

TEMA 5.-CROMATOGRAFIA DE GASES

- 1.-Introducción
- 2.-Esquema de un cromatógrafo de gases
- 3.-Fase móvil
- 4.-Sistema de inyección
- 5.-Tipos de columnas
- 6.-Fase estacionaria. Soporte sólido
- 7.-Detectores
- 8.-Aplicaciones analíticas
- 9.-Bibliografía

1.-Introducción.

En cromatografía de gases se incluyen todos los métodos cromatográficos en los que la fase móvil es un **gas** (gas portador), siendo la fase estacionaria un líquido (CGL) o un sólido (CGS). Se desarrolla en una columna cerrada en la que se encuentra retenida la fase estacionaria y por la que se hace pasar el gas portador, la técnica de separación es la elución.

Iniciado el proceso cromatográfico los componentes de la mezcla se distribuyen entre la fase estacionaria y la fase móvil; la elución tiene lugar forzando el paso de un gas inerte a través de la columna. La fase móvil no interacciona con el analito y su única misión es la de transportar la muestra.

La cromatografía gas-sólido tiene una fase estacionaria sólida en la cual se produce la retención de los analitos debido a la adsorción física sobre la superficie del sólido. Esta técnica ha tenido una aplicación limitada debido a la tendencia de los picos de elución a formar colas y a la retención semipermanente de gases activos sobre la fase estacionaria.

La cromatografía gas-líquido (objeto de estudio en este capítulo) se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte (**soporte**) o en las paredes interiores de la columna, si ésta es capilar.

La técnica ha sido ampliamente desarrollada en los últimos años en el análisis de compuestos volátiles (punto de ebullición inferior a 400°C). La limitación es debida a que las muestras se deben de introducir como gas en cabeza de columna; cuando son líquidas se

volatilizan instantáneamente en el bloque de inyección del cromatógrafo. Martin y Synge, en 1941, definieron la técnica y en 1955 aparece en el mercado el primer cromatógrafo.

2.1-Esquema de un cromatógrafo de gases

Las partes esenciales de un equipo cromatográfico son, figura 5.1,

- Fuente de gas portador (botella a presión)
- Sistema de regulación de caudales (válvula reguladora y manómetro)
- Bloque termostatado de inyección de las muestras.
- Columna termostatada, conteniendo la fase estacionaria.
- Detector termostatado, con amplificador de señal y registro gráfico.
- Caudalímetro de precisión.

El **gas portador** es un gas inerte, generalmente helio, nitrógeno o argón, de elevado grado de pureza. El caudal del mismo que pasa por la columna, ha de ser conocido y controlado.

El **bloque de inyección**, para introducir los solutos en la corriente de gas portador y vaporizar las muestras cuando éstas no son gaseosas. Así, la temperatura del bloque ha de ser superior a la del punto de ebullición del componente de la mezcla menos volátil.

Las **columnas** pueden ser con **relleno**, en las que la fase estacionaria líquida está retenida sobre un sólido inerte (soporte) y **capilares ó semicapilares**, en las que la fase estacionaria se fija sobre las paredes interiores del capilar. La **temperatura de la columna** depende de los puntos de ebullición de los componentes de la mezcla.

El **detector** tiene por objeto medir la variación de alguna propiedad física del gas portador originada por la elución de los compuestos. La temperatura del detector ha de ser mayor o igual que la de columna para evitar la condensación de algún compuesto eluido

Registro gráficamente de la medición del detector.

La separación de los compuestos de una mezcla se realiza en las siguientes etapas,

1.-Una vez elegida la columna y fase estacionaria, se ajustan las temperaturas de la cámara de inyección, columna y detector, así como el caudal de gas portador. Cuando la señal del detector es constante (sin ruidos la línea base) se hace la inyección de la muestra.

2.-Las muestras se inyectan en cantidades inferiores a 1 μ l cuando son líquidas y sobre 1 ml si son gaseosas; se introducen en la cámara de inyección, donde se vaporizan, y son arrastradas hasta cabeza de columna.

3.-Los componentes se fijan en una pequeña zona de la columna; por equilibrios sucesivos entre fase móvil y estacionaria cada componente se desplaza por la columna a velocidades diferentes.

4.-Finalmente, los solutos que salen de la columna, pasan al detector y se obtiene el cromatograma.

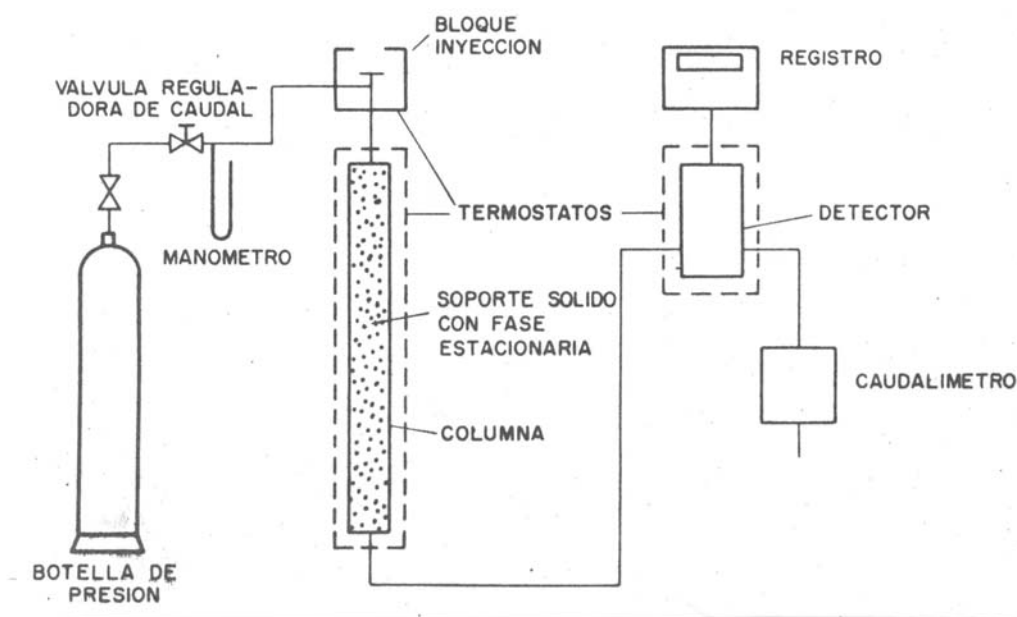


Figura 5.1.-Diagrama de un cromatógrafo de gases.

Los parámetros que definen una separación cromatográfica gas-líquido son, tipo de gas portador y caudal del mismo; columna y dimensiones de la misma; fase estacionaria; tipo de detector; temperatura del bloque de inyección, de la columna y del detector.

3.-Fase móvil

Ha de ser un gas inerte, que no interaccione con la fase estacionaria ni con el analito, como el helio, el argón, el nitrógeno y el hidrógeno. La elección del gas portador se hace, frecuentemente, en función del detector. El **nitrógeno**, **helio** y **hidrógeno** suele utilizarse con los detectores de ionización de llama (FID). El **argón** con el detector de captura electrónica (ECD). El **helio** e **hidrógeno** con el detector de conductividad térmica (TCD), por su elevada conductividad; si bien el hidrógeno es un fuerte reductor, lo que puede limitar su uso.

La velocidad de flujo se controla por medio de reguladores de presión, manómetros y medidores de flujo. El rango de presiones varía entre de 0,7 a 3,5 kg/cm² por encima de la presión ambiental, lo que proporciona una velocidad de flujo desde 25 a 50 ml/min en las columnas de relleno y de 1 a 25 ml/min en las columnas capilares. El caudal de gas portado se mide al final de la columna, mediante un medidor de pompas de jabón.

4.-Sistema de inyección

La eficacia de la columna obliga a que la muestra sea de un tamaño adecuado y que se aplique instantáneamente; inyecciones lentas o muestras de volumen excesivo producen ensanchamientos de las bandas y disminuye la eficacia.

La muestra se introduce en el bloque de inyección con una microjeringa a través de una membrana de caucho o silicona (septum), figura 5.2. La cámara de inyección es de acero inoxidable o níquel con un sistema de calefacción eléctrica y un aislamiento térmico que permita mantener una temperatura constante, 50°C por encima del punto de ebullición del analito.

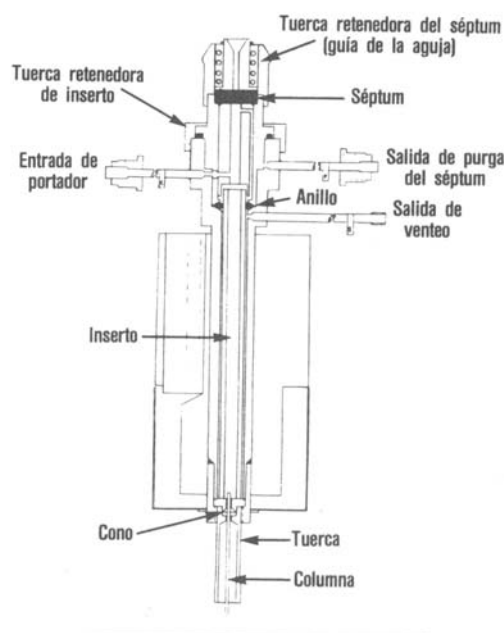


Figura 5.2.-Inyector para capilares con divisor o sin divisor de flujo.

En las columnas de relleno, la cantidad de muestra líquida máxima es de 10 µl; en columnas capilares se utilizan muestras mucho más pequeñas, del orden de 10⁻³ µl. El inyector para columnas capilares suele disponer de un sistema de división de flujo (split/splitless) para que a la columna solamente pase una pequeña fracción de la muestra, desechando el resto. Las muestras gaseosas se inyectan mediante una válvula automática y en mayor cantidad.

Los requisitos que debe cumplir un sistema de inyección son producir bandas iniciales lo más estrechas posibles y no alterar la composición de la mezcla que llega a la columna.

5.-Tipos de columnas

Existen dos tipos de columnas, principalmente, de relleno y capilares o semicapilares. Contiene la fase estacionaria y en ella tiene lugar la separación cromatográfica.

Las **columnas de relleno** suelen ser de cobre, acero inoxidable, aluminio, vidrio y teflón; con un diámetro interior entre 2 y 4 mm y una longitud entre 2 y 3 m. La eficacia está en torno a 1.000-2.000 (platos teóricos/m). Suelen emplearse para muestras poco complejas, máximo 10 componentes.

La columna está rellena de un material sólido (soporte), finamente dividido y homogéneo; recubierto, por una capa de 0,05-1 μm de espesor, de fase estacionaria líquida. Está configurada en forma helicoidal, con un diámetro de unos 15 cm, para poder ser instalada en el horno termostatzado.

Las **columnas capilares** tienen un diámetro interior inferior a 1 mm (320-250 μm) y una longitud de 5 a 50 m. Suelen construirse con sílice fundida que le dan gran resistencia física y flexibilidad. Alcanzan una eficacia hasta de 4.000 (platos teóricos/m) y se usan para muestras complejas. La fase estacionaria se depositada sobre las paredes interiores del tubo capilar.

Otro tipo de columnas capilares son con soporte recubierto, en la que la superficie interna del capilar esta recubierta de una capa de material de soporte (tierras de diatomeas) de 30 μm , lo que permiten una mayor cantidad de fase estacionaria y por tanto de muestra.

Las columnas semicapilares tienen un diámetro interior de 530 μm que admiten cantidades de muestra similares a las columnas de relleno, y proporcionan mayor eficacia que éstas.

Una de las variables importantes en el desarrollo cromatogáfico, como se indicó con anterioridad, es **la temperatura de la columna**; temperatura óptima es función de los puntos de ebullición de los componentes de la muestra y del grado de separación deseado.

En muestras de parecidos puntos de ebullición la temperatura óptima es ligeramente superior al punto de ebullición medio de los componentes de la muestra. En el caso de muestras complejas, en la que los puntos de ebullición de los distintos componentes son muy diferentes, se recomienda emplear una programación de temperatura, aumentando ésta continuamente a medida que avanza la separación. El aumento de la temperatura reduce los tiempos de retención.

6.-Fase estacionaria. Soporte sólido

La **fase estacionaria** de una columna cromatográfica ha de reunir una serie de requisitos como,

- *Baja volatilidad, su punto de ebullición debe de ser por lo menos 100°C superior a la temperatura máxima de operación de la columna.
- *Estabilidad térmica.
- *Inercia química.
- *Los valores del factor de capacidad (k') y del factor de selectividad (α) de los analitos deben estar dentro de los intervalos aconsejados.

La separación en cromatografía gas-líquido se debe a los diferentes coeficientes de reparto del analito entre la fase móvil y la fase estacionaria y tiene que haber un cierto grado de solubilidad de los compuestos con la fase estacionaria. Por ello, una característica muy importante de la fase estacionaria es la **polaridad**. Siguiendo el principio de "*semeljantes disuelven a semejantes*" los solutos se retienen más en las fases líquidas de polaridad parecida, lo que permiten obtener mejores separaciones.

Las fases estacionarias compuestas de hidrocarburos y de dialquilsiloxanos son poco polares, las compuestas por poliéster son muy polares. En cuanto a posibles compuestos objeto de separación, los alcoholes, ácidos y aminas son polares; los ésteres cetonas y aldehidos tienen polaridad intermedia; y son de baja polaridad los hidrocarburos saturados.

Otro factor a tener en cuenta son los **límites de temperatura** que puede soportar la fase estacionaria, el límite inferior será el punto de fusión o temperatura a la que la viscosidad de la fase líquida es muy elevada, lo que haría disminuir la eficacia. El límite superior es la temperatura a la que la presión de vapor de esta fase sea 0,1 mm Hg (250°C inferior al punto de ebullición) por encima de esta temperatura se produce arrastre de la fase líquida, lo que lleva consigo efectos en el detector (ruido, suciedad), interferencias con los solutos y en suma, deterioro de la columna.

En una fase líquida cualquiera, una serie homóloga se eluye según orden creciente de número de átomos de carbono. Si la fase es no polar, los solutos no polares eluyen según orden creciente de punto de ebullición. En una fase polar se retendrán más los solutos polares que los no polares a igualdad de puntos de ebullición.

Otro aspecto ha desarrollar, relacionado con la fase estacionaria, es el **soporte sólido** empleado en las columnas de relleno; el objetivo es el de proporcionar una superficie elevada donde depositar la fase líquida en forma de película muy fina para proporcionar una mayor superficie de contacto entre fase móvil y fase estacionaria.

Las características de los soportes sólidos son, una elevada superficie específica ($1\text{m}^2/\text{g}$); una superficie homogénea; estabilidad térmica; geometría adecuada; baja dispersión de tamaño de las partículas, entorno a 150-250 μm ; dureza mecánica; inercia química y naturaleza porosa.

Los soporte, más generalizados, son los de **silíceo** como las tierras de diatomeas o sintéticos; de **vidrio** y de **polifluorocarbonados** (teflón). Los soportes de diatomeas están constituidos por residuos de algas unicelulares diatomáceas que se unen formando filamentos.

Hay unas 10.000 especies de diatomeas con esqueletos diferentes, pero parecida estructura. Tienen una superficie específica de $1\text{ m}^2/\text{g}$. El constituyente mayoritario es de anhídrido silícico SiO_2 (90%), tratado con un fundente alcalino a 1.600°C se obtiene el producto comercial conocido como Chromosorb W de superficie poco adsorbente por lo que es muy útil para separar compuestos polares.

Otro soporte es el de polvo de ladrillo refractario conocido como Chromosorb P, C-22 y Sterchomel, tiene mayor resistencia mecánica y superficie específica que el anterior, pero es muy activo y no se puede utilizar con compuestos polares.

Los soportes de silicatos en columnas de relleno y en las paredes interiores de sílice fundida, en las columnas capilares, provocan adsorciones no deseadas de analitos polares, lo que da como resultado picos cromatográficos distorsionados.

Se ha demostrado que este fenómeno se debe a los grupos silanol (-SiOH) que se forman en la superficie de los silicatos debido a la humedad. El silanol tiene gran afinidad por las moléculas orgánicas polares. Este proceso puede desactivarse por sililación con dimetilclorosilano, $\text{Cl}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_2$, que elimina el H del silanol formando ClH.

7.-Detectores

Un detector es todo dispositivo capaz de medir una propiedad física del gas portador, la cual varía con la presencia de pequeñas cantidades de analito; debe reunir una serie de características,

- Alta sensibilidad (relación entre la respuesta del detector y la magnitud física de la muestra detectada)
- Buena estabilidad
- Respuesta continua y reproducible a los cambios de concentración del compuesto
- Respuestas adecuadas al mayor número posible de muestras
- Tiempo de respuesta corto
- Reactividad nula.

Los detectores más comunes son:

a) **Detectores de conductividad térmica**, se basa en los cambios en la conductividad térmica de la corriente de gas portador debido a la presencia de moléculas del analito que abandonan la columna. Responde a la concentración del soluto en el gas portador y no es destructivo.

El elemento principal es una "célula de conductividad térmica" que consiste en un bloque de material buen conductor del calor, con una cavidad a través de la cual fluye el gas portador. En su interior, se coloca un hilo de platino, a temperatura 40°C superior a la del bloque. La pérdida de calor del elemento caliente depende de la conductividad térmica del gas, figura 5.3.

En el bloque se perforan dos cavidades, conteniendo cada una de ellas un hilo de platino calentado; por una de ellas pasa gas portador puro y por la otra el gas portador que sale por la columna, para medir conductividades relativas.

Los elementos sensores están incorporados a un puente de Wheatstone; cuando pasa solamente gas portador puro a través de ambas células, el puente se equilibra a cero; cuando

eluye un componente, la conductividad térmica de la mezcla (gas portador-analito) varía, por lo que cambia la temperatura del elemento sensible de la correspondiente célula. Como consecuencia de esto, hace lo mismo la resistencia del filamento y se desequilibra el puente, produciendo una variación de potencial que se mide en un milivoltímetro.

Un último requisito es que la conductividad térmica del gas portador ha de ser elevada, caso del helio e hidrógeno que es de seis a diez veces mayor que la mayoría de los compuestos orgánicos.

Otras consideraciones sobre el detector de conductividad térmica son, la sencillez, el amplio rango lineal, respuesta a todo tipo de compuestos, carácter no destructivo, y baja sensibilidad (10^{-8} g soluto/ml) que impiden su utilización con columnas capilares, debido al pequeño tamaño de las muestras.

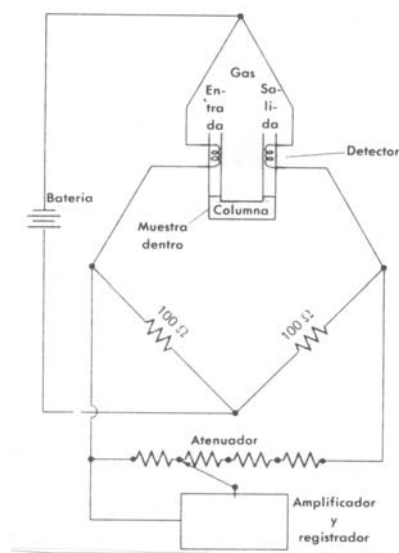


Figura 5.3.-Diagrama esquemático de un sistema detector-registrador de conductividad térmica.

b) **Detector de ionización de llama**, es uno de los más usados en cromatografía de gases; el gas portador procedente de la columna se mezcla con hidrógeno que sale por una tobera. En el extremo de ésta, se aporta aire y forma una llama que quema e ioniza los compuestos separados en la columna.

En la parte superior se encuentran dos electrodos entre los que se establece una diferencia de potencial; el analito ionizado en la llama y ocasiona un paso de corriente entre los electrodos que se registra, figura 5.4. Los gases portadores que se utilizan son el helio, nitrógeno e hidrógeno.

Este detector es insensible a grupos funcionales como carbonilo, alcohol, halógenos y amina que originan en la llama pocos iones; lo mismo ocurre con el He, Ar, Kr, Ne, Xe, O₂, N₂, CS₂, H₂S, SO₂, NO, N₂O, NH₃, CO, CO₂, H₂O, CH₄, SiHCl₃, SiF₄. Por otra parte, posee una elevada sensibilidad (10^{-13} g soluto/ml) y es destructivo

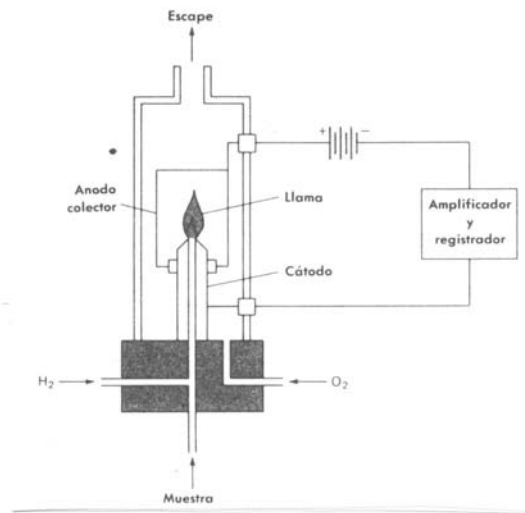


Figura 5.4.-Detector de ionización por llama de hidrógeno.

c) **Detectores de captura electrónica**, se basa en la captura de los electrones libres procedentes de la ionización del gas portador; disminuyendo, por tanto, la intensidad de corriente de ionización. Son muy sensibles (10^{-14} g soluto/ml) y no son destructivos.

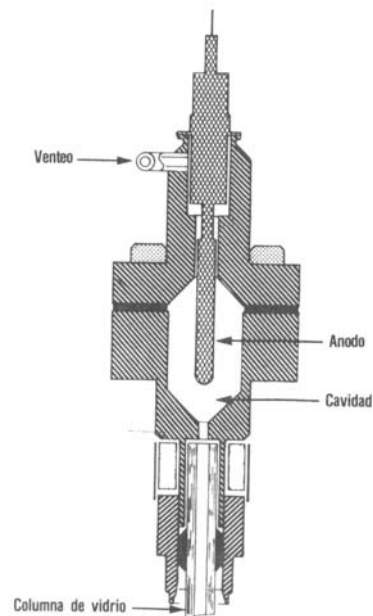


Figura 5.5. Detector de captura electrónica

La célula de conductividad consta de un ánodo, un cátodo y una fuente radiactiva de Ni^{63} que produce partículas β . Entre el ánodo y el cátodo se establece una diferencia de potencial suficiente para recoger todos los electrones pero no los iones.

Se utiliza Argón-metano 95-5 como gas portador para evitar la formación de iones metaestables. Cuando el Ar-CH₄ se introduce en la célula, sus moléculas se bombardean por las partículas β y la ionización del gas da origen a electrones libres. La atracción de estos electrones al ánodo crea una corriente base.

Si una muestra susceptible de capturar electrones (hidrocarburos clorados) se encuentra en la corriente de gas portador y entra en la célula de captura electrónica reduce la corriente, produciéndose una disminución en la señal de salida del detector, figura 5.5.

Su aplicación principal es para compuestos órganoclorados (pesticidas, herbicidas) aunque también es válido para aromáticos polinucleares, nitrocompuestos, anhídridos y compuestos de azufre, así como el NO₂ y SO₂ procedente de chimeneas.

d) Acoplamiento de cromatografía de gases con otras técnicas instrumentales, proporciona una herramienta muy potente en la identificación de los componentes de una mezcla compleja; la tendencia actual es utilizar como detectores selectivos, que controlan continuamente el efluente de la columna, técnicas instrumentales como Espectrometría de Masas y Espectroscopía Infrarroja; todo ello ayudado de un ordenador para el almacenamiento de los datos espectrales, y posterior presentación como espectros y cromatogramas.

8.-Aplicaciones analíticas

La aportación analítica de la cromatografía de gases al análisis químico tiene dos vertientes, la primera es **su capacidad en la separación de compuestos** (orgánicos, inorgánicos, bioquímicos, etc.). La segunda es emplear los tiempos o volúmenes de retención para **la identificación cualitativa**, mientras que el área de los picos proporciona **información cuantitativa**.

Como **parámetro cualitativo** se encuentra el tiempo de retención (t_R) o el volumen de retención (V_R); sin embargo, su dependencia de variables tales como temperatura de la columna, velocidad de flujo y composición de la fase estacionaria, le hace poco fiable. Pese a ello, si se observan tiempos de retención muy parecidos para un patrón (sustancia conocida) y una muestra problema cuando cambian las condiciones de operación, las probabilidades de que ambas sean la misma sustancia aumentan.

Otro parámetro cualitativo es la "**retención relativa**" que requiere un patrón interno B que permite obtener un valor de α que sirve como índice para identificar un compuesto A.

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$$

El parámetro que proporciona mayor fiabilidad es el "**índice de retención de Kovats**" que se basa en una comparación entre la posición del pico de un analito y los picos de dos o más parafinas normales. El sistema de índices de retención de Kovats está basado en la elección de series homólogas de parafinas normales como patrones de referencia dando un valor del índice $I=100n$ a cada parafina normal de n átomos de carbono.

Para un compuesto que eluye entre las parafinas de (n) y (n+m) átomos de carbono, el índice de retención de Kovats viene dado por la expresión,

$$I_i = 100n + 100m \left[\frac{\log(t'_R)_i - \log(t'_R)_n}{\log(t'_R)_{n+m} - \log(t'_R)_n} \right]$$

I_i es el índice de retención de Kovats del compuesto i

(t'_R) es el tiempo de retención reducido del compuesto i y de las parafinas de (n) y (n+m) átomos de carbono

El índice de retención de Kovats depende solamente de la fase estacionaria y de la temperatura, por lo que es fácilmente reproducible de unos instrumentos a otros. Es una constante para cada compuesto para unas condiciones experimentales determinadas, permitiendo la identificación cualitativa de compuestos. Este método es más laborioso que el de las retenciones relativas, requiere disponer de una serie de patrones de hidrocarburos saturados lineales y es una ayuda importante para la selección de fases estacionarias líquidas.

El método que se ha de seguir para una **aplicación cuantitativa** es general para todas las cromatografías y ha sido explicado en el tema 4.

Cuadros esquema del tema 5

TIPOS DE CROMATOGRAFIA DE GASES
CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO
CROMATOGRAFIA GAS-SOLIDO

TIPOS DE COLUMNAS
RELLENO
CAPILARES

SISTEMAS DE INYECCION DE MUESTRAS
EN CAMARA DE INYECCION
EN COