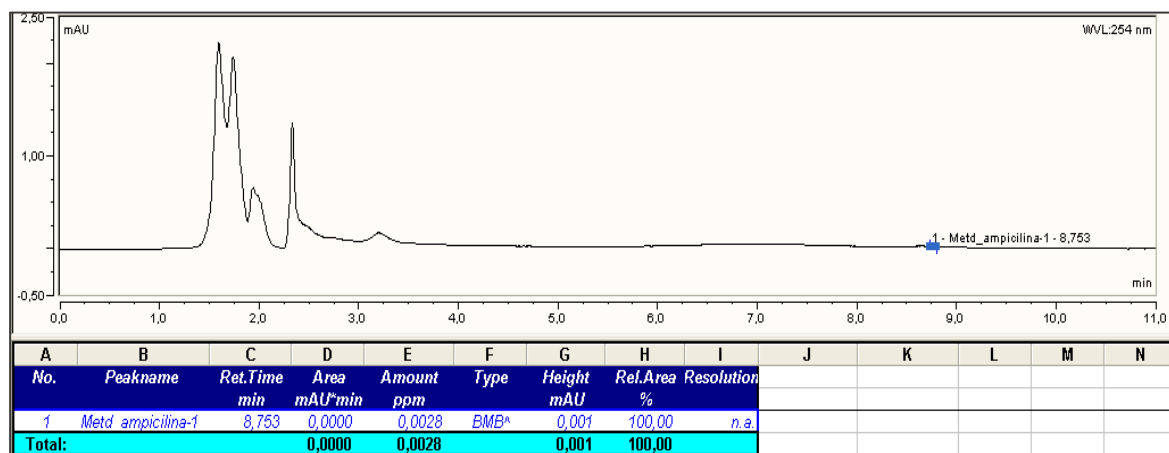


Figura 55. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción 2 c

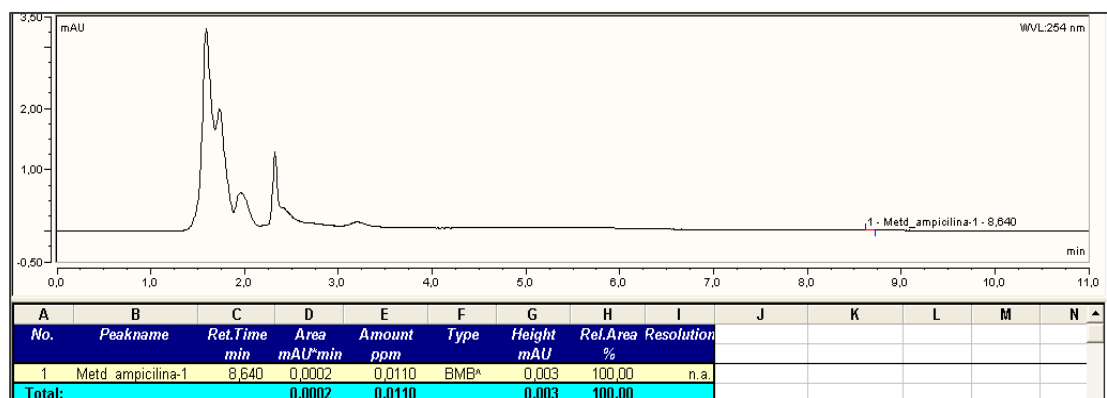


Figura 56. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 2 a

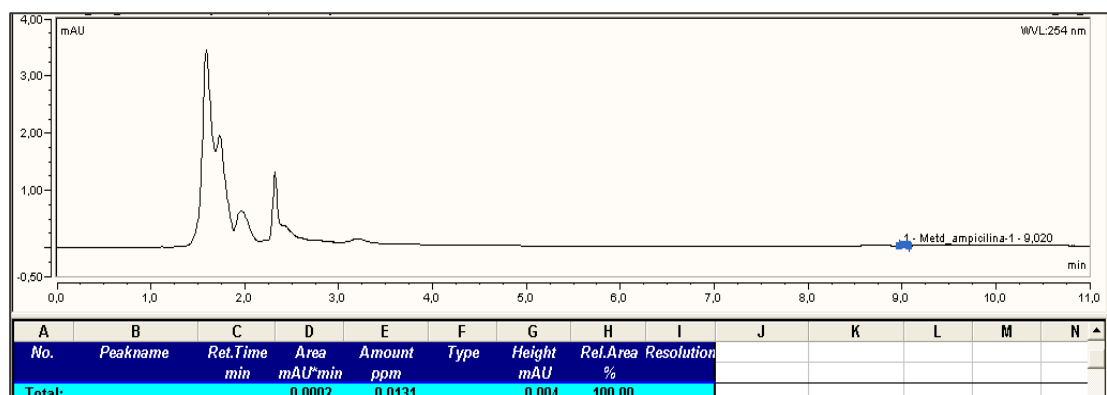


Figura 57. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 2 b

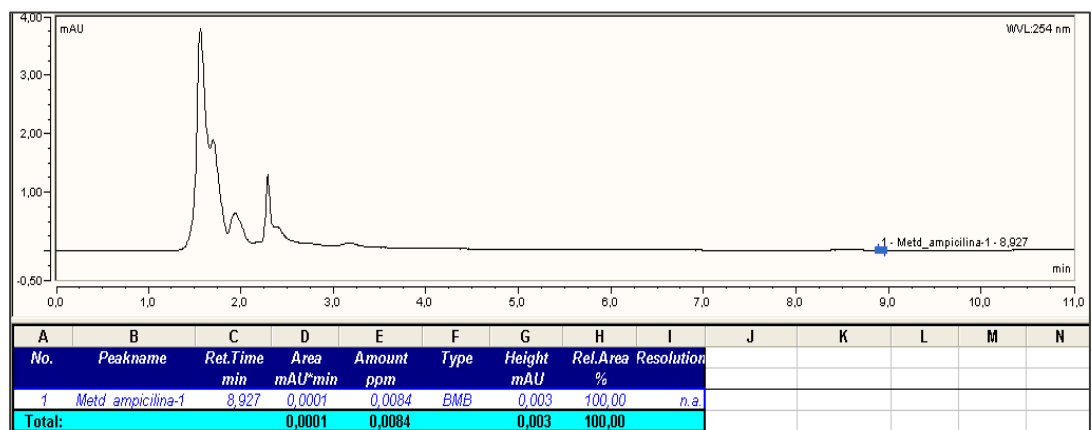


Figura 58. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción 2 c

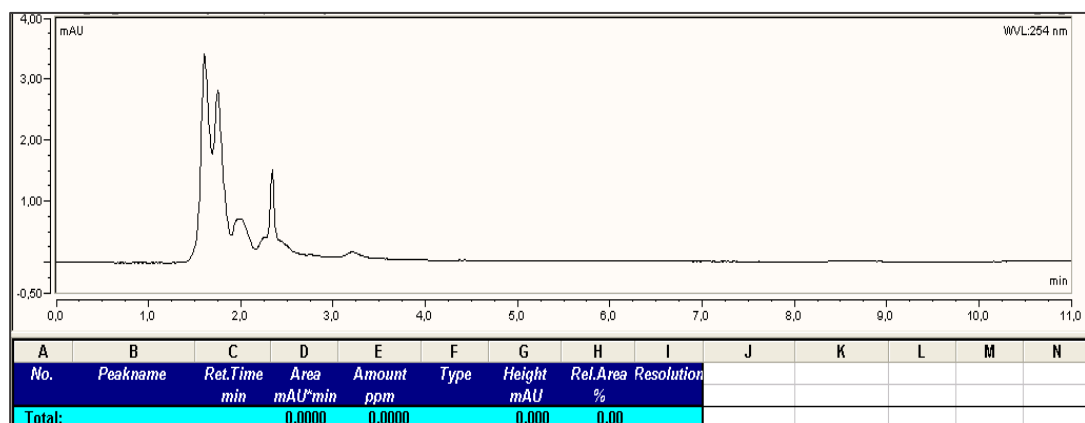


Figura 59. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 2 a

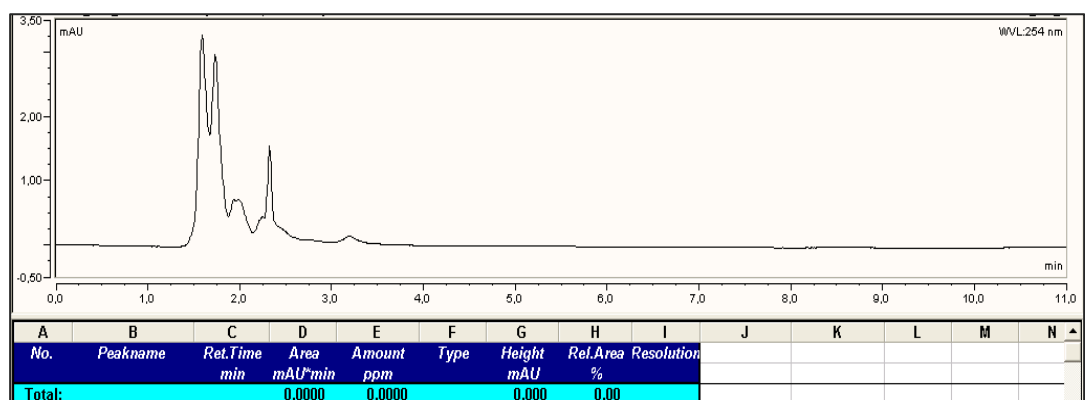


Figura 60. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 2 b

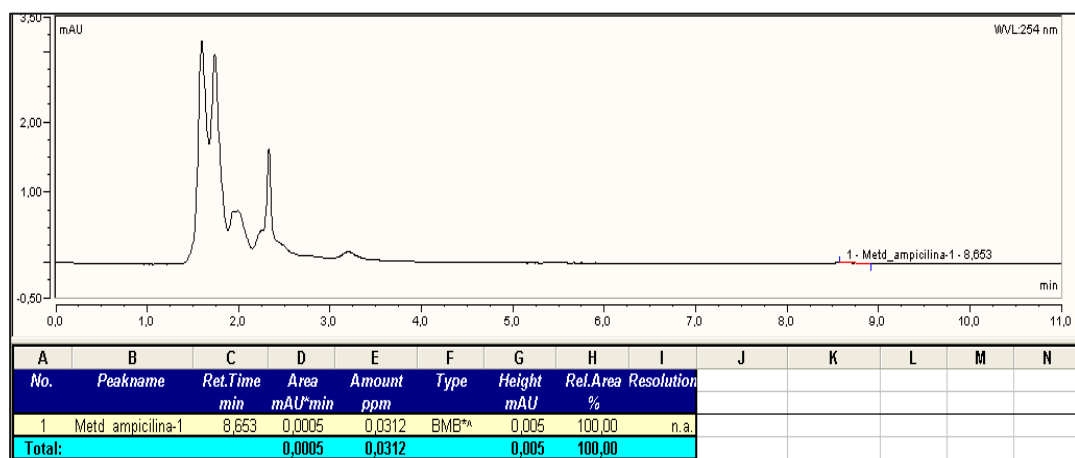


Figura 61. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción 2 c

2.2 Evaluación de las porciones de carga, lavado y extracción de ampicilina en los diferentes polímeros de impronta molecular estudiados y en los polímeros no impresos

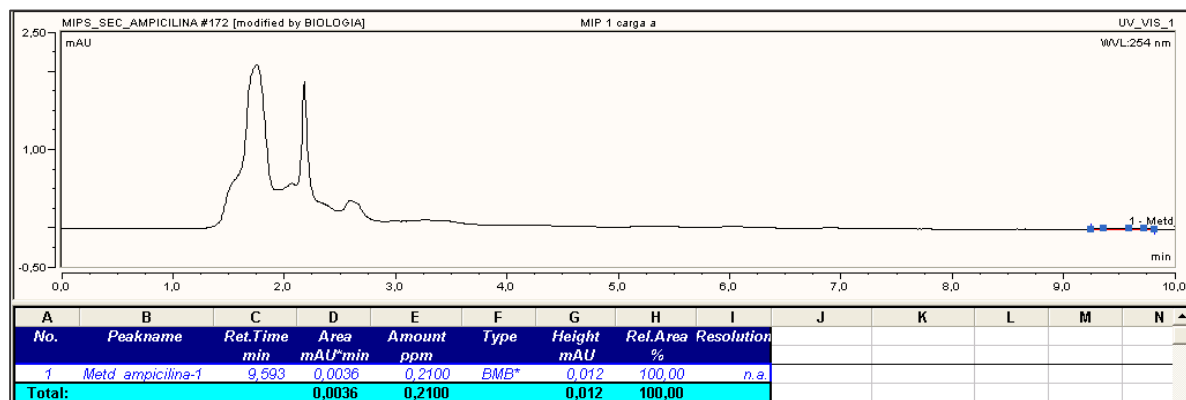


Figura 62. Cromatograma obtenido para el MIP 1 carga a

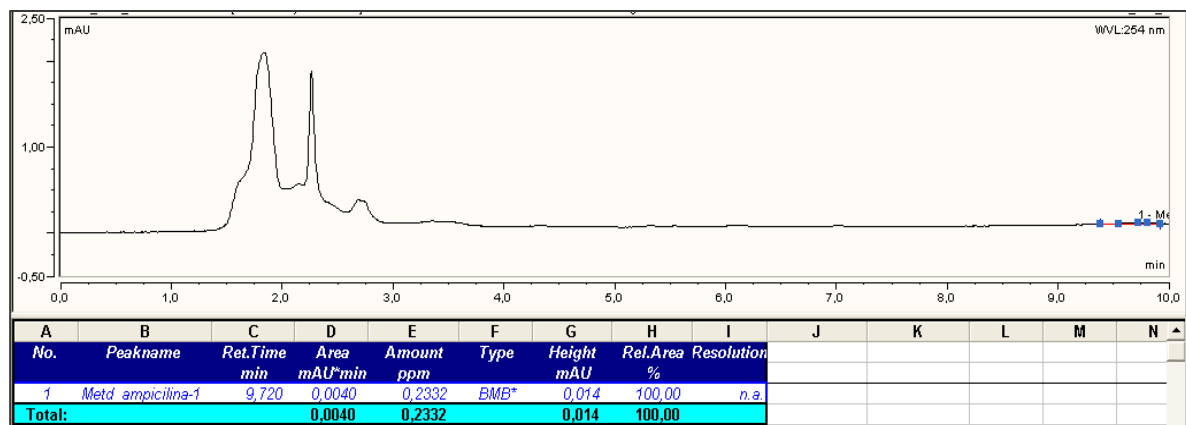


Figura 63. Cromatograma obtenido para el MIP 1 carga b

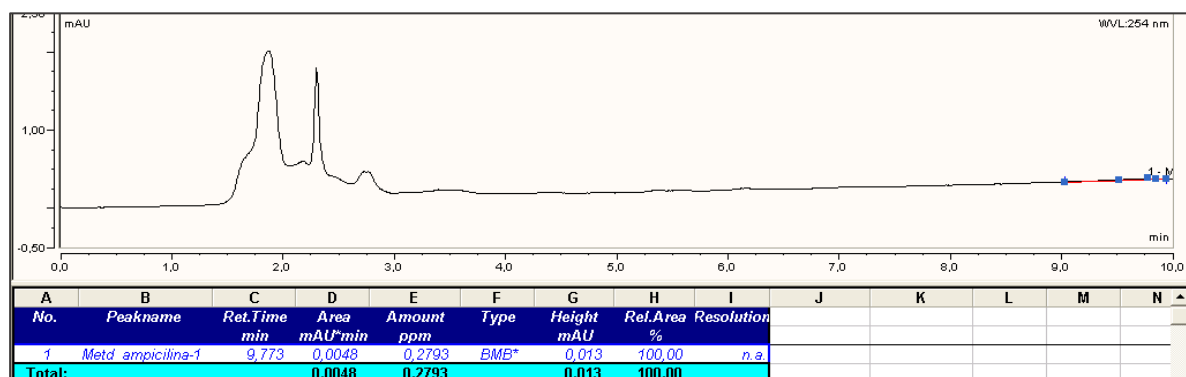


Figura 64. Cromatograma obtenido para el MIP 1 carga c

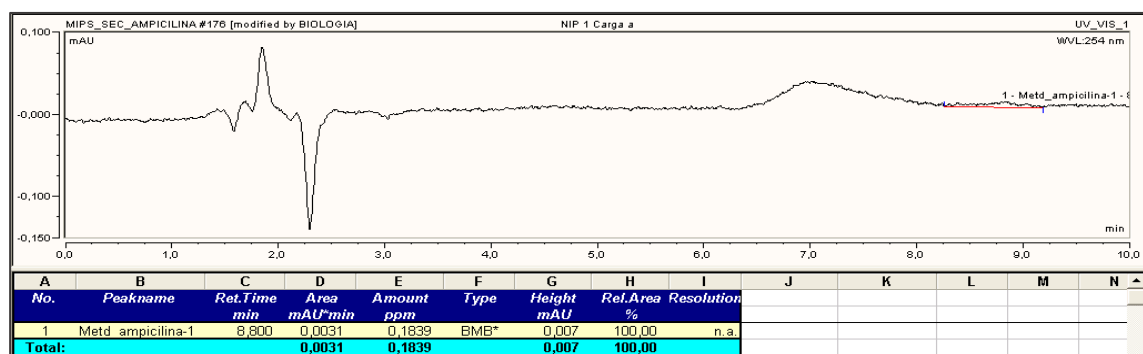


Figura 65. Cromatograma obtenido para el NIP 1 carga a

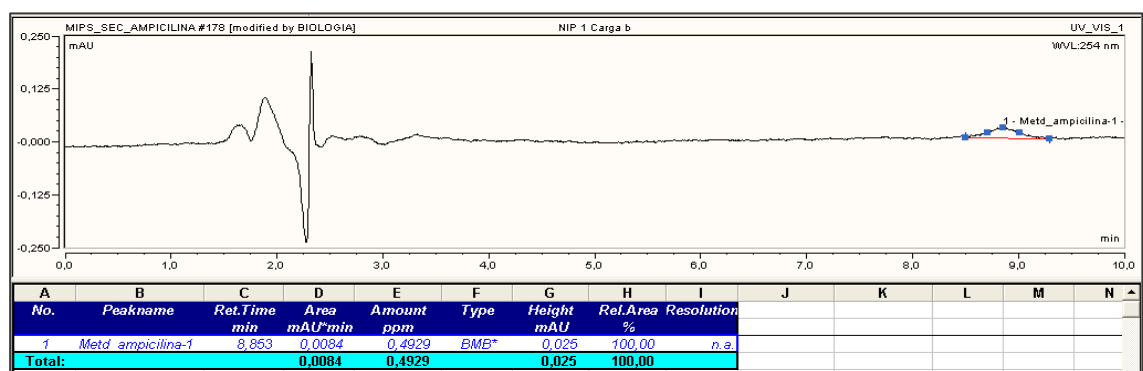


Figura 66. Cromatograma obtenido para el NIP 1 carga b

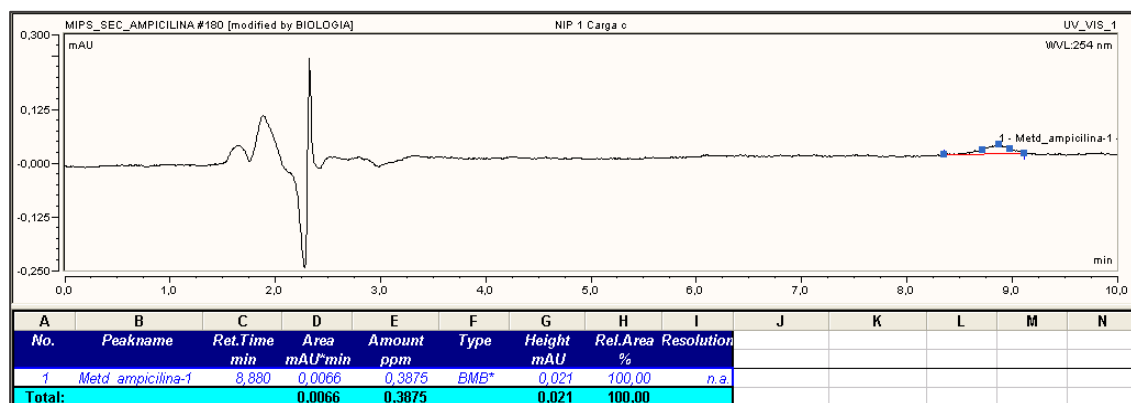


Figura 67. Cromatograma obtenido para el NIP 1 carga c

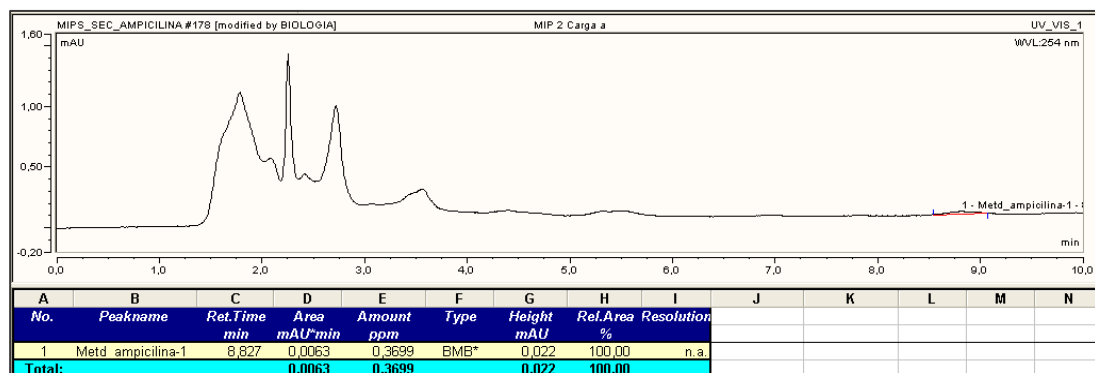


Figura 68. Cromatograma obtenido para el MIP 2 carga a

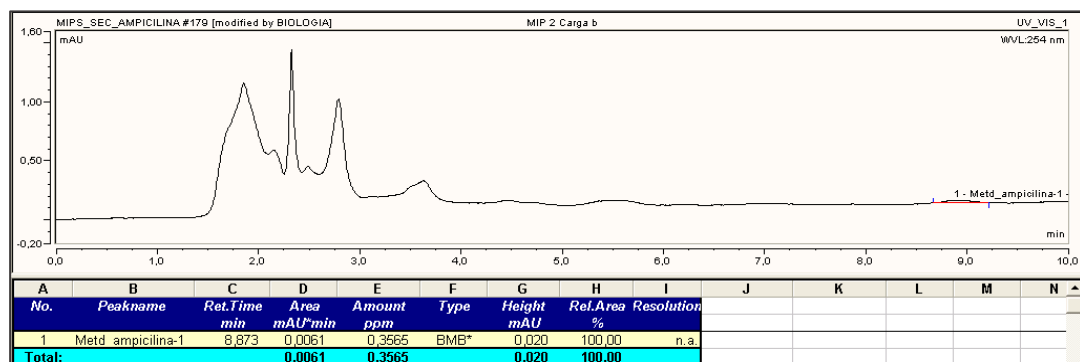


Figura 69. Cromatograma obtenido para el MIP 2 carga b

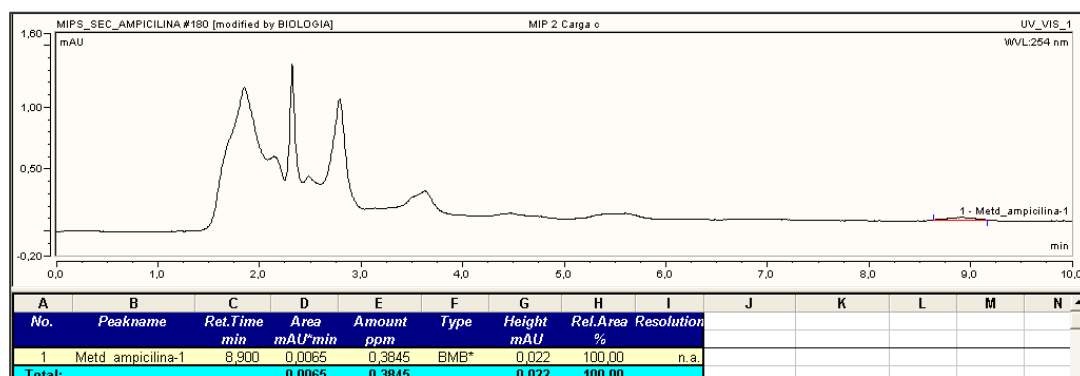


Figura 70. Cromatograma obtenido para el MIP 2 carga c

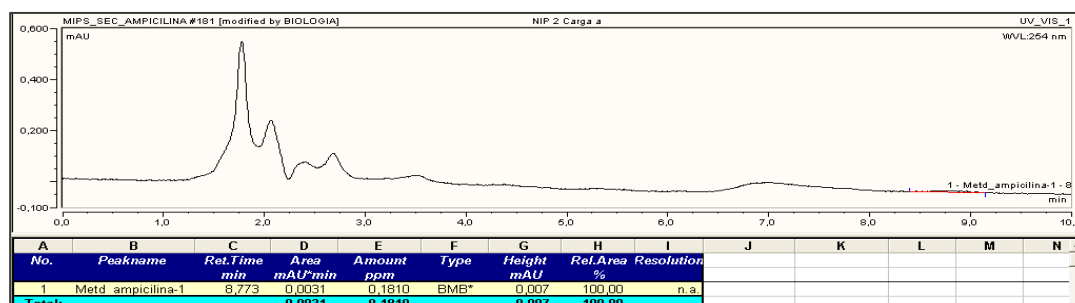


Figura 71. Cromatograma obtenido para el NIP 2 carga a

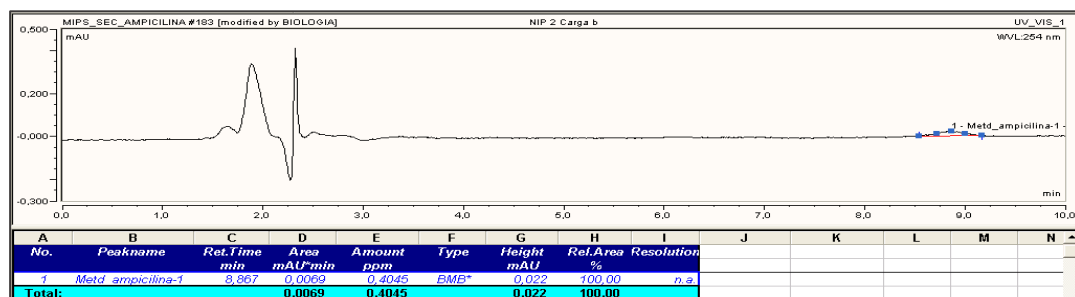


Figura 72. Cromatograma obtenido para el NIP 2 carga b

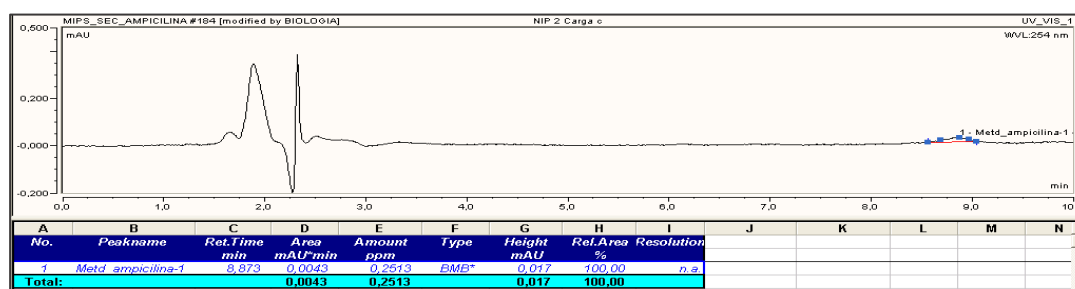


Figura 73. Cromatograma obtenido para el NIP 2 carga c

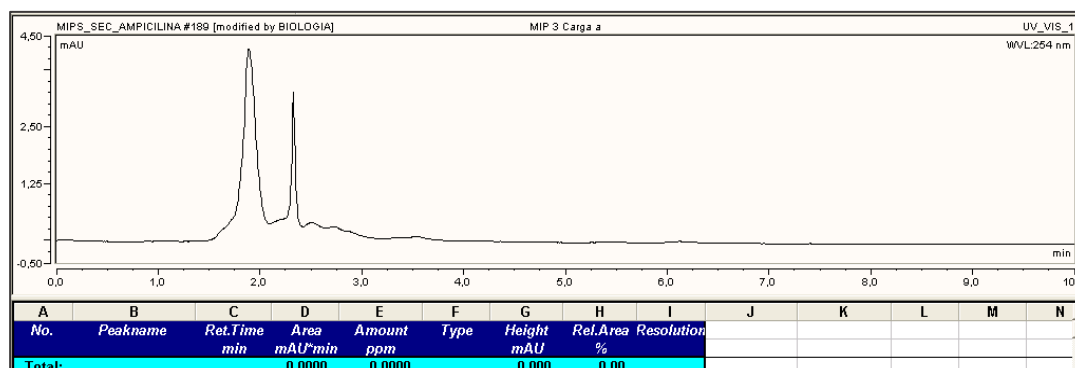


Figura 74. Cromatograma obtenido para el MIP 3 carga a

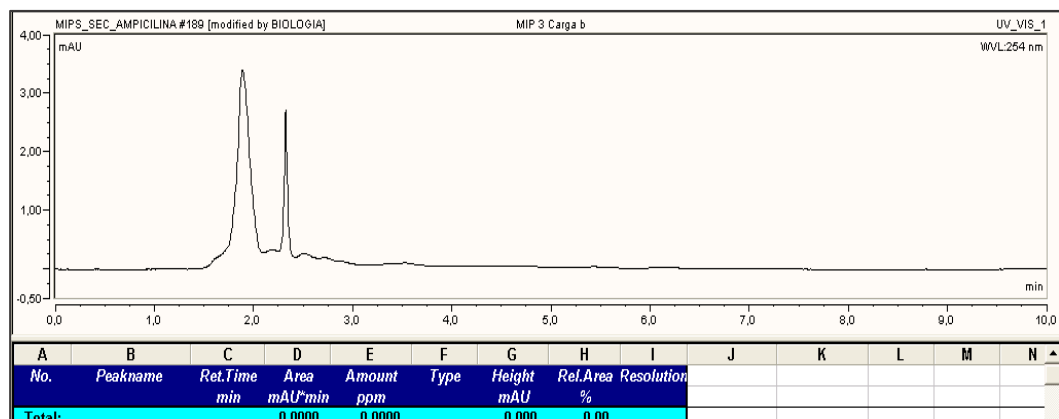


Figura 75. Cromatograma obtenido para el MIP 3 carga b

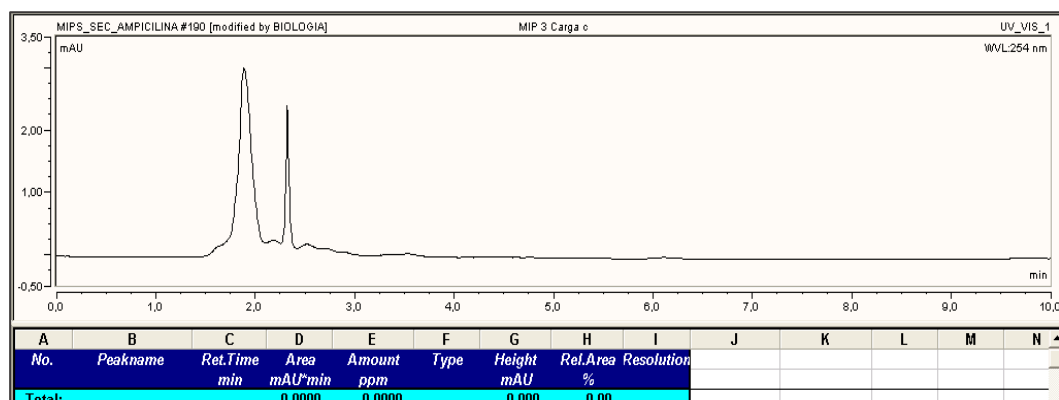


Figura 76. Cromatograma obtenido para el MIP 3 carga c

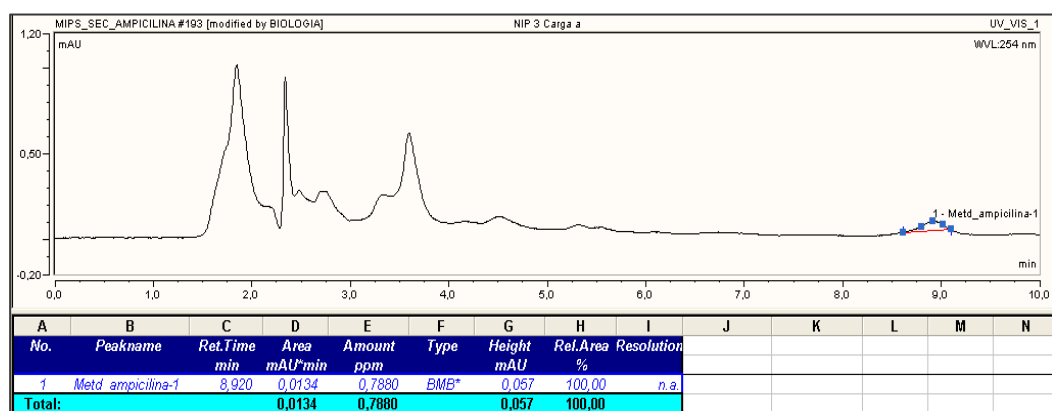


Figura 77. Cromatograma obtenido para el NIP 3 carga a

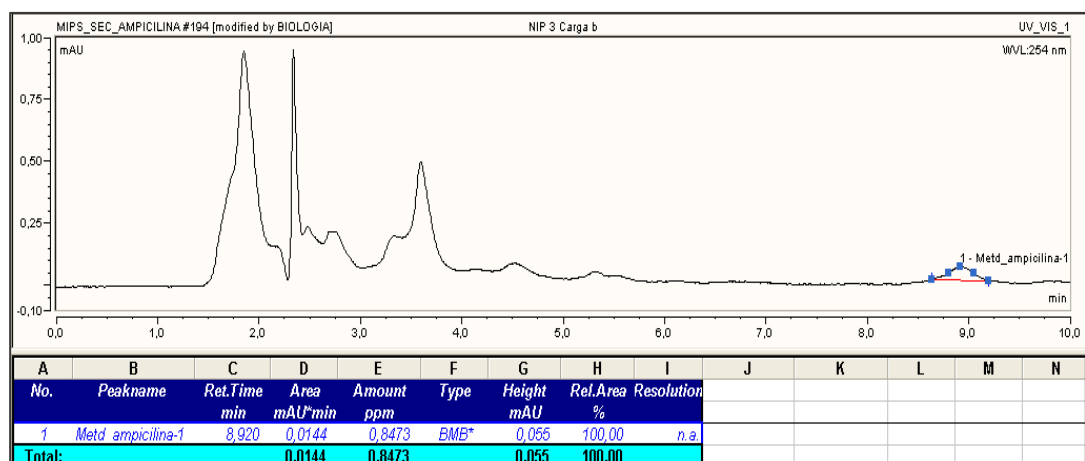


Figura 78. Cromatograma obtenido para el NIP 3 carga b

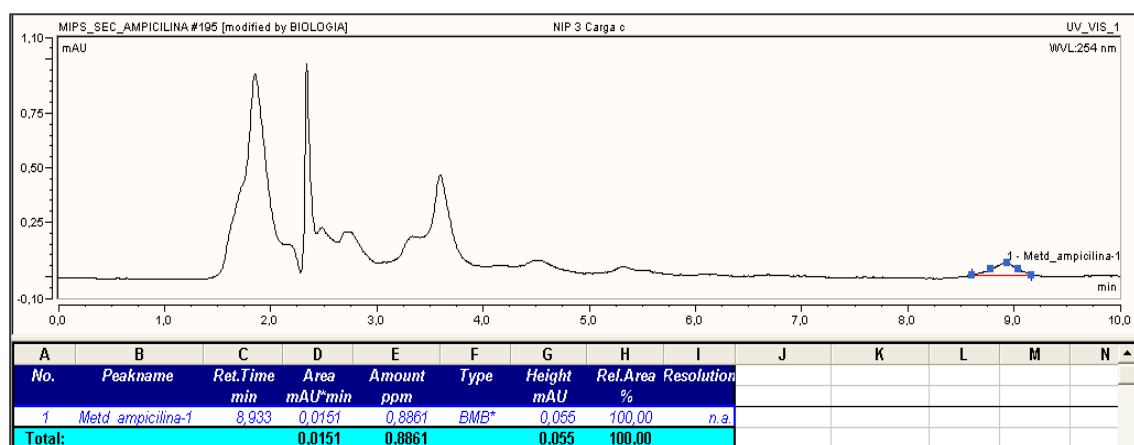


Figura 79. Cromatograma obtenido para el NIP 3 carga c

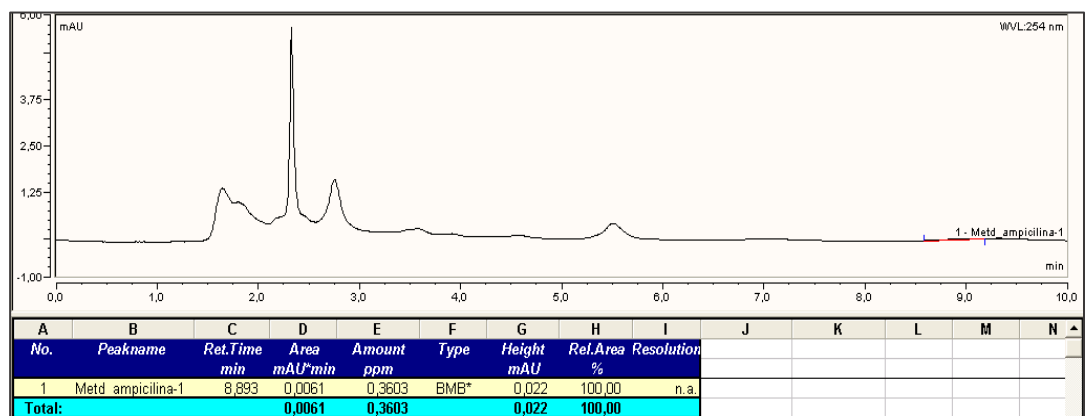


Figura 80. Cromatograma obtenido para el MIP 4 carga a

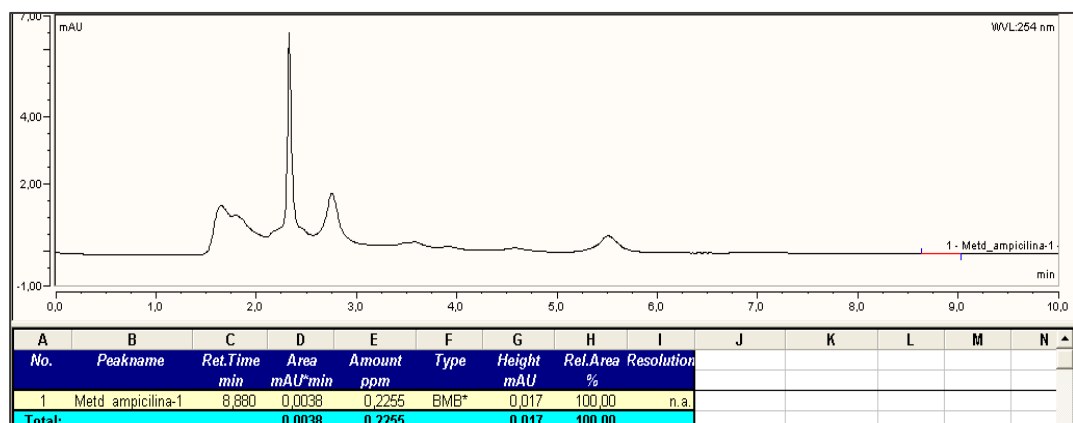


Figura 81. Cromatograma obtenido para el MIP 4 carga b

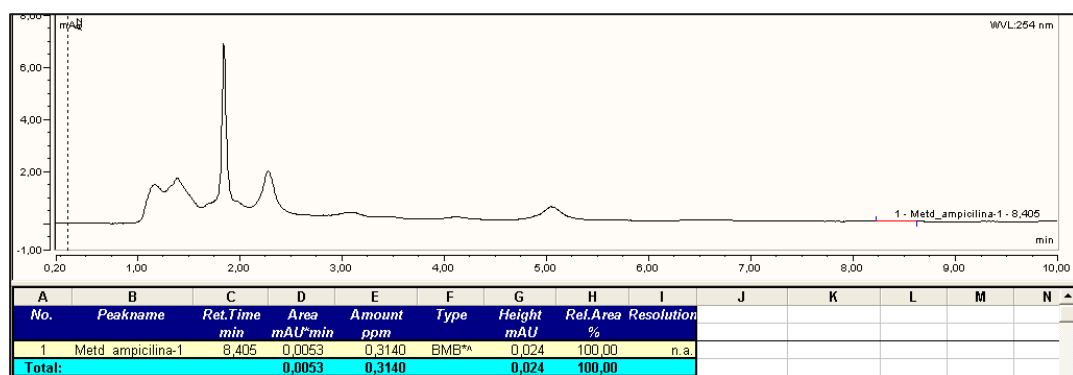


Figura 82. Cromatograma obtenido para el MIP 4 carga c

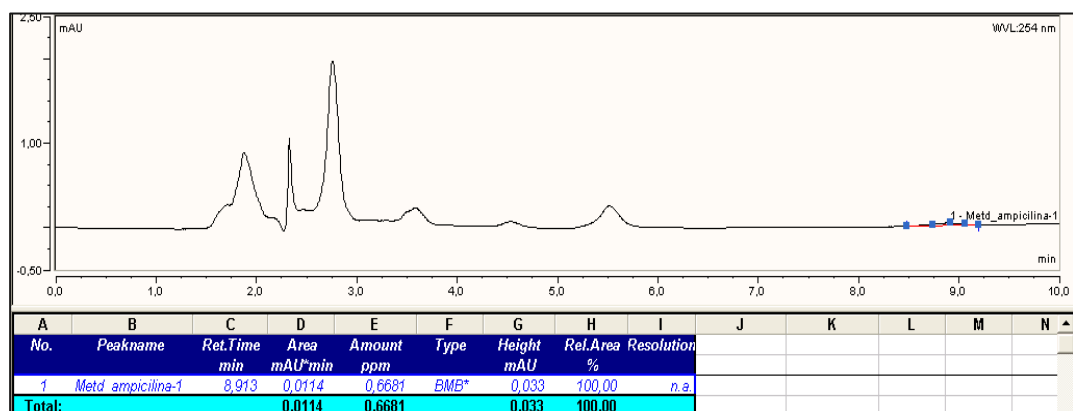


Figura 83. Cromatograma obtenido para el MIP 5 carga a

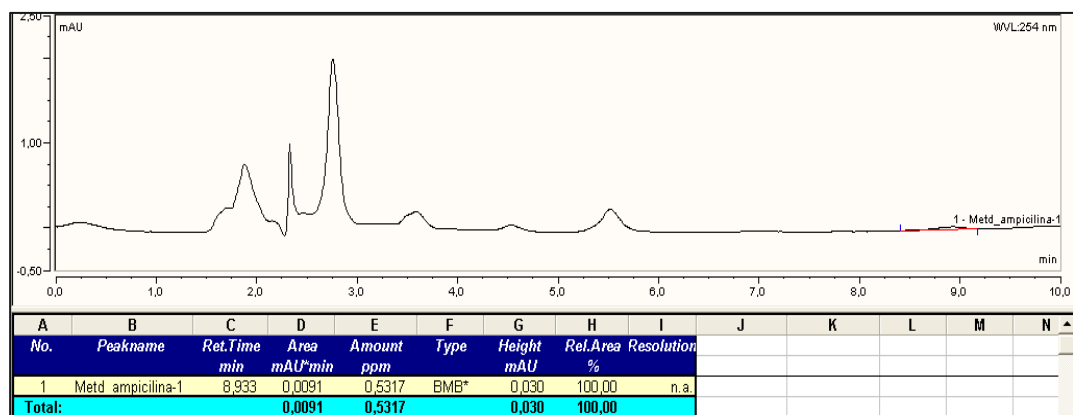


Figura 84. Cromatograma obtenido para el MIP 5 carga b

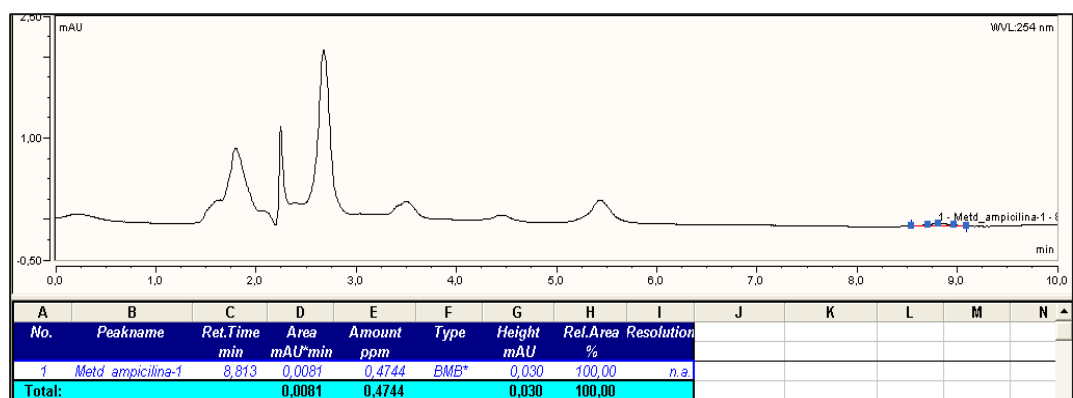


Figura 85. Cromatograma obtenido para el MIP 5 carga c

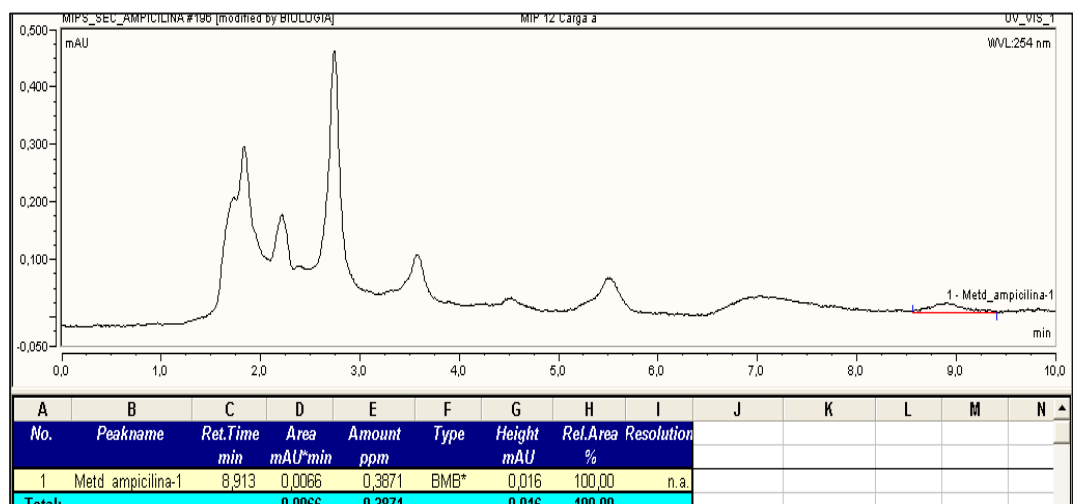


Figura 86. Cromatograma obtenido para el MIP 6 carga a

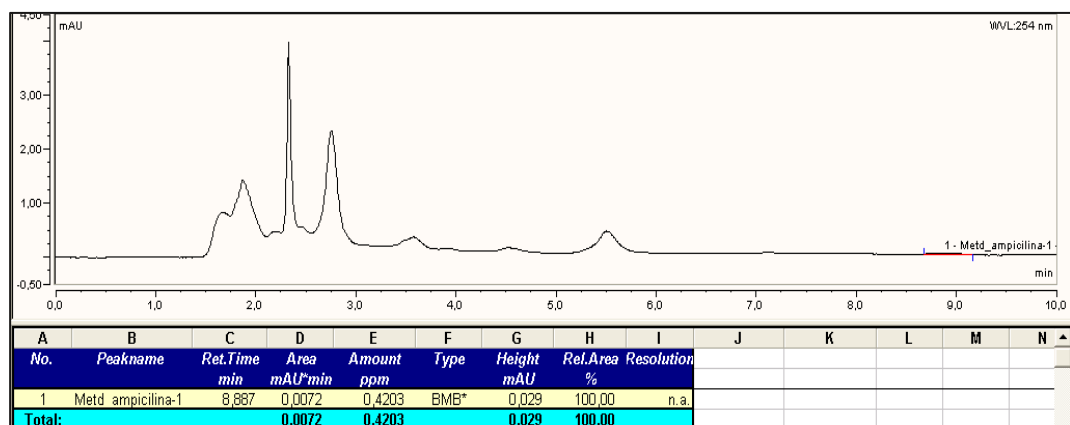


Figura 87. Cromatograma obtenido para el MIP 6 carga b

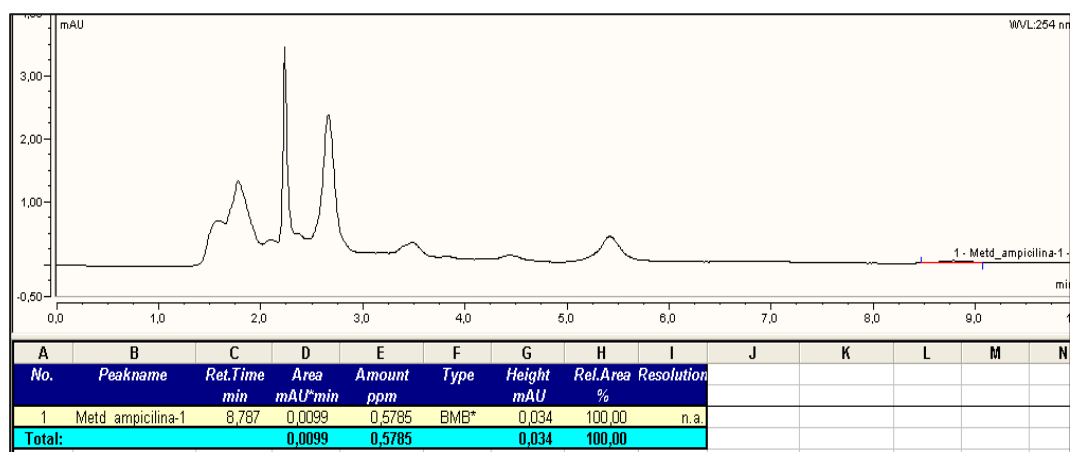


Figura 88. Cromatograma obtenido para el MIP 6 carga c

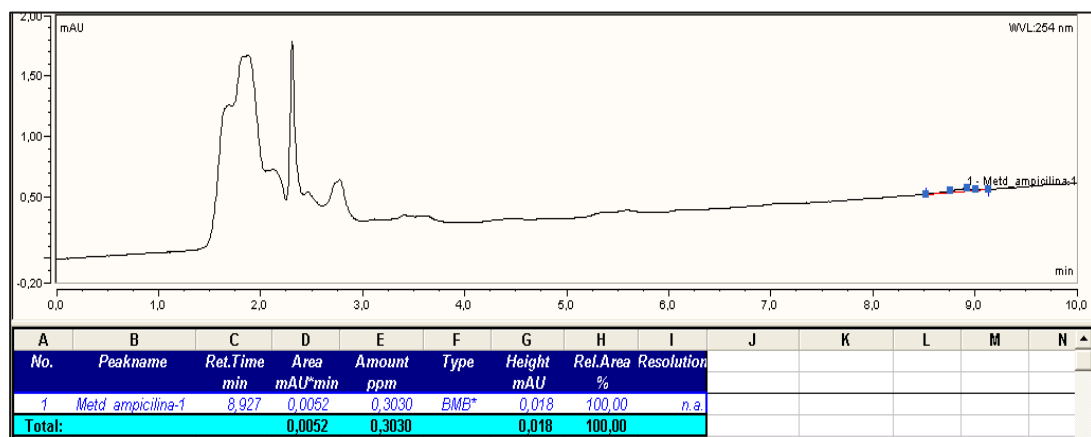


Figura 89. Cromatograma obtenido para el MIP 1 lavado a

