ACADEMIA DE FARMACIA DE LA COMUNITAT VALENCIANA

D. Facundo Pérez Giménez

TÉCNICAS INSTRUMENTALES: EN LA VANGUARDIA DE LA FORMACIÓN DEL FARMACÉUTICO

Discurso de recepción del Académico Electo

Illmo. Sr. Dr. D. Facundo Pérez Giménez

Discurso de contestación del Académico Numerario

Illmo. Sr. Dr. D. Gerardo Stübing Martínez

Leídos en Valencia el día 3 de febrero de 2020

Técnicas instrumentales: En la vanguardia de la formación del farmacéutico

© Facundo Pérez Giménez. 2020
I.S.B.N. 978-84-09-18278-7

Edición e impresión:
Art Grafic, Fotografía y Artes Gráficas S.L.
C/ San Francisco de Borja, 12 bajo. 46007 Valencia
www.artgrafic.es · correo@artgrafic.es · 96 384 13 10

Impreso en España
Valencia, 2020

Este libro no podrá ser reproducido, ni total ni parcialmente, sin el permiso previo y por escrito de su autor. Ninguna de las partes de la misma puede ser reproducida, almacenada ni transmitida en ninguna forma ni por medio alguno, electrónico, mecánico o de grabación, incluido fotocopias, o por cualquier otra forma. Reservados todos los derechos.

ACADEMIA DE FARMACIA DE LA COMUNITAT VALENCIANA

D. Facundo Pérez Giménez

TÉCNICAS INSTRUMENTALES: EN LA VANGUARDIA DE LA FORMACIÓN DEL FARMACÉUTICO

ÍNDICE

Pag.

1. INTRODUCCIÓN 7
2. PREÁMBULO 9
3. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES 10
4. ESPECTROSCOPIA RAMAN 16
   4.1 INSTRUMENTACIÓN 20
   4.2 APLICACIONES 22
      4.2.1 Aplicaciones en la Industria Farmacéutica 22
      4.2.2 Detección de drogas ilícitas, Explosivos y Agentes de Guerra Química 23
      4.2.3 Aplicaciones en Arqueología y análisis de obras pictóricas 24
      4.2.4 Aplicaciones biológicas 25
5. ESPECTROMETRÍA DE MOVILIDAD IÓNICA (IMS) 26
   5.1 INSTRUMENTACIÓN 27
      5.1.1 Región de Ionización 27
      5.1.2 Región de reacción y Tubo de Deriva 28
      5.1.3 Región de detección 29
   5.2 APLICACIONES 29
      5.2.1 Detección de explosivos 30
      5.2.2 Detección de Agentes de Guerra Química y sustancias tóxicas 31
      5.2.3 Detección de drogas ilícitas 31
      5.2.4 Aplicaciones en la Industria Farmacéutica 32
      5.2.5 Control de calidad de alimentos 32
      5.2.6 Aplicaciones como método diagnóstico 34
6. CONCLUSIONES 35
7. BIBLIOGRAFÍA 39
DISCURSO DE CONTESTACIÓN 41

1. INTRODUCCIÓN

Excmo. Sr. Presidente de la Academia,

Illmos. Sres. Académicos,

Autoridades presentes, Sras. y Sres.

En primer lugar quiero mostrar mi profundo agradecimiento y admiración hacia la Academia de Farmacia de la Comunitat Valenciana y a quienes han depositado en mí su confianza, al acogerme como Miembro de Número de esta noble corporación, que tiene entre sus fines principales el "fomento de la investigación y estudio de las ciencias farmacéuticas" y la "divulgación científica y formación permanente de los profesionales de la Farmacia", según reza en sus estatutos. Es un gran honor que me habéis otorgado y me resulta difícil encontrar palabras para manifestar la enorme satisfacción y responsabilidad que ello significa.

Deseo hacer constar mi especial gratitud a los Académicos que han tenido la gentileza y amabilidad de ser mis ponentes, los Excmos. Sres. Dres. D. Fernando Rius Alarcó, D. Gerardo Stübing Martínez y D. José Luis Moreno Frigols, que han avalado con su firma la presentación de mi candidatura a la elección como académico de número de esta institución, en la Sección "Ciencias básicas: Técnicas Instrumentales". Ellos son compañeros y amigos de toda mi vida como farmacéutico. El Dr. Stübing ya desde mi época de estudiante pues fuimos compañeros de estudios en la Licenciatura en Farmacia, el Dr. Rius desde mi estancia en el servicio de Radioisótopos en el inicio de mi doctorado y el Dr. Moreno fue profesor mío, después compañero en el Departamento de Química Física y siempre maestro. No quiero dejar pasar esta oportunidad para agradecer su respaldo a los demás académicos fundadores, con quienes me une una excelente relación de amistad, los Dres. Hernández Haba, Llopis González, Peris Gisbert, Sentandreu Ramón, Cortés Martínez y de manera especial al Dr. Hernández Giménez, primer Decano de la Facultad de Farmacia de Valencia y artífice del inicio y consolidación de los estudios de Farmacia en la Universidad de Valencia y con quien tuve el honor de ser el primer delegado de estudiantes de la Facultad de Farmacia y además en una época especialmente complicada por los acontecimientos políticos, como la que vivimos entre los años 1974 y 1979 en que cursamos los estudios de Farmacia la primera promoción de farmacéuticos de esta Universidad.

2. PREÁMBULO

Es en tercer curso de licenciatura cuando descubro la asignatura de Técnicas Instrumentales, de la mano de la Dra. Mª Teresa Salabert, de quien aprendí, no solo una amplia formación teórica y práctica de su asignatura, sino algo mucho más importante, lo que significa ser y sentirse farmacéutico. Entré como alumno interno en el laboratorio de Técnicas Instrumentales y a partir de ahí con el Dr. Moreno accedí al laboratorio de Radioisótopos del Hospital Clínico, donde realicé mi tesina de Licenciatura y tras el paréntesis obligado del servicio militar, mi Tesis Doctoral. En la Dra. Salabert y el Dr. Moreno he tenido dos excelentes profesores, dos grandes compañeros y amigos y sobre todo dos magníficos maestros que han constituido para mí un verdadero modelo a seguir, como farmacéuticos y como personas.

El destino a veces se conjuga para hacer coincidir al mismo tiempo acontecimientos que influyen y marcan la vida de las personas y tengo que decir que, en mi caso, así ha ocurrido, pues casi coincidiendo con el inicio de mi andadura en Técnicas Instrumentales, conocí a la mujer que hoy es mi esposa, sin lugar a dudas lo mejor que me ha ocurrido en la vida. Gracias, Amparo por toda una vida juntos, por tu apoyo, por tu ayuda, por tu ánimo. Gracias también a mis hijos, Virginia, farmacéutica y especialista en Microbiología y Parasitología y Alejandro, que este año acaba Farmacia. Gracias a los tres, hoy puedo estar aquí. Vosotros dais auténtico sentido a mi vida.

Como pueden ver, en mi caso, hay una palabra mágica, FARMACIA, en torno a la cual gira toda mi vida personal, profesional y hasta familiar.

3. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES

Quiero hacer un breve recorrido de la Técnicas Instrumentales en los diferentes planes de estudio de Farmacia, pues si bien como he indicado, en el que yo cursé, recibía esta denominación, no ha sido siempre así, ni tampoco es de aparición tan reciente como pueda parecer.

Ya en 1884 y 1885, se introdujeron las disciplinas "Teoría y práctica de Física con aplicación a la Farmacia y Estudio de los instrumentos y aparatos de Física de aplicación a la Farmacia", cuya denominación define con toda claridad su contenido. Procedía de la obra clásica de Henri Buignet *"Manipulations de Physique"*, que se estudiaba desde el año 1877 en la Escuela Superior de Farmacia de París, y en cuyo prólogo, se señala que *"el farmacéutico tendrá que usar una serie de aparatos de física en su ejercicio profesional, y que, por lo tanto, debe conocer su manejo y problemas con ellos relacionados, con más amplitud y detenimiento del que ordinariamente puede concederse en un curso de Física General"*.

Esta idea general queda reflejada en la obra de Fausto Garagarza, catedrático de Práctica de Operaciones Farmacéuticas, publicada en 1892, *"Instrumentos y aparatos de Física de aplicación a la Farmacia"*, que durante años sería libro de texto de estudiantes y de consulta obligada para otros muchos profesionales.

En 1900, la asignatura cambia de denominación a "Técnica Físi-

ca", pero sin variar la orientación de la misma, y por ello no cabe confundirla con una Física General Práctica.

En 1928 surge la asignatura "*Complementos de Física y Aplicaciones de Física y de Química-Física*" tratando de aunarla en una misma materia junto a la Fisicoquímica, para de nuevo, en los planes de estudio de 1931 tornar a "*Técnica Física aplicada a la Farmacia*", en el 2º curso de la titulación, pasando posteriormente a denominarse nuevamente *"Técnica Física"* en la modificación del plan 1943 y permaneciendo con la misma denominación en los de 1953.

No es hasta el plan de estudios de 1973 cuando aparece con la denominación de *"Técnicas Instrumentales"*, pasando en 1993 a una materia denominada *"Técnicas Analíticas"* que contenía un semestre de Análisis Químico y otro de Técnicas Instrumentales, en los últimos años de Licenciatura. Con la adecuación de los planes de estudio a los nuevos estudios del Grado en Farmacia se volvió a la denominación de *"Técnicas Instrumentales"* con la que hoy permanece. Aun cuando la actual denominación de esta asignatura es relativamente reciente, realmente sólo es un nombre nuevo de una disciplina bastante antigua y con unos objetivos bien definidos desde su inicio.

Podemos decir que hoy día los conocimientos sobre las bases teóricas, componentes, metodología y aplicaciones de los instrumentos científicos, se adquieren en la Facultad de Farmacia tras cursar la disciplina de Técnicas Instrumentales. Philip J. Elving las describió como *"todas las técnicas y métodos destinados a obtener información sobre la composición, identidad, pureza y constitución de las muestras de un material, en cuanto a su tipo, cantidad y agrupación de átomos y moléculas, así como de la determinación de aquellas propiedades físicas y comportamiento que puedan correlacionarse con estos objetivos"*. En definitiva, un conjunto de métodos que requieren de una disposición de trabajo en la que se incorporan instrumentos de medida más o menos complejos y que el farmacéutico debe conocer en profundidad.

No cabe duda que los avances científicos y tecnológicos y en particular los relacionados con la informática y electrónica han contribuido a que las Técnicas Instrumentales hayan tenido en los últimos años un desarrollo sorprendente, alcanzándose límites de detección, reproducibilidad y rapidez en las determinaciones analíticas inimagina-

bles hace tan solo unos pocos años. Todo ello supone la necesidad de formación y actualización permanente por parte de los farmacéuticos sea cual sea su ámbito de ejercicio profesional.

En lo referente a mi experiencia docente siempre ha estado vinculada a la docencia en Técnicas Instrumentales, materia troncal en la Licenciatura y el Grado en Farmacia y también a la Radiofarmacia desde su inclusión como materia optativa en los nuevos planes de estudio.

Desde mi primer contrato como Profesor Ayudante de Clases Prácticas en 1981, pasando por Profesor Asociado y hasta la actualidad como Profesor Titular, he impartido ininterrumpidamente docencia en Técnicas Instrumentales. De hecho, la convocatoria del concurso oposición para cubrir la plaza de Profesor Titular del Área de Química Física que ahora ocupo salió ya con el perfil docente de Técnicas Instrumentales.

Dicha docencia, inicialmente planteada para la titulación de Farmacia se ha extendido a otras titulaciones que, a priori, podrían parecer poco relacionadas con ella, pero que realmente no lo son tanto, sobre todo en lo que concierne a esta asignatura. Me estoy refiriendo a la titulación de Criminología. Si, puede parecer extraño y yo también pensé en un principio ¿qué hace un farmacéutico en criminología? En efecto todo surgió a raíz de una propuesta realizada desde la Facultad de Derecho, que en el año 2006 plantearon un segundo ciclo de Licenciatura en Criminología en que querían contar con una asignatura que incluyese el conjunto de técnicas que se realizan en los laboratorios forenses, para lo que contactaron conmigo y con otro profesor del departamento de Genética. Realmente dicha materia no está tan lejos de las Técnicas Instrumentales de Farmacia, pues los métodos analíticos son similares a los utilizados en análisis y control de calidad de medicamentos o a los empleados en análisis toxicológico, pero en este caso enfocados al análisis forense. La asignatura se llamó "*Técnicas en Análisis Criminal*" y abarca desde el conjunto de técnicas relacionadas con la huella genética, impartidas por el profesor de dicha área, a las empleadas en la detección e identificación de drogas estupefacientes, agentes químicos tóxicos, agentes de guerra química e incluso elementos radiactivos, impartidas por mí. En un principio iba a ser solamente una asignatura optativa en segundo ciclo de la Licenciatura de Criminología, pero fue acogida con tanto éxito que con el cambio de planes de estudio y su

adecuación a los nuevos Grados, en 2011, la transformaron en asignatura obligatoria tanto para el Grado en Criminología como para el Doble Grado en Derecho-Criminología, permaneciendo así en la actualidad.

Sin duda alguna una magnífica oportunidad de ampliar y difundir las Técnicas Instrumentales en otros ámbitos del ejercicio profesional menos conocidos pero en los que los farmacéuticos también desempeñamos un papel extraordinariamente importante. Tal es el caso de la Fuerzas de Seguridad del Estado, que cuentan con farmacéuticos en los Laboratorios de Policía Científica y en la Brigada Central de Estupefacientes, junto a los que he participado impartiendo cursos y seminarios. También con el Ejército, donde, además de la propia Farmacia Militar contamos con farmacéuticos en Unidades especiales como el Regimiento NBQ "Valencia" Nº1, que constituye el referente obligado del Ejército de Tierra en todo lo que se refiere a la defensa contra agresivos de carácter Nuclear, Biológico y Químico que puedan producir daños en el medio ambiente y el entorno social, bien por catástrofes naturales, accidentes industriales o por el empleo de armas que contengan dichas sustancias, ya sea en acciones terroristas o en conflictos bélicos. Una Unidad de élite con sede en el acuartelamiento de Paterna y con la que colaboro desde el año 2010 impartiendo Cursos de Formación para Especialistas del Ejército de Tierra, enfocados principalmente a las Técnicas Instrumentales empleadas en la detección de agentes químicos tóxicos, agentes de guerra química y elementos radiactivos.

Fruto de esta colaboración ha sido la concesión del Premio *"Brigada Blas Aguilar Ortega"*, que me otorgó el Regimiento de Defensa NBQ "Valencia" Nº1 en febrero de 2017, máxima distinción que concede dicha Unidad militar al personal civil, en reconocimiento a la colaboración desinteresada en la formación de sus integrantes en las Técnicas Instrumentales de uso habitual en sus unidades.

En cuanto a la formación en dicha materia, son muchos y de gran calidad los libros de texto de análisis e instrumentación publicados hasta la fecha, pero la mayoría de ellos son, desde mi punto de vista, demasiado generalistas y bajo la denominación de análisis instrumental o de química analítica, abordan más las necesidades de laboratorios químicos de diferentes índoles, que las propiamente farmacéuticas, por lo que personalmente considero que uno de los que mejor se adecua a las necesidades de un farmacéutico es el publicado con el título *"Técni-*

cas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud", cuyos autores son los Dres. Oriol Valls y Benito del Castillo, el primero recientemente nombrado Académico Correspondiente de esta Academia de Farmacia y el segundo, propuesto para idéntico nombramiento pero aplazado por motivos de salud. De este texto es también autor de un capítulo especializado el Dr. Moreno Frigols, Académico de Número de esta institución.

Quiso el destino que tal día como hoy, un 3 de febrero pero del año 1999, el Profesor Benito del Castillo me firmara un ejemplar de su libro y añadiera como dedicatoria, *"A mi querido amigo y compañero D. Facundo Pérez Giménez gran entusiasta y defensor de las Técnicas Instrumentales y de la Farmacia"*. Hoy, día 3 de febrero y 21 años después, tengo el honor de poder estar ante ustedes con el mismo entusiasmo por la defensa de las Técnicas Instrumentales y de la Farmacia.

En cuanto a la clasificación de las Técnicas Instrumentales dada su enorme amplitud y creciente complejidad y ante el enorme abanico de nuevas perspectivas analíticas, resultaría excesivo para este discurso hacerla de manera pormenorizada, por lo que la haré de modo resumido describiendo los grandes grupos de técnicas, para profundizar posteriormente en las que seleccionado para esta ocasión.

Clasificación de las Técnicas Instrumentales:

1.- Métodos de interacción de la radiación electromagnética (REM) con la materia: conjunto de técnicas espectroscópicas basadas en los fenómenos de emisión, absorción, fluorescencia y dispersión de radiación a niveles atómico y molecular.

2.- Métodos de separación: electroforesis, cromatografías, espectrometría de masas y de movilidad iónica.

3.- Métodos electroquímicos: potenciometría, conductimetría y voltametría.

4.- Métodos radioquímicos: dilución isotópica y radioinmunoanálisis.

5.- Métodos térmicos: termogravimetría y análisis térmico diferencial.

Del conjunto de métodos citados he seleccionado dos técnicas de entre las que, en mi opinión, han experimentado en los últimos años una progresión más espectacular, tanto por el creciente número de aplicaciones descritas para cada una de ellas, como por su grado de automatismo, disponiéndose en ambos casos de equipos portátiles enormemente eficaces que permiten su utilización en ámbitos, en ocasiones, enormemente alejados de lo que consideramos habitual en un laboratorio analítico. Tal es el caso de la *Espectroscopia Raman*, incluida entre los métodos de interacción de la radiación electromagnética (REM) con la materia y de la *Espectrometría de Movilidad Iónica (Ion Mobility Spectrometry o IMS)*, incluida entre los métodos de separación.

4. ESPECTROSCOPIA RAMAN

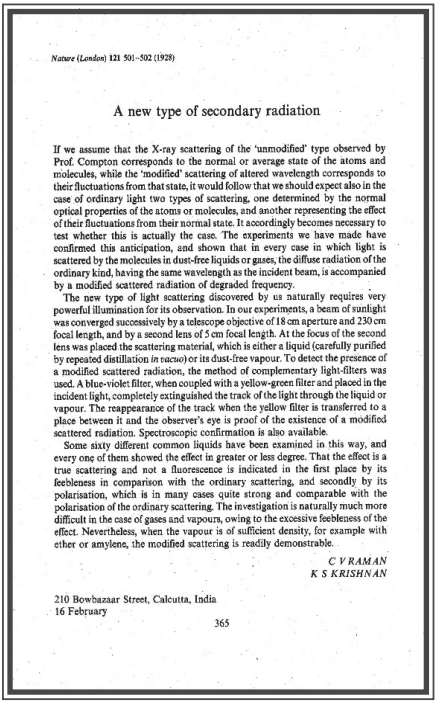
1. C. Venkata Raman

Constituye una técnica espectroscópica de interacción de la radiación electromagnética con la materia basada en el fenómeno de dispersión.

