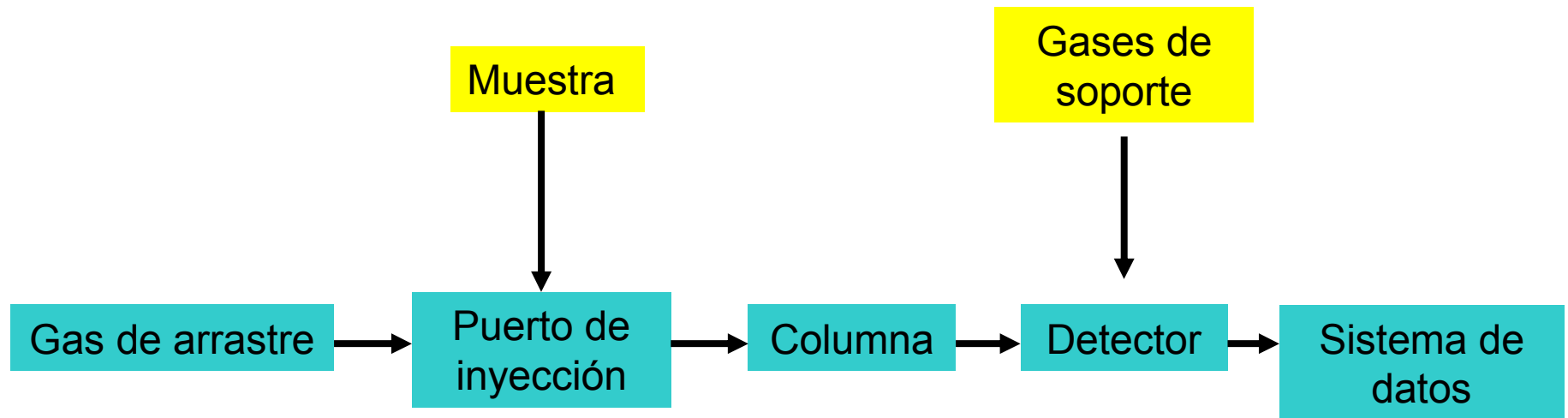


---

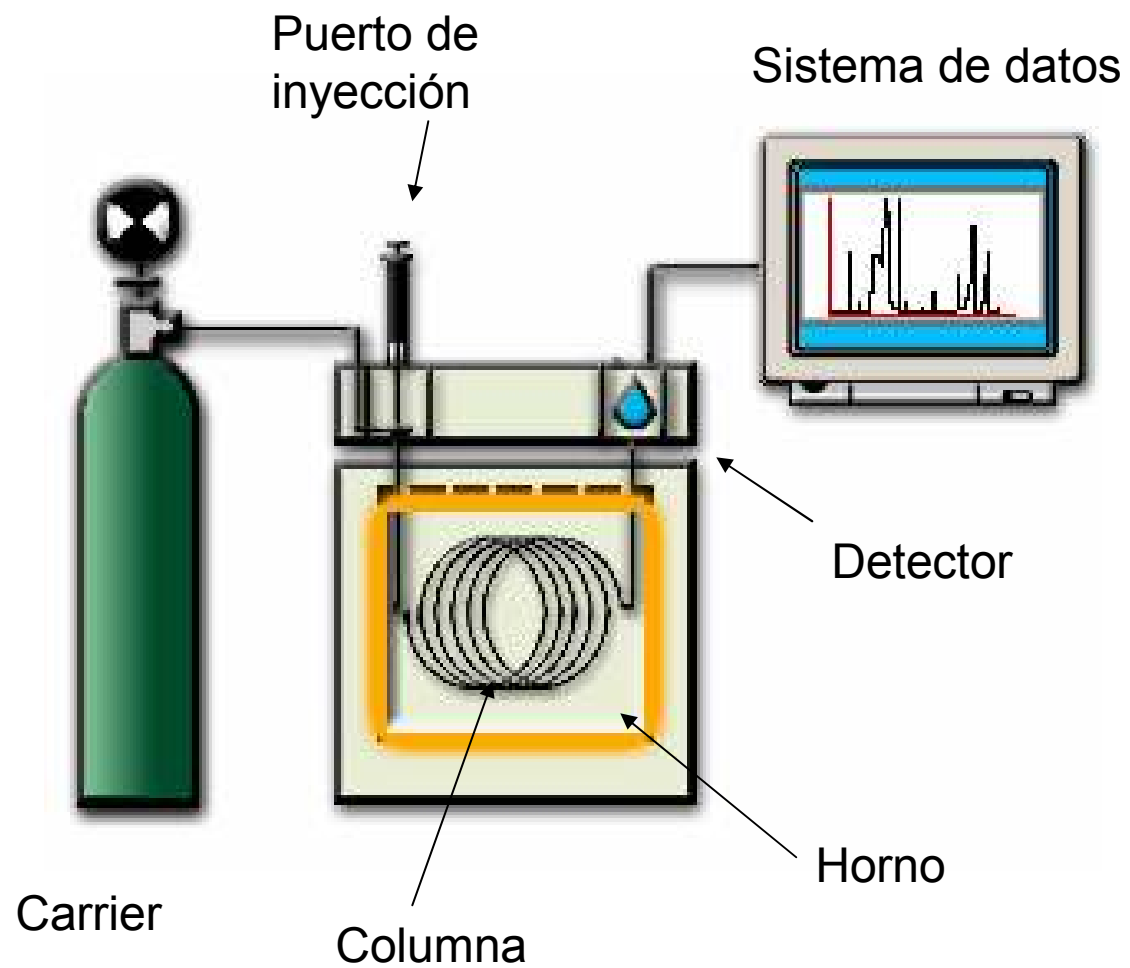
## ¿QUE ES CROMATOGRAFIA DE GASES ?

### Sistema cromatografico



---

## Esquema de un cromatógrafo de gases

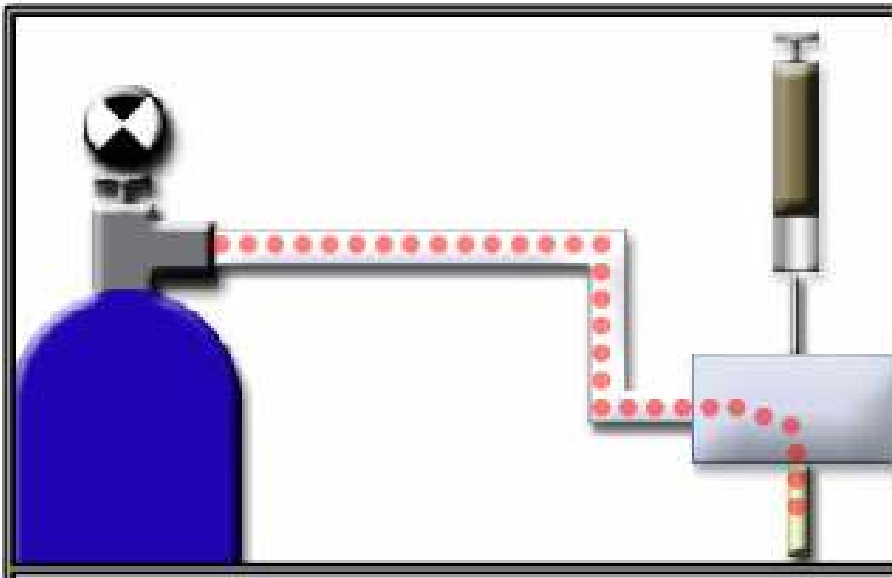


---

## Gas de arrastre

El gas de arrastre cumple dos funciones principales

1. Transportar los componentes de la muestra
2. Crear una matriz adecuada para el detector



Inerte

Puro

Fácilmente adquirible

Económico

Adecuado para el detector

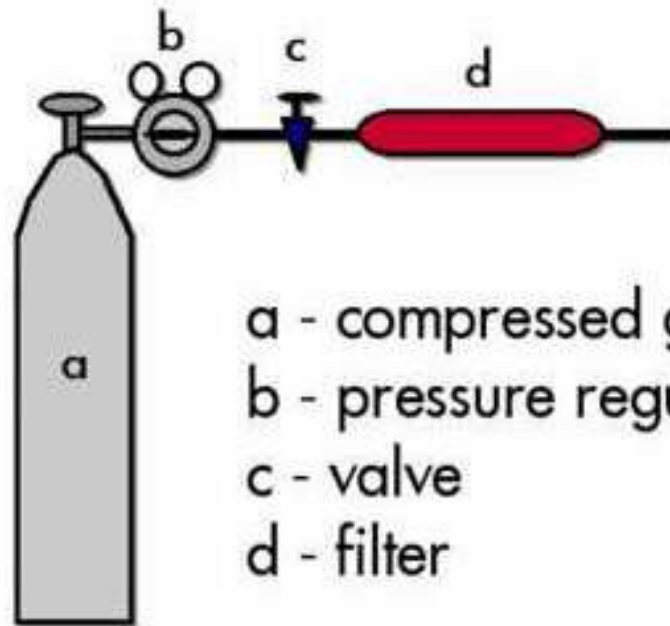
No debe interferir con el análisis

---

---

Para el suministro de gas se necesita un tanque de gas comprimido, un regulador de presión y una válvula de control

Actualmente se cuenta con sofisticados sistemas para control de suministro de gas al cromatógrafo



- a - compressed gas cylinder
  - b - pressure regulator
  - c - valve
  - d - filter
-

---

## Gases mas utilizados

Hidrogeno

Helio

Nitrógeno

Argón

Mezcla Argón/metano

Tanto los gases como los sistemas de suministro ( reguladores, tuberías, válvulas, etc ) deben tener características adecuadas para ser utilizados en cromatografía

Gases grado AP o UAP

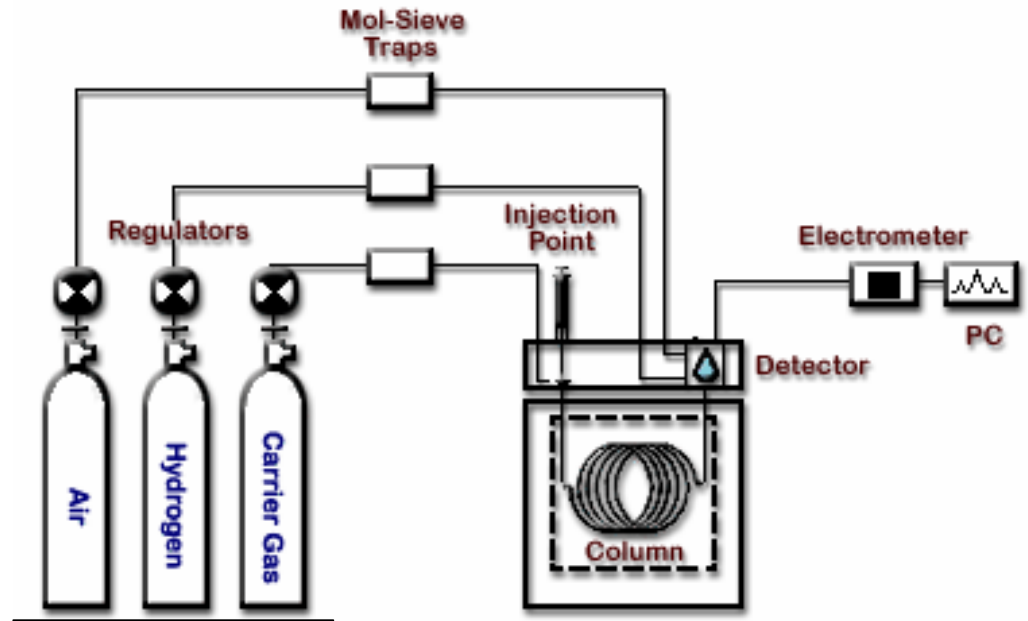
Reguladores con diafragmas de acero

Tubería tratada

Buena parte del éxito de la cromatografía depende de la elección de los gases y de su grado de pureza

---

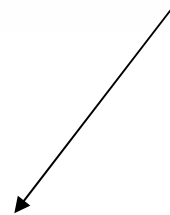
Requerimiento de gases depende del tipo de detector



Tanque



Generador



# Selección del gas portador

---

## **Pureza**

Usar siempre gas de arrastre de 99% pureza y se aconseja el empleo de un filtro antes de la entrada del gas al instrumento.

---

## **Detectores:**

### **Conductividad térmica (H.W.D.)**

Use helio o hidrógeno con excepción de los análisis en los cuales debe determinarse hidrógeno o helio. Para determinar hidrógeno use helio con hidrógeno (8 a 10% de hidrógeno)

---

### **Ionización por llama (F.I.D.)**

Use helio, nitrógeno o argón. El helio permite análisis más rápidos. Con nitrógeno o argón a igual eficiencia que con helio la velocidad del análisis será menor.

