

CROMATOGRAFIA DE GASES

INTRODUCCION

A pesar de que, como ya se ha indicado, la cromatografía es básicamente una técnica de separación, su gran capacidad para resolver muestras complejas ha conducido a utilizarla cada vez mas como técnica analítica. Esta utilización, ha conducido al desarrollo de una instrumentación, que utilizando siempre la separación por elución, puede operar en continuo, con mayor eficacia en la separación y con un mayor control de las condiciones cromatográficas para incrementar la reproducibilidad de los resultados.

Entre las técnicas cromatográficas utilizadas con fines analíticos, la cromatografía de gases es probablemente la técnica de más amplia utilización; ninguna técnica analítica puede ofrecer su capacidad de separación o su sensibilidad a la hora de analizar compuestos volátiles. Por otra parte, el hecho de que con esta técnica las mezclas sean separadas en fase gaseosa, establece los límites de su utilización, que estarán marcados fundamentalmente por la estabilidad térmica de los compuestos a separar. Por lo general, la utilización de la cromatografía de gases está restringida a la separación de compuestos con un peso molecular menor de 1000 a una temperatura máxima de trabajo de aproximadamente 400 °C; dentro de estos límites, como ya se ha mencionado, la única limitación existente será la estabilidad térmica de la muestra.

Para realizar una separación mediante cromatografía de gases, se inyecta una pequeña cantidad de la muestra a separar en una corriente de un gas inerte a elevada temperatura; esta corriente de gas, atraviesa una columna cromatográfica que separará los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de partición (cromatografía gas líquido), de adsorción (cromatografía gas sólido) o, en muchos casos, por medio de una mezcla de ambos. Los componentes separados, emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado, o bien serán dirigidos hacia un dispositivo de recogida de muestras.

DESCRIPCION DEL EQUIPO

El esquema general de un cromatógrafo de gases se muestra en la figura 1.

Los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases, son:

- .- Fuente de gas.
- .- Sistema de inyección.
- .- Horno y columna cromatográfica.

- Sistema de detección.
- Sistema de registro.

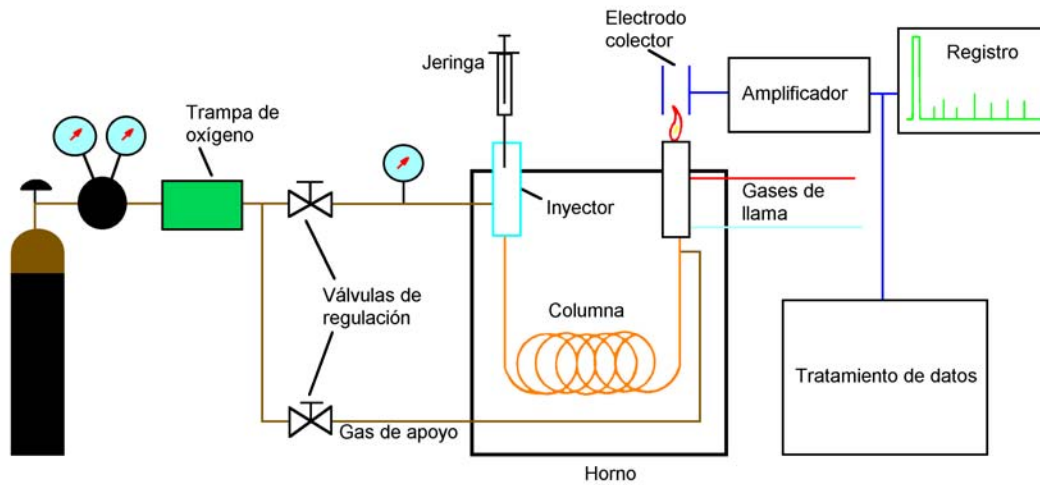


Figura 1. Esquema de un cromatógrafo de gases

Los gases portadores utilizados en cromatografía no afectan, en principio, a la separación ya que no tienen ninguna influencia sobre los procesos de sorción-desorción o de partición que se producen en la columna, por lo que no afectan a la selectividad de ésta; de cualquier forma, los términos de difusión en la fase móvil de la ecuación de Van Deemter, sí dependen de la naturaleza del gas portador, por lo que las curvas de AEPT (figura 2) serán ligeramente distintas para cada tipo de gas, lo que a su vez influirá sobre la velocidad óptima de la fase móvil y, en consecuencia sobre los tiempos de análisis.

Al margen del efecto que la naturaleza del gas portador puede ejercer sobre la altura de plato, la elección de uno u otro tipo de gas, estará determinada fundamentalmente por el sistema de detección utilizado. Como fuentes de gas portador se suelen utilizar cilindros de gas comprimido de elevada pureza, capaces de suministrar una presión de gas adecuada y constante; es de hacer notar que, en muchos casos, es necesario eliminar las trazas de impurezas que pueda contener el gas (O_2 y H_2O fundamentalmente) que pueden afectar al sistema cromatográfico, por medio de filtros adecuados. El control de la velocidad del gas portador a través de la columna, se realiza por medio de válvulas que suministran un caudal constante (columnas empaquetadas) o que mantienen constante la presión en cabeza de columna (sistemas capilares).

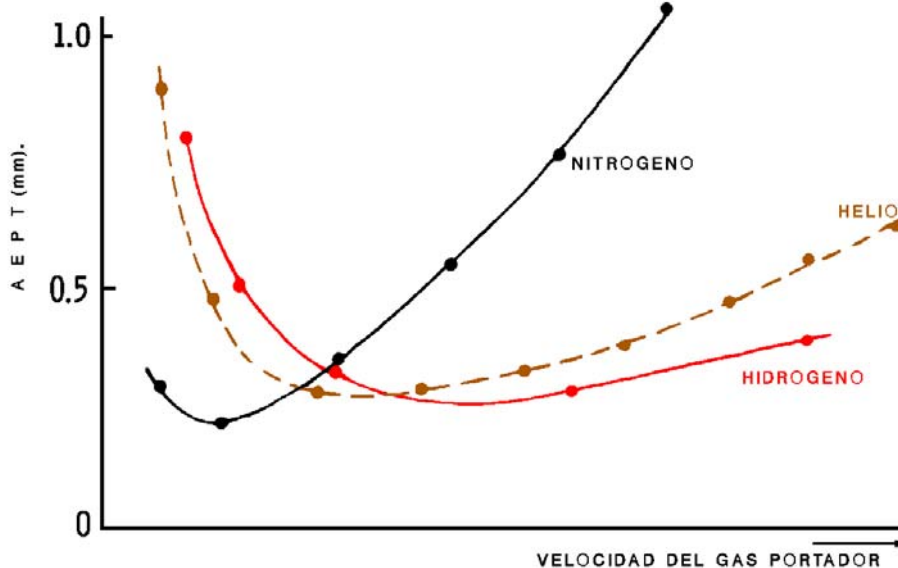


Figura 2. Curvas de AEPT para tres gases portadores de uso habitual

El horno de un cromatógrafo de gases, tiene como misión el mantener la columna termostaticada a una temperatura fijada con gran precisión (dentro de unos límites de ± 1 °C); por otro lado, es necesario que el control de termostaticación del horno permita incrementar la temperatura de éste a una velocidad prefijada y constante (para trabajar con técnicas de temperatura programada). Evidentemente, el primer requisito es fácil de cumplir, pero cuando se requiere trabajar con temperatura programada, el horno debe cumplir una serie de requisitos tales como tener escasa inercia térmica (particularmente si es necesario realizar rampas de temperatura muy rápidas) y poseer un sistema de control de temperatura muy sofisticado que incluya la posibilidad de programar las posibles variaciones de temperatura del horno así como los tiempos a los que han de realizarse.

SISTEMAS DE INTRODUCCION DE MUESTRAS

En esencia, los dispositivos de inyección de muestras para cromatografía de gases tienen la misión de vaporizar la muestra a analizar e incorporarla a la corriente de gas portador que se dirige hacia la columna. La vaporización e introducción de las muestras en el sistema, debe realizarse cumpliendo una serie de requisitos:

- 1.- La vaporización de la muestra debe ser lo más rápida posible.
- 2.- La vaporización debe realizarse sin discriminar ningún componente de la muestra.
- 3.- La muestra debe llegar a la columna como una banda lo más fina posible.

Inyectores para columnas empaquetadas.

La inyección de muestras en columnas empaquetadas no presenta problemas particulares; este tipo de columnas admiten cantidades de muestra relativamente elevadas, y la inyección de unos cuantos microlitros de muestra no conduce a una merma apreciable de la eficacia de la columna.

La mayoría de los cromatógrafos comerciales utilizan cámaras de inyección termostáticas (figura 3).

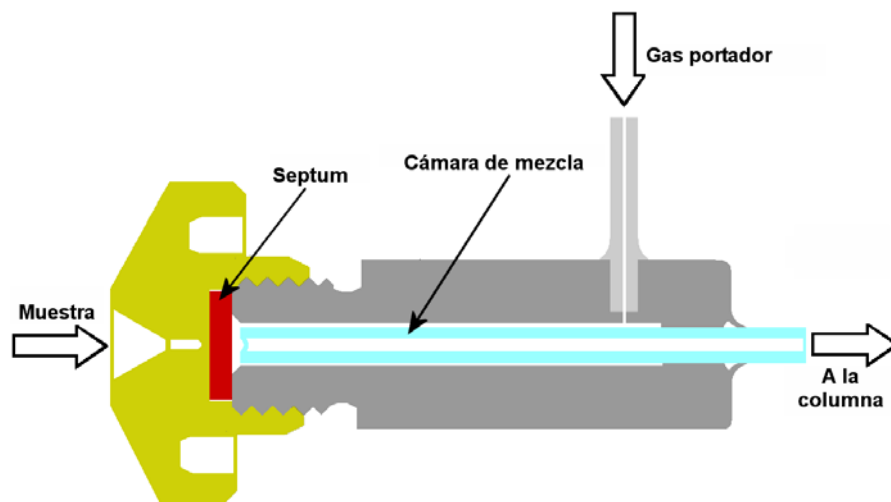


Figura 3. Esquema de un inyector para columnas empaquetadas

Básicamente, un inyector está formado por un bloque metálico, buen conductor del calor, provisto de un sistema de calentamiento, un termostato capaz de mantener su temperatura constante y un aislamiento térmico adecuado; en el interior de este horno, se encuentra alojado el sistema de inyección (figura 3). En éste, el gas portador, previamente calentado, pasa de forma continua por el sistema; la muestra es inyectada en el interior de la cámara, por medio de una microjeringa de precisión, a través de un diafragma perforable (septum) con capacidad de autosellado en el momento en que se retira la aguja; una vez inyectada la muestra, ésta es vaporizada de forma instantánea, mezclándose con el gas portador en una cámara de mezcla ("liner") construida de un material lo más inerte posible (acero inoxidable, níquel, vidrio o

cuarzo). La muestra, una vez vaporizada, es arrastrada rápidamente por la corriente de gas portador en dirección a la columna.

El diseño de la cámara de inyección debe ser estudiado minuciosamente. El volumen de la cámara ha de estar proporcionado con el tipo de columna a utilizar para evitar mezclas incompletas o bandas de muestra excesivamente anchas; en lo posible, es preciso evitar la formación de turbulencias en el paso de la cámara de inyección a la columna; se ha de evitar cuidadosamente la existencia de volúmenes muertos, no barridos por la corriente de gas portador, dentro de la cámara para evitar deformaciones de la banda de muestra; el volumen existente entre la cámara de inyección y la columna debe ser el menor posible para evitar ensanchamientos de banda; la temperatura ha de ser homogénea en toda la cámara de inyección para evitar la discriminación de alguno de los componentes de la muestra, etc. El sistema de inyección de un cromatógrafo es un punto extremadamente crítico, y la utilización de una técnica de inyección inadecuada o una mala elección del sistema de inyección pueden echar a perder completamente la capacidad de separación de una columna.

Existen algunos tipos de inyectoros que permiten utilizar uno de los extremos de la columna cromatográfica como cámara de mezcla. La introducción de la muestra por medio de este tipo de inyectoros (inyección en columna), está libre de muchos de los problemas mencionados anteriormente, además de ofrecer ventajas adicionales tales como permitir la utilización de temperaturas más bajas para la vaporización.

Inyectoros para columnas capilares

Los sistemas de introducción de muestras utilizados para trabajar con columnas capilares, están basados sobre los mismos principios de los inyectoros utilizados para columnas empaquetadas, por lo que las consideraciones generales sobre ellos siguen siendo válidas.

La diferencia fundamental entre los sistemas que utilizan columnas empaquetadas y los que utilizan columnas capilares, radica en que la cantidad de muestra que estas últimas pueden separar es mucho menor que en el primer caso; por otra parte, las columnas capilares son muy afectadas por los disolventes, de forma que los volúmenes que se pueden inyectar en ellas son extremadamente bajos. Dado que no existen jeringas capaces de medir con precisión volúmenes inferiores a 0,1 μl , los inyectoros utilizados para trabajar con este tipo de columnas, además vaporizar la muestra y mezclarla con el gas portador, deberán ser capaces de introducir en la columna sólo una alícuota de la muestra total inyectada. Existen muchas más técnicas de inyección para columnas capilares que para columnas empaquetadas, y de entre ellas, se comentarán a continuación algunas de las más utilizadas.

1.- Inyección con división de muestra

Este tipo de inyección (más conocida como inyección “split”), es el más sencillo de los que se utilizan en cromatografía capilar. El inyector de “split” (figura 4), consta básicamente de los mismos elementos que un inyector normal, con la única adición de un sistema de división de flujo a la salida de la cámara de mezcla. Por medio de este tipo de inyector, el flujo de gas portador que pasa a través del inyector (y por lo tanto también la muestra vaporizada), se divide en dos; una parte es introducida en la columna y la otra escapa fuera del sistema a través de una válvula de aguja que permite regular la proporción de gas que es introducido en la columna.

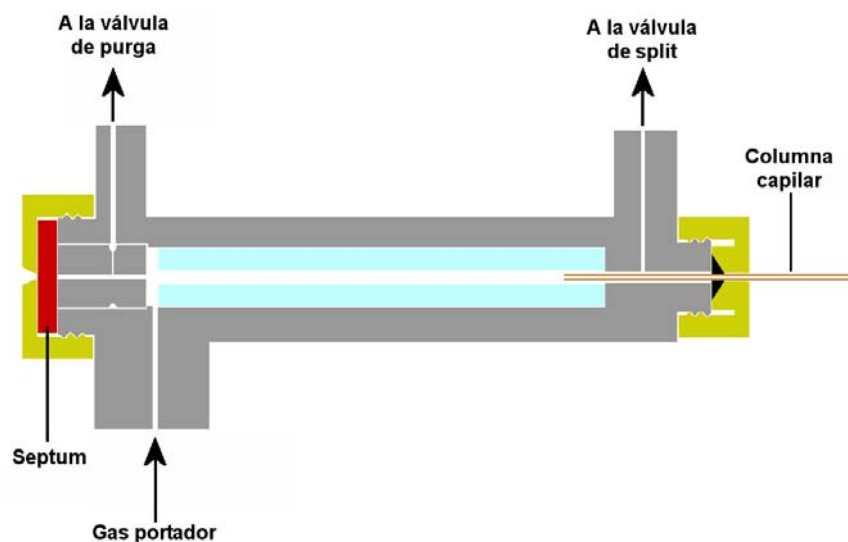


Figura 4. Esquema de un inyector de “split”

Dado que en este tipo de inyectores la mayor parte del caudal del gas portador se dirige hacia la atmósfera, la válvula de “split” dispone de un sistema de apertura y cierre automáticos para que únicamente permita la salida de gas hacia la atmósfera durante el proceso de inyección. El control del flujo de gas portador que pasa a través de la columna, se realiza en este tipo de sistemas manteniendo constante la presión en la cámara de inyección, lo que permite que el caudal de gas que pasa a través del inyector pueda variar en función de que la válvula de “split” esté abierta o cerrada.

Los inyectores de este tipo presentan dos inconvenientes; en primer lugar la división de la muestra da lugar a que las cantidades de analito que son separadas y llegan al detector sean muy pequeñas, por lo que los límites de detección aumentan bastante, lo que es un gran inconveniente a la hora de realizar análisis de trazas. Por otra parte, los inyectores de “split” pueden en algunos casos dar lugar a discriminación entre los componentes de la muestra.

2.- Inyección “splitless”

En la técnica de inyección “splitless”, la totalidad de la muestra inyectada es dirigida hacia la columna, que se mantiene durante la inyección a una temperatura inferior al punto de ebullición del componente más volátil de la muestra. La totalidad de la muestra inyectada, lógicamente condensa en la cabeza de la columna, actuando en este caso el disolvente condensado en la columna a modo de trampa donde se concentran los componentes a analizar (efecto solvente). Transcurrido un tiempo adecuado, se abre en el inyector una válvula de purga con el fin de barrer a la atmósfera el disolvente vaporizado que pudiera quedar en el inyector; al mismo tiempo, se comienza un programa de calentamiento de la columna para realizar el análisis.

Las utilización de la técnica de “splitless” supone dos importantes ventajas. En primer lugar, dado que no existe división de muestra, permite un aumento notable de la sensibilidad, por lo que es muy adecuada para el análisis de trazas. Por otra parte, la reconcentración de la muestra en la cabeza de la columna origina que las pérdidas de eficacia debidas a una inyección inadecuada sean de mucha menor importancia que en otras técnicas de inyección.

El diseño de un inyector “splitless” es básicamente el mismo que el del inyector de “split” (figura 4), pudiéndose realizar la purga del inyector bien a través de la válvula de split, bien a través de una válvula de purga adicional situada cerca del septum. La mayoría de los inyectores de “split” comerciales, están diseñados para poder trabajar también en modo “splitless”.

3.- Inyección en columna

Ya se ha comentado que uno de los principales problemas de los sistema de inyección utilizados con columnas capilares, es la posibilidad de discriminación entre los componentes de la muestra durante los procesos de vaporización de la muestra y paso de la muestra vaporizada a la columna. Evidentemente, la única forma de asegurarse de que la muestra que alcanza la columna se corresponde al 100 % con la muestra inyectada, es realizar la inyección directamente en la columna.

Los sistemas de inyección en columna (normalmente conocidos por su nombre inglés de “on-column”), han sido diseñados para posibilitar la introducción de muestras directamente en el interior de columnas capilares.

Es evidente que la introducción de una muestra por medio de una jeringa directamente en el interior de una columna capilar (de 0,23 mm de diámetro interno), requiere la utilización

de agujas extremadamente finas (suelen utilizarse agujas de sílice fundida de 0,15 mm de diámetro) que, en consecuencia, son incapaces de perforar un septum; la característica básica de un inyector “on-column” (figura 5), es la utilización de un sistema de válvulas y tubos de guía que permitan la introducción en el sistema de una aguja extremadamente fina.

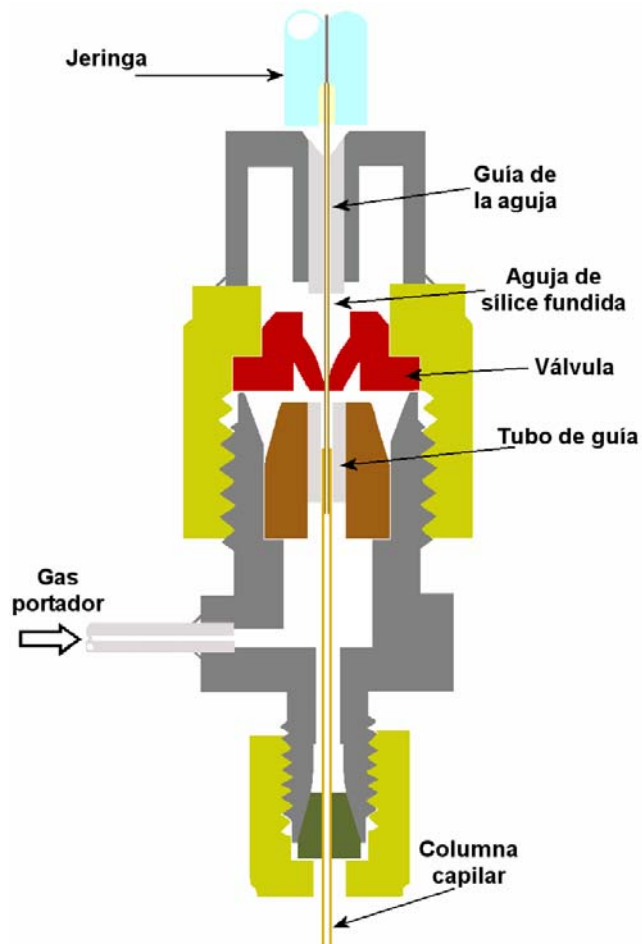


Figura 5. Esquema de un inyector “on-column”

El método de trabajo utilizado en la inyección “on-column” recuerda en alguna forma al utilizado en la inyección “splitless”; la muestra es introducida directamente en la columna, manteniéndose ésta a una temperatura inferior al punto de ebullición del componente más volátil de la muestra. Una vez introducida la muestra, se inicia el programa de calentamiento de la columna para proceder a la separación.

La gran ventaja que ofrece el sistema de inyección “on-column”, es que reduce la discriminación entre los componentes de la muestra prácticamente a cero, obviándose además todos los problemas que presentan las restantes técnicas de inyección.

Otros sistemas de inyección

Hasta el momento, se han descrito los sistemas de inyección utilizados tradicionalmente en cromatografía de gases, utilizado fundamentalmente para la introducción de muestras en disolución. Existen además otras técnicas de introducción de muestras, algunas de las cuales son de especial interés para el análisis de contaminantes ambientales; ejemplos de técnicas de inyección no convencionales pueden ser:

1.- Válvulas de inyección de gases.

La inyección por medio de válvulas, es muy utilizada para el muestreo automático de gases en sistemas dinámicos. Las válvulas muestreadoras utilizadas en cromatografía de gases son del tipo de seis vías y pueden estar provistas de bucles de carga de capacidad variable. El esquema de funcionamiento de este tipo de válvulas se muestra en la figura 6.

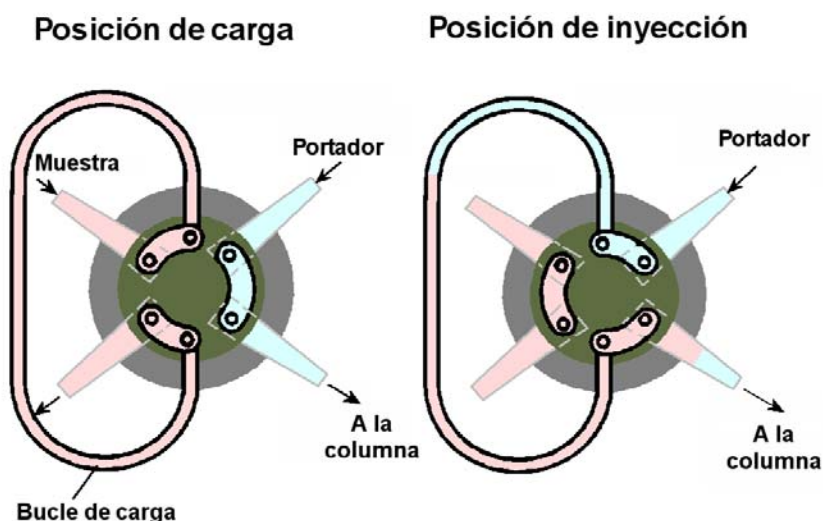


Figura 6. Esquema de una válvula de inyección de gases

2.- Desorción térmica.

Básicamente, un equipo de desorción térmica (figura 7), consta de un horno donde la muestra es desorbida de los tubos de muestreo a elevada temperatura bajo una corriente de gas portador; una vez desorbidos los vapores de la muestra, estos son retenidos en una trampa criogénica hasta la finalización del proceso de desorción, efectuándose la inyección en este momento por medio de un calentamiento muy rápido de la trampa fría.

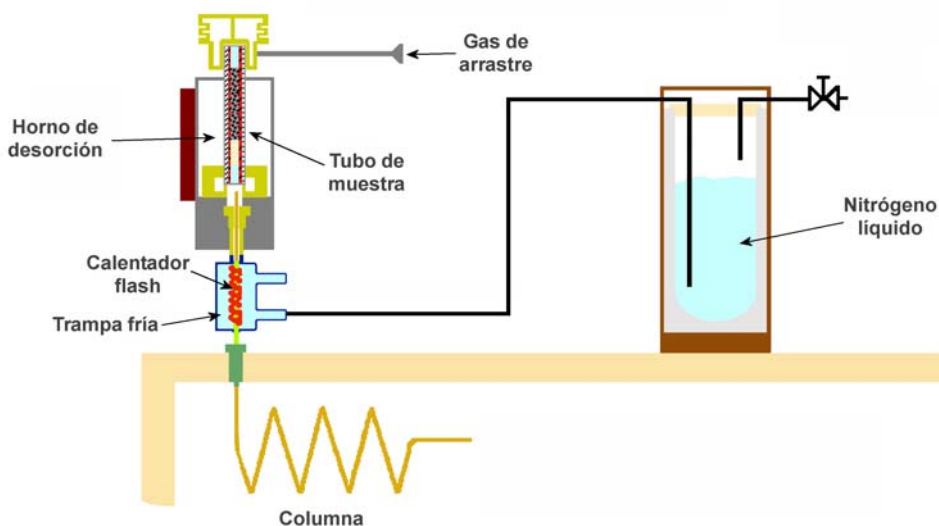


Figura 7. Esquema de un inyector de desorción térmica

Debe mencionarse que, al contrario de lo que sucede con la inyección de espacio de cabeza, la técnica de desorción térmica si permite realizar buenas cuantificaciones, siempre que se fijen unas condiciones adecuadas para asegurarse de que la desorción de la muestra es total.

3.- Inyectores de espacio de cabeza.

La técnica de análisis por espacio de cabeza es aplicable al análisis directo de contaminantes volátiles en muestras sólidas o líquidas. El fundamento de esta técnica consiste en analizar una alícuota de la atmósfera que se encuentra en contacto con la muestra con el fin de determinar en ella la fracción vaporizada de los componentes que se encuentra en equilibrio con la muestra sólida o líquida.

Para realizar un análisis por medio de esta técnica, la muestra se introduce en un vial herméticamente cerrado y se somete a una temperatura previamente fijada durante un tiempo suficiente para que las distintas fases de los compuestos a analizar alcancen el equilibrio, es decir, hasta que la presión parcial de cada componente en la atmósfera del vial sea igual a su presión de vapor a la temperatura de trabajo.

En esencia, un analizador de espacio de cabeza consta de un horno, convenientemente termostatzado, donde se mantienen las muestras a una temperatura generalmente muy elevada, y de un sistema de muestreo capaz de inyectar en el cromatógrafo una alícuota del vapor de generado por la muestra que contiene el vial. En la figura 8, se muestran dos tipos de sistemas

de muestreo: una jeringa automática termostatazada un sistema de desplazamiento por presurización.

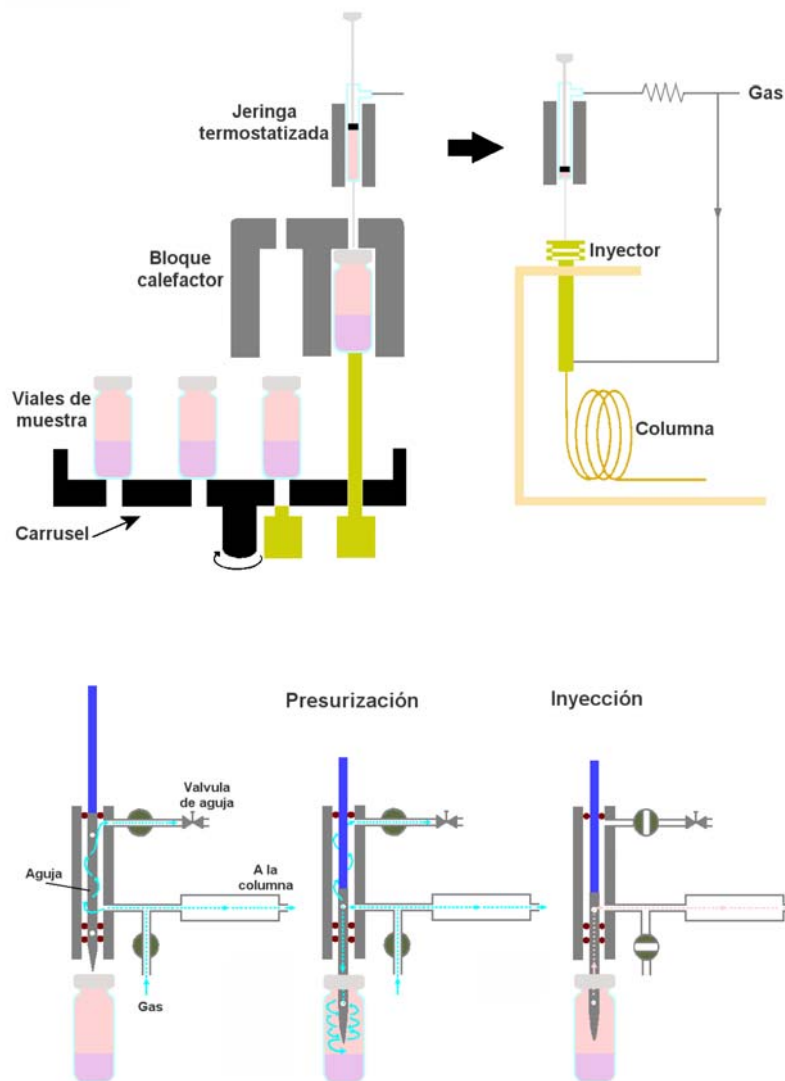


Figura 7. Sistemas de inyección de espacio de cabeza

DETECTORES

Una vez que los componentes de la muestra han sido separados por la columna, se hace preciso el disponer a la salida de ésta de un sistema de detección, capaz de señalar la elución de un componente de la muestra y ofrecer, al mismo tiempo, una señal proporcional a la cantidad de substancia que pasa a través de él.

Los detectores utilizados en cromatografía de gases son de tipo diferencial, no ofrecen señal cuando pasa por ellos solamente el gas portador y responden ante alguna propiedad que pueda variar cuando éste se encuentra mezclado con alguna sustancia eluida de la columna.

Parámetros característicos de un detector

Señal del detector

Como ya se ha dicho, el detector mide una propiedad que diferencia el gas portador de la mezcla gas portador/sustancia eluida. El cambio medido por el detector, denominado señal (S), es proporcional a la magnitud de la propiedad a la que responde (a), a una constante propia del diseño del detector (k) y al número de moléculas de la sustancia eluida que en un momento dado están presentes en el detector (N); la expresión de la señal del detector será:

$$S = k a N$$

Evidentemente, la señal ofrecida por el detector en un momento dado, será la suma de las señales de cualquier sustancia eluida, del gas portador y de las impurezas de éste:

$$S_t = S_g + S_i + S_1 + S_2 + \dots$$

La señal medida por el detector en ausencia de sustancias eluidas, se denomina señal de fondo del detector.

Sensibilidad

La sensibilidad de un detector hacia una sustancia eluida, puede definirse como el cambio en la señal medida, ΔS , originado por un cambio en la concentración en el gas portador de la sustancia eluida, ΔN_s . Es evidente, a partir de la ecuación de definición de señal, que la sensibilidad de un detector puede expresarse por medio de la ecuación:

$$\frac{\Delta S}{\Delta N_s} = k a_s$$

Es decir, la sensibilidad de un detector hacia una sustancia estará dada por el producto de la constante de diseño del detector y el valor de la propiedad analizada de la sustancia eluida.

En consecuencia, la sensibilidad de cada detector será diferente, dependiendo de su diseño, y para un detector dado, la sensibilidad será diferente para sustancias diferentes.

Linealidad

La linealidad de un detector, l , se define como la constante de proporcionalidad de la relación entre el logaritmo de la señal ofrecida por el detector y el logaritmo de la concentración de la sustancia eluida:

$$\log S = \log (k a_s) + l \log N_s$$

Representando esta ecuación (figura 9) se obtiene una recta cuya pendiente es l y cuya ordenada en origen es $\log(k a_s)$, es decir, el logaritmo de la sensibilidad.

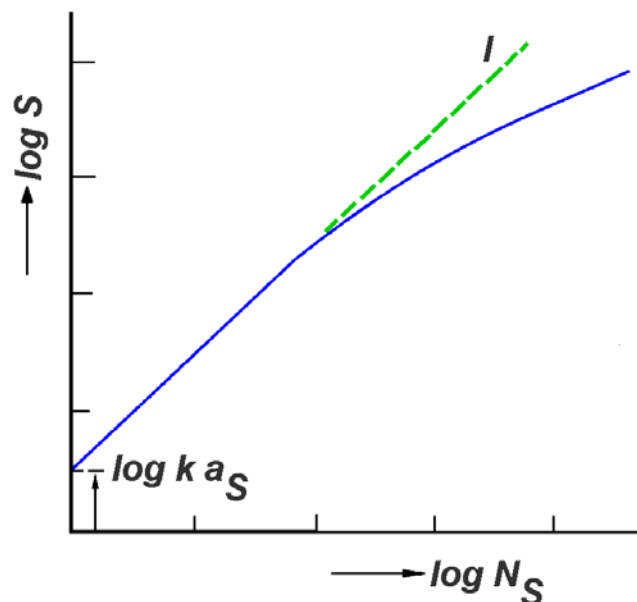


Figura 9. Gráfico concentración respuesta de un detector

Es relativamente frecuente encontrar evaluaciones de la linealidad de los detectores en coordenadas lineales; en estos casos, se denominan detectores lineales aquellos para los que $l = 1$, denominándose detectores no lineales los restantes. De cualquier forma, la utilización de coordenadas lineales no es correcta, ya que muchos detectores muestran dependencias de la señal con la concentración de tipo exponencial, dejando al margen las desviaciones producidas por la amplificación electrónica de la señal; en cualquier caso, es siempre preferible realizar la evaluación de la linealidad del detector en términos de coordenadas logarítmicas.

El intervalo de concentraciones para el que la linealidad no cambia, es conocido como el rango dinámico lineal del detector.

Mínima cantidad detectable

La señal de fondo medida por un detector, fluctúa con el tiempo debido a la inconstancia de los parámetros experimentales; estas fluctuaciones pueden ser consideradas como errores aleatorios de la medida y son denominadas ruido. El nivel de ruido oscila continuamente alrededor de una señal promedio, dando el conjunto de sus valores a lo largo del tiempo una distribución que vendrá definida por su desviación standard. El valor de señal correspondiente a la mínima cantidad detectable, podrá calcularse en base al valor del incremento de señal necesario (ΔS) para ser significativamente diferente del resto de la distribución. Considerando un número suficiente de medidas de señal de fondo, se puede calcular que una señal es significativamente distinta del ruido, con un 95 % de probabilidad, cuando su valor es dos veces superior al intervalo de ruido; de forma análoga, cuando se incrementa la probabilidad hasta un 99 %, la señal debe ser al menos 2,65 veces mayor que el nivel de ruido para ser significativamente distinta.

Por supuesto, la evaluación del nivel requerido para que una señal sea significativamente diferente del ruido, está realizado en base a considerar una señal instantánea; No obstante, la situación es extrapolable a medidas reales haciendo la consideración de que la señal evaluada corresponde al valor máximo del pico de elución (figura 10), siendo evaluable de forma cuantitativa todo pico que cumpla estas condiciones.

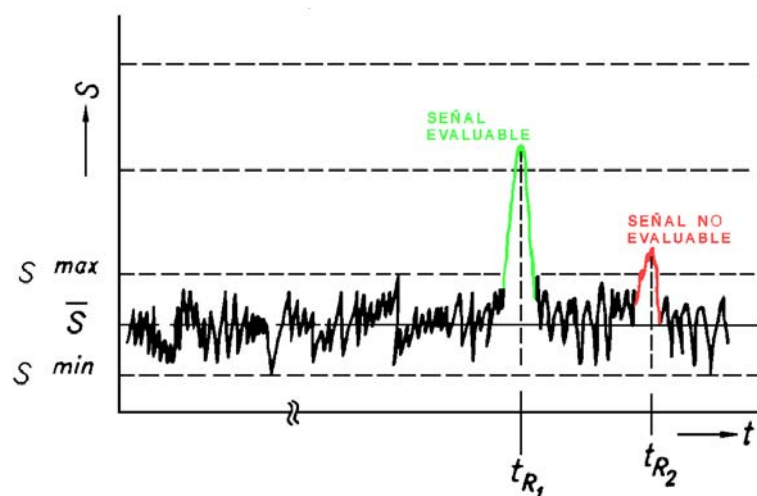


Figura 10. Parámetros de la relación señal/ruido de dos bandas cromatográficas

Tipos de detectores

Los detectores usados en cromatografía de gases, pueden dividirse de forma genérica en detectores universales y detectores específicos; los primeros ofrecen la ventaja de responder prácticamente ante cualquier compuesto que pueda eluir de la columna, no obstante, esta misma propiedad puede convertirse en un serio inconveniente cuando se procede al análisis de mezclas muy complejas; en este último caso, la utilización de detectores específicos resulta muy ventajosa ya que, al responder únicamente frente a un grupo limitado de compuestos, los cromatogramas que ofrecen resultan muy simplificados.

Detector de conductividad térmica

Uno de los primeros detectores utilizados para el trabajo de rutina en cromatografía de gases, ha sido el detector de conductividad térmica o detector de hilo caliente. Este tipo de detector responde a la diferencia de conductividad térmica existente entre el gas portador puro y el gas portador mezclado con alguna otra sustancia; la magnitud de la respuesta dependerá de la diferencia de conductividad térmica entre el compuesto que eluye de la columna y el gas portador.

En un detector de conductividad, el gas procedente de la columna pasa a través de una cavidad termostatazada que contiene el elemento sensor, un hilo de metal calentado o un termistor. Cuando pasa a través del detector gas portador puro, la pérdida de calor del sensor es función de la diferencia de temperatura entre éste y la pared de la cavidad y de la conductividad térmica del gas portador; cuando eluye una sustancia mezclada con el gas portador, la conductividad térmica varía, y como consecuencia se produce un cambio de temperatura en el sensor; el cambio de temperatura, se traduce en una variación de una señal eléctrica (resistencia o voltaje según sea el elemento sensor), que es convenientemente amplificada y registrada. Un esquema de un detector típico de conductividad térmica, se encuentra en la

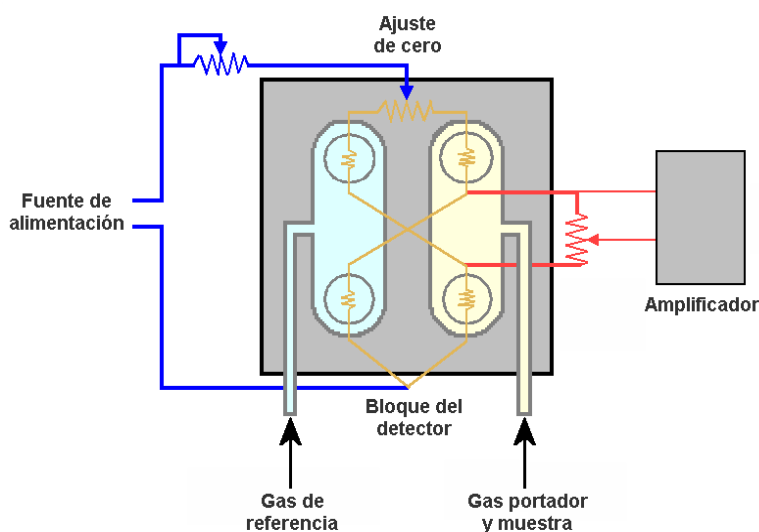


Figura 11. Esquema de un detector de conductividad térmica

figura 11.

El detector de conductividad térmica es universal y no es destructivo; por lo general se utiliza para el análisis de gases permanentes, hidrocarburos ligeros y otros tipos de compuestos que ofrecen una respuesta pobre en otros tipos de detectores. Su sensibilidad oscila entre 10^{-6} y 10^{-8} g, con un rango dinámico lineal de aproximadamente cuatro órdenes de magnitud.

Detector de ionización de llama

El detector de ionización de llama, es tal vez el más ampliamente utilizado en cromatografía de gases. Este tipo de detector es en la práctica de respuesta universal, ya que es selectivo hacia los compuestos que presenten enlaces C-H, por lo que son muy pocos los compuestos que no dan señal en él.

En un detector de ionización de llama, el gas procedente de la columna se mezcla con hidrógeno y esta mezcla se quema en una cámara con exceso de aire. Por encima de la llama, se dispone un colector cilíndrico polarizado con el fin de recoger los iones generados; sobre este dispositivo, se mide la corriente iónica que se establece entre la punta del quemador y el electrodo colector. El esquema de un detector de ionización de llama se encuentra en la figura 12.

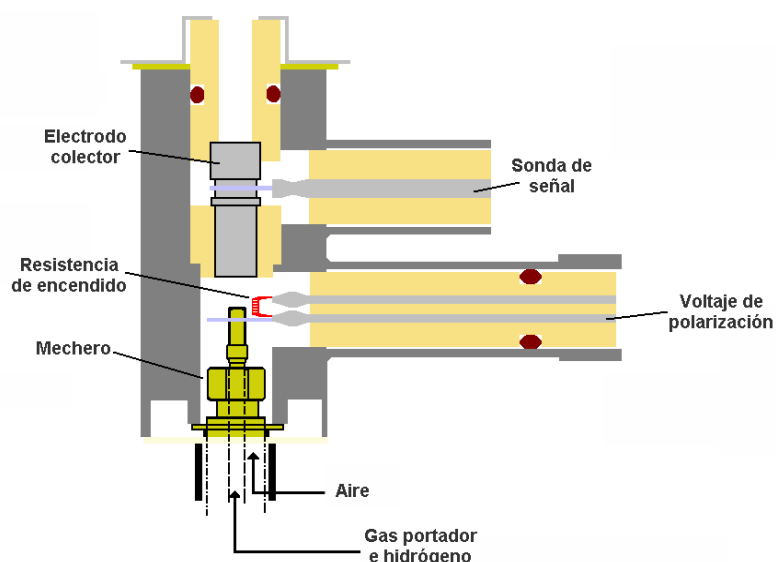


Figura 12. Sección de un detector de ionización de llama

El mecanismo de generación de iones en este detector es complejo y no del todo conocido, ya que la energía de la llama es demasiado baja para explicar la generación de iones;

generalmente, se cree que éstos son generados por medio de un proceso de ionización química, en el que la energía liberada por reacciones fuertemente exotérmicas es retenida por las moléculas orgánicas, generándose iones a partir de las moléculas excitadas.

El detector de ionización de llama se polariza siempre con un voltaje de saturación; bajo estas condiciones, la corriente de fondo es del orden de 10^{-13} - 10^{-14} A, que se incrementa hasta un nivel de 10^{-12} - 10^{-9} A en presencia de un vapor orgánico.

Los detectores de ionización de llama ofrecen una elevada sensibilidad, gran estabilidad y un rango dinámico lineal excepcionalmente elevado; todo ello, junto con una gran sencillez de utilización ha hecho que este tipo de detectores, como ya se ha mencionado, sean con mucho los de mayor utilización.

Detector de captura electrónica

El detector de captura electrónica ocupa probablemente el segundo lugar entre los detectores de más alta utilización, debiéndose este hecho a su excepcional sensibilidad (el detector de captura electrónica es probablemente el dispositivo analítico más sensible que se conoce). Este hecho junto a su selectividad hacia compuestos de enorme interés (fundamentalmente en los campos de medio ambiente y toxicología), hacen que sea enormemente utilizado para la detección y cuantificación de trazas.

En un detector de captura electrónica (figura 13), se utiliza una fuente de radiación β^- para bombardear el gas portador que pasa a través de una cámara de ionización, generándose de esta forma un plasma de iones positivos, radicales libres y electrones térmicos.

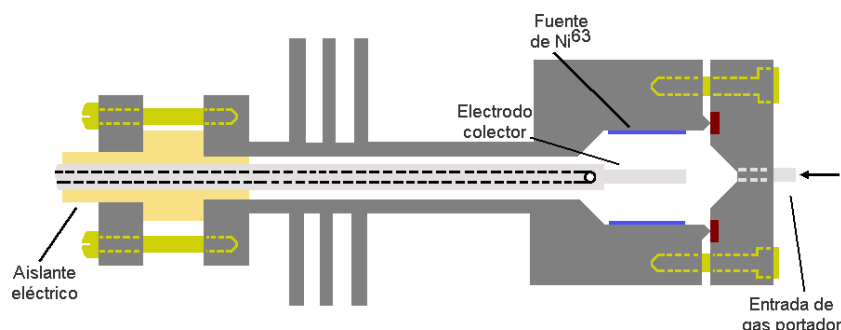


Figura 13. Detector de captura electrónica de tipo concéntrico

Por término medio, cada partícula β puede producir entre 100 y 1.000 electrones térmicos con un rango de energías de entre 0,02 y 0,05 eV; la aplicación de un potencial a la célula del detector de captura, permite que los electrones térmicos sean recogidos en un electrodo colector, estableciéndose de esta forma una corriente de fondo, en presencia de gas portador puro, que da lugar a la línea de base del detector. Cuando un compuesto activo frente a este detector, penetra junto con el gas portador en la célula de medida, puede capturar a los electrones térmicos para generar bien iones negativos de menor movilidad que los electrones, bien fragmentos neutros por recombinación con los iones positivos del plasma generado en el proceso primario; este proceso de captura, origina una disminución de la corriente de fondo del detector, que puede relacionarse de forma cuantitativa con la cantidad de analito que está pasando a través del detector.

Las fuentes de partículas β utilizadas en este tipo de detectores son emisores débiles, ^3H , ^{63}Ni , ^{55}Fe , o electrones emitidos por efecto termoeléctrico, aunque en la práctica sólo son asequibles detectores basados en fuentes de ^{63}Ni y en algunos casos de tritio. Como gases portadores, el detector de captura electrónica puede utilizar únicamente hidrógeno, gases nobles o nitrógeno, que deben estar libres, hasta niveles extremadamente bajos de trazas de oxígeno y vapor de agua.

El detector de captura electrónica, responde de forma muy selectiva frente a compuestos que presenten grupos con elevada afinidad electrónica, en particular halógenos y grupos nitro, ofreciendo frente a este tipo de compuestos una respuesta 10^6 - 10^7 veces superior a la que muestra frente a los hidrocarburos.

En conclusión, el detector de captura electrónica ofrece unas características muy buenas tanto por su sensibilidad como por su especificidad, no obstante, hay que resaltar que el manejo de estos detectores no es sencillo, ya que su respuesta puede ser muy variable en función de las condiciones experimentales (potencial de polarización, temperatura, caudal de gas portador, etc.), viéndose afectadas no sólo su sensibilidad sino también su selectividad y su rango dinámico lineal, que en ocasiones puede llegar a quedar muy reducido; a estas dificultades hay que añadir su sensibilidad hacia cualquier tipo de contaminación y la gran dificultad que representa su limpieza, por lo que en el trabajo con este tipo de detector deben tomarse siempre las mayores precauciones.

Detector de nitrógeno-fósforo.

El detector de nitrógeno-fósforo (también conocido como detector termoiónico o detector de llama alcalina), está basado en el hecho de que la adición de una sal de metales alcalinos a la llama de un detector de ionización aumenta la respuesta de éste hacia determinados elementos

(fósforo, nitrógeno, azufre, etc.). La selectividad de este tipo de detectores es muy dependiente de parámetros tales como la temperatura, la forma y el tamaño de la llama, la composición de la sal alcalina, geometría del detector, etc.; debido a esta dependencia de muchos parámetros experimentales, el manejo de este tipo de detector es difícil, la optimización de la respuesta es tediosa y su estabilidad, debido a pérdidas por vaporización de la sal alcalina, es muy escasa.

Parte de los problemas mencionados, han sido solucionados en muchos detectores comerciales en base a substituir la perla de sal alcalina del detector por un vidrio o una cerámica alcalina calentada eléctricamente de forma independiente. En un detector de este tipo (figura 14), una perla de un silicato de metal alcalino, calentada eléctricamente, se coloca entre el “jet” del detector y el electrodo colector, manteniéndose la perla a un potencial negativo para reducir las pérdidas de metal alcalino. En la región de la perla, se genera un plasma por medio de una mezcla aire/hidrógeno, utilizándose un flujo de hidrógeno muy bajo (normalmente entre 1 y 5 ml/min), insuficiente para mantener una llama pero suficiente para mantener un plasma en el que puedan darse los fenómenos de ionización.

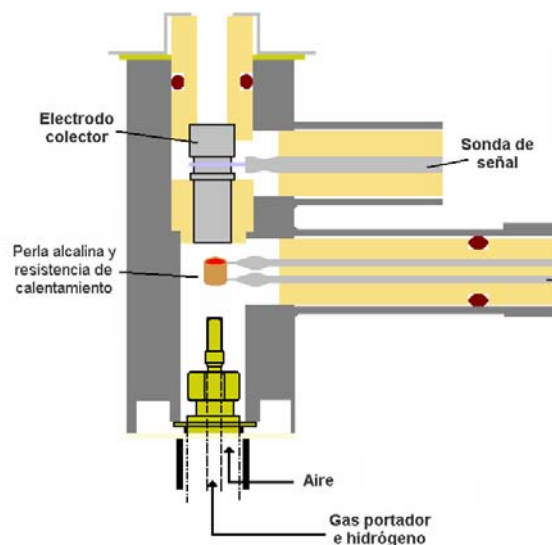


Figura 14. Detector de nitrógeno-fósforo

El detector de nitrógeno fósforo ofrece una sensibilidad de aproximadamente 10^{-13} g/s de nitrógeno y 5×10^{-14} g/s de fósforo, con una especificidad de 10^4 sobre compuestos que no presenten estos átomos y su rango dinámico oscila entre 10^4 y 10^5 . El detector NPD es muy utilizado en el campo de medio ambiente, fundamentalmente para la determinación de residuos de plaguicidas, debido a su sensibilidad y a su especificidad, lo que permite minimizar la limpieza de las muestras. El principal problema que presenta este detector es la inestabilidad de su respuesta, debida fundamentalmente a contaminación o pérdida de actividad de la perla alcalina, por lo que es necesario realizar calibraciones con relativa frecuencia.

Detector fotométrico de llama

El detector fotométrico de llama (FPD), utiliza una llama de hidrógeno para excitar a un estado electrónico elevado fragmentos de moléculas que contengan átomos de azufre o fósforo. Estos dos elementos son excitados de forma óptima por la llama de hidrógeno, y cuando retornan a su estado fundamental emiten las líneas características de sus espectros; las líneas analíticas de interés son seleccionadas por medio de un filtro (392 nm para determinar azufre y 526 nm para fósforo) y la intensidad de la radiación emitida es medida por medio de un fotomultiplicador (figura 15).

