

## **TEMA 3. CROMATOGRAFÍA DE GASES**

### **3.0. CARACTERÍSTICAS Y EQUIPOS DISPONIBLES**

**3.0.1. Características más importantes**

**3.0.2. Equipos disponibles en el departamento de Ingeniería Química y en los Servicios Técnicos de investigación de la Universidad de Alicante**

### **3.1. DESCRIPCIÓN DEL CROMATÓGRAFO DE GASES**

**3.1.1. Sistemas de inyección de muestra**

**3.1.2. Configuraciones de columna y hornos**

*3.1.2.1. Columnas*

*3.1.2.2. Hornos (o estufas)*

**3.1.3. Detectores**

*3.1.3.1. Detector de ionización de llama (FID)*

*3.1.3.2. Detector de conductividad térmica (TCD)*

*3.1.3.3. Detector termoiónico de llama (FTD)*

*3.1.3.4. Detector de captura de electrones (ECD)*

*3.1.3.5. Detector de emisión atómica (AED)*

*3.1.3.6. Otros tipos de detectores*

### **3.2. COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS PARA GLC**

**3.2.1. Tipos de columnas**

*3.2.1.1. Columnas de relleno*

*3.2.1.2. Columnas capilares*

**3.2.2. La fase estacionaria**

### **3.3. APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO**

**3.3.1. Análisis cualitativo**

*3.3.1.1. Factores de selectividad*

*3.3.1.2. Índice de retención*

**3.3.2. Análisis cuantitativo**

### **3.4. CROMATOGRAFÍA GAS-SÓLIDO**

### 3.0. CARACTERISTICAS Y EQUIPOS DISPONIBLES

#### 3.0.1. Características más importantes

**Aplicaciones principales:** Análisis cuantitativo general de mezclas multicomponentes de orgánicos volátiles. Técnica de separación muy eficiente.

**Fenómeno molecular:** Reparto entre una fase de vapor y el sustrato

**Ventajas en el análisis cualitativo:** Separa materiales para su examen por medio de otras técnicas.

**Ventajas en el análisis cuantitativo:** Aplicación amplia a los materiales volátiles, análisis de multicomponentes, alta sensibilidad en casos especiales.

**Muestra promedio deseable:** 1 mg

**Limitaciones del método:** Identifica los materiales solo en casos especiales

**Limitaciones para la muestra:** Presión de vapor mayor de 1 torr. a la temperatura de entrada de la muestra

#### 3.0.2. Equipos disponibles en el departamento de Ingeniería Química y en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante

Dpto de Ingeniería Química

Cinco cromatógrafos Shimadzu.

Detectores de conductividad térmica, ionización de llama y captura electrónica.

Sistemas de inyección para columnas empaquetadas convencionales y capilares en split y splitless. Un pirolizador Pyroprobe 1000. Válvula de seis vías controlada automáticamente para inyección de gases.

Servicios Técnicos de Investigación

Tres cromatógrafos de gases Hewlett-Packard y uno Fisons unidos a espectrómetros de masas.

Detector de ionización de llama, detector de captura electrónica.

Inyector capilar en split y en splitless. Sistema Purga – trampa de O I Analytical. Sistema de inyección por desorción térmica de Gerstel

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la *cromatografía gas - sólido* (GSC) y la *cromatografía gas-líquido* (GLC). La cromatografía gas - líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como *cromatografía de gases* (GC).

La *cromatografía gas - sólido* se basa en una fase estacionaria sólida en la cual se produce la retención de los analitos como consecuencia de la adsorción física. La cromatografía gas - sólido ha tenido una aplicación limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas (una consecuencia del carácter no lineal del proceso de adsorción), de modo que esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular. Es por ello que se trata sólo brevemente en la final de este tema.

La *cromatografía gas - líquido* se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. El concepto de *cromatografía gas - líquido* fue enunciado por primera vez, en 1941, por Martin y Synge, quienes fueron también los responsables del desarrollo de la cromatografía de distribución líquido - líquido. Más de una década tuvo que pasar, sin embargo, antes de que la importancia de la cromatografía gas - líquido se demostrara experimentalmente. Tres años más tarde, en 1955, apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas - líquido. Desde entonces, las aplicaciones de esta técnica han crecido de una forma espectacular. Se ha estimado que unos 200 000 cromatógrafos de gases están actualmente en uso por todo el mundo

### 3.1. DESCRIPCION DEL CROMATOGRAFO DE GASES

Un cromatógrafo de gases consiste en varios módulos básicos ensamblados para: 1) proporcionar un gasto o flujo constante del gas transportador (fase móvil), 2) permitir la introducción de vapores de la muestra en la corriente de gas que fluye, 3) contener la longitud apropiada de fase estacionaria, 4) mantener la columna a la temperatura apropiada (o la secuencia del programa de temperatura), 5) detectar los componentes de la muestra conforme eluyen de la columna, y 6) proveer una señal legible proporcional en magnitud a la cantidad de cada componente. Los módulos del instrumento se muestran esquemáticamente en la Fig. 3.1

#### 3.1.1. Sistemas de inyección de muestra

El modo estándar, adecuado para aproximadamente 95% de las aplicaciones de las columnas empacadas (o empaquetadas), es la inyección directa. La muestra es inyectada con una jeringa hipodérmica a través de un séptum de goma (o hule) de silicona autosellante, a un alineador de vidrio (*glass insert*) contenido en un bloque metálico, donde es vaporizada y barrida hacia la columna (Fig. 3.2). El bloque se calienta a una temperatura que se fija en un valor suficientemente alto para convertir prácticamente en forma instantánea la muestra líquida en vapor. La cantidad de muestra inyectada es del orden de  $\mu\text{L}$  para líquidos y algo superior para gases.

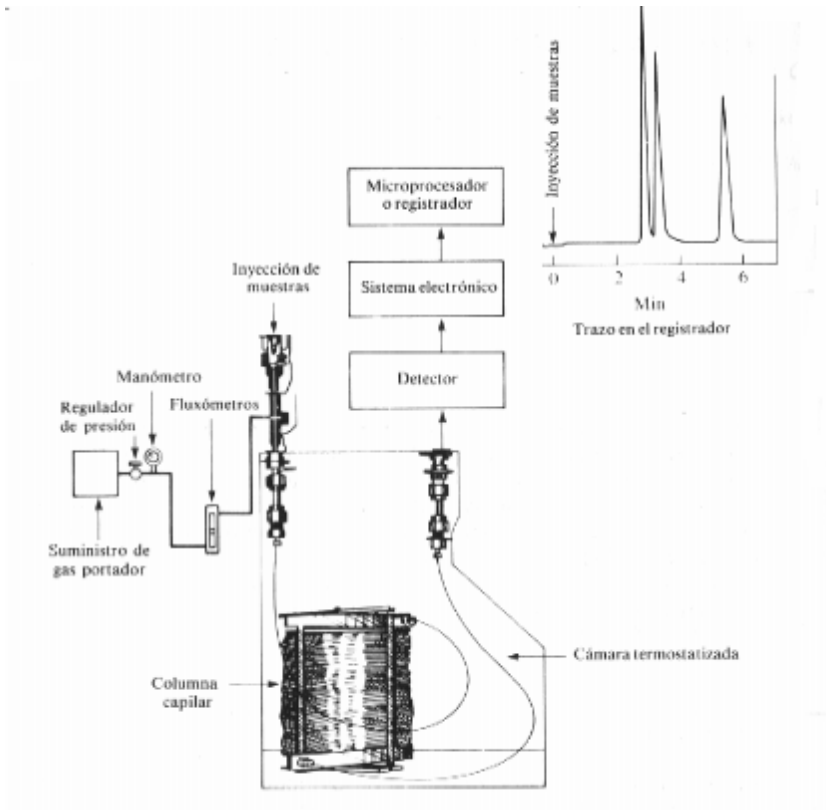


Figura 3.1. Esquema de un cromatógrafo de gases

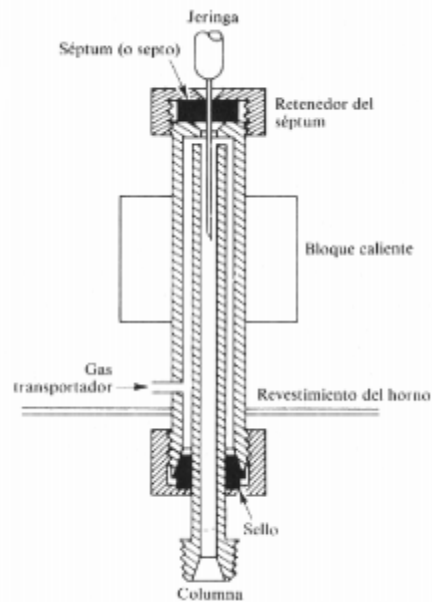


Figura 3.2. Esquema de un puerto de inyección por vaporización instantánea típico

Las muestras, líquidas y gaseosas, también pueden introducirse con un lazo (o bucle) calibrado, introduciéndolas después a la corriente del gas que fluye por medio de una válvula (Fig. 3.3).

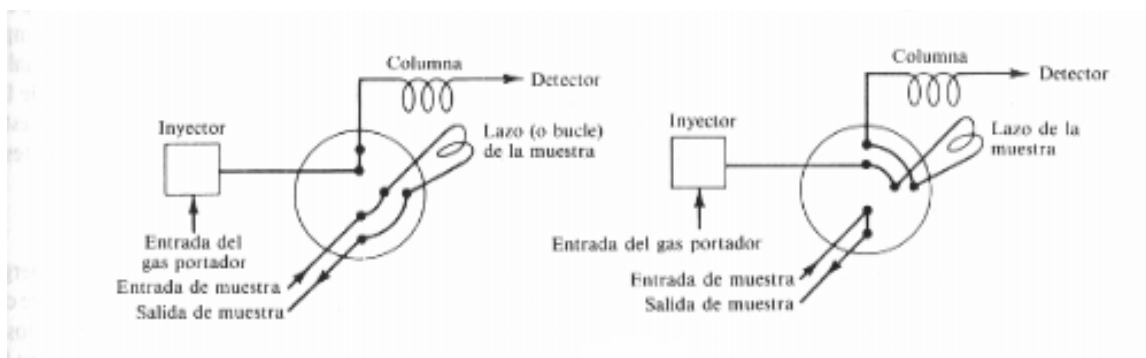


Figura 3.3. Válvula rotatoria de seis vías

**Inyección en columnas capilares.** Es necesaria una reducción del volumen de la muestra cuando se trabaja con columnas capilares. Esto se logra mediante un inyector – divisor (inyección en *split*), donde generalmente se inyecta una muestra de 1  $\mu\text{L}$  pero sólo entra al capilar 0.01  $\mu\text{L}$ ; el resto es desechado. Esta técnica impide la sobrecarga de la columna, pero desperdicia una porción significativa de la muestra,

Cuando se realizan análisis en cantidades pequeñas de muestra con algunos componentes en concentraciones del orden de milésimos de parte por millón, se introduciría muy poco material en la columna si para estas muestras se utiliza el divisor. Para ellas se requiere de solvente o inyección sin división (inyector en *splitless*). La muestra completa, incluyendo el disolvente, se inyecta en la columna tubular abierta, a través de un vaporizador instantáneo caliente. Se evita un coleo pronunciado del disolvente abriendo hacia la atmósfera el puerto de inyección después de algún tiempo (quizá unos 30s), cuando la mayor parte del disolvente, y esencialmente toda la muestra, entraron en la columna. El tiempo apropiado antes de esa descarga es crítico; si es demasiado corto se produce la pérdida de los componentes de la muestra, mientras que si es demasiado largo se produce un pico del disolvente más grande del necesario, que puede sepultar algunos de los picos de interés.

**Muestreador automático.** Un muestreador automático reproduce las inyecciones y medidas manuales. Los frascos para las muestras son de vidrio, desechables, con tapones de séptum con sellado para vapores. El muestreador enjuaga la jeringa con una muestra nueva para lavar las trazas de la muestra anterior, bombea la muestra nueva para humedecer la jeringa y eliminar por completo cualquier burbuja, toma una cantidad de muestra medida con precisión, la inyecta al cromatógrafo de gases. Los muestreadores automáticos tienen reproducibilidad mecánica y son consistentemente más precisos que un cromatografista experimentado. También, la operación que no requiere atención personal libera al operador para otras actividades,

**Muestreo de la cabeza gaseosa.** Más allá del análisis convencional de gases y líquidos de baja viscosidad por CG (cromatografía de gases), algunos casos se manejan más eficazmente con muestreo de la cabeza gaseosa (vapor sobrenadante, o *headspace*). Esto es válido cuando sólo interesa el vapor sobre la muestra, como en el caso de los

perfumes o los productos alimenticios; con los constituyentes orgánicos volátiles de muestras, como la orina, la respiración del hombre y muestras ambientales; cuando la muestra es un líquido que normalmente requeriría de algún tratamiento antes de la inyección, como la sangre, aguas residuales o agua potable, Los picos de los disolventes son mucho más pequeños de lo que serían al inyectar la muestra líquida tal cual. El muestreo de la cabeza gaseosa puede efectuarse sobre muestras con cualquier matriz, siempre y cuando el coeficiente de reparto permita que exista una cantidad suficiente del analito en la fase gaseosa.

**Desorción térmica y purga y trampa.** Los constituyentes orgánicos volátiles de una muestra (sólida o líquida) se pueden purgar o extraer de ella haciendo pasar a través de la misma una corriente de He y atraparlos en una trampa adsorbente que forma parte del sistema de inyección del cromatógrafo y que puede ser de Tenax, carbón activo u otro adsorbente a la temperatura ambiente. En el caso de muestras gaseosas estos compuestos pueden ser atrapados en un tubo de vidrio externo al cromatógrafo, relleno de adsorbente por el que se hace circular mediante bombeo el gas a analizar y que después son colocados en el sistema de inyección del cromatógrafo.

En el primero de los casos se trata de sistemas de purga-trampa y en el segundo de desorción térmica. Calentando esta trampa se desorben los volátiles hasta una precolumna enfriada con nitrógeno líquido. Una vez se ha producido toda la desorción – adsorción, se calienta en pocos segundos esta precolumna que está unida a la columna cromatográfica de CG y se inicia el análisis. Algunos ejemplos de compuestos analizados por purga y trampa son los de los constituyentes orgánicos de la orina, fruta, quesos. Ejemplos de desorción térmica son los análisis de la respiración humana y del aire ambiental.

**Pirólisis.** La cromatografía gas - líquido alcanza su límite práctico cuando la cantidad de energía necesaria para vaporizar la muestra es igual a la que se requiere para romper un enlace carbono-carbono. La técnica de pirólisis (o fragmentación térmica controlada) extiende los análisis por cromatografía de gases a compuestos de tan baja volatilidad como el caucho (o hule), polímeros, películas de pintura, resinas, microorganismos, suelos, carbones, textiles y organometálicos. La muestra se introduce en un pirolizador que la calienta a temperatura muy elevada y suficiente para llevar a cabo la descomposición. Se forman fragmentos volátiles y se introducen automáticamente en el cromatógrafo para el análisis.