---

### **Captura de electrones (E.C.D.)**

Al trabajar en corriente continua use  $N_2$ . Trabajando en modal de corriente pulsante usar con 5% de metano.

---

### **Velocidad del gas**

Seleccione la velocidad lineal del gas (o el flujo) según el gas, columna y problema. Se debe tener en cuenta que al no trabajar a la velocidad óptima se aumenta la velocidad pero se disminuye la eficiencia. Con nitrógeno o argón la eficiencia disminuye más rápidamente que con helio.

---

### **Control**

En trabajos isotérmicos o con columnas capilares usar simplemente regulación isobárica  
Trabajando con temperatura programada usar control de flujo.

---

## INYECCION DE MUESTRAS

Algunas muestras son gaseosas y se pueden inyectar directamente por medio de jeringa o con una válvula de muestreo de gases

La mayoría de las muestras son líquidas y se deben vaporizar para analizarlas por cromatografía de gases

En este caso se utiliza un puerto de inyección con control de temperatura y una jeringa para líquidos o una válvula de muestreo de líquidos

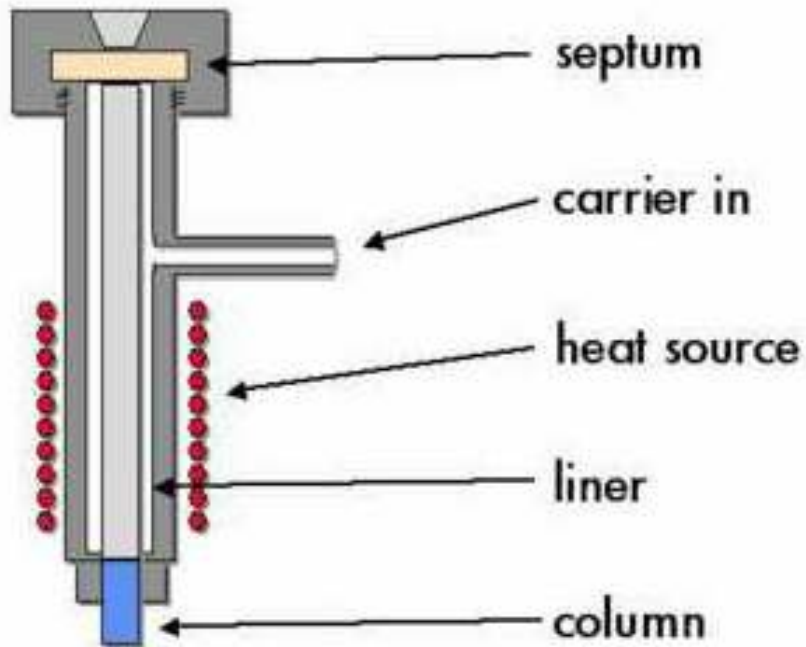
---



---

## Sistema de entrada de muestra

Puerto de inyección



Funciones

Evaporar la muestra e introducir la en la columna

$$T_{inj} > 50^{\circ} C \text{ sobre } T_{col}$$

La inyección se hace a través del septum

El septum debe

Ser estable a  $T_{inj}$

Mantener el sello del puerto

---

---

## Sistema de entrada de muestra

### Liner

Proporciona un volumen y una superficie inerte para la evaporación de la muestra

Generalmente fabricado en vidrio aun cuando los hay metálicos

Deben ser reemplazados o limpiados regularmente pues con el tiempo presentan depósitos de material no volátil y productos de degradación

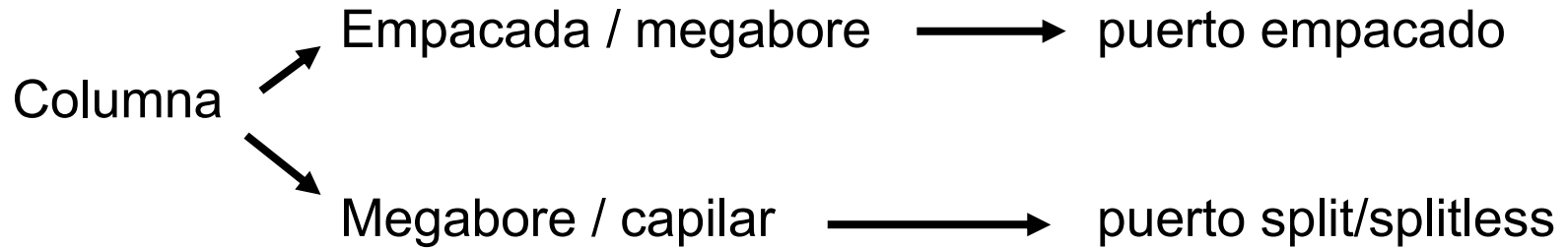
Existen liners específicamente diseñados para cada tipo de inyección

---

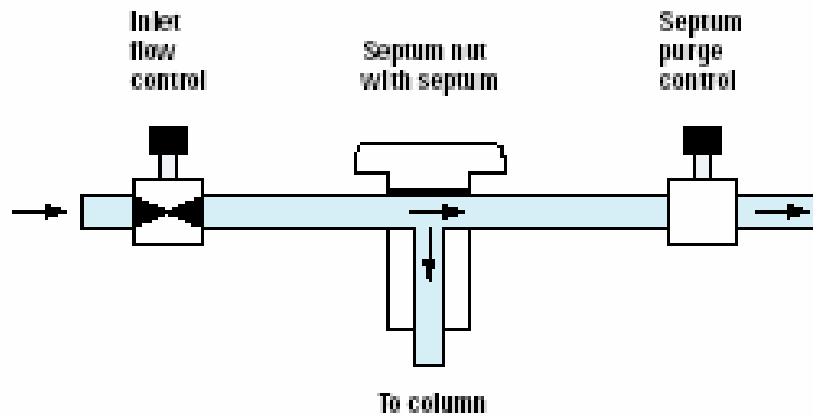
---

## INYECCION DE MUESTRAS

### Puerto de inyección



### Puerto empacado

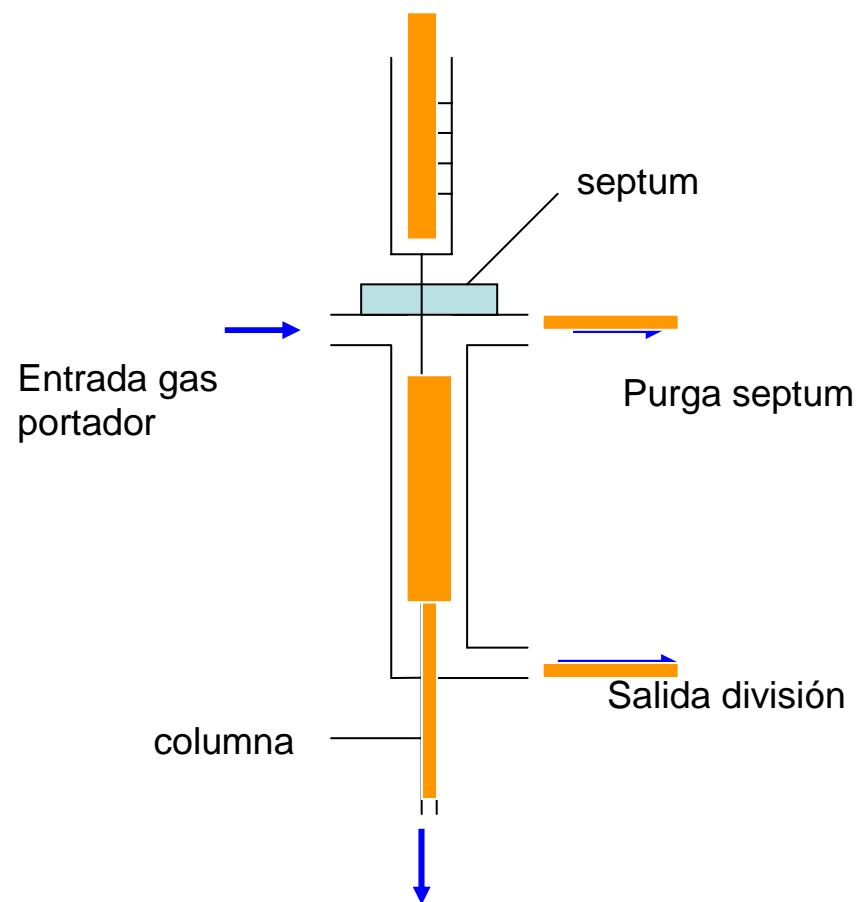


La muestra se inyecta con jeringa a través de la septa, se vaporiza en el puerto y es arrastrada a la columna

---

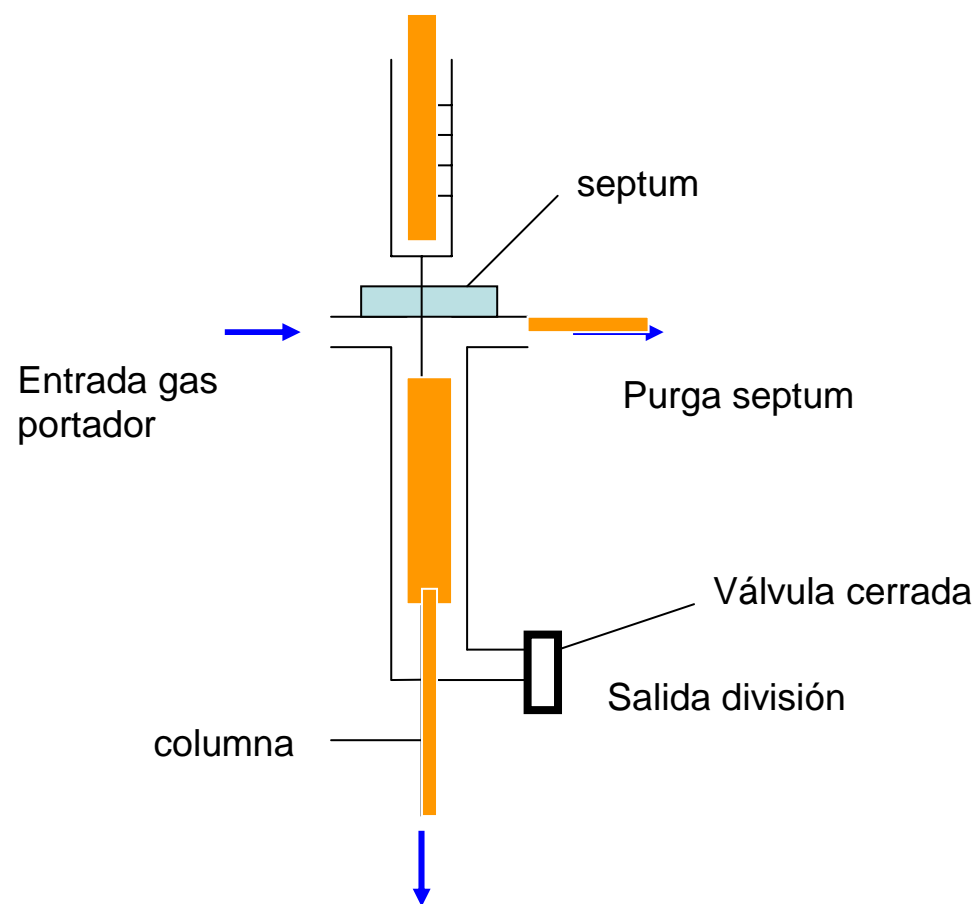
## Sistema de inyección

### Inyección con división (split)



## Sistema de inyección

### Inyección sin división (splitless)



---

## Sistema de entrada de muestra

### Jeringas

Se utilizan para introducir un volumen conocido de gas o líquido al cromatógrafo

Existen adaptadores para ayudar a controlar el volumen inyectado



---

## Sistema de entrada de muestra

La principal fuente de errores de precisión es una técnica de inyección deficiente

Se pueden tener métodos de inyección tanto manuales como automáticos

Un equipo de inyección automático mejora notablemente la reproducibilidad en los análisis

