

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
Facultad de Química

Taller Básico de Cromatografía de Gases

Impartido por:

Fernando Amézquita López
Diana Mendoza Olivares

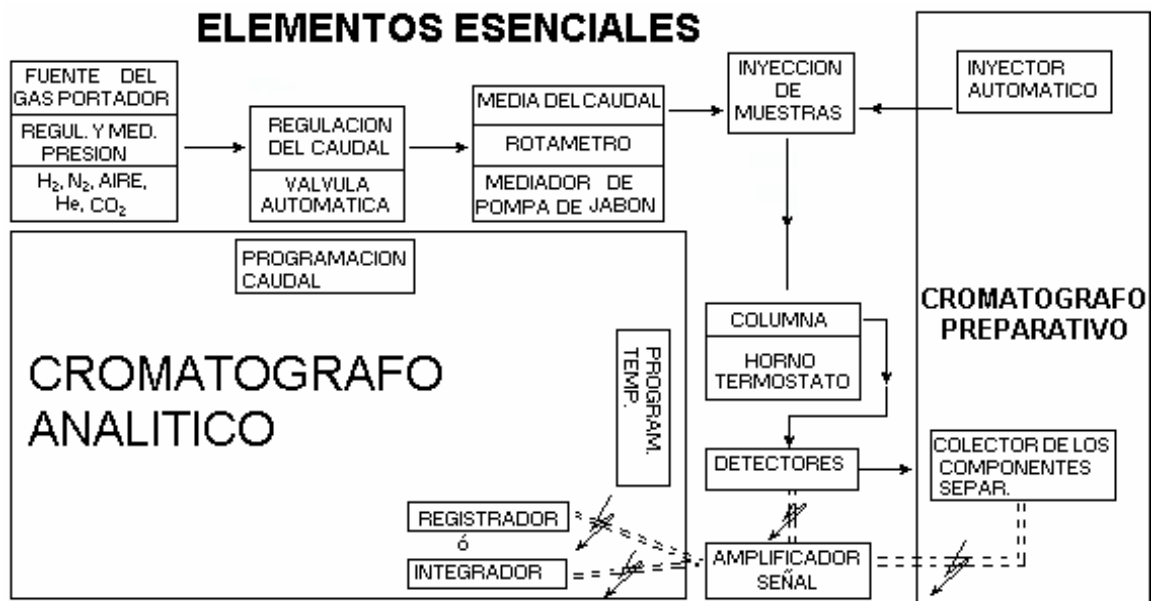
2008

CROMATOGRAFIA

LA CROMATOGRAFÍA ES UN METODO FISICO DE **SEPARACION** EN EL QUE LOS COMPONENTES A DESGLOSAR SE DISTRIBUYEN ENTRE **DOS FASES**, UNA DE LAS CUALES CONSTITUYE UN **LECHO ESTACIONARIO** DE GRAN DESARROLLO SUPERFICIAL Y LA OTRA ES UN **FLUIDO QUE PASA A TRAVES** O A LO LARGO DEL LECHO ESTACIONARIO.

INTRODUCCION HISTORICA

- 1850:** F.F. RUNGE Comprobó que los cationes inorgánicos se separan por migración diferencial.
- 1890:** D.T. DAY Observó que al pasar petróleo por un lecho de tierras adsorbentes el líquido resultante presenta distinta composición que el inicial (indicativo de adsorción de algunos componentes): Cromatografía en Columna (Primera noticia).
- 1903:** TSWETT Utiliza la Cromatografía en Columna para separar los componentes de extractos vegetales coloreados, derivación de término “CROMATOGRAFIA”.
- 1931:** KULN Y LEDERER Separan carotenos y xantofilas en columnas cromatográficas.
- 1941** MARTIN Y SYNGE Esbozan la idea de Cromatografía de Gases.
- 1944** Consden, Gordon y Martin Descubren la Cromatografía en Papel
- 1949:** MARTIN Y JAMES Utilizan Cromatografía de Gases por primera vez, separación de ácidos grasos volátiles.
- 1954:** N. H. RAY Publica una colección de cromatogramas que demuestran la posibilidad de extender el campo de la Cromatografía de Gases.
- 1955:** EVANS Y TATLOW Realizan separaciones de componentes en muestras de entre 0.5 y 10 g, inicia la Cromatografía de Gases Preparativa.
- 1958:** Sthal Generalizó el procedimiento de cromatografía en capa fina .
- 1958:** GOLAY Propone columnas capilares sin relleno, comenzando su desarrollo.



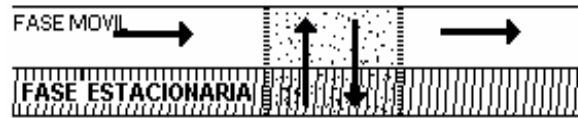
TEORÍA CROMATOGRÁFICA

EQUILIBRIO DE DISTRIBUCIÓN

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

En donde: K = coeficiente de distribución ó coeficiente de partición.
 C_s = concentración del soluto en fase estacionaria.
 C_m = concentración del soluto en fase móvil

SECCION DE UNA COLUMNA CROMATOGRAFICA.



Fracción del tiempo que paso en la fase movil = $\frac{\text{No. de moléculas en la fase móvil}}{\text{No. total de moléculas}}$

$$= \frac{C_M V_M}{C_M V_M + C_S V_S} = \frac{1}{1 + \frac{K V_S}{V_M}} = \frac{1}{1 + k'}$$

k' es una nueva variable llamada: *Factor de capacidad* y es igual a: $\frac{C_S V_S}{C_M V_M}$

VELOCIDAD DE RECORRIDO:

$$V = u \frac{1}{1 + k'}$$

Por tanto: la velocidad de transporte de un promedio de moléculas esta determinado por:

- 1.- La velocidad de arrastre: igual para todos los componentes.
- 2.- Relación de volumen de la fase estacionaria a volumen de fase móvil: igual para todos los componentes.
- 3.- Coeficiente de Distribución: **UNICO** para cada componente.

TIEMPO DE RETENCION (tr).

Tiempo que toma un componente en recorrer la longitud de la columna L,

$$tr = \frac{\text{longitud}}{\text{velocidad}} = \frac{L}{u} (1 + k') = t_M (1 + k')$$

t_M = tiempo **requerido para** arrastrar una molécula en la columna transversal.

VOLUMEN DE RETENCIÓN (V_r).

$$V_r = t_r F$$

El volumen de fase móvil necesario para transportar una banda de soluto desde el punto de inyección a través de la columna hasta el detector.

Por tanto: t_r = tiempo
 F = velocidad de flujo.

Sustituyendo: $V_r = V_M (1 + k') = V_M + K V_S$

En donde: V_M = volumen fase móvil contenida en la columna.

V_S = en caso de columnas de adsorción, puede reemplazarse por el área superficial del adsorbente.

RETENCION RELATIVA (α).

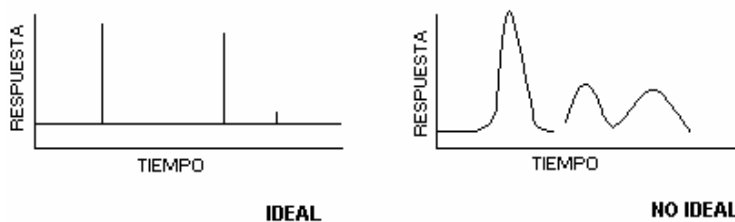
$$\alpha = \frac{t_r - t_M}{t_r^* - t_M} = \frac{V_r - V_M}{V_r^* - V_M} = \frac{K}{K^*}$$

* = corresponde a una sustancia estándar.

α = depende de dos condiciones: a) naturaleza de las dos fases.
b) temperatura de la columna.

La fase estacionaria es la selección más importante intentándose escoger siempre una fase tan selectiva como sea posible para el par de solutos más difíciles de separar.

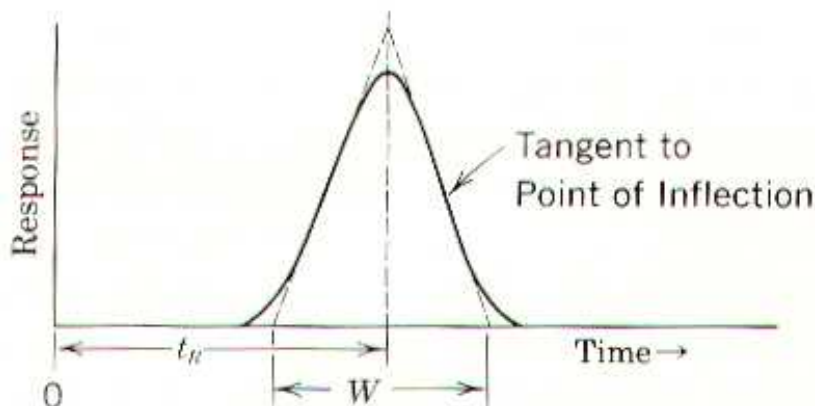
Para que **una separación sea factible**, la retención relativa debe ser *superior a la unidad*.



PLATOS TEORICOS.

El **número de platos teóricos**, (n), en una columna es función de cómo esta construida la columna y de la naturaleza del soluto, velocidad de flujo, temperatura, método de introducción de la muestra y otras variables. Por tanto n es únicamente un número aproximado útil para propósitos comparativos como una descripción de la eficiencia de la columna.

El número de platos teóricos en una columna es determinado al observar el cromatograma, de la siguiente manera.



Hay dos formas de incrementar el número de platos teóricos en una columna:

$$n = \left(\frac{4t_r}{W} \right)^2$$

en donde: n = platos teóricos.
 t_r = tiempo de retención.
 W = anchura del pico en la base.

Primero: El número de platos teóricos es directamente proporcional a la longitud de la columna.

Por tanto si se duplica el valor de L duplicaremos el valor de n y esto también duplicará el valor de t_r . Sin embargo, los picos se volverán más anchos, en este caso, por un factor de $\sqrt{2}$.

Segundo: Aumentar el número de platos teóricos por unidad de longitud de la columna, para aumentar el número de equilibrios dentro del mismo tiempo de barrido.

* **ALTURA DE PLATO TEORICO (H).**

Es más útil medir, para determinar la calidad de la columna, el espacio ocupado por cada plato teórico, esto es la longitud de la columna dividido por el número total de platos que contiene; lo que se denomina *ALTURA EQUIVALENTE A UN PLATO TEORICO*, HETP, o simplemente H. Que también se puede definir como la cantidad que mide la eficiencia de la columna y que está relacionada con la anchura de los picos.

$$H = \frac{L}{n} = \frac{L}{16} \left(\frac{W}{t_r} \right)^2$$

en donde: H = altura de plato teórico

L = longitud de columna

W = anchura de pico en la base (las intersecciones de las tangentes en los puntos de inflexión con la línea base).

n = número de platos teóricos.

t_r = tiempo de retención corregido con respecto al tiempo de tránsito de un soluto no absorbido o no retenido. Son deseables los valores de H pequeños.

TEORIA DE LA VELOCIDAD

El comportamiento de un grupo de moléculas en una columna cromatográfica es verdaderamente caótico; no obstante reconocemos tres desviaciones importantes de la idealidad las cuales causan que sea mayor que el valor ideal, cero.

1.- cuando la molécula se mueve de la entrada a la salida de la columna, puede tomar caminos al azar de diferentes longitudes. Esto es cierto si la columna está empacada o está vacía. Si la columna esta empacada con partículas de forma irregular, esto puede dar variaciones bruscas en el flujo. Las diferencias en longitudes de espesor originan que las moléculas que han empezado juntas a la entrada de la columna llegaron ala salida con una diferencia de tiempo.

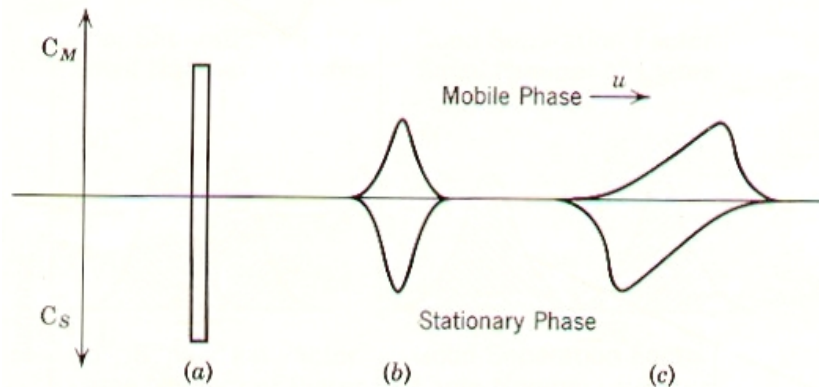


Fig. 1 Perfiles de concentración a través de una zona en una columna cromatográfica (a) cromatografía ideal. (b) Ensanchamiento de banda causada por difusión de la zona. (c) ensanchamiento de banda causada por equilibrio lento entre fases.

2.- Las moléculas tienden a difundirse de regiones de alta a baja concentración. Como las zonas pasan a través de la columna, es inevitable que ésta difusión cause que abra la señal hacia delante y hacia atrás como se indica la figura 1 B.

3.- Un equilibrio dinámico puede establecerse rápidamente pero nunca completamente al instante. El flujo continuo de la fase móvil causa una desviación del equilibrio: la razón C_S/C_M siempre será mas pequeña que k en la conducción de corte de una zona y mayor que k en el corte de transporte como muestra la figura 1 C. Este retraso también causa que la zona difiera en ambas direcciones.