Cuando la radiación electromagnética atraviesa un medio material transparente una fracción del haz se dispersa en todas direcciones. El físico hindú C. Venkata Raman (*Fig. 1*) observó que una pequeña porción de la radiación dispersada poseía un color diferente. La experiencia la repitió, junto con su discípulo Krishnan, con 60 sustancias diferentes en estado líquido y en todos los casos observaron el mismo fenómeno de manera más o menos acusada, utilizando un espectrógrafo construido por ellos mismos (*Fig. 2*). Es decir, que *"en todos los casos en que la luz es dispersada por las moléculas en líquidos o gases libres de polvo, la radiación difusa del tipo ordinario, que tiene la misma longitud de onda que el haz incidente, es acompañada de una radia-*

ción dispersa modificada de frecuencia degradada". Tal afirmación aparece en el trabajo publicado por Raman y Krishnan en *Nature* en 1928, *"Un nuevo tipo de radiación secundaria"* (*Fig. 3*) que explica el conocido como **"Efecto Raman"**, que le valió la concesión del Nobel de Física en 1930.Dado que la radiación secundaria dispersada difería de unas sustancias a otras, concluía que la causa de los desplazamientos de longitud de onda dependen de la estructura química de las moléculas responsables de la dispersión y por tanto está relacionada con la composición y características del medio material transparente y es independiente de la longitud de onda de la luz incidente.

2. Espectrómetro diseñado por C.V. Raman



Nature (London) **121** 501–502 (1928)

A new type of secondary radiation

If we assume that the X-ray scattering of the 'unmodified' type observed by Prof. Compton corresponds to the normal or average state of the atoms and molecules, while the 'modified' scattering of altered wavelength corresponds to their fluctuations from that state, it would follow that we should expect also in the case of ordinary light two types of scattering, one determined by the normal optical properties of the atoms or molecules, and another representing the effect of their fluctuations from their normal state. It accordingly becomes necessary to test whether this is actually the case. The experiments we have made have confirmed this anticipation, and shown that in every case in which light is scattered by the molecules in dust-free liquids or gases, the diffuse radiation of the ordinary kind, having the same wavelength as the incident beam, is accompanied by a modified scattered radiation of degraded frequency.

The new type of light scattering discovered by us naturally requires very powerful illumination for its observation. In our experiments, a beam of sunlight was converged successively by a telescope objective of 18 cm aperture and 230 cm focal length, and by a second lens of 5 cm focal length. At the focus of the second lens was placed the scattering material, which is either a liquid (carefully purified by repeated distillation *in vacuo*) or its dust-free vapour. To detect the presence of a modified scattered radiation, the method of complementary light-filters was used. A blue-violet filter, when coupled with a yellow-green filter and placed in the incident light, completely extinguished the track of the light through the liquid or vapour. The reappearance of the track when the yellow filter is transferred to a place between it and the observer's eye is proof of the existence of a modified scattered radiation. Spectroscopic confirmation is also available.

Some sixty different common liquids have been examined in this way, and every one of them showed the effect in greater or less degree. That the effect is a true scattering and not a fluorescence is indicated in the first place by its feebleness in comparison with the ordinary scattering, and secondly by its polarisation, which is in many cases quite strong and comparable with the polarisation of the ordinary scattering. The investigation is naturally much more difficult in the case of gases and vapours, owing to the excessive feebleness of the effect. Nevertheless, when the vapour is of sufficient density, for example with ether or amylene, the modified scattering is readily demonstrable.

C V RAMAN
K S KRISHNAN

210 Bowbazaar Street, Calcutta, India
16 February

365

3. Publicación original describiendo el efecto Raman

Este fenómeno lo podemos apreciar a diario observando el color azul del cielo, pues aunque la luz incidente procedente del sol es blanca, posee dicho color debido a que presenta máxima dispersión para la longitud de onda de color azul.

Sin embargo, como el mismo Raman indicaba, para poder observar este fenómeno se requiere una fuente de iluminación muy potente dada la baja intensidad de la radiación secundaria. Este hecho, unido a la interferencia de la fluorescencia de la muestra o de sus impurezas ha

provocado que la Espectroscopia Raman no haya sido muy utilizada hasta la llegada de las fuentes láser a final de los años sesenta.

Se ha comprobado que la diferencia de energía entre la luz incidente y la dispersada por efecto Raman, corresponde a la región del infrarrojo medio y por tanto está relacionada con el mismo tipo de cambios vibracionales cuantizados que se producen en la absorción infrarroja. Todo ello independientemente del valor de frecuencia de la luz incidente. En efecto, para una misma especie, el espectro de dispersión Raman y el espectro de absorción infrarroja suelen parecerse mucho en cuanto a las longitudes de onda de las bandas que aparecen en ambos, aunque difieren notablemente en la intensidad. Lo cual no significa que las técnicas sean competitivas sino más bien, al contrario, complementarias.

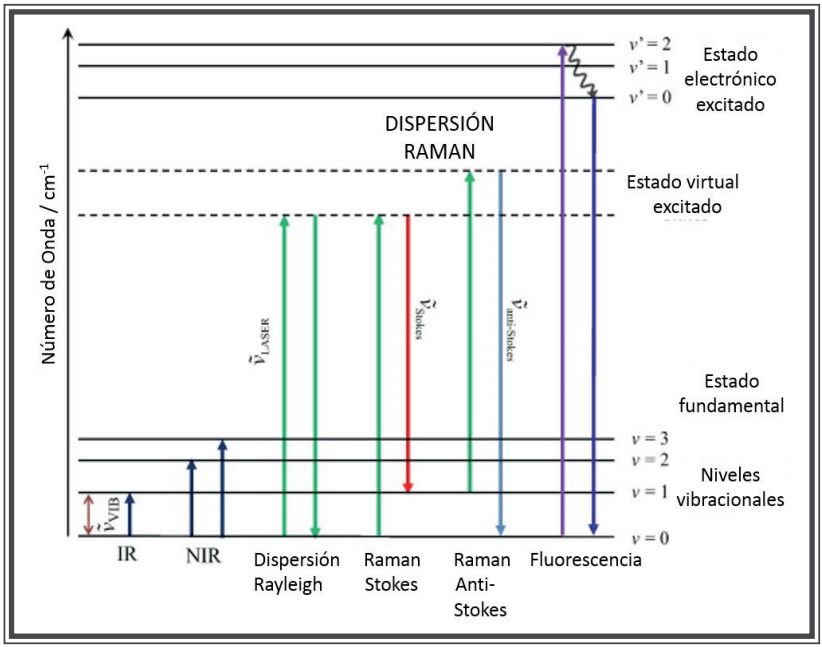
Una ventaja importante de la técnica Raman respecto de la infrarroja es que el agua no produce interferencias, por lo que se pueden obtener espectros de disoluciones acuosas de sistemas inorgánicos. Además, se pueden emplear cubetas de vidrio o cuarzo ya que la luz incidente y dispersada son de la región visible o infrarrojo cercano y dichos materiales son transparentes en ambas regiones del espectro electromagnético.

Los espectros Raman se obtienen al irradiar una muestra con una potente fuente láser de radiación monocromática visible o del infrarrojo cercano.

La radiación dispersada es de muy baja intensidad (0,001 % de la incidente), por lo que se registra con un ángulo de 90º para evitar la interferencia con la incidente.

Cuando un fotón de la fuente de excitación interacciona con una molécula se produce un incremento de energía a un estado virtual situado entre el estado fundamental y el primer estado electrónico excitado. La posterior desexcitación podría implicar la pérdida de energía hasta el nivel fundamental, es decir no habría pérdida de energía y estaríamos en ese caso ante una dispersión Rayleigh, es decir una colisión elástica entre el fotón y la molécula. Pero si el enlace es activo en el infrarrojo, es decir, si la polarizabilidad de la molécula varía con la distancia interatómica, se quedaría en el primer nivel vibracional del es-

tado electrónico fundamental, con lo que la frecuencia del pico de absorción infrarroja tendría la misma magnitud que el desplazamiento de la frecuencia Raman y estaríamos ante un proceso de dispersión Raman-Stokes (Fig. 4). Por el contrario, si en el momento de producirse la excitación, la molécula se encuentra en el primer nivel de energía vibracional del estado electrónico fundamental, la posterior desexcitación implicaría la vuelta hasta el nivel fundamental y el proceso sería Raman-AntiStokes. Si bien, a temperatura ambiente, el número de moléculas que se encuentran en el primer nivel vibracional es muy bajo, por lo que la probabilidad de ocurrencia de este proceso es muy pequeña y por tanto presentaría muy baja intensidad.



4. Diagrama de energías molecular para dispersión Raman, Rayleigh y emisión de fluorescencia

Es de destacar que tanto en el proceso *Raman-Stokes* como *AntiStokes* la diferencia de energía con la dispersión *Rayleigh* es igual a la energía del primer nivel vibracional.

El espectro obtenido mostrará la intensidad de la radiación dispersada frente al número de onda, expresado como diferencia entre los de la luz incidente y dispersada y será por tanto independiente de la longitud de onda de excitación. La intensidad de los picos depende de la polarizabilidad de la molécula, de la intensidad de la fuente y de la concentración de sustancia activa.