También ofrece facilidad para automatizar los análisis

---

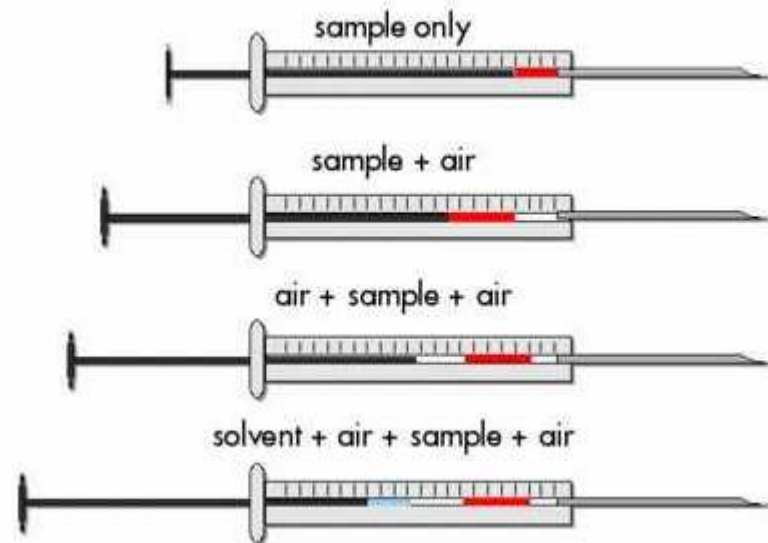
---

## Sistema de entrada de muestra

Se requiere rapidez y consistencia en la inyección para obtener buenos resultados



Se pueden utilizar diferentes técnicas para mejorar la reproducibilidad con inyección manual





---

## Técnica de inyección

### Inyección manual

Llenar la jeringa con muestra y graduar la cantidad a inyectar

Introducir la aguja en el puerto

Bajar el embolo

Sacar la aguja del puerto

Lo más importante es la velocidad

RSD 3-5%

### Inyección automática

Solución al problema de la inyección

Reproducibilidad permite cuantificar con estandar externo

Análisis completamente automatizado

---

---

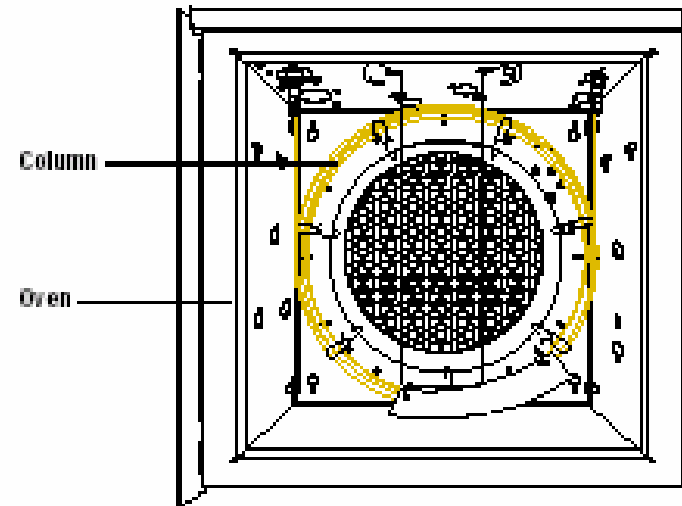
## ¿QUE ES CROMATOGRAFIA DE GASES ?

### La columna

Lugar donde ocurre la separación

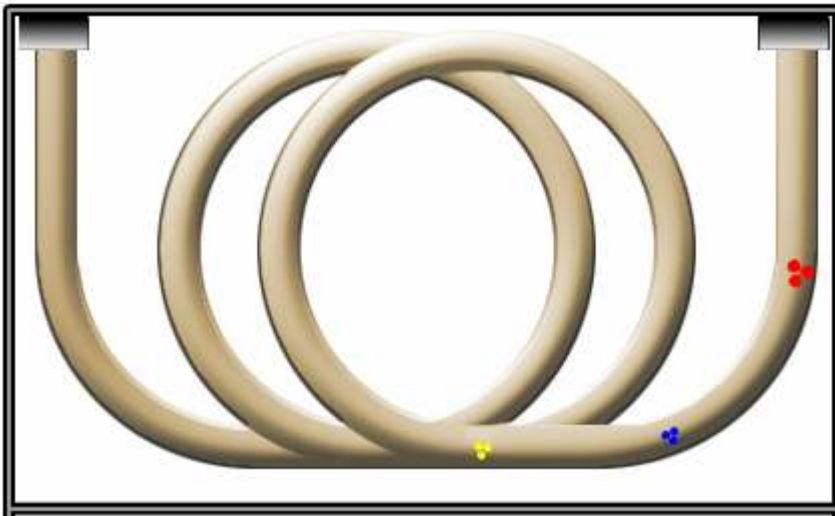
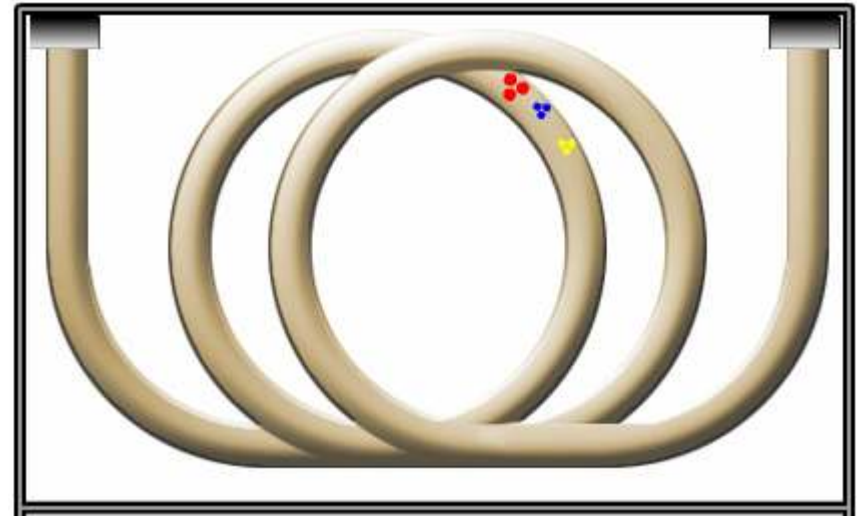
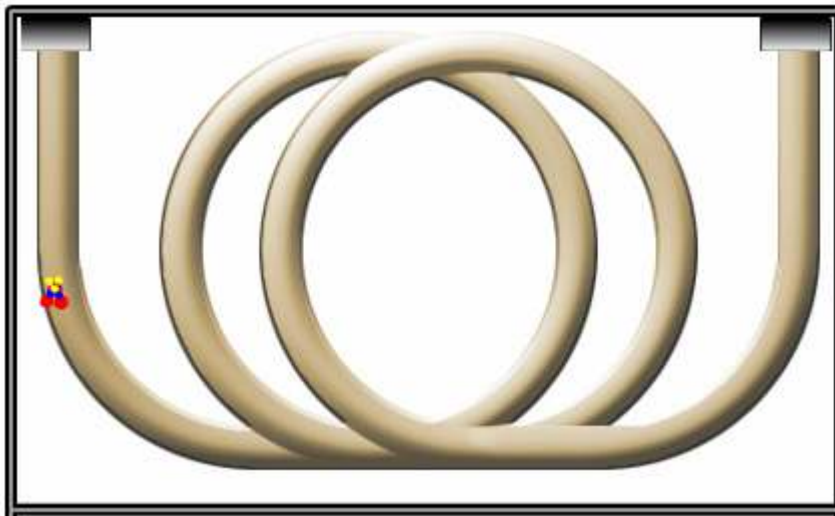
Separación es dependiente de la temperatura

Columna asociada a un horno con buen control de temperatura



---

## Columna



La columna es el componente clave en el proceso de separación

Un mismo instrumento puede usarse para diferentes análisis solamente cambiando la columna

---

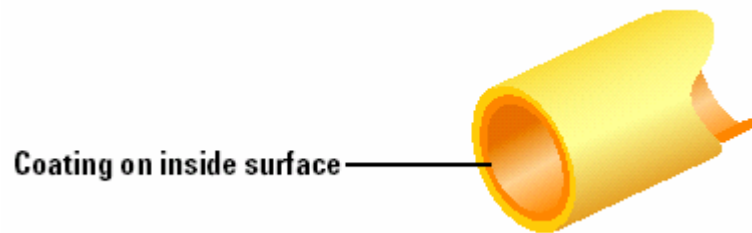
---

## SEPARACION DE LOS COMPONENTES

### Tipos de columnas

#### Columna capilar

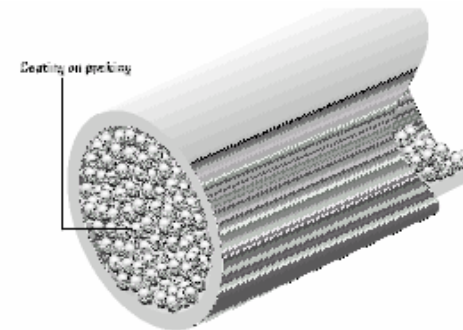
Tubo capilar con la fase estacionaria recubriendo su superficie interna



0.1 a 0.5 mm de diametro interno  
Longitud típica 30 metros

#### Columna empacada

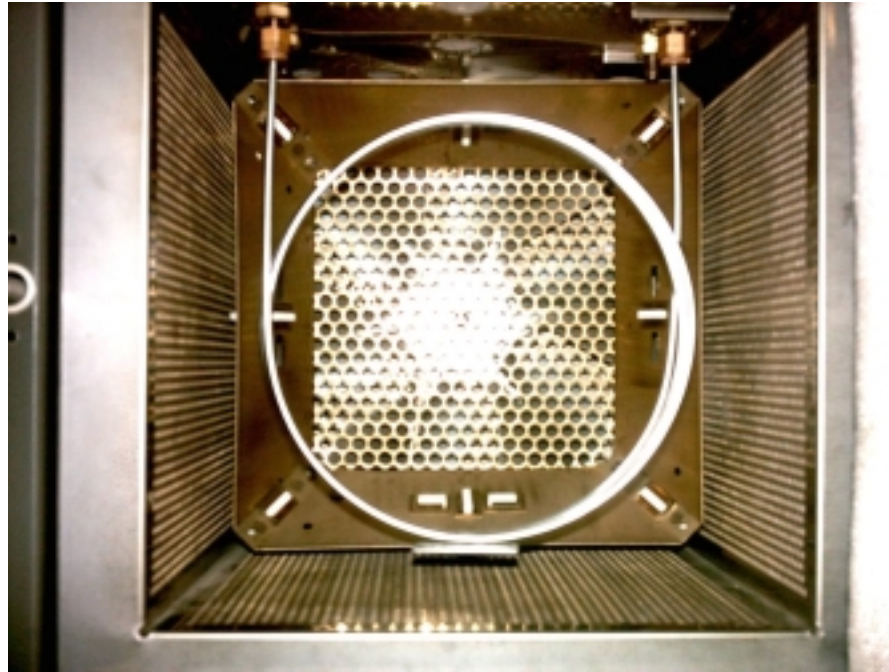
La fase estacionaria esta recubriendo un material inerte finamente dividido y este a su vez está empacado en un tubo



Diametros de 1/16" a 1/4"  
Longitud típica 2 metros

---

## Instrumentación (Columna)



Columna empaquetada

## Instrumentación (Columna)



Columna capilar

## Instrumentación (Columna)

### Comparación columnas capilares - empaquetadas

Properties	Column ID (mm)			
	0.18	0.25	0.53	2-4
Capacity (ng)	10-20	50-100	1000-2000	10,000
He Flow (ml/min)	0.3	0.7	2.6	10-60
Plates/m	5,300	3,300	1,600	2,500
Total Plates	159,000	99,000	48,000	5000

Las columnas capilares tienen:

- Mayor resolución
- Menor capacidad de muestra

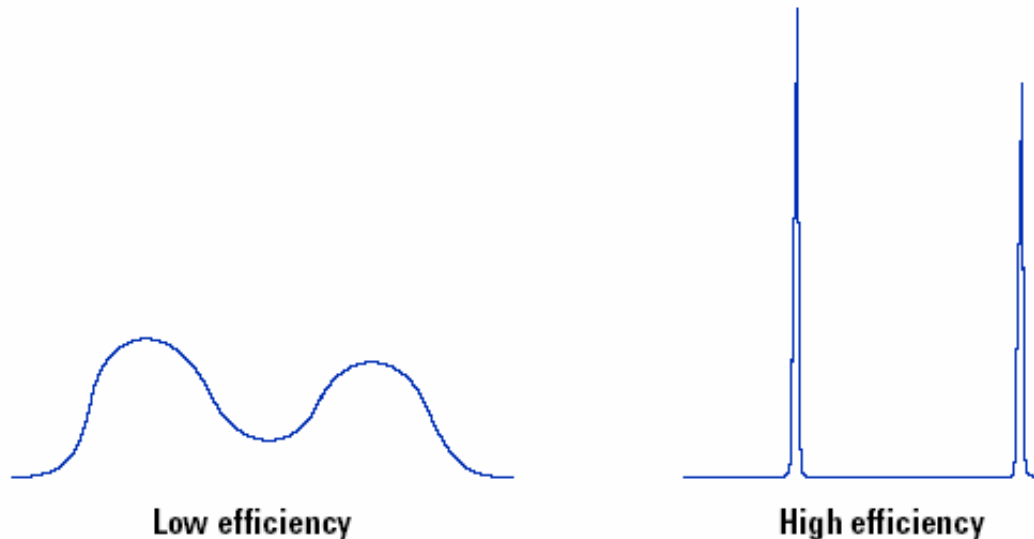
---

## SEPARACION DE LOS COMPONENTES

### Características de la columna

El propósito de una columna es producir picos finos y bien separados de una muestra multicomponente

### Eficiencia de la columna



La eficiencia está determinada por la construcción de la columna (ID, Longitud, espesor de la fase) y por el flujo y tipo de gas de arrastre





---

## SEPARACION DE LOS COMPONENTES

### Resolución de la columna

Una columna de alta resolución separa los picos a nivel de línea base

La resolución es proporcional a la raíz cuadrada de la longitud

### Selectividad de la columna

Que tan bien la fase estacionaria diferencia dos componentes

Si se presenta baja selectividad entonces hay coelución de componentes

---

# Soporte Sólido

## Características:

- a. Superficie específica grande (de 1 a 20 m<sup>2</sup>/g)
- b. Estructura porosa con diámetro uniforme igual o inferior a 10 μm por poro.
- c. Debe ser inerte, no tener interacción química absorción por la muestra.
- d. Las partículas deben ser de tamaño y forma uniforme
- e. Debe tener resistencia mecánica y no romperse fácilmente.