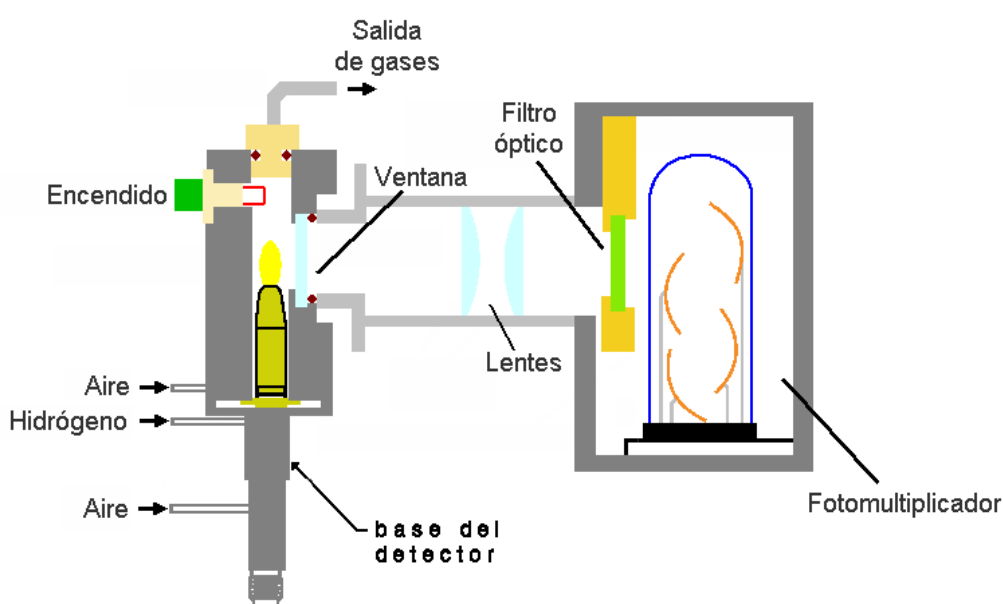


Figura 15, Esquema de un detector fotométrico de llama

En este tipo de detector, el gas portador procedente de la columna es mezclado con aire y quemado en una atmósfera de hidrógeno; la emisión de los átomos de azufre o fósforo se da fundamentalmente en la zona superior, rica en hidrógeno de la llama, por lo que en ocasiones se utiliza un diseño de doble quemador (figura 16) con una segunda llama para producir la excitación; este diseño, ayuda a además a evitar el fenómeno de apagado de llama, que se da en este tipo de detectores, cuando eluye de la columna un compuesto en gran cantidad (básicamente el disolvente de inyección).

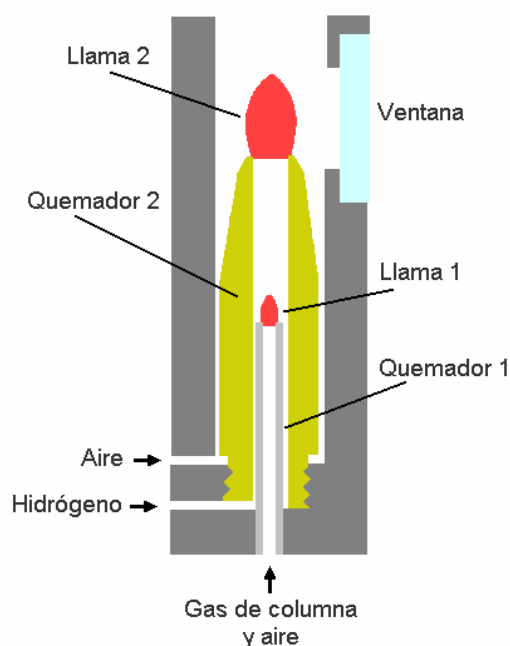


Figura 16. Detalle de un doble quemador

La sensibilidad y selectividad de este tipo de detectores son variables, dependiendo de su diseño y de las condiciones de trabajo, pero un valor de sensibilidad típico es 10^{-13} g/s para fósforo y 10^{-12} g/s para azufre, con un rango dinámico lineal de aproximadamente 1.000. La selectividad de estos detectores oscila entre valores de 5×10^5 para el caso del fósforo y 10^3 para el caso del azufre.

Detector de fotoionización

Los detectores de fotoionización están basados en la utilización de los fotones generados en una lámpara de descarga para ionizar los compuestos orgánicos que emergen, junto con el gas portador, de una columna cromatográfica.

Este tipo de detectores, utilizan para generar la radiación un tubo de descarga que contiene una mezcla de gases a baja presión; éstos son excitados por medio de una diferencia de potencial elevada que se mantiene entre dos electrodos. La variación en las proporciones de la mezcla de gases de la lámpara, permite obtener radiación ultravioleta de diferentes energías, aunque la más utilizada es la lámpara de 10,2 Ev.

En este detector (figura 17), el gas portador pasa a través de una cámara de ionización, separada físicamente del tubo de descarga por medio de una ventana transparente a la radiación (generalmente de MgF_2). Los compuestos que eluyen de la columna son ionizados por los

fotones de alta energía procedentes de la lámpara y los iones generados son recogidos por medio de un electrodo polarizado adecuadamente.

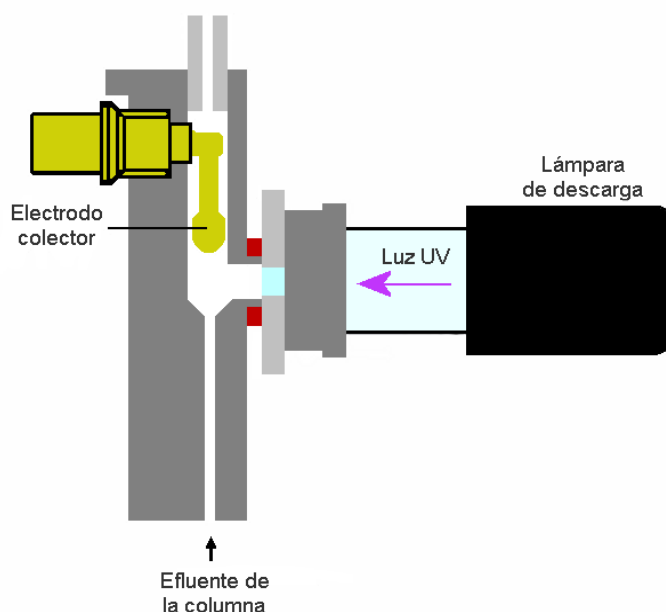


Figura 17. Detector de fotoionización

Prácticamente la totalidad de los compuestos orgánicos dan algún tipo de respuesta con estos detectores. La sensibilidad del detector de fotoionización es dependiente del potencial de ionización del compuesto de que se trate; la respuesta del detector frente a los compuestos orgánicos sigue el orden general:

Compuestos aromáticos > alquenos > alcanos > alcoholes > ésteres > aldehidos > cetonas

En general, el detector de fotoionización es entre 5 y 10 veces más sensible que el detector de ionización de llama frente a los alcanos, y del orden de 35 veces más sensible frente a los hidrocarburos aromáticos; su rango dinámico lineal es, por término medio, de cuatro órdenes de magnitud.

Detector de conductividad electrolítica

La utilización del detector de conductividad, está basada en la medida de las variaciones de la conductividad que presenta una disolución de electrolitos; estos electrolitos se forman por disolución en agua de los productos de las sustancias eluidas; por supuesto, solo las sustancias que contengan grupos capaces de comportarse como electrolitos serán detectables por este medio.

La descomposición de las sustancias eluidas se lleva a cabo por medio de pirólisis o de reacciones catalizadas en un horno de flujo de bajo volumen, formado normalmente por un tubo de níquel o cuarzo de pequeño diámetro mantenido a una temperatura de 500 a 1.000 °C. Las reacciones catalizadas de oxidación o reducción, se realizan mezclando el gas portador con oxígeno, aire o hidrógeno a la salida de la columna y haciendo pasar esta mezcla por un catalizador (normalmente un hilo de níquel) contenido dentro del tubo reactor. En ocasiones, a la salida del horno de pirólisis se sitúa un filtro químico con objeto de retener de forma selectiva alguno de los productos de pirólisis con objeto de aumentar la selectividad del detector. El esquema de un detector de conductividad se encuentra en la figura 18.

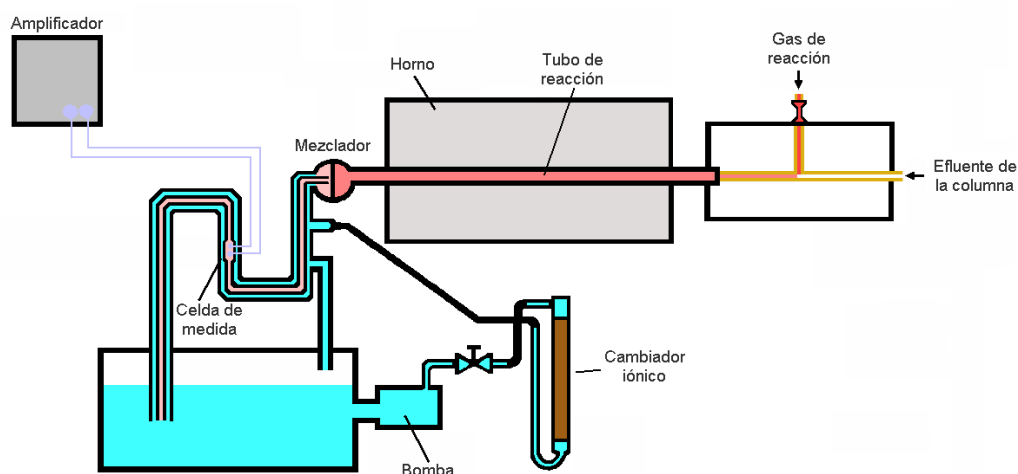


Figura 18. Diagrama de funcionamiento de un detector de conductividad

El detector de conductividad electrolítica más ampliamente utilizado es el de Hall; la célula de medida de este detector (figura 19), mide la conductividad del líquido en su primera parte, y la conductividad del líquido más la de los productos de la pirólisis en la segunda, sumándose después de forma diferencial las señales de las dos medidas, con lo que se minimizan las fluctuaciones de respuesta debido a factores que puedan afectar a la medida (conductividad de base del líquido, variaciones de temperatura, etc.).

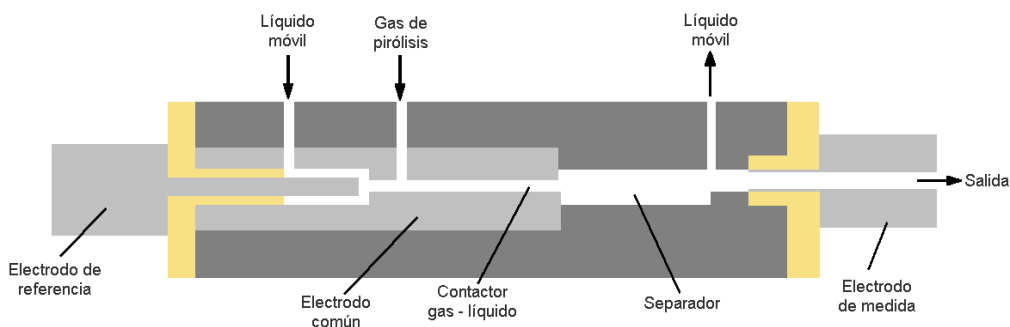


Figura 19. Esquema de la célula de conductividad de un detector Hall

Los líquidos de base utilizados en estos detectores están formados normalmente por alcoholes (metanol, isopropanol, etc.) solos o mezclados con agua; la utilización de este tipo de disolventes en lugar de agua permite mejorar notablemente la sensibilidad, la selectividad y el rango dinámico lineal del detector.

Los detectores de conductividad ofrecen una buena sensibilidad (entre 10^{-12} y 10^{-13} g/s del elemento con el que se esté trabajando), una buena selectividad (entre 10^4 y 10^9 según elementos) y un rango dinámico lineal que oscila entre 10^3 y 10^5 . De todas formas, la utilización de este tipo de detectores no es fácil, ya que cualquier tipo de contaminación, un catalizador desactivado, un filtro químico agotado, etc. se traducen con mucha facilidad en deformaciones de los picos, ruido elevado y falta de linealidad en la respuesta.

COLUMNA CROMATOGRAFICA

Al igual que sucede en todas las técnicas cromatográficas, la columna es el corazón del cromatógrafo de gases. Es necesario tener siempre presente que la columna es el auténtico elemento de separación de los componentes de la muestra; así, una mala elección de la columna, una columna deteriorada o unas condiciones de trabajo inadecuadas, nunca permitirán obtener buenos resultados aunque se disponga del mejor equipo en el resto del cromatógrafo, siendo además las causas citadas las responsables de la inmensa mayor parte de los problemas que se encuentran a la hora de realizar un análisis por cromatografía de gases.

Una columna para cromatografía de gases, está formada por un tubo, que puede ser de diversos materiales (preferiblemente inertes), dentro del cual se encuentra la fase estacionaria. Esta puede ser un sólido activo (cromatografía gas sólido), o con mayor frecuencia un líquido depositado sobre las partículas de un sólido portador (columnas empaquetadas o de relleno) o sobre las propias paredes del tubo (columnas tubulares abiertas).

Columnas empaquetadas

Las columnas empaquetadas consisten, como ya se ha mencionado, en un tubo (normalmente de vidrio o acero inoxidable) con un diámetro interno que varía entre 2 y 5 mm y de una longitud que oscila entre 1 y 15 m, arrollado de una forma adecuada para poderse introducir en el interior del horno del cromatógrafo (figura 20).



Figura 20. Columnas empaquetadas para cromatografía de gases

En el interior del tubo, se dispone la fase estacionaria bajo la forma de un líquido soportado sobre un material adecuado finamente pulverizado; el diámetro de las partículas del relleno debe ser, al menos, 10 veces inferior al diámetro del tubo, con el fin de conseguir una buena uniformidad en su distribución. El relleno, se encuentra confinado en el interior del tubo por medio de tapones del algún material poroso (generalmente lana de vidrio o lana de cuarzo) situados en los extremos.

La longitud, y consecuentemente la eficacia, de las columnas empaquetadas se encuentra limitada fundamentalmente por la caída de presión del gas portador entre cabeza y salida de columna.

Columnas tubulares abiertas

Las columnas tubulares abiertas (conocidas normalmente como columnas capilares) fueron descritas inicialmente por Golay en 1957, y se encuentran entre las más ampliamente utilizadas debido a la gran eficacia de separación que proporcionan.

Básicamente, una columna tubular está formada por un tubo (normalmente de vidrio o sílice fundida) de un diámetro comprendido entre 0,2 y 0,8 mm, en cuya pared interna se dispone la fase estacionaria. Según sea la forma en que se dispone la fase estacionaria sobre la pared del tubo, se distinguen básicamente dos tipos de columnas (figura 21):

- a) Columnas WCOT (Wall Coated Open Tubular). En este tipo de columnas (que son las de uso más frecuente), la fase estacionaria se encuentra depositada formando una película líquida directamente sobre las paredes del tubo.
- b) Columnas PLOT (Porous Layer Open Tubular). En estas columnas la pared interna del tubo está recubierta por una capa de un soporte adsorbente; si a su vez el soporte está impregnado con una fase estacionaria líquida, las columnas son denominadas SCOT (Support Coated Open Tubular).

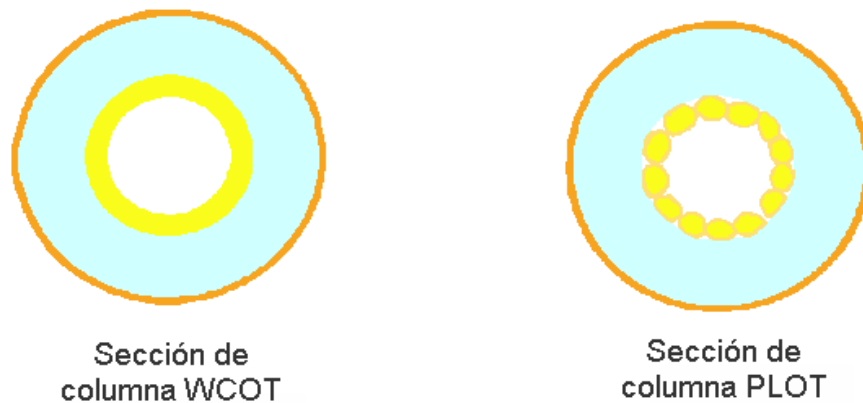


Figura 21. Tipos de columnas tubulares abiertas

Es evidente que la permeabilidad de las columnas tubulares hacia los gases es mucho mayor que la de las columnas empaquetadas (del orden de 100 veces mayor), por lo que este tipo de columnas pueden tener una longitud bastante grande (son muy frecuentes columnas de 50 m) sin provocar presiones excesivamente elevadas en cabeza de columna.

El enorme uso que se hace de este tipo de columnas es debido fundamentalmente a que la elevada eficacia que ofrecen (son frecuentes valores de 30.000 a 50.000 platos frente a los 2.000 - 4.000 de una columna empaquetada) permite la separación de mezclas muy complejas con relativa facilidad; por otra parte, la gran eficacia de este tipo de columnas permite conseguir buenas resoluciones sin recurrir a fases estacionarias de gran selectividad, lo que simplifica mucho el problema de la elección de la fase estacionaria (prácticamente todas las separaciones se pueden realizar con tres o cuatro columnas diferentes).

El principal inconveniente de este tipo de columnas es su pequeña capacidad de carga, lo que obliga a utilizar sistemas de inyección especiales para introducir pequeñas cantidades de muestra y detectores de muy alta sensibilidad. No obstante, tanto las columnas SCOT como las WBOT de diámetros mayores de 0,5 mm (columnas “Wide Bore”) ofrecen una capacidad de

carga suficiente como para poder inyectar cantidades del orden de 1 µl sin utilizar un “splitter” con una pérdida de eficacia relativamente pequeña. Las columnas de este tipo tienen una utilización potencial muy alta en el campo del análisis de trazas.

Soporte sólido

La misión de los soportes sólidos utilizados en algunos tipos de columnas es la de proporcionar una superficie sobre la que se deposita la fase estacionaria líquida en forma de película uniforme.

Los soportes utilizados en cromatografía de gases deben reunir una serie de cualidades, como son:

- 1.- Deben presentar una superficie específica relativamente elevada, con el fin de que la fase estacionaria pueda distribuirse de manera uniforme y ofreciendo la máxima superficie de contacto con la fase móvil para facilitar los procesos de intercambio.
- 2.- Deben ser porosos, con el fin de no provocar caídas excesivas de presión
- 3.- Deben ser relativamente duros para que sus partículas no se rompan durante los procesos de impregnación y llenado de las columnas.
- 4.- Deben ser térmicamente estables.
- 5.- La superficie de los soportes debe ser químicamente inerte y no debe provocar fenómenos de adsorción que puedan influir en la separación cromatográfica.

Ninguno de los materiales probados hasta este momento cumple todas las condiciones expuestas por lo que, en la práctica, es necesario elegir de entre los soportes existentes el que mejor se adapte a cada separación concreta aunque sea a costa de sacrificar alguna de las propiedades deseables.

Como soportes, se han utilizado sólidos inertes de todo tipo, microbolas de vidrio, carbón grafitizado, metales, sílices, fluoropolímeros, polímeros porosos, etc. aunque los más utilizados son los soportes preparados a base de tierras de diatomeas sinterizadas (Chromosorb, Gas Chrom, etc.); la superficie de estos materiales se somete a diversos tratamientos químicos (lavados ácidos o básicos, silanización de grupos silanol libres, ligado de pequeñas cantidades

de fases estacionarias, etc), con el fin de eliminar, en la mayor medida posible, los puntos activos de la superficie del soporte que pudiesen interactuar con los compuestos a separar. En la Tabla 1 se recogen las propiedades de algunos soportes diatomáceos típicos.

Tabla 1. Propiedades de algunos soportes diatomáceos

Soporte	Color	pH	Superficie específica m ² /g	Densidad g/ml	Carga máxima de fase estacionaria
Chromosorb P	Rosado	6,5	4,0	0,47	30 %
Chromosorb A	Rosado	7,1	2,7	0,48	25 %
Chromosorb G	Blanco	8,5	0,5	0,58	5 %
Chromosorb W	Blanco	8,5	1,0	0,24	20 %
Chromosorb 750	Blanco	-	0,5 - 1,0	0,36	7 %

En lo que respecta al tamaño de partícula de los soportes, a pesar de que según la ecuación de Van Deemter la eficacia de la columna aumenta al disminuir el tamaño de las partículas de relleno, existe un límite inferior debido a la resistencia al flujo de gas que oponen los lechos cromatográficos formados por partículas muy finas. En la práctica, los tamaños de partícula utilizados varían entre 40 y 120 mallas A.S.T.M. (420 a 125 μm), siendo las granulometrías más frecuentes las de 60 - 80, 80-100 y 100 - 120 mallas.

La fase estacionaria

La fase estacionaria tiene en cromatografía de gases un papel fundamental, ya que la fase móvil es cromatográficamente inerte y las separaciones son debidas exclusivamente a las interacciones específicas que se dan entre los componentes de la muestra y la fase estacionaria.

Como en casi todos los casos, las propiedades deseables de una fase estacionaria son con frecuencia contradictorias, por lo que no existe la fase estacionaria ideal. Las propiedades que debería cumplir una fase estacionaria son:

- 1.- Debería tener un rango de temperaturas de utilización lo más amplio posible (idealmente entre -60 y 400 °C).

- 2.- Debe tener una presión de vapor lo más baja posible.
- 3.- Debe ser térmicamente estable.
- 4.- Debe ser químicamente inerte.
- 5.- Debe tener baja viscosidad en las condiciones de trabajo.
- 6.- Debe mojar bien el soporte, presentando además una adherencia suficiente como para que no sea arrastrada por la fase móvil.

Además de cumplir estos requisitos generales, la fase estacionaria debe ser selectiva frente a los compuestos a separar. Evidentemente, no existe ninguna fase estacionaria que cumpla todos los requisitos anteriores, aunque para realizar separaciones a temperaturas elevadas, la utilización de polímeros “líquidos” de elevado peso molecular ofrece resultados bastante buenos.

A nivel molecular, la retención de un soluto por parte de la fase estacionaria puede ser debida a cualquier tipo de fuerzas intermoleculares:

- 1.- Fuerzas de dispersión (fuerzas de London). Este tipo de fuerzas son debidas a los campos eléctricos producidas por dipolos instantáneos debidos al movimiento relativo de núcleos y electrones. Las fuerzas de dispersión son las únicas que actúan entre fases estacionarias y solutos no polares.
- 2.- Fuerzas de inducción (fuerzas de Debye). Este tipo de fuerzas son debidas a la interacción electrostática que se produce entre dipolos permanentes y dipolos instantáneos, formados en moléculas no polares aunque polarizables, inducidos por los primeros.
- 3.- Fuerzas de orientación (fuerzas de Keesom). Son debidas a la interacción entre dipolos permanentes, tanto de la fase estacionaria como del soluto.
- 4.- Fuerzas donador-aceptor. Son debidas a interacciones químicas de carácter débil (un ejemplo puede ser el enlace de hidrógeno), en las que se produce una transferencia no completa de electrones por parte del donador hacia el aceptor.

Para compuestos no polares, las únicas fuerzas de interacción entre el soluto y la fase estacionaria son las dispersivas; este tipo de fuerzas no son selectivas, y en las separaciones

basadas en este tipo de fuerzas los solutos emergen de la columna, por lo general, en orden correspondiente a sus puntos de ebullición.

Para compuestos polares, las interacciones de mayor importancia son las debidas a fuerzas de inducción y orientación y en algunos casos a interacciones electrónicas específicas de tipo donador-aceptor; este tipo de fuerzas dependen del momento dipolar y de las polarizabilidades tanto de la fase estacionaria como del soluto.

La suma de todas las interacciones entre un soluto y una fase estacionaria es una medida de la “polaridad” de la fase respecto al soluto, que marca las características generales de retención, mientras que la magnitud de cada uno de los tipos de interacciones particulares marcará la selectividad de la fase estacionaria, de gran importancia ya que puede permitir separar en una fase estacionaria concreta solutos de igual polaridad.

Caracterización de las fases estacionarias

Las características de mayor interés a la hora de seleccionar una fase estacionaria concreta son el rango de temperaturas de trabajo, la viscosidad de la fase dentro de este rango y su capacidad para interactuar de forma selectiva con diferentes solutos.

Como norma general, la temperatura más baja de utilización de una fase estacionaria corresponde a su temperatura de fusión. El límite superior de temperatura de una fase estacionaria es la temperatura más elevada a la que puede mantenerse sin que se produzcan descomposiciones o sangrados significativos. Muchas fases estacionarias poliméricas presentan una dispersión importante en su rango de pesos moleculares, por lo que los oligómeros que puedan contener se evaporarán dejando la columna con una proporción de fase estacionaria mucho menor de lo previsto; en estos casos, la máxima temperatura de uso se define como aquella a la que se puede mantener la fase estacionaria durante 24 horas sin cambios apreciables en las características de retención de la columna.

Las características de retención de una fase estacionaria (polaridad y selectividad) se determinan mediante el método de McReynolds. El sistema de Rohrschneider/McReynolds está basado en la aditividad de las fuerzas de atracción intermoleculares, que pueden ser evaluadas a partir de las diferencias de los índices de retención de una serie de compuestos de prueba en la fase estacionaria que se trata de caracterizar y en escualano (una fase apolar de referencia).

Las constantes de caracterización propuestas inicialmente por Rohrschneider (X' , Y' , Z' , U' y S'), se calculaban en base a la retención de benceno, etanol, 2-butanona, nitrometano y

piridina. En el método sugerido por McReynolds se utilizan 10 compuestos de prueba (Tabla 2), aunque para la caracterización rutinaria se utilizan únicamente la cinco primeras constantes (X' a S').

La determinación práctica de las constantes de McReynolds se realiza midiendo para cada uno de los compuestos de prueba el índice de retención de Kovats en la fase que se trata de caracterizar y en escualano. El índice de retención de Kovats se define por medio de la ecuación:

$$I = 100 z + 100 n \left(\frac{\log t'_R(x) - \log t'_R(z)}{\log t'_R(z+n) - \log t'_R(z)} \right)$$

I:	índice de retención de la sustancia x
$t'_R(x)$:	tiempo de retención corregido de la sustancia x
z:	número de átomos de carbono de un <i>n</i> -alcano que eluye de la columna antes que la sustancia x
z+n:	numero de carbonos de un <i>n</i> -alcano que eluye después de la sustancia x
$t'_R(z)$ y $t'_R(z+n)$:	tiempos de retención corregidos de los dos <i>n</i> -alcanos

A partir de los índices de retención, cada constante de la fase estacionaria se determinará por diferencia entre el índice de retención del compuesto de prueba en ella y en escualano; así, por ejemplo, la constante X' de una fase estacionaria se calcula por medio de la ecuación:

$$X' = \Delta I (\text{benceno}) = I^{\text{fase}} - I^{\text{escualano}}$$

La determinación de las constantes de McReynolds se realiza normalmente con una temperatura de columna de 100 - 120 °C y con un recubrimiento de fase estacionaria de 10 - 20 %.

Las constantes de McReynolds pueden utilizarse no solamente para caracterizar las fases estacionarias, sino también como guía de selección de la fase a utilizar para la separación de un compuesto determinado atendiendo a su funcionalidad; así, si se trata de separar una serie de compuestos con una funcionalización común, en un primer intento se podría seleccionar una fase estacionaria con un valor elevado de las constantes de McReynolds relacionadas con el grupo funcional común a fin de que la fase estacionaria tenga una selectividad elevada. De cualquier forma, debe tenerse siempre en cuenta que estas constantes caracterizan las fases estacionarias

en una primera aproximación, y que en ocasiones se pueden encontrar fases estacionarias con selectividades muy diferentes a pesar de tener muy similares los valores de las constantes de McReynolds.

Tabla 2. Compuestos utilizados y significado de las constantes de McReynolds

Símbolo	Compuesto de prueba	Interacción medida	Grupo funcional implicado
X'	Benceno	Fuerzas de dispersión y propiedades débiles de aceptor de protones	Aromáticos y olefinas
Y'	1-butanol	Fuerzas de orientación y capacidad de donar y aceptar protones	Alcoholes, nitrilos y ácidos
Z'	2-pentanona	Fuerzas de orientación y capacidad de aceptar protones	Cetonas, éteres, aldehidos, ésteres, epóxidos, dimetilaminoderivados
U'	Nitropropano	Fuerzas de orientación	Nitrilos y nitroderivados
S'	Piridina	Fuerzas de orientación débiles y capacidad aceptora de protones	Bases aromáticas
H'	2-metil-2-pentanol		Compuestos ramificados, particularmente alcoholes
J'	2-iodobutano		Compuestos halogenados
K'	2-octino		
L'	1,4-dioxano	Fuerzas de orientación y capacidad de aceptar protones	
M'	<i>cis</i> -hidrindano		

Características de algunas fases estacionarias

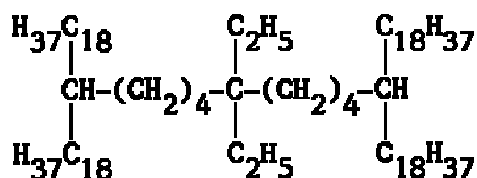
En cromatografía de gases, pueden llevarse a cabo la mayoría de las separaciones utilizando unos cuantos tipos de fases estacionarias de uso frecuente, sintetizadas específicamente para este uso. Seguidamente, se describirán algunas tipos de fases estacionarias de uso común.

1.- Hidrocarburos.

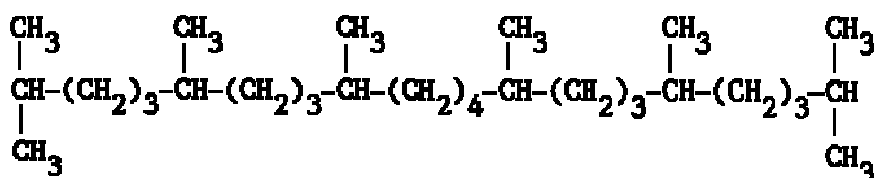
Desde los principios de la cromatografía de gases, se han utilizado como fases estacionarias apolares hidrocarburos de elevado peso molecular (escualano, grasas de apiezo, etc.).

Las únicas fuerzas de interacción que se tienen con este tipo de fases son las de dispersión, por lo que los compuestos cromatografiados eluirán de las columnas que utilicen este tipo de fases en orden de volatilidad, y en el caso de algunos compuestos muy polares, en orden inverso a su hidrofobicidad

Este tipo de fases estacionarias es muy utilizado como referencia para la caracterización de otras fases estacionarias, utilizándose fundamentalmente con este fin el escualano:



El escualano presenta el inconveniente de tener una temperatura máxima de trabajo muy baja (120 °C), por lo que en ocasiones se ha propuesto su sustitución por el apiezo MH o por el hidrocarburo de Kovats o apolano-87:

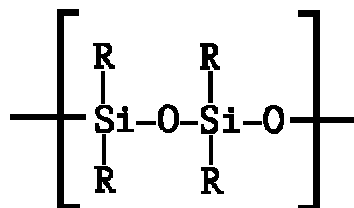


El principal inconveniente de este tipo de fases estacionarias es su facilidad de oxidación, que lleva normalmente a una alteración de sus características de retención y, en casos extremos, a un elevado sangrado por fragmentación de las cadenas hidrocarbonadas.

2.- Polisiloxanos.

Los polisiloxanos o siliconas son, con mucho, el grupo de fases estacionarias de más amplia utilización debido a su elevada estabilidad térmica y a la posibilidad de modificar químicamente la estructura de base para obtener fases con diferentes polaridades y selectividades.

Los polisiloxanos presentan como base la estructura:



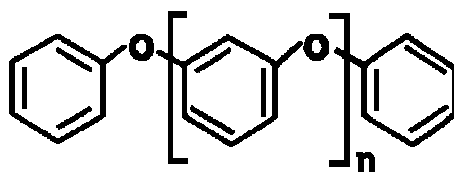
Donde R puede corresponder a grupos metilo, vinilo, fenilo, 3,3,3-trifluoropropilo, cianoetilo, etc., pudiendo estar toda la estructura substituida por un único grupo o por mezclas de cualquiera de los citados en cualquier proporción.

Los materiales de este tipo de utilización en cromatografía de gases deben ser extraordinariamente puros, no debiendo contener restos del catalizador de polimerización o de oligómeros; por otra parte los grupos terminales de los polímeros deben ser bloqueados cuidadosamente para maximizar la estabilidad térmica. Aparte de estos requerimientos, los polisiloxanos presentan una excepcional inercia, tanto térmica como química.

Las grandes posibilidades de variación estructural que tienen estos compuestos hacen que sea posible obtener fases estacionarias enormemente selectivas. En este sentido, los fenil, cianopropil y trifluoropropil polisiloxanos presentan muy buenas características de selectividad.

3.- Polifeniléteres.

Los polifeniléteres, cuya estructura base es:

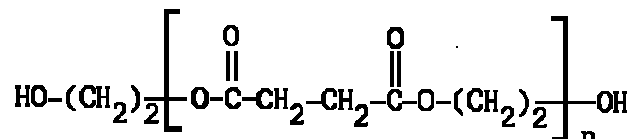


Son fases estacionarias moderadamente polares, químicamente bien caracterizadas y de utilidad para realizar muchas separaciones.

Su volatilidad es extraordinariamente baja dado su pequeño peso molecular (para valores de $n = 2$ y 3 , son estables hasta 200 y 250 °C respectivamente), por lo que los polímeros de este tipo que presentan un valor promedio de 20 anillos tienen gran utilidad para realizar separaciones a elevadas temperaturas (hasta 400 °C).

4.- Poliésteres.

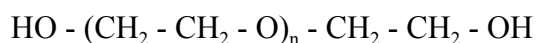
Los poliésteres son un grupo de polímeros resinosos formados por policondensación de un ácido polibásico con un polialcohol. Los poliésteres utilizados con más frecuencia como fases estacionarias son los adipatos y succinatos de etilenglicol, dietilenglicol y butanodiol; particularmente, es muy utilizado el polietilenglicol succinato (PEGS):



Los poliésteres son fases estacionarias moderadamente polares. Las columnas preparadas con este tipo de fases presentan el problema de su escasa estabilidad ya que los poliésteres son fácilmente hidrolizables, pueden reaccionar con algunos componentes de las muestras (por ejemplo aminas) y son muy sensibles a la oxidación; por estos motivos, la utilización de poliésteres como fase estacionaria ha disminuido bastante.

5.- Polietilenglicoles.

Los polietilenglicoles son fases estacionarias muy útiles para la separación de compuestos polares y con posibilidades de formación de enlaces de hidrógeno. Este tipo de fases estacionarias se preparan por polimerización del óxido de etileno, lo que da lugar a la estructura:



Los polímeros así formados se separan en fracciones de diferente peso molecular promedio, lo que da lugar a todo el rango de fases estacionarias de este tipo.

El factor fundamental que marca las características de retención de este tipo de fases es la concentración de grupos hidroxilo, y en mucho menor grado, el peso molecular promedio de la fase. Este último factor si tiene por el contrario una gran influencia sobre la estabilidad térmica de la fase; así, el Carbowax 20M, con un peso molecular promedio de 14.000, tiene una temperatura máxima de utilización de 225 °C, mientras que el Superox-4, con un peso molecular promedio de 4 millones, es utilizable a temperaturas de hasta 300 °C. El principal inconveniente que presenta este tipo de fases estacionarias es su facilidad de oxidación.

Fases estacionarias ligadas

En general, uno de los factores que influyen en la temperatura límite de utilización de las fases estacionarias, particularmente en las de baja viscosidad, es la tendencia de éstas a ser arrastradas por la corriente de gas portador a medida que la viscosidad de la fase va disminuyendo por efecto del aumento de temperatura; este efecto tiene una particular importancia en el caso de las columnas capilares dado que las paredes internas del tubo, que carecen de irregularidades, no tienen buenas características estructurales para mantener una película líquida.

Una solución a este problema, consiste en inmovilizar químicamente la fase estacionaria, bien sea por anclaje químico de la fase líquida sobre la superficie del soporte o de la pared del tubo capilar, bien por entrecruzamiento químico de las moléculas de la fase estacionaria para formar un retículo tridimensional de escasa movilidad.

Estas fases estacionarias son conocidas como fases ligadas o fases inmovilizadas y presentan una serie de ventajas sobre las fases estacionarias convencionales; en primer lugar, las fases inmovilizadas ofrecen temperaturas de utilización más elevadas que las fases convencionales, teniendo además un menor nivel de sangrado a temperaturas elevadas; por otra parte, dado que las fases de este tipo son prácticamente insolubles, son mucho menos afectadas que las fases normales por la inyección de elevados volúmenes de disolvente. Una ventaja adicional de este tipo de fases es que las columnas contaminadas por componentes no volátiles de las muestras pueden ser regeneradas mediante un lavado con disolventes adecuados.

La utilización de fases ligadas está particularmente extendida en las columnas tubulares abiertas (en la mayor parte de las columnas de este tipo se utilizan fases inmovilizadas), pero es frecuente encontrar también este tipo de fases, ligadas sobre soportes diatomáceos o sobre sílices, para su utilización en columnas empaquetadas (Ultra-bond, Durapak, Porasil, etc.).

Adsorbentes para cromatografía gas-sólido

La cromatografía gas sólido nunca ha alcanzado el mismo nivel de utilización que la cromatografía gas líquido; este hecho es debido fundamentalmente a varios factores:

- 1.- Las isothermas de adsorción en cromatografía gas sólido no son lineales, lo que da lugar a que los volúmenes de retención varíen con la cantidad de muestra, a que los picos sean asimétricos y, con frecuencia, a que las muestras no eluyan completamente de la columna.

- 2.- La elevada superficie específica de los adsorbentes, junto con una energía de interacción relativamente alta, dan lugar a tiempos de retención excesivamente largos; además, muchos adsorbentes muestran acusadas propiedades de catálisis a las temperaturas de trabajo de la columna.
- 3.- Los adsorbentes son bastante difíciles de estandarizar.

Por estos motivos, el uso de la cromatografía gas sólido se ha visto relegado a la separación de gases inorgánicos, hidrocarburos de bajo peso molecular, pequeñas moléculas polares, etc.

Como adsorbentes para cromatografía gas sólido se utilizan fundamentalmente sílices esféricas, alúmina, carbón grafitizado y tamices moleculares (zeolitas).

Otro grupo de adsorbentes para cromatografía gas-sólido, es el formado por polímeros porosos. Estos adsorbentes son preparados por polimerización en suspensión en un disolvente inerte; se forman así estructuras de tipo esponja, con el disolvente llenando los poros de la estructura y, tras un proceso de secado, la estructura porosa se mantiene, aunque con una rigidez suficiente como para poder realizar el empaquetado de la columna. Existen numerosos tipos de polímeros (Chromosorb serie 100, Porapak, etc.), con diferentes características de retención, obtenidos por variación del monómero, del reactivo de entrecruzamiento, etc.

Este tipo de polímeros tiene su principal aplicación en la separación de compuestos que dan lugar a adsorciones muy fuertes sobre los soportes diatomáceos clásicos (agua, alcoholes, ácidos carboxílicos, etc.). El principal inconveniente de este tipo de adsorbentes son sus máximas temperaturas de trabajo, que son relativamente bajas, y un elevado sangrado, lo que dificulta su utilización con detectores de alta sensibilidad.

ELECCION DE LA COLUMNA

La elección de la columna para realizar una separación concreta por cromatografía de gases, es normalmente la tarea más complicada del desarrollo de un método, pero es, por otra parte, el factor principal del que dependerá el éxito o el fracaso del desarrollo.

La elección de la columna cromatográfica es normalmente un trabajo empírico; no

obstante, como norma general puede recomendarse el seguir en la elección una serie de pasos que, de menor a mayor dificultad serán:

1.- Búsqueda de metodologías existentes.

Existe en la bibliografía una enorme cantidad de separaciones descritas y en muchos casos es posible encontrar, incluso sin realizar una búsqueda exhaustiva, una metodología adecuada para la separación que se desea realizar. En otros muchos casos, es relativamente fácil el encontrar metodologías desarrolladas para compuestos de estructura similar a los que se trata de separar, pudiéndose utilizar estas condiciones como punto de partida del método a desarrollar.

2.- Utilización de columnas capilares.

Como ya se mencionó, las columnas capilares (o tubulares abiertas) pueden proporcionar eficacias muy altas, por lo que es relativamente fácil que una columna capilar pueda realizar una separación concreta únicamente en base a su eficacia. Las columnas capilares sólo son asequibles de forma comercial con una variedad muy limitada de fases estacionarias (normalmente 6 ó 7), que cubren todo el rango de polaridades; la selección de una columna concreta es fácil de realizar atendiendo a la naturaleza química de los compuestos a separar y a las constantes de McReynolds de las fases estacionarias asequibles.

3.- Utilización de columnas empaquetadas.

En el caso de que la instrumentación disponible no permita la utilización de columnas capilares, de que la muestra a separar no sea adecuada para trabajar con ellas (necesidad de inyectar cantidades elevadas, problemas de discriminación en la inyección, etc.) o de que la eficacia necesaria para realizar la separación (calculada en base a la ecuación de resolución) sobrepase unos límites razonables, es necesario recurrir a la utilización de columnas empaquetadas.

La utilización de columnas empaquetadas permite en muchos casos, a pesar de la escasa eficacia que ofrecen, conseguir separaciones muy complejas en base a la selectividad de la fase estacionaria, ya que en este caso existe una enorme variedad de fases con características diferentes entre las que poder elegir una apropiada. La selección previa de una fase estacionaria puede realizarse en base a la estructura de los compuestos a separar y a las constantes de McReynolds de las fases, que darán una idea del tipo de interacciones en que estará basada la

separación así como de los grupos funcionales de las moléculas de soluto que pueden estar implicados.

4.- Utilización de fases mixtas.

Un sistema de conseguir selectividades muy elevadas en cromatografía de gases es la utilización de mezclas de dos o más fases estacionarias. La preparación de fases mixtas puede realizarse de diferentes formas:

- a) Fragmentos de empaquetado, cada uno con una fase estacionaria diferente, dispuestos en serie a lo largo de la columna.
- b) Columnas de lecho mixto, en las que cada una de las fases estacionarias, ya depositadas sobre un soporte adecuado, se mezclan en proporciones apropiadas.
- c) Rellenos propiamente de fase mixta, en los que las fases estacionarias son mezcladas antes de depositarlas sobre el soporte sólido.

La utilización de fases mixtas adecuadas permite conseguir una enorme variedad de propiedades de retención. En general las fases mixtas presentan unas propiedades de retención que son intermedias entre las de las fases que componen la mezcla (existen métodos de cálculo teórico para predecir el comportamiento de una fase mixta a partir de los datos de retención de una mezcla en cada una de las fases estacionarias individuales), por lo que la utilización de fases mixtas es muy utilizada para conseguir un “ajuste fino” de las propiedades de retención de una fase estacionaria; no obstante, y tal vez sea este el caso más interesante, cuando se realiza una mezcla de fases de polaridades muy diferentes, el comportamiento de la fase mixta es absolutamente diferente del que muestran por separado cada uno de sus componentes (comportamiento no ideal).

Evidentemente, la separación de una mezcla puede llegar a requerir, si es necesario recurrir a la utilización de selectividades especiales, una cantidad inmensa de trabajo, por lo que es preciso tener en cuenta que el desarrollo de una metodología de separación compleja sólo está justificado cuando el número de muestras a analizar con ella sea suficiente como para justificar el trabajo invertido o cuando exista una imposibilidad absoluta de realizar el análisis de una muestra de gran interés por medio de cualquier otra técnica.

SELECCION DE LAS CONDICIONES DE TRABAJO

Aparte de la elección de la columna a utilizar, existen muy pocos parámetros experimentales sobre los que se pueda influir a la hora de realizar una separación y, normalmente, su optimización resulta muy sencilla. Básicamente, los parámetros a fijar en cada caso serán:

- 1.- Naturaleza y velocidad del gas portador.
- 2.- Temperatura de detector.
- 3.- Temperatura de inyección.
- 4.- Temperatura de columna.

Como ya se ha comentado, el gas portador es básicamente inerte en la separación, por lo que la elección de uno u otro dependerá en cada caso de las necesidades del equipo y, de forma secundaria, de las necesidades de rapidez del análisis. Como norma general, en todos los casos debe trabajarse con la velocidad lineal de gas que corresponda al mínimo de la curva de AEPT, aunque en el caso de separaciones que no requieran grandes eficacias de columna puede aumentarse la velocidad para acortar el tiempo de análisis a expensas de reducir la eficacia.

La temperatura del detector, aunque en algunos tipos de detectores puede influir sobre la respuesta, no es normalmente un parámetro que requiera una optimización excesiva. La temperatura del detector debe ser siempre más elevada que la máxima temperatura de trabajo (o de limpieza) a que se someta la columna, con el fin de evitar que se puedan condensar en el detector compuestos eluidos de baja volatilidad; aparte de este criterio, las únicas limitaciones serán las que puedan venir determinadas por el tipo concreto de instrumento de que se trate.

La temperatura de inyección no suele ser tampoco un parámetro difícil de optimizar; en general, debe ser lo suficientemente elevada como para volatilizar completamente todos los componentes de la muestra, no debiéndose elevar más allá de este nivel para evitar posibles descomposiciones térmicas de la muestra. Estos criterios son los únicos a tener en cuenta salvo en el caso de sistemas de inyección especiales (inyecciones “splitless”, “cold on column”, etc.) que ya se han comentado.

La temperatura de la columna, si se trabaja en condiciones isotermas, o su programa de calentamiento son los únicos parámetros instrumentales que pueden tener una influencia decisiva en la separación.

En condiciones de trabajo isotermas, los picos que aparecen a pequeños volúmenes de

retención se encuentran con frecuencia mal resueltos, mientras que los que presentan volúmenes de retención elevados, aunque bien resueltos, aparecen a tiempos muy largos y presentan además un ensanchamiento considerable (figura 22); es evidente, por tanto, que la temperatura de columna debe elegirse de forma que los componentes de interés de la mezcla aparezcan con volúmenes de retención medios, aún a costa de dejar retenidos en la columna los componentes que presenten mayores tiempos de retención (figura 23). En estos casos, basta con realizar dos o tres inyecciones de prueba para determinar una temperatura de trabajo adecuada.

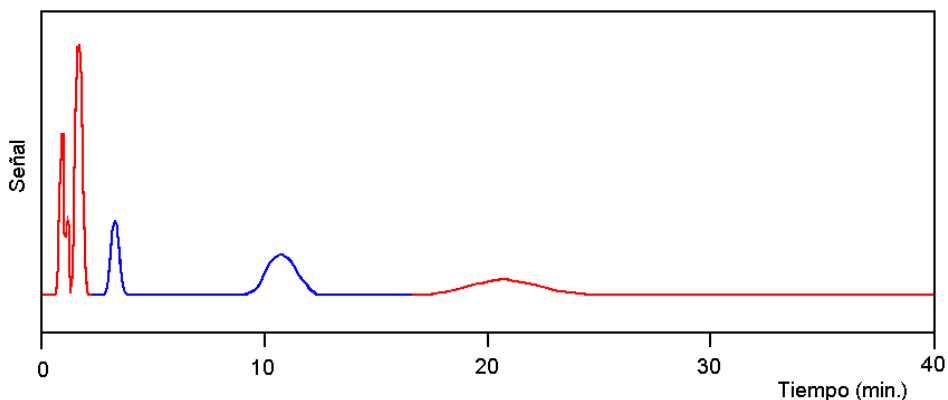


Figura 22. Cromatograma de una mezcla en condiciones isotermas

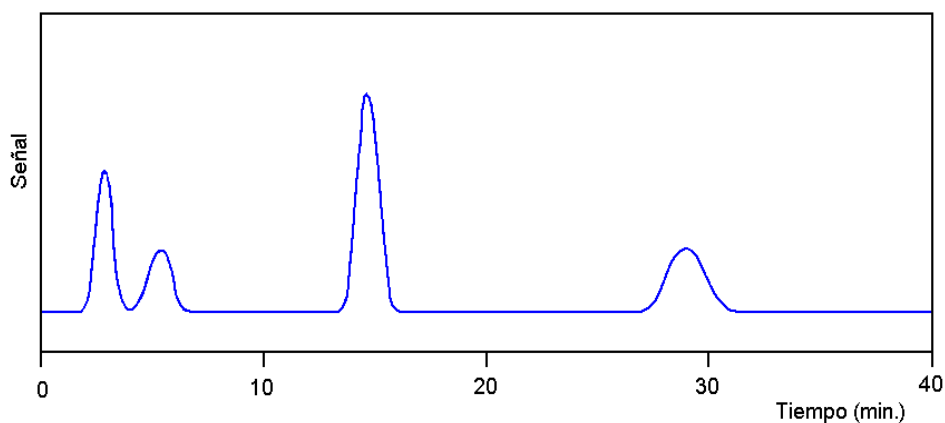


Figura 23. Condiciones isotermas adecuadas a los compuestos de interés

En muestras complejas y con componentes que presentan volúmenes de retención muy diferentes, es muy conveniente recurrir a técnicas de programación de temperatura (figura 24), es decir, incrementar la temperatura de la columna según un programa de calentamiento previamente establecido de temperatura en función del tiempo.

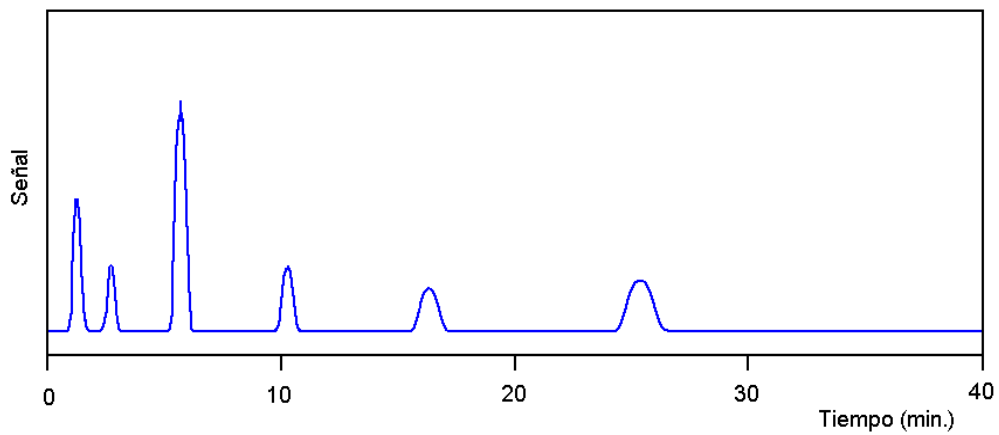


Figura 24. Cromatograma de una mezcla con programación de temperatura

En estos casos, resulta muy conveniente realizar una prueba previa con una velocidad de calentamiento relativamente elevada y cubriendo un rango de temperaturas muy amplio, con el fin de estimar la temperatura a la que eluye cada componente y la resolución que presentan los picos; a la vista de los resultados obtenidos, se podrá fijar mayor precisión el intervalo de temperatura a utilizar, así como la velocidad de calentamiento, teniendo en cuenta que la mayor separación entre los componentes se obtiene siempre con velocidades de calentamiento muy pequeñas.