### 3.1.2. Configuraciones de columna y hornos

#### 3.1.2.1. Columnas

En cromatografía de gases se usan dos tipos generales de columnas, las *empaquetadas, o de relleno y las tubulares abiertas, o capilares*. Hasta la fecha, la mayor parte de la cromatografía de gases se ha realizado con columnas de relleno. Sin embargo, en la actualidad esta situación está cambiando rápidamente, y parece probable que en un futuro próximo, excepto para ciertas aplicaciones especiales, las columnas de relleno serán sustituidas por las más eficaces y rápidas columnas capilares.

Las columnas cromatográficas varían en longitud desde menos de 2 hasta 50 m, o más. Se construyen de acero inoxidable, vidrio, sílice fundida, o Teflón. A fin de poder colocarse en el interior de un termostato, normalmente se configuran como

helicoides con diámetros de 10 a 30 cm. En una sección posterior se encuentra una discusión detallada acerca de las columnas, rellenos de columna y fases estacionarias.

### 3.1.2.2. Hornos (o estufas)

La temperatura de la columna es una variable importante que para un trabajo preciso ha de regularse a las décimas de grado, por ello la columna normalmente se introduce dentro de un horno termostatzado. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido. En la práctica, con una temperatura igual o ligeramente superior al punto de ebullición promedio de la muestra, se obtienen tiempos de elución razonables (2 a 30 min). Para muestras con un amplio intervalo de ebullición, a menudo es conveniente emplear una programación de temperatura, con lo que se aumenta la temperatura de la columna bien de forma continua bien por etapas, al mismo tiempo que tiene lugar la separación. En la Figura 3.4 se muestra la mejora de un cromatograma ocasionada por la programación de temperatura.

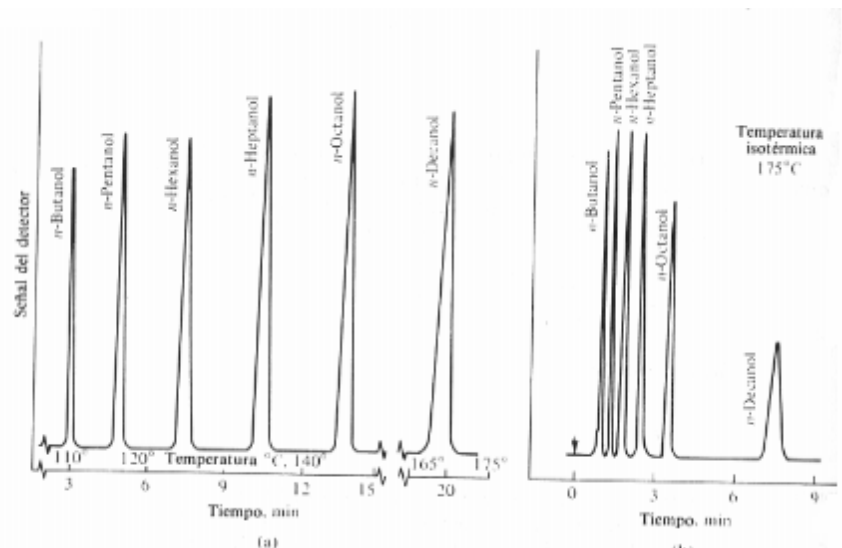


Figura 3.4. Efecto de la temperatura sobre los cromatogramas. a) Temperatura programada. b) Isotermo

Las columnas cromatográficas se enrollan y sujetan en una canasta que se monta en el interior de un horno. El horno de la columna debe poder ser calentado y enfriado rápidamente. Esto requiere de un sistema de flujo de aire adecuado y bien diseñado. En la mayoría de los diseños el chorro de aire pasa a través de las resistencias de calentamiento, después por medio de deflectores que conforman la pared interior del horno, pasan por la columna y de vuelta al ventilador para recalentarse y recircular. Los hornos se construyen usualmente con acero inoxidable delgado. Para la programación de temperatura es deseable disponer de un intervalo de velocidades de programación desde 0.1 hasta 50°C/min. Debe ser posible sostener la temperatura en cualquier momento dentro del programa durante un tiempo.

En general, la resolución óptima se asocia con una menor temperatura; sin embargo, la consecuencia de una reducción de temperatura es un aumento en el tiempo de elución, y por tanto del tiempo que se necesita para completar un análisis.

Las temperaturas iniciales subambientales son útiles cuando se trabaja con columnas capilares. Las temperaturas se deben mantener alrededor de la temperatura

deseada con precisión de  $\pm 1^\circ\text{C}$  en el caso de trabajo isotérmico y de  $\pm 2^\circ\text{C}$ . durante la programación de temperatura.

### 3.1.3. Detectores

Durante el desarrollo de la cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores. En las secciones que siguen a continuación, se describen los utilizados más frecuentemente.

En cromatografía de gases, un detector ideal tiene las siguientes características:

1. Adecuada sensibilidad. Lo que constituye una adecuada sensibilidad no se puede evaluar de forma cuantitativa. Por ejemplo, las sensibilidades de los detectores que se van a describir difieren por un factor de  $10^7$ . Aunque todos se utilizan extensamente y son adecuados en ciertos casos; sin embargo, en algunas aplicaciones los menos sensibles no resultan convenientes. En general, las sensibilidades de los detectores actuales se encuentran en el intervalo de  $10^{-8}$  a  $10^{-15}$  g de analito/s.
2. Buena estabilidad y reproducibilidad.
3. Una respuesta lineal para los analitos que se extienda a varios órdenes de magnitud.
4. Un intervalo de temperaturas de trabajo comprendido desde la temperatura ambiente hasta al menos  $400^\circ\text{C}$ .
5. Un tiempo de respuesta corto que lo haga independiente del caudal.
6. Alta fiabilidad y manejo sencillo. Hasta el punto de estar a prueba de la impericia de operadores inexpertos.
7. Respuesta semejante para todos los analitos, o por el contrario, una respuesta selectiva y altamente predecible para una o más clases de analitos.
8. No destructivo de la muestra.

De hecho, no hay detector que reúna todas esas características, y tampoco parece probable que pueda llegar a diseñarse nunca.

#### 3.1.3.1. Detector de ionización de llama (FID)

En cromatografía de gases, el detector de ionización de llama (FID) es uno de los detectores más extensamente utilizado y, por lo general, uno de los más aplicables. En un quemador, el efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y con aire para luego encenderse eléctricamente.

La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrógeno/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. Entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, se aplica una diferencia de potencial de unos pocos cientos de voltios, y para la medición de la corriente que resulta (de unos  $10^{-12}\text{A}$ ) se utiliza un amplificador operacional de alta impedancia.

La ionización en la llama de los compuestos que contienen carbono no es un proceso bien establecido, aunque se observa que el número de iones que se produce es aproximadamente igual al de átomos de carbono transformados en la llama. El detector de ionización de llama debido a que es un detector que responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, es un detector *sensible* a la masa, más que un sistema sensible a la concentración. En consecuencia, este detector



tiene la ventaja de que los cambios en el caudal de la fase móvil tienen poco efecto sobre la respuesta del detector.

Grupos funcionales, tales como carbonilo, alcohol, halógeno y amina, originan en la llama pocos iones o prácticamente ninguno. Además, el detector es insensible a los gases no combustibles como H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, y NO<sub>x</sub>. Esas propiedades hacen del detector de ionización de llama uno de los detectores generales más utilizado para el análisis de la mayoría de compuestos orgánicos, incluyendo aquellos que están contaminados con agua y con óxidos de nitrógeno y de azufre.

El detector de ionización de llama posee una elevada sensibilidad (del orden de 10<sup>-13</sup> g/s), un gran intervalo lineal de respuesta (de 10<sup>7</sup>), y un bajo ruido. Por lo general, es resistente y fácil de utilizar. Una desventaja del detector de ionización de llama es que se trata de un detector destructivo de la muestra.

### 3.1.3.2. Detector de conductividad térmica (TCD)

Uno de los primeros detectores que se utilizaron en cromatografía de gases, y uno de los que todavía tiene una gran aplicación, se basa en los cambios en la conductividad térmica de la corriente de gas ocasionados por la presencia de las moléculas de analito. Este dispositivo se denomina a veces un catarómetro. El sensor de un catarómetro consiste en un elemento calentado eléctricamente cuya temperatura, a una potencia eléctrica constante, depende de la conductividad térmica del gas circundante. El elemento calentado puede ser un hilo fino de platino, oro o tungsteno, o también, un termistor semiconductor. La resistencia del hilo o del termistor da una medida de la conductividad térmica del gas.

Para la configuración de los componentes del detector se emplean dos pares de elementos, uno de los pares se coloca en el flujo del efluente de la columna, y el otro en la corriente de gas previo a la cámara de inyección de la muestra. Alternativamente, la corriente de gas se puede dividir en dos corrientes una de las cuales atraviesa el inyector y la otra no. En cualquier caso, el efecto de la conductividad térmica del gas portador se compensa, y se minimizan los efectos de la variación de caudal, presión y potencia eléctrica. Las resistencias de los pares de detectores gemelos se comparan entre sí, incorporándolos en un circuito sencillo de puente de Wheatstone.

Las conductividades térmicas del helio y del hidrógeno son aproximadamente de seis a diez veces mayores que las de la mayoría de los compuestos orgánicos, de modo que, incluso en presencia de pequeñas cantidades de materia orgánica, tiene lugar una disminución relativamente grande de la conductividad térmica del efluente de la columna y, en consecuencia, el detector experimenta un marcado aumento en la temperatura. Las conductividades de los otros gases portadores son más parecidas a las de los constituyentes orgánicos y por esta razón con un detector de conductividad térmica debe usarse hidrógeno o helio como gas portador.

Las ventajas del detector de conductividad térmica son su simplicidad, su amplio rango dinámico lineal (aproximadamente 10<sup>5</sup>), su respuesta universal tanto a especies orgánicas como a inorgánicas, y su carácter no destructivo, lo que permite recoger los solutos tras la detección. Una limitación del catarómetro es su sensibilidad relativamente baja (aproximadamente 10<sup>-8</sup> g de soluto/mL de gas portador). Otros detectores son de 10<sup>4</sup> a 10<sup>7</sup> veces más sensibles. Debería subrayarse que la baja sensibilidad de los detectores de conductividad térmica, hace imposible con frecuencia su utilización con columnas capilares, debido al pequeño tamaño de muestra con el que estas columnas operan.

#### **3.1.3.4. Detector termoiónico de llama (FTD)**

El detector termoiónico (FTD) es un detector selectivo de los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno. Su respuesta a un átomo de fósforo es aproximadamente 10 veces mayor que a un átomo de nitrógeno, y de  $10^4$  a  $10^6$  veces superior que a un átomo de carbono. En comparación con el detector de ionización de llama, el detector termoiónico es unas 500 veces más sensible para los compuestos que contienen fósforo y unas 50 veces más sensible a las especies nitrogenadas. Estas propiedades hacen de la detección termoiónica un sistema particularmente útil para la detección y determinación de muchos pesticidas que contienen fósforo.

Un detector termoiónico tiene una configuración similar al detector de llama. El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno, pasa a través de la llama, y se quema. El gas caliente fluye alrededor de una bola de sílicato de rubidio calentada eléctricamente, la cual se mantiene a unos 180 V con respecto al colector. La bola caliente forma un plasma que alcanza una temperatura de 600 a 800°C. Lo que ocurre exactamente en el plasma, que hace que se produzcan insólitamente una gran cantidad de iones a partir de las moléculas que contienen fósforo o nitrógeno, realmente no está bien establecido, pero el resultado es una gran corriente de iones, la cual se utiliza para la determinación de compuestos que contienen esos dos elementos.

#### **3.1.3.4. Detector de captura de electrones (ECD)**

El detector de captura de electrones (ECD) opera casi de la misma forma que un contador proporcional para la medida de radiación X. En este caso el efluente de la columna pasa sobre un emisor  $\beta$ , como níquel-63 o tritio (adsorbido sobre una lámina de platino o de titanio). Un electrón del emisor provoca la ionización del gas portador (con frecuencia se trata de nitrógeno) y la producción de una ráfaga de electrones. De este proceso de ionización, en ausencia de especies orgánicas, resulta una corriente constante entre un par de electrodos. Sin embargo, la corriente disminuye en presencia de moléculas orgánicas que tiendan a capturar los electrones. La respuesta es poco lineal, a no ser que el potencial a través del detector se aplique en forma de impulsos.

El detector de captura de electrones es de respuesta selectiva, siendo muy sensible a las moléculas que contienen grupos funcionales electronegativos tales como halógenos, peróxidos, quinonas, y grupos nitro; en cambio, no es sensible a grupos funcionales como aminas, alcoholes e hidrocarburos. Una aplicación importante del detector de captura de electrones es la detección y determinación de insecticidas clorados.

Los detectores de captura de electrones son altamente sensibles y tienen la ventaja de no alterar la muestra de manera significativa (a diferencia del detector de llama). Por otra parte, su intervalo lineal de respuesta normalmente se limita a unos dos órdenes de magnitud.

#### **3.1.3.5. Detector de emisión atómica (AED)**

El detector más reciente, y ya disponible en el comercio, para cromatografía de gases, se basa en la emisión atómica. En este dispositivo, el eluyente se introduce en un plasma de helio obtenido con microondas, que se acopla a un espectrómetro de emisión con series de diodos. El plasma es suficientemente energético como para atomizar todos los elementos de una muestra, excitarlos, y así obtener sus espectros de emisión característicos. Esos espectros son recogidos en un espectrómetro que utiliza una serie de diodos configurados en un plano móvil, que es capaz de detectar la radiación emitida desde 170 a 780 nm. La serie de diodos movable es capaz de controlar simultáneamente de dos a cuatro elementos en cada posición. Hasta el momento, el programa de

tratamiento de datos suministrado con el detector permite medir la concentración de 15 elementos. Presumiblemente, un futuro software permitirá también la detección de otros elementos.

La Figura 3.5 ilustra las posibilidades de este tipo de detector. En este caso la muestra es una gasolina que contiene una pequeña concentración de metil-terc-butiléter (MTBE), un agente antidetonante, además de varios alcoholes alifáticos a bajas concentraciones. El espectro superior, se obtuvo controlando la línea de emisión del carbono a 198 nm, y está constituido por una miríada de picos que sería imposible resolver e identificar. Por el contrario, cuando se utilizó la línea del oxígeno a 777 nm para obtener el cromatograma (Figura 3.5b), los picos de varios alcoholes y del MTBE se evidenciaron claramente y se identificaron con facilidad.