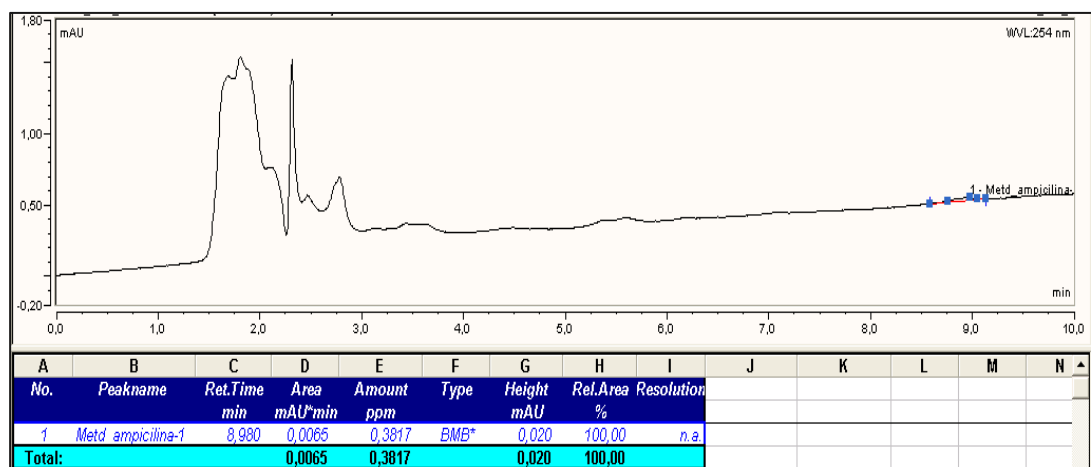


Figura 90. Cromatograma obtenido para el MIP 1 lavado b

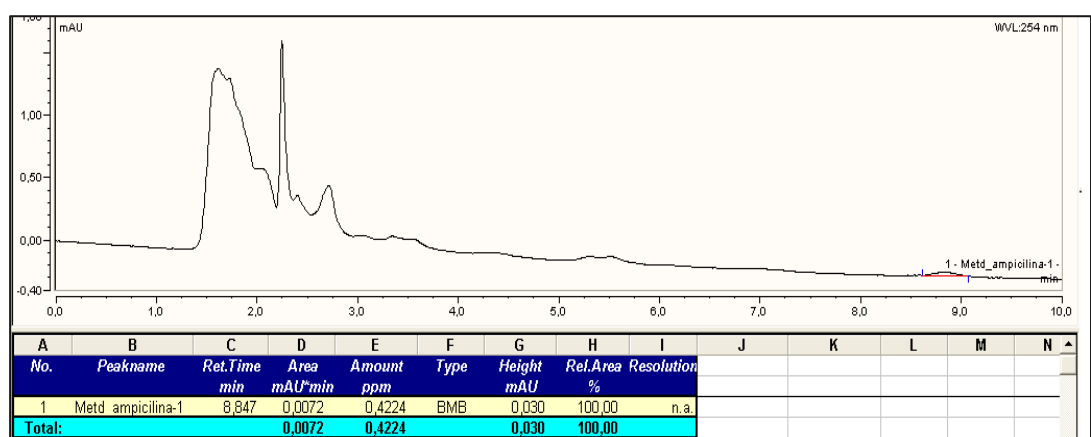


Figura 91. Cromatograma obtenido para el MIP 1 lavado c

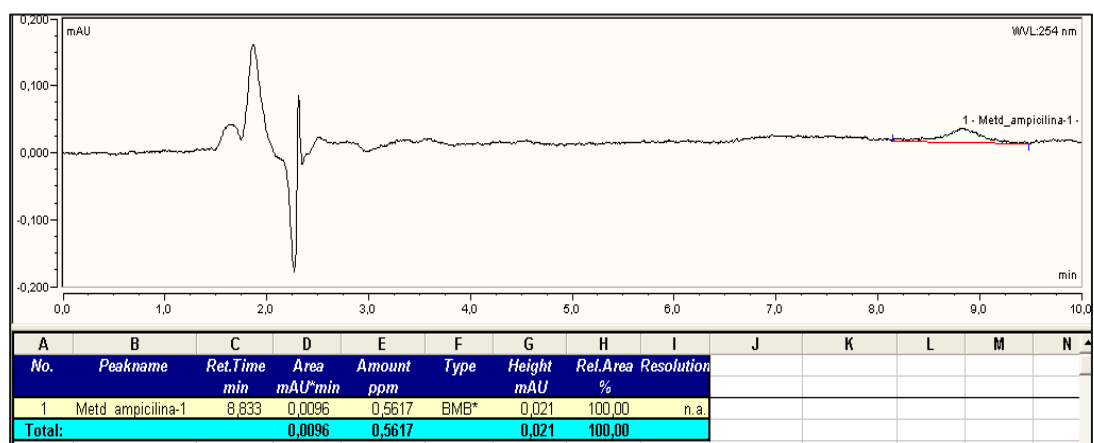


Figura 92. Cromatograma obtenido para el NIP 1 lavado a

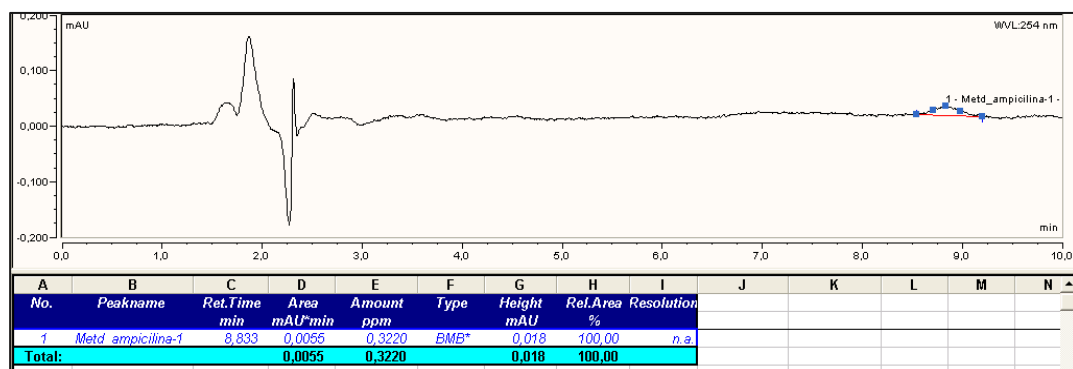


Figura 93. Cromatograma obtenido para el NIP 1 lavado b

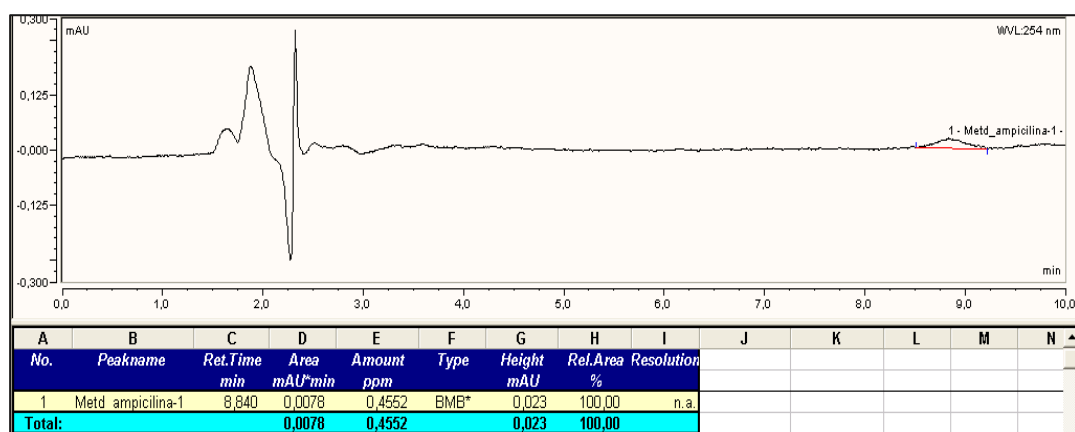


Figura 94. Cromatograma obtenido para el NIP 1 lavado c

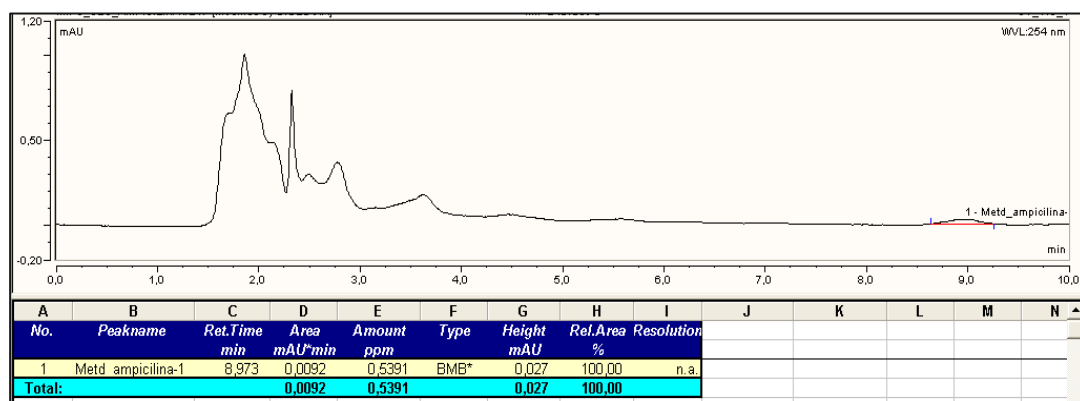


Figura 95. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado a

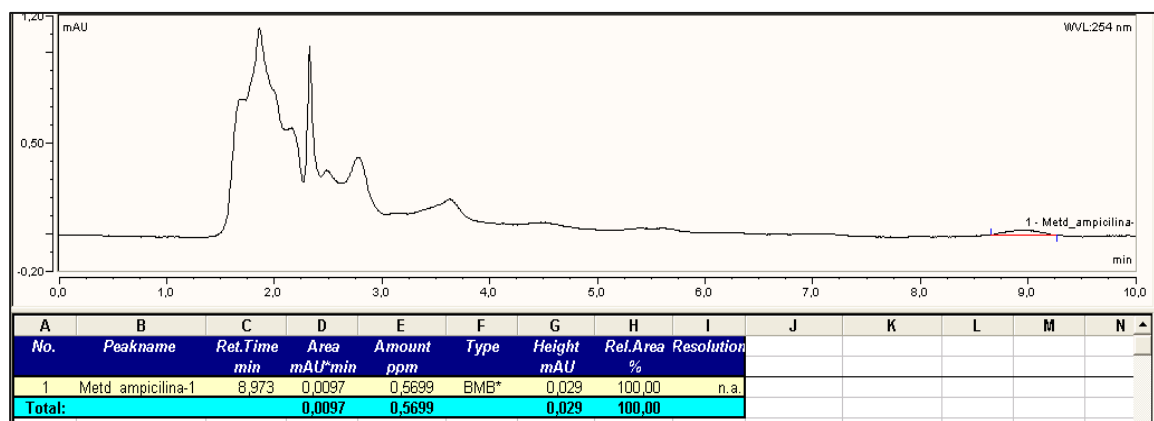


Figura 96. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado b

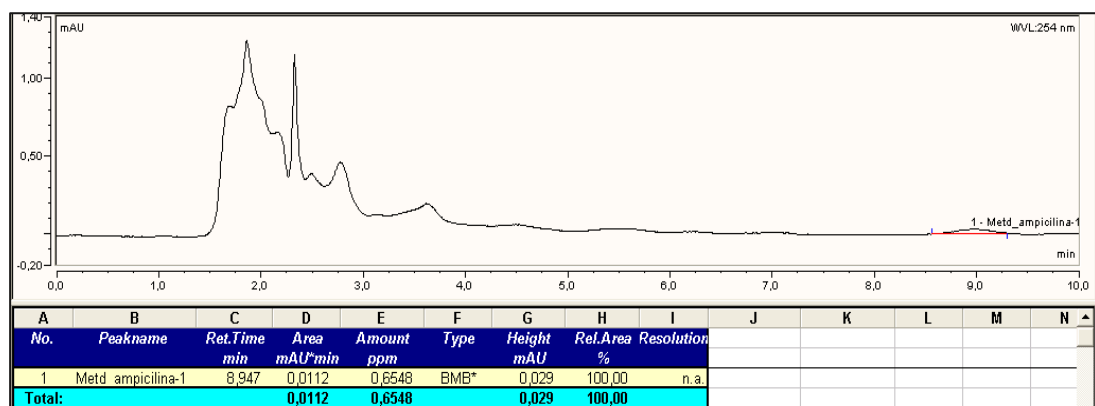


Figura 97. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado c

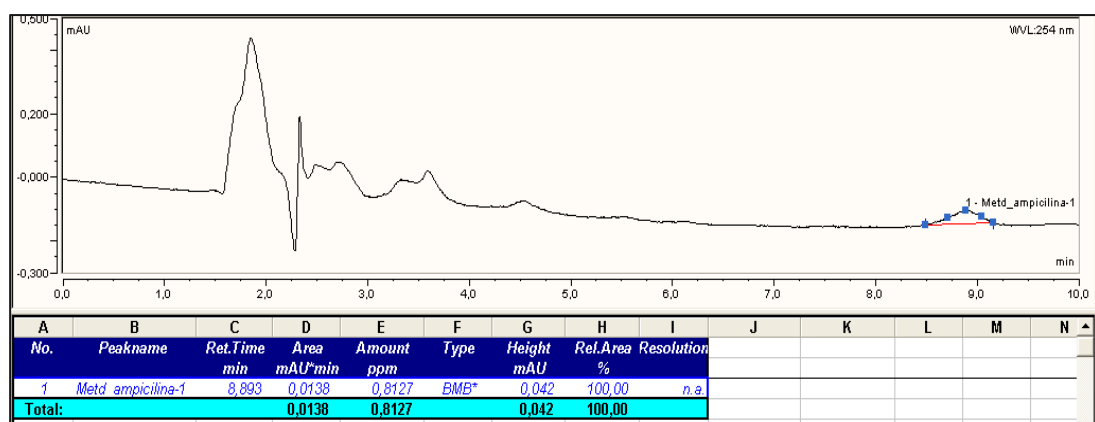


Figura 98. Cromatograma obtenido para el MIP 2 lavado a

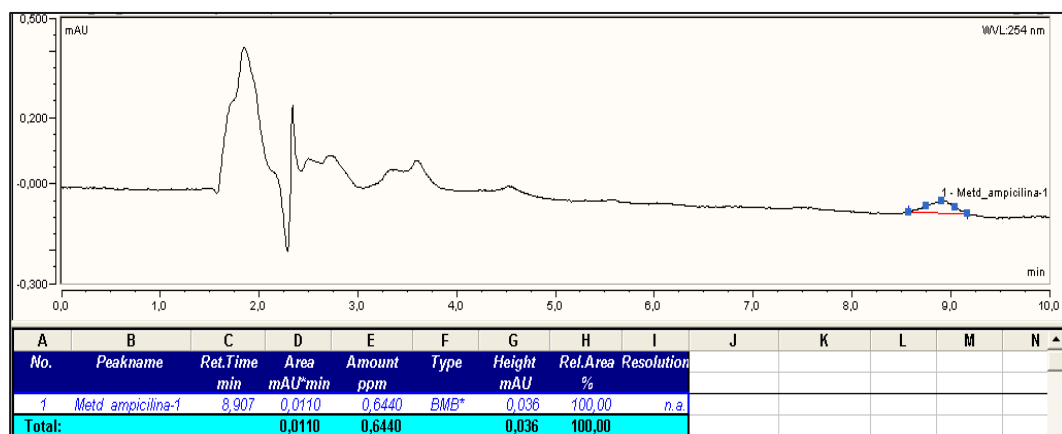


Figura 99. Cromatograma obtenido para el NIP 2 lavado b

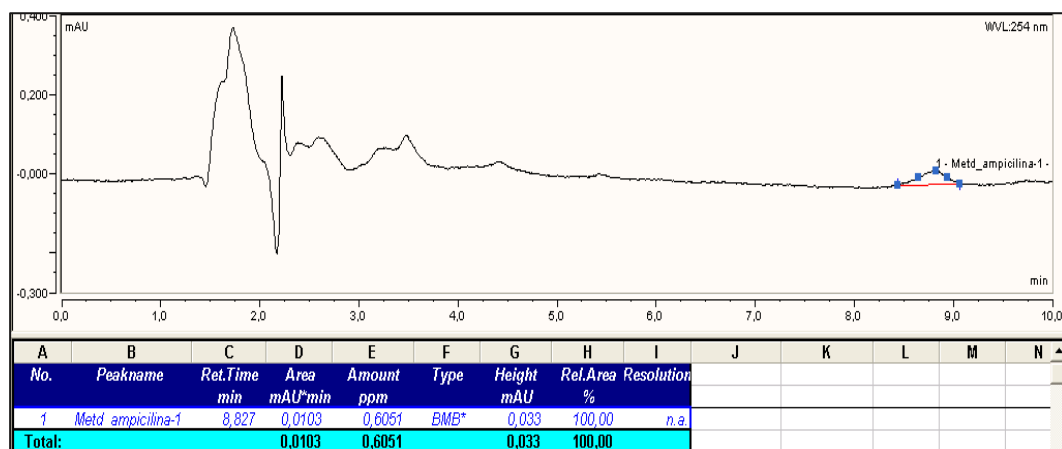


Figura 100. Cromatograma obtenido para el NIP 2 lavado c

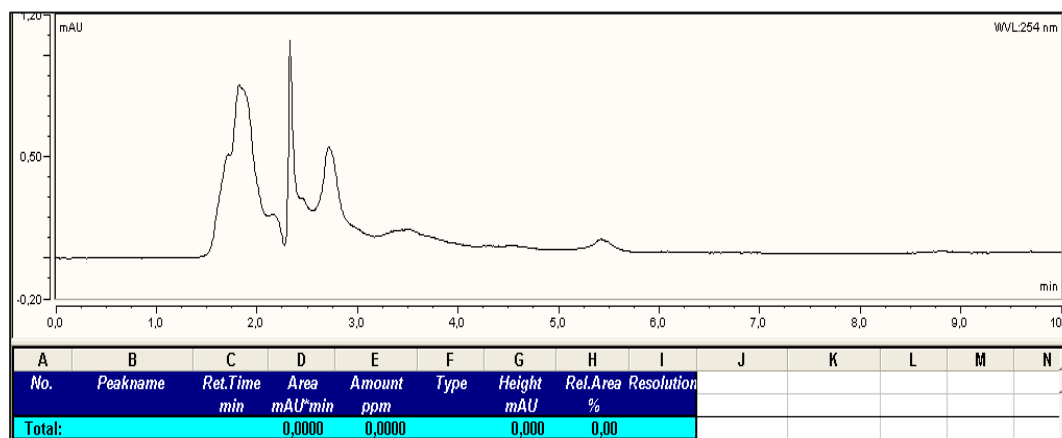


Figura 101. Cromatograma obtenido para el MIP 3 lavado a

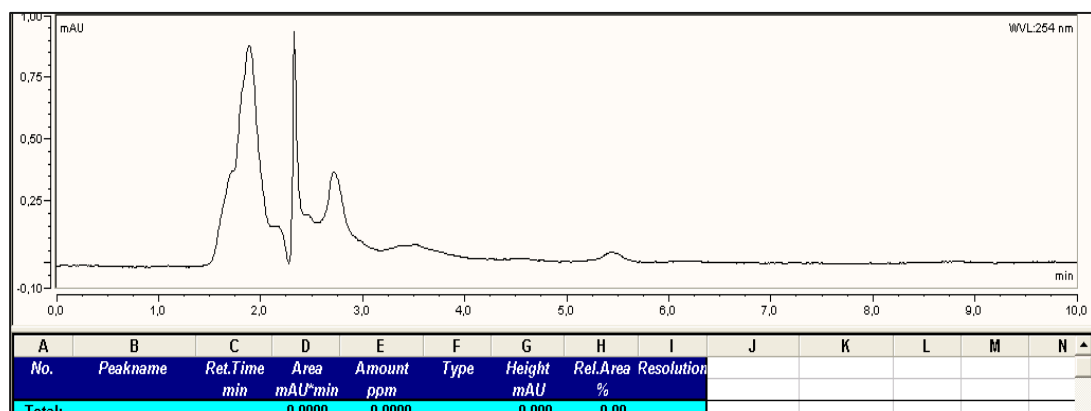


Figura 102. Cromatograma obtenido para el MIP 3 lavado b

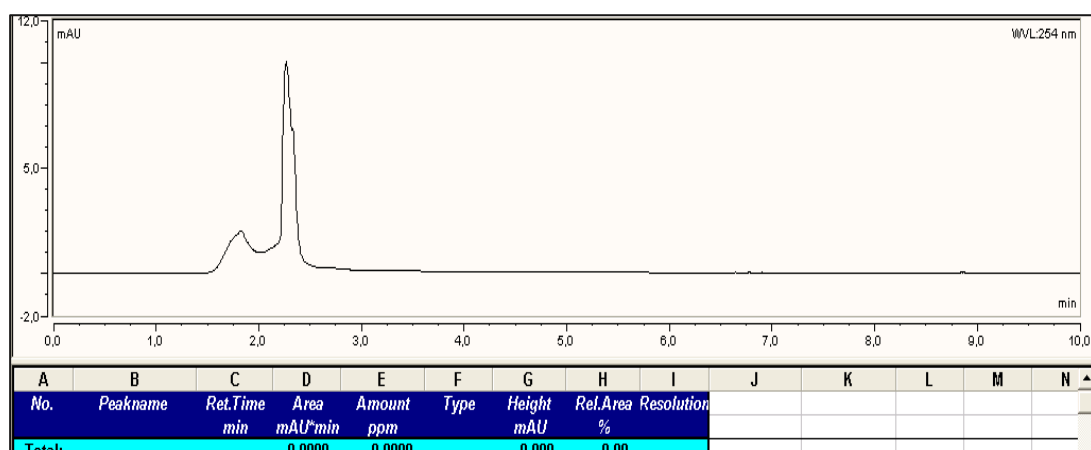


Figura 103. Cromatograma obtenido para el MIP 3 lavado c

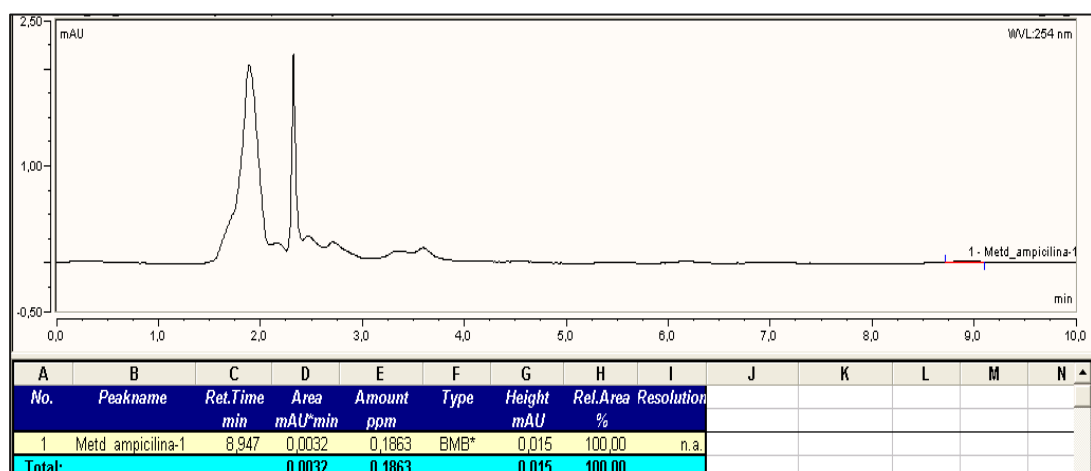


Figura 104. Cromatograma obtenido para el NIP 3 lavado a

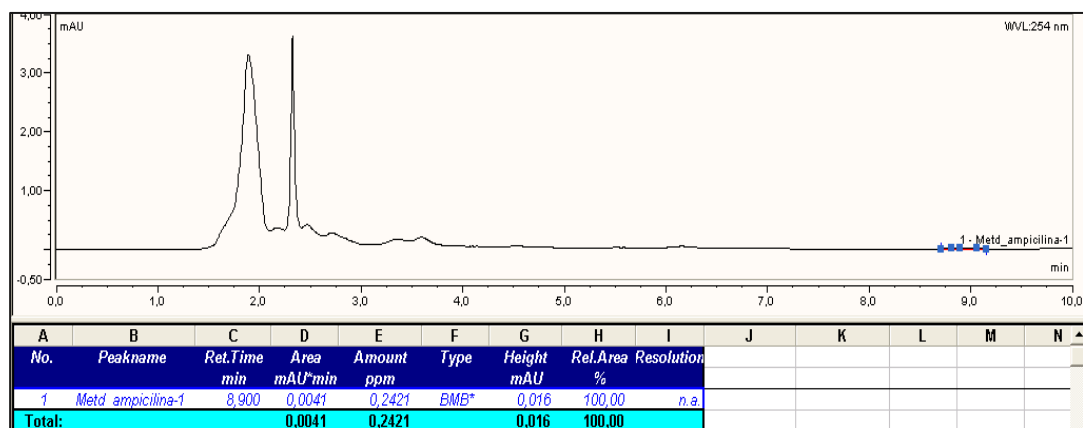


Figura 105. Cromatograma obtenido para el NIP 3 lavado b

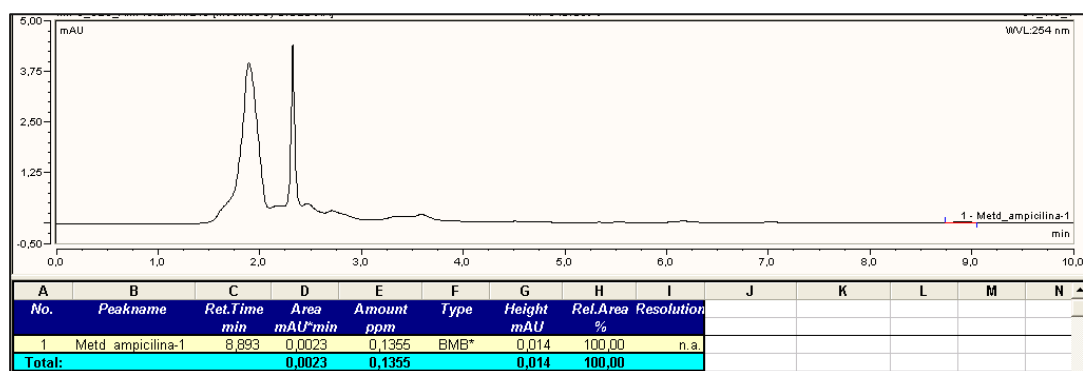


Figura 106. Cromatograma obtenido para el NIP 3 lavado c

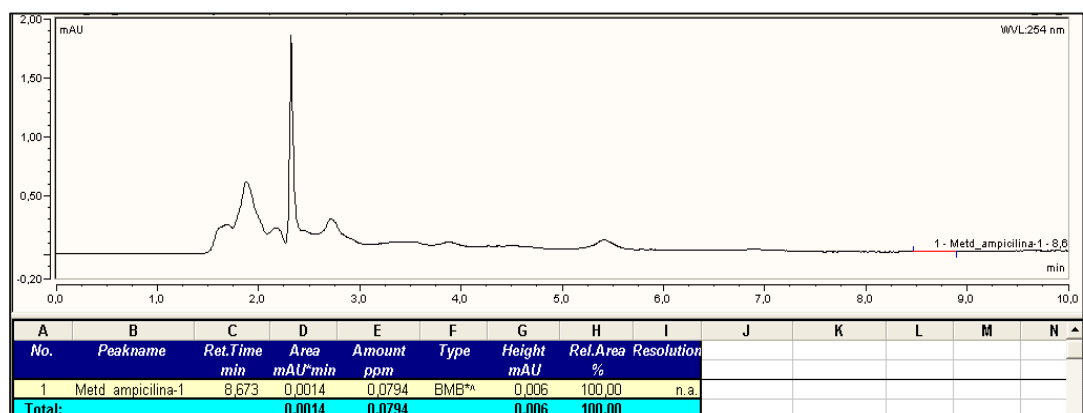


Figura 107. Cromatograma obtenido para el MIP 4 lavado a

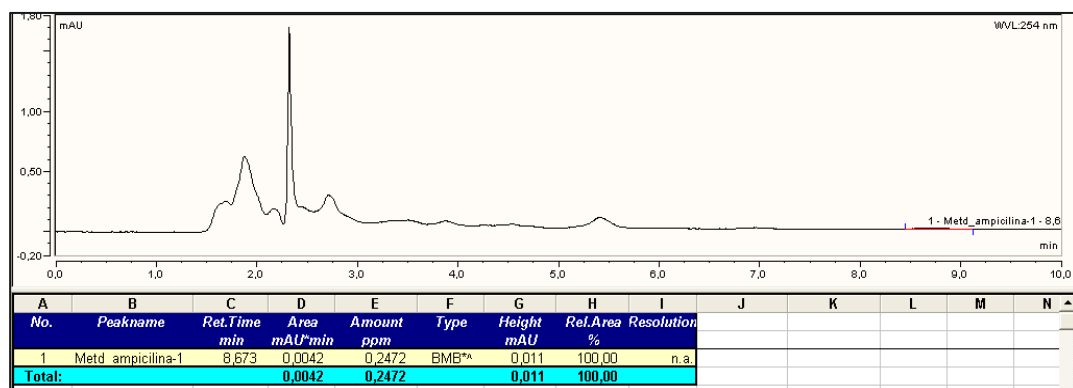


Figura 108. Cromatograma obtenido para el MIP 4 lavado b

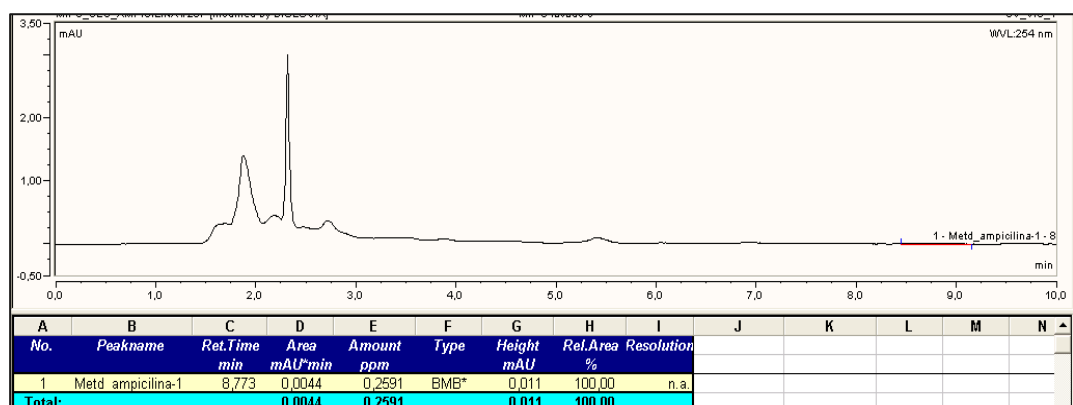


Figura 109. Cromatograma obtenido para el MIP 4 lavado c

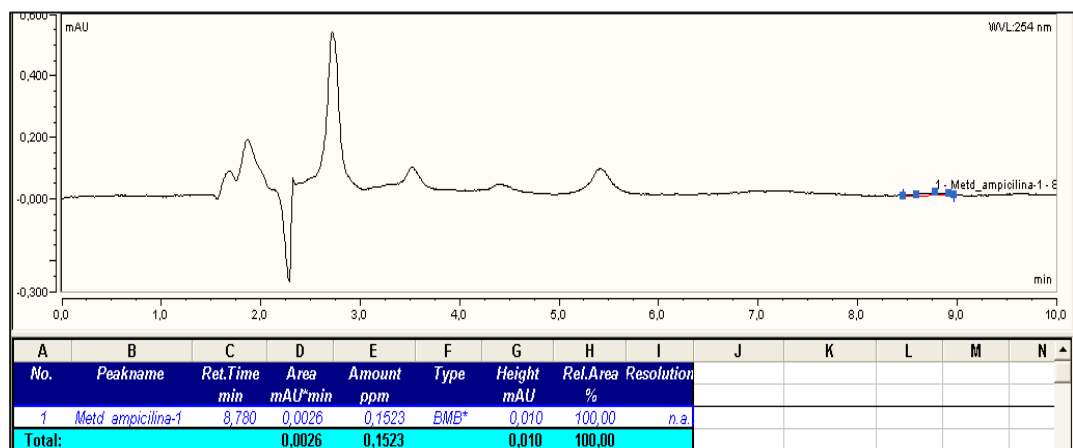


Figura 110. Cromatograma obtenido para el MIP 5 lavado a

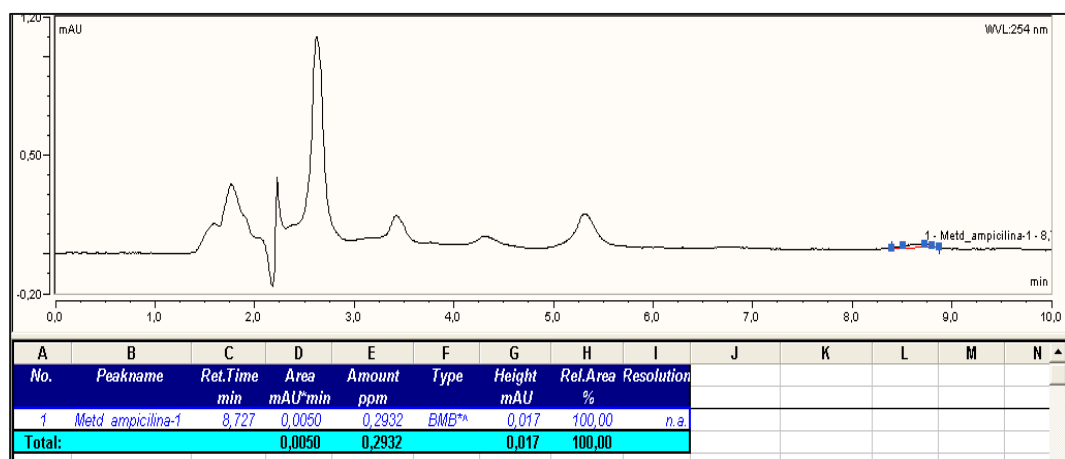


Figura 111. Cromatograma obtenido para el MIP 5 lavado b

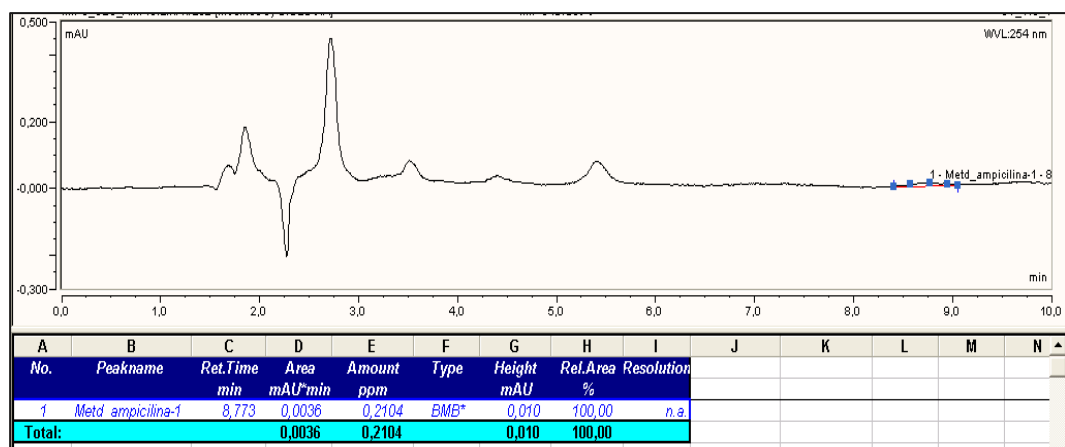


Figura 112. Cromatograma obtenido para el MIP 5 lavado c

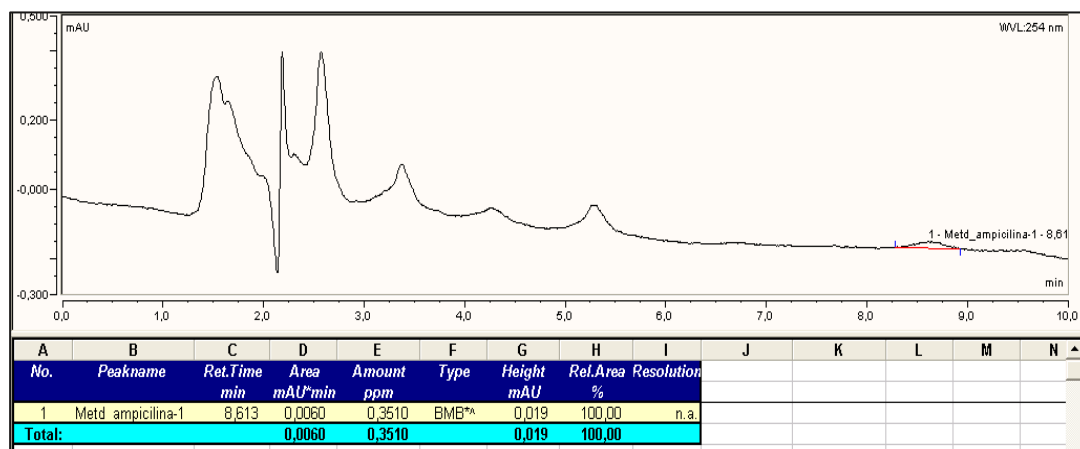


Figura 113. Cromatograma obtenido para el MIP 6 lavado a

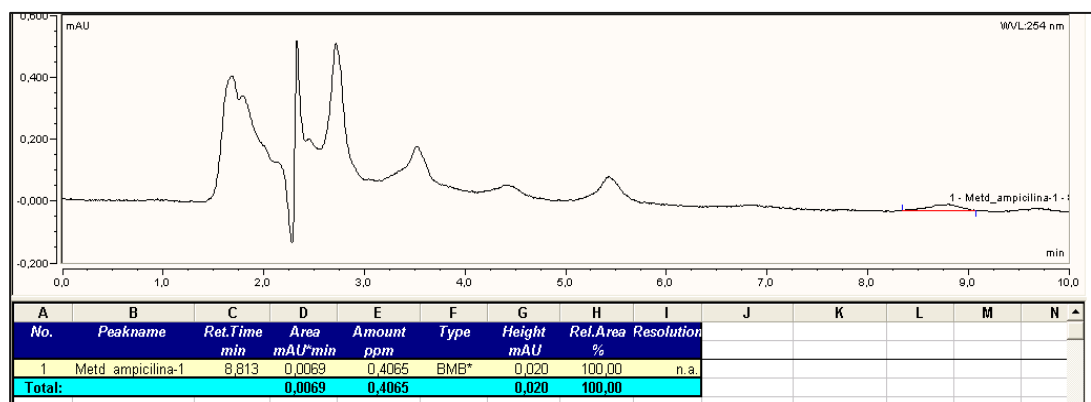


Figura 114. Cromatograma obtenido para el MIP 6 lavado b

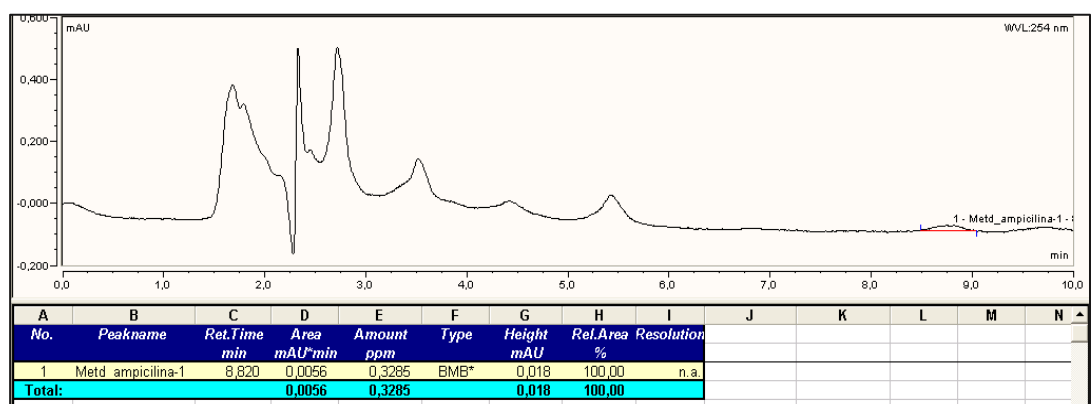


Figura 115. Cromatograma obtenido para el MIP 6 lavado c

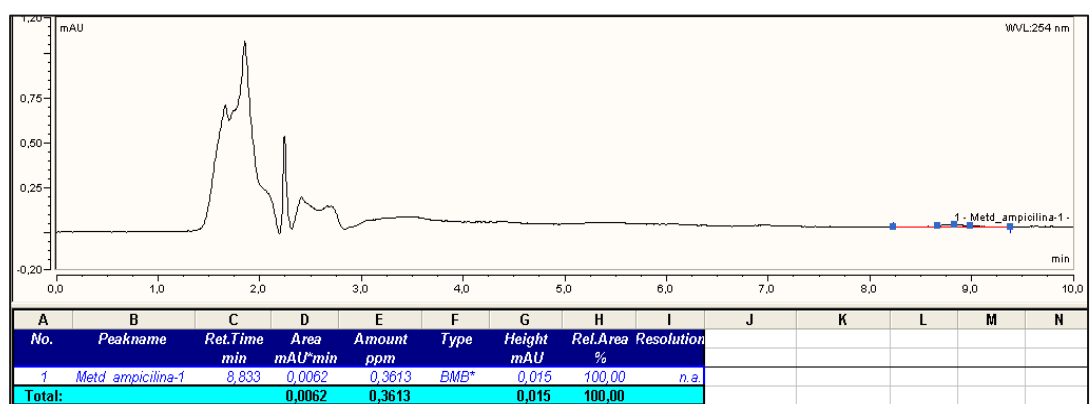