# Tipos más empleados

Tierras diatomáceas



Esferas de vidrio

Teflón



## Características de algunos soportes sólidos

- Chromosorb A:** Se usa en cromatografía preparativa, puede emplearse hasta con 25% de fase estacionaria, no es frágil ni absorbente.
- Chromosorb W:** es frágil pero de muy alta eficiencia. Uso general
- Chromosorb G:** compuestos polares, tiene más resistencia mecánica que el Chromosorb W. El área específica no es muy grande, se emplea con un porcentaje muy bajo de fase líquida.
- Chromosorb P:** Tiene mayor absorción que los demás, se emplea sobre todo para hidrocarburos, área específica grande. fase estacionaria, no es frágil ni absorbente.
- Chromosorb T:** Muy inerte, se recomienda para compuestos muy polares o reactivos como agua,  $\text{SO}_2$ , hidrazina, halógenos. Es poco eficiente y sólo se debe usar cuando se requiere un soporte inerte.
- Teflón:** Se emplea sobre todo con detectores de conductividad térmica para separaciones de  $\text{H}_2\text{O}$ , amoníaco, etc. Es muy difícil de recubrir y el porcentaje de fase estacionaria no debe ser mayor al 10%.
- Esfera de vidrio:** Debido a que el vidrio es prácticamente inerte, se ha empleado para compuestos muy polares. El recubrimiento es muy bajo (máximo 3%). ando se requiere un soporte inerte.

## Fase líquida

"La fase líquida debe tener características fisicoquímicas semejantes a la muestra a analizar".

Características:

- **Viscosidad:** no muy alta para facilitar el equilibrio
- **Tensión superficial:** adecuada para mojar el soporte sólido.
- **Tensión de vapor:** mínima, para evitar la evaporación.
- **Selectividad:** define el reparto y la separación
- **Reversibilidad del reparto:** se debe favorecer la absorción y desabsorción.
- **Estabilidad térmica:** no se debe descomponer.

**Tabla 2.6. Fases líquidas más empleadas.**

Tipo	Fase líquida	Actividad	temperatura. Máxima Rellena	Máxima Capilar	Aplicaciones
Hidrocarburo	Esqualeno	NP	150	130	C <sub>5</sub> - C <sub>10</sub> parafinas y cicloparafinas. Uso general para altas temperaturas.
	Apiezon L	NP	75-225	75-200	
Eteres	m-bis (m-fenoxifenoxi) benceno	P	180	180	Aromáticos; es muy polar Para metil, etil benceno.
Poliéteres	OS-138 polofenileter	P	75—225	75-200	Aromáticos, sustancias polares poco volátiles.
Ésteres Poliésteres	Dodecíl ftalato	SP	150	140	General, muestras ligeramente polares.
	Di-2 etilhexisebacato	SP	125	125	Hidrocarburos alifáticos C <sub>2</sub> C <sub>5</sub>
	bis-2(2-metoxietil)	P	65		
	Succinato de di-etilen Glicol (DEGS)	P	135	185	Éteres metílicos de Ácidos Grasos.
	Succinato butanodiol (BDS)	P	70-200	70-190	*
	Adipato de neopentil Glicol (NPGA)	P	70-200	70-200	*
	Succinato de neopentil- glicol (NPGS)	P	70-200	70-200	*
Tri-metilopropano Tripelargonato (Ester C <sub>3</sub> de Celanese)	P	180		Cresoles, xilenoles.	

---

	Carbowax 400	P	100	75	Metilaminas
	Carbowax 600	P	125	100	Substancias polares bajo punto de ebullición.
Poliglicoles	Carbowax 1540	P	150	140	General. Muestras polares
	Carbowax 20M	P	200	200	Polares alto punto de ebullición.
Poliglicoles	Ucon LB 550 X (Polipropilenglicol)	P	180	160	General muestras polares
	Ucon 50 HB 2000 (Polietilen-polipropilenglicol)	P	180	160	" "
	Igepal CO-880 (Nonilfenoxi polietilenoxi-etanol)	P	60-200	60-185	" "

---

## Instrumentación (Horno)



Resistencia eléctrica, ventilador, sensor de temperatura



## Instrumentación (Horno)

**-Isotermo**

**-Temperatura programada**

**-Isotermo:** Temperatura constante durante la separación

$$T_{Horno} \cong P_{eb}$$

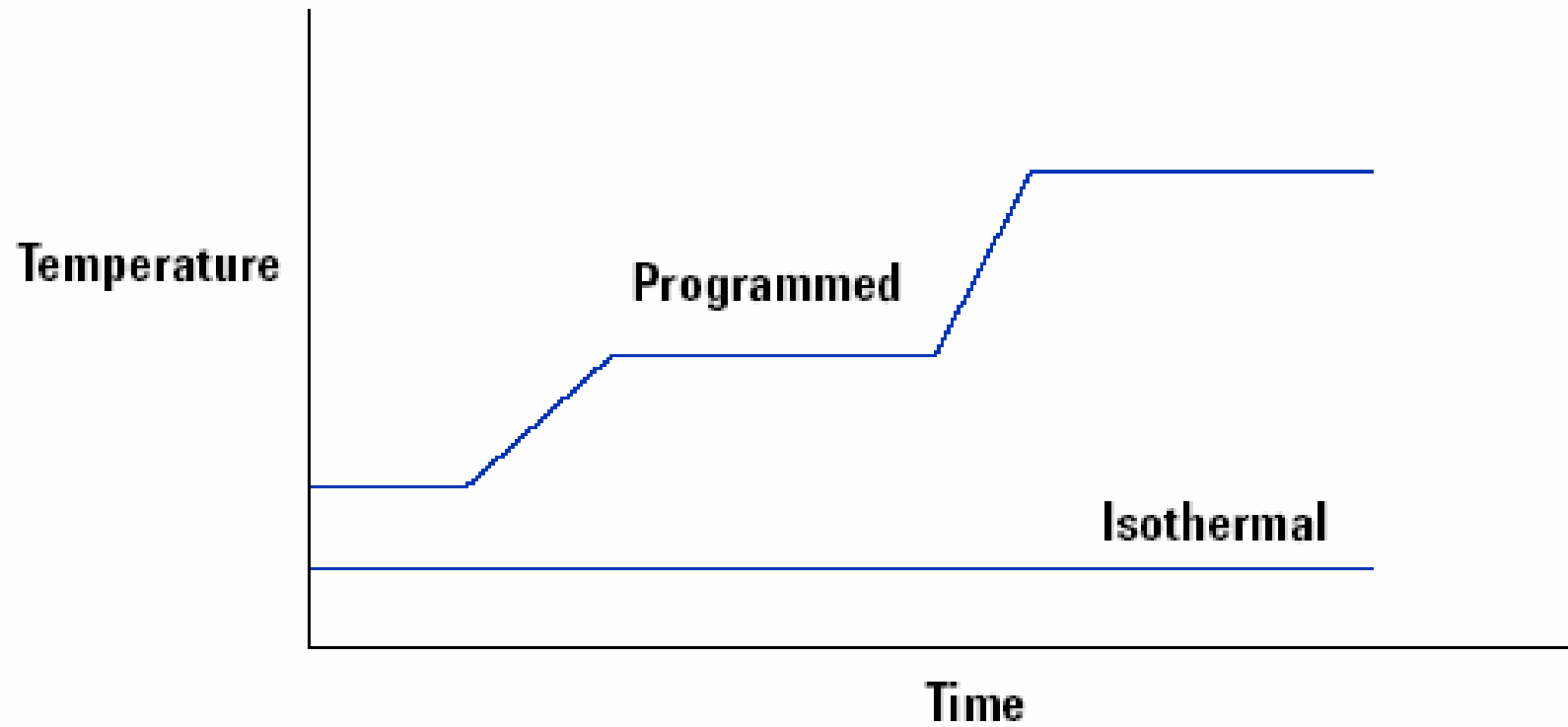
**-Temperatura programada:** Aumentar la temperatura de la columna durante la separación

Aumentar la presión de vapor de los solutos, disminuyendo los tiempos de retención

---

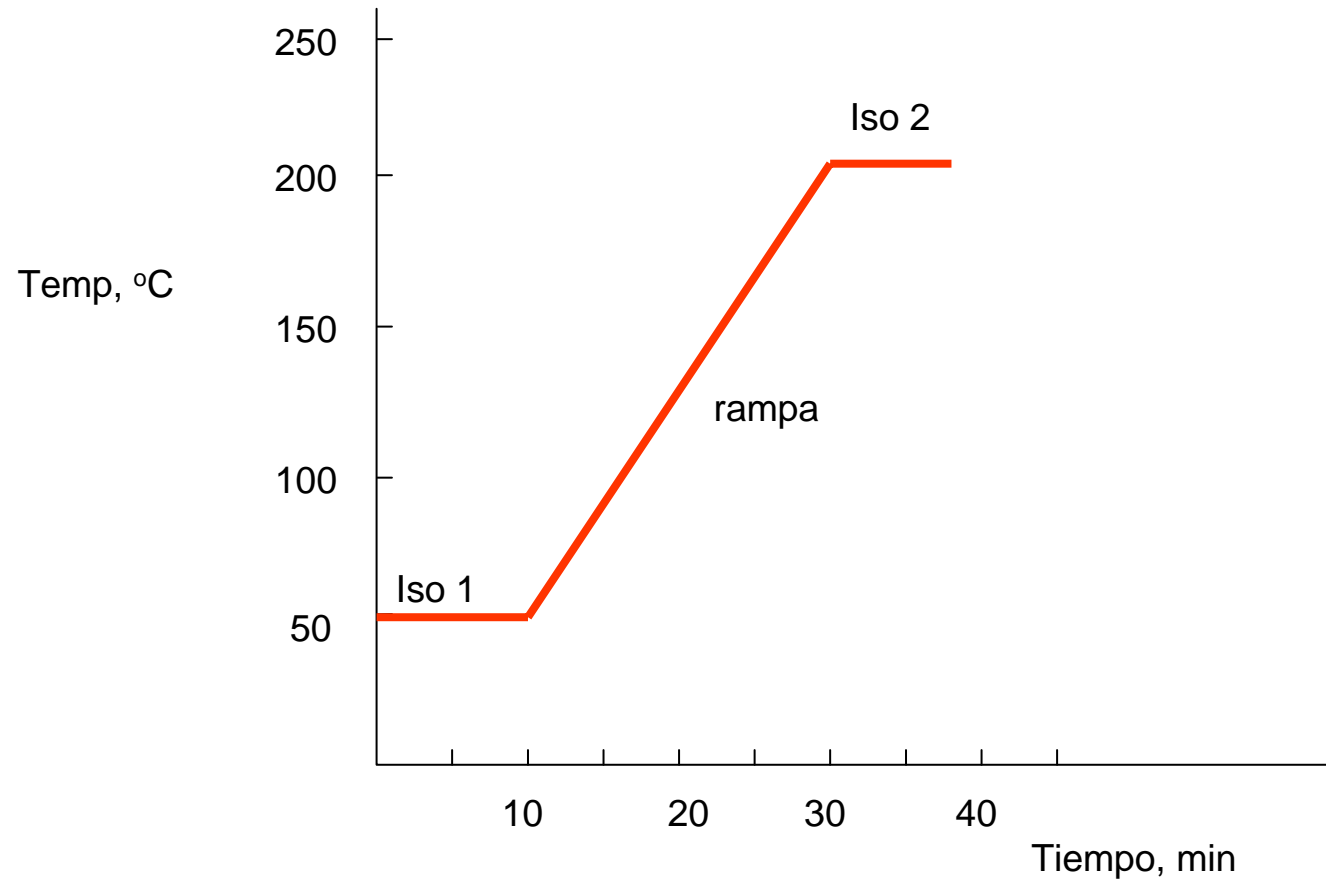
SEPARACION DE LOS COMPONENTES

Horno



## Programa de temperatura

50 °C (10 min) – 200 °C a 7,5 °C/min (7 min)