El espectro Raman es más sencillo que el infrarrojo, con menor número de bandas y aunque muchas de ellas coinciden, son de intensidades relativas diferentes. Para que una molécula presente absorción en el infrarrojo es necesario que experimente un cambio en el momento dipolar o en la distribución de carga asociada con él. Mientras que la dispersión implica una distorsión momentánea de los electrones distribuidos alrededor de un enlace de la molécula, seguida por la reemisión de la radiación cuando el enlace vuelve a su estado normal. En su forma distorsionada la molécula está temporalmente polarizada y vuelve a su estado normal con la reemisión. Esta diferencia en el mecanismo justifica el distinto comportamiento de las moléculas en ambos tipos de técnicas.

4.1 INSTRUMENTACIÓN

Los Espectrómetros Raman actuales poseen un haz láser como fuente emisora de radiación electromagnética, que atraviesa la muestra y pasa a través de un interferómetro de Michelson para seleccionar las diferentes longitudes de onda, eliminando a la vez la radiación láser parásita y la dispersión Rayleigh, siendo posteriormente enfocada sobre un detector. Los caminos recorridos por la luz incidente y dispersada forman normalmente un ángulo de 90º dada la baja intensidad de la señal Raman.

Las fuentes láser pueden ser visibles, entre los que destacan los de *Argón* (488,0 o 514,5 nm) y *Criptón* (530,9 o 647,1 nm) y del infrarrojo cercano, como el de Nd/YAG (granate de itrio y aluminio dopado con impurezas de neodimio) (1064 nm) que tiene la ventaja de no provocar fotodescomposición de la muestra ni excitación fotónica capaz de generar emisión de fluorescencia.

La utilización de un sistema interferométrico para seleccionar las longitudes de onda dispersadas evita pérdidas de intensidad de la señal Raman, aunque necesita de un sistema informático que realice la transformación matemática de Fourier que permite transformar la señal discontinua de dominio tiempo del interferograma en una señal continua de dominio frecuencia o número de onda.

La manipulación de las muestras en espectroscopia Raman es mucho más simple que en infrarrojo, ya que se puede emplear vidrio óptico y cuarzo para ventanas, lentes y recipientes portamuestras en lugar de haluros alcalinos más frágiles y menos estables a los componentes atmosféricos. Las muestras pueden procesarse tanto en estado sólido como líquido o gaseoso.

Además de los sistemas de espectroscopia Raman confocal, de extraordinaria eficacia en el análisis de muestras sólidas como son los comprimidos en la industria farmacéutica, la espectroscopia Raman de Resonancia permite aumentar considerablemente la sensibilidad del método ya que las intensidades de las líneas Raman se incrementan notablemente por la excitación con longitudes de onda próximas a la excitación del pico de absorción electrónica del analito, incrementando además su especificidad ya que se puede dirigir la excitación a una banda de absorción concreta. Para ello los instrumentos deben estar dotados de láser sintonizable. La principal limitación de la espectroscopia Raman de resonancia radica en la interferencia causada por la posible emisión de fluorescencia del propio analito. Combinando esta técnica con el uso de partículas coloidales metálicas (normalmente oro, plata o cobre) sobre las que se absorbe la muestra, se consigue un aumento considerable de la superficie (Espectroscopia Raman de superficie aumentada) que se traduce en un aumento notable de la intensidad de la señal pudiendo determinarse concentraciones de sustancias extraordinariamente bajas.

También se pueden realizar muestreos mediante fibra óptica ya que al utilizar radiación visible o del infrarrojo cercano, la luz se puede transmitir a distancias considerables (hasta de 100 metros) a través de una sonda de fibra óptica con un haz concéntrico de fibras que se encargan, unas de hacer llegar la luz excitadora a la muestra y otras de conducir la radiación dispersada hasta el sistema selector de longitudes de onda.

El detector suele estar constituido por un semiconductor de germanio o más recientemente por sensores bidimensionales de acoplamiento de carga (*Charge Coupled Device o CCD*).

4.2 APLICACIONES

Con todo ello la espectroscopia Raman ha experimentado en los últimos años un notable auge y hoy se aplica al análisis cualitativo y cuantitativo de sistemas inorgánicos, orgánicos y biológicos, presentando grandes ventajas respecto de la espectroscopia infrarroja en el caso de los sistemas inorgánicos y biológicos al poderse utilizar disoluciones acuosas y ser un método no destructivo.

Además con los avances en microinformática y microelectrónica se ha podido dar el salto desde las instalaciones de los laboratorios de espectroscopia a equipos autónomos portátiles que permiten realizar espectros Raman en muy diferentes ubicaciones, en pocos segundos y sin tratamiento previo de las muestras, obteniendo la identificación de diferentes compuestos comparando con los espectros patrón de que disponen en bases de datos incorporadas al mismo equipo instrumental. Recordemos que los espectros Raman son semejantes a los espectros de infrarrojo y por tanto presentan regiones útiles para la detección de grupos funcionales y regiones de “huella dactilar” que permiten la identificación de compuestos específicos.

4.2.1 Aplicaciones en la Industria Farmacéutica

En la industria farmacéutica y cosmética es ampliamente utilizada en la identificación rutinaria de materias primas, tanto principios activos (*Tabla 1*) como excipientes, empleados en la preparación de diferentes formas farmacéuticas, siendo altamente eficaz en el control de calidad de las mismas, pudiéndose construir en cada laboratorio una extensa librería de espectros Raman que facilita su identificación, así como la determinación cuantitativa de sustancias activas en diferentes formulaciones. Se realizan también estudios de polimorfismo de los componentes

de cada formulación para optimizar su dosificación. Todo ello con la ventaja de que dichas determinaciones se pueden realizar directamente con los compuestos en estado sólido o líquido y sin necesidad de tratamiento previo de los mismos o bien directamente en el recipiente que los contiene, ya sea de vidrio o plásticos traslúcidos sin necesidad de abrirlos. Los espectros Raman también permiten determinar el tamaño de partículas, grado de homogeneización e identificación de los componentes de comprimidos envasados y listos para su distribución a través del plástico del blister que los contiene o de formas farmacéuticas líquidas de administración oral o parenteral y preparados cosméticos a través de la pared de vidrio o plástico del recipiente, lo que hace de esta técnica un método altamente eficaz como método analítico no destructivo de control de calidad de productos farmacéuticos, con la ventaja de que al no requerir tratamiento previo de las muestras no se produce ninguna alteración fisicoquímica de las condiciones de formulación. De este modo se pueden analizar directamente las diferentes capas de comprimidos recubiertos, de capas múltiples, de cubierta gastrorresistente, de liberación controlada o de comprimidos dispersables. Así como realizar mapas tridimensionales de alta resolución que muestran la composición química de sistemas de fases múltiples empleados en algunas emulsiones.

Tabla 1. Principios activos analizados por espectroscopia Raman en la industria farmacéutica

Acebutolol	Indometacina
Acetaminofeno	Isosorbide
Alprenolol	Lorazepam
Amilorida	Lormetazepam
Amoxicilina	Nicotinamida
Anfetamina	Nistatina
Anfotericina A/B	Oxazepam
Arterenol	Fenilefrina
Aspirina	Fenilpropanolamina
Atenolol	Piroxicam
Bucindol	Prometazina
Cefalotina	Propanolol
Cimetidina	Espironolactona
Ciprofloxacina	Estricnina
Cocaína	Sulfameracina
Diclofenaco	Sulfadiacina
Efedrina	Sulfametacina
Flucoxacilina	Temazepam
Fluconazol	Teofilina
Ibuprofeno	Trifluopeazina

4.2.2 Detección de drogas ilícitas, Explosivos y Agentes de Guerra Química

Los espectrómetros Raman portátiles son de los equipos instrumentales más ampliamente utilizados por Fuerzas de Seguridad de

todo el mundo, en la detección e identificación de drogas ilegales y sustancia estupefacientes, ya que pueden analizarse directamente en estado sólido o líquido sin manipulación previa de la muestra, ni en contacto directo con ella, sino a través de la pared transparente del recipiente que la contiene, comparando el espectro obtenido in situ con los espectros de que disponen los propios equipos instrumentales en librerías de datos adecuadas a dicha finalidad, evitando así las posibles interferencias que en ocasiones presentan los métodos colorimétricos de screening debido en gran medida a las sustancias que los traficantes emplean tratando de enmascararlas o adulterarlas. De este modo se identifican sustancias como heroína, cocaína, anfetaminas y derivados, cannabis y cannabinoides sintéticos, alucinógenos, drogas recreativas y medicamentos falsificados.

Del mismo modo se identifican sustancias como agentes de guerra química como gases nerviosos y gases vesicantes y sus precursores o explosivos (TNT, PETN, RDX, Semtex, etc.) sin necesidad de abrir el recipiente que los contiene, no poniendo así en riesgo la vida de los agentes de seguridad. Hoy en día son instrumentos imprescindibles en el control aeroportuario de personas y equipajes, tanto para combatir delitos de narcotráfico como la posible comisión de actos de terrorismo. Además, dado que se puede realizar la determinación a través de una sonda de fibra óptica, en ocasiones, si la situación lo requiere, se puede realizar el espectro sirviéndose de un sistema robotizado y a una distancia suficiente como para no poner en riesgo la integridad física del equipo de personas que lo maneja.