Figura 116. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción a

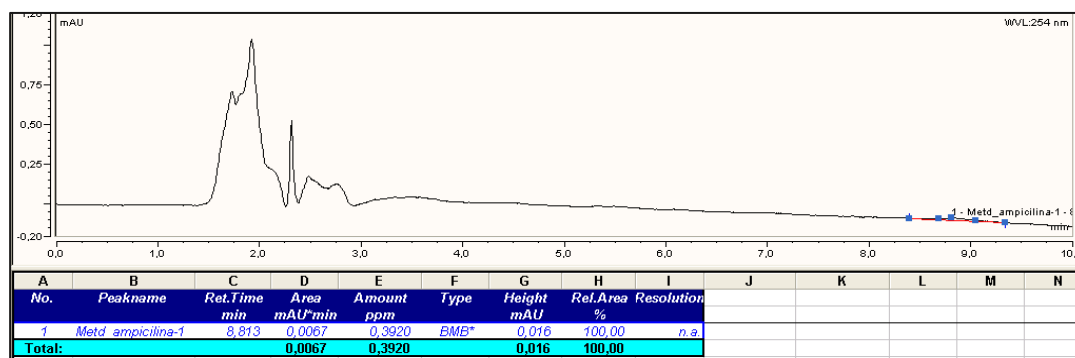


Figura 117. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción b

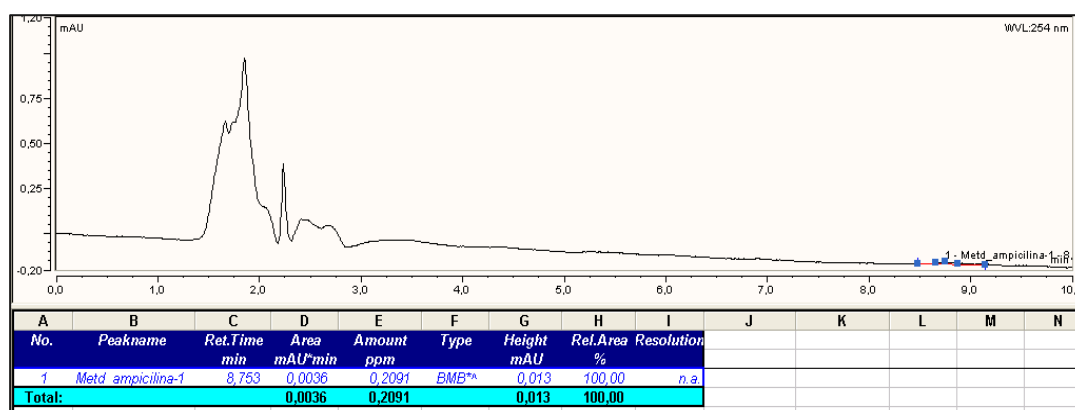


Figura 118. Cromatograma obtenido para el MIP 1 extracción c

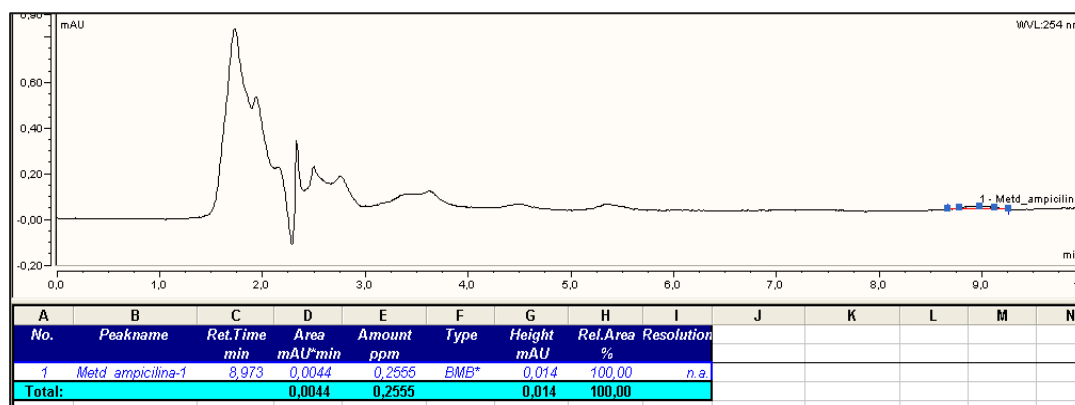


Figura 119. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción a

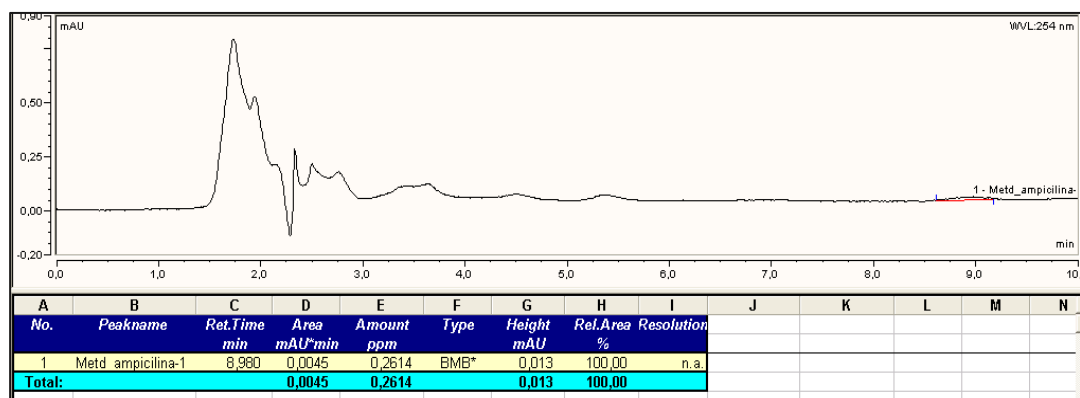


Figura 120. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción b

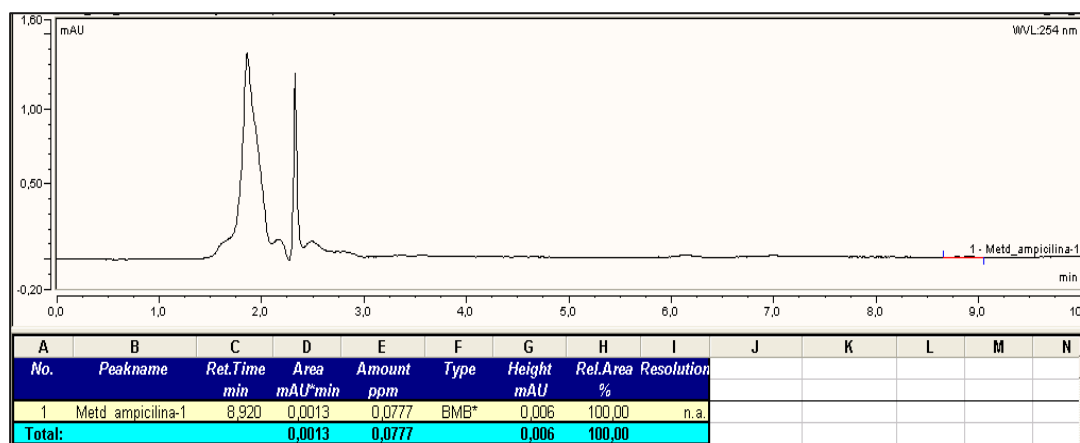


Figura 121. Cromatograma obtenido para el NIP 1 extracción c

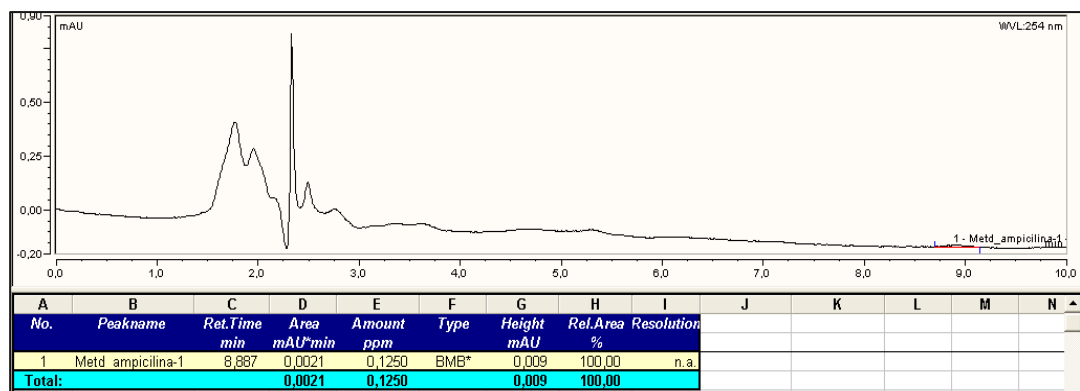


Figura 122. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción a

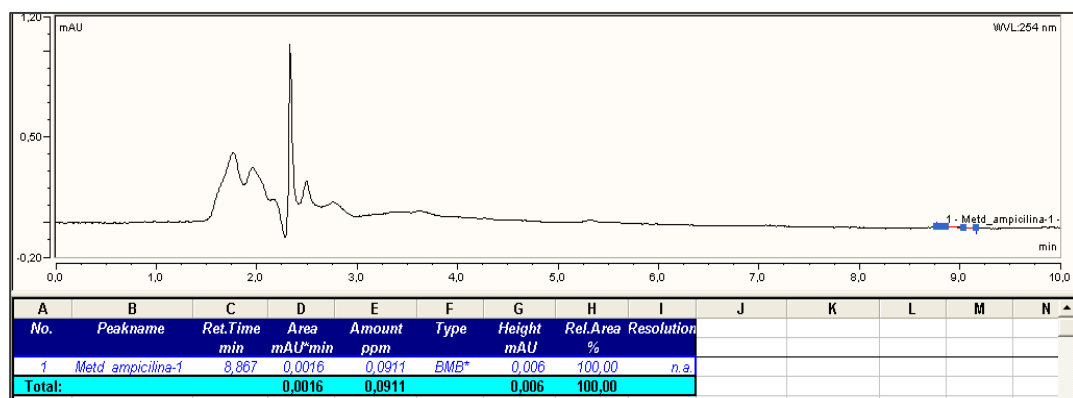


Figura 123. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción b

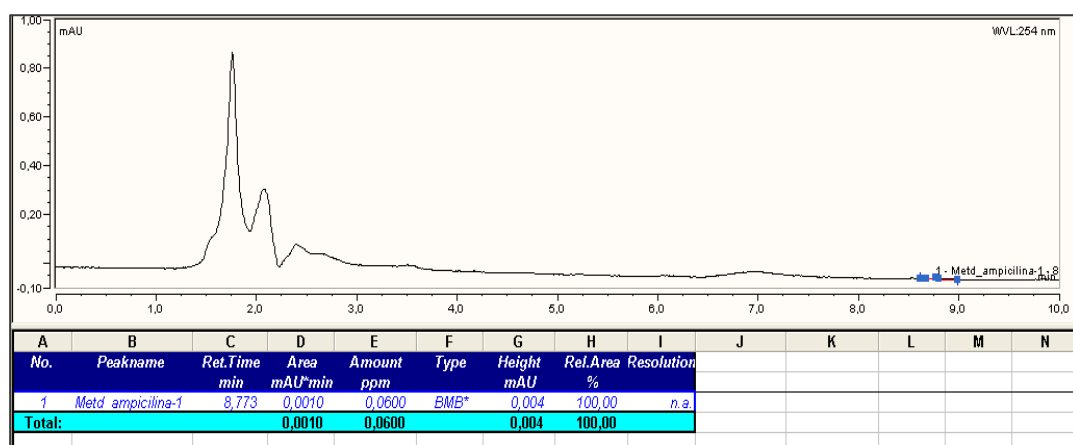


Figura 124. Cromatograma obtenido para el MIP 2 extracción c

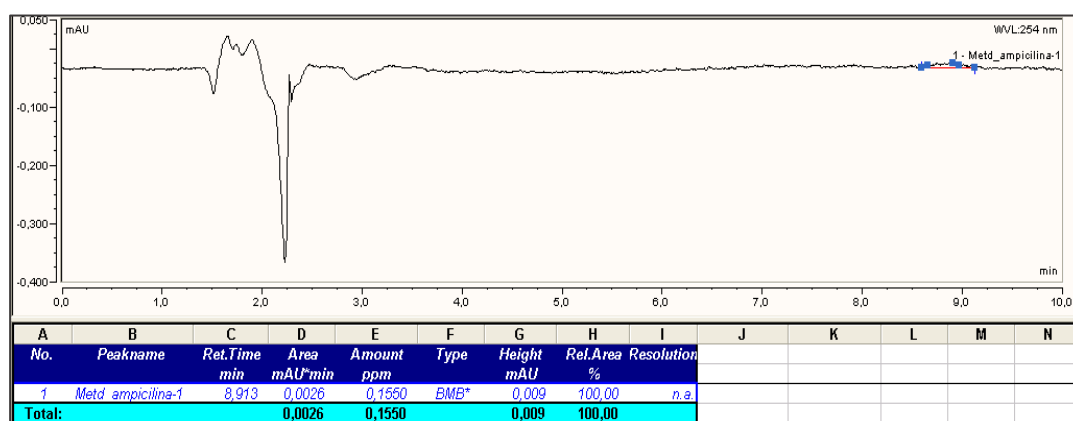


Figura 125. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción a

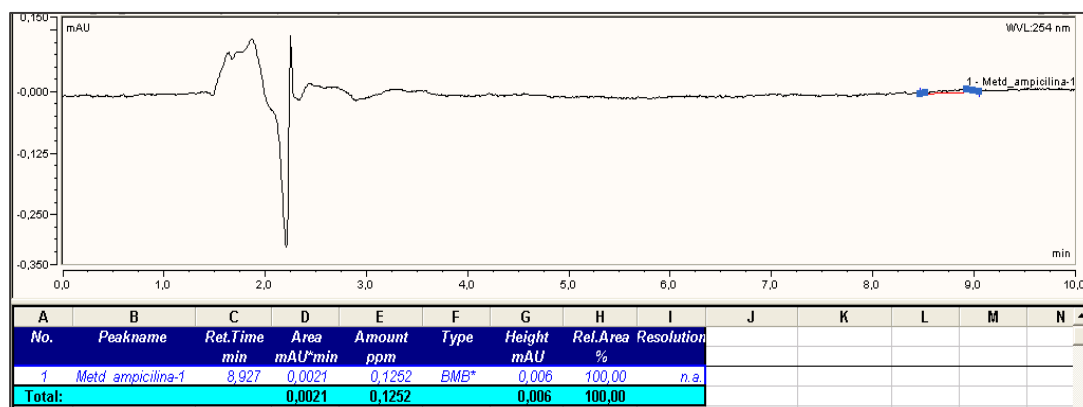


Figura 126. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción b

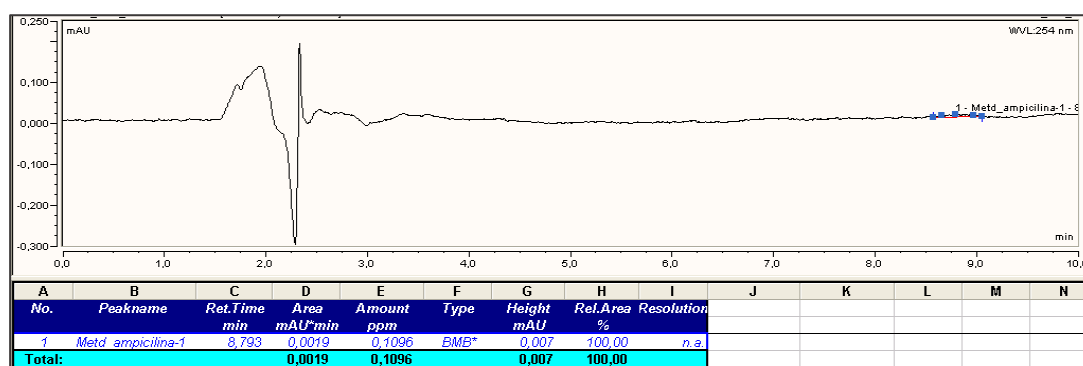


Figura 127. Cromatograma obtenido para el NIP 2 extracción c

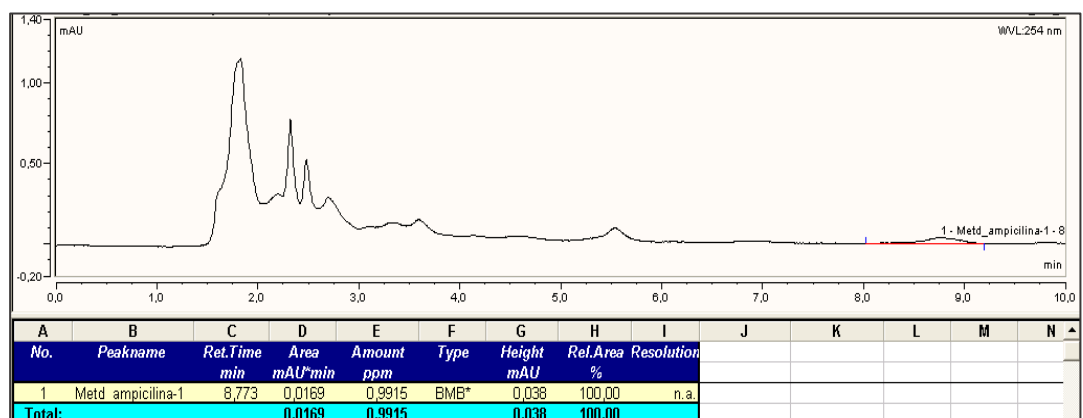


Figura 128. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción a

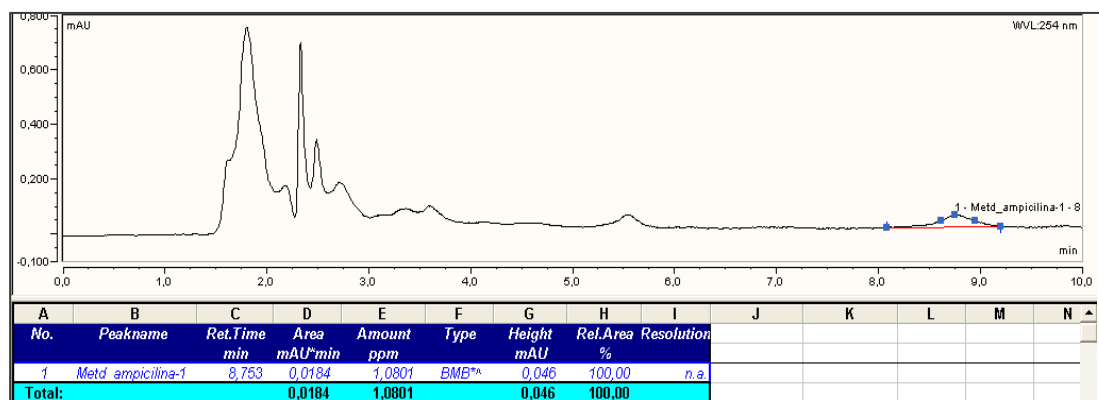


Figura 129. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción b

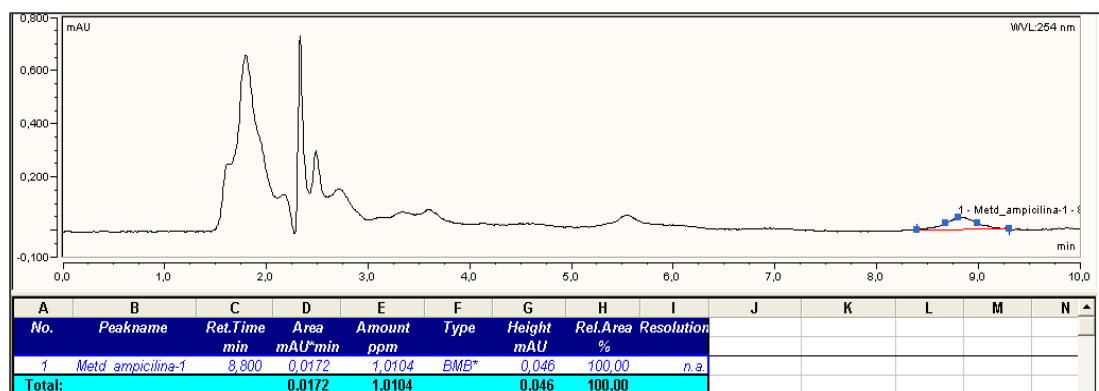


Figura 130. Cromatograma obtenido para el MIP 3 extracción c

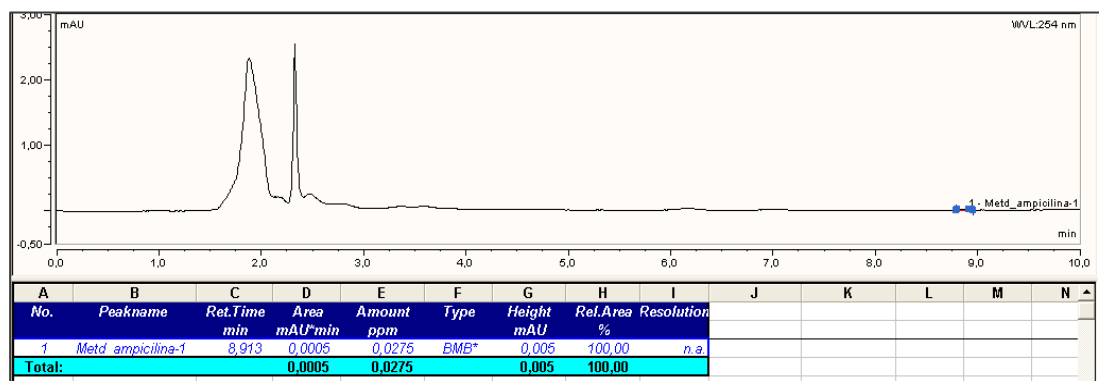


Figura 131. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción a

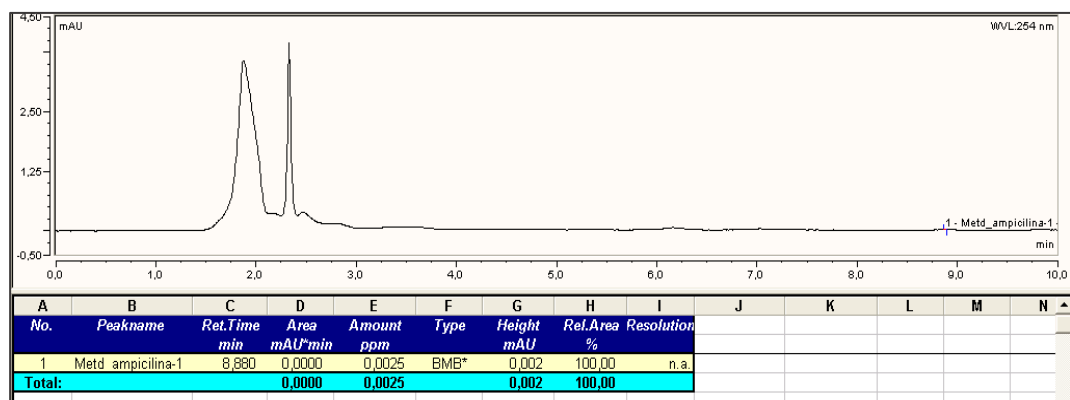


Figura 132. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción b

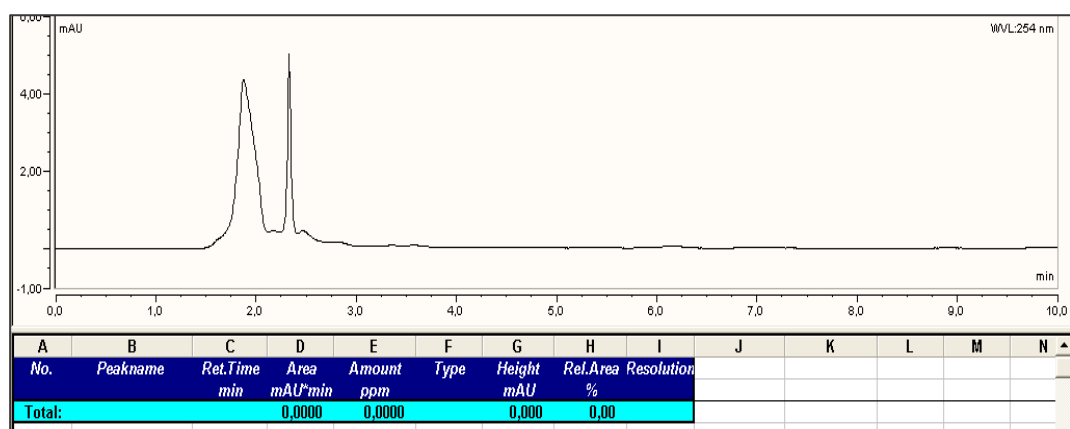


Figura 133. Cromatograma obtenido para el NIP 3 extracción c

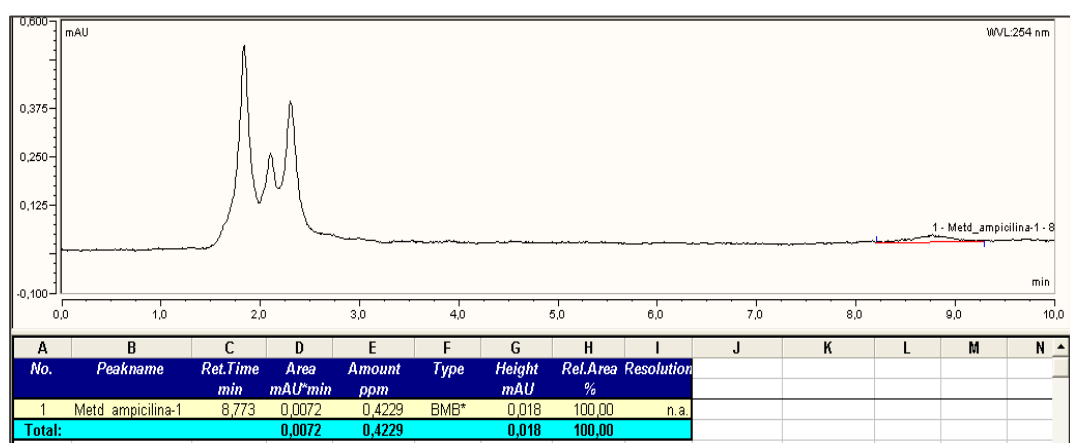


Figura 134. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción a

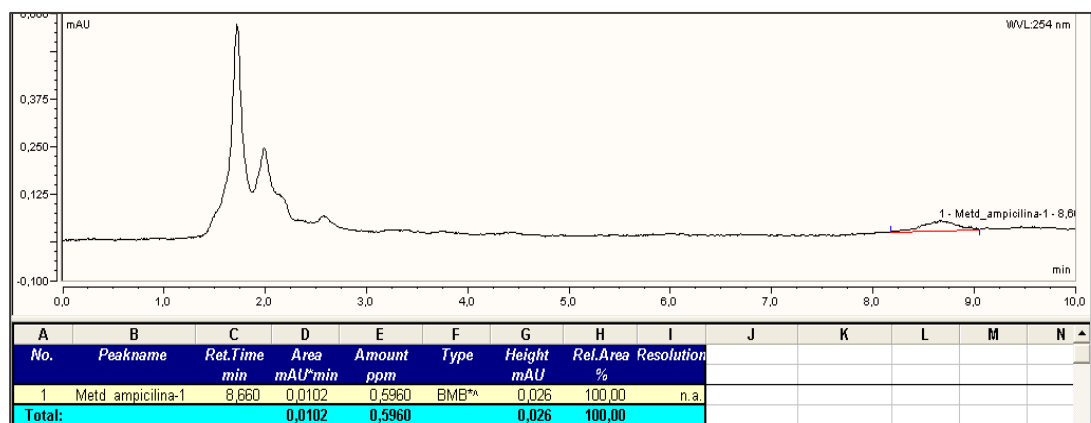


Figura 135. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción b

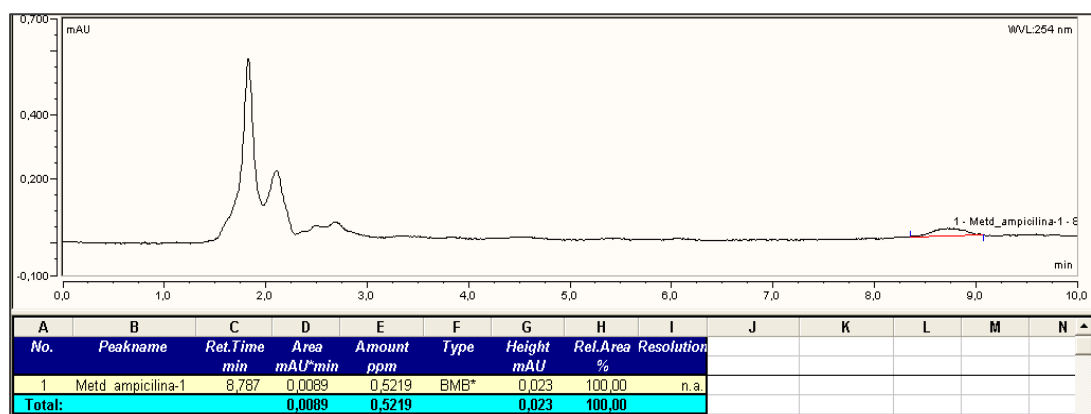


Figura 136. Cromatograma obtenido para el MIP 4 extracción c

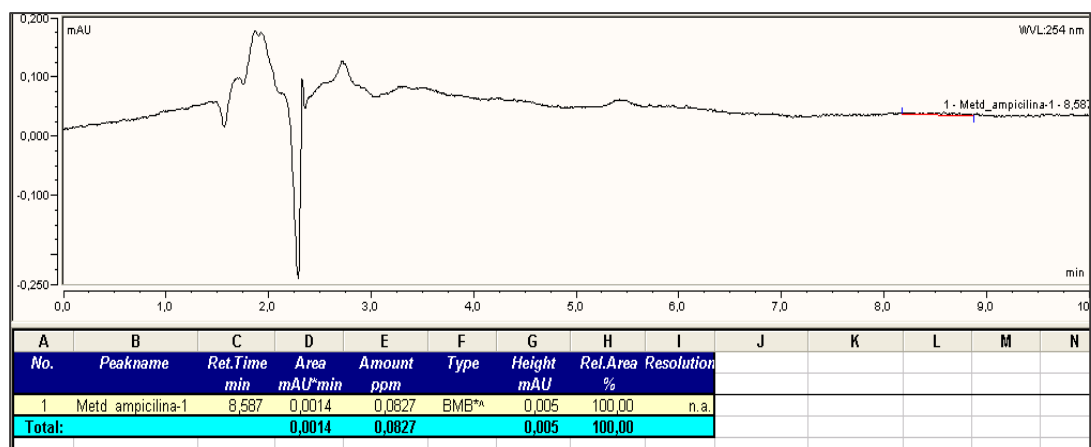


Figura 137. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción a

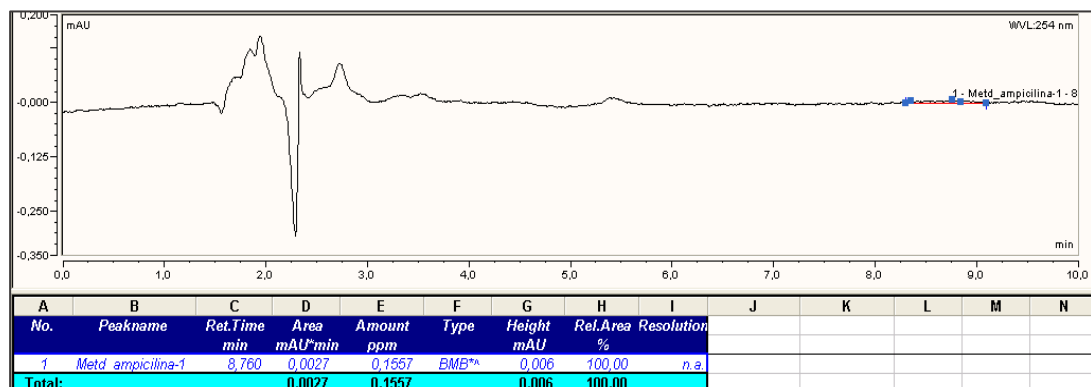


Figura 138. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción b

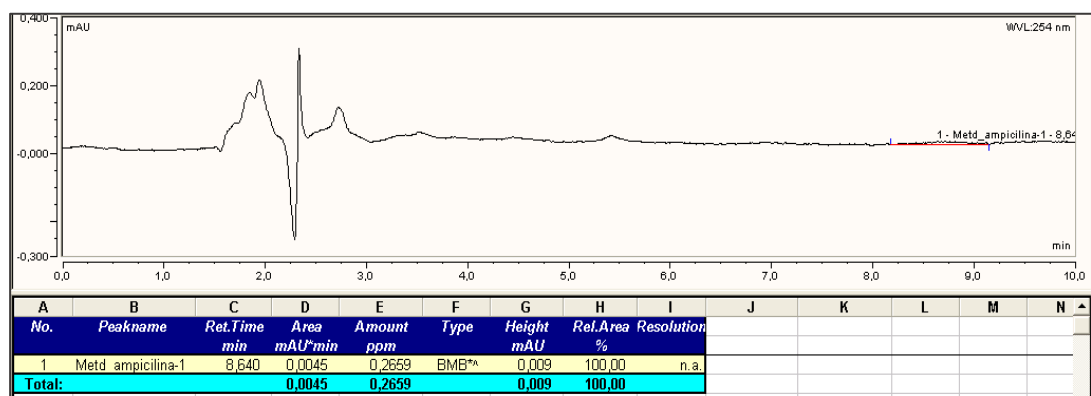


Figura 139. Cromatograma obtenido para el MIP 5 extracción c

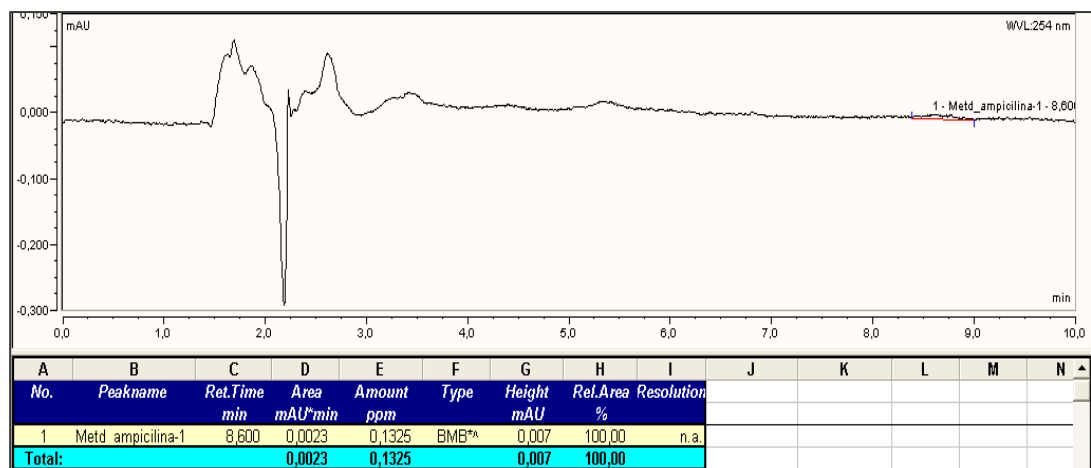


Figura 140. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción a

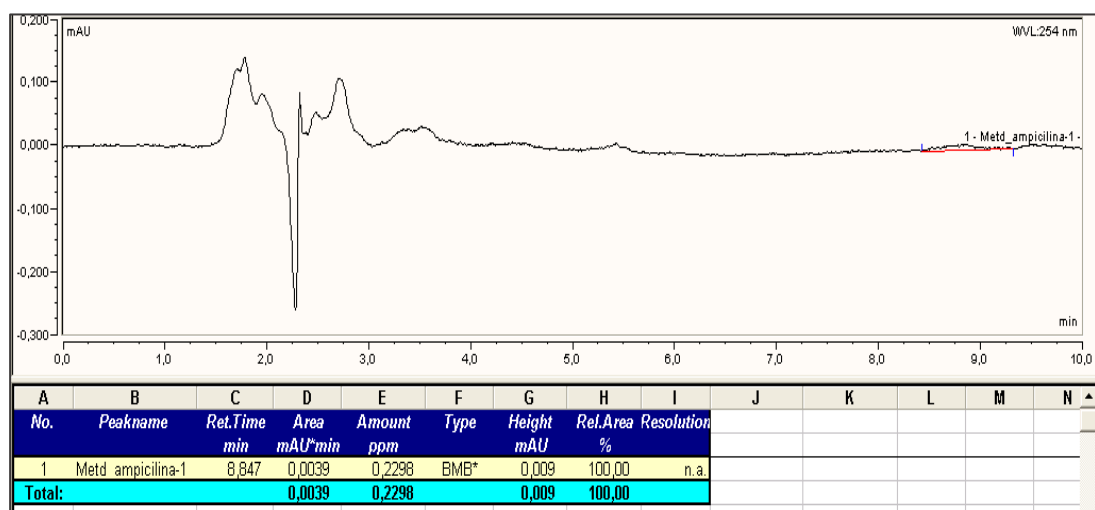


Figura 141. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción b

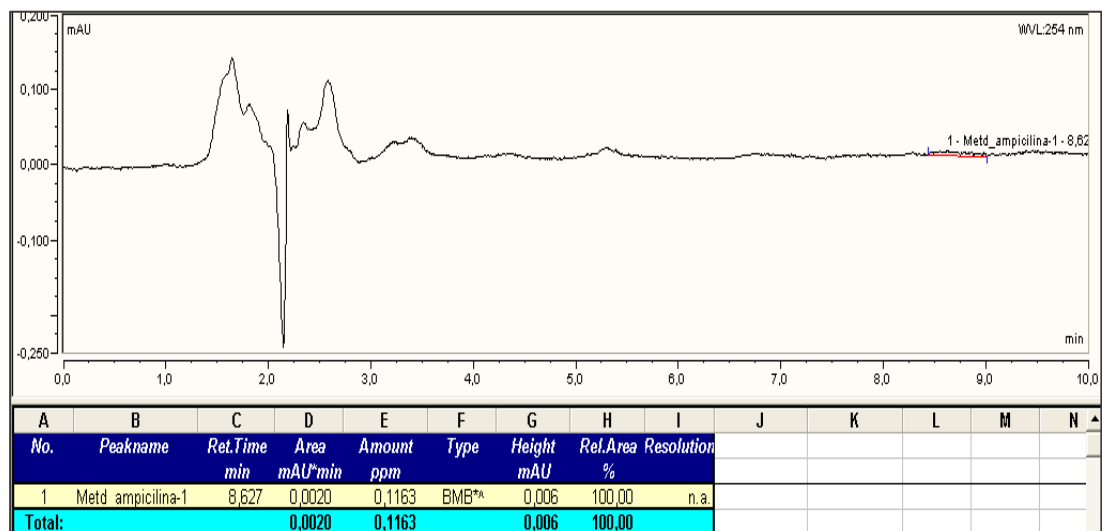


Figura 142. Cromatograma obtenido para el MIP 6 extracción c

3. Cromatogramas de la ampicilina variando la longitud de onda

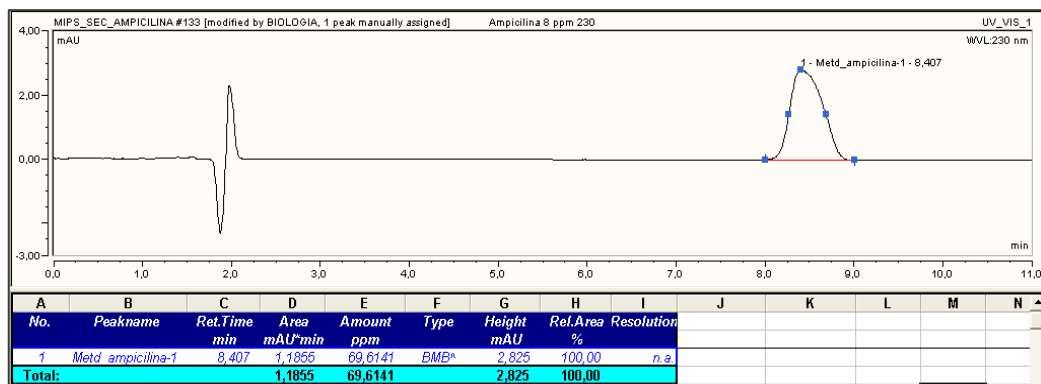


Figura 143. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 230 nm

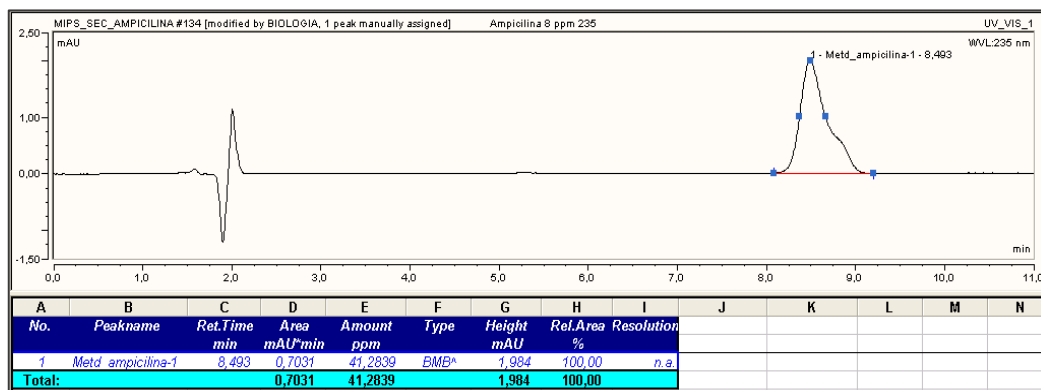


Figura 144. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 235 nm

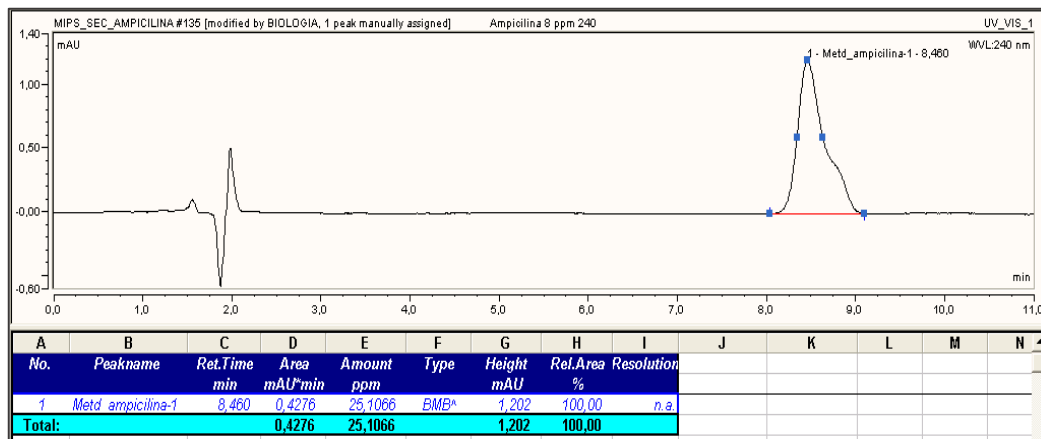


Figura 145. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 240 nm

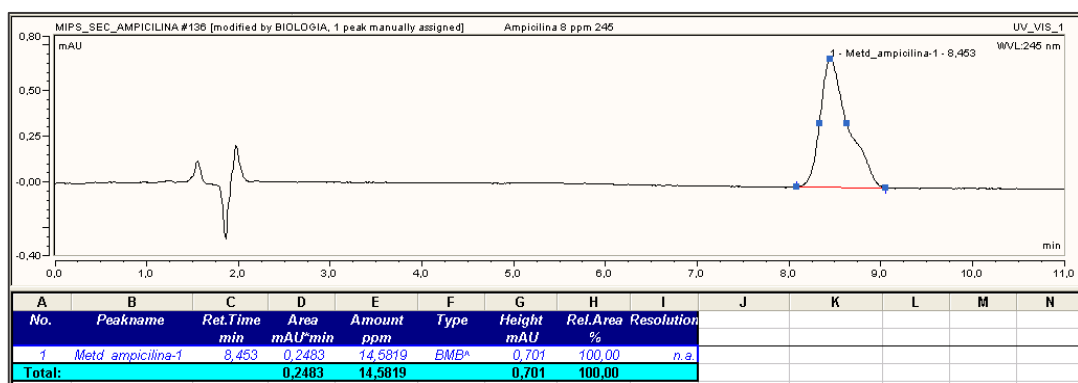


Figura 146. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 245 nm

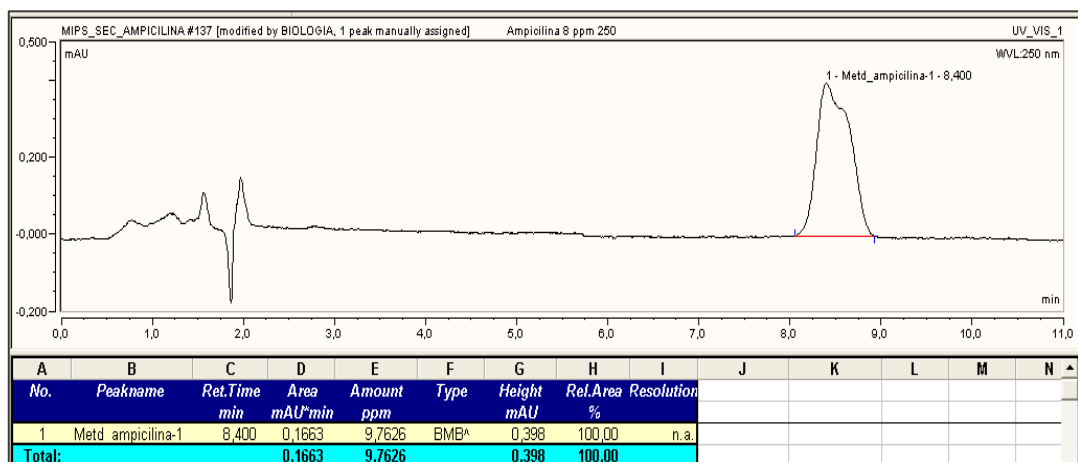


Figura 147. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 250 nm

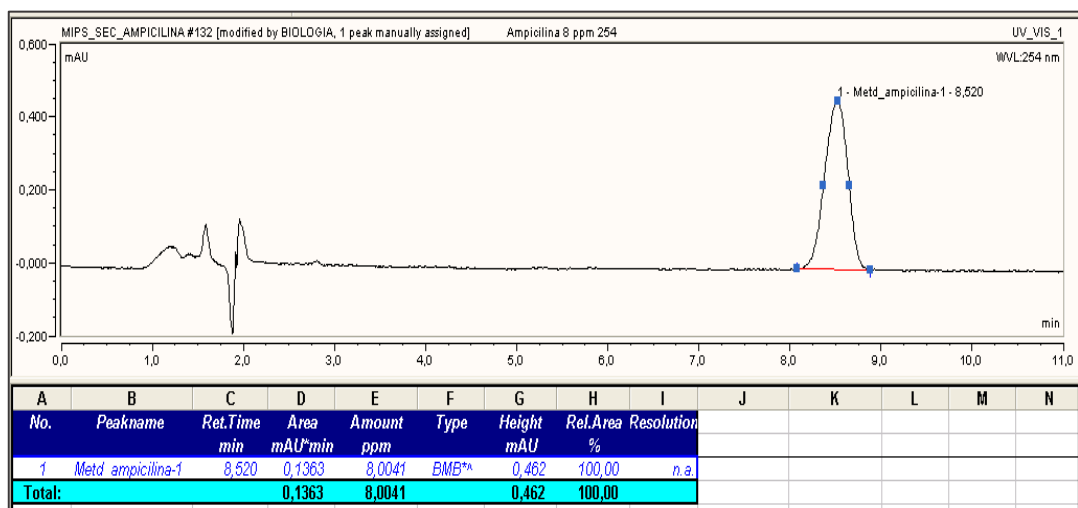


Figura 148. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 254 nm

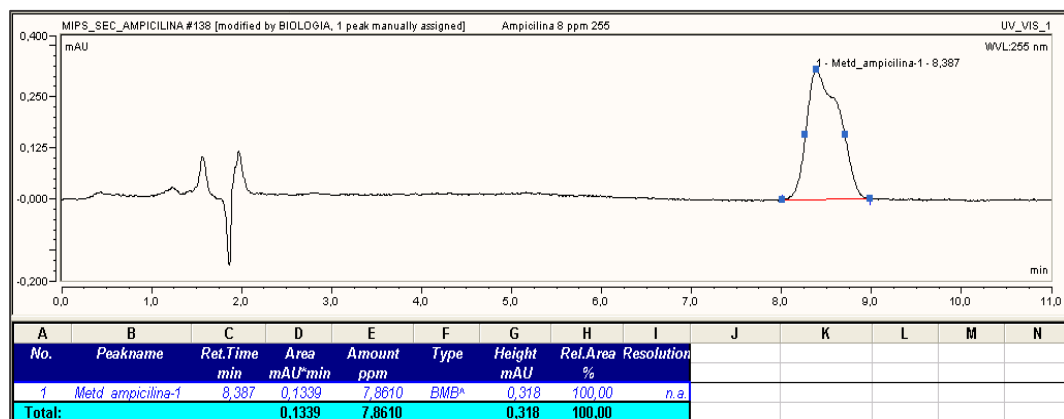


Figura 149. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 255 nm

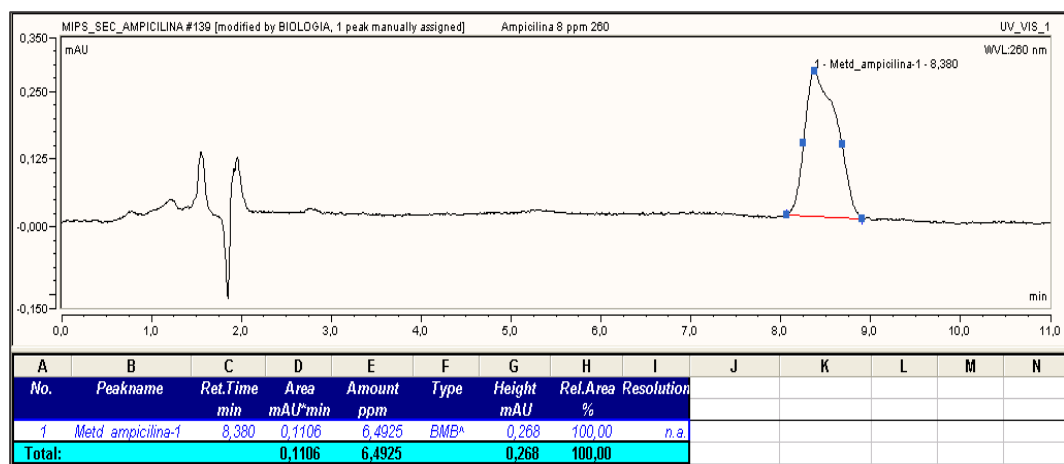


Figura 150. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 260 nm

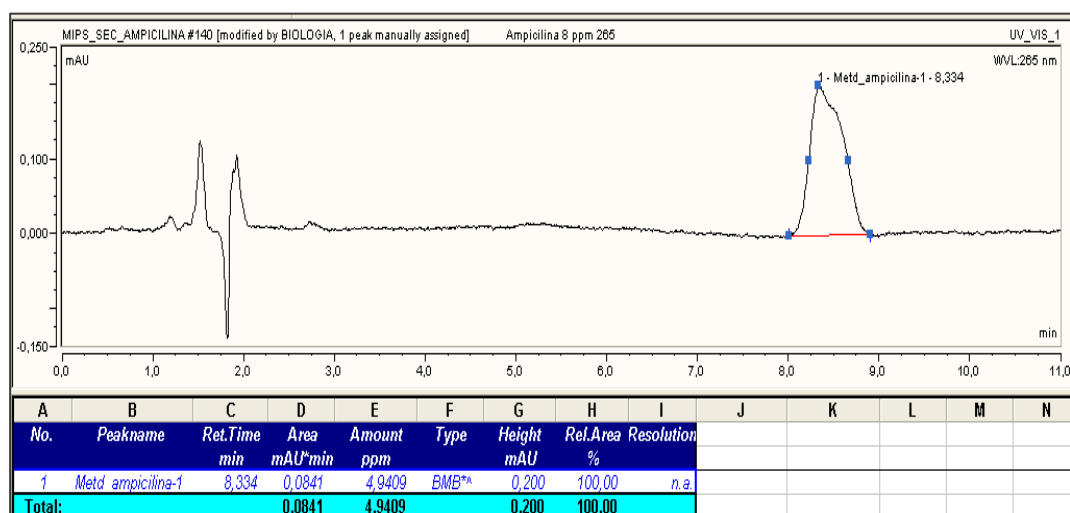


Figura 151. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 265 nm

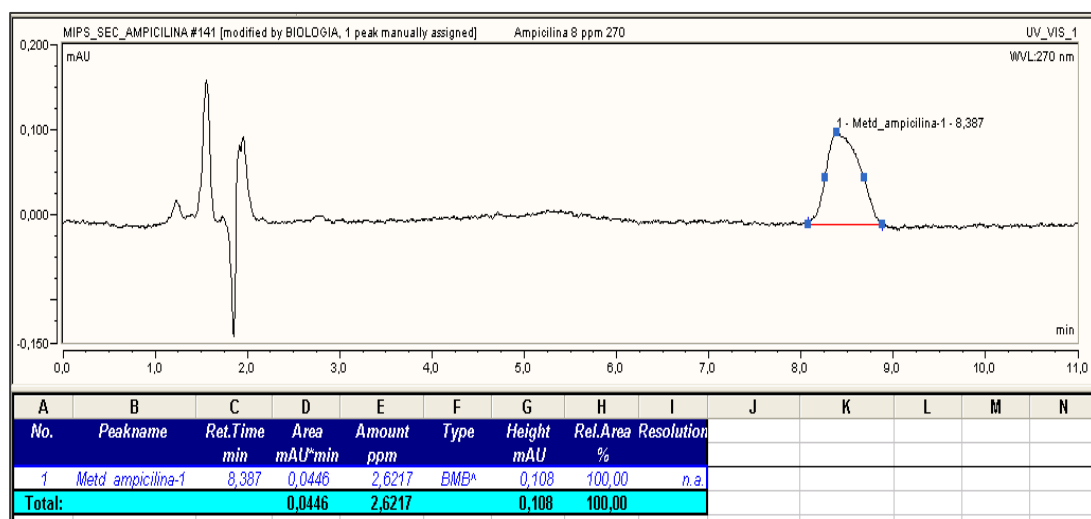


Figura 152. Cromatograma de la solución de ampicilina de 8 ppm a 270 nm

4. Espectros FT-IR de los polímeros bajo estudio.

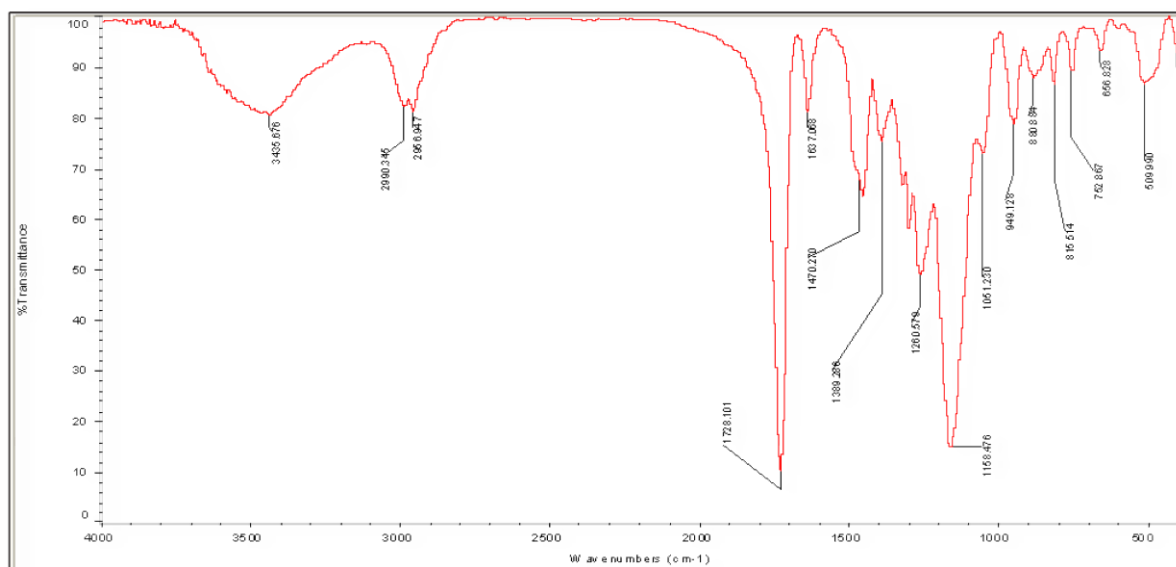


Figura 153. Espectro FT-IR del MIP 1 sin lavar

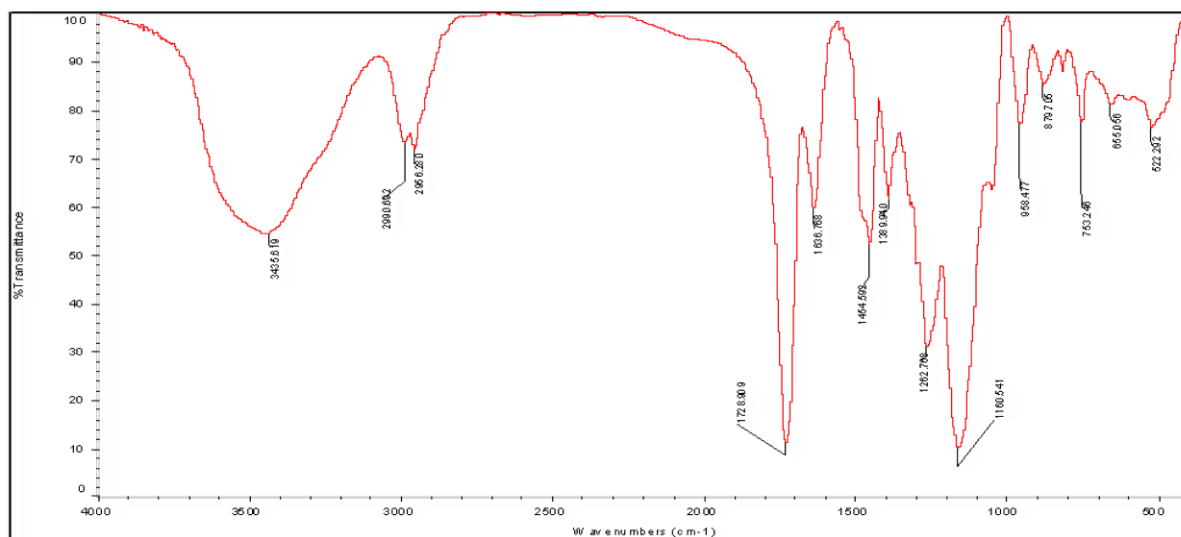


Figura 154. Espectro FT-IR del MIP 2 sin lavar

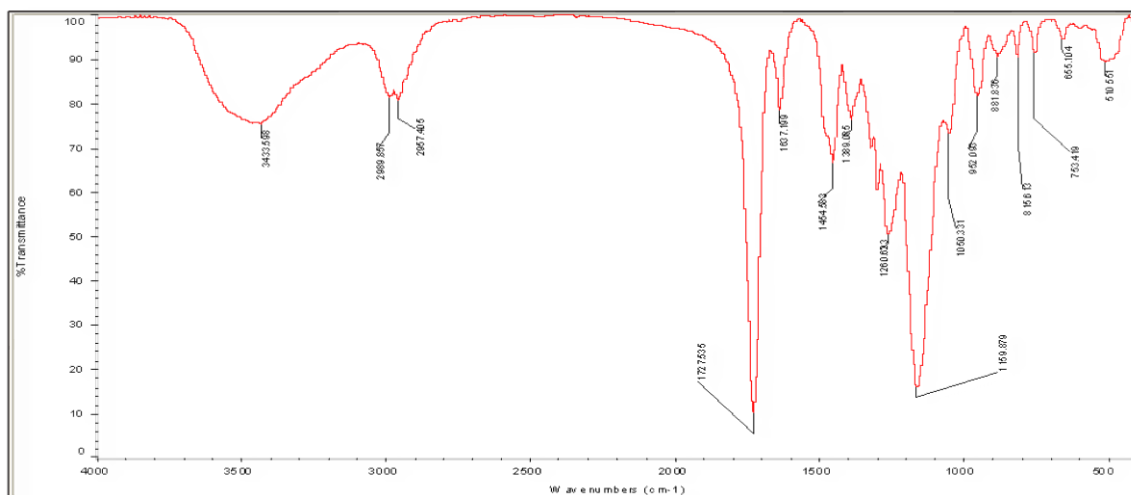


Figura 155. Espectro FT-IR del MIP 3 sin lavar

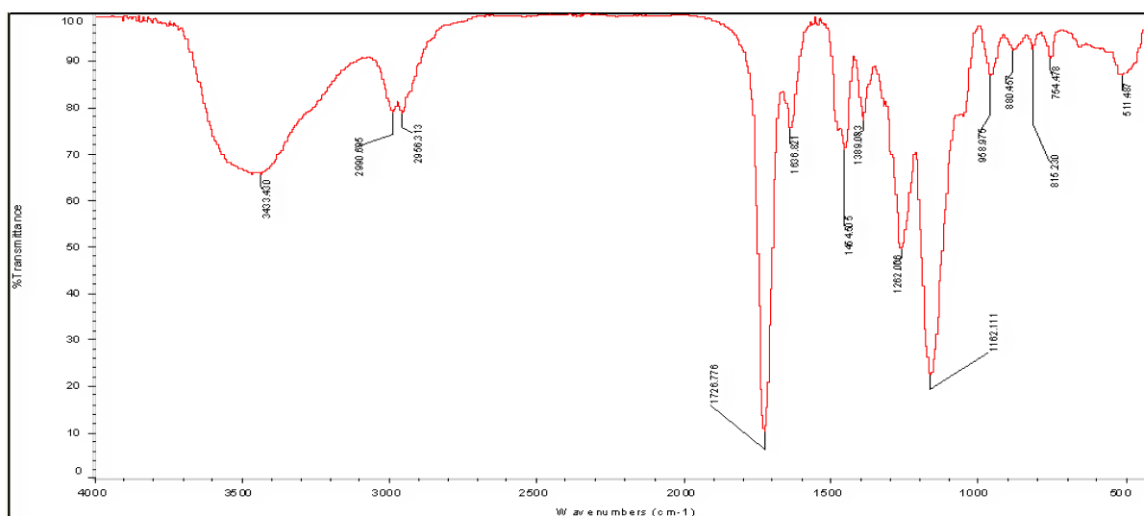


Figura 156. Espectro FT-IR del MIP 4 sin lavar

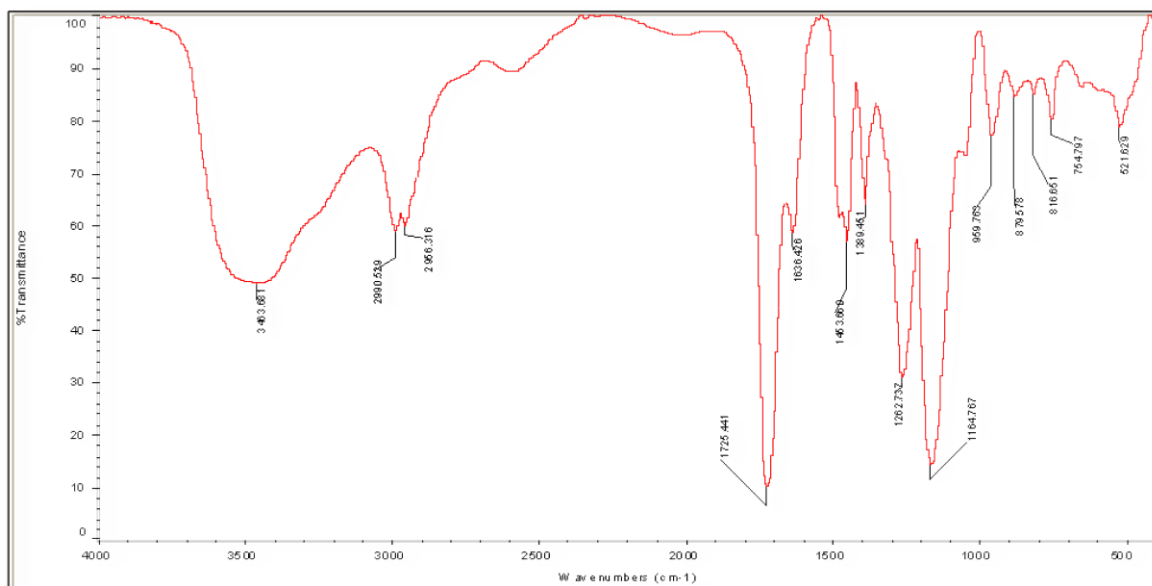


Figura 157. Espectro FT-IR del MIP 5 sin lavar

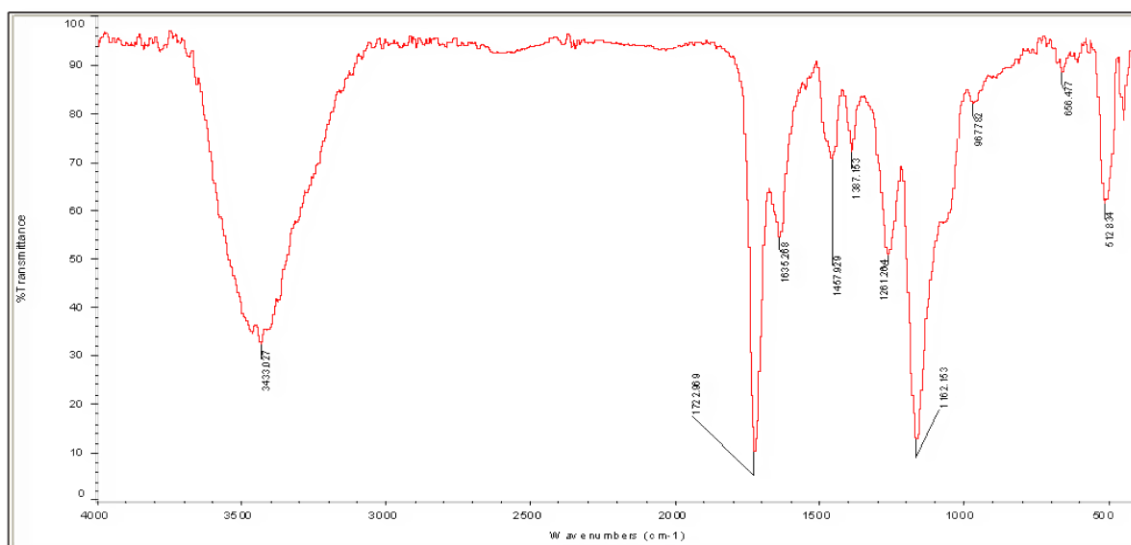


Figura 158. Espectro FT-IR del MIP 6 sin lavar

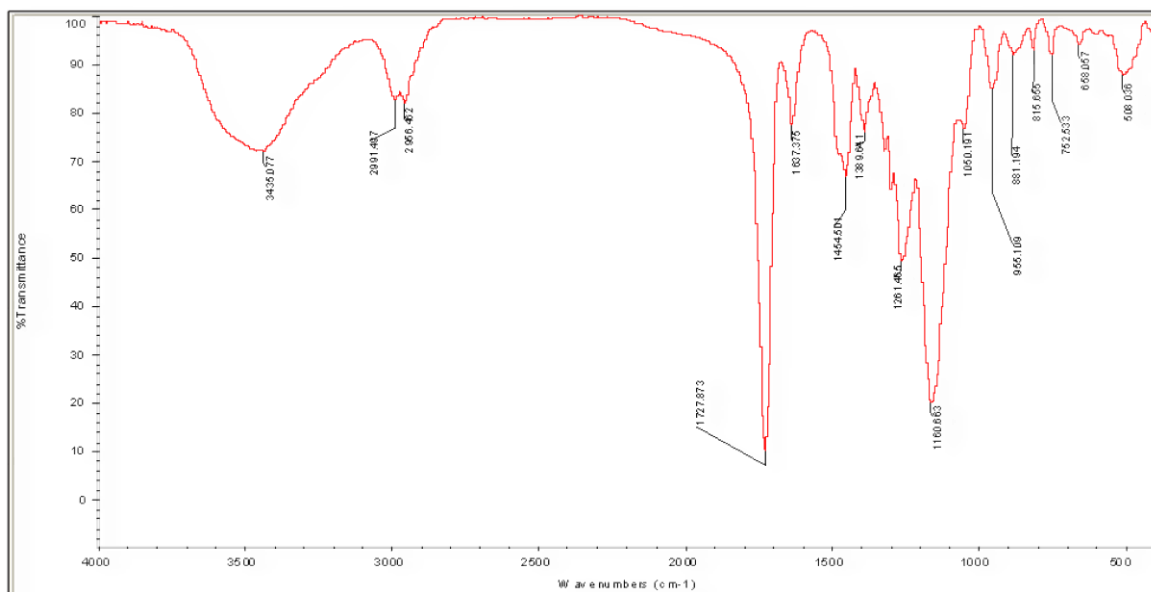


Figura 159. Espectro FT-IR del MIP 1 lavado

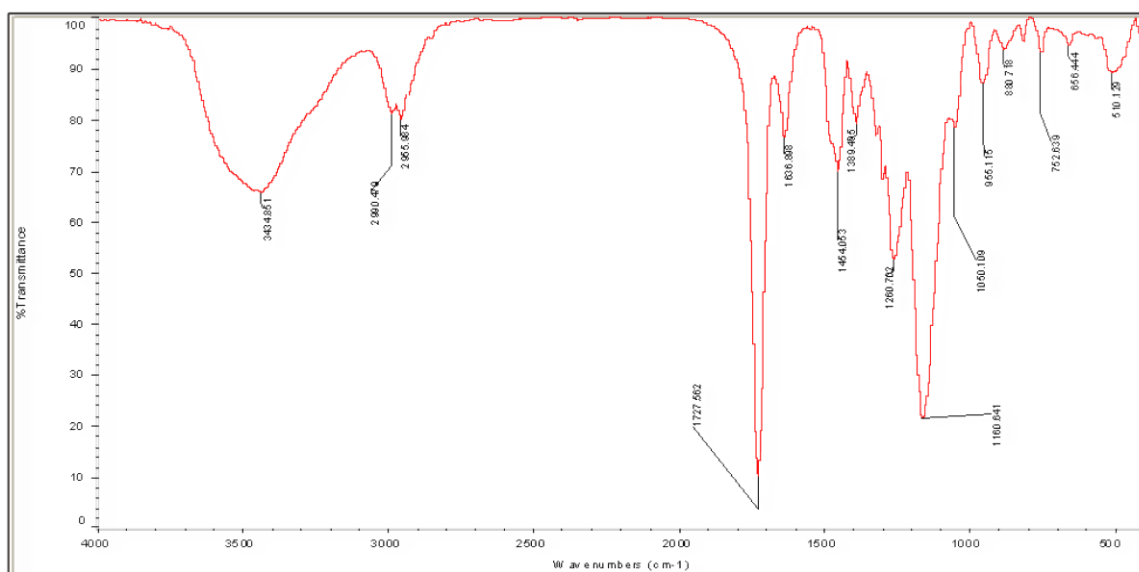


Figura 160. Espectro FT-IR del MIP 2 lavado

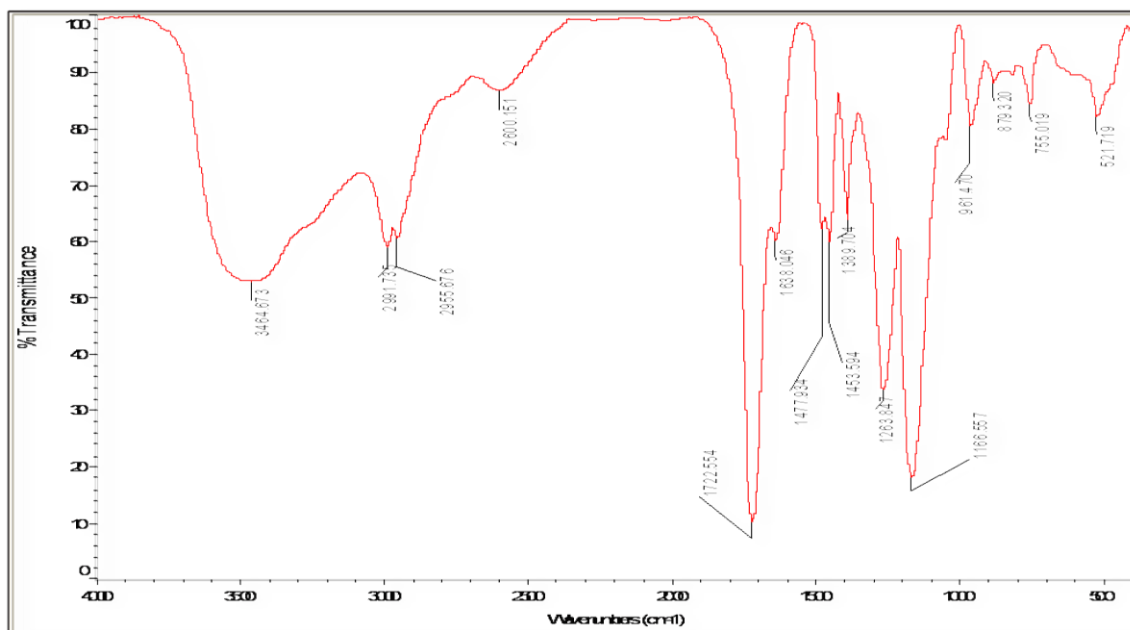


Figura 161. Espectro FT-IR del MIP 3 lavado

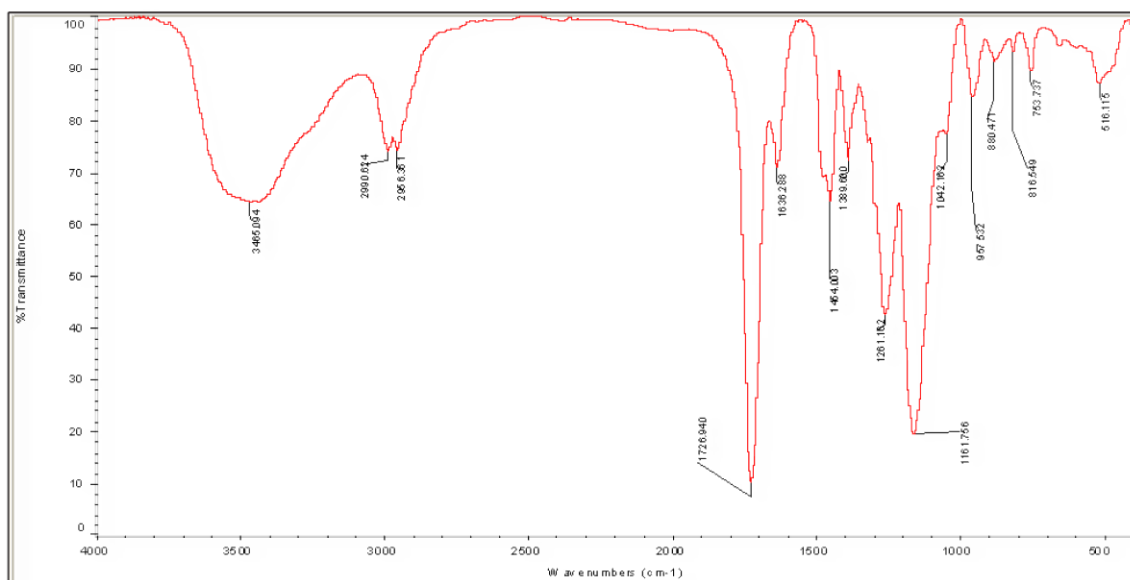


Figura 162. Espectro FT-IR del MIP 4 lavado

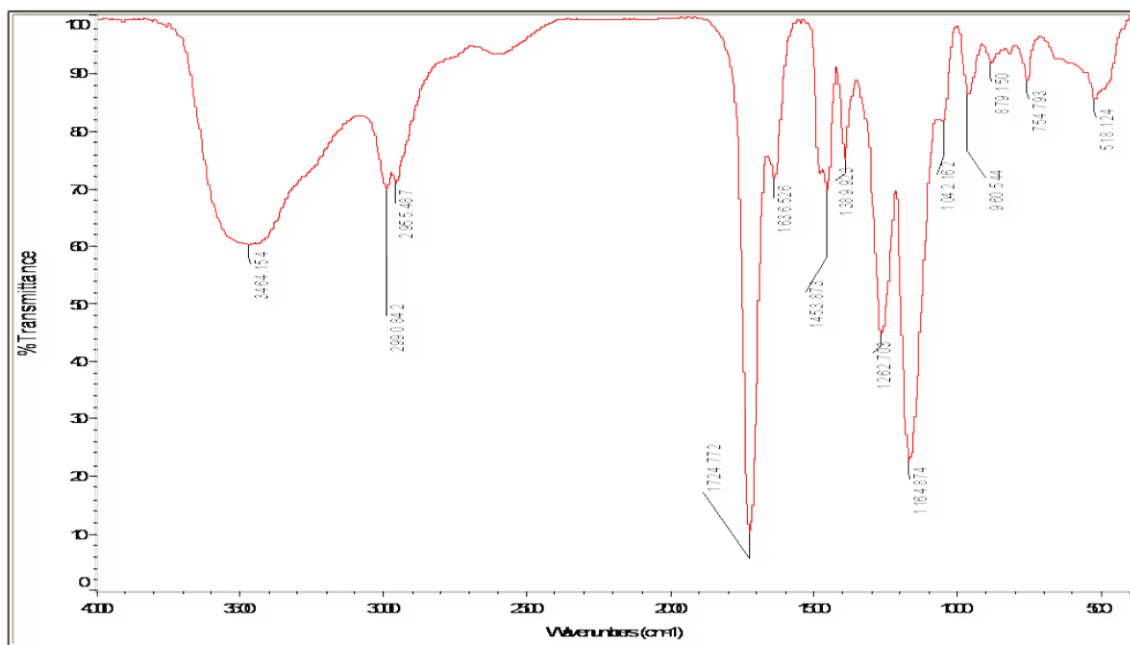


Figura 163. Espectro FT-IR del MIP 5 lavado

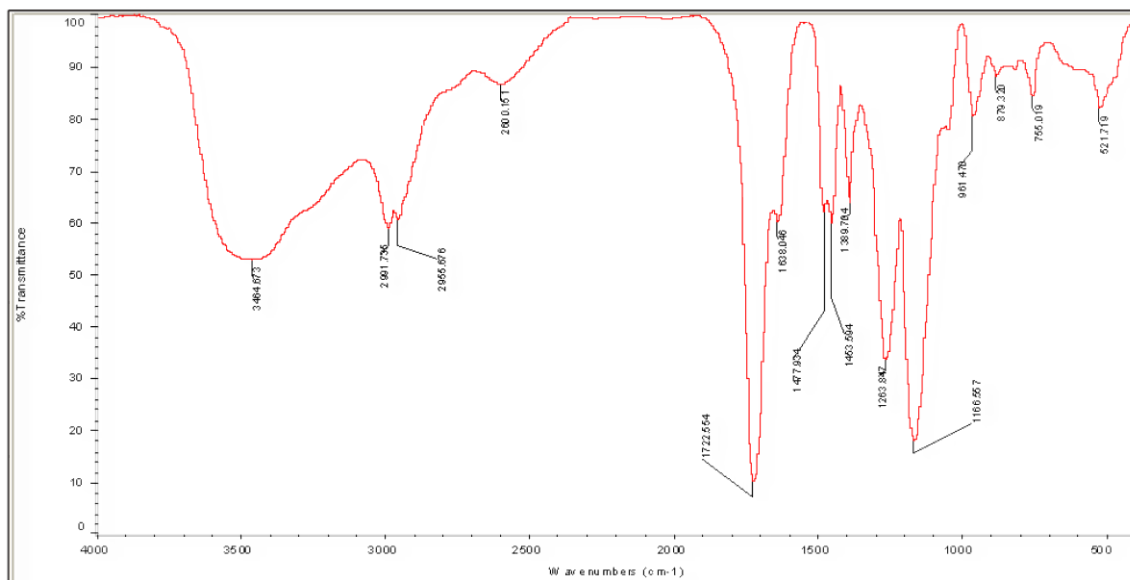


Figura 164. Espectro FT-IR del MIP 6 lavado

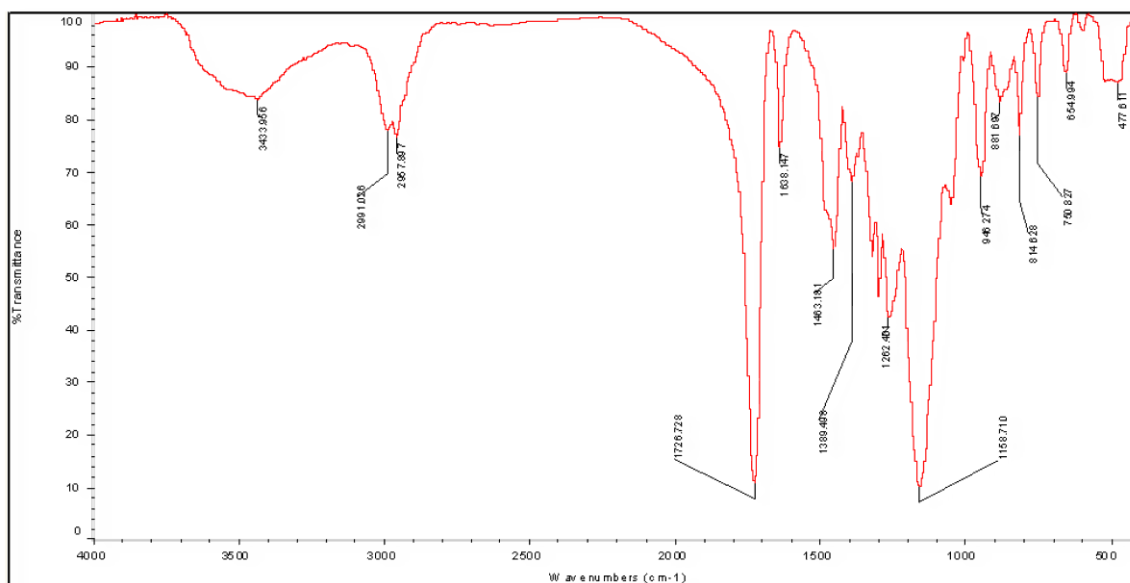


Figura 165. Espectro FT-IR del NIP 1

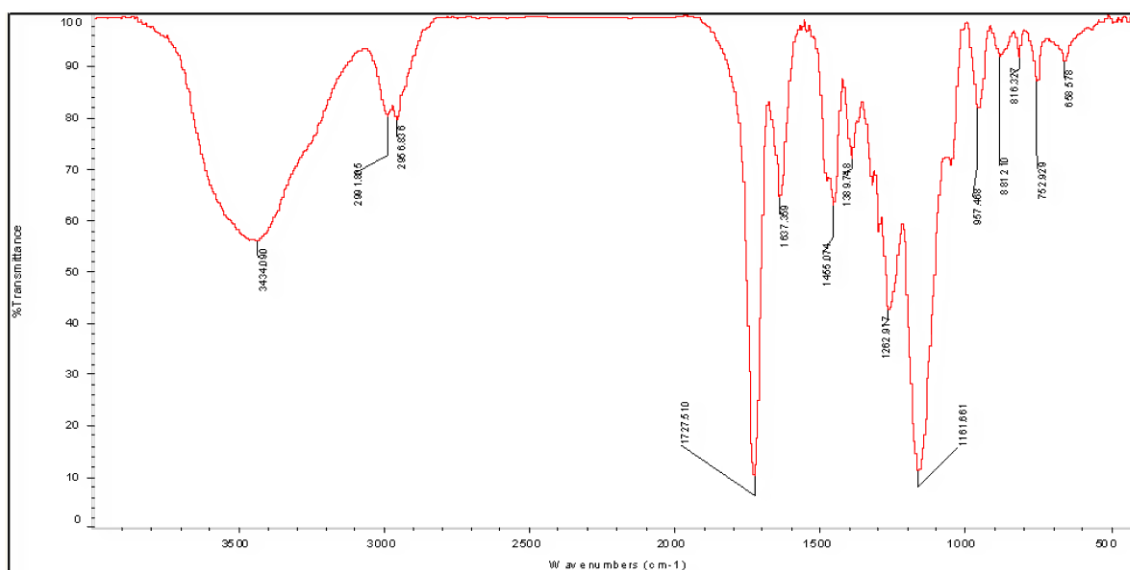


Figura 166. Espectro FT-IR del NIP 2

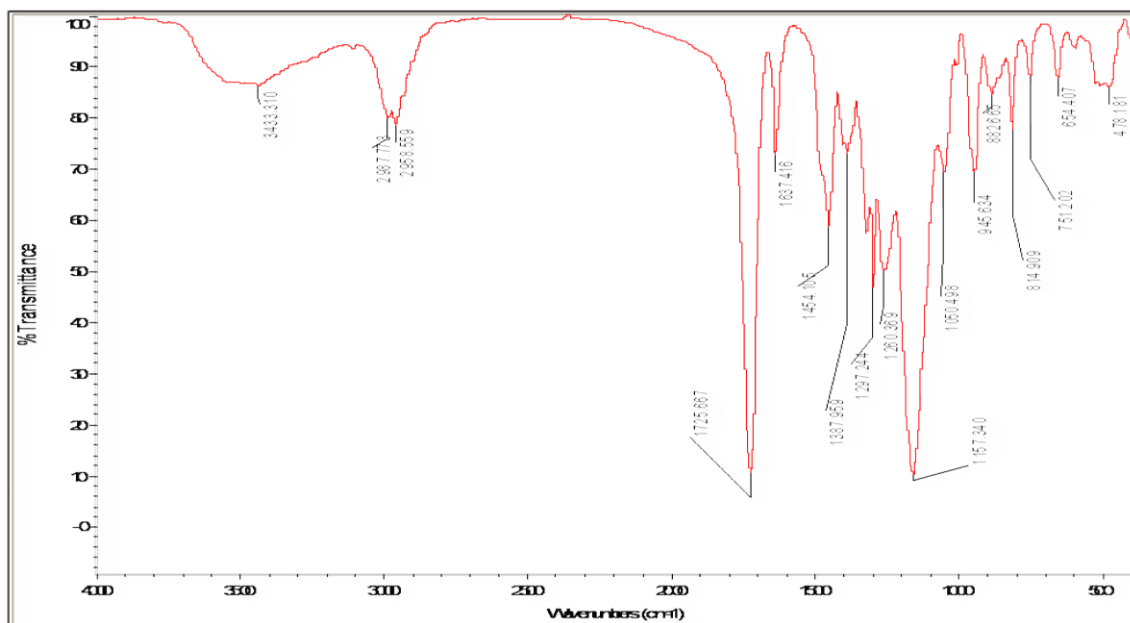


Figura 167. Espectro FT-IR del NIP 3

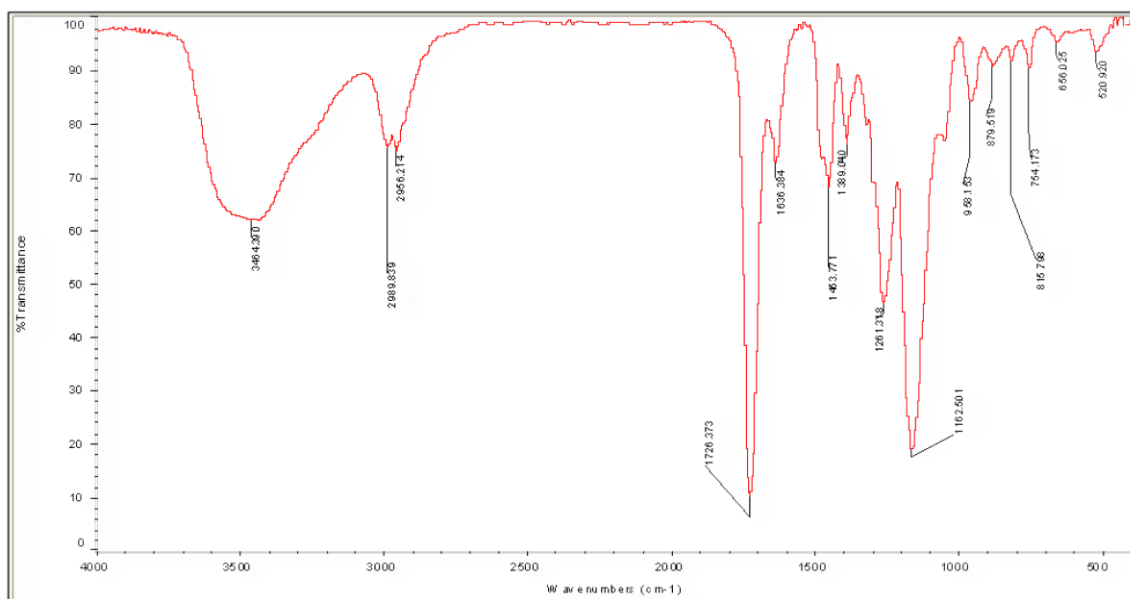


Figura 168. Espectro FT-IR del NIP 4

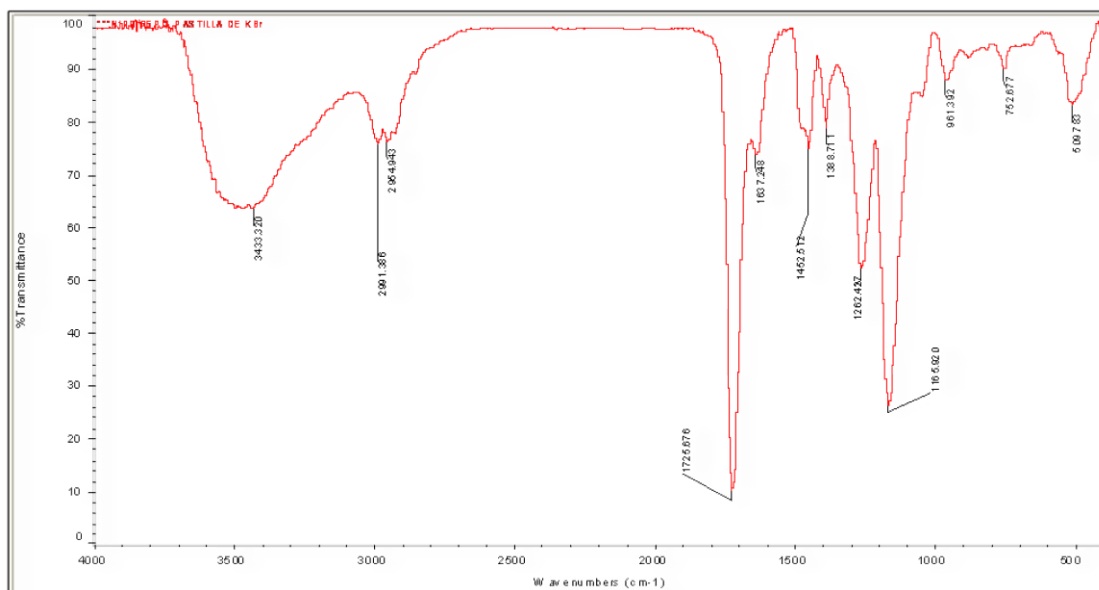


Figura 169. Espectro FT-IR del NIP 5

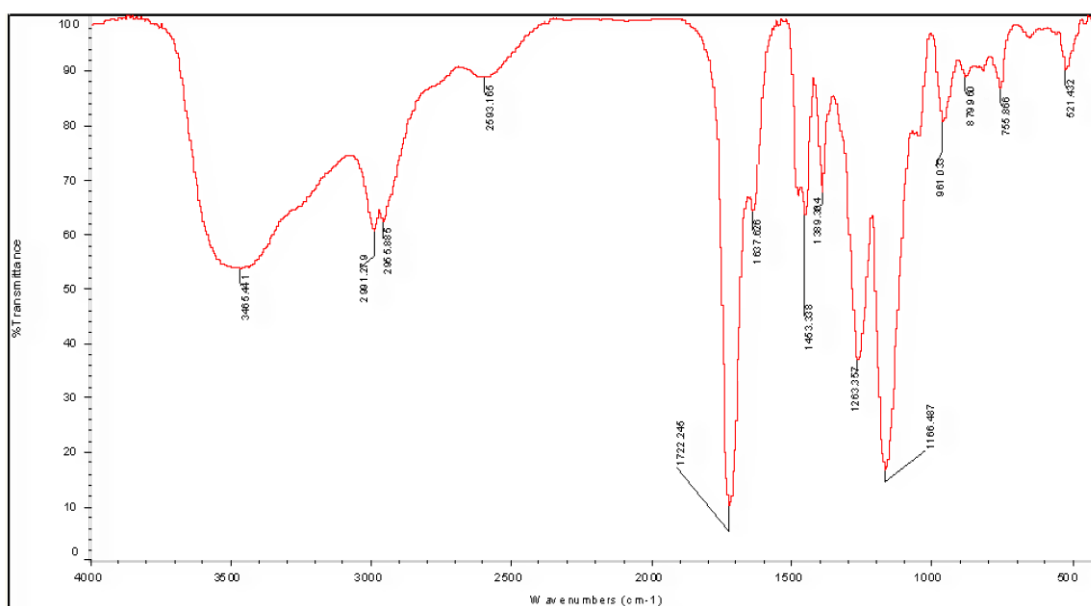


Figura 170. Espectro FT-IR del NIP 6

5. Cromatogramas obtenidos en el desarrollo de un sistema de extracción de ampicilina en leche de vaca utilizando polímeros de impronta molecular

5.1 Precipitación de proteínas

5.1.1 Precipitación con un volumen de 1 mL de ácido acético 1 N

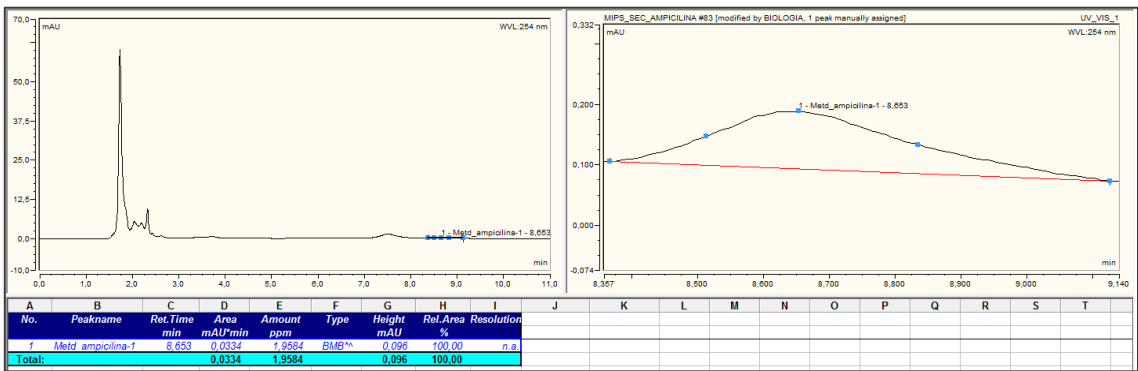


Figura 171. Cromatograma obtenido de precipitación de proteínas con ácido acético 1 N

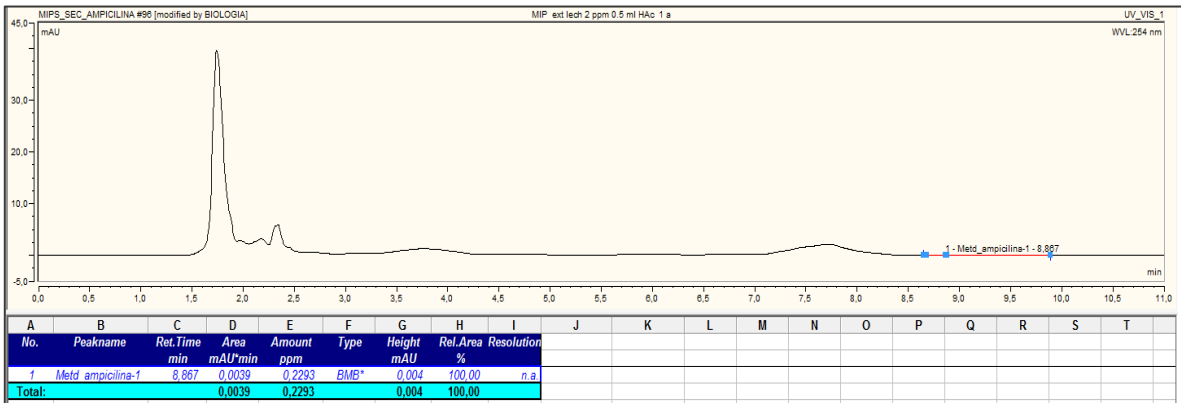


Figura 172. Cromatograma obtenido de precipitación de proteínas con 0,5 mL ácido acético 1 N

5.1.2 Precipitación con acetonitrilo

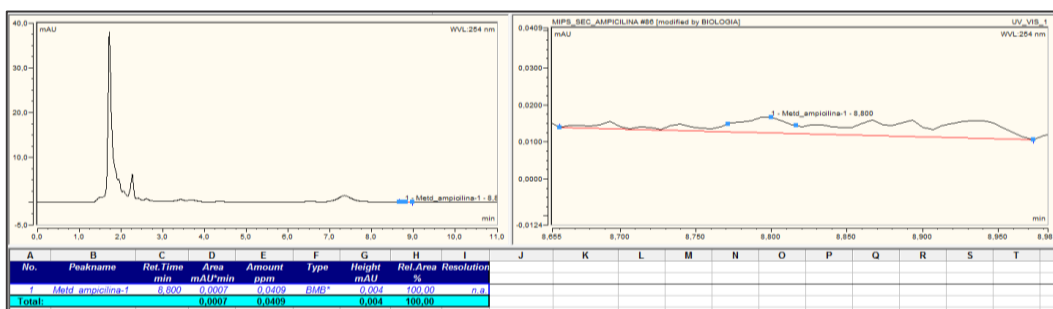
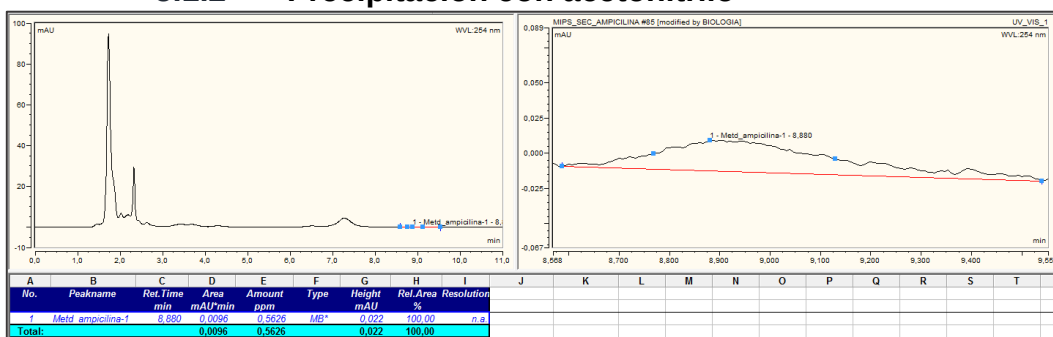


Figura 173. Cromatograma obtenido después de la precipitación de proteínas con acetonitrilo (a) y (b)

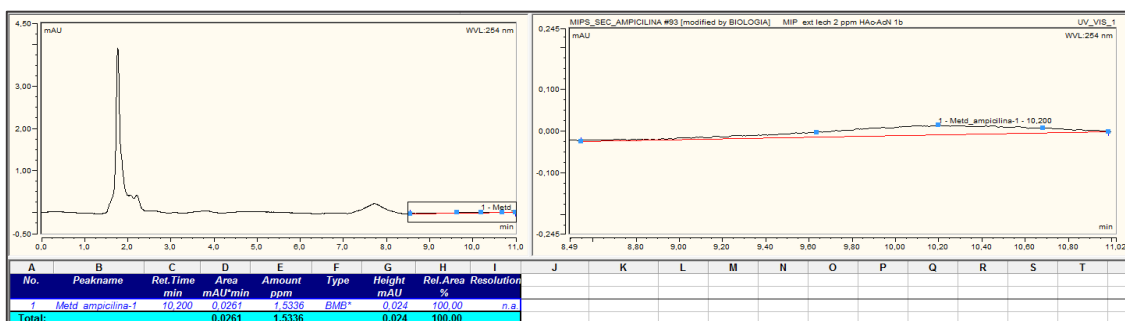
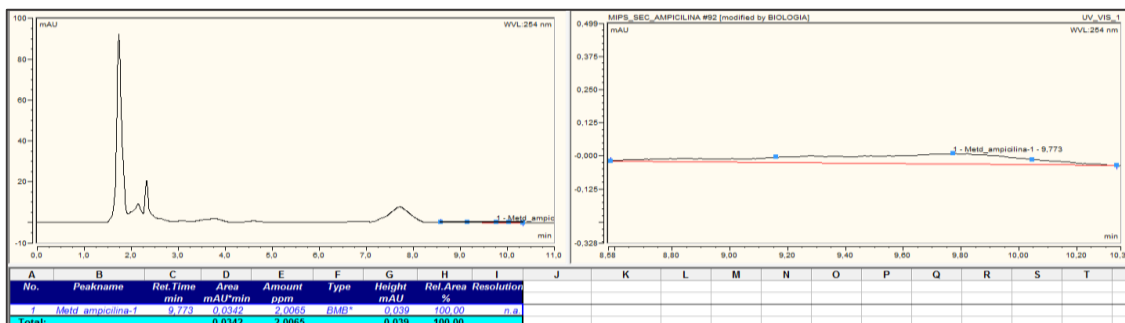


Figura 174. Cromatograma obtenido después de la precipitación de proteínas con mezcla de ácido acético: acetonitrilo (2:8 v/v) (a) y (b)

5.2 Extracción de la grasa

5.2.1 Extracción de la grasa con hidróxido de sodio 0.5 M

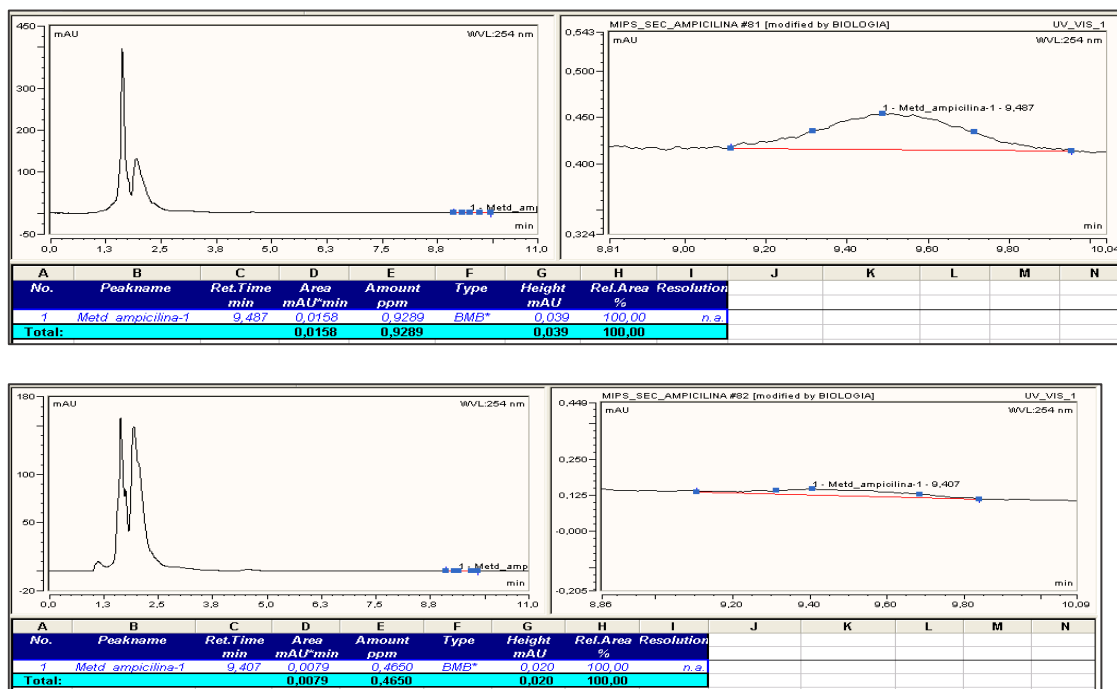


Figura 175. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa con hidróxido de sodio 0.5 M (a) y (b)

5.2.2 Extracción de la grasa con frío

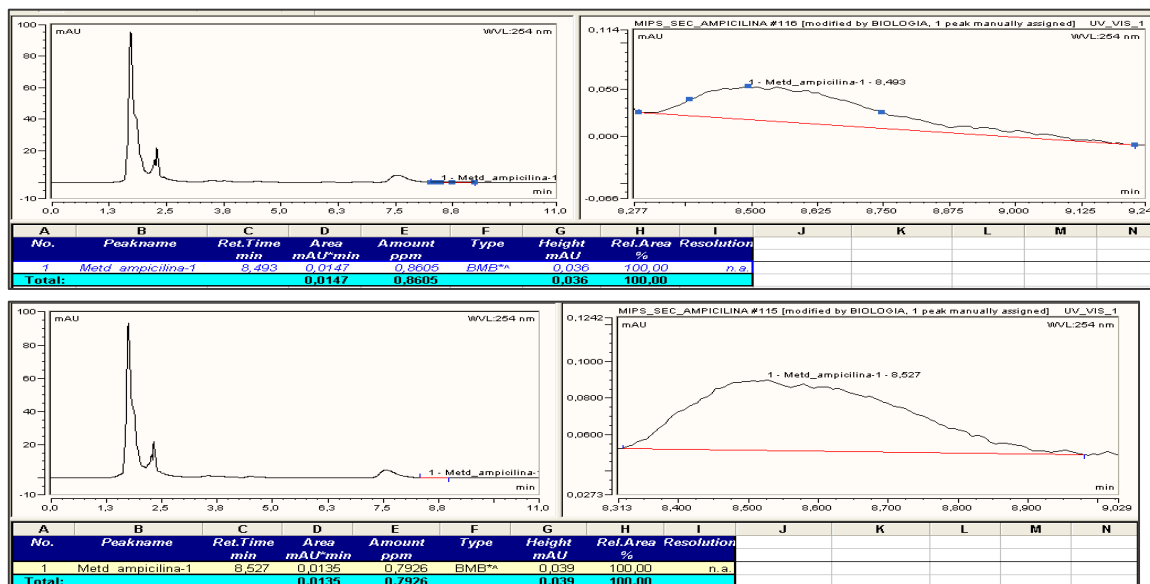


Figura 176. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa con frío (a) y (b)

5.2.3 Extracción de grasa combinada con precipitación de proteínas y evaporación de la muestra con calor a 40 °C

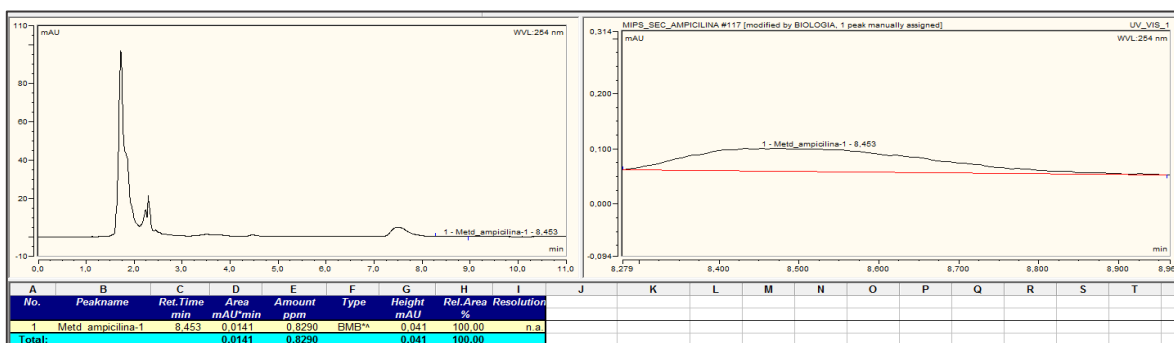


Figura 177. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa combinada con precipitación de proteínas y evaporación de la muestra con calor a 40 °C

5.2.4 Extracción de grasa combinada con precipitación de proteínas y adición de cloroformo

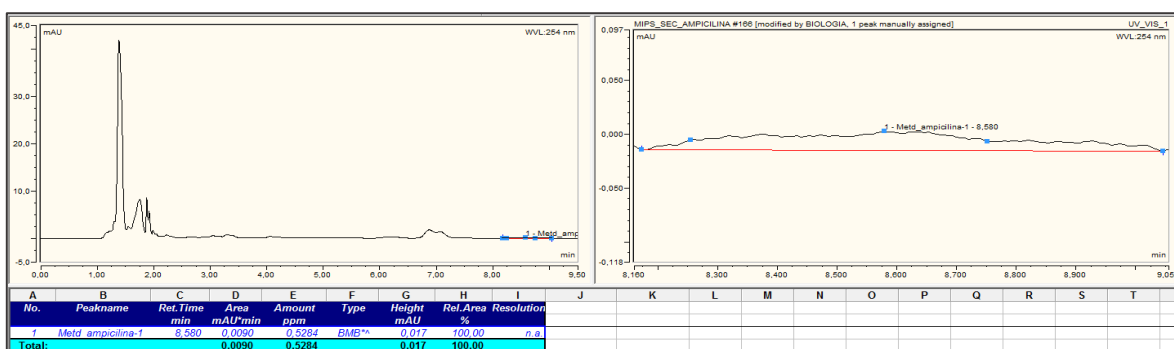


Figura 178. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa combinada con precipitación de proteínas y adición de cloroformo

5.2.5 Centrifugación en frío y adición de ácido acético

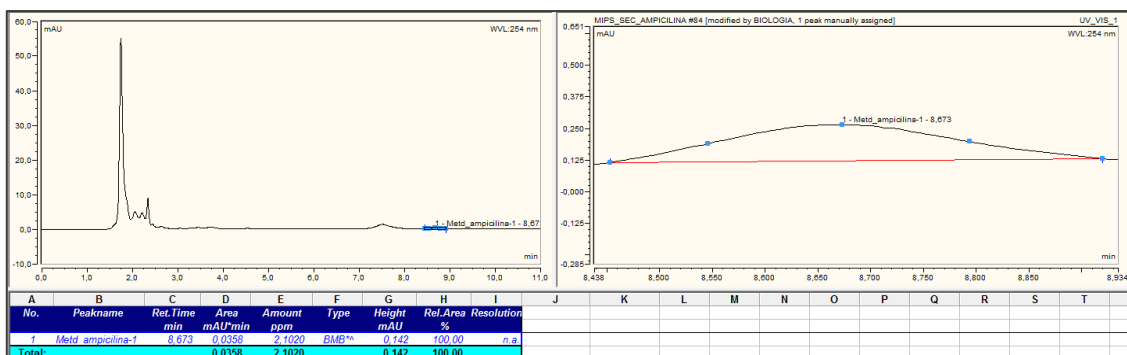


Figura 179. Cromatograma obtenido después de la extracción de la grasa combinada con precipitación de proteínas con ácido acético 1 N

6. Adición de patrón o (estándar) (5 gramos de leche)

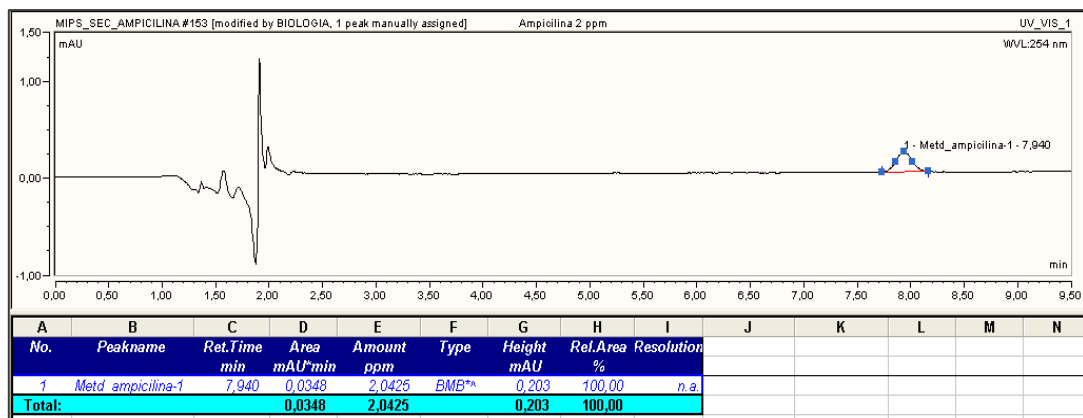


Figura 180. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 2 ppm

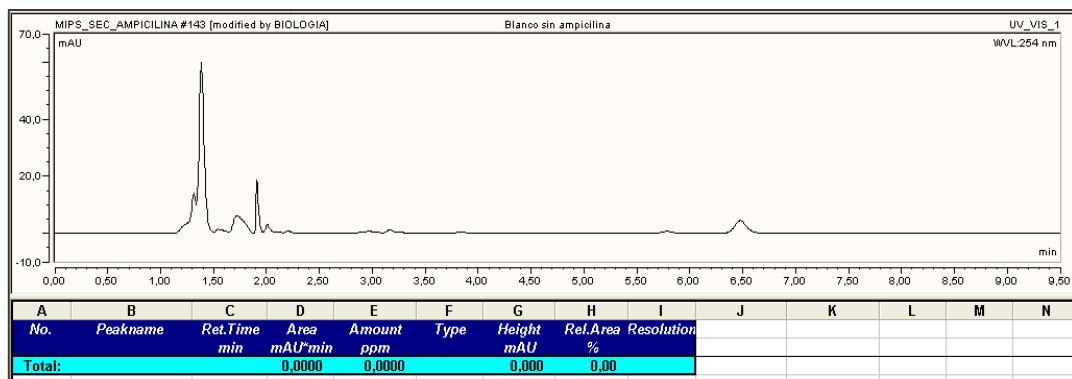
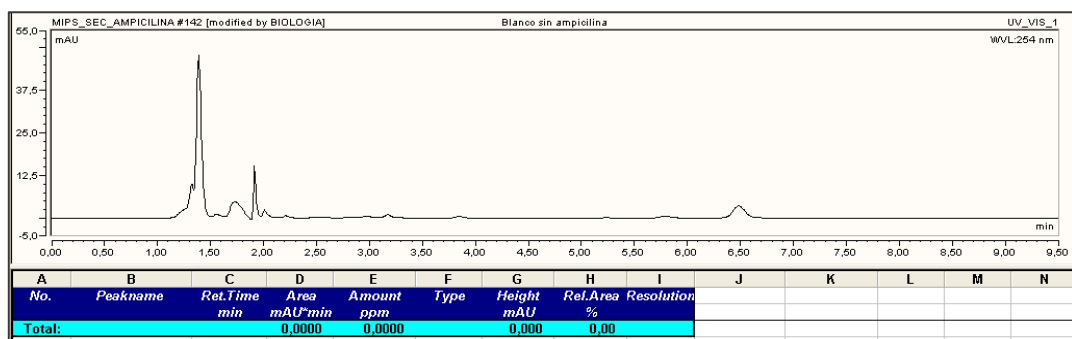


Figura 181. Cromatograma obtenido para el blanco (a) y (b)

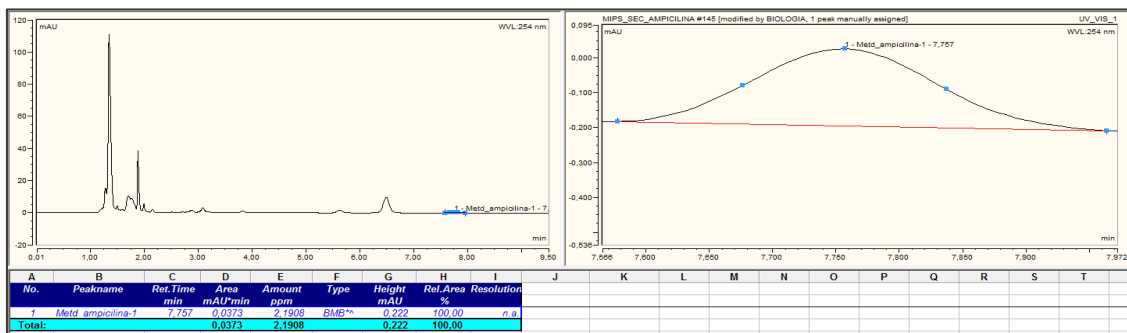
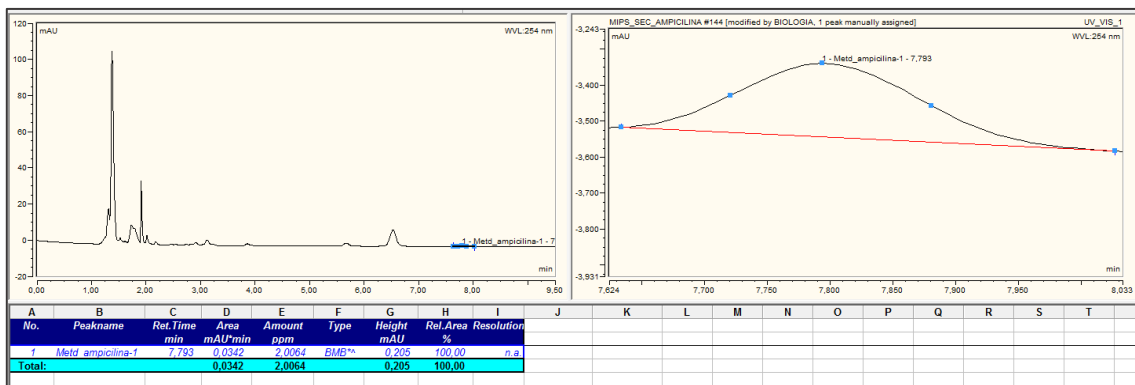


Figura 182. Cromatograma obtenido para el eluato + 1 mL ampicilina 2 ppm (a) y (b)

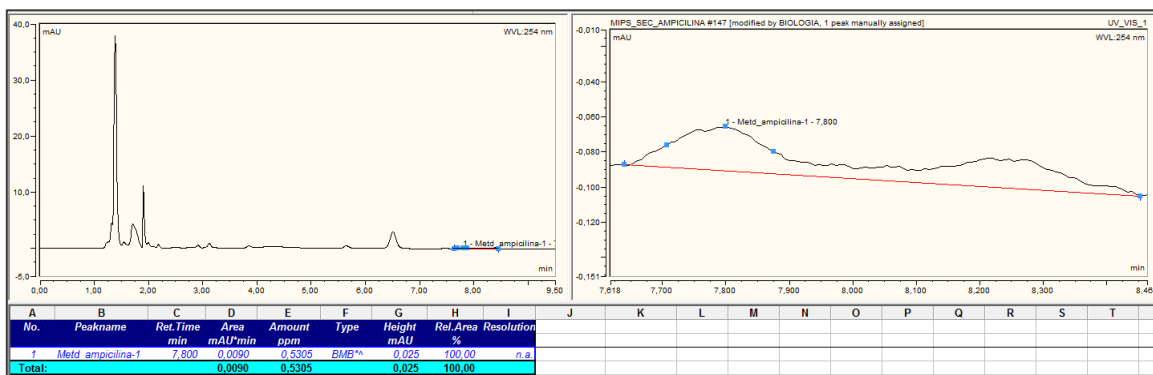
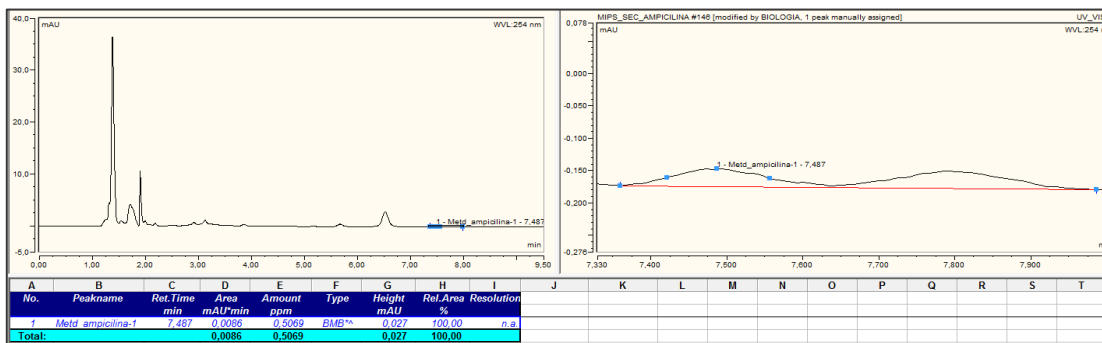


Figura 183. Cromatograma obtenido para leche con 1 mL ampicilina 2 ppm. (a) y (b)

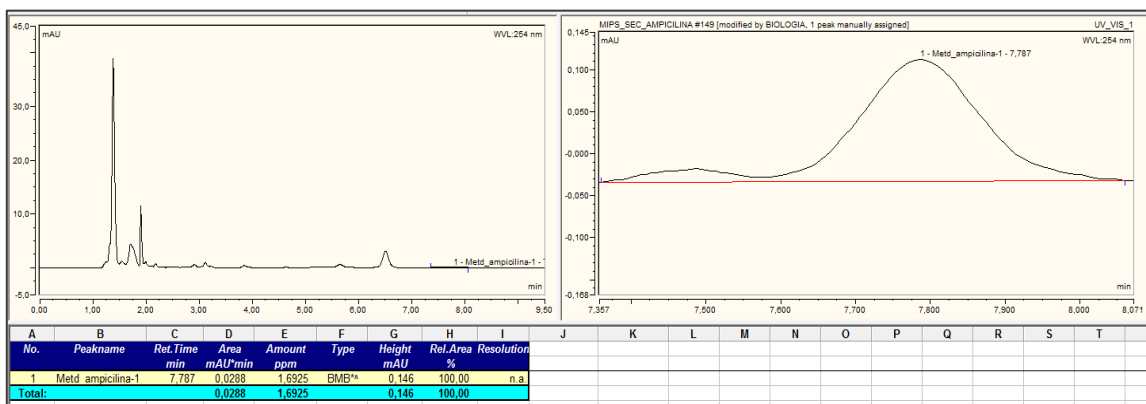


Figura 184. Cromatograma obtenido para leche con 1 mL amplicilina 2 ppm + 1 mL de amplicilina 2 ppm (a)

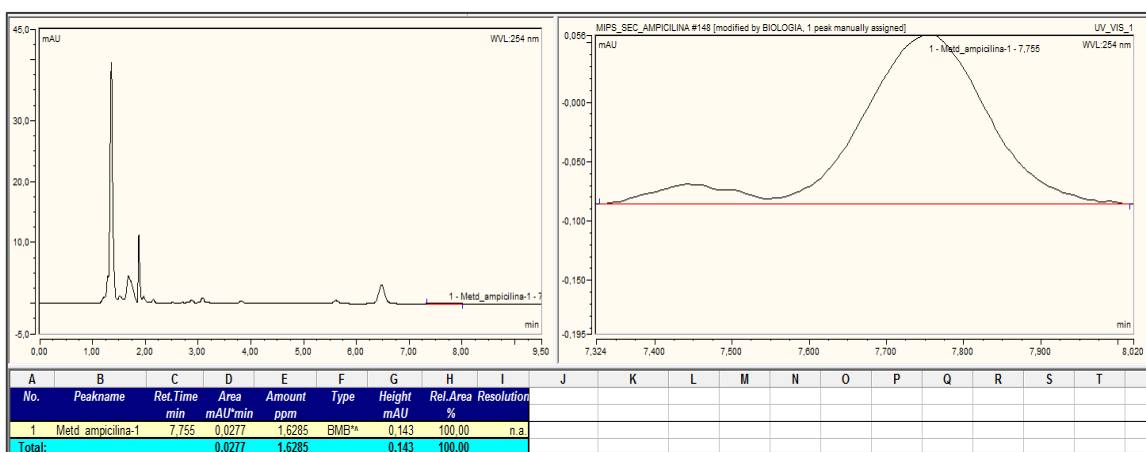


Figura 185. Cromatograma obtenido para leche con 1 mL ampicilina 2 ppm + 1 mL de ampicilina 2 ppm (b)

7. Curva de Calibración de la ampicilina entre 0 y 500 ppb

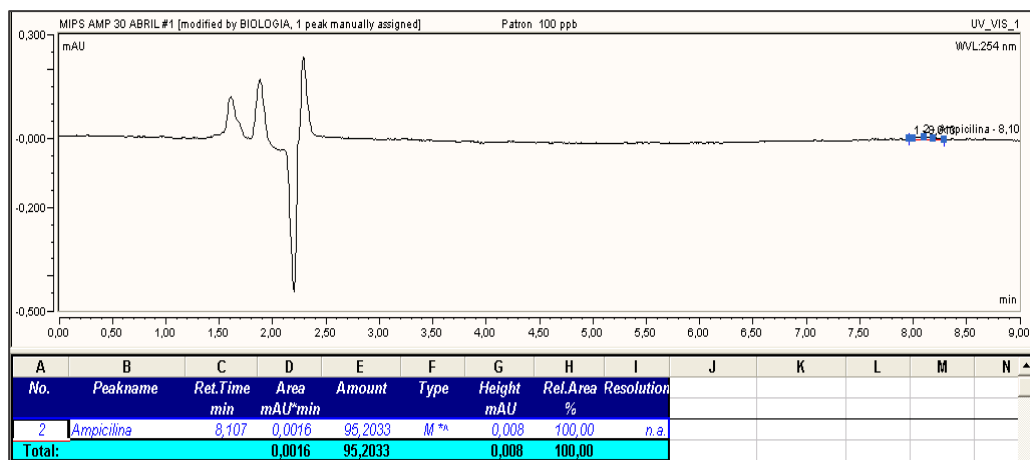


Figura 186. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 100 ppb

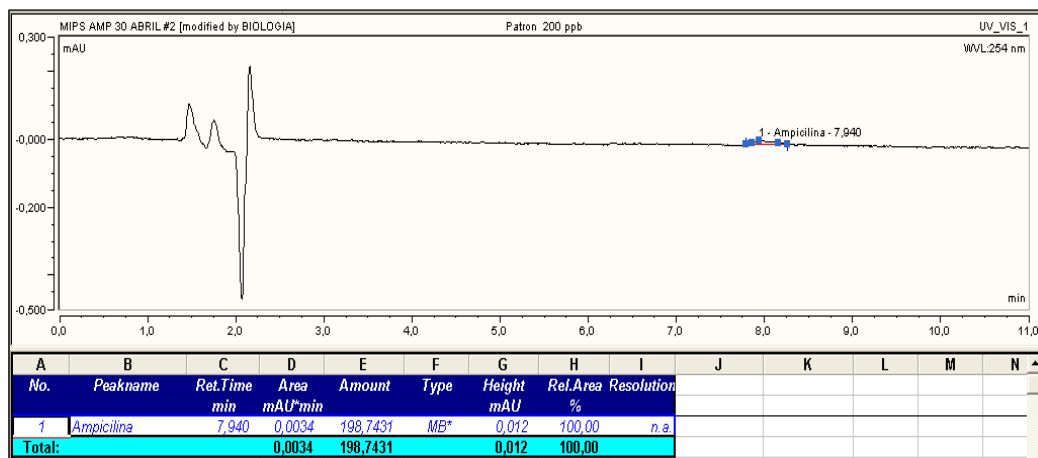


Figura 187. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 200 ppb

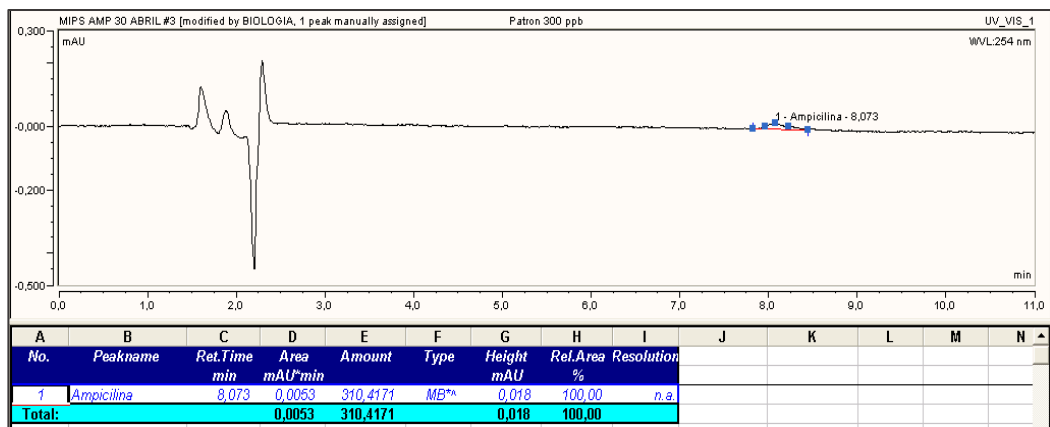


Figura 188. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 300 ppb

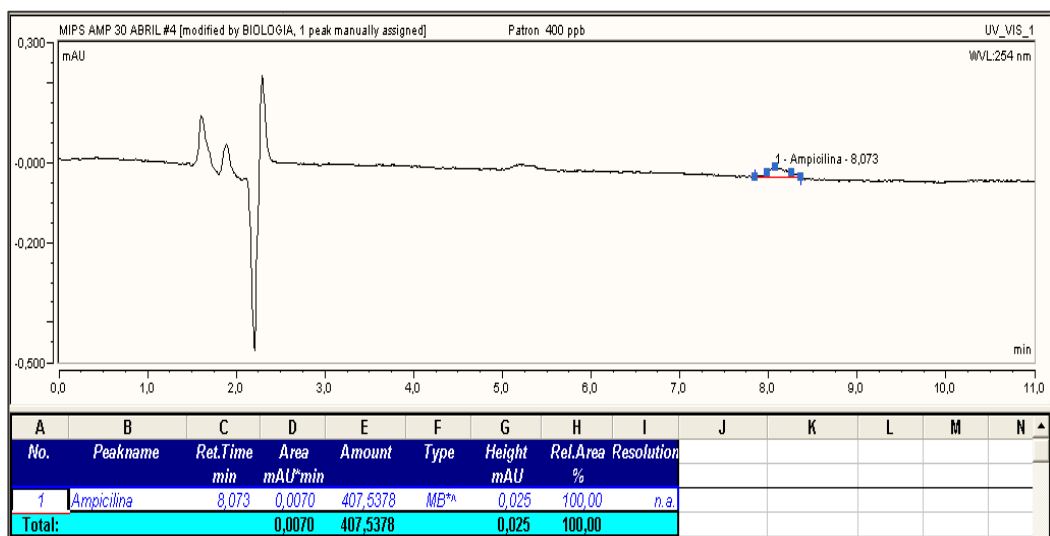


Figura 189. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 400 ppb

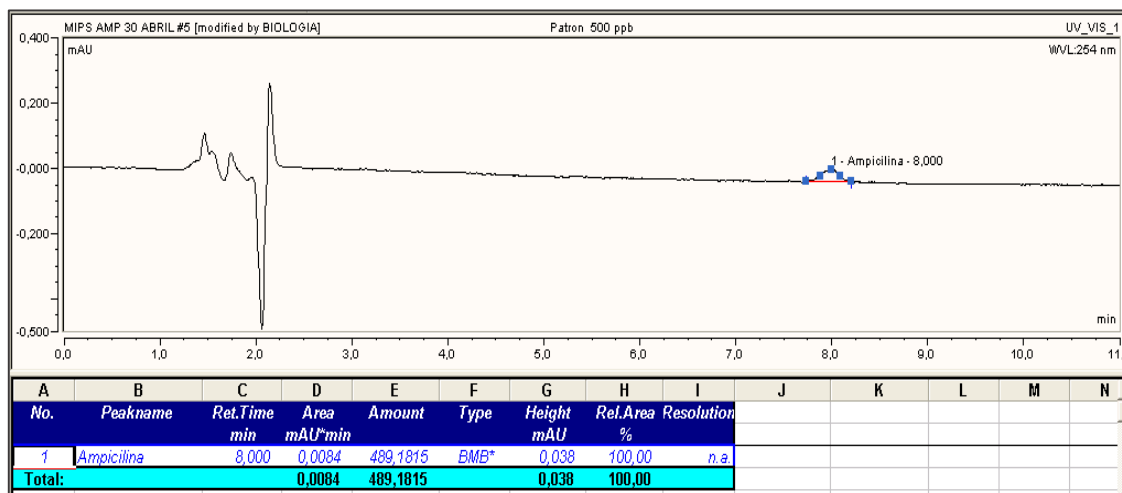


Figura 190. Cromatograma obtenido para el patrón de ampicilina 500 ppb

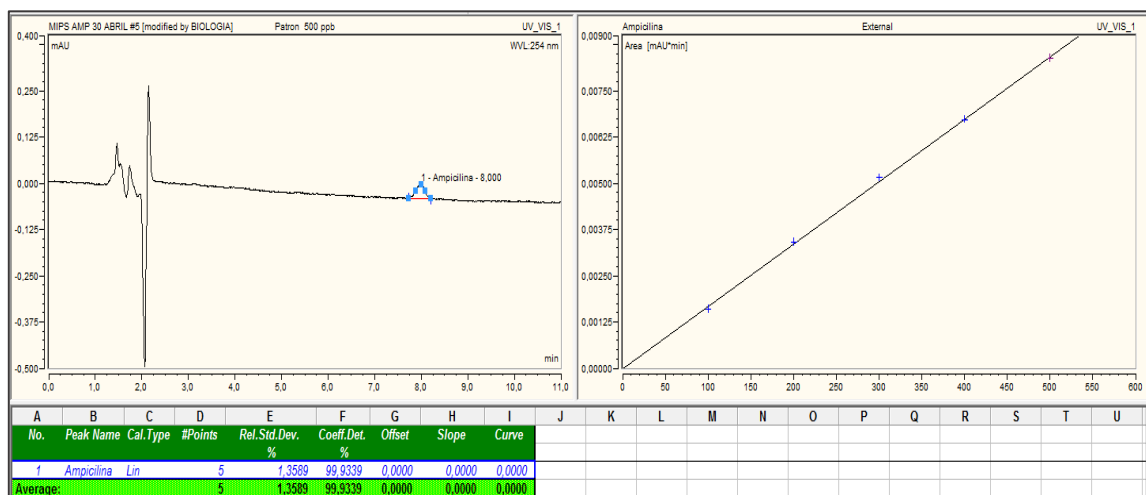


Figura 191. Resultados de la curva de calibración

8. Análisis cromatográfico de las soluciones provenientes de la extracción del cartucho MISPE con la solución patrón de ampicilina

8.1 Leche con ampicilina en concentración de 4 µg Kg⁻¹

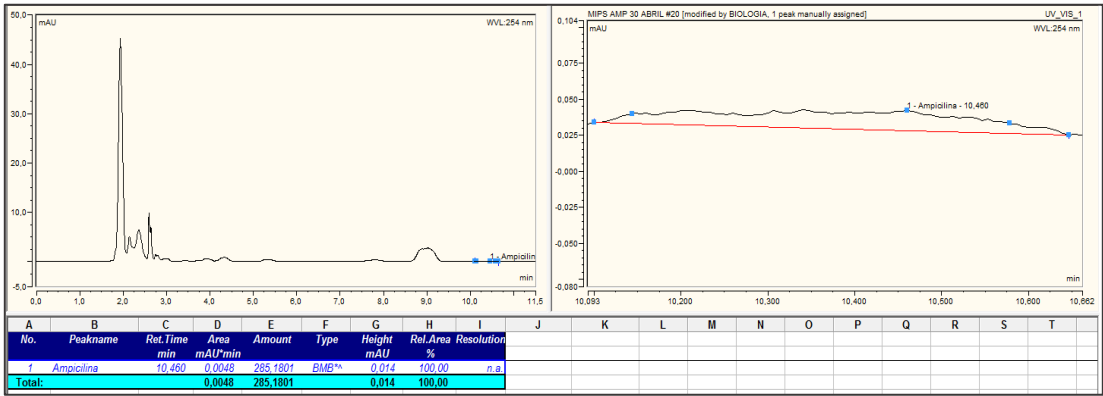


Figura 192. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 µg Kg⁻¹ (a)

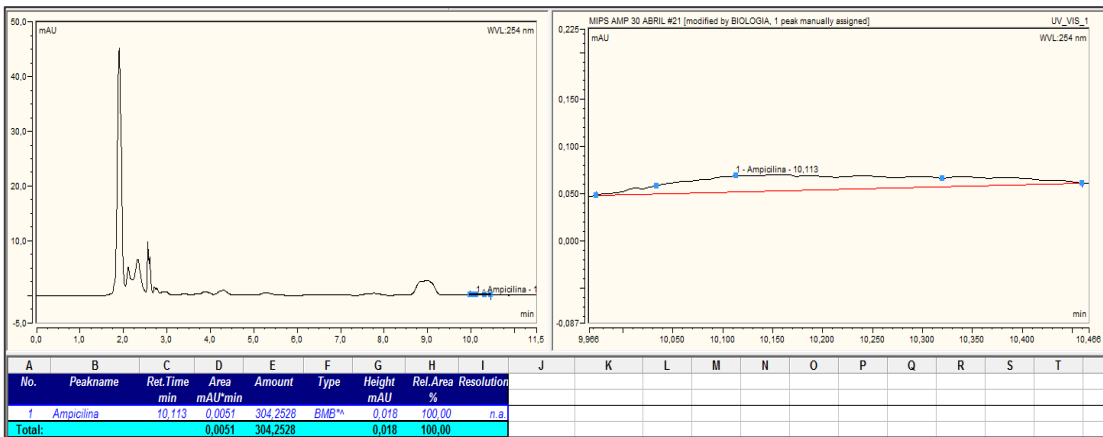


Figura 193. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 µg Kg⁻¹ (b)

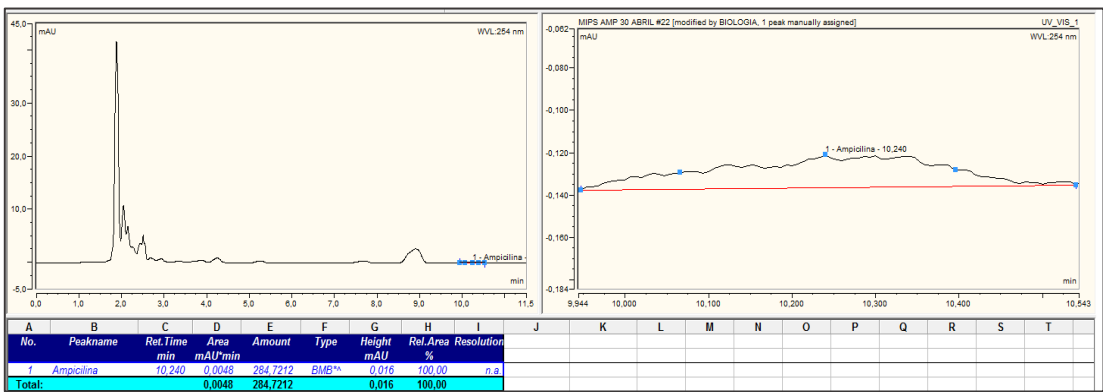


Figura 194. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4 µg Kg⁻¹ (c)

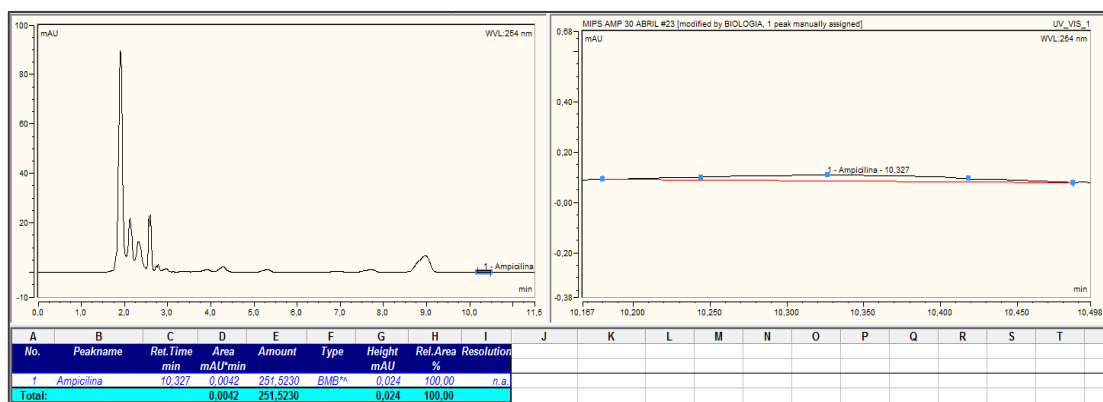


Figura 195. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de $4 \mu\text{g Kg}^{-1}$ (d)

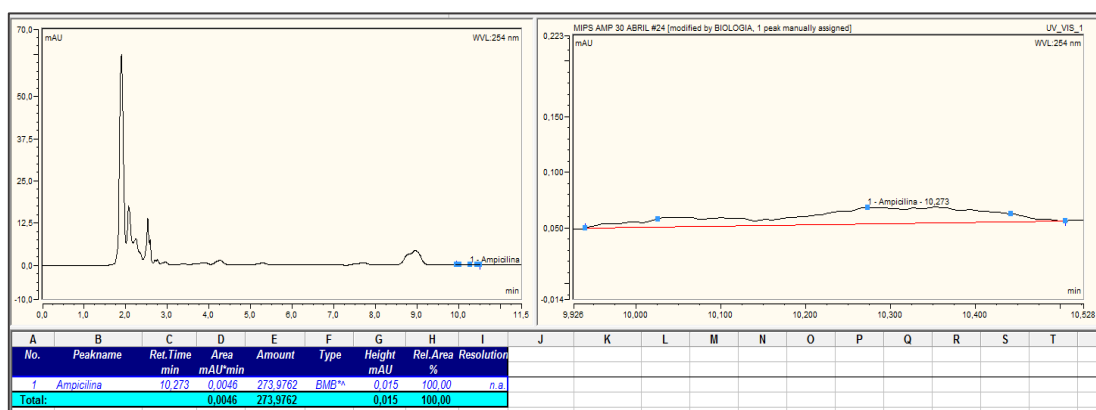


Figura 196. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de $4 \mu\text{g Kg}^{-1}$ (e)

8.2 Leche con AMP en concentración de 3,2 µg Kg⁻¹

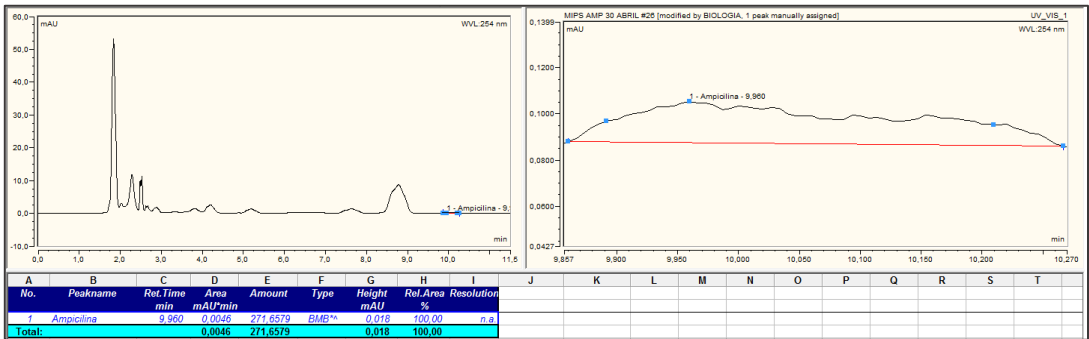


Figura 197. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 µg Kg⁻¹ (a)

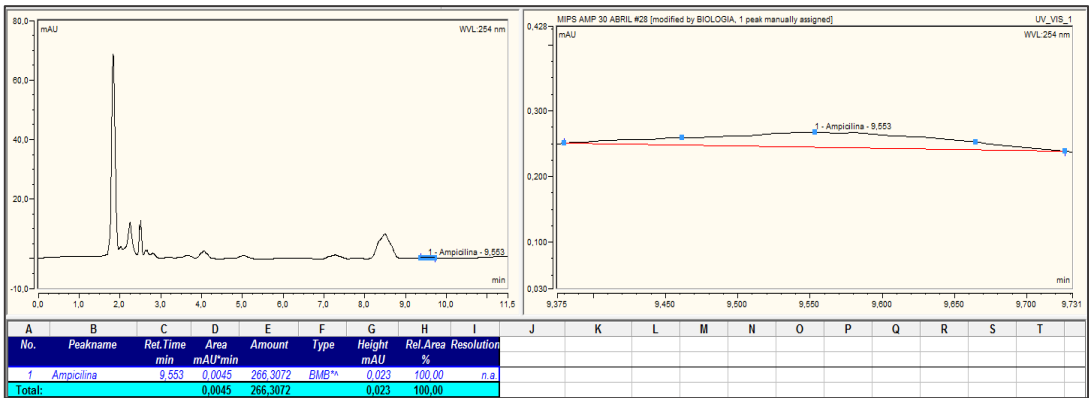


Figura 198. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 µg Kg⁻¹ (b)

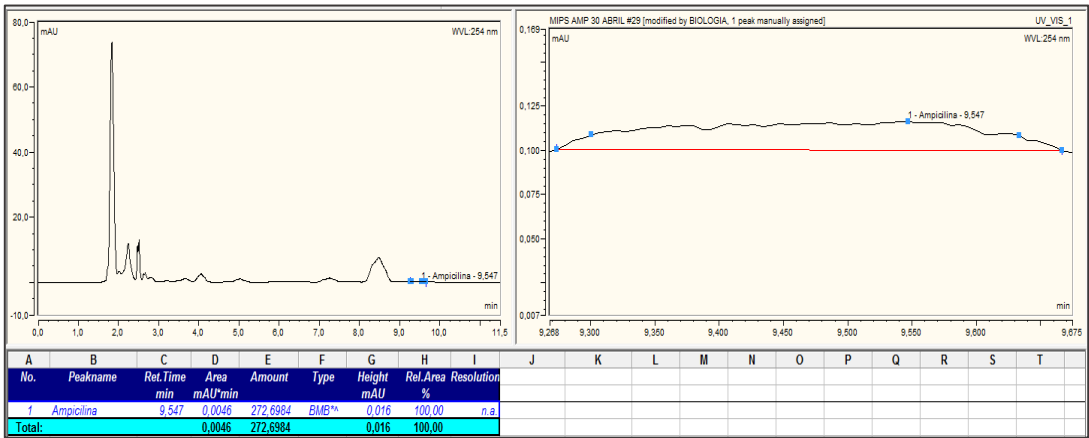


Figura 199. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 µg Kg⁻¹ (c)

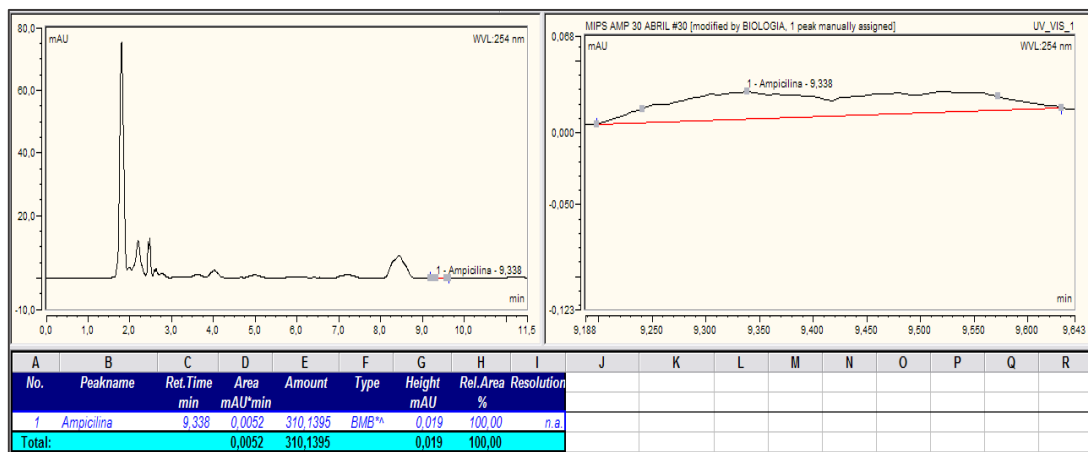


Figura 200. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 µg Kg-1 (d)

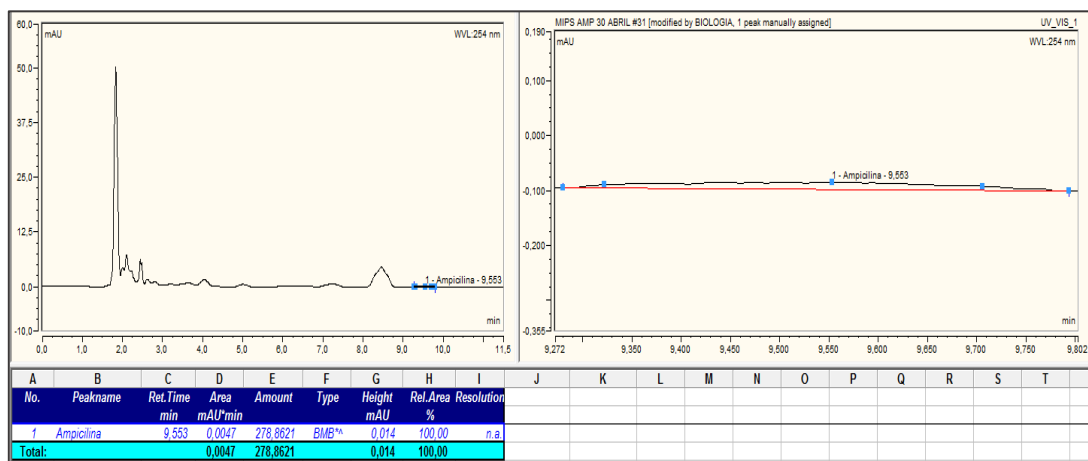


Figura 201. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 3,2 µg Kg-1 (e)