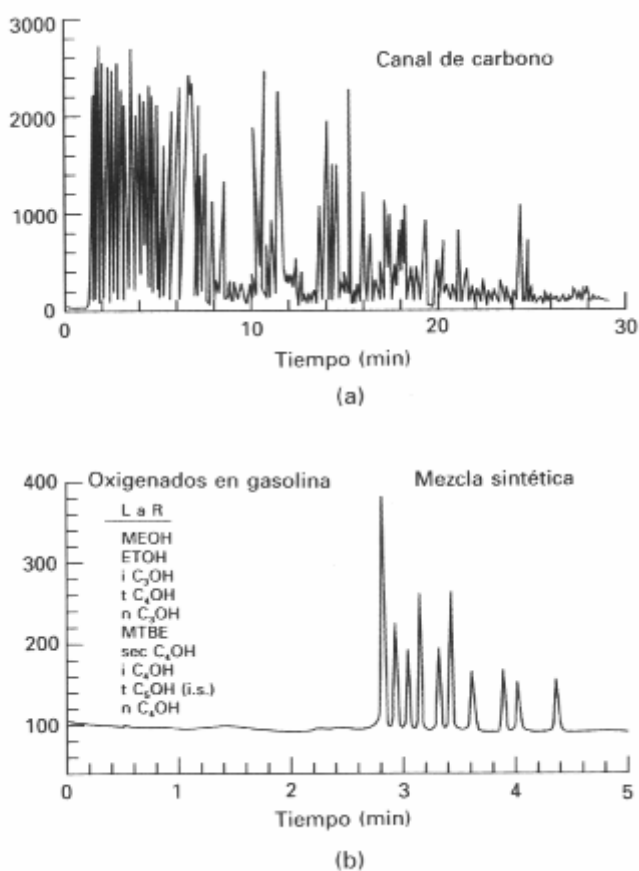


Figura 3.5. Ejemplo de un cromatograma para una gasolina que contiene una pequeña cantidad de MTBE y varios alcoholes alifáticos. a) Monitorización de la línea para el carbono; b) monitorización de la línea para el oxígeno

### 3.1.3.6. Otros tipos de detectores

Un *espectrómetro de masas* unido directamente al cromatógrafo es otro medio de llevar a cabo la detección de los compuestos separados cromatográficamente. A esta forma de detección se le dedicará un tema posteriormente.

El *detector fotométrico de llama* se ha utilizado extensamente para el análisis de contaminantes del aire y del agua como los pesticidas y los hidrocarburos. Se trata de un detector selectivo que sobre todo es sensible a los compuestos que contienen azufre y fósforo. En este detector, el eluyente se hace pasar a través de una llama hidrógeno/aire a baja temperatura, la cual convierte parte del fósforo a una especie HPO que emite bandas de radiación centradas alrededor de 510 y 526 nm. El azufre de la muestra se convierte simultáneamente en S<sub>2</sub>, el cual emite una banda centrada en 394 nm. Para aislar esas bandas se emplean los filtros adecuados, y sus intensidades se registran fotométricamente. Con la fotometría de llama se han detectado otros elementos entre los que se incluyen los halógenos, nitrógeno y diversos metales, como el estaño, cromo, selenio y germanio.

En el *detector de fotoionización*, el eluyente de la columna se irradia con un haz intenso de radiación ultravioleta de energía variable desde 8.3 a 11.7 eV ( $\lambda = 149$  a 106 nm), la cual provoca la ionización de las moléculas. Al aplicar un potencial a través de una celda que contiene los iones producidos, se origina una corriente de iones, la cual es amplificada y registrada.

## 3.2. COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS PARA GLC

### 3.2.1. Tipos de columnas

Históricamente, los primeros estudios en cromatografía gas-líquido a principio de los años cincuenta se llevaron a cabo en *columnas de relleno*, en las cuales la fase estacionaria era una película delgada de líquido colocada en la superficie de un soporte sólido inerte y finamente dividido. Sin embargo, de los estudios teóricos realizados en este período inicial, se puso de manifiesto que las columnas no empaquetadas con diámetros interiores de unas pocas décimas de milímetro deberían proporcionar separaciones mucho mejores que las columnas de relleno, tanto en rapidez como en eficacia de columna. En estas *columnas capilares*, la fase estacionaria era una película uniforme de líquido con unas pocas décimas de micrómetro de grosor que recubría uniformemente el interior del tubo capilar. Este tipo de *columnas abiertas* se construyeron a finales de los años cincuenta, y las características de funcionamiento predichas se confirmaron experimentalmente en distintos laboratorios, describiéndose la utilización de columnas abiertas con 300000 platos o más.

En 1987, Chrompack International Corporation de Holanda, estableció un récord del mundo en longitud y número de platos teóricos de una columna capilar, que se inscribió en el *Libro Guinness de los Récords*. La columna era de sílice fundida fabricada en una sola pieza y con un diámetro interno de 0.32 mm y una longitud de 2100 m. La columna se recubrió con una película de 0.1  $\mu\text{m}$  de polidimetilsiloxano. Una sección de 1300 m de esta columna contenía sobre los dos millones de platos.

A pesar de las características de funcionamiento tan espectaculares, no se generalizó el uso de las columnas capilares hasta más de dos décadas después de su aparición. Las razones de esta demora fueron diversas, entre ellas su capacidad, limitada a muestras pequeñas, la fragilidad de las columnas, algunos problemas mecánicos re-

lacionados con la introducción de muestra y la conexión de la columna al detector, dificultades en la reproducibilidad del recubrimiento de la columna, columnas mal preparadas y de corta duración, tendencia de las columnas a obturarse, y las patentes, que limitaron el desarrollo comercial a un único fabricante (la patente original expiró en 1977). A finales de los años setenta esos problemas en parte habían dejado de serlo, y varias compañías suministradoras de instrumentación comenzaron a ofrecer columnas capilares a un precio razonable. Como consecuencia de ello, en los últimos años ha tenido lugar un considerable aumento de las aplicaciones de estas columnas. Actualmente, la mayoría de los análisis por cromatografía de gases/espectrometría de masas se realizan con columnas capilares.

### 3.2.1.1. Columnas de relleno

Las actuales columnas de relleno se fabrican con tubo de vidrio, metal (acero inoxidable, cobre, aluminio), o de Teflón, con una longitud característica de 1 a 3 m y un diámetro interno de 2 a 4 mm. Estos tubos se empaquetan densamente con un material de relleno sólido, finamente dividido y homogéneo, que se recubre con una delgada capa (0,05 a 1  $\mu\text{m}$ ) de la fase estacionaria líquida. Con objeto de poder introducirlos en un horno termostatzado, los tubos se configuran en forma helicoidal con un diámetro aproximado de unos 15 cm.

**Materiales de soporte sólidos.** El soporte sólido en una columna de relleno sirve para retener y ubicar la fase estacionaria, de tal forma que haya la mayor superficie de contacto posible con la fase móvil. El soporte ideal consiste en partículas esféricas, pequeñas, y uniformes con una buena resistencia mecánica y una superficie específica de al menos 1  $\text{m}^2/\text{g}$ . Además, el material debería ser inerte a elevadas temperaturas, y poder humectarse homogéneamente con la fase líquida. Todavía no se dispone de ninguna sustancia que reúna perfectamente todas esas características.

En la actualidad, el material de soporte utilizado con más frecuencia se prepara a partir de tierras de diatomeas de procedencia natural, que están constituidas por esqueletos de miles de especies de plantas unicelulares que habitaban antiguos mares y lagos. Estas plantas tomaban sus nutrientes y eliminaban sus residuos por difusión molecular a través de sus poros. Como consecuencia, sus restos resultan muy adecuados como materiales de soporte, debido a que la cromatografía de gases se basa también en este tipo de difusión molecular.

**Tamaño de partícula de los soportes.** La eficacia de la columna en cromatografía de gases, aumenta rápidamente cuando disminuye el diámetro de partícula del relleno. Sin embargo, la diferencia de presión que se requiere para mantener un determinado caudal de gas portador, varía inversamente con el cuadrado del diámetro de la partícula; esto último ha condicionado el límite inferior del tamaño de las partículas que se utilizan en cromatografía de gases, dado que no es conveniente trabajar con diferencias de presión superiores a los 4 bares. Como resultado, las partículas del soporte son, por lo general, de 60 a 80 mesh (250 a 170  $\mu\text{m}$ ) o de 80 a 100 mesh (170 a 149  $\mu\text{m}$ ).

### 3.2.1.2. Columnas capilares

Las columnas capilares, o capilares abiertas, son de dos tipos básicos, denominados capilares de pared recubierta (WCOT) y capilares con soporte recubierto (SCOT). Las columnas de pared recubierta son simplemente tubos capilares con la pared interna recubierta de una fina capa de fase estacionaria. En las columnas abiertas con soporte recubierto, la superficie interna del capilar está revestida de una fina capa (de unos 30  $\mu\text{m}$ ) de un material soporte, tal como tierra de diátomeas. Este tipo de columnas contiene varias veces la fase estacionaria de una columna capilar de pared recubierta y, por tanto, tienen una mayor capacidad de carga. Generalmente, la eficacia de una columna SCOT es menor que la de una columna WCOT, pero es sensiblemente mayor que la de una columna de relleno.

Al principio, las columnas WCOT se construían de acero inoxidable, aluminio, cobre o plástico, posteriormente se utilizó el vidrio. Con frecuencia las columnas de vidrio se trataban químicamente para transformarlas en una superficie rugosa, donde la fase estacionaria se unía más fuertemente. Las nuevas columnas WCOT, que se introdujeron en 1979, son *columnas tubulares abiertas de sílice fundida* (columnas FSOT). Los capilares de sílice fundida se fabrican a partir de sílice especialmente purificada con un contenido mínimo de óxidos metálicos. Estos capilares tienen las paredes mucho más delgadas que sus equivalentes de vidrio. La resistencia de los tubos se refuerza con un recubrimiento externo protector de poliimida, el cual se aplica en el momento de la obtención del tubo capilar. Las columnas que resultan son flexibles y pueden doblarse en forma helicoidal con un diámetro de varios centímetros. Las columnas capilares de sílice están disponibles en el comercio, y ofrecen importantes ventajas tales como resistencia física, una reactividad mucho menor frente a los componentes de la muestra y flexibilidad. En la mayoría de las aplicaciones, han sustituido a las antiguas columnas de vidrio WCOT.

Las columnas capilares de sílice más frecuentemente utilizadas tienen diámetros internos de 320 y 250  $\mu\text{m}$ . También se venden columnas de alta resolución, con diámetros de 200 y 150  $\mu\text{m}$ . La utilización de estas columnas es más problemática y son más exigentes con respecto a los sistemas de detección y de inyección. Por ejemplo, se ha de utilizar un divisor de muestra para reducir el tamaño de la muestra inyectada en la columna, y se requiere un sistema de detección más sensible con un tiempo de respuesta rápido.

En la Tabla 3.1 se comparan las características de funcionamiento de las columnas capilares de sílice fundida con las de otros tipos de columnas como las de pared recubierta, y también las de soporte recubierto y las de relleno.

**Adsorción sobre los rellenos de la columna o las paredes de capilar.** Uno de los problemas que siempre ha afectado a la cromatografía de gases, ha sido la adsorción física de los analitos polares o polarizables sobre las superficies de silicato de los soportes de las columnas o de las paredes del capilar. La adsorción da como resultado picos distorsionados, los cuales se ensanchan y a menudo presentan cola. Se ha demostrado que la adsorción se produce como consecuencia de los grupos silanol que se forman en la superficie de los silicatos debido a la humedad. Los grupos SiOH presentes en la superficie del soporte tienen una gran afinidad por las moléculas orgánicas polares, y tienden a retenerlas por adsorción. Los materiales soporte pueden desactivarse por sililación con dimetilclorosilano (DMCS) seguido de un lavado con alcohol. Las superficies sililadas de los soportes todavía pueden mostrar una adsorción residual, que al parecer se produce debido a las impurezas de óxidos metálicos presentes en la tierra de diátomeas. Un lavado ácido previo a la sililación elimina estas impurezas.

La sílice fundida que se utiliza para la fabricación de columnas tubulares abiertas está en gran parte libre de este tipo de impurezas; en consecuencia, con las columnas de sílice fundida se tienen menos problemas de adsorción.

Tabla 3.1. Propiedades y características de las columnas para cromatografía de gases

	Tipo de columna*			
	FSOT	WCOT	SCOT	Relleno
Longitud, m	10-100	10-100	10-100	1-6
Diámetro interno, mm	0,1-0,53	0,25-0,75	0,5	2-4
Eficacia, platos/m	2000-4000	1000-4000	600-1200	500-1000
Tamaño de la muestra, ng	10-75	10-1000	10-1000	10-10 <sup>6</sup>
Presión relativa	Baja	Baja	Baja	Alta
Velocidad relativa	Rápida	Rápida	Rápida	Lenta
Inactividad química	Mejor	—————→		Peor
¿Flexible?	Sí	No	No	No

\* FSOT: Columna capilar de sílice fundida.  
 WCOT: Columna capilar de pared recubierta.  
 SCOT: Columna capilar con soporte recubierto.

### 3.2.2. La fase estacionaria

En una columna cromatográfica de gas-líquido las propiedades deseables para una fase líquida inmovilizada incluyen: (1) *baja volatilidad* (idealmente, el punto de ebullición del líquido debe ser al menos 100°C mayor que la temperatura de trabajo máxima de la columna); (2) *estabilidad térmica*; (3) *químicamente inerte*; (4) *características de disolvente* tales que los valores de  $k'$  y  $\alpha$  de los solutos a resolver estén dentro de un intervalo conveniente.

Durante el desarrollo de la cromatografía gas-líquido se han propuesto miles de disolventes como fases estacionarias. Por ahora, sólo un puñado -tal vez una docena o menos son suficientes para la mayoría de aplicaciones. La elección adecuada entre esos disolventes es una etapa crítica para el éxito de la separación; de hecho existen guías cualitativas para realizar la elección, pero al final, la mejor fase estacionaria solamente se puede determinar en el laboratorio.

El tiempo de retención de un soluto en una columna depende de su coeficiente de distribución, el cual a su vez está relacionado con la naturaleza química de la fase estacionaria; es por ello que, para ser útil en cromatografía gas-líquido, el líquido inmovilizado ha de originar diferentes coeficientes de distribución para los distintos solutos. Además, estos coeficientes no deben ser ni extremadamente grandes ni extremadamente pequeños, dado que los primeros producen tiempos de retención prohibitivamente largos y los últimos dan como resultado tiempos tan cortos que las separaciones son incompletas. Para que una especie tenga un tiempo de residencia razonable en la columna, debe poseer cierto grado de compatibilidad (solubilidad) con la fase estacionaria. Aquí, se aplica el principio de «semejante disuelve semejante», donde «semejante» se refiere a las polaridades del soluto y del líquido inmovilizado

La tabla 3.2 relaciona en orden de polaridad creciente las fases estacionarias más frecuentemente utilizadas en columnas de cromatografía de gases, tanto de relleno como capilares. Probablemente, esos seis líquidos pueden proporcionar separaciones

satisfactorias para el 90% o más de las muestras con que se puede encontrar el científico. La figura 3.6 ilustra alguna de las aplicaciones en columnas capilares de las fases ilustradas en la tabla 3.2.

**Fases estacionarias polimerizadas y enlazadas.** Las columnas comerciales están disponibles con fases estacionarias polimerizadas y/o enlazadas. El enlace y el entrecruzamiento tienen por objeto la preparación de una fase estacionaria de larga duración, que se pueda limpiar con un disolvente cuando la película se contamine. Con el uso, las columnas que no han sido tratadas pierden lentamente su fase estacionaria debido al «sangrado», en el cual una pequeña cantidad de líquido inmovilizado es arrastrada fuera de la columna durante el proceso de elución. El sangrado se acentúa cuando una columna debe limpiarse con un disolvente para eliminar los contaminantes. La unión química y el entrecruzamiento inhiben el sangrado.

El enlace implica la unión, mediante una reacción química, de una capa monomolecular de la fase estacionaria a la superficie de sílice de la columna. En las columnas comercializadas, la naturaleza de las reacciones que se utilizan normalmente es objeto de patente.

**Grosor de película.** Las columnas comercializadas están disponibles con fases estacionarias cuyo grosor varía de 0.1 a 5  $\mu\text{m}$ . El grosor de la película afecta principalmente a las características de retención y a la capacidad de la columna. Las películas gruesas se utilizan con analitos muy volátiles, debido a que tales películas retienen más tiempo a los solutos, y así proporcionan un mayor tiempo para que pueda tener lugar la separación; por otra parte, las películas delgadas son útiles para separar especies de baja volatilidad en un tiempo razonable. Para la mayoría de las aplicaciones con columnas de 0.25 o 0.32 mm, se recomienda un grosor de película de 0.25  $\mu\text{m}$ . Con columnas macrocapilares se utilizan películas de 1 a 1.5  $\mu\text{m}$

Tabla 3.2. Algunas fases estacionarias comunes en cromatografía gas-líquido

Fase estacionaria	Nombre comercial común	Temperatura máxima, °C	Aplicaciones comunes
Polidimetilsiloxano	OV-1, SE-30	350	Fase no polar de uso general; hidrocarburos; aromáticos plurinucleares; drogas; esteroides; PCBs
Poli(fenilmetilfenil) siloxano (10% fenil)	OV-3, SE-52	350	Esteres metílicos de ácidos grasos; alcaloides; drogas; compuestos halogenados
Poli(fenilmetil) siloxano (50% fenil)	OV-17	250	Drogas; esteroides; pesticidas; glicoles
Poli(trifluoropropildimetil) siloxano	OV-210	200	Aromáticos clorados; nitroaromáticos; bencenos alquilsustituidos
Polietilen glicol	Carbowax 20M	250	Ácidos libres; alcoholes; éteres; aceites esenciales; glicoles
Poli(dicianoalildimetil) siloxano	OV-275	240	Ácidos grasos poliinsaturados; ácidos de la colofonia; ácidos libres; alcoholes



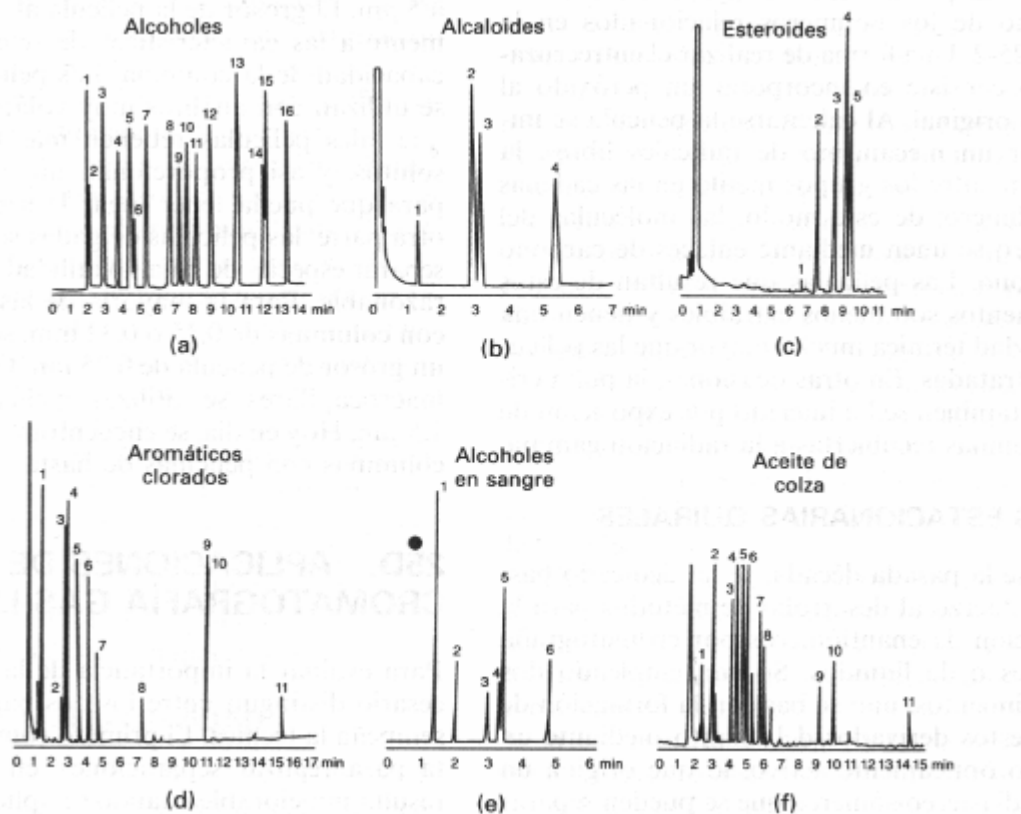


Figura 3.6. Cromatogramas característicos obtenidos con columnas capilares recubiertas con a) 5% OV-1, b) 5% OV-3, c) 50% OV-17, d) 50% OV-210, e) polietilenglicol y f) OV-275

### 3.3. APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO

Para evaluar la importancia de la GLC, es necesario distinguir entre los dos papeles que desempeña la técnica. El primero como herramienta para realizar separaciones; en este sentido, resulta inmejorable cuando se aplica a muestras orgánicas complejas, a organometálicos y a sistemas bioquímicos. El segundo, una función claramente distinta, es el de proporcionar un medio para llevar a cabo un análisis. En este caso se emplean los tiempos o volúmenes de retención para la identificación cualitativa, mientras que las alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa. Con fines cualitativos, la GLC es una técnica mucho más limitada que otros métodos. En consecuencia, una tendencia importante en este campo ha consistido en la combinación de las notables cualidades para el fraccionamiento que tiene la GLC con las mejores propiedades para la identificación que tienen algunos instrumentos como los espectrómetros de masas, infrarrojo y NMR

#### 3.3.1. Análisis cualitativo

Los cromatogramas se utilizan a menudo como criterio de pureza de compuestos orgánicos. Los contaminantes, si están presentes, se manifiestan por la aparición de picos adicionales; las áreas de estos picos proporcionan una estimación aproximada del grado de contaminación. La técnica también es útil para evaluar la efectividad de los procedimientos de purificación.

En teoría, los tiempos de retención deberían servir para la identificación de los componentes de una mezcla. Sin embargo, la aplicabilidad de tales datos está limitada por el número de variables que han de controlarse para obtener resultados reproducibles. No obstante, la cromatografía de gases es un medio excelente para confirmar la presencia o ausencia de un supuesto componente en una mezcla, siempre que se disponga de un patrón. Tras la adición del compuesto conocido a la muestra, el cromatograma no debe presentar ningún pico nuevo, y debe observarse el aumento de alguno de los picos existentes. La prueba es particularmente convincente si el resultado se repite con columnas diferentes y a distintas temperaturas,

### 3.3.1.1. Factores de selectividad

Si se elige una sustancia patrón B, entonces el factor de selectividad puede proporcionar un índice para la identificación del compuesto A, el cual es en gran parte independiente de las variables de la columna excepto la temperatura; esto es, pueden obtenerse tablas numéricas de factores de selectividad para compuestos puros relativos a un estándar común, y entonces utilizarse para la caracterización de solutos. Desafortunadamente, no es posible encontrar un patrón universal que permita obtener factores de selectividad de una magnitud razonable para todos los tipos de analitos. Así, el conjunto de factores de selectividad disponibles actualmente en la literatura es limitado.

### 3.3.1.2. Índice de retención

El índice de retención *I* fue propuesto por primera vez por Kovats en 1958 como un parámetro para identificar solutos a partir de los cromatogramas. El índice de retención para un soluto dado puede deducirse del cromatograma de una mezcla del soluto y de al menos dos alcanos normales (de cadena lineal) que tengan unos tiempos de retención tales, que el del soluto considerado quede entre los mismos. Esto es, los alcanos normales son los patrones en los que se basa la escala de índices de retención. Por definición, el índice de retención para un alcano normal es igual a 100 veces el número de carbonos del compuesto *sin considerar el relleno de la columna, la temperatura u otras condiciones cromatográficas*. El índice de retención para todos aquellos compuestos que no sean alcanos normales varía, a menudo varios cientos de unidades de índice de retención, con las variables de la columna.

Es bien conocido que en una serie homóloga al representar el logaritmo del tiempo de retención ajustado frente al número de átomos de carbono se obtiene una gráfica lineal. Los índices de retención de un compuesto se deducen por interpolación a partir de un cromatograma de una mezcla del soluto de interés y dos o más alcanos patrón.

Es importante subrayar que el índice de retención *para un alcano normal* es independiente de la temperatura y del relleno de la columna. Así, *I* para el heptano, por definición, siempre es 700. Por el contrario, los índices de retención de los demás solutos con frecuencia pueden variar considerablemente de una columna a otra. Por ejemplo, el índice de retención del acenafteno en una fase estacionaria de polidimetilsiloxano polimerizado, a 140 °C es 1460. Con 5% fenilpolidimetilsiloxano como fase estacionaria, a la misma temperatura resulta ser 1500, mientras que con polietilenglicol como fase estacionaria, el índice de retención es 2084.

El sistema de índices de retención tiene la ventaja de basarse en materiales de referencia disponibles fácilmente que cubren un amplio intervalo de puntos de

ebullición. Además, la dependencia de los índices de retención con la temperatura es relativamente pequeña.

### 3.3.2. Análisis cuantitativo

La señal del detector de una columna cromatográfica gas-líquido se ha utilizado generalmente para análisis cuantitativos y semicuantitativos. En condiciones cuidadosamente controladas se consigue una exactitud (relativa) del 1 %. Como con la mayoría de los instrumentos analíticos, la fiabilidad se relaciona directamente con el control de las variables; la exactitud también depende en parte de la naturaleza de la muestra. La discusión general del análisis cuantitativo cromatográfico, dada anteriormente, se aplica tanto a la cromatografía de gases como a otros tipos; por esta razón no se hacen aquí más consideraciones sobre este aspecto.

## 3.4. CROMATOGRAFÍA GAS-SÓLIDO

La cromatografía gas-sólido se basa en la adsorción de sustancias gaseosas sobre superficies sólidas. Los coeficientes de distribución son generalmente mucho mayores que en el caso de la cromatografía gas-líquido. En consecuencia, la cromatografía gas-sólido es útil para la separación de especies que no se retienen en columnas de gas-líquido, tales como los componentes del aire, sulfuro de hidrógeno, disulfuro de carbono, óxidos de nitrógeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono y los gases nobles.

La cromatografía gas-sólido se lleva a cabo tanto en columnas de relleno como en capilares. En estas últimas, se fija en las paredes del capilar una delgada capa de adsorbente; estas columnas a veces se denominan *columnas tubulares abiertas de capa porosa*, o columnas PLOT. Se encuentran dos tipos de adsorbentes: los tamices moleculares y los polímeros porosos.

**Tamices moleculares.** Los tamices moleculares son intercambiadores de iones de silicato de aluminio, cuyo tamaño de poro depende del tipo de catión presente. Los preparados comerciales de estos materiales están disponibles en tamaños de partícula de 40-60 mesh a 100-120 mesh. Los tamices se clasifican de acuerdo con el diámetro máximo de las moléculas que pueden entrar en los poros. Los tamices moleculares comerciales se encuentran con tamaños de poro de 4, 5, 10 y 13 Angstroms; las moléculas más pequeñas penetran en el interior de las partículas donde tiene lugar la adsorción; para estas moléculas el área superficial disponible es enorme cuando se compara con el área disponible para las moléculas más grandes. Por ello, los tamices moleculares se pueden utilizar para separar las moléculas pequeñas de las grandes. Por ejemplo, un relleno de 5 Angstroms y 180 cm, a temperatura ambiente separará fácilmente una mezcla de helio, oxígeno, nitrógeno, metano y monóxido de carbono en este orden. La Figura 3.7 muestra un -típico cromatograma obtenido con tamices moleculares.

**Polímeros porosos.** Las bolas de polímeros porosos de tamaño uniforme se fabrican a partir de estireno polimerizado con divinilbenceno. El tamaño de poro en estas bolas es uniforme y se controla por el grado de polimerización. Los polímeros porosos han encontrado una gran aplicación en la separación de especies polares

gaseosas tales como sulfuro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno, agua, dióxido de carbono, metanol y cloruro de vinilo.

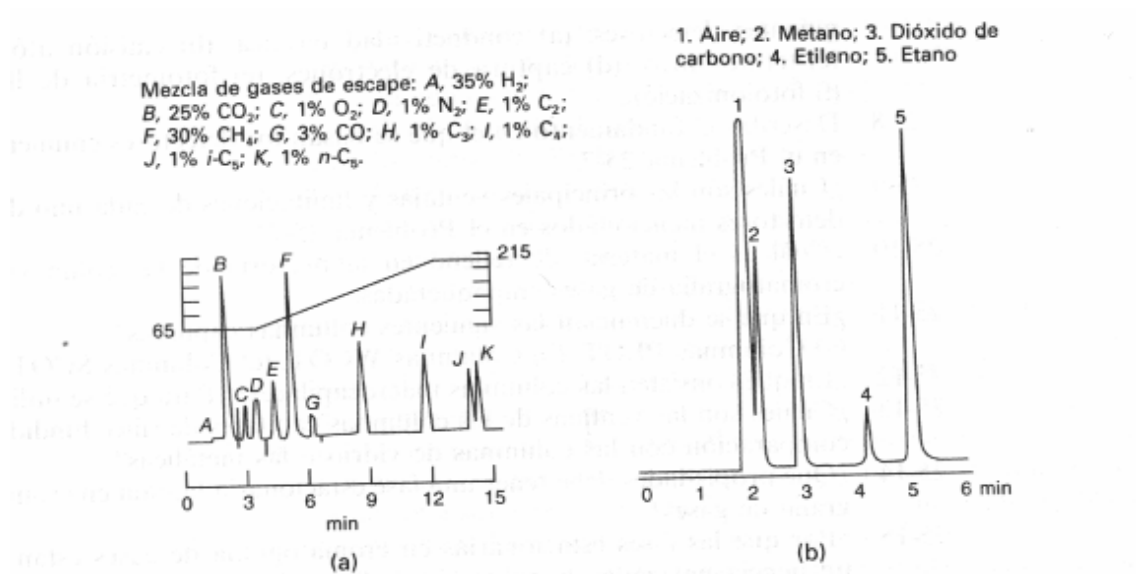


Figura 3.7 Ejemplos típicos de cromatografía gas sólido.

a) columna de 1.5 m x 3 mm,

b) columna PLOT de polímero poroso de 30 m x .5 mm