4.2.3 Aplicaciones en Arqueología y análisis de obras pictóricas

Al ser un método no destructivo y poderse utilizar sondas de fibra óptica para la excitación y captación de la radiación dispersada, la espectroscopia Raman se ha mostrado altamente eficaz en estudios arqueológicos y pictóricos ya que se puede analizar la muestra a distancia y sin dañar su superficie. En efecto, a través de dichos espectros se ha podido estudiar la composición mineral y de los pigmentos empleados en las pinturas rupestres de la Cueva de Altamira, de manera no invasiva. También se ha empleado esta técnica en el estudio de las monedas de plata procedentes del naufragio de la fragata Nuestra

Señora de las Mercedes, tras ser recuperadas por el Estado Español tras el litigio con la empresa Odyssey; en el estudio de la secuencia de policromías y de la composición de los materiales empleados en las decoraciones del conjunto escultórico del Pórtico de la Gloria de la Catedral de Santiago de Compostela; en el análisis de obras pictóricas de grandes maestros como Goya, que ha hecho posible determinar la composición de las pinturas empleadas habitualmente en sus obras, lo que ha permitido la autenticación de algunas de ellas a través de la composición de los pigmentos empleados en sus paletas de colores.

4.2.4 Aplicaciones biológicas

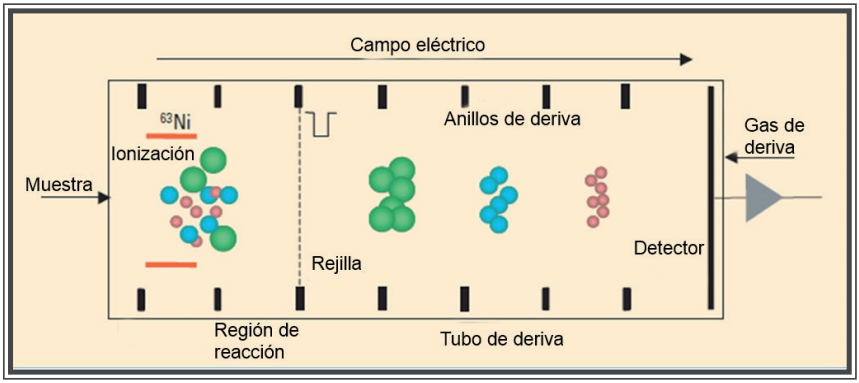
Desde el punto de vista biológico la espectroscopia Raman presenta la ventaja de poder analizar sistemas acuosos como las estructuras celulares *in situ* ya que el agua no interfiere, por lo que se pueden estudiar tejidos sanos y tumorales diferenciando los patrones obtenidos en ambos casos, así como el estudio de moléculas biológicas en condiciones fisiológicamente significativas. Un aspecto en el que se ha mostrado muy eficaz la espectroscopia Raman de resonancia. Mediante esta técnica se ha podido determinar el estado de oxidación y el espín de los átomos de hierro en la hemoglobina y el citocromo-c.

Sin embargo, son variantes de dicha técnica como la espectroscopia Raman de superficie aumentada (SERS) las que se están mostrando más útiles. Dicha técnica utiliza partículas nanocoloidales de oro o plata que se depositan sobre la superficie de determinados tejidos para realizar posteriormente un espectro Raman que permita la identificación de moléculas consideradas biomarcadores tumorales o indicadores de infecciones microbianas y respiratorias, permitiendo su cuantificación incluso en concentraciones traza. Las partículas metálicas provocan un aumento considerable de la superficie y un notable incremento de la señal obtenida lo que se traduce en una mejora significativa de la especificidad y sensibilidad, de manera similar a los inmunoanálisis que emplean marcadores enzimáticos, fluorogénicos o radiactivos.

5. ESPECTROMETRÍA DE MOVILIDAD IÓNICA (IMS)

La Espectrometría de Movilidad Iónica (IMS) es una potente técnica analítica de separación basada en interacciones iónicas moleculares en un campo eléctrico homogéneo. Fue descrita por primera vez por Karasek y Cohen en 1970 y tradicionalmente ha sido estudiada de manera conjunta con la Espectrometría de Masas, pero fue de la mano de Gary Eiceman y Zeev Karpas, que en 1993 publican la monografía *"Ion Mobility Spectrometry"*, cuando experimenta un notable auge, convirtiéndose en un método analítico ampliamente utilizado en la identificación y monitorización de compuestos químicos en general, explosivos, gases tóxicos y drogas estupefacientes.

Respecto de la Espectrometría de Masas posee etapas comunes como son la ionización de las moléculas, la separación en un campo eléctrico y posterior detección, pero en dichas etapas existen diferencias significativas. Así, en la fase inicial de ionización, no se produce fraccionamiento molecular sino que se generan iones moleculares y además a presión atmosférica, no siendo necesario el vacío. Por otra parte, la separación aunque también es en función de la relación carga/masa, no se realiza aplicando campos eléctricos y magnéticos sino únicamente eléctricos. Así, los espectrómetros IMS son instrumentos de diseño compacto, poseen alta sensibilidad (ppb-ppt), respuesta rápida del orden de milisegundos y capacidad de separar compuestos isoméricos.



5. Esquema de un Espectrómetro de Movilidad Iónica (IMS) con sus diferentes regiones.

5.1 INSTRUMENTACIÓN

Tradicionalmente, los Espectrómetros de Movilidad Iónica (IMS) constan de las siguientes partes: región de ionización, región de reacción, tubo de deriva y detector (*Fig. 5*).

5.1.1 Región de Ionización

En la región de ionización se introducen las moléculas en estado de vapor y se produce la formación de iones reactivos. La formación de dichos iones está estrechamente relacionada con el tipo de fuente de ionización utilizada. Las fuentes de ionización tradicionales y más comunes en IMS son fuentes radiactivas, especialmente Ni-63, un emisor beta-negativo. Esta fuente de ionización es estable y tiene una larga vida útil ya que el níquel posee un periodo de semidesintegración de 100 años y además no requiere de una fuente de alimentación adicional. El principal inconveniente es su radioactividad y las restricciones relacionadas con ella. Los iones moleculares generados a partir de este tipo de fuentes de ionización van acompañados de $(O_2)^-$ entre los de polaridad negativa y H^+ entre los de polaridad positiva.

Además existen otras fuentes de ionización como las de corona de descarga, de fotoionización, de plasma a baja temperatura y de electrones pulsados que dan excelentes resultados en IMS. En comparación con las fuentes de ionización radiactiva, las de corona de descarga ofrecen mejor rendimiento en algunos casos, con una señal de mayor intensidad, más sensibilidad y mejor relación señal/ruido, provocado en parte por la formación de iones NO^- y NO_3^+, además de los anteriores, lo que contribuye a mejorar la detección de algunos compuestos.

Algunos equipos emplean un sistema de ionización/desorción asistido por láser en una matriz sólida similar al método MALDI (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) utilizado en otras espectrometrías, que permite la introducción directa de muestras sólidas no volátiles que se vaporizan e ionizan y son conducidas al tubo de deriva evitando la fragmentación y disociación de las moléculas.

La ionización por electrospray (ESI o Electro spray ionization) es un método que también permite el procesamiento de muestras no vo-

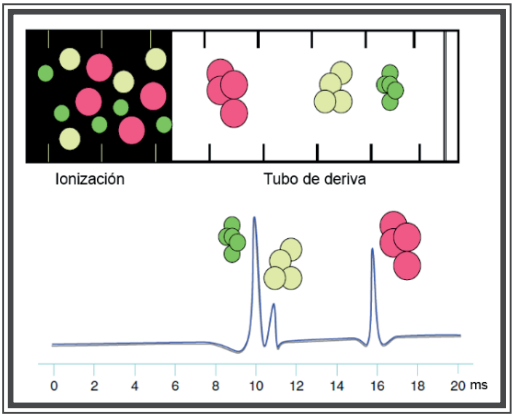
látiles, macromoléculas y moléculas biológicas que pueden alterarse por efecto del calor generado por otros métodos de ionización y que en este caso no se ven afectadas al ser arrastradas en forma de aerosol sólido que dejará iones gaseosos que se conducen al interior del tubo de deriva.

5.1.2 Región de reacción y Tubo de Deriva

En la región de reacción, se produce la interacción entre los iones reactivos y las moléculas de la muestra aspirada, formándose nuevos productos iónicos que pueden ser modificados mediante determinados gases dopantes, permitiendo aumentar la sensibilidad y selectividad del método.

Al final de la región de reacción existe una rejilla de obturación a través de la que los iones generados se introducen en el tubo de deriva que constituye una parte fundamental de los instrumentos IMS al ser donde se separan las especies iónicas sometidas a un campo eléctrico homogéneo aplicado a través de una serie de anillos conductores metálicos colocados entre la puerta de entrada de iones y el extremo final del tubo que lleva al detector.

Los iones son acelerados sometidos a voltajes que se van incrementando desde 100 a 10.000 V, adquiriendo diferente velocidad en función de su carga, masa y volumen, separándose en función del tiempo que cada uno requiere para llegar al detector (unos pocos milisegundos) (*Fig. 6*). Un mecanismo similar al tiempo de vuelo (TOF) de la Espectrometría de Masas.



6. Separación de iones en el tubo de deriva y representación de un espectro IMS.

Para que el método sea reproducible es importante mantener controlados determinados parámetros físicos como humedad,

temperatura y composición del gas soporte, cuya misión es proporcionar una atmósfera de apoyo a la ionización y libre de impurezas para lo que se suelen utilizar gases inertes como argón o helio.

5.1.3 Región de detección

Al final del tubo de deriva se encuentra un detector constituido por una placa colectora de iones (placa de Faraday) que genera un pulso eléctrico ante la llegada de cada ion, independientemente de su polaridad.

El espectro IMS constituye la representación gráfica de una señal eléctrica que será la intensidad de los picos de cada ion, en función del tiempo de deriva, que es característico de cada ion. Dicho espectro será único y constituye la huella dactilar del compuesto analizado.

El espectro obtenido para una determinada sustancia se compara con el de sustancias patrón analizadas en las mismas condiciones fisicoquímicas e incluidas en las librerías de datos que incorporan los equipos instrumentales, permitiendo la identificación in situ de los compuestos analizados. El tiempo total del análisis es, en la mayoría de los casos, inferior a un minuto, mucho menor al de los métodos de separación habituales en los laboratorios analíticos.

5.2 APLICACIONES

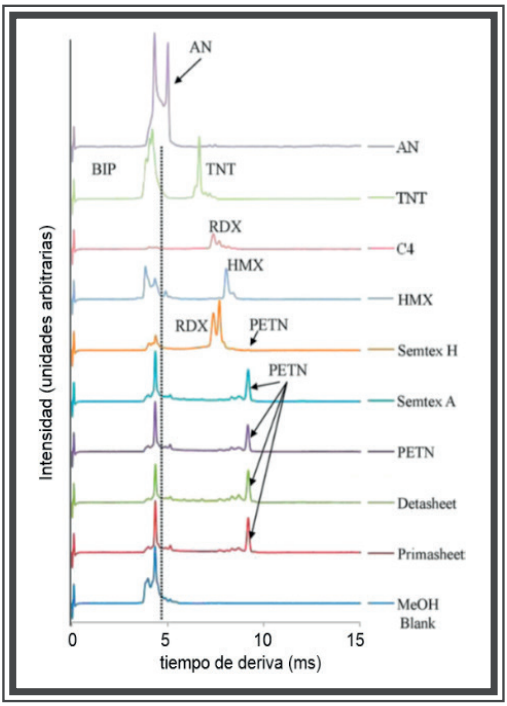
La evolución que ha experimentado esta técnica en los últimos años ha hecho que aparezcan variantes de la misma que mejoran su eficacia y amplían el número de aplicaciones de la movilidad iónica. Tal es el caso de la Espectrometría de movilidad diferencial (DMS), Espectrometría de movilidad iónica en tiempo de deriva (DTIMS), Espectrometría de movilidad iónica por aspiración (AIMS) o la Espectrometría de movilidad de iones de onda viajera (TWIMS).

Si bien la espectrometría de movilidad iónica tomó en un principio un notable auge en campos específicamente forenses, como método

rápido y sensible para la detección de explosivos, narcóticos y agentes de guerra química, sus especiales características y eficacia le han permitido abrirse un hueco importante en otros campos bien distintos, como el control de calidad de productos farmacéuticos, detección de moléculas de interés biológico, en la seguridad de los procesos de producción y conservación de alimentos y en análisis medioambiental.

5.2.1 Detección de explosivos

La técnica se considera hoy imprescindible en la seguridad de muchos aeropuertos para la identificación de explosivos como RDX, PETN, TNT, Semtex, etc. y mezclas de ellos en muy pocos segundos (Fig. 7), siendo capaz de detectarlos en el interior de equipajes y bolsos de mano con un simple rastreo de su superficie y sin necesidad de abrirlos, lo que constituye una eficaz herramienta para evitar posibles atentados terroristas, pudiendo realizar el escaneo automático de todo el equipaje facturado que se ubica en las bodegas de aviones o barcos. En efecto, muchas de estas sustancias son nitroderivados altamente electronegativos lo que permite su detección por movilidad iónica en concentraciones traza, aún a pesar de la baja presión de vapor de algunos explosivos.



7. Espectros IMS de varios explosivos

5.2.2 Detección de Agentes de Guerra Química y sustancias tóxicas

Algo similar ocurre con la detección de sustancias catalogadas como Agentes de Guerra Química (*Chemical war agentes o CWA*) y/o sus precursores:

a) Agentes "Nerviosos": normalmente compuestos organofosforados.

b) Agentes "Vesicantes": normalmente compuestos de Cloro, Azufre, o derivados del Arsénico.

Todas ellas incluidas en los listados de compuestos químicos aprobados en la convención sobre la prohibición del desarrollo, la producción, el almacenamiento y el empleo de armas químicas y sobre su destrucción.

En estos casos, la técnica IMS se ha mostrado altamente eficaz en la separación de los iones, permitiendo la rápida identificación de Agentes nerviosos y vesicantes como *Tabún, Sarín, Soman, Ciclosarin, Agente VX, cloruro de cianógeno (CK), mostaza nitrogenada* y *gas mostaza*, entre otros. No solo en ambientes bélicos sino también en el de posibles atentados terroristas.

También en la industria química en general, se está mostrando altamente eficaz en la seguridad de personas e instalaciones en entornos en los que puedan detectarse sustancias químicas altamente tóxicas tales como Cl_2, HCl, HNO_3, SO_2, HCN, HF, HBr, BCl_3, BF_3, NH_3, CS_2, fosgeno, óxido de etileno, tricloruro de fosforo (PCl_3), etc., o en la formación de atmósferas explosivas, dada la rápida respuesta de estos equipos instrumentales y el reducido tamaño de algunos de ellos.

5.2.3 Detección de drogas ilícitas

Así mismo se ha mostrado altamente eficaz en la detección de drogas estupefacientes tales como *Cocaína, Heroína, Anfetaminas, MDMA (Éxtasis), LSD, fenetilaminas, catinonas, cannabinoides sintéticos, triptaminas* y otras sustancias psicoactivas, de una manera rápida, eficaz y en concentraciones traza, lo que hace de la movilidad iónica una técnica ampliamente utilizada tanto en los laboratorios forenses

como en el control de drogas ilícitas en puntos de seguridad de aeropuertos, fronteras y aduanas, pudiendo realizarse la detección tanto en equipajes, como realizando un rastreo directo sobre personas, a través de arcos de seguridad que incorporan detectores de metales y tecnología IMS o bien solamente en las manos, pasando sobre la piel un plástico siliconado en el que se impregnan restos de las sustancias que hayamos manipulado recientemente o incluso en muestras de saliva. Lo que la convierte en un arma eficaz en la lucha contra el narcotráfico.

5.2.4 Aplicaciones en la Industria Farmacéutica

La espectrometría IMS constituye un método de análisis rápido, de bajo costo y con elevada sensibilidad para la evaluación y control de líneas de producción en la industria farmacéutica, tanto para el cribado de rutina de lotes de materias primas como en el de productos finalizados y envasados.

La identificación de *paracetamol, bisacodilo, cafeína, dextrometorfano, difenhidramina, famotidina, guaifenesina, loratadina, niacina, fenilefrina, piridoxina, tiamina* o *tetrahidrozolina* en medicamentos se realiza de manera rápida y eficaz mediante IMS. Los espectros se pueden obtener en pocos segundos y los instrumentos pueden estar ensamblados en diferentes puntos de las líneas de producción, tienen bajo costo comparados con los equipos de espectroscopia habituales en los laboratorios analíticos y presentan un mantenimiento económico.

Además existen equipos portátiles de fácil manejo, que con las librerías de espectros adecuadas constituyen una herramienta enormemente versátil en el control de calidad de medicamentos.

5.2.5 Control de calidad de alimentos

La espectrometría IMS ha mostrado su idoneidad en el análisis de productos alimenticios, en los aspectos de calidad e inocuidad de los mismos. En los últimos años se está utilizando dicha técnica en etapas como procesamiento, control de calidad, almacenamiento y caracterización de alimentos. Todo ello gracias en buena medida a los

límites de detección alcanzados para un gran número de compuestos y al disponer de equipos móviles que permiten realizar las determinaciones fuera del ámbito de los laboratorios. Así, se usa habitualmente en el control de:

- Conservación de alimentos mediante la detección de metabolitos producidos por bacterias, permitiendo su identificación y control de su crecimiento.
- Determinación de aminas volátiles en carnes y pescados para determinar su frescura y condiciones óptimas de almacenamiento.
- Detección de trazas de antibióticos y otros medicamentos veterinarios en carnes.
- Detección de metabolitos producidos por hongos para el control del proceso de producción de quesos, o bien para el control de calidad de materias primas y de las condiciones de almacenamiento
- Control del proceso de fermentación de la cerveza mediante la determinación de etanol y 2,3-pentanodiona.
- Caracterización de productos como vinos y licores identificando sus compuestos volátiles característicos.
- Autenticación de productos con la denominación de ibéricos a través de la caracterización de grasas animales.
- Control de calidad de materiales de embalaje como los materiales poliméricos empleados comúnmente para el envasado de productos alimenticios, de los que algunos de sus monómeros desempeñan un papel importante como alérgenos y pueden incluso ser responsable de diversas enfermedades pulmonares y alteraciones hormonales.

5.2.6 Aplicaciones como método diagnóstico

La movilidad iónica representa una alternativa instrumental no invasiva y para el diagnóstico de diferentes enfermedades a través del análisis de metabolitos volátiles en muestras biológicas. Tiene aplicaciones en medicina en el estudio de compuestos volátiles para el diagnóstico no invasivo de carcinoma bronquial, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y otras enfermedades, mediante el análisis del aliento, orina, sangre, heces y otras muestras biológicas.

El diagnóstico instrumental mediante el aliento es una nueva área de investigación con un potencial clínico prometedor con el análisis en tiempo real de los metabolitos exhalados en la respiración, en estados saludables o de enfermedad y metabolitos de la contaminación o producidos por microorganismos en el sistema respiratorio, proporcionando información sobre las perturbaciones que provocan en el paciente.

El diagnóstico de aliento incluye también la detección de moléculas sencillas como etanol y metanol y de drogas ilícitas, así como de sustancias volátiles consideradas como biomarcadores de algunas alteraciones patológicas.

Realmente la Espectrometría de Movilidad Iónica es una técnica muy novedosa, pero al mismo tiempo es extraordinariamente antigua, pues todos los seres humanos, al igual que otros muchos seres vivos, llevamos implementado un espectrómetro IMS en nuestro propio organismo desde hace miles de años: el sentido del olfato.

En efecto, el olfato es el sentido encargado de detectar y procesar información de los compuestos químicos volátiles de nuestro entorno que son transportados por el aire y percibimos en la inspiración. Las moléculas alcanzan la mucosa olfativa donde se unen a receptores específicos que transforman las señales químicas en respuestas eléctricas que las neuronas conducen a la corteza cerebral donde reside la memoria olfativa, una excelente base de datos que nos permite identificar multitud de diferentes olores.

6. CONCLUSIONES

Todo lo expuesto no es más que una pequeña muestra del auge evidente que las Técnicas Instrumentales han experimentado, principalmente en las últimas décadas.

Hoy disponemos de métodos analíticos capaces de alcanzar niveles de detección del orden de picomoles, femtomoles y attomoles, impensables hasta hace tan solo unos pocos años. Equipos instrumentales de extraordinaria precisión y cada vez más compactos, algunos incluso portátiles y tendiendo a la miniaturización, gracias en buena medida a los avances en microinformática y microelectrónica. Un hecho común para el conjunto de técnicas espectroscópicas, de separación y electroquímicas.

Se han conseguido avances espectaculares en técnicas espectroscópicas como la de infrarrojo cercano (NIR), hasta pocos años escasamente utilizada y hoy imprescindible en el control de calidad de la industria farmacéutica y alimentaria, de manera similar a la ya citada, Raman.

En las técnicas de separación, con los notables avances en las cromatografías de fluidos supercríticos, de excelentes resultados en el control de medicamentos, alimentos y compuestos químicos de elevado peso molecular. Con la electroforesis capilar, de relevancia en áreas como la química, bioquímica y genética, permitiendo la automatización de las métodos de secuenciación de ADN.

En los métodos electroquímicos, con la incorporación de electrodos con inmunomarcadores y biosensores empleados en la detección de diferentes fármacos y como indicadores de distintas patologías, por citar tan solo algunos ejemplos.

De todos ellos el farmacéutico debe conocer en profundidad su fundamento e instrumentación para poder interpretar adecuadamente los resultados obtenidos en cada una de sus aplicaciones.

Las Técnicas Instrumentales constituyen una herramienta imprescindible para abordar estos conocimientos y los de nuevos métodos y aplicaciones que puedan surgir, para conseguir que los farmacéuticos del siglo XXI se encuentren en la vanguardia de las nuevas tecnologías empleadas en los laboratorios analíticos en cualquiera de las áreas de su ejercicio profesional. A tal fin esta Academia también desempeña un importante papel en las tareas de divulgar, difundir y estimular todo aquello que contribuya al enriquecimiento de las ciencias farmacéuticas.

Porque ser farmacéutico es estar en formación permanente al servicio de la salud.

Así es. Muchas gracias.

7. BIBLIOGRAFÍA

- PRINCIPIOS DE ANALISIS INSTRUMENTAL. Skoog / Holler / Nieman. 5ª Edición. Ed. McGraw-Hill.

- TÉCNICAS INSTRUMENTALES EN FARMACIA Y CIENCIAS DE LA SALUD. Oriol Valls, Benito del Castillo. Ed. Piros Barcelona.

- A new type of secondary radiation. C. V. Raman, K. S. Krishnan. Nature (London) 121. 501-502. (1928).

- Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis. T. Vankeirsbilck, A. Vercauteren, W. Baeyens, G. Van der Weken. Trends in analytical chemistry, vol. 21, no. 12, 2002.

- Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach. Ewen Smith, Geoffrey Dent. John Wiley & Sons Ltd. 2005.

- Enhancing Disease Diagnosis: Biomedical Applications of Surface-Enhanced Raman Scattering. Malama Chisanga, Howbeer Muhamadali, David I. Ellis and Royston Goodacre. Appl. Sci. 2019, 9, 1163.

- Separation of Ions from Explosives in Differential Mobility Spectrometry by Vapor-Modified Drift Gas. G. A. Eiceman, E. V. Krylov, and N. S. Krylova. Anal. Chem. 2004, 76, 4937-4944.

- Ion mobility spectrometry: a personal retrospective. Zeev Karpas. Int. J. Ion Mobil. Spec. (2012) 15:1–8.

- Review on Ion Mobility Spectrometry. Part 1: Current Instrumentation. R. Cumerasa, E. Figuerasa, C.E. Davisb, J.I. Baumbachc, and I. Gràcia. Analyst. 2015 March 7; 140(5): 1376–1390.

- Improved analysis of explosives samples with electrospray ionization-high

resolution ion mobility spectrometry. Christopher K. Hilton, Clinton A. Krueger, Anthony J. Midey, Mark Osgood, Jianglin Wu, Ching Wu. International Journal of Mass Spectrometry 298 (2010) 64–71.

- Detection and characterization of emerging psychoactive substances by ion mobility spectrometry. Sergio Armenta, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia, Judit Brassier. Drug Test. Analysis 2015, 7, 280–289.

- Medical applications of ion mobility spectrometry. Jorg Ingo Baumbach. Int. J. Ion Mobil. Spec. (2011) 14:137.

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL ACADÉMICO NUMERARIO ILLMO. SR. PROF. DOCTOR D. GERARDO STÜBING MARTÍNEZ

Excelentísimo Señor Presidente:

Excelentísimos e Ilustrísimos Señores Académicos:

Señoras y Señores:

La recepción de un nuevo académico numerario es sin duda uno de los acontecimientos más relevantes para una Academia, en este caso, se une además el hecho de mi estrecha relación profesional y de amistad con el nuevo académico numerario que acogemos y el hecho de haber sido designado para desarrollar el presente discurso de contestación.

El Dr. Facundo Pérez nace en Utiel en junio de 1957. Allí estudia la formación básica y Bachillerato en el Colegio de los Padres Franciscanos (Beato Francisco Gálvez).

En 1973, con 16 años, se traslada a Valencia para realizar el Curso de Orientación Universitaria (C.O.U.) en el C.E.U San Pablo, ubicado por aquel entonces en el edificio del antiguo seminario de la calle Trinitarios. En 1974 se inician en la Universidad de Valencia los estudios de Farmacia y tras superar la prueba de Acceso a la Universidad, opta, junto con otros 800 estudiantes, entre los que me incluyo, por matricularse en Farmacia en la Universidad de Valencia. Fueron unos años un tanto difíciles en lo político, en lo social y en lo académico pues íbamos estrenando o casi descubriendo, los nuevos cursos de la licenciatura que cada año se iban implantando. Unos años de cambios continuos hasta de aulas, laboratorios y edificios… primero en el antiguo edificio de Agrónomos, después en los antiguos comedores universitarios y por último en el edificio de la antigua Facultad de Ciencias y actual sede del Rectorado. Pero quizá esos tiempos, esos cambios y esas dificultades han hecho que se forjaran buenos lazos de amistad entre compañeros de estudios como es nuestro caso. Desde 1974, hemos desarrollado 46 años de amistad en los que hemos sido compañeros de estudios y después compañeros como profesores en la Facultad de Farmacia. En diferentes áreas y departamentos, Facundo en Química Física y yo en Botánica. Podría parecer que bastante alejados en nuestro quehacer, pero ambos hemos tenido siempre una idea y una preocupación común por nuestra profesión. Ser Farmacéuticos, proyectar nuestra profesión al exterior, mejorar la formación de nuestros estudiantes y preocuparnos por la vida académica dentro y fuera de la Facultad de Farmacia, porque tenemos muy claro que también existe y debe existir actividad académica fuera de las paredes de la facultad y buena prueba de ello es nuestra implicación en está Academia de Farmacia. Todo ello ha hecho que hayamos compartido ideas y posicionamientos en proyectos de innovación educativa, de elaboración de nuevos planes de estudio y hasta en proyectos de gestión en la Facultad de Farmacia.

Pero volviendo a la trayectoria del Dr. Facundo Pérez, fue en la Facultad de Farmacia, en tercer curso, concretamente en 1976 cuando tomo contacto por primera vez con las Técnicas Instrumentales, una asignatura a la que se incorpora como alumno interno de laboratorio,

colaborando en la preparación del material y reactivos de prácticas de dicha materia bajo la tutela de la Dra. Mª Teresa Salabert. Ese mismo año junto al Dr. José Luis Moreno accede al Laboratorio de Radioisótopos del Hospital Clínico. De la mano de ambos comienza a tomar contacto con el mundo de la Radiofarmacia y con nuevas técnicas como el Radioinmunoanálisis y con la preparación de radiofármacos, lo que va a marcar su futuro, vinculándose a las Técnicas Instrumentales, asignatura en la que continua como alumno interno hasta el final de la carrera y con las técnicas radioinmunoanalíticas en las que comienza a realizar valoraciones de Antígeno Carcinoembrionario (CEA), que se concretaron posteriormente en su tesina de licenciatura iniciada en el último año de carrera, en 1979 y defendida en 1980, con el título "*Estudio comparativo de técnicas Radio y Enzimoinmunoanalíticas de valoración de Antígeno Carcionembrionario CEA y su correlación*", dirigida por la Dra. Mª Teresa Salabert , obteniendo la calificación de Sobresaliente. Todo ello ocurrió en mitad del periodo de su servicio militar, que tuvo la suerte de realizar en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Militar de Santa Cruz de Tenerife, continuando así durante este periodo con su vinculación a las técnicas instrumentales empleadas en análisis clínicos.

En 1981 fue contratado como Profesor Ayudante de Clases Prácticas, a tiempo parcial, simultaneando esta actividad con el ejercicio profesional como Analista Clínico. Toda la experiencia acumulada en esta área y las publicaciones científicas realizadas en el entorno de la Asociación Española de Farmacéuticos Analistas (AEFA), de la que también formaba parte, le permitieron obtener por acceso directo el Título de "Farmacéutico Especialista en Análisis Clínicos" en 1988, cuando se publicó la ley de especialidades. Participó, por designación del Ministerio correspondiente, junto a otros profesores de la Facultad de Farmacia que habían obtenido el título de Especialista en las mismas condiciones, en la realización del primer y único examen que se realizó para poder acceder a todas las Especialidades de Farmacia, ya que a partir de esa fecha, la formación sanitaria especializada se realizaría únicamente a través del examen FIR y el periodo de Residencia en Hospitales Universitarios, tal cual hoy lo conocemos.

Un año más tarde, en 1989, defendió su Tesis Doctoral "*Estudio Polarográfico y Espectrofotométrico de la reacción entre el Ácido Dimercaptosuccínico y el Estaño Divalente*", dirigida por la Dra. Mª Teresa Salabert y el Dr. Jorge Gálvez, obteniendo la calificación de Sobresaliente *cum laude*. Una expresión más de su vinculación permanente a las técnicas instrumentales, espectroscópicas y electroquímicas, en este caso, junto a la Radiofarmacia.

Su ejercicio docente se ha desarrollado siempre en la Universidad de Valencia y en al Área de Química Física de la Facultad de Farmacia, donde comenzó como profesor Asociado en 1987, profesor Titular Interino de Escuela Universitaria en 1989 y Profesor Titular de Universidad en 1991, impartiendo docencia ininterrumpidamente en Técnicas Instrumentales en la titulación de Farmacia y desde el año 2006 también en la de Criminología.

Esta vinculación de las Técnicas Instrumentales con la Criminología han conducido a su participación en el Máster de Química Forense de la Universitat de Valencia desde su primera edición en 2010 hasta la actualidad. Desde esa misma fecha inició también una colaboración con el Ejército de Tierra en la formación de especialistas en dicha materia, coincidiendo también con la impartición de dos cursos de "T*écnicas Químicas y Biológicas de Criminología*" en la Universidad de los Andes, en Mérida, Venezuela, en los años 2010 y 2011.

Desde la implantación de los estudios de Grado ha dirigido 17 Trabajos de Fin de Grado entre las titulaciones de Farmacia y Criminología, 11 vinculados a las Técnicas Instrumentales y 7 a la Radiofarmacia.

En el actual curso académico (2019-20) se he incorporado al *Master propio de Productos Sanitarios 1ª edición* impartiendo el tema *Productos Sanitarios Radiofarmacéuticos*.

En lo referente a la investigación, sus inicios fueron en Radiofarmacia y Técnicas Radioinmunoanalíticas, para pasar posteriormente al área de la Topología Molecular iniciada en el Departamento de Química Física por los doctores Gálvez Álvarez y García Doménech, en la que ha realizado numerosas publicaciones en revistas internacionales, comunicaciones a congresos y participado en proyectos de investigación financiados por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología y la

Generalitat Valenciana, además de la dirección de 6 tesis doctorales.

Pero, además de ser compañeros de estudios, compañeros en la Facultad de Farmacia y tener una relación de amistad de más de cuarenta años, quiero incidir en otro aspecto importante que justifica mi decisión de realizar este discurso de contestación y no es otro que la cercanía entre nuestras dos áreas de trabajo, la Botánica y las Técnicas Instrumentales.

A priori puede sonar un poco extraño, pero es así. No me refiero con ello a la proximidad desde el punto de vista docente o propiamente académico, en que resultaría muy sencillo establecerla, pues todo el mundo vegetal, como todos los seres vivos en general, utilizan y necesitan en mayor o menor grado la radiación electromagnética procedente del sol para algunas de sus funciones vitales y por lo tanto podría establecer la relación con las técnicas instrumentales espectroscópicas, basadas en la interacción de la radiación con la materia. Tampoco me refiero a las técnicas instrumentales empleadas en la valoración de parámetros bioquímicos o enzimáticos, ni a las empleadas en la identificación de la enorme cantidad de principios activos obtenidos de multitud de especies vegetales, lo que justificaría con absoluta rotundidad esta proximidad.

Me estoy refiriendo a una actividad que compagino con la docencia en la Facultad de Farmacia y con la dedicación a esta Ilustre Academia de Farmacia de la Comunitat Valenciana, concretamente a mi dedicación como investigador en aspectos que relacionan las bellas artes con la botánica. En efecto en mi obra he tratado de aunar la botánica en aspectos que van desde lo macroscópico, como formas de ramas o corteza de árboles, a la observación microscópica de estructuras de los reinos *monera* y *protista*, pasando por las descripciones botánicas de Cavanilles, para realizar abstracciones cromático-formales en las que el color y por tanto la interacción de la radiación de la región visible del espectro juega un papel preponderante. Unas realizaciones en las que he buscado además un complejo equilibrio entre los fenómenos de transmisión y reflexión de luz para obtener tonalidades difíciles de explicar como una simple mezcla en una paleta de colores. Así, los fenómenos de interacción de la luz se convierten en aliados de una interpretación cromática que cambiará según la longitud de onda o ángulo de la luz incidente, reforzando algunos tonos que de otra forma

serían menos perceptibles.

También en mi pasión por esta parte plástica y visual de las bellas artes encuentro una notable proximidad con las técnicas de espectroscopia, pues la absorción, transmisión, reflexión o dispersión de luz forman parte de ella y de las obras cromáticas que realizo.

Por otra parte, en las realizaciones de obras relacionadas con procedimientos fotográficos en los que actualmente investigo y trabajo, como el Argirotipo y el Cianotipo existe relación con las técnicas instrumentales. En ellos, además de la especial técnica de revelado químico que presentan, la radiación electromagnética procedente del sol o de fuentes de emisión diseñadas a tal fin y su interacción con el medio material juega un importantísimo papel.

El argirotipo, puede ser considerado como una variante del antiguo método denominado argentotipo, desarrollado por el astrónomo británico John Herschel, hijo de William Herschel, también astrónomo británico y descubridor de los rayos Infrarrojos, que originariamente bautizó como rayos calóricos, dado el incremento de temperatura que producían al incidir sobre un termómetro de mercurio. Se podría decir que ya en sus orígenes, el argirotipo estaba relacionado con la espectroscopia.

Realmente es así, la técnica constituye un método muy especial de revelado químico con un sensibilizador constituido por citrato férrico-amónico y oxalato potásico con el que se barniza un papel de algodón que al secarse se expone con un negativo a una fuente intensa de luz ultravioleta creando una imagen que luego se revela con oxalato potásico y una solución de iones plata. Durante la exposición a la luz ultravioleta, la imagen se crea y es visible, a diferencia de la imagen latente del papel fotográfico. Dicha imagen se presenta en unos tonos naranja-sepia, que cambiarán durante el proceso dependiendo de múltiples parámetros como el tiempo e intensidad de la exposición, por lo que se puede afirmar que cada imagen obtenida será única, dando multitud de posibilidades estéticas y tonalidades diferentes adicionando diferentes viradores químicos.

El cianotipo es muy similar pero utilizando una solución de ferricianuro potásico que al ser aplicada sobre una superficie de papel y

expuesta a radiación ultravioleta provoca el cambio a color azul de la sal de hierro en las zonas donde incide la radiación, de ahí el nombre de la técnica.

En ambos procedimientos estamos hablando de procesos redox en los que la radiación ultravioleta aporta la energía necesaria para que se pueda producir la transferencia de electrones y eso es también un proceso espectroscópico y por tanto próximo a las técnicas instrumentales.

En farmacia, ciencias forenses, medicina, análisis medioambiental, arqueología y también en bellas artes, están presentes algunas técnicas instrumentales como métodos de detección, identificación o cuantificación y constituyen una herramienta útil y en muchos casos imprescindibles.

Querido Facundo, a la satisfacción personal de poder contar contigo, no solo como amigo, sino como académico. Se une hoy el hecho de que la Academia te recibe con conocimiento de tus méritos pasados y presentes, y con una plena confianza en que tu incorporación va a concretarse en relevantes aportaciones para nuestra joven y querida institución.

He dicho

Colegio Oficial
de Farmacéuticos
de la Provincia
de Alicante

MICOF
MUY ILUSTRE COLEGIO OFICIAL
DE FARMACÉUTICOS DE VALENCIA

ICOF CS
Il·lustre
Col·legi Oficial
de Farmacèutics
de Castelló