Cada uno de estos tres factores opera más o menos independientemente, y su efecto total sobre H (que es medida directamente del ancho de una banda de acuerdo a la expresión $\left(H = \frac{L}{n}\right)$ y es una suma de tres términos:

$$\begin{array}{rcc}
 \mathbf{H} = & \text{Contribución de} & \text{Contribución de} & \text{contribución de} \\
 & \text{sendas} & \text{la difusión a lo} & \text{no equilibrio} \\
 & \text{diferentes.} & \text{largo de la columna} & \\
 & \text{(difusión turbulenta)} & \text{(difusión longitudinal)} & \text{(Transferencia de} \\
 & \text{masa)} & &
 \end{array}$$

Un grupo de Químicos de la *Deutch Petroleum* derivaron una expresión matemática para relacionar lo anterior, conocida como la ecuación de *Van Deemter*.

$$H = A + \frac{B}{u} + C_u \quad 1$$

Cada uno de los tres términos de la ecuación 1 es más complejo de los que aquí se muestra. A, B, C: pueden ser considerados como constantes para una columna determinada, pero cada constante incluye varios parámetros experimentales específicos a cada tipo de cromatografía. La ecuación *Van Deemter* merece más atención, aquí discutiremos unas cuantas observaciones generales:

- 1.- El término A es una función del tamaño y uniformidad de las partículas del empaque de la columna. Las partículas pequeñas empacadas herméticamente, dan valores de A pequeños. Sin embargo en la mayoría de columnas bien empacadas, el valor del término A es cercano a cero y puede ser despreciado.
- 2.- El término B está relacionado a la difusión a lo largo de la columna. La difusión en los líquidos es aproximadamente 10^5 veces más pequeño que en los gases, así el término B es menos importante con una fase móvil líquida. Observe que el término B es inversamente proporcional a la velocidad de transporte. A bajas velocidades los tiempos de elución son mas largos y hay mas tiempo de difusión para abrir la banda.
- 3.- El término C representa el ensanchamiento debido a la falta de equilibrio. Es una función compleja de la geometría de la fase estacionaria, el coeficiente de distribución y las velocidades de difusión en ambas fases. Observe que el término C es directamente proporcional a la velocidad de transporte. A altas velocidades hay menos tiempo disponible para el equilibrio.
- 4.- Para obtener mejores separaciones, H sería minimizada al disminuir n y daría picos más agudos.

5.- Para reducir la H más efectivamente, se debe determinar cual de los tres términos es mayor y tratar de reducir su primer valor. Los valores de A, B y C son determinados como sigue:

- Corra un cromatograma para un pico en particular a tres velocidades de flujo diferentes, razonablemente separados.
- Determine H para cada velocidad de flujo del cromatograma y la ecuación 2

$$H = \frac{L}{n} = \frac{L}{16} \left(\frac{w}{T_R} \right)^2 \quad 2$$

- Ponga tres ecuaciones simultaneas similares a la ecuación 1 sustituyendo la velocidad de flujo por velocidad si es conveniente.
- Resuelva las ecuaciones para A, B y C.

Las contribuciones relativas de los tres términos para un cromatograma gas-líquido está graficado como una función de la velocidad.

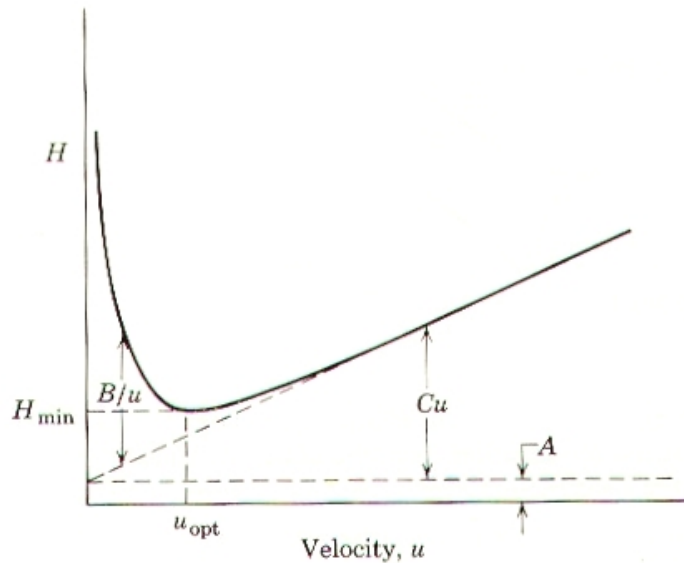


Fig. 2 Gráfico de Van Deemter, que muestra las contribuciones relativas de cada término como una función de la velocidad de la fase móvil.

6.- La única variable que afecta a la H, que es más fácilmente controlable por el operador es la velocidad de transporte. A bajas velocidades el término B es muy grande y controla el valor de H. A altas velocidades, predomina el término C. Ambos extremos deben de evitarse. Hay una velocidad intermedia óptima que

puede ser obtenida diferenciando la ecuación 1. Si los valores para A, B y C son conocidos ó determinados gráficamente como se muestra en la figura 2

7.- La velocidad óptima como se determino anteriormente puede ser muy pequeña, dando tiempos de retención largos. Observe que la gráfica de Van Deemter sube lentamente justo a la derecha del valor mínimo, de tal manera que las velocidades aumentan al doble el valor óptimo hasta dar separaciones razonables en tiempos más cortos.

8.- La ecuación de Van Deemter, como se vio en la ecuación 1 está basa en muchas aproximaciones.

RESOLUCION. En la práctica, el objetivo más importante de la cromatografía, es la capacidad para separar los componentes de la muestra - no necesariamente construir la columna más eficiente del mundo. Generalmente nos importa el grado de separación, o *resolución*, de los compuestos de carácter similar.

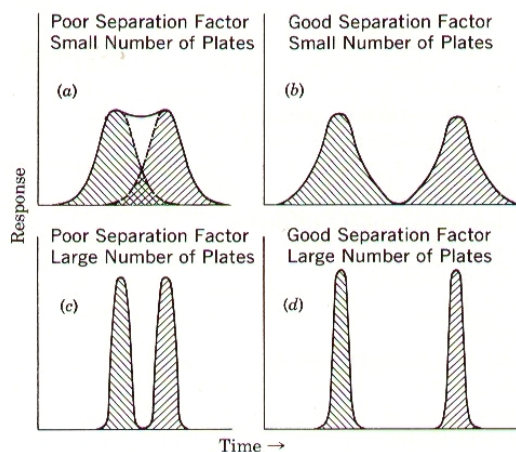


FIG. 3...Efecto del factor de separación, y numero de platos teóricos en la Columna sobre la resolución de dos picos.

Los dos componentes de la figura.....3a.....son pobremente resueltos y se sobreponen en un grado que hace imposible de identificar o determinar la cantidad de cada uno. Para aumentar la resolución, podemos: **(a)** cambiar la temperatura o la naturaleza de las fases para dar una mayor separación entre nos picos como se muestra en la figura 3b, o **(b)** reducir la anchura de los picos mejorando la eficiencia de la columna (disminuyendo H, aumentando n), como en la figura 3c, o **(c)** una combinación de (a) y (b) como en la figura 3d, donde la resolución es más satisfactoria. Cuantitativamente, la resolución, R de dos picos que tienen tiempos de retención t_1 , t_2 ,y anchura de picos W_1 y W_2 , es:

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{W_1 + W_2}$$

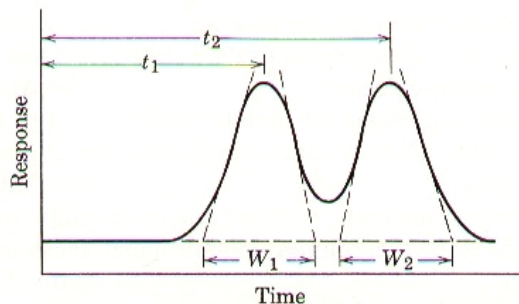


Fig. 4 Mediciones usadas en el calculo de resolución de dos picos.

La resolución de los dos picos mostrado en la figura 4, es cercana a 1,05. Una resolución de $R > 1,5$ da la llamada *resolución de línea base* o esencialmente separación completa de los dos picos de igual tamaño. Una resolución de $R = 1,0$, con una sobreposición de picos de aproximadamente el 2%, generalmente se considera adecuada para propósitos analíticos.

Una resolución adecuada para muestras complejas que contienen muchos compuestos de propiedades similares o a nivel estrato, puede ser difícil de obtener. Los mejores procedimientos para optimizar la resolución varían con el tipo de cromatografía; sin embargo, podemos dar algunas generalidades.

Para aumentar la resolución:

1. aumente: $\Delta t_R = t_2 - t_1$
 - (a) aumente la longitud de la columna, L
 - (b) aumente la cantidad de fase estacionaria, $V_s - V_L$
 - (c) emplee un mejor factor de separación, $\alpha = t'_s/t'_1$
 - i. disminuya la temperatura, T
 - ii. Seleccione una fase estacionaria diferente.
 - iii. Seleccione una fase móvil diferente (si es líquido)
2. disminuya el ancho de banda, W
 - (a) emplee un empaque más uniforme
 - i. empaque la columna mas cuidadosamente
 - ii. Use partícula mas pequeñas
 - (b) aumente el área entre las dos fases
 - (c) optimice la velocidad de flujo
 - (d) reduzca el tamaño de muestra
 - (e) reduzca el espacio muerto en el sistema
 - (f) reduzca la constante de tiempo del detector
 - (g) disminuya el diámetro de la columna

Al desarrollar o mejorar un procedimiento cromatográfico, puede ser importante uno o más de los siguientes objetivos:

1. alta resolución: para mezclas complejas
2. tiempo de análisis rápido

3. gran trayectoria: para trabajos preparativos o concentración de componente a nivel de estrato.

Los tres objetivos anteriores no pueden alcanzarse simultáneamente; por ejemplo, muestras grandes y/o velocidades de flujo altos dan pobre resolución. Inevitablemente, el operador debe decidir sobre el mejor compromiso para alcanzar estos requerimientos. Pero para hacer la mejor elección, puede ser de gran ayuda la teoría cromatográfica.

VOLUMEN DE RETENCION (V_R).

$$V_R = V_M + KV_S$$

En cromatografía de gases, prevalece una circunstancia especial, la fase móvil es un fluido compresible con un volumen dependiente de la presión y la temperatura. Dadas las condiciones de operación se debe tener la presión atmosférica y el flujo del gas de arrastre a condiciones de temperatura ambiente. Se puede hacer una corrección para la diferencia de temperatura a la entrada y salida de la columna, por medio de la ecuación:

$$F_c = F_a \frac{T_c}{T_a}$$

donde F es la velocidad de flujo del gas de arrastre (ml/min). Y T es la temperatura absoluta, a y c se refieren a condiciones de columna y ambiente.

Se requiere una corrección para la diferencia entre presión de columna y atmosférica, para tener la presión promedio \bar{p} .

$$\bar{p} = \frac{2}{3} \left(\frac{p_i^3 - p_o^3}{p_i^2 - p_o^2} \right) \text{ ó } \frac{p_o}{\bar{p}} = j = \frac{3}{2} \left[\frac{\left(\frac{p_i}{p_o} \right)^2 - 1}{\left(\frac{p_i}{p_o} \right)^3 - 1} \right]$$

p_i = presión a la entrada.

p_o = presión a la salida.

El volumen de retención corregido, V_R^o , es el volumen de retención medido a presión de columna promedio:

$$V_R^o = \frac{p_o}{\bar{p}} V_R = jV_R = jF_c t_r$$

VOLUMEN DE RETENCION AJUSTADO. (V'_R).

Para una fase móvil no compresible:

$$V'_R = KV_S = V_R - V_M$$

En Cromatografía de gases el volumen de retención ajustado también requiere corrección y el volumen de retención neto (V_N) está dado por:

$$V_N = j V'_R = KV_S \quad (\text{fase móvil compresible})$$

En la práctica V'_R se puede determinar en forma directa con facilidad, permitiendo calcular rápidamente V_N . Solo es necesario inyectar alguna sustancia que pase a través de la columna sin ser retenida y observar la señal. El tiempo entre la inyección y la aparición de la señal es t_M . El aire o metano no se retiene y no pasa tiempo en la columna y se tiene que:

$$V_M = t_M F_c$$
$$V'_R = (t_r - t_M)F_c = t'_R F_c$$

Variación del volumen de retención en función de la temperatura de columna:

$$\ln K = - \frac{\Delta G^o}{RT}$$

$$K = \frac{V_N}{V_S} = j \frac{V'_R}{V_S} = j \frac{t'_R F_c}{V_S}$$

si V_S es constante; $\ln K = \ln V_N + (c)_1 = \ln V'_R + (c)_2 = \ln t'_R + (c)_3$

o más preciso:

$$\log t'_R = \frac{A}{T} + B$$

ya que: $\ln V_N \propto \ln V'_R \propto \ln t'_R$

Variación del volumen de retención en función de la presión de vapor para series homólogas de compuestos.

Cada compuesto en una serie homóloga difiere de su predecesor por un grupo $-CH_2-$. En cualquier serie homóloga hay una regularidad en la presión de vapor tal que para una T determinada:

$$\text{Log } p_n^o = K_1 + K_2 n$$

p_n^o es la presión de vapor saturado del compuesto con n átomos de carbono y donde K_1 y K_2 son constantes empíricas. Si consideramos un comportamiento de solución ideal tal que, para cualquier compuesto, $p_M = X_S p_n^o$ donde p_M es la presión parcial del soluto en la fase móvil y X_S la fracción mole de soluto en fase

estacionaria, entonces encontramos que K es inversamente proporcional a la presión de vapor saturado.

$$K = \frac{C_s}{C_M} \propto \frac{X_s}{p_M} = \frac{1}{p_n^o}$$

$$\log K \propto -\log p_n^o \propto n$$

$$\log t'_R = A_n + B$$

SELECCIÓN DEL SOPORTE SOLIDO

La función del soporte sólido es actuar como una plataforma inerte para la fase líquida en la columna. Como tal, el soporte sólido debe distribuir la fase líquida en una película delgada.

Las **características** son:

1. Inerte (evitar la adsorción).
2. Fuerza de aglomeración alta.
3. Area de superficie grande.
4. Forma regular y tamaño uniforme.

Los más utilizados son:

CROMOSORB “P”

Es una tierra de diatomeas que ha sido calcinada y cuidadosamente graduada en tamaño, con un área de superficie **4-6 m²/g**. Este material es el menos inerte de todos los cromosorb pero ofrece alta eficiencia.

CROMOSORB “W”

Es una tierra de diatomeas blanca, la cual ha sido calcinada con un 3% de Na₂CO₃ y tiene una área de superficie de **1-3.5 m²/g**. Este material es más inerte pero menos eficiente que el cromosorb **P**.

CROMOSORB “G”

Combina las características de eficiencia y manejo del cromosorb **P** con la superficie no adsorptiva del cromosorb **W**. Muestra las siguientes **ventajas** sobre el cromosorb **W**:

Mayor eficiencia de columna; menos superficie de adsorción; partículas más duras y menos rompimiento en el manejo.

CROMOSORB “A”

Es similar al cromosorb **P** pero es más fácil de manejar, tiene mayor área de superficie, y una capacidad para mantener el líquido sin sitios activos excesivos.

CROMOSORB TRATADO “CON DIMETIL CLOROSILANO (DMCS).

Son soportes de cromosorb que han sido cubiertos con dimetilclorosilano para reducir la superficie de sitios activos de la tierra de diatomeas.

Este tratamiento reduce las “**colas**” en los cromatogramas y la cantidad de líquido de recubrimiento.

Var A port30 y CROMOSORB “W” de alta resolución:

Tierras de infusorios lavadas con ácidos y tratadas con DMCS para minimizar los sitios adsorptivos e incrementar la eficiencia.

Estos son **recomendados** para, esteroides, carbohidratos, pesticidas y otros compuestos de alta sensibilidad.

CARACTERISTICAS DE LA FASE ESTACIONARIA LIQUIDA

VISCOSIDAD. No deberá ser muy alta a la temperatura de operación.

TENSION SUPERFICIAL. Debe mojar bien el soporte, sea relleno o sea pared interior del tubo: adherencia soporte-líquido sea suficiente.

TENSION DE VAPOR. Deberá ser mínima, para no provocar su paso a la fase móvil.

SELECTIVIDAD RESPECTO A LOS COMPONENTES DE LA FASE MOVIL.

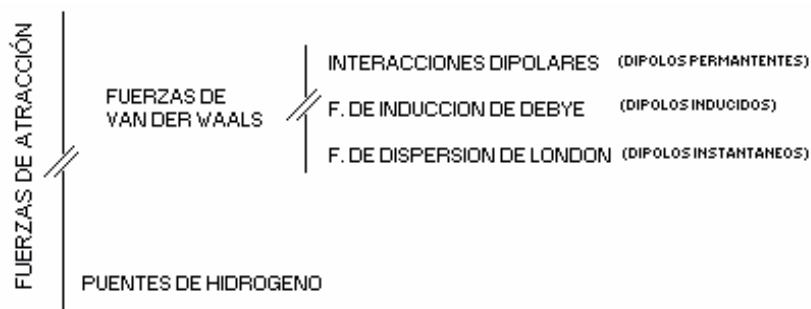
Esta condición es la que define en si a la Cromatografía

de Gases, las constantes de reparto de los componentes a separar entre la fase móvil y la fase estacionaria deberá ser suficientemente diferentes.

REVERSIBILIDAD DEL REPARTO. El reparto de cada componente entre las fases deberá ser reversible.

ESTABILIDAD TERMICA. Es importante que la fase estacionaria sea estable, en si misma y respecto de los componentes de la mezcla a resolver, a la temperatura de trabajo.

INTERACCIONES LIQUIDO-COMPONENTE.



INTERACCIONES DIPOLARES: Se producen entre moléculas de compuestos polares.

Keesom ha proporcionado una ecuación para potencial que se deriva para dos dipolos:

$$E_{is} = -\frac{2}{3} \left(\frac{\mu_i^2 \mu_s^2}{r^6 KT} \right)$$

μ = momentos dipolares.

K = constante de *Boltzmann*.

T = temperatura absoluta.

r = distancia entre polos.

LAS FUERZAS DE INDUCCION: Se dan cuando una molécula polar se aproxima a otra no polar. Ecuación de *Debye*.

$$E'_{is} = -\frac{1}{r^6} (a_s \mu_i^2 + a_i \mu_s^2)$$

donde a son las polarizabilidades respectivas.

FUERZAS DE DISPERSION: Se deben a la formación de dipolos instantáneos núcleos-electrones. Ecuación de *London*.

$$E''_{is} = -\frac{3}{2} \frac{a_s a_i I_s I_i}{r^2} (I_s + I_i)$$

I = energía de ionización.

PUENTE DE HIDROGENO: Estas fuerzas son superiores a las mencionadas, pero inferiores a las de enlace químico, determinando, en ciertos casos, que el componente se vea excesivamente retenido en la fase estacionaria líquida, perjudicial para una buena separación.

| RETENCIONES CARACTERISTICAS DE FASES LIQUIDAS USADAS EN CROMATOGRAFIA GAS- LIQUIDO. | | | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------|-------------|--------------|------------|
| FASE LIQUIDA | INDICE DE RETENCION (I) | | | | |
| | BENZENE | BUTANOL | 2-PENTANONE | NITROPROPANE | PYRIDINE |
| 1 Squalane | 653 | 590 | 627 | 652 | 699 |
| ----- PARA LAS SIGUIENTES FASES, $I = I_{\text{squalane}} + \Delta I$ ----- | | | | | |
| | ΔI | ΔI | ΔI | ΔI | ΔI |
| 2 Apiezon L | 32 | 22 | 15 | 32 | 42 |
| 3 SE-30 | 15 | 53 | 44 | 64 | 41 |
| 4 Dioctyl sebacate | 72 | 168 | 108 | 180 | 123 |
| 5 OV-17 | 119 | 158 | 162 | 243 | 200 |
| 6 QF - 1 | 144 | 233 | 355 | 463 | 305 |
| 7 OV -225 | 228 | 369 | 338 | 492 | 386 |
| 8 Carboxax 20 M | 322 | 536 | 368 | 572 | 510 |
| 9 DEGS | 492 | 733 | 581 | 833 | 791 |

• * From a paper by W. O. McReynolds: J. Chrom. Sci., 8: 685, 1970

| Columnas capilares | | | |
|---------------------------|--------------------------------------|---------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| NOMBRE DE FASE | NOMBRE QUIMICO | POLARIDAD | FASE SIMILARES |
| RSL® - 150 | Polydimethylsiloxane | Non-Polar | DB-1, SE-30, OV-1, OV-101, SC-200, UCW-982, SP-2100, SF-96, SPB-1, BP-1, CPSIL-5CB |
| RSL® - 160 | Polydimethylsiloxane (Thicker Films) | Non-Polar | ULTRA 1, PH-1, GB-1, MS Same as RSL® - 150 |
| RSL® - 200 | Polydiphenyldimethyl-siloxane | Non-Polar | DB-5, SE-52, SE-54, SPB-5, OV-73, BP-5, CPSIL-8CB, ULTRA 2, HP-5, GC-5, MPS-5 |
| RSL® - 300 | Polyphenylmethylsiloxane | Intermediate | DB-17, OV-17, SP-2250, BP-10, PH-17, GB-17, MPS-50 |
| OV - 1701 | Polycyanopropylphenyl-methylsiloxane | Intermediate | DB-170, CPSIL-19CB, SPB-7, GB-1701 |
| RSL® - 310 | Polyalkyleneglycol | Polar | Ucon & Pluronic Fluids |
| RSL® - 400 | Polytrifluoropropylsiloxane | Polar | DB-210, OV-202, OV-210, OV-215, QF-1, SP-2401 |
| RSL® - 500 | Polyphenylcyanopropyl-methylsiloxane | Polar | DB-225, OV-225, HP-225 |
| SUPEROX | Polyethyleneglycol | Polar | DB-WAX, Carbowax 20M, CP WAX-51, CP WAX-57CB, BP-20, CW20MS, HP-20M, SUPERCOWAX 10 |
| SUPEROX® - FA | Polyethyleneglycol Ester | Polar, acidic | FFAP, AT-1000, SP-1000, OV-351 |

- ALLTECH ASSOCIATES, CATALOG # 150

DETECTORES

Los detectores que se utilizan en cromatografía deben de ser transductores de concentración en fase vapor, poseer una sensibilidad adecuada, nivel de ruido bajo, ser de respuesta rápida, para ser capaz de mostrar casi instantáneamente las variaciones de concentración.

CLASIFICACION EN CUANTO A RESPUESTA.

- a) Diferenciales, responden a la primera derivada de la variación de la concentración del efluente de la columna en función del tiempo. Detecta cantidades muy pequeñas de muestras que se manifiesta en forma de picos separados sobre la línea base continua.
 - i) Conductividad
 - ii) Ionización de flama

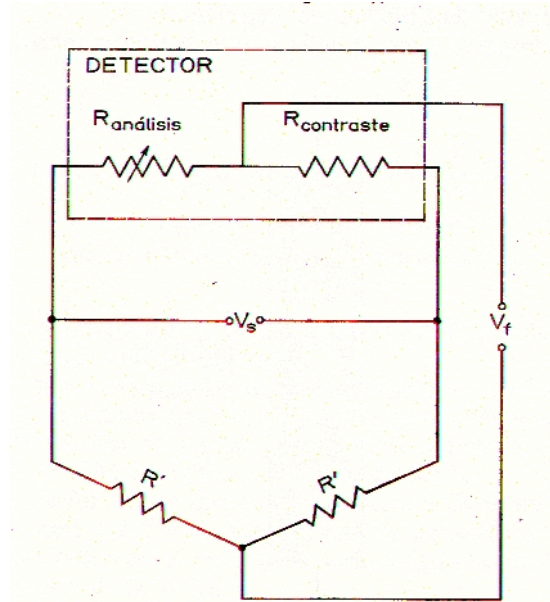
Los detectores del tipo integral ofrecen una señal en función del tiempo, proporcional a la cantidad total que ha pasado por el detector.

En cuanto a conservación de la muestra.

- a) No destructivos
- b) Destructivos.

Como ejemplo del gran número de detectores, se presentan dos típicos. El de Termoconductividad, el de Ionización de flama y el de captura electrónica.

Detector de termoconductividad.

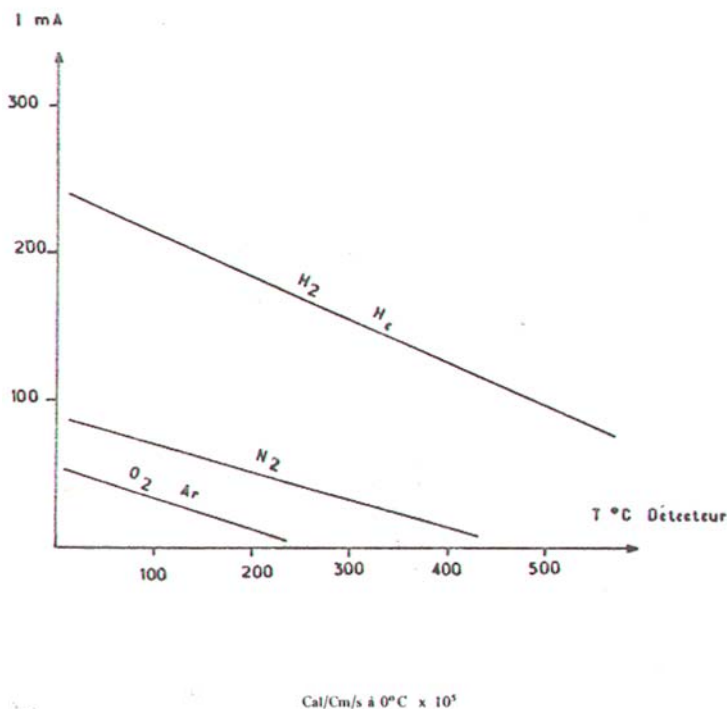


Este detector funciona en base a la variación de la resistencia eléctrica con la temperatura de la forma:

$$R_2 = R_1[1 + a(T_2 - T_1)]$$

R_1 y R_2 son los valores de la resistencia a las temperaturas T_1 y T_2 , y a es la constante térmica de resistencia eléctrica. En los filamentos metálicos utilizados como elementos sensibles a oscila entre 2×10^{-3} y 7×10^{-3} mientras que en los termistores es del orden de $-4 \times 10^{-2} \Omega / \Omega^\circ\text{C}$.

Se utiliza He como gas de arrastre debido a su alta conductividad como se puede observar en la gráfica y la tabla siguientes:



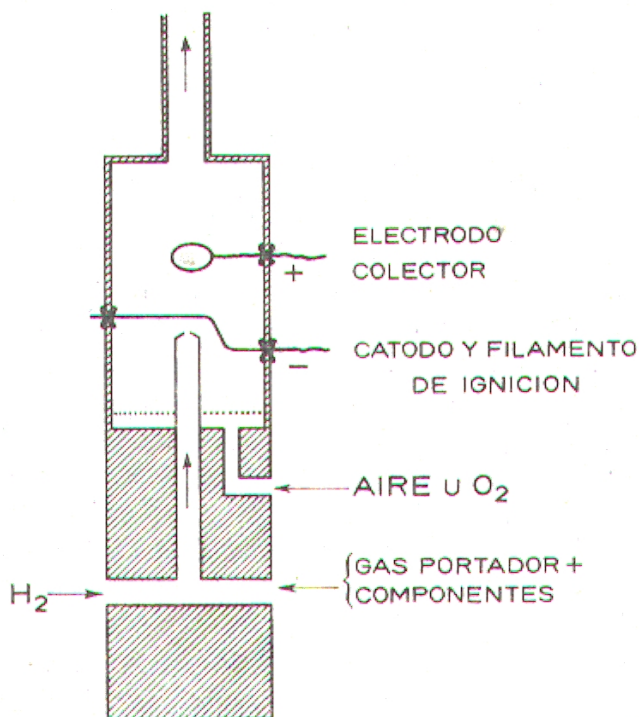
| | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| Ar | 3,88 |
| CO | 5,42 |
| CO ₂ | 3,39 |
| H ₂ | 39,60 |
| N ₂ | 5,68 |
| O ₂ | 5,7 |
| He | 39,85 |
| CH ₄ | 7,2 |
| C ₂ H ₆ | 4,3 |
| C ₂ H ₄ | 4,02 |
| C ₂ H ₂ | 4,4 |
| C ₃ H ₈ | 3,6 |
| n C ₆ H ₁₄ | 2,85 (20°C) |
| C ₆ H ₆ | 2,094 |
| H ₂ O | 4,58 (46°C) 5,51 (100°C) |
| H ₂ S | 3,1 |
| NH ₃ | 5,2 |
| SO ₂ | 2,0 |

TABLE DES CONDUCTIBILITES THERMIQUES DES DIFFERENTS GAZ USUELS

Como ejemplos de detectores de ionización tenemos al de flama y el captura de electrones

Detector de ionización de flama. DIF

El detector de ionización de flama, tiene su fundamento en la ionización por la flama de hidrógeno en presencia de aire u oxígeno. En esta llama, se realiza la combustión de los componentes detectados dando lugar éstos a la formación de iones, electrones y radicales libres.



En los detectores de ionización a la llama la respuesta es proporcional a lo que se denomina *factor carbono* que se define como:

$$F_c = \frac{\text{Peso molecular del componente}}{(\text{número de átomos de carbono del componente}) \times (12)}$$

El factor carbono es característico de cada componente. Parece que es conveniente excluir del recuento de carbonos aquellos que están unidos a átomos de oxígeno, cuando los haya. Al interpretar el cromatograma se utiliza el factor carbono como un factor de corrección para las áreas de pico.

DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

Gas portador He (bajo flujo)

Gas auxiliar Nitrógeno o argón/metano

Sistemas libre de agua y oxígeno

Produce línea base estable

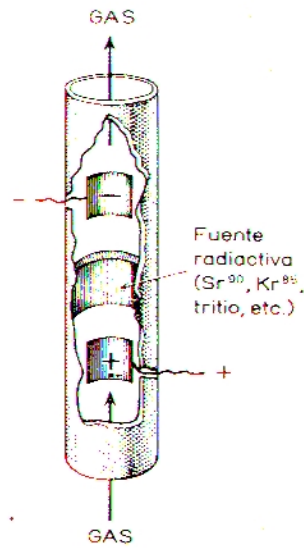
Incrementa la vida de la lámina radioactiva

Requiere una trampa de Malla molecular "S" y una trampa para O₂

Preacondicionamiento de la columna sin conectar al detector

Sensible al sangrado de columna de fases estacionarias como cyano, trifluoropropil y polietilenglicol

Detector no destructivo, maneja eluentes tóxicos apropiadamente



ESPECTROMETRO DE MASAS, DETECTOR SELECTIVO DE MASAS

Destructivo y universal.

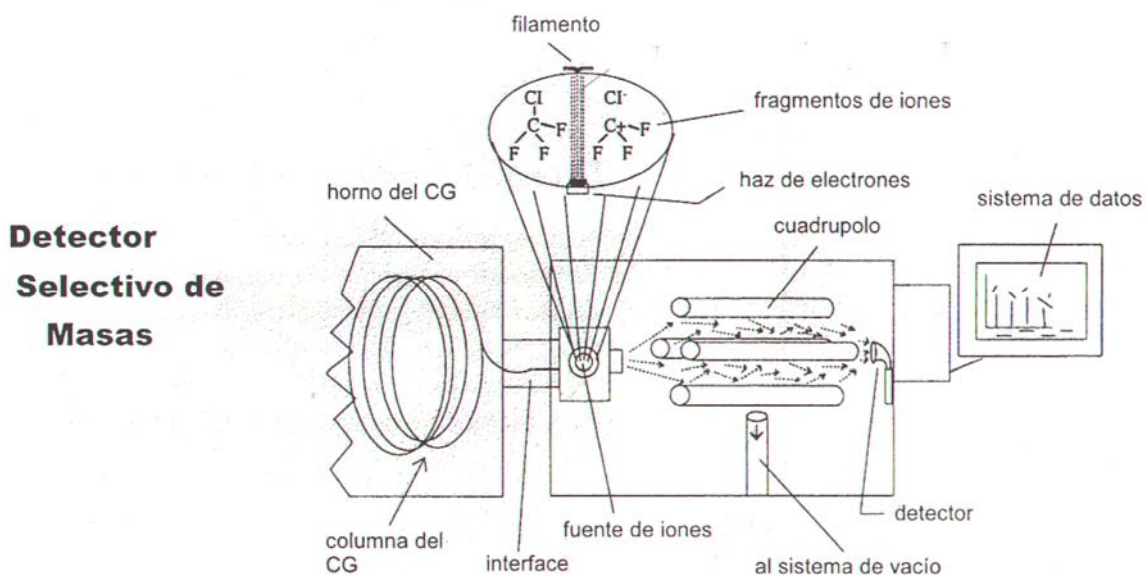
Compuestos bombardeados por electrones y fragmentados en especies cargadas en el modo EI

Los fragmentos son separados en base a su relación masa/carga

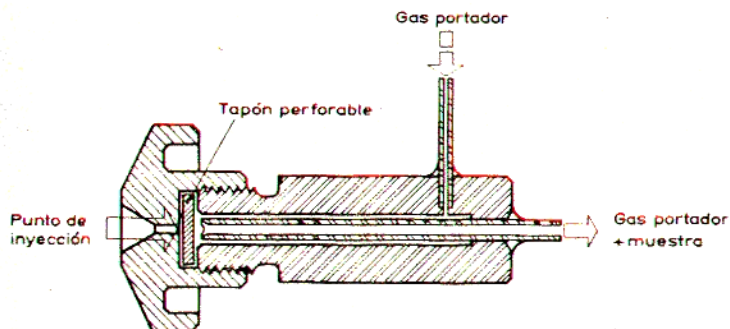
Monitoreo del ión seleccionado (SIM) para incrementar la sensibilidad y la selectividad.

Intervalo dinámico lineal: 10^5 .

Aplicaciones: desarrollo de método, análisis de drogas y ambiental.



Corte transversal de la Cámara de inyección



| N° | Nombre del detector | Tipo | Fundamento | Sensibilidad | Límite inferior de detección | Tiempo de respuesta (al 90%) | Linealidad | Origenes de gases en flujo | Temperatura (en máxima) | Gas portador | N° | Substancias detectadas y observaciones | | | |
|----|----------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|----------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------|----------------------------|-------------------------|----------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|
| A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P |
| 1 | Hilo caliente | Conductividad térmica | $I \propto T - dT + dQ + dT + dR + dV$ | 300-1 000 mV | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 0.25-10 seg | 10^0 | ■ | 150 °C | He, H ₂ | 1 | La mayoría | | | |
| 2 | Termistores | Conductividad térmica | $I \propto T - dT + dQ + dT + dR + dV$ | 10^0 | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 0.25-10 seg | 10^0 | ■ | 100 °C | He, H ₂ | 2 | La mayoría (especialmente adecuado para gases inorgánicos) | | | |
| 3 | Termistores (micro) | Conductividad térmica | $I \propto T - dT + dQ + dT + dR + dV$ | 10^0 | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 0.25-10 seg | 10^0 | ■ | 200 °C | He, H ₂ | 3 | La mayoría | | | |
| 4 | Ionización por llama | Ionización | $dP \rightarrow dI \rightarrow dV$ | $30 \mu A$ | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 10^{-1} seg | 10^0 | ■ | sin límite | N ₂ , H ₂ , aire | 4 | La mayoría (no gases inorgánicos) | | | |
| 5 | Ionización doble llama | Ionización (comparativo) | $dP \rightarrow dI \rightarrow dV$ | 10^{-1} mg/l | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 10^{-1} seg | 10^0 | ■ | sin límite | N ₂ , H ₂ , aire | 5 | La mayoría (no gases inorgánicos) | | | |
| 6 | Captura electrónica | Ionización (radiaciones β) | $dA \rightarrow dI \rightarrow dV$ | 10^{-1} mg/l | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 0.5-30 seg | 10^0 | ■ | 225 °C | Ar, N ₂ , CH ₄ | 6 | Substancias electronegativas: deriv. orgán. de Cl, F, Ph, etc. Pesticidas | | | |
| 7 | Sección transversal | Ionización (radiaciones β) | $dA \rightarrow dI \rightarrow dV$ | 10^{-1} mg/l | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 10 seg | hasta el 100% | ■ | 225 °C | Ar, N ₂ | 7 | Muestras (incluido gases inorgánicos) | | | |
| 8 | Sección transversal (micro) | Ionización (radiaciones β) | $dA \rightarrow dI \rightarrow dV$ | 10^{-1} mg/l | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 4×10^{-2} seg | 10^0 | ■ | 225 °C | Ar, N ₂ | 8 | Substancias de ionización más fácil que la del Ar: todos, menos gases nobles y algunos inorgánicos. | | | |
| 9 | Mostrador electrónico (Lorenz) | Ionización (radiaciones β) | $dA \rightarrow dI \rightarrow dV$ | 10^0 mV | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 10^{-1} seg | 10^{-10} | ■ | — | Ar | 9 | Substancias de ionización más fácil que la del Ar: todos, menos gases nobles y algunos inorgánicos. | | | |
| 10 | Volaje de ruptura (Kasam) | Ionización | $dI \rightarrow dV$ | 10^0 mV | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | He | 10 | — | | | |
| 11 | Descarga en gases a baja presión | Ionización | $dI \rightarrow dV$ | 10^0 mV | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | N ₂ | 11 | — | | | |
| 12 | Termiónico a baja presión | Ionización | $dI \rightarrow dV$ | 5×10^{-4} s | 1.6×10^{-1} mg/ml | — | — | ■ | — | N ₂ | 12 | Ionizables fácilmente (todos, excepto gases nobles) | | | |
| 13 | Densidad de gases | Densimetría | $dP \rightarrow dT + dR + dV$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | 0.25-10 seg | muy elevada | ■ | — | N ₂ , Ar | 13 | La mayoría; depende del peso molecular. Medida de gases moleculares | | | |
| 14 | Pérdida de carga | Viscosimetría | $dP \rightarrow dT + dR + dV$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | — | 14 | — | | | |
| 15 | Celda de capacitancia | Constante dieléctrica | $dK \rightarrow dC + dI$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | — | 15 | — | | | |
| 16 | Resistencia del sonido | Acústico | $dV_s \rightarrow$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | — | 16 | — | | | |
| 17 | Resistencia del sonido | Acústico | $dV_s \rightarrow$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | — | 17 | — | | | |
| 18 | Espectrógrafo de masas | — | — | — | — | — | — | ■ | > 200 °C | — | 18 | Substancias radiactivas; compuestos orgánicos con isótopos radiactivos | | | |
| 19 | Absorción de infrarrojo | Óptico | $dA \rightarrow dI \rightarrow dV$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | N ₂ | 19 | CO ₂ y sustancias combustibles que previamente se quemaron a CO ₂ | | | |
| 20 | Absorción de ultravioleta | Óptico | $dA \rightarrow dI \rightarrow dV$ | — | $V_{i,s} \propto \frac{m}{V}$ | — | — | ■ | — | N ₂ | 20 | Compuestos con grupos cromóforos | | | |
| 21 | Emissión de llama | Óptico | $dI \rightarrow dV$ | 25 mV | — | 0.25-10 seg | — | ■ | — | — | 21 | Localización de aromaticidad de compuestos orgánicos | | | |
| 22 | Combustión catalítica | Calor de combustión | $dQ_c \rightarrow dT + dR + dV$ | — | — | — | — | ■ | sin límite | N ₂ , CO ₂ | 22 | Sustancias orgánicas | | | |
| 23 | Temperatura de llama de H ₂ | Calor de combustión | $dQ_c \rightarrow dT + dR + dV$ | — | — | — | — | ■ | sin límite | N ₂ , CO ₂ | 23 | Sustancias orgánicas | | | |
| 24 | Potenciometrico | Valeración volumétrica redox | E | — | — | — | — | ■ | ambiente | — | 24 | Mercaptanos | | | |
| 25 | Cabrométrico | Valeración redox | pH | — | — | — | — | ■ | ambiente | — | 25 | Acidos, bases, mercaptanos, compuestos carbonílicos; otros: combustión previa y valoración | | | |
| 26 | Valeración automática | Valeración redox | pH | — | — | — | — | ■ | ambiente | — | 26 | Compuestos ácidos y básicos: ácidos orgánicos, aminas, NH ₃ , etc. | | | |
| 27 | Valeración conductimétrica | Valeración conductimétrica | $dK \rightarrow dI \rightarrow dV$ | — | — | — | — | ■ | — | — | 27 | Acidos | | | |
| 28 | Volumetría de gases (simil Oksay) | Valeración de gases | $dV \rightarrow$ | 1% | — | — | — | ■ | — | CO ₂ | 28 | Gases volátiles a la temperatura ambiente no reaccionantes con H ₂ O: C ₂ H ₂ , C ₂ H ₄ , C ₂ H ₆ (bases secas) | | | |

CLASIFICACIÓN DE LOS DETECTORES BASÁNDOSE EN LA DEPENDENCIA DE CONCENTRACIÓN Y FLUJO DE MASA

| Detector | Type | Support gases | Selectivity | Detectability | Dynamic range |
|--------------------------------|---------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------|
| Flame ionization (FID) | Mass flow | Hydrogen and air | Most organic cpds. | 100 pg | 10 ⁷ |
| Thermal conductivity (TCD) | Concentration | Reference | Universal | 1 ng | 10 ⁷ |
| Electron capture (ECD) | Concentration | Make-up | Halides, nitrates, nitriles, peroxides, anhydrides, organometallics | 50 fg | 10 ⁵ |
| Nitrogen-phosphorus | Mass flow | Hydrogen and air | Nitrogen, phosphorus | 10 pg | 10 ⁶ |
| Flame photometric (FPD) | Mass flow | Hydrogen and air possibly oxygen | Sulphur, phosphorus, tin, boron, arsenic, germanium, selenium, chromium | 100 pg | 10 ³ |
| Photo-ionization (PID) | Concentration | Make-up | Aliphatics, aromatics, ketones, esters, aldehydes, amines, heterocyclics, organosulphurs, some organometallics | 2 pg | 10 ⁷ |
| Hall electrolytic conductivity | Mass flow | Hydrogen, oxygen | Halide, nitrogen, nitrosamine, sulphur | | |

EL CROMATOGRAMA Y SU INTERPRETACIÓN

El *Cromatograma*, es la plasmación gráfica de los resultados de la cromatografía de gases, y es muy importante su interpretación. En realidad la técnica de Cromatografía de gases en una técnica Cromatográfica por elución.

Dentro de los cromatogramas obtenidos por elución cabe distinguir dos tipos que dependen de la naturaleza del detector: *cromatogramas de escalones* cuando el detector es del tipo acumulativo, y *cromatogramas de picos* cuando el detector es instantáneo. Siendo éstos los de interpretación más sencilla; ello explica que, en la mayoría de los casos, los cromatogramas a interpretar sean de picos

CROMATOGRAMA DE ESCALONES: INTERPRETACION

Como se ha indicado anteriormente, los cromatogramas de escalones resultan cuando se hace uso de un detector acumulativo. Uno de estos registros escalonados se muestra en la **FIG. 1**.

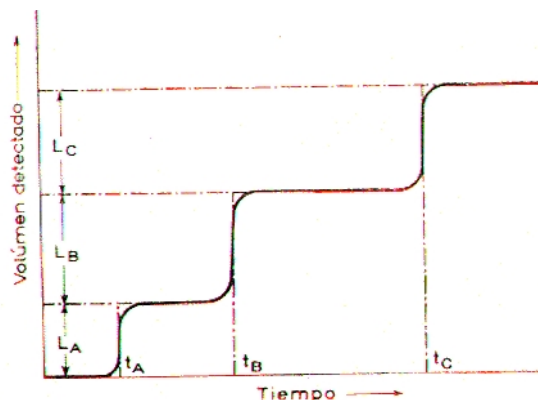


FIG. 1 Cromatograma de escalones obtenido de una mezcla de los componentes A,B y C.

El tiempo de retención en estos cromatogramas es el que corresponde a un aumento de volumen. El volumen detectado de un componente viene dado por la altura del escalón correspondiente. La concentración de un componente, expresada en volumen y en moles, vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$\%_i = \frac{L_i}{\sum L} 100 \quad (1 a)$$

siendo L_i la altura del escalón del componente, y $\sum L$ la suma de las alturas de escalón de todos los componentes de la mezcla analizada.

CROMATOGRAMA DE PICOS: PARALELOS

Los detectores instantáneos ponen de manifiesto, en el cromatograma, el paso de un componente en un registro con forma de pico, este tipo de registro es el más frecuente, y sobre el mismo se centra el resto del presente.

La FIG.2, muestra un cromatograma de picos, con los parámetros característicos. A continuación se pasa revista a tales parámetros.

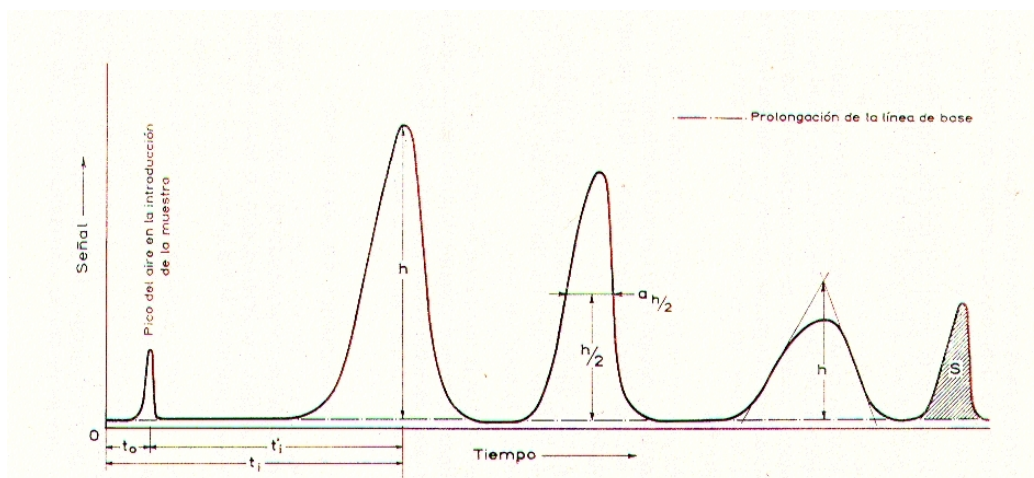


FIG. 2. Cromatograma de picos con indicación de los parámetros característicos.

El *pico del aire* es el que corresponde a la detección de una cantidad muy pequeña de aire que entra en la columna cuando se introduce la muestra en el cromatógrafo. En muchas ocasiones se toma como origen de tiempos de retención corregidos, tal como se definió anteriormente.

La *línea de base* es la parte del registro que corresponde al gas portador puro, o sea, a la señal de base.

Anchura de pico (h) es la distancia entre la cima del pico y la prolongación de la línea de base. En el caso de que el pico sea de vértice redondeado se trazan rectas tangentes a los puntos de inflexión de las laderas; el punto de corte de las dos líneas trazadas determina la altura del pico, tal y como muestra el cuarto pico de la FIG. 2.

Anchura de pico en la semialtura ($a_{h/2}$) es la distancia, paralela a la línea de base, entre las dos laderas del pico, tomada a la altura mitad a la total de pico.

Area del pico (S) es la comprendida entre el pico y la prolongación de la línea de base. Precisamente a obtener el valor de este parámetro, en los picos del cromatograma, se dedican los dispositivos integradores.

DETERMINACION DEL AREA DE PICO

Aun cuando existen en el mercado dispositivos destinados a la medida del área de pico, o sea, a obtener sobre el cromatograma el valor de la integral:

$$S_i = \int E dt \quad (1 \text{ b})$$

donde S es el área del pico; E , el parámetro eléctrico registrado, en general *d. D. P.*, y t el tiempo. Dejando de lado los dispositivos mencionados, que proporcionan directamente el valor de la integral, se van a considerar a continuación algunos métodos sencillos para determinar el área de los picos.

Si el papel utilizado para realizar el registro es homogéneo puede realizarse la determinación del área pesando el pico, cuidadosamente recortado, en una balanza de precisión, y comparando el peso obtenido con el de un recorte que se tome como unidad de área. Utilizando una comparación semejante puede obtenerse el área del pico haciendo un recuento de las unidades de superficie, "cuadros", que comprende el pico considerado.

Entre los *métodos geométricos*, el más primitivo y de menor exactitud considera el pico como un triángulo de área:

$$S_i = \frac{a \times h}{2} \quad (2)$$

siendo a la anchura del pico considerada sobre la prolongación de la línea de base, y h la altura del pico.

En la base del pico es donde más pronunciadas suelen ser las distorsiones que hacen inexacto el considerarlo como un triángulo. Por ello es mucho más aproximado obtener el área de acuerdo con la ecuación:

$$S_i = h \times a_{h/2} \quad (3)$$

siendo $a_{h/2}$ la anchura del pico en la semialtura. En el caso de que el pico sea asimétrico, es más recomendable la ecuación:

$$S_i = h \frac{a_{o,5} + a_{o,1} + a_{o,9}}{3} \quad (4)$$

siendo $a_{0,5}$, $a_{0,1}$ y $a_{0,9}$ las anchuras de pico tomadas a 0,5, 0,1 y 0,9, respectivamente, de la altura total del pico. Utilizando las ecuaciones (3) y (4) se pueden determinar áreas con error menor del 2 por 100, aparte de la comodidad de medir solamente dimensiones lineales.

Es interesante considerar el caso de que dos compuestos no se encuentren bien resueltos en el cromatograma, como muestra la **FIG. 3**. Se considera que esto ocurre cuando el valle intermedio no llega a la línea base.

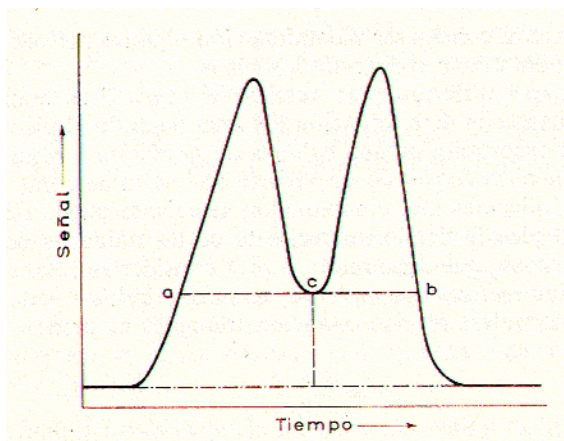


FIG. 3 Picos mal resueltos

Para resolver tales casos se actúa de la forma siguiente: bájese una línea recta vertical desde el valle hasta la línea de base; trázese una paralela a la línea de base tangente al valle. Determínese el área de cada pico considerando como línea de base la última trazada. Hállese el área de las dos zonas que quedan bajo la línea acb . Se considerará como área de cada pico la suma de las dos superficies comprendidas bajo el mismo. Como se ve fácilmente, este procedimiento supone “repartir” la interferencia entre los dos compuestos, por partes iguales.

DETECTOR Y CROMATOGRAMA

La *señal* de fondo se manifiesta en el cromatograma y estableciendo un nivel superior para dicha señal, se la tiene en cuenta a la hora de interpretarlo.

Respecto de la *sensibilidad* del detector hay que decir que, generalmente, no es la misma para diferentes componentes, lo cual motiva la necesidad de calibrar el cromatógrafo para que las respuestas de éstos sean comparables entre sí.

A continuación se van a considerar las relaciones existentes entre el área de pico y diferentes parámetros del detector y de las condiciones de operación. Se tendrán en cuenta dos tipos de detectores, vistos ya en el apartado anterior.

En el caso de *detectores sensibles a la concentración*, de conductividad térmica, por ejemplo, es:

$$E_i = KC_i \quad (5)$$

siendo E la señal registrada; C , la concentración, y K , el factor de respuesta, para un componente i . El área de pico vendrá dada por:

$$S_i = \int E dt \quad (6)$$

Con la ecuación (5) en la (6), resulta: $S_i = K \int C dt \quad (7)$

Pero, por otro lado, $C dt = \frac{1}{q} dM_i \quad (8)$

Donde q es el caudal volumétrico de la fase móvil a través del detector, y M_i , la masa de componente i . Con la ecuación (8) en la (7), una vez integrado a caudal constante, resulta:

$$S_i = \frac{K}{q} M_i \quad (9)$$

y despejando la cantidad de componente: $M_i = 1/K \times q \times S_i \quad (10)$

que demuestra la relación existente entre el área del pico y la cantidad de componente detectada. Las unidades utilizadas más frecuentemente en las magnitudes citadas son: E (mV), M (mg), S (mV.min), q (ml/min), t (min) y K (mV/mg/ml).

Cuando el detector es *sensible a la velocidad de introducción del componente*, por ejemplo detectores de ionización, la respuesta es:

$$E' = K' \frac{dn_i}{dt} \quad (11)$$

siendo n_i el número de moles del componente i . El área de pico en este caso es:

$$S_i = \int E' dt \quad (12)$$

sustituyendo (11) en (12) e integrando resulta:

$$S_i = K' n_i \quad (13)$$

finalmente, despejando n_i , resulta: $n_i = \frac{1}{K'} S_i \quad (14)$

con lo que queda demostrada la relación entre cantidad de componente y área de pico para este tipo de detectores.

Las deducciones anteriores se han realizado suponiendo constantes algunas condiciones de operación, como son el caudal volumétrico de la fase móvil (y, por tanto, la temperatura en el detector), la alimentación eléctrica al detector, etc.

Un parámetro relacionado con el detector y, lógicamente, propio de cada componente, es la *respuesta relativa*, considerando ya en el apartado anterior, que se define, sobre el cromatograma, como la razón entre las áreas de pico, del componente considerado y de otro componente que se toma como patrón, cuando hay igual número de moléculas de ambos. Obsérvese la similitud entre esta definición y la de retención relativa, hecha anteriormente, no dejando de considerar las diferencias que entre ambas existen.

La respuesta relativa es una constante para un compuesto dado respecto de un patrón, sin que intervenga en el valor de la misma el tipo de columna ni las condiciones de operación, siempre que sean iguales al determinar las dos áreas. Sí depende del tipo de detector utilizado. Al igual que los datos de retención relativa, los de respuesta relativa se encuentran tabulados para muchos compuestos.

INTERPRETACION CUALITATIVA DEL CROMATOGRAMA

Como se ha considerado anteriormente, la visión cualitativa de una muestra que proporciona el cromatógrafo se debe principalmente a la acción separadora de la columna, haciendo el detector meramente de informador. La columna separa los componentes de la muestra que emergen a distintos *tiempos de retención* o *volúmenes de retención*, definidos, que se manifiesta en el eje de abscisas, tiempos, del cromatograma de acuerdo con la situación, sobre dicho eje, de los picos que corresponden a los componentes.

Como ya se vio, los tiempos de retención son difícilmente reproducibles, incluso en una misma columna, y cómo se define la *retención relativa* de un componente dado, que es reproducible siempre que las condiciones de operación sean iguales, y las columnas utilizadas, muy semejantes.

Para realizar la antedicha identificación se procede frecuentemente a comparar el cromatograma obtenido con los de compuestos conocidos y puros, existiendo varias formas de realizar tal comparación y confirmar la presencia de un componente. Cuando en una mezcla se sospecha que un componente ya identificado corresponde a un pico dado se añade a la muestra problema algo de componente puro, y se realiza un cromatograma. Si en el registro obtenido aparece el pico del componente aumentado en su dimensión, entonces se ha acertado en la predicción. Si aparece un nuevo pico, la predicción era errónea.

Los datos de retención pueden de la bibliografía, o también por determinación experimental usando compuestos puros.

Muchas veces los componentes a analizar no son apropiados para la cromatografía de gases, procediéndose, en tales casos, a someterlos a reacciones previas de acondicionamiento que los transformen en otros compuestos cromatografiables. Un ejemplo de esto es el caso de los ácidos orgánicos, a los que se debe someter a esterificación previa, por lo que los datos de retención correspondientes vienen dados para los ésteres, como puede consultarse en la bibliografía especializada.

Es interesante consignar aquí la relación dada por H. Oster, para series homólogas hidrocarbonadas, según la cual el logaritmo del tiempo de retención de un miembro de una de tales series es, con gran aproximación, función lineal de su número de carbonos:

$$\log t_i = \alpha N_i \quad (15)$$

siendo N_i el susodicho número de átomos de carbono y α una constante propia de la serie homóloga, de la columna y de las condiciones de la determinación cromatográfica. Según lo anterior, es sencillo determinar experimentalmente la constante de proporcionalidad realizando un cromatograma de algunos compuestos de una serie homóloga y representando, en papel semilogarítmico, t_i frente a N_i ; deberá obtenerse una receta, extra e interpolable, de pendiente igual a α .

Un parámetro cualitativo para caracterizar los componentes, de gran utilidad por su buena reproducibilidad, es el *índice de retención* propuesto por Kováts. Se considera que la serie homóloga de los hidrocarburos saturados de cadena lineal constituye una escala de retención que puede servir como referencia para los demás compuestos. Se define el índice de retención de un componente i como:

$$I_i = 100n + 100m \left[\frac{\log t_i - \log t_N}{\log t_{N+M} - \log t_N} \right] \quad (16)$$

donde n es el número de carbonos de la parafina normal N , y m es el número de carbonos en que la parafina $N+M$ aventaja a la N .

$$I_i = 100n + 100m \left[\frac{\log r_{iN}}{\log r_{N+M,N}} \right] \quad (17)$$

Según estas definiciones, las parafinas normales que se toman como patrones tienen un índice de retención que es igual a su número de carbonos multiplicado por 100, ($r_{NM}=1$).

Si se define que:

$$b = \frac{\log r_{N+M,N}}{m} \quad (18)$$

y se considera que su valor es precisamente el de α para los hidrocarburos saturados de cadena lineal cuando se aplica la ecuación (15) a las parafinas N y $N+M$, la ecuación (17) quedará convertida en:

$$I_i = 100 \left[\frac{\log r_{iN}}{b} + n \right] \quad (19)$$

el coeficiente b es una constante para una columna y unas condiciones dadas, y si los miembros considerados de la serie homóloga son cercanos, o sea, si m es bajo.

En muchos casos se toma el n-nonano como patrón de referencia a la hora de establecer valores del índice de retención. En este caso, la ecuación (19) quedará:

$$I_i = 100 \left[\frac{\log r_{i9}}{b} + 9 \right] \quad (20)$$

En otros se toman dos parafinas normales, tales que:

$$\begin{aligned} M &= 2 & (21) \\ t_N &< t_i < t_{N+M} \end{aligned}$$

en cuyo caso la ecuación (17) pasa a ser:

$$I_i = 100n + 200 \left[\frac{\log r_{iN}}{\log r_{N+2,N}} \right] \quad (22)$$

y la (18):

$$b = \frac{\log r_{N+M,N}}{2} \quad (23)$$

Las ecuaciones (19), (20), (22) y (23) son fácilmente aplicables a problemas concretos para calcular el I_i a partir de valores de retención relativa.

Se dispone de hidrocarburos lineales saturados dentro de una gama muy amplia de tiempos de retención, por lo que se pueden aplicar las relaciones (21), (22) y (23) a la mayoría de los componentes orgánicos.

Las diferencias entre los valores de los I_i de una sustancia cuando se usa una fase estacionaria líquida polar y cuando se usa una no polar tienen aplicación en determinaciones de estructuras orgánicas.

CALIBRADO

Para poder interpretar correctamente de forma cuantitativa los cromatogramas analíticos es necesario obtener correcciones a las alturas y áreas de pico, de forma que las de todos los componentes de una mezcla sean cuantitativamente comparables. Los experimentos y operaciones posteriores de cálculo destinados a establecer las relaciones existentes entre altura o áreas de pico y composiciones reciben conjuntamente el nombre de calibrado del *cromatógrafo*.

El calibrado se traducirá en una relación entre el parámetro de pico que se elija y la composición de la muestra o, supuesta una relación teórica entre ambos, en unos coeficientes empíricos de corrección. En el primer caso, si la relación es gráfica, se tiene una curva de calibrado; en el segundo se obtienen unos *factores de calibrado*.

Aunque el calibrado del cromatógrafo se encuentra muy ligado a la interpretación cuantitativa del cromatograma – incluso en ciertos casos se verá que ambos se hallan mezclados -, se prefiere tratarlos por separado, para que cada uno de los dos procesos conserve, en lo posible, su identidad particular, facilitándose así su comprensión.

Varios son los métodos que se pueden seguir para realizar el calibrado y, como ocurre muchas veces en la Ciencia, la mayor exactitud en esta operación y en la posterior interpretación de los cromatogramas se paga con una mayor laboriosidad en las mismas.

El método de *calibrado absoluto* es el más sencillo, pero menos exacto y más delicado en su realización y utilización posterior. Se lleva a cabo introduciendo en el cromatógrafo *mezclas de calibrado*, en proporciones conocidas, de los compuestos que contiene el problema que posteriormente se vaya a analizar. Los componentes se reconocen cuantitativamente por sus tiempos de retención, y se anotan las alturas de pico a que dan lugar distintas proporciones de los mismos. Obtenidos los datos, se realizarán curvas de calibrado representando alturas de pico frente a concentraciones porcentuales en moles, peso o volumen.

Se sugiere efectuar más de un calibrado si las muestras contienen varios componentes a diferentes porcentajes conocidos. Por ejemplo, para tres componentes es conveniente llegar a una representación como la de la **FIG. 4**

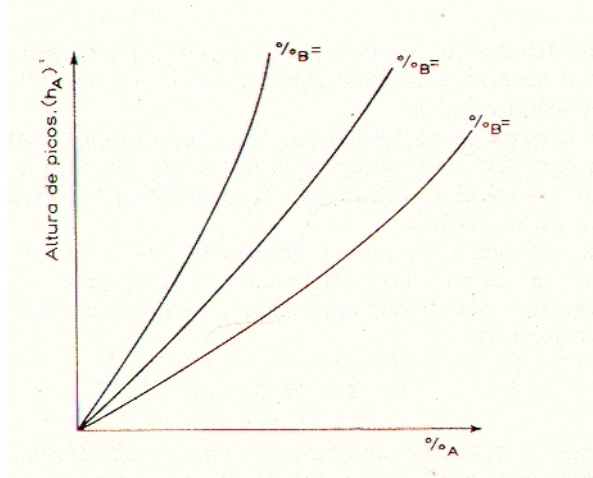


FIG. 4 Calibrado de una mezcla de tres componentes mayoritarios.

Las condiciones que han de cumplir los ensayos de calibrado para que puedan utilizarse con éxito en la interpretación posterior de los cromatogramas analíticos que se obtengan, son:

- Igual volumen de muestra en el calibrado y en los ensayos analíticos
- Comprobación frecuente del calibrado (se suele hacer una vez por semana)
- Las mezclas de calibrado deben contener todos los componentes que cabe esperar en las mezclas problema. Generalmente, basta con que se encuentren los mayoritarios.
- Tanto en los ensayos de calibrado como en los analíticos se deberán controlar con el mayor cuidado la igualdad y constancia de las condiciones operativas (temperatura, caudales, etc.)

El método de *calibrado relativo* o por *patrón interno* se efectúa por comparación de las áreas, de los picos resultantes, entre los componentes del problema y una cantidad conocida de un compuesto puro, denominado *patrón interno*.

Para realizar el calibrado se siguen las siguientes etapas:

- a) Se eligen columnas y condiciones de operación adecuadas al análisis que se va a realizar.
- b) Se realiza un ensayo cromatográfico previo, aproximativo, de la muestra a analizar, interpretando el cromatograma resultante de acuerdo con la ecuación:

$$\%i \cong \frac{S_i}{\sum S_i} 100 \quad (24)$$

- c) Se preparan varias muestras de calibrado con la misma sustancias que el problema en cantidades conocidas y proporciones semejantes a las estimadas en b)
- d) Se añade a cada muestra una cantidad conocida, M_p , del patrón elegido, tal que su pico tenga un área intermedia a las determinadas en b)
- e) Se realizan varios cromatogramas de cada muestra.
- f) Se calcula el factor, para cada cromatograma de cada muestra, de acuerdo con la ecuación:

$$f'_{ijk} = \frac{M_i}{M_p} \frac{S_p}{S_i} \quad (25)$$

indicando i el componente, j la muestra y k el cromatograma; p se refiere al componente elegido como patrón interno.

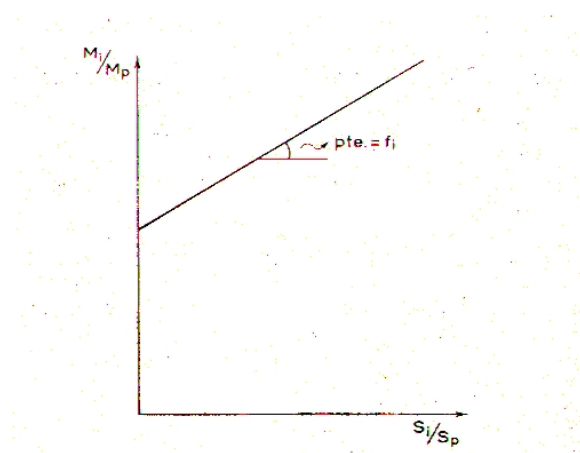


FIG. .5 Gráfica de calibrado por patrón interno.

- g) Se calcula el valor medio de los factores obtenidos relativos a cada componente, y este valor medio será cada uno de los factores de

calibrado aplicable a las ecuaciones (31) y (32) para la interpretación posterior de los cromatogramas, de la cual se obtendrán valores más exactos de $\%_i$ que los estimados en b).

Se pueden realizar calibrados para diferentes valores de M_i/M_p . En el caso de que la representación sea recta, esto se simplifica aún más por el hecho de que el factor sea constante e igual, de acuerdo con la ecuación (25), a la pendiente de dicha recta.

Las condiciones que debe cumplir una sustancia para servir como patrón interno son las siguientes:

- No encontrarse en el problema que se desea analizar.
- Tener similitud con los componentes del problema.
- Proporcionar, en sí y con el problema, picos bien resueltos y de buena forma.
- Eluir en un tiempo cercano al de los componentes el problema.

Este tipo de calibrado, que proporciona la interpretación posterior más exacta, requiere buena resolución en los cromatogramas, por lo que se suele aplicar a mezclas sencillas.

Un método de calibrado menos complicado, y también menos exacto, es el de *normalización interna*, en el que unos componentes actúan como patrones de los demás, por lo que no se requiere añadir ninguna sustancia ajena al problema.

Para realizar el calibrado siguiendo este método se seguirán los pasos siguientes:

- a) se eligen columnas y condiciones de operación adecuadas al análisis que se desea realizar.
- b) Se realiza un ensayo cromatográfico previo aproximativo de la muestra problema, igual que en b), el método anterior, estimándose, de forma similar, los $\%_i$.
- c) Se preparan varias muestras como en c) del método anterior.
- d) Sin añadir sustancia alguna, se realizan varios cromatogramas de las muestras de calibrado preparadas.
- e) Se calcula el factor, para cada cromatograma de cada muestra, de acuerdo con la ecuación:

$$f'_{ijk} = \frac{M_i}{\sum M} \frac{\sum S}{S_i} \quad (26)$$

f) Se calculan los valores medios de los factores obtenidos, uno para cada componente. Estos valores medios serán los factores aplicables a la ecuación(30) en la interpretación posterior de cromatogramas, de la que resultarán valores más exactos que los obtenidos en b).

Tanto el método de patrón interno como el de normalización interna presentan la ventaja de que no requieren como dato el valor exacto del tamaño de la muestra lleva a análisis. En ambos métodos, los ensayos de calibrado deben efectuarse en el mismo día y en iguales condiciones experimentales que las determinaciones analíticas, pues, en caso contrario, se introducen errores considerables.

INTERPRETACION CUANTITATIVA DEL CROMATOGRAMA

Si la señal del detector fuera siempre igualmente proporcional a la cantidad o concentración de todos y cada uno de los componente, o dependiese de parámetros moleculares sencillos, la interpretación cuantitativa del cromatograma sería sencilla. En la realidad ocurre que, aun en los casos de respuesta proporcional, la proporcionalidad es diferente para distintos componentes, por lo que es preciso efectuar correcciones a la manifestación gráfica de la señal (altura o área de pico) para poder conocer correctamente las cantidades realmente presentes en una muestra problema.

Se puede decir que la interpretación cuantitativa de un cromatograma obtenido consiste en transformarlo en otro que indique realmente las cantidades o proporciones de los componentes en la muestra.

Como parámetro de pico pueden utilizarse la altura o el área del mismo, según los casos.

El uso de la *altura de pico* presenta como ventaja la comodidad de medida, pero solamente proporciona una exactitud aceptable en el caso de mezclas sencillas de pocos componentes que den lugar a picos agudos, estrechos y claramente separados. Además, la altura de pico es muy sensible a variaciones en las condiciones de operación, por lo que el uso de este parámetro exige un control cuidadosísimo de dichas condiciones. Las medidas de altura de pico son interesantes para los análisis de rutina, en los que se puede sacrificar algo de la exactitud a favor de la sencillez y rapidez de las determinaciones.

Generalmente, para las determinaciones según la altura de los picos se suele utilizar el *calibrado absoluto*, por el cual se habrán obtenido previamente curvas de calibrado, como se vio, de las que se hará uso para interpretar los cromatogramas que se obtengan. Los ensayos de análisis deben cumplir las condiciones que se indicaron al tratar de este método de calibrado.

El uso, como parámetro gráfico, del *área de pico* es más acertado cuando se requiere mayor exactitud en las determinaciones cuantitativas. Se ha visto cómo el área de pico es función de la cantidad de componente o de la concentración del mismo.

En el caso ideal de que la proporcionalidad, entre señal y cantidad o concentración, fuese la misma para todos los componentes de una muestra, el porcentaje en peso de un componente vendría dado por la ecuación:

$$\%_i = \frac{S_i}{\sum S_i} 100 \quad (27)$$

pero como se ha dicho esto raramente ocurre.

Para interpretar cuantitativamente el cromatograma se requiere un calibrado del cromatógrafo que permita conocer la relación real que, para cada componente, existe entre el área de pico y la cantidad de componente presente en una muestra, de forma que todos los picos, adecuadamente corregidos sean comparables. El calibrado, se ha visto en el apartado anterior; proporciona una curva de calibrado, en la que se pueden hacer lecturas directas, o bien unos factores de calibrado que se pueden definir como la razón existente entre el área de pico que resultaría si la proporcionalidad fuese la misma para todos los componentes y el área de pico que realmente se obtiene en el cromatograma:

$$f_i = \frac{S'_i}{S_i} \quad (28)$$

Siendo S' el *área corregida*. En realidad, la ecuación (27) será correcta si se establecen las áreas corregidas:

$$\%_i = \frac{S'_i}{\sum S_i} 100 \quad (29)$$

Introduciendo en la ecuación (29) los factores de calibrado definidos en la ecuación (28) se obtiene:

$$\%_i = \frac{f_i S'_i}{\sum f_i S_i} 100 \quad (30)$$

que se utilizará para la interpretación cuantitativa de los cromatogramas.

Los factores de corrección a utilizar en la ecuación (30) pueden proceder de distintos orígenes.

La posibilidad mas sencilla está en suponer que los factores son iguales a la unidad, pero utilizando moles en vez de pesos.

Sólo tiene valor para una estimación rudimentaria de la composición. Se utiliza, a veces, como tanteo previo a una elaboración posterior de los datos que sea mas correcta.

Como método aproximativo rápido puede utilizarse el inverso de la *respuesta relativa*, comentada anteriormente como factor para la corrección de áreas. El producto del área del pico de un componente por el inverso de la respuesta relativa se llama *área relativa* de pico.

Cuando se utiliza un detector de ionización por flama de hidrógeno, la multiplicación de las áreas de pico por los valores correspondientes del *factor de carbono*, ya definido, proporciona resultados relativamente buenos en la interpretación cuantitativa de los cromatogramas. Es conveniente realizar posteriormente un calibrado, basado en las áreas corregidas, para obtener resultados más exactos.

Cuando el calibrado se hace por el *método de normalización interna*, se obtienen factores de calibrado que se utilizan en la ecuación (30) para obtener los porcentajes en peso de los componentes del problema. Cumpliendo las especificaciones hechas para este método se determinan con posiciones con errores relativos inferiores al 10 por 100 .

El calibrado por el *método de patrón interno* elimina la influencia de factores exteriores, ya que los resultados quedan referidos a una sustancia patrón , que estará influida por dichos factores en igual medida que los componentes del problema. En este método no se puede utilizar la ecuación (30) , para interpretar los cromatogramas, debido a la intervención y presencia de la sustancia patrón. Se obtienen los pesos desconocidos de los componentes, de acuerdo con la ecuación:

$$M_i = f'_i \frac{S_i}{S_p} \quad (31)$$

y los porcentajes en peso aplicando los obtenidos en la ecuación (31) a la ecuación:

$$\%_i = \frac{M_i}{\sum M_i} \quad 32$$

Siguiendo este método de calibrado, dentro de sus especificaciones características, se pueden realizar determinaciones cuantitativas con errores relativos por debajo del 3 por ciento. Se exige en este método, que la resolución sea muy buena, por lo que suele aplicarse al análisis de muestras sencillas.

Aun pecando de reiterativos, se debe tener siempre en cuenta que, tanto en el calibrado por patrón como en el de normalización interna, las determinaciones deben hacerse en el mismo día y bajo las mismas condiciones experimentales que el calibrado, pues en caso contrario se da lugar a errores de importancia.

Sobre los distintos métodos a utilizar en la determinación cuantitativa de los componentes de una mezcla por interpretación de cromatograma, así como sobre métodos de calibrado, es muy interesante el trabajo de Keulemans y col.³, en el que se discuten posibilidades y diversos criterios a seguir.

CROMATOGRAFÍA DE GASES UNA APLICACIÓN DEL ANALISIS CUANTITATIVO

Se basa en el hecho de que la cantidad de determinada sustancia es directamente proporcional al área del pico obtenido en el cromatograma y que corresponde a dicha sustancia.

Se debe encontrar entonces el valor del área del pico y un factor de proporcionalidad que nos permita determinar la concentración.

Existen varios métodos para calcular el área de los picos, siendo los más empleados los directos que usan un sistema electrónico o electromecánico para efectuar la integración del pico. Se puede efectuar esta integración manualmente usando un planímetro.

El método manual más aceptado es el de **triangulación**, en que se asemeja el pico a un triángulo y se halla su área multiplicando la altura del pico por su ancho a media altura:

$$A_i = h \times W_h \quad (23)$$

Se debe hacer notar que el área así obtenida no corresponde exactamente al triángulo formado por el pico, y se puede comprobar que para un pico de forma gaussiana perfecta:

$$A_i = 0.94 A_t$$

En que A_i corresponde al área encontrada por el método anterior y A_t el área verdadera del triángulo. Se puede emplear el método de triangulación con las siguientes restricciones:

- a) Si se aplica el método de triangulación, se debe emplear este método en todos los picos del cromatograma; el área obtenida por este método no puede relacionarse directamente por integración.
- b) En el caso de picos asimétricos el área obtenida por triangulación no puede relacionarse con el área obtenida para picos asimétricos.
- c) En el caso de picos no resueltos no se aconseja el empleo de este método sino con curvas de calibración o con un patrón interno.

Una vez obtenida el área del pico se debe calculara el **área relativa** de cada pico en base a la siguiente fórmula:

$$A_x (\%) = \frac{A_x}{A_i} \times 100$$

En que $A_x(\%)$ representa el área relativa porcentual del componente xy

$$A_T = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n$$

De este cálculo se obtienen áreas relativas porcentuales que están relacionadas pero no siempre son iguales a la concentración de los componentes de la mezcla.

Cuando la mezcla contiene compuestos similares con diferencias muy pequeñas de pesos moleculares siendo estos elevados se puede tomar el área relativa como el **Porcentaje en peso** de los componentes de la mezcla.

En el caso de componentes muy diferentes o con un rango de pesos moleculares muy grandes se debe aplicar un factor de corrección.

De la relación anterior podemos deducir que:

$$\%X = F_x \cdot A_x(\%)$$

En que F_x representa el factor de corrección. Este factor depende tanto de la naturaleza química de la muestra como del detector empleado. Para el caso más sencillo supongamos que la muestra tenga únicamente dos componentes:

Sabemos que:

$$\% X_1 = F_{X_1} \cdot A_{X_1}(\%) \quad \text{y} \quad \% X_2 = F_{X_2} \cdot A_{X_2}(\%)$$

dividiendo miembro a miembro obtendremos:

$$\frac{\% X_1}{\% X_2} = \frac{F_{X_1} \cdot A_{X_1}(\%)}{F_{X_2} \cdot A_{X_2}(\%)}$$

Si le asignamos a F_{X_1} un valor arbitrario de 1, tendremos que:

$$F_{X_2} = \frac{A_{X_1}(\%) \cdot \%X_2}{A_{X_2}(\%) \cdot \%X_1}$$

Se puede preparar una mezcla de concentraciones conocidas de los dos compuestos y determinar el valor del factor.

En general los análisis van a incluir más de dos componentes; damos a continuación dos ejemplos de cálculo de factores de respuesta, el primero para el cálculo de respuesta relativa molar con detector de ionización por llama, y el segundo para respuesta relativa para pesos iguales con detector de conductividad térmica.

Valores de respuesta relativa molar.

Se analiza una muestra que en el presente caso corresponde a una mezcla de hidrocarburos, de composición conocida y que incluya todos los compuestos que contendrá la muestra.

Se determinan las áreas del cromatograma y se toma uno de los compuestos como base (en el presente caso se tomó el n-heptano =700). La siguiente tabla da los valores obtenidos:

| Peso molecular | Compuesto | % peso | Area | Area para un mol | Respuesta relativa molar |
|----------------|-----------|--------|------|------------------|--------------------------|
|----------------|-----------|--------|------|------------------|--------------------------|

| | | | | | |
|---------|---------------------|-------|------|------|-----|
| 86.172 | 3-metil pentano | 23.15 | 1830 | 6812 | 626 |
| 100.198 | n-heptano | 21.22 | 1614 | 7621 | 700 |
| 100.198 | 2,2 dimetil pentano | 18.36 | 1424 | 7771 | 714 |
| 98.182 | Metilciclo-hexano | 16.50 | 1202 | 7152 | 657 |
| 78.108 | Benceno | 20.77 | 1769 | 6652 | 611 |

Ejemplo de cálculo: para el metil-ciclohexano.

Area para 16.50 mgr = 1202

Area para un mol (98.182 mgr) = 1202 x 98, 182/16.50 = 7152

Respuesta relativa molar = 7152 x 700/7621 = **657**

Valores de respuesta para pesos iguales.

Se analizó una muestra de cuatro componentes conociendo el % en peso y sabiendo que son las sustancias que se esperan en la muestra problema.

Se miden las áreas y luego se calcula el área para pesos iguales (25%) asignando un valor arbitrario a uno de ellos (en el ejemplo se asignó un valor de 100 para el benceno).

| Compuesto | Composición % | Area obtenida | Area para pesos iguales | Factor de respuesta |
|-------------------|---------------|---------------|-------------------------|---------------------|
| Benceno | 18.25 | 3680 | 5041 | 100 |
| n-butanol | 30.45 | 3622 | 2974 | 59 |
| Acetato de metilo | 40.05 | 1454 | 908 | 18 |
| Acetona | 11.25 | 998 | 2218 | 44 |

Ejemplo de cálculo: para el n-butanol:

Area para 30.45% = 3622

Area para 25% = 25.0 x 3622/30.45 = 2974

Respuesta relativa = 2974 x 100/5041 = 59

Los factores de respuesta así encontrados permiten calcular los valores reales de concentración a partir de valores del área de los picos. Se debe primero calcular las áreas reducidas que son:

$$A_r(i) = A(i)/F_i$$

El área reducida será entonces el área encontrada, dividida por el factor de respuesta para el componente. Para encontrar la concentración % de un componente en particular basta dividir su área reducida por la suma de todas las áreas reducidas y multiplicar por 100 i.e.

$$C_x(\%) = \frac{A_x/F_x}{\sum A_i/F_i} \times 100$$

El siguiente ejemplo servirá para aclarar los cálculos. Se trata de una mezcla de ácidos analíticos con un detector de ionización por llama, los factores de respuesta relativa para pesos iguales han sido encontrados previamente siguiendo los mismos pasos indicados anteriormente.

La tabla de valores es la siguiente:

| Compuesto | Área | F.(pesos iguales) | Area reducida | Conc. % peso |
|-----------|------|-------------------|---------------|--------------|
|-----------|------|-------------------|---------------|--------------|

| | | | x 100 | |
|-------------------------|------|------------|-------|--------|
| Ac. Acético | 1204 | 48 | 2508 | 19.46 |
| Ac. Propiónico | 1627 | 69 | 2358 | 18.30 |
| Ac. Butílico | 1668 | 86 | 1939 | 15.50 |
| Ac. Enántico | 3104 | 100 | 3104 | 24.08 |
| Ac. Caprílico | 3068 | 103 | 2979 | 23.11 |
| Suma de áreas reducidas | | | 12888 | 100.00 |

Ejemplo de cálculo para el ac. Butílico:

Area obtenida = 1668

Factor de respuesta pesos iguales = 86

Area reducida x 100 = 1668 x 100/86 = 1939

Suma de áreas reducidas = 12888

$$\text{Concentración (\% peso)} = \frac{939 \times 100}{12888} = 15.05\%$$

En la literatura se encontrarán otros factores que debido a las denominaciones pueden presentar confusiones.

Sensibilidad relativa Es igual a la respuesta relativa para un detector de ionización por llama tomando como referencia el valor de 1.00 para el n-heptano y en base a **pesos iguales**.

Respuesta térmica es igual a la respuesta relativa molar para un detector de conductividad térmica tomando como referencia el valor de 100 para el benceno.

Factor de peso (weight factor) es igual al recíproco de la respuesta relativa de un detector de conductividad térmica en base a **pesos iguales**; se toma el valor de referencia de 0.70 para el n-heptano. Al calcular el área relativa se debe **multiplicar** por estos factores el área original.

Al emplear los factores de respuesta hallados en el laboratorio o en la literatura se pueden presentar varios problemas. En primer lugar se tiene el rango de concentraciones, si se tiene una muestra con un componente en muy baja concentración y otro a alta concentración, se debe estar seguro que la respuesta del detector sea lineal incluso a altas concentraciones. En caso de no poder disminuir el tamaño de la muestra es posible que se esté trabajando el detector en zona no lineal, y los factores de respuesta no son válidos. Se debe recurrir al método de adición de un patrón interno que se explica más adelante. El segundo problema es de determinar si los factores de respuesta obtenidos en un instrumento son aplicables a otro. Se admite que los factores de respuesta para detectores de conductividad térmica sí pueden aplicarse a instrumentos con características similares, en tanto que es necesario emplear los factores de respuesta para ionización por llama solamente después de haber comprobado la validez de los mismos en el instrumento en que se efectuarán los análisis.

El tercer problema que se presenta se refiere a detectores de ionización por llama. Se ha dicho que estos detectores no dan respuesta para el agua y gases inorgánicos; pero si la substancia a analizar aparece simultáneamente con la substancia no detectada se producirá de todos modos un cambio en la característica de respuesta del detector no pudiendo aplicarse factores de respuesta. También en este método se debe recurrir al empleo de patrón interno.

Empleo de un patrón interno. Es el método más empleado para análisis cuantitativo por Cromatografía de gases. Sus principales ventajas son que al fijar la concentración del patrón interno se pueden establecer gráficas de la relación de áreas de los picos de las sustancias vs. El pico del patrón y la concentración de las sustancias a analizar.

La mejor descripción del método lo dará el siguiente ejemplo:

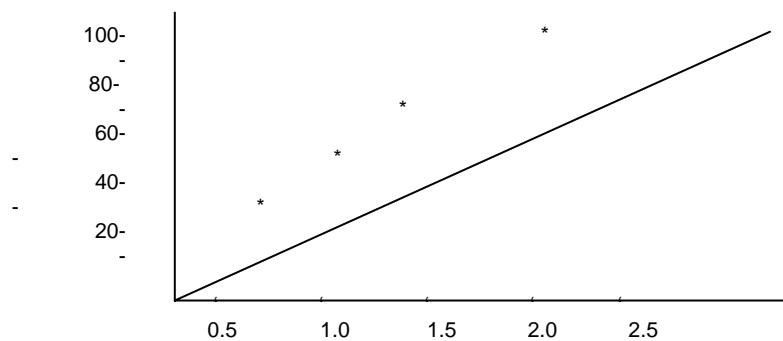
Se trata de determinar el contenido de pequeñas concentraciones de éter isopropílico en agua hasta un rango de 100 ppm. Se escoge como patrón interno el alcohol isopropílico de tal manera que su concentración en la muestra sea siempre **constante** e igual a 50 ppm (vol./vol.). Primero se prepara una solución de 5 mL de alcohol isopropílico y se diluye a 100 en un matraz volumétrico con agua destilada, se toman 10 mL y se llevan nuevamente a 100 mL con agua destilada. Esta solución contiene 0.5 mL de alcohol isopropílico en 100 mL de agua o 5000 ppm (vol./vol.).

Se preparan soluciones de éter isopropílico con un rango de concentraciones de 0 a 100 ppm vol./vol. Las soluciones se preparan en frascos volumétricos de 100 mL y antes de aforar se agrega a cada frasco **exactamente** 1 mL de la solución de 5000 ppm de alcohol isopropílico de forma tal que cada frasco contenga 50 ppm de la solución.

Se efectúa el análisis de cada muestra con un detector de ionización por llama y los resultados se pueden apreciar en la tabla siguiente:

| Concentraciones (ppm) | | Áreas | | Rel. de áreas |
|-----------------------|---------|-------|---------|---------------|
| ETER | ALCOHOL | ETER | ALCOHOL | éter/alcohol |
| 25 | 50 | 340 | 590 | 0.576 |
| 50 | 50 | 653 | 565 | 1.156 |
| 75 | 50 | 958 | 552 | 1.735 |
| 100 | 50 | 1251 | 543 | 2.304 |

Se grafican los valores de relación de áreas vs. Concentración de éter y se obtiene la figura:



ÁREA DEL ALCOHOL ISOPROPILICO-AREA DEL ETER ISOPROPILICO

Para análisis de una muestra desconocida se toman aproximadamente 50 mL, de la muestra, se pasan a un balón aforado de 100 mL, se agrega 1 mL de la solución de 5000 ppm de alcohol y se diluye a la marca. (No es necesario conocer el volumen inicial de la muestra ya que el agua no aparece en el cromatograma; en caso de tener una muestra con otros componentes que sí aparecen en el cromatograma es necesario conocer exactamente el volumen inicial). Se toma la

muestra necesaria para el cromatógrafo y se analiza en las mismas condiciones que las empleadas para obtener la gráfica anterior.

Se obtuvieron:

Area del alcohol = 572

Area del éter = 538

Relación de áreas = $538/572 = 0.94$

De acuerdo con la gráfica la concentración de éter corresponde a 40.5 ppm.

El método de patrón interno tiene varias ventajas:

- a) Solo se requiere un análisis.
- b) No se necesita determinar factores de respuesta.
- c) Al ser un método relativo no se necesita reproducir exactamente las condiciones analíticas.

Para recoger el patrón interno se deben seguir las siguientes recomendaciones:

- a) El pico del patrón debe encontrarse próximo al pico de la sustancia a analizar y completamente separado de ella.
- b) La concentración del patrón interno se debe escoger de tal manera que no sea necesario cambiar atenuación.
- c) Se pueden emplear dos o más patrones internos.
- d) Se debe cubrir todos los rangos de concentración esperados al preparar la gráfica: no se puede extrapolar.
- e) El patrón debe tener estabilidad química y térmica para las condiciones de análisis, su composición debe ser semejante a la sustancia a analizar

Se puede emplear un solo patrón para determinar la composición de más de una sustancia en el cromatograma, para lo cual será necesario preparar una gráfica por cada sustancia a analizar.

ANALISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO

RESUMEN

ANALISIS CUALITATIVO METODO DIRECTO Agregar a la muestra compuestos puros cuya presencia se sospeche. Efectuar a distintas condiciones de temperatura y columna.

METODO GRAFICO Usar gráficas en las cuales se tiene datos de retención en función de propiedades físicas o químicas de series homólogas.

INDICES Usar retenciones relativas a sustancias patrones o el método de Kovats.

ANALISIS CUANTITATIVO AREA. Usar integradores mecánicos, electromecánicos o electrónico. Triangulación para picos simétricos. También recortando y pesando picos.

FACTORES DE PROPORCIONALIDAD. No son necesarios para sustancias semejantes con poca diferencia de pesos moleculares y peso molécula elevado.

Respuesta relativa molar relaciona las áreas para 1 mol de cada componente. Determina % molar.

Respuesta para pesos iguales relaciona áreas para pesos iguales. Da % en peso. Patrón interno se debe usar cuando hay diferencias muy grandes en concentración de los componente o interferencias de fondo (agua en detectores de ionización por llama).

PROGRAMACION DE TEMPERATURA.

Para efectuar un cromatograma de una muestra con sustancias con puntos de ebullición o pesos moleculares muy diferentes se tendrá dificultades al operar la columna isotérmicamente; por una parte si la columna está a una temperatura suficientemente baja como para separar los primeros componente, la aparición de los últimos componentes corresponderá a un tiempo de retención muy grande. Por otra parte, si se eleva la temperatura para obtener los últimos componentes en un tiempo razonable no se obtendrá separación para los primeros componentes. La solución está en una la temperatura baja para separar los componente iniciales y luego aumentar la temperatura para permitir la aparición de los últimos componentes en un tiempo corto.

Se conoce como **Temperatura Inicial** la temperatura inferior o de partida. **Tiempo Inicial** el tiempo durante el cual la temperatura inicial permanecerá fija. **Velocidad de Programación** o más propiamente el cambio de temperatura por unidad de tiempo será la pendiente temperatura/tiempo, generalmente dada en °C/minuto. **Temperatura Final** será la temperatura superior hasta la cual llegue el programa; en algunos cromatógrafos se tiene también el **Tiempo Final** que representa el tiempo durante el cual la temperatura final permanece estable.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- J. M. Storch de Gracia, FUNDAMENTOS DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES, Primera Edición, Editorial Alhambra, S. A., Madrid, España, 1968.
- 2.- Fecsok, Shields, Cairns, McWilliam, MODERN METHODS OF CHEMICAL ANALYSIS, Segunda Edición, Editorial John Wiley & Sons, New York, 1968.
- 3.- Hobart H. Eillard, Lynne L. Merritt, Jr., John A. Dean, Frank A. Settle, Jr., INSTRUMENTAL METHODS OF ANALYSIS, Séptima Edición, Editorial, Belmont, California, 1988.
- 4.- Henry H. Bauer, Gary D. Christian, James E. O'Reilly, INSTRUMENTAL ANALYSIS, Primera Edición, Allyn and Bacon, Inc., Toronto, 1978.
- 5.- Gary C. Christian, QUIMICA ANALÍTICA, Segunda Edición, Editorial Limusa, México, 1981.
- 6.- Dennis G. Peters, John M. Hayes, and Gary M. Hieftje, CHEMICAL SEPARATIONS AND MEASUREMENTS, Theory and Practice of Analytical Chemistri., Ed. Saunder Golden Series, Toronto, 1974.