8.3 Leche con AMP en concentración de 4,8 µg Kg⁻¹

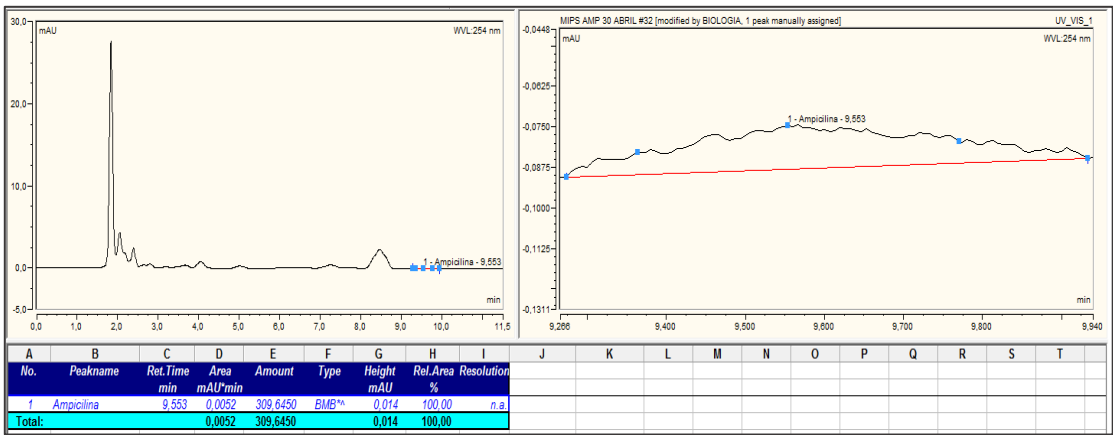


Figura 202. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 µg Kg⁻¹ (a)

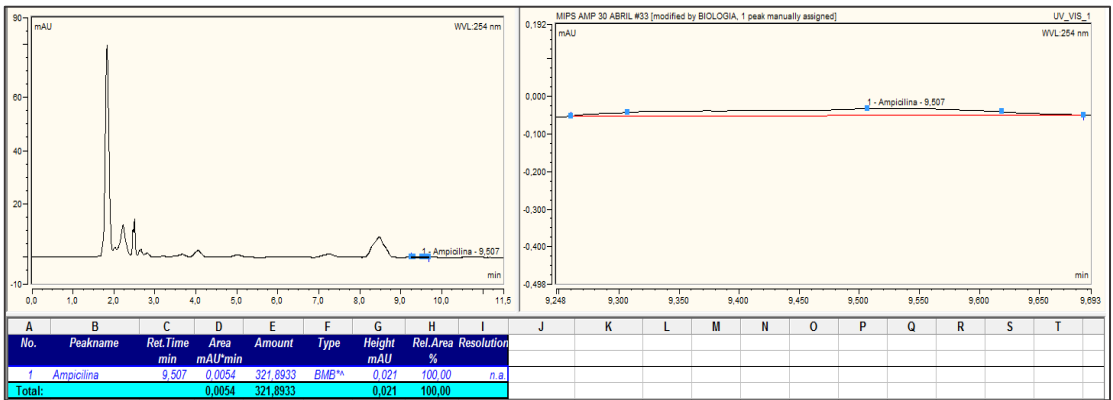


Figura 203. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 µg Kg⁻¹ (b)

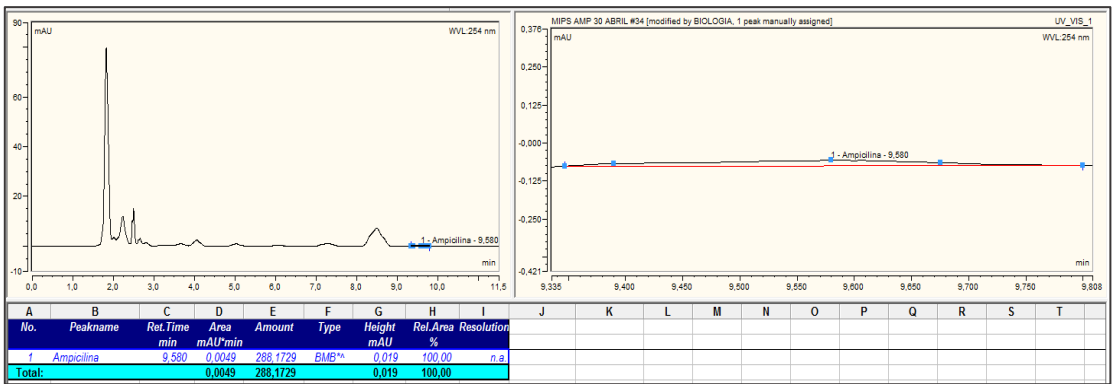


Figura 204. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 µg Kg⁻¹ (c)

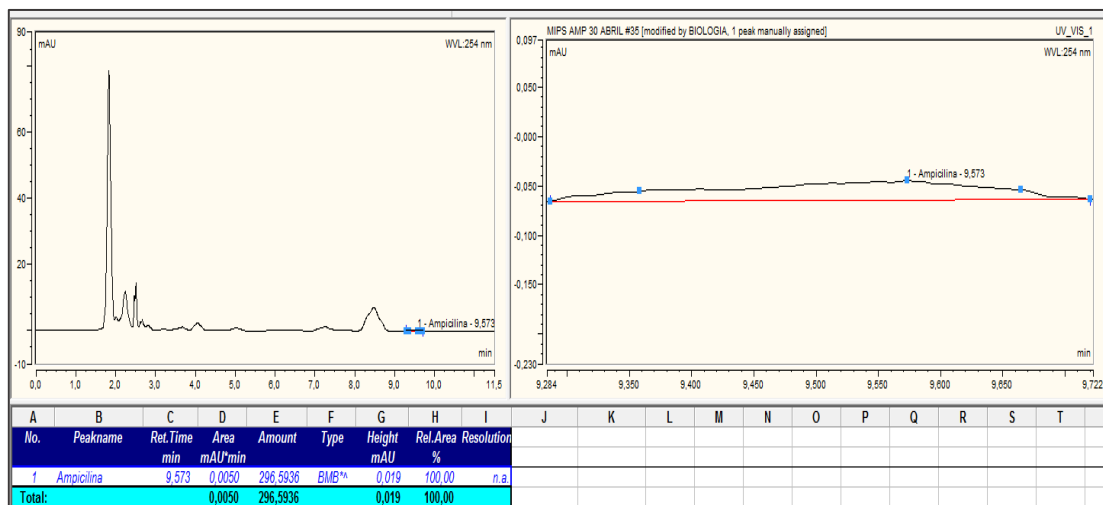


Figura 205. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 µg Kg-1 (d)

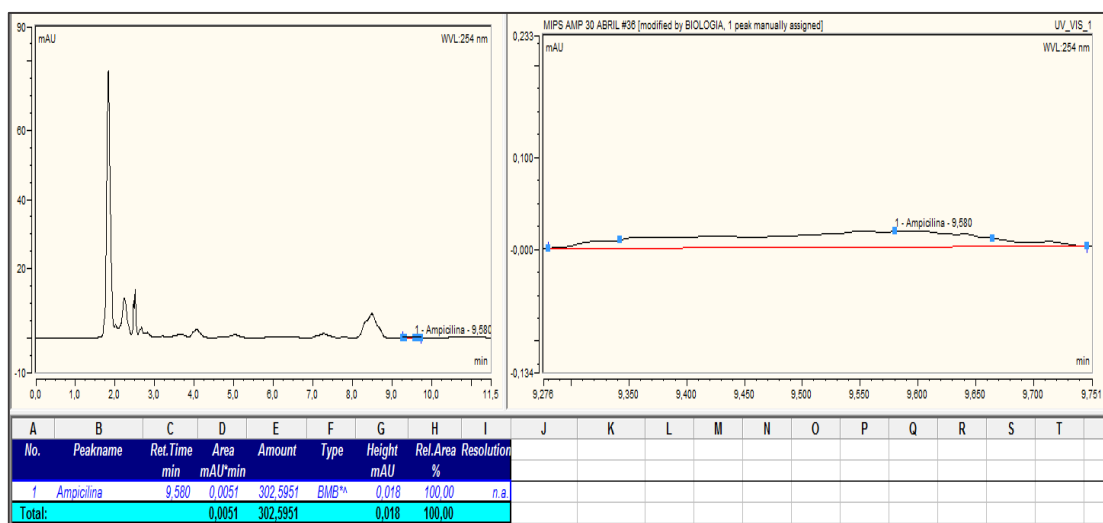


Figura 206. Cromatograma de leche de vaca con AMP en concentración de 4,8 µg Kg-1 (e)

9. Cromatogramas obtenidos en la evaluación de la selectividad de los polímeros de impronta molecular frente a la amoxicilina, oxacilina y penicilina G.

9.1 Curva de calibración de la amoxicilina.

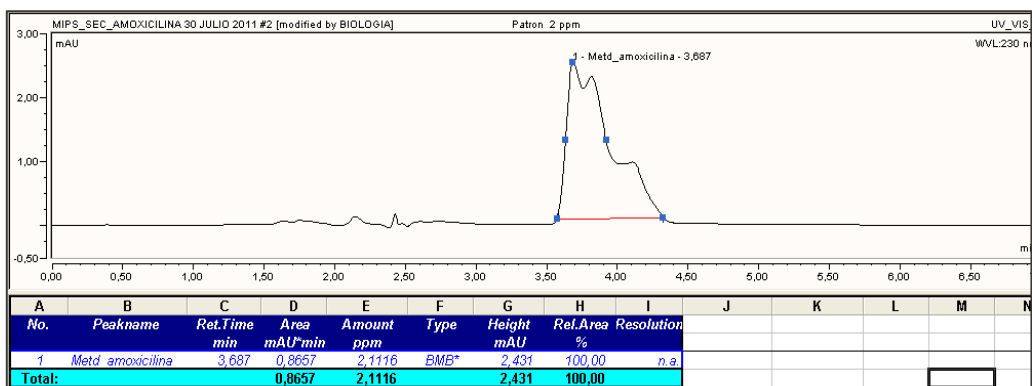


Figura 207. Solución patrón de amoxicilina 2 ppm

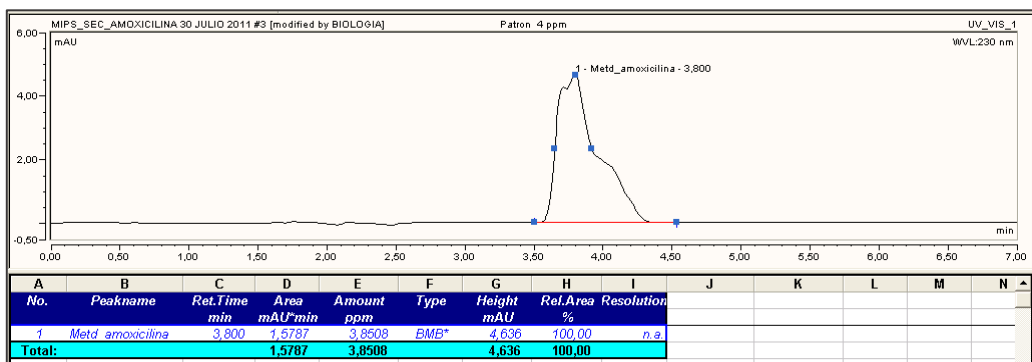


Figura 208. Solución patrón de amoxicilina 4 ppm

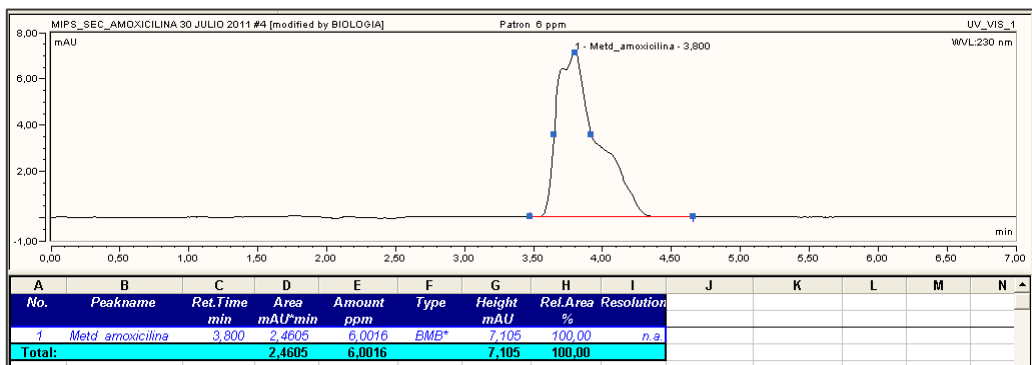


Figura 209. Solución patrón de amoxicilina 6 ppm

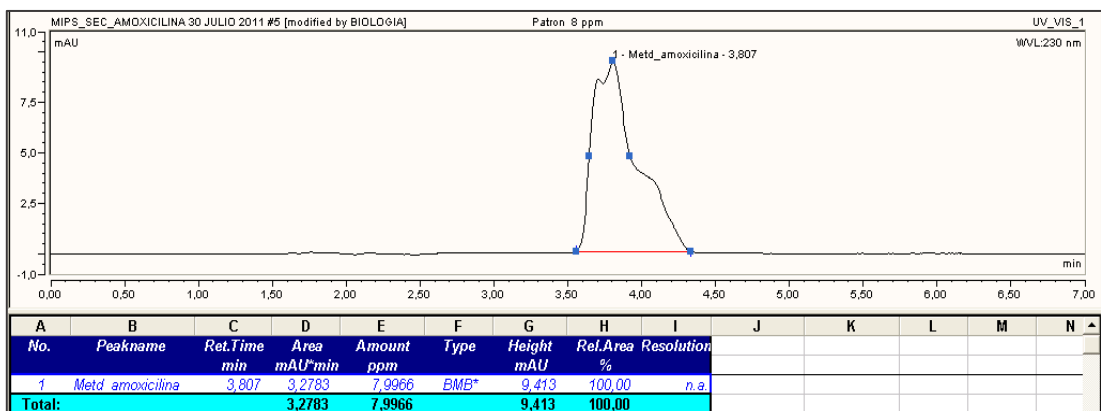


Figura 210. Solución patrón de amoxicilina 8 ppm

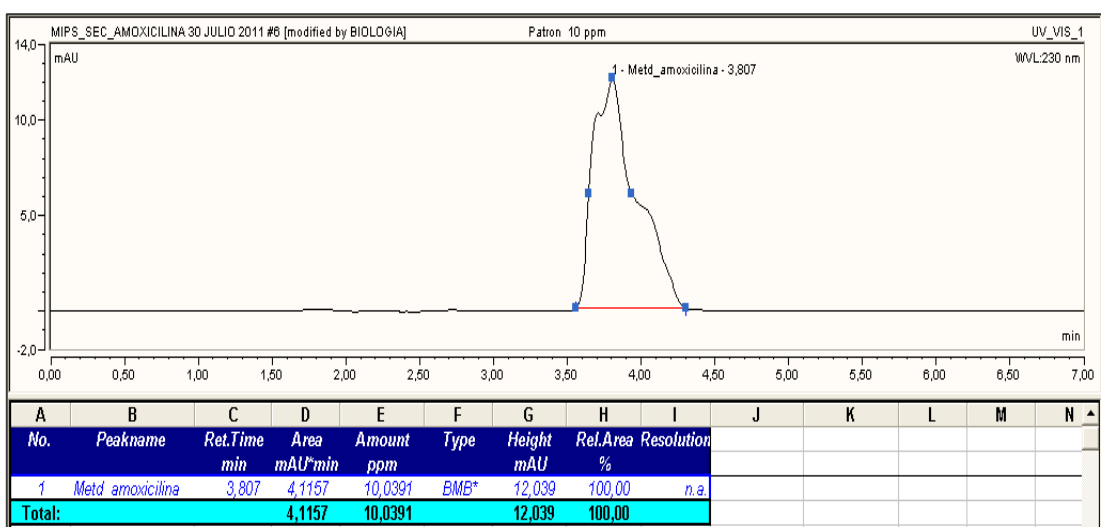


Figura 211. Solución patrón de amoxicilina 10 ppm

9.2 Curva de calibración de la oxacilina

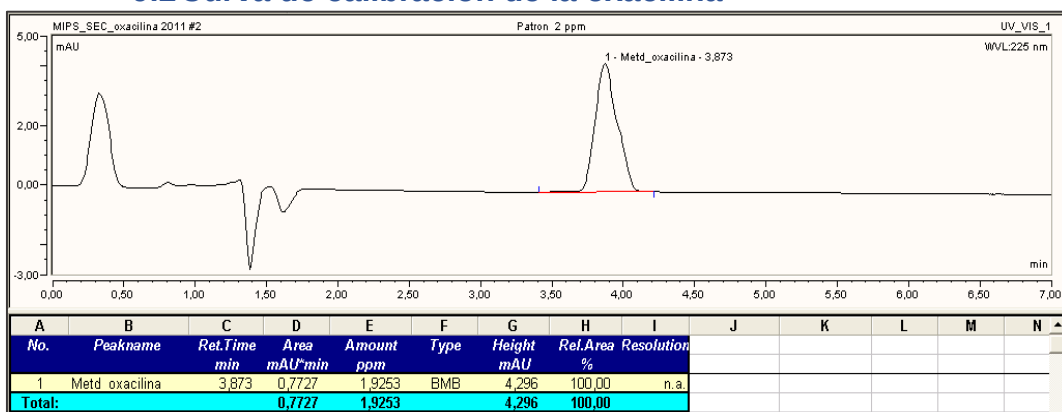


Figura 212. Solución patrón de oxacilina 2 ppm

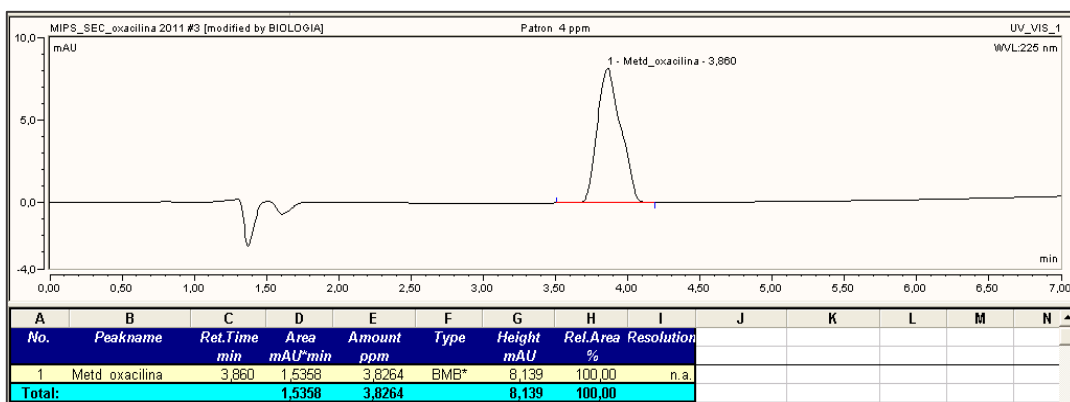


Figura 213. Solución patrón de oxacilina 4 ppm

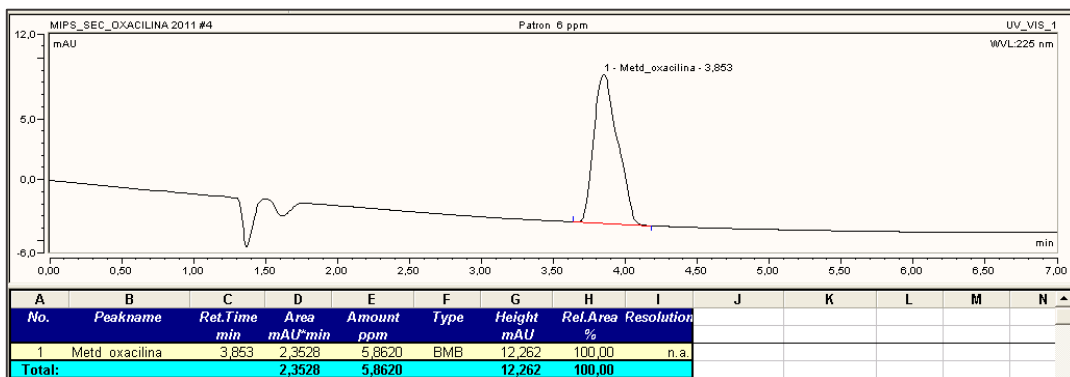


Figura 214. Solución patrón de oxacilina 6 ppm

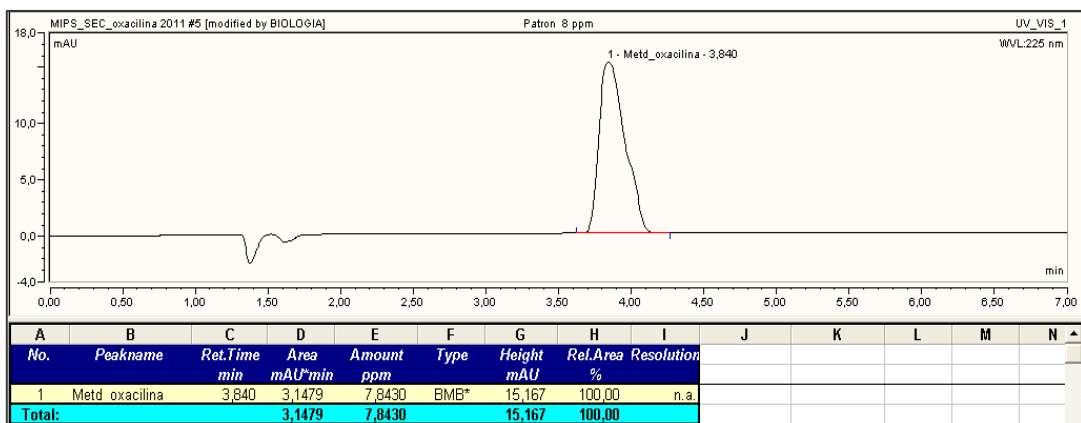


Figura 215. Solución patrón de oxacilina 8 ppm

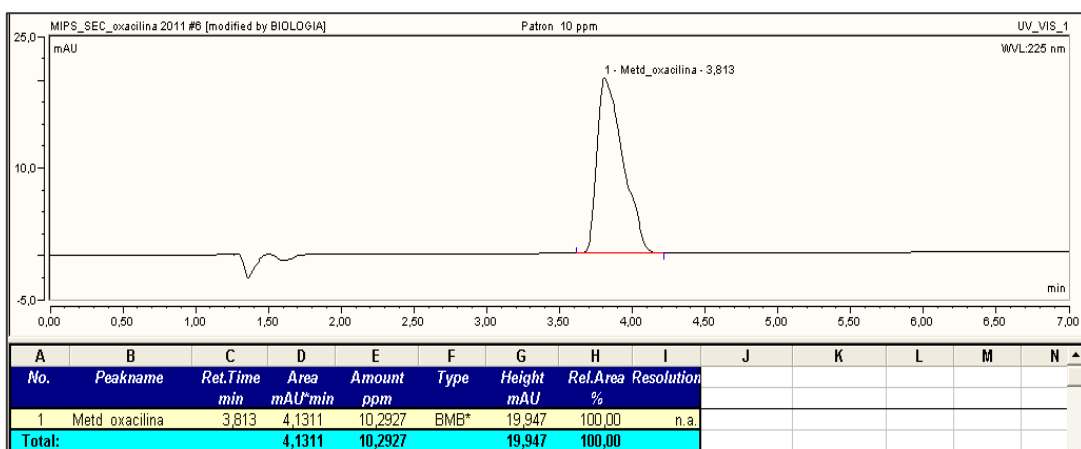


Figura 216. Solución patrón de oxacilina 10 ppm

9.3 Curva de calibración de la penicilina G sódica

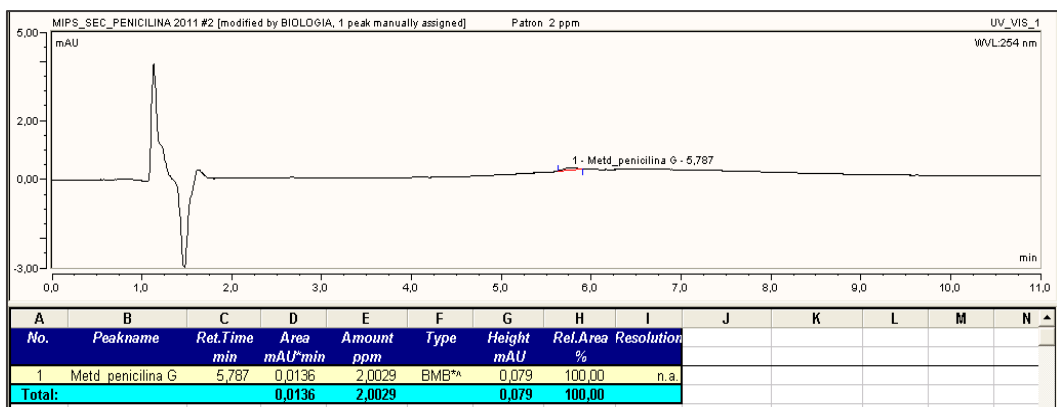


Figura 217. Solución patrón de penicilina G sódica 2 ppm

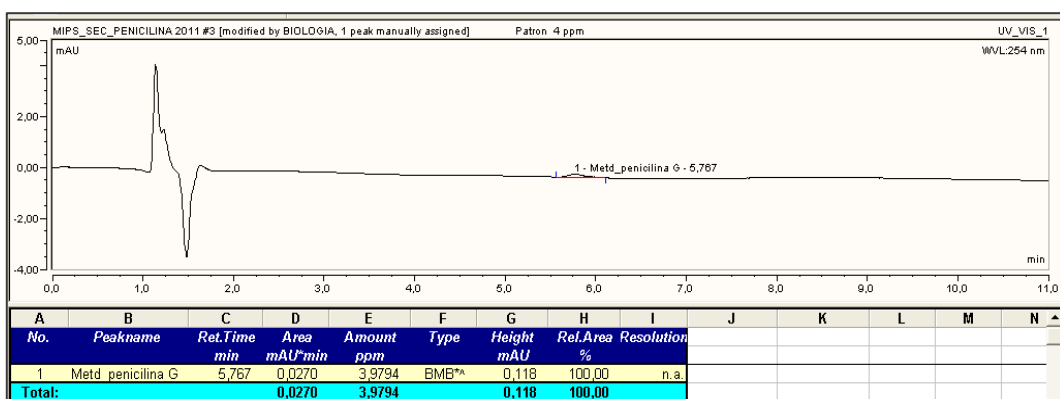


Figura 218. Solución patrón de penicilina G sódica 4 ppm

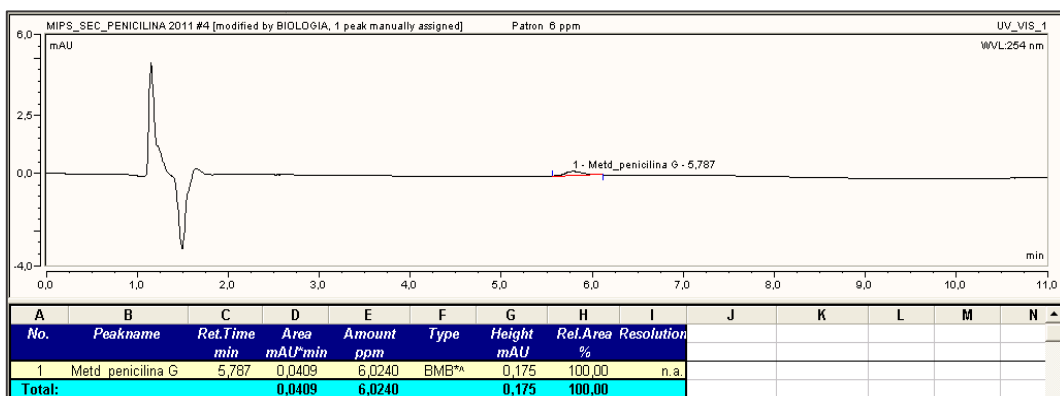


Figura 219. Solución patrón de penicilina G sódica 6 ppm

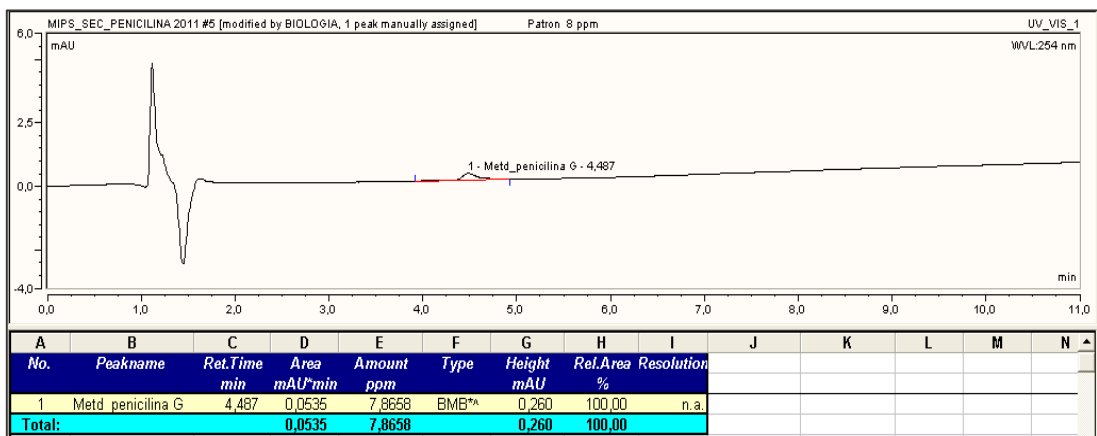


Figura 220. Solución patrón de penicilina G sódica 8 ppm

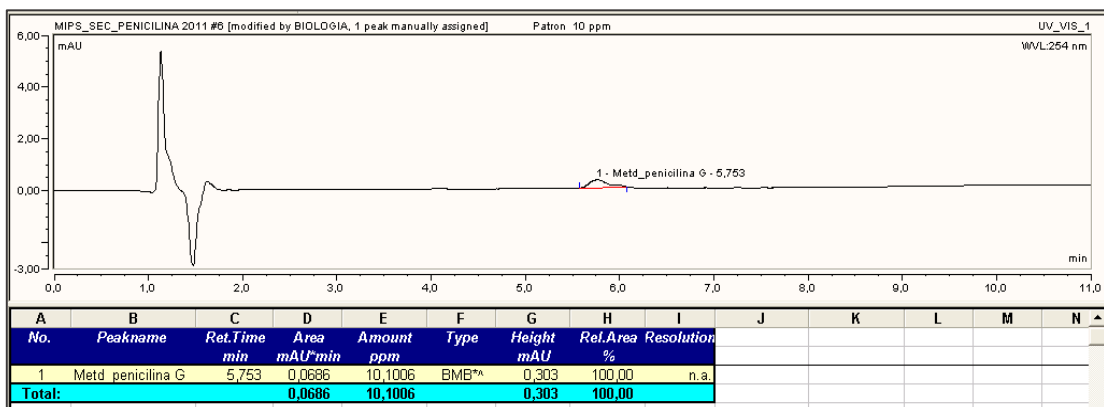


Figura 221. Solución patrón de penicilina G sódica 10 ppm

9.4 Mezcla de antibióticos

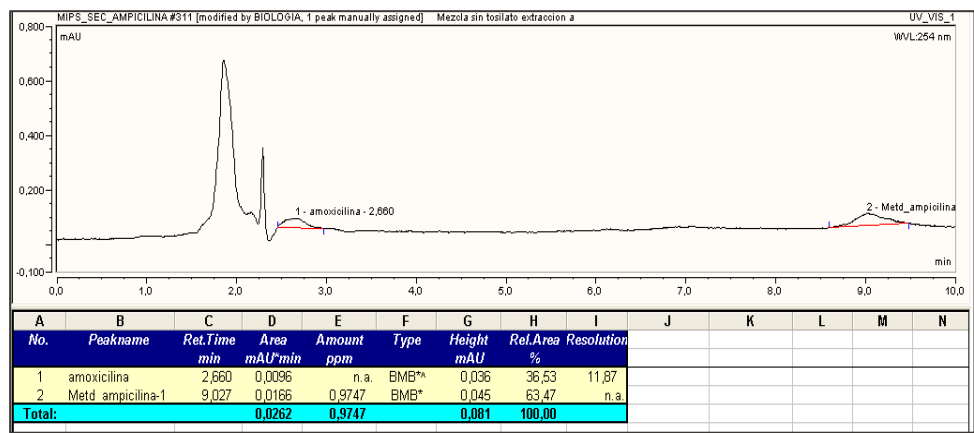


Figura 222. Cromatograma de la mezcla de antibióticos extracción a

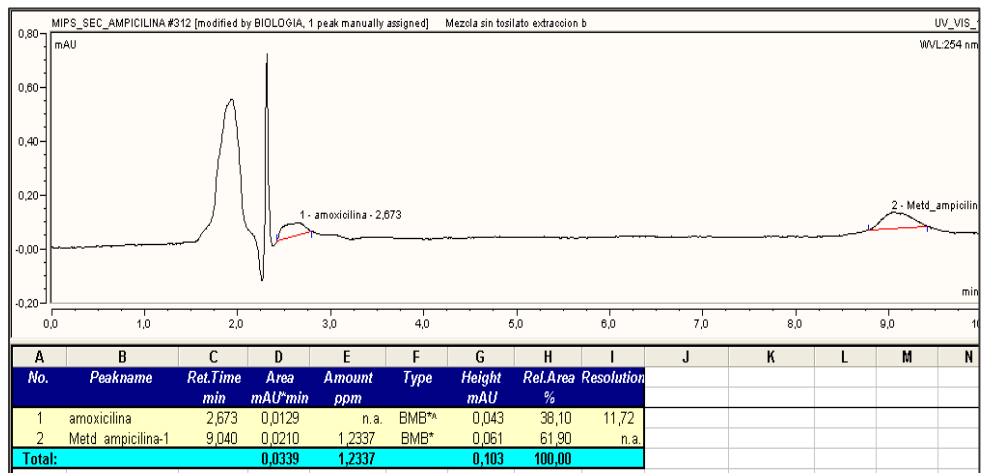


Figura 223. Cromatograma de la mezcla de antibióticos extracción b

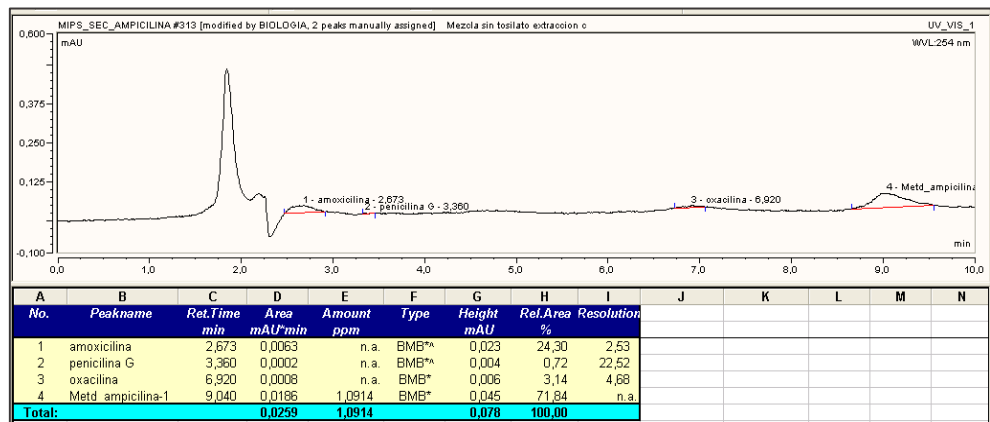


Figura 224. Cromatograma de la mezcla de antibióticos extracción c