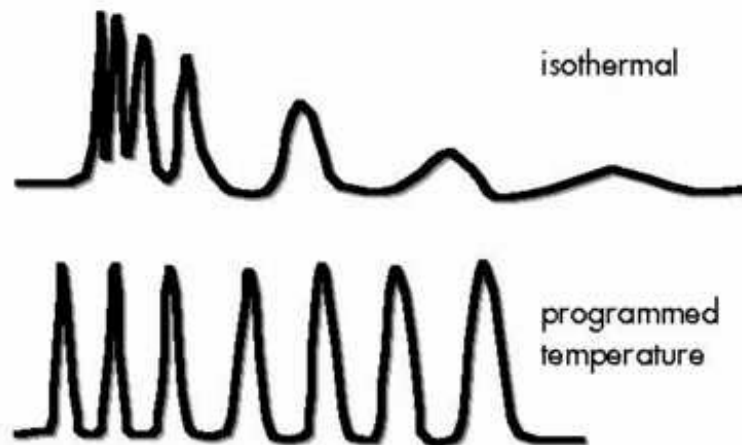


---

## ¿ Para qué rampas de temperatura ?

Cuando el tiempo de retención se incrementa el ancho de pico aumenta y la altura disminuye, haciéndose difícil la determinación de componentes que eluyen al final de un análisis

Dado que la solubilidad de un gas en un liquido disminuye cuando se aumenta la temperatura, se puede disminuir el tiempo de retención aumentando la temperatura de la columna



---

## Programas de temperatura – Factores a considerar

Variaciones en la solubilidad de los solutos

Cambios en la volatilidad de los solutos

Estabilidad de los solutos

Cambios de flujo

Estabilidad de la fase estacionaria

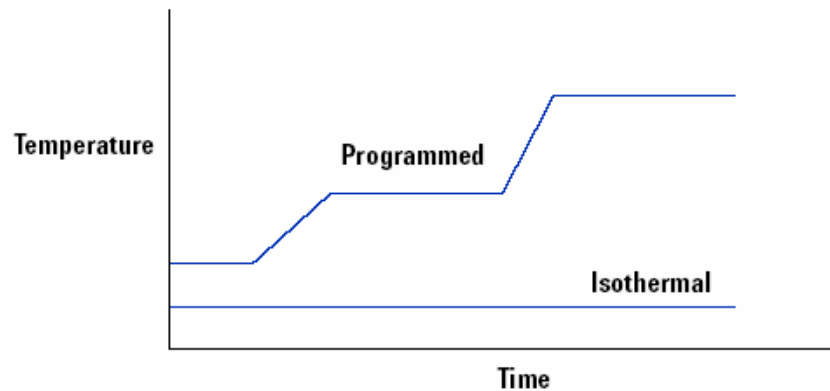
---

---

## Programas de temperatura – Factores a considerar

Pasos generales para crear un programa de temperatura asumiendo que la separación es posible

1. Determinar la temperatura inicial y tiempo basado en la mejor separación posible de los primeros componentes
2. Determinar la temperatura final y tiempo basado en la mejor separación posible de los últimos componentes
3. Establecer rampas para los componentes intermedios



---

## Sistemas de detección

Para que nuestro sistema cromatografico sea útil, necesita una forma de medir los componentes que eluyen de la columna, **un detector**

Como detector sirve cualquier método que directa o indirectamente produzca una señal a la salida de los componentes

Los detectores se pueden clasificar como

Destructivos

No destructivos

Universales

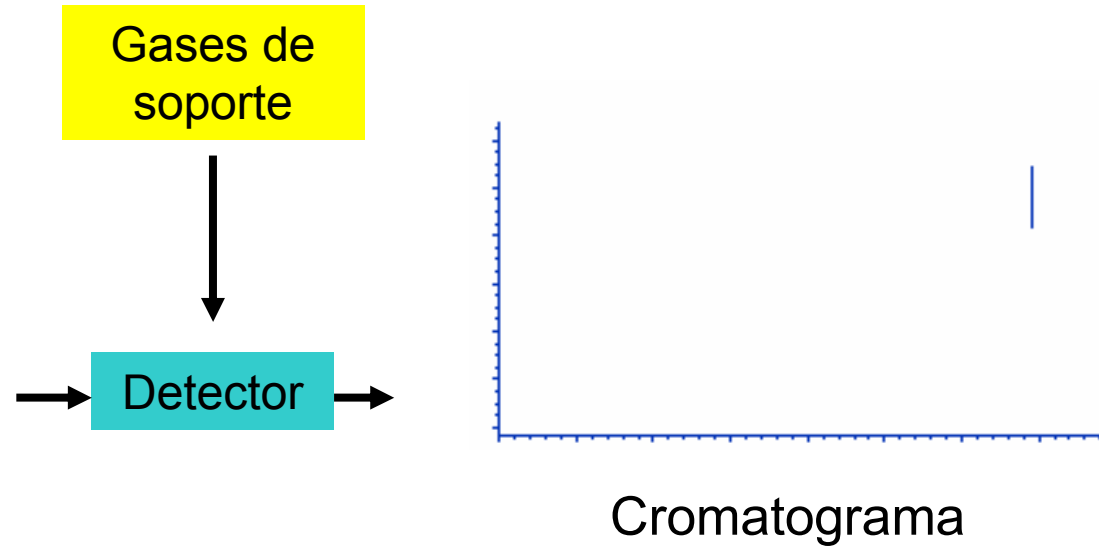
Selectivos

---

---

## ¿QUE ES CROMATOGRAFIA DE GASES ?

### El detector



Hay diferentes tipos de detectores, pero todos tienen la misma función

- ➡ Producir una señal estable cuando pasa solo gas de arrastre (línea base)
  - ➡ Producir una señal diferente cuando pasa un componente de la muestra
-



---

## Propiedades de un buen detector

Alta sensibilidad - Selectividad en algunas aplicaciones

Respuesta rápida a los cambios de concentración

Amplio rango de respuesta lineal

Estable con respecto a ruido y deriva

Baja sensibilidad a variaciones de flujo, presión y temperatura

Debe producir una señal fácil de manejar

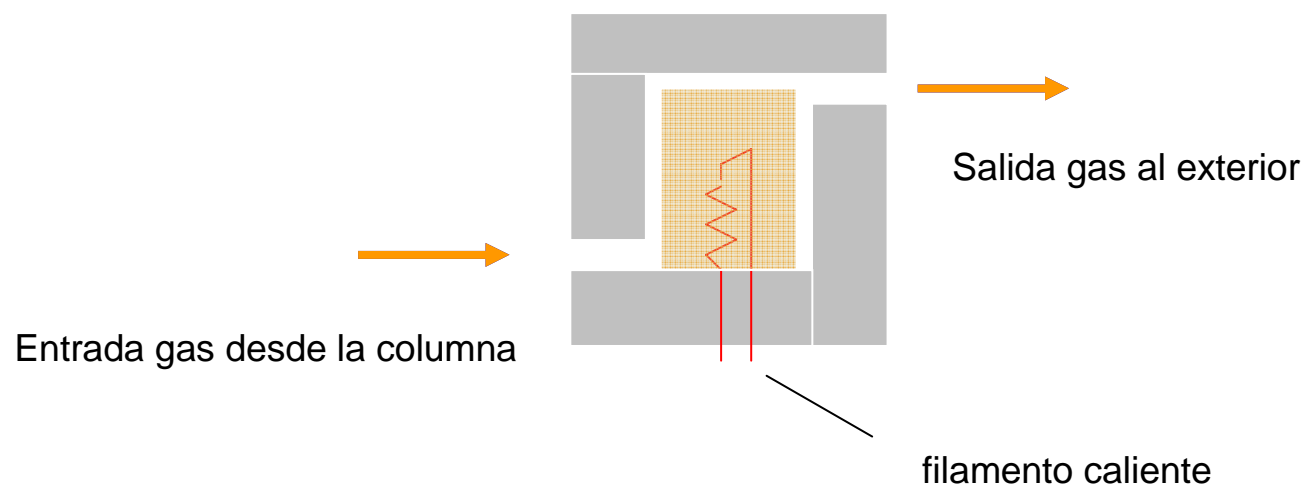
Robusto y de fácil mantenimiento

---

## Detectores

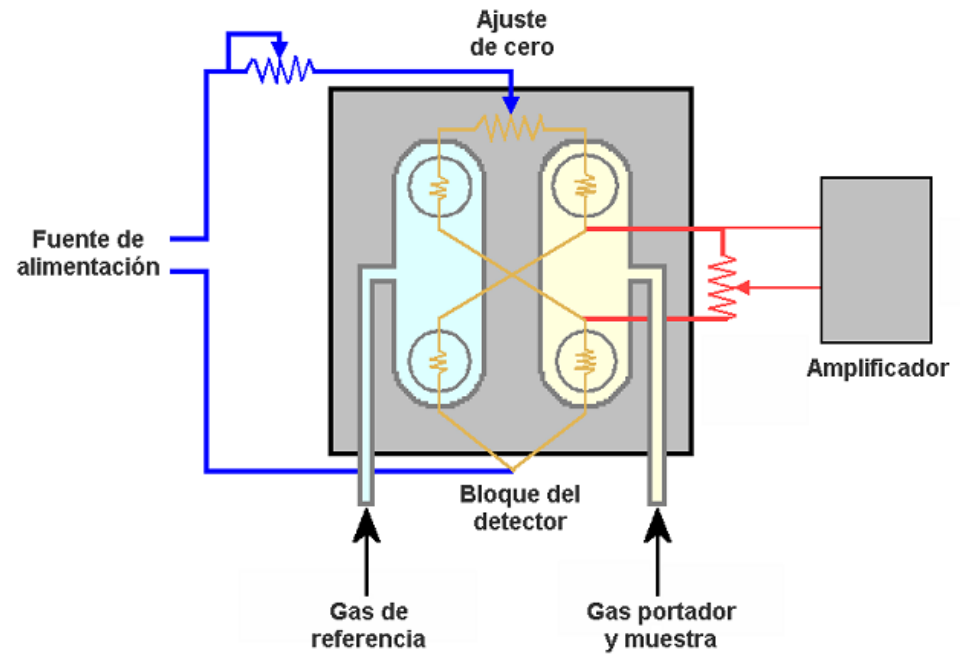
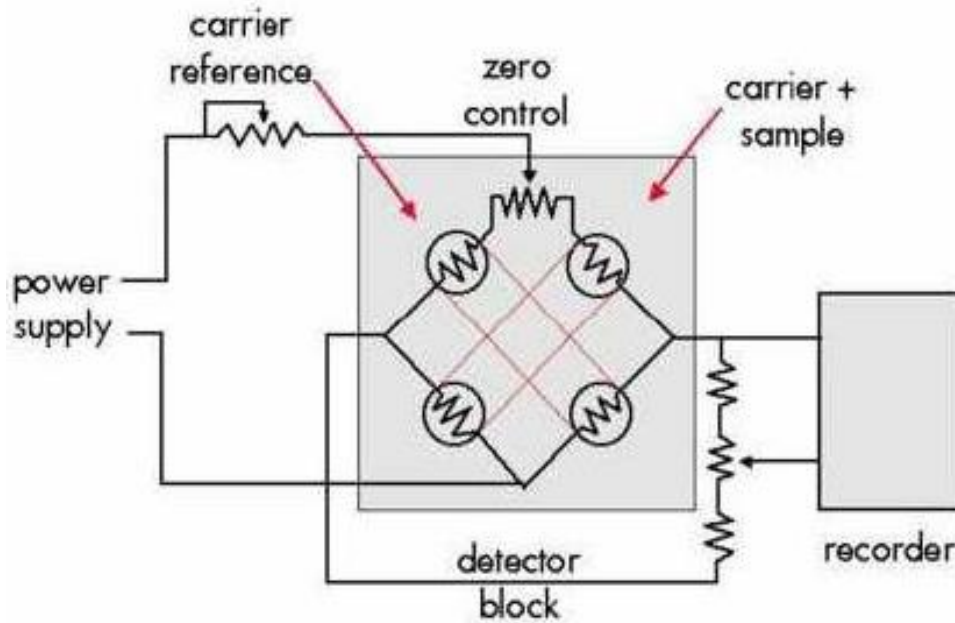
### Conductividad térmica

Catarómetro, TCD (Thermal Conductivity Detector)



Cambios en la composición del gas modifican la temperatura del filamento  
Al cambiar la temperatura del filamento cambia su resistencia eléctrica

## DETECTOR DE CONDUCTIVIDAD TERMICA



- Universal
- NO destructivo
- USOS: análisis de gases permanentes, hidrocarburos ligeros y otros tipos de compuestos
- Sensibilidad: entre  $10^{-6}$  y  $10^{-8}$  g

---

## Conductividad térmica de algunos compuestos

Species	Thermal conductivity $10^5 \text{ cal/cm sec } ^\circ\text{C}$
hydrogen	49.93
helium	39.85
nitrogen	7.18
ethane	7.67
water	5.51
benzene	4.14
acetone	3.96
chloroform	2.33

Aun cuando el hidrogeno tiene una conductividad térmica mas alta que el helio, este se usa más como gas de arrastre por ser menos reactivo

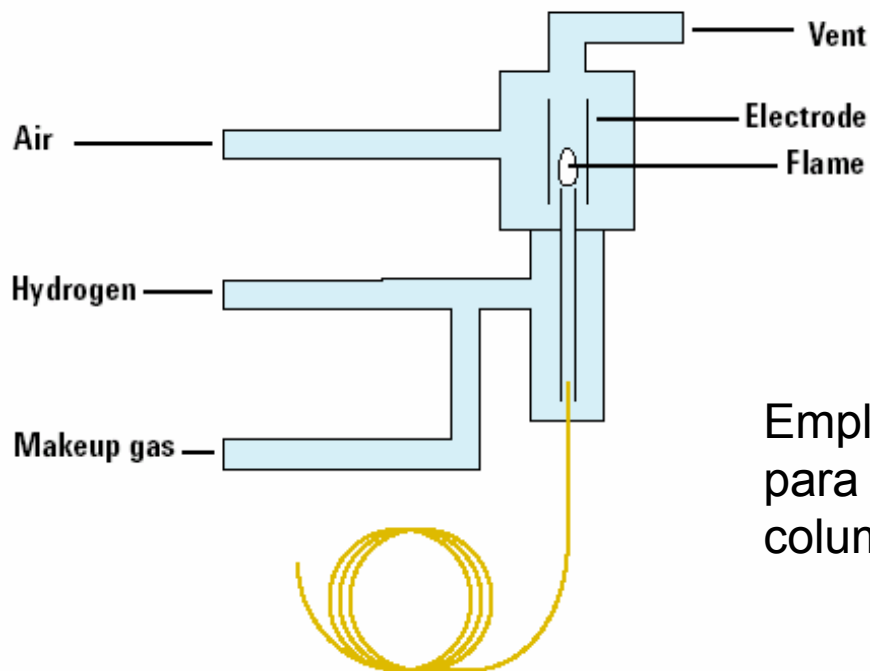
El hidrogeno da picos negativos y baja respuesta cuando se usa helio como gas de arrastre

---

---

## Detector de ionización de llama (FID)

Es el detector a elegir para determinación de la mayoría de compuestos orgánicos. Es un detector destructivo



La producción de iones en una llama genera una corriente que puede ser medida

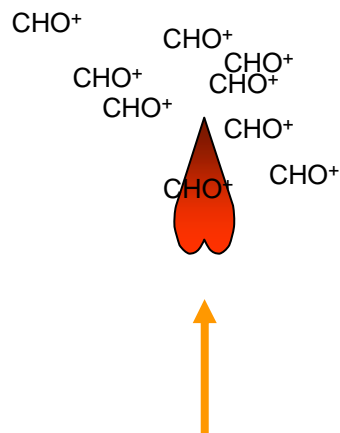
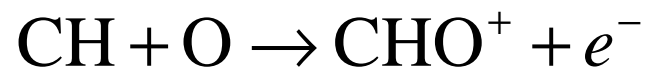
Emplea un gas auxiliar (make-up) para mantener un flujo óptimo con columnas capilares

---

## Detectores

### Ionización de llama (FID)

Los átomos de carbono (excepto carbonilos y carboxilos) producen radicales CH, que forman iones CHO<sup>+</sup>

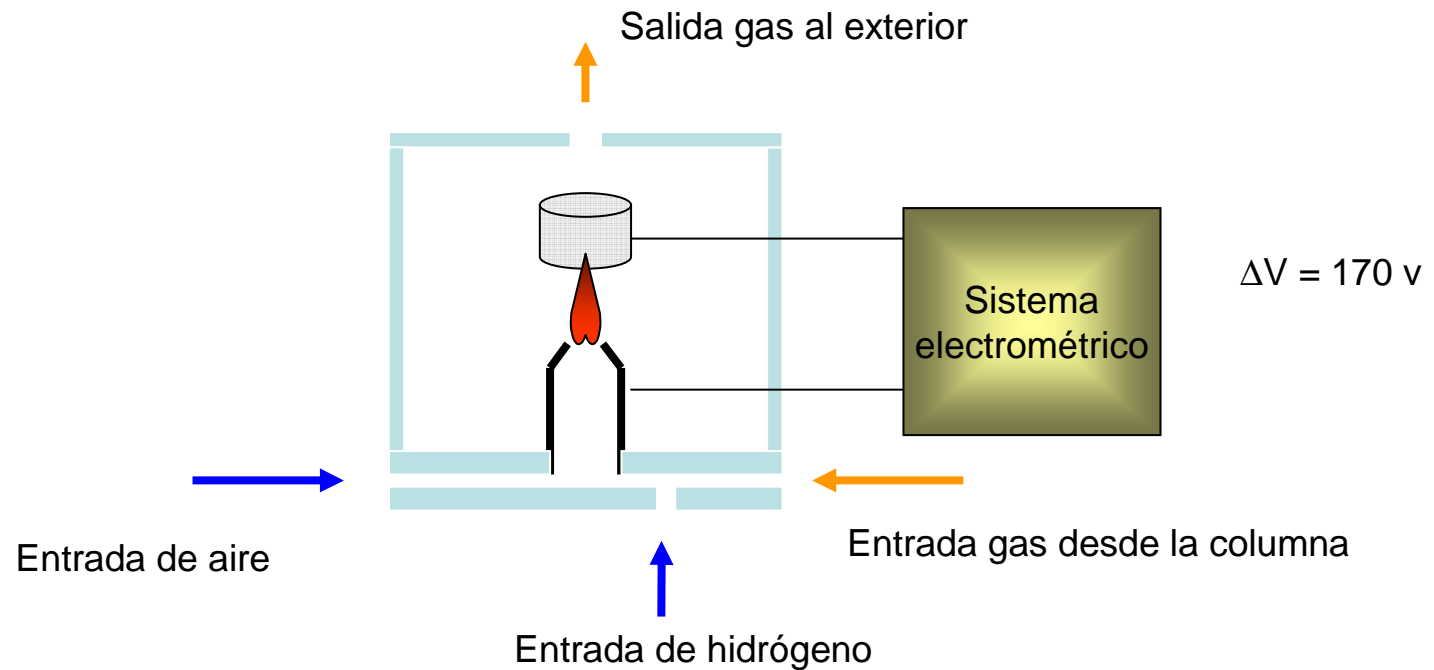


Eluato con compuestos orgánicos carbonados

## Detectores

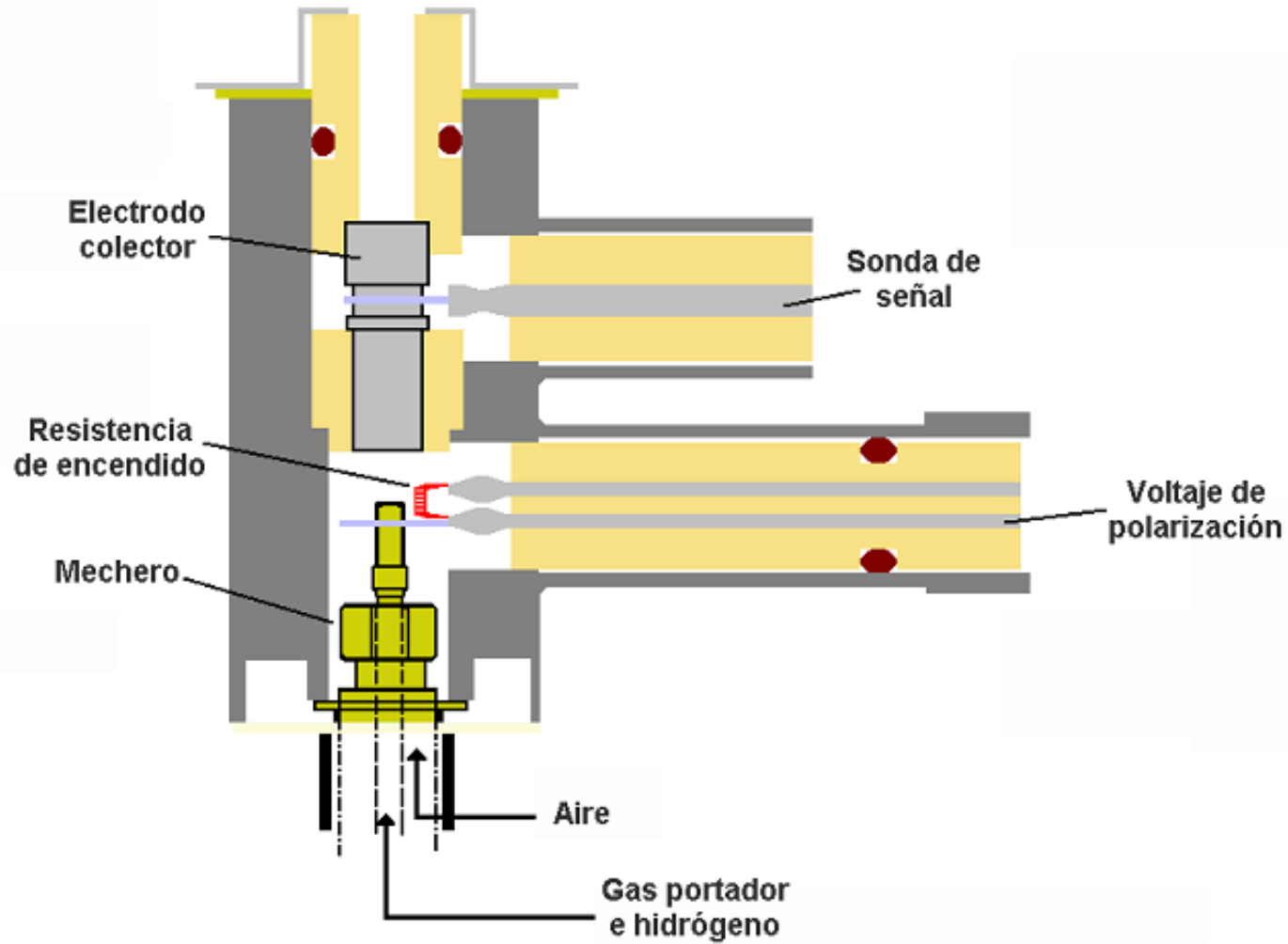
### Ionización de llama

FID (Flame Ionization Detector)



La formación de iones en la llama induce una intensidad de corriente eléctrica

# DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA

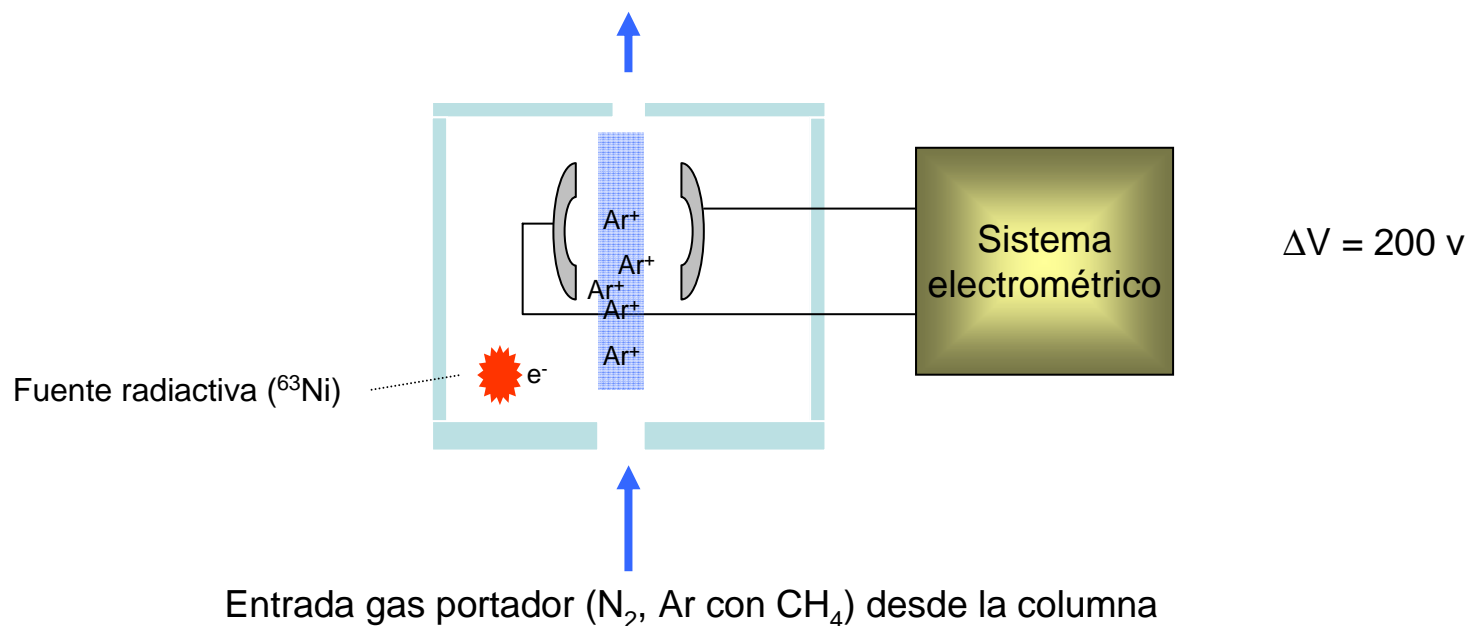




## Detectores

### Captura electrónica

ECD (Electron Capture Detector)



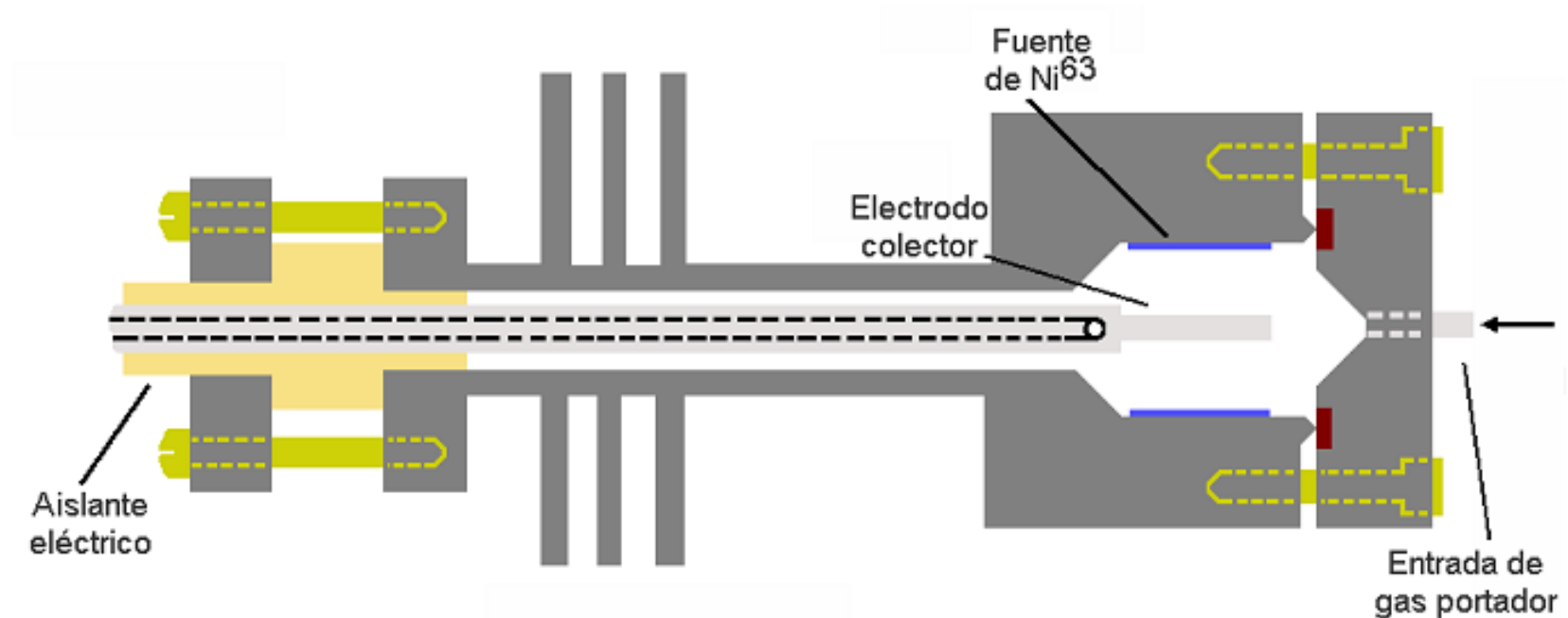
El gas portador se ioniza por el impacto de las partículas  $\beta$

Moléculas con átomos electronegativos  
(halógenos) captan electrones



Disminuye ionización  
gas portador

## DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES



### Características

- Compuestos halogenados
- Rango ( $10^4$ )
- Sensible (5 fg/s)

### Aplicaciones:

- plaguicidas organoclorados
- hidrocarburos halogenados (halometanos, freones, clorofenoles)

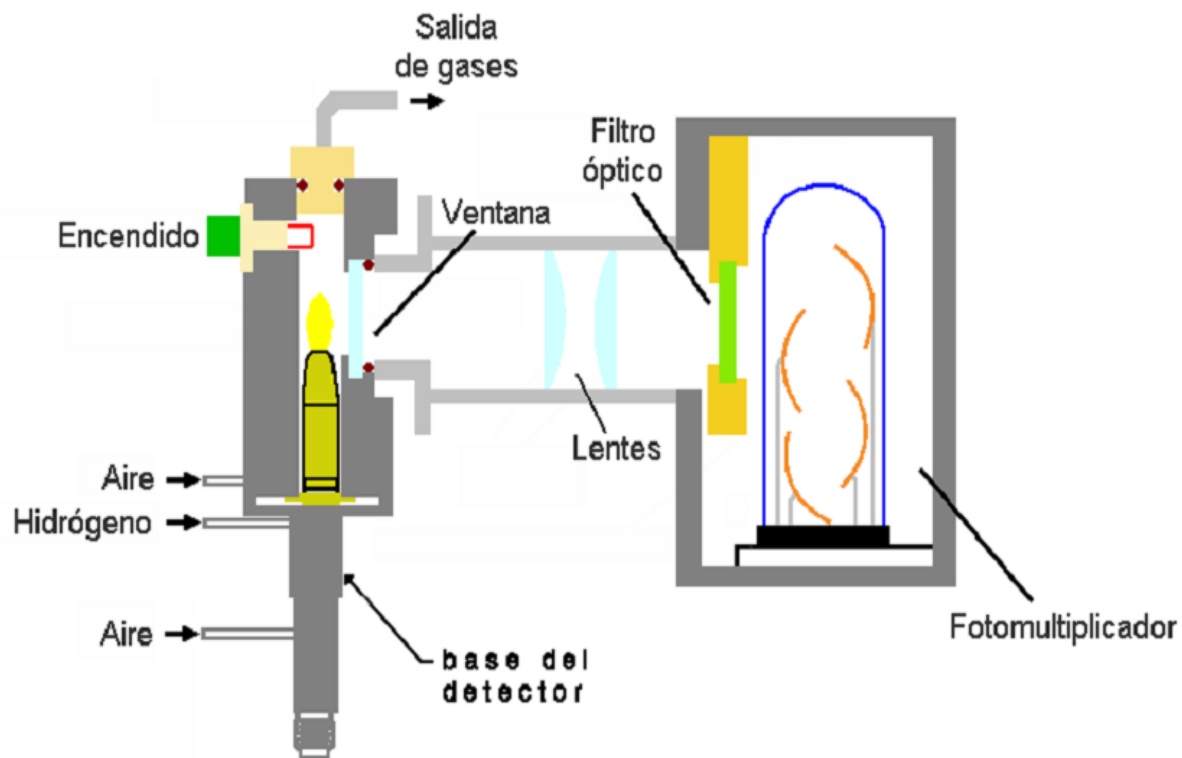
## Detectores

### Fotométrico de llama

FPD (Flame Photometric Detector)

Aplicaciones:

- plaguicidas organofosforados
- compuestos azufrados
- organoestánicos



Los compuestos con S, P, Sn en la molécula emiten radiación en la llama

## Detectores

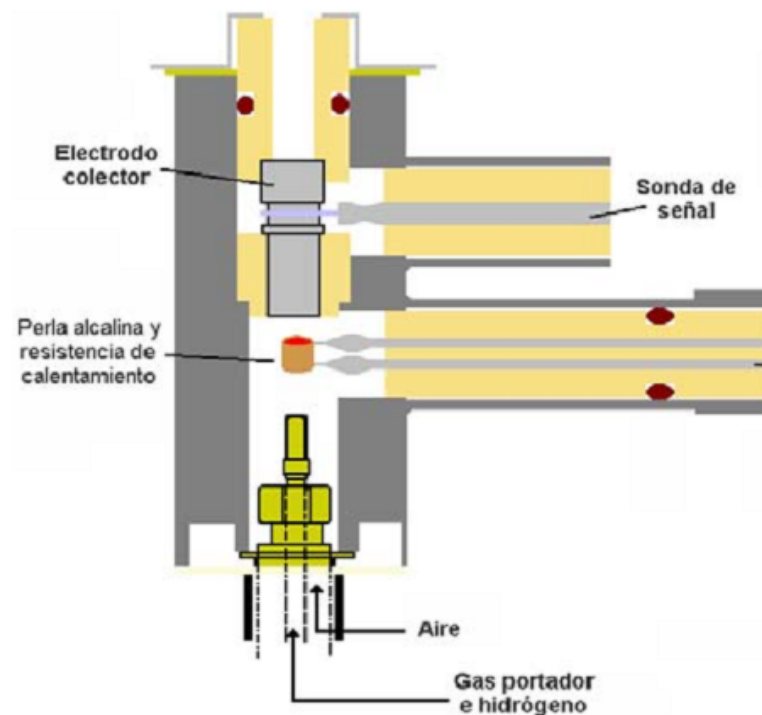
### Ionización de llama alcalina

NP-FID (Nitrogen Phosphorous - Ionization Detector)

Aplicaciones:

-plaguicidas (organofosforados, triazinas)

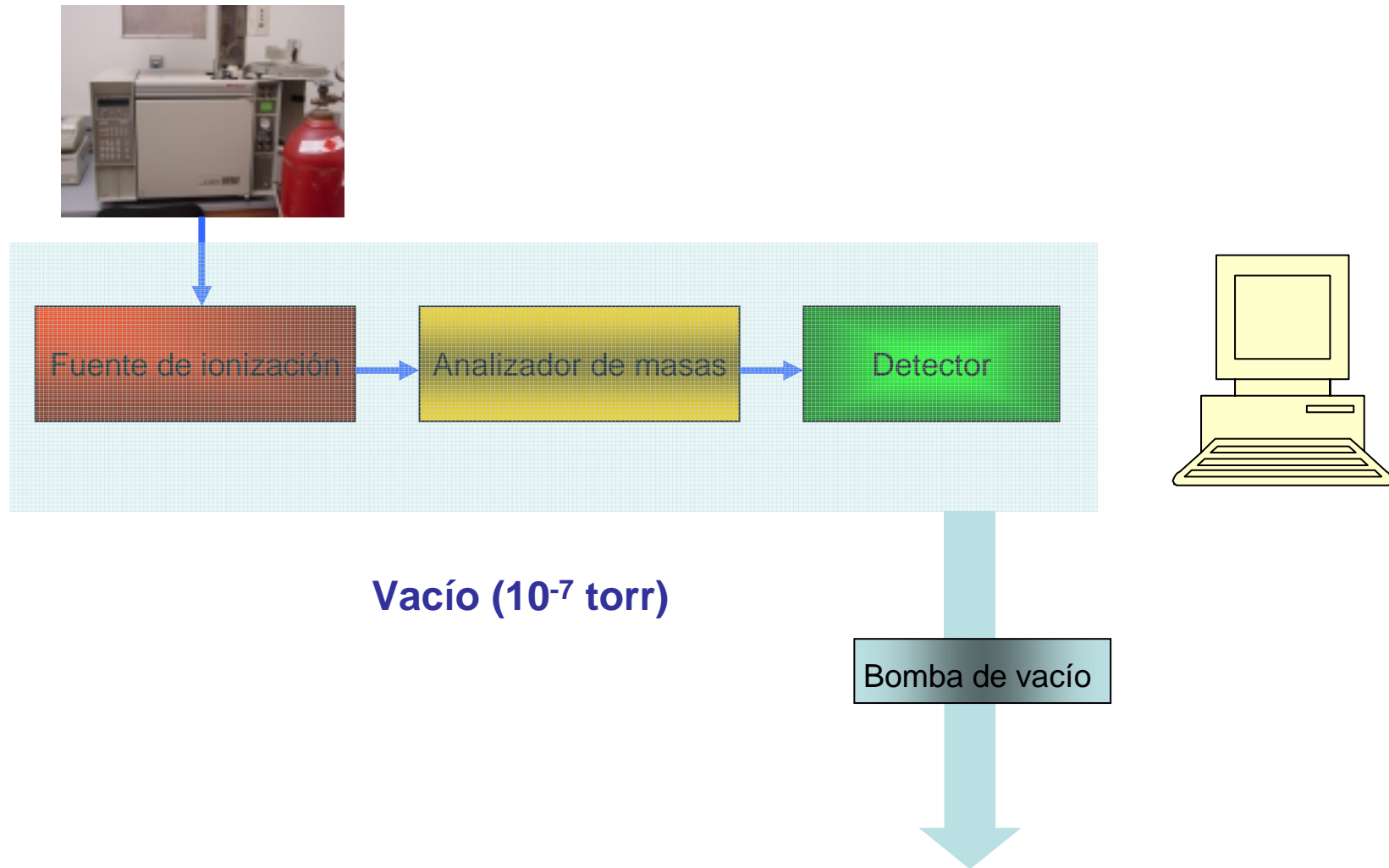
-drogas de abuso (coaína, heroína)



La presencia de la perla alcalina (vidrio con  $\text{Rb}_2\text{SO}_4$ ) sensibiliza el detector a los compuestos con N y/o P en la molécula

# Detectores

## Espectrómetro de masas (MS)

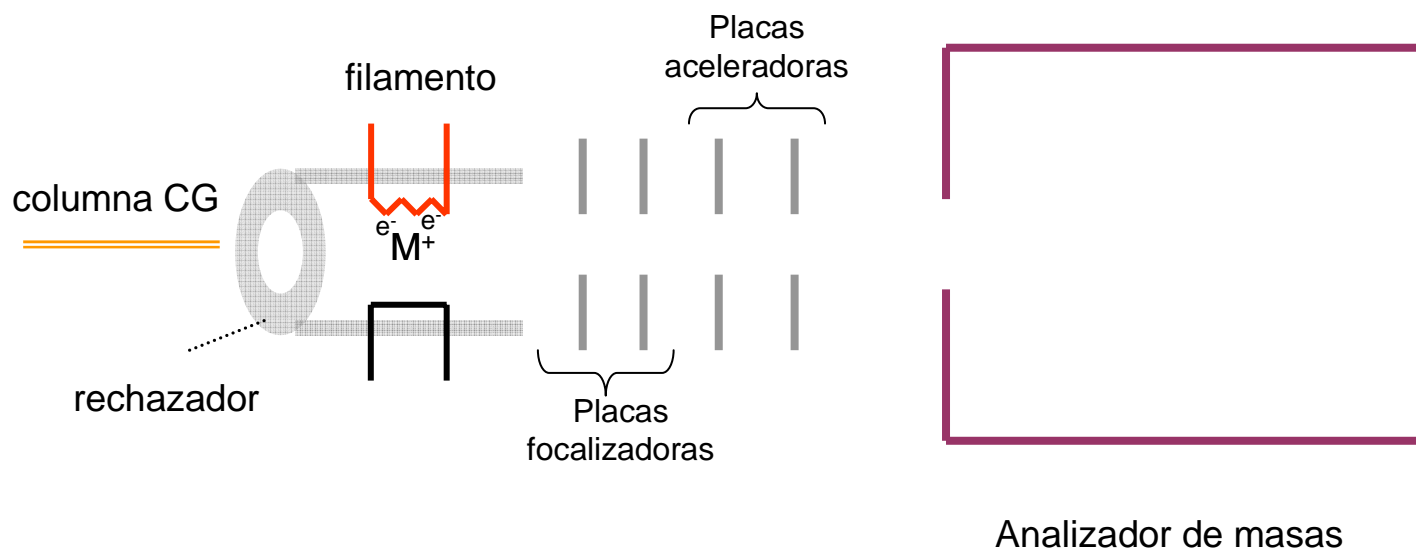


## Detectores

### Espectrómetro de masas (MS)

**Fuente de ionización:** La molécula se fragmenta en iones que son acelerados hacia el analizador de masas

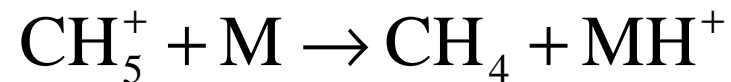
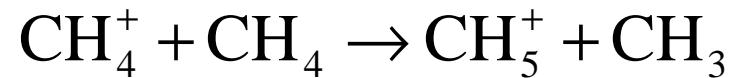
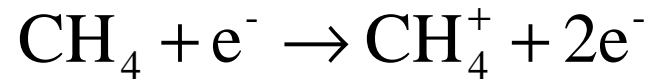
#### Fuente de impacto electrónico



## Ionización química

Ionización en presencia de un gas reactivo ( $\text{CH}_4$ )

El gas se ioniza y los iones formados ionizan la molécula



Fuente de ionización blanda



Espectro sencillo

Siempre aparece el ión molecular

Obtención de la masa molecular

## Detectores

### Espectrómetro de masas (MS)

#### Analizador de masas

Discrimina los fragmentos en función de su valor  $m/z$

**-Sector magnético**

**-Doble enfoque**

**-Cuadrupolo**

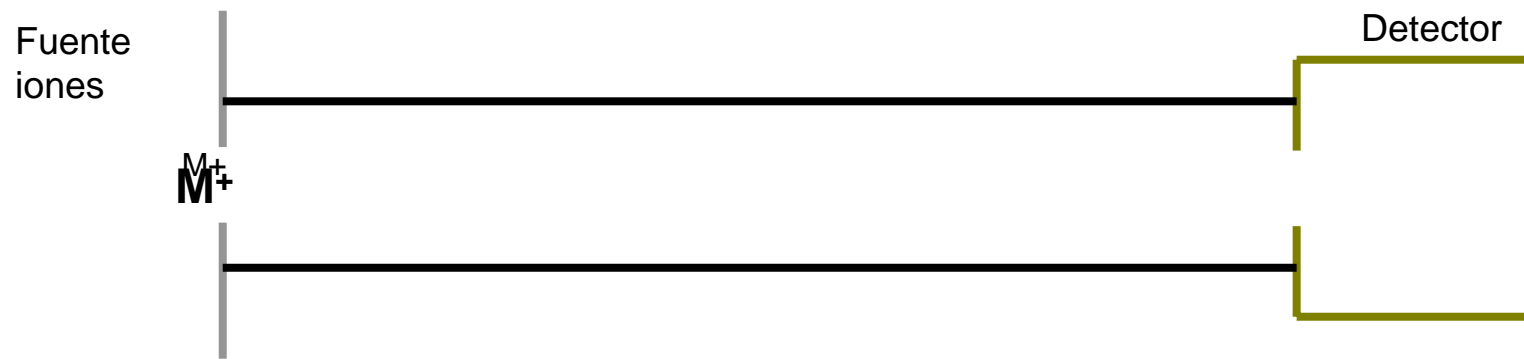
**-Tiempo de vuelo**

**-Trampa de iones**



## Analizador de tiempo de vuelo

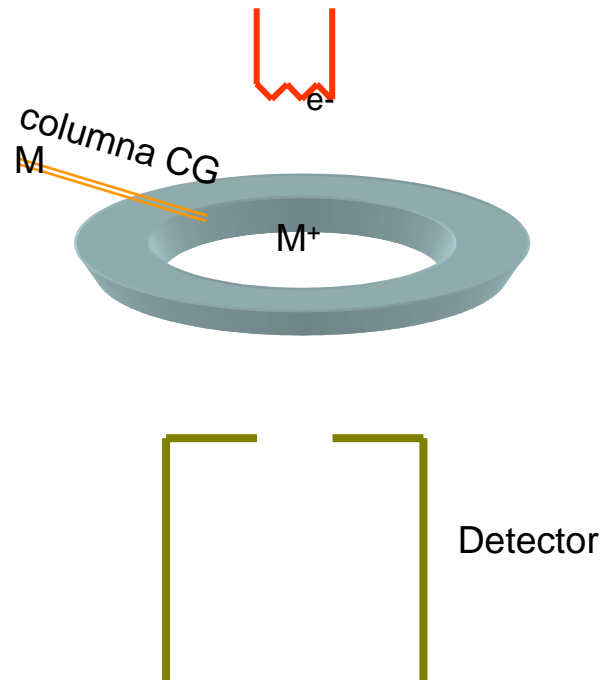
No actúa ningún campo magnético ni electrostático  
Los iones de menor masa llegan antes al detector



- Rango de masas ilimitado → Biomoléculas
- Alta sensibilidad
- Baja resolución

## Analizador de trampa de iones

Electrodo anular sobre el que se aplica un campo de radiofrecuencia que estabiliza la órbita de los iones

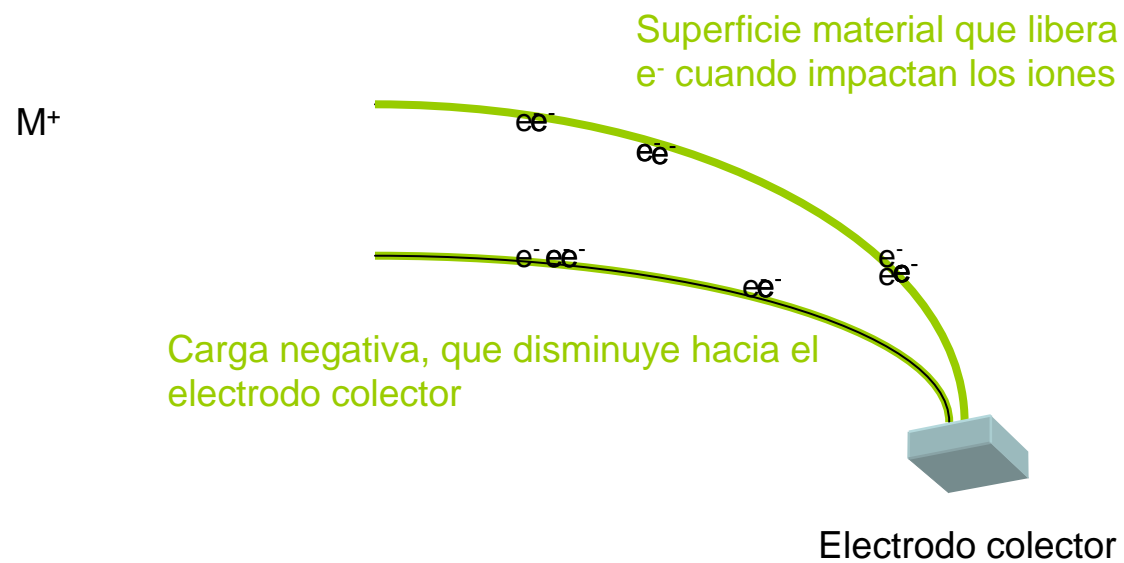


-Diseño sencillo → CG-MS  
-Baja resolución

## Detector de masas

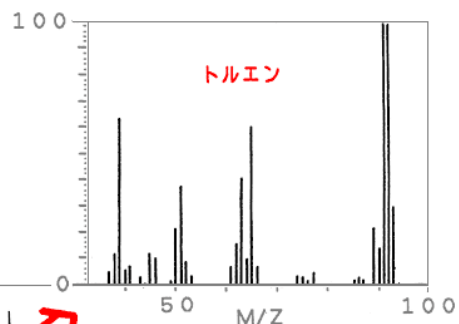
### Channeltron

Multiplicador de iones



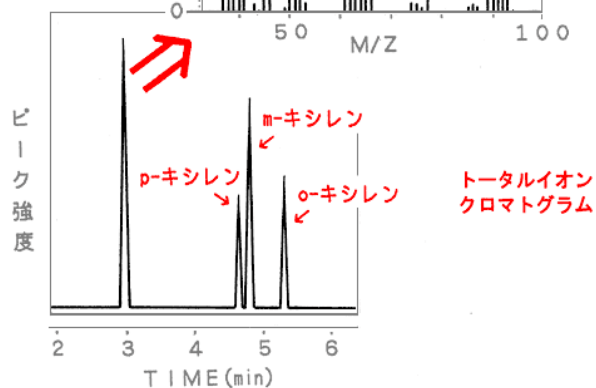
## Detectores

### Espectrómetro de masas



マススペクトル

Espectros de masas



TIC  
Total Ion  
Current

トータルイオン  
クロマトグラム

Cromatograma

- modo SCAN (Barrido)
- modo SIR (Single Ion Recording)  
(Registro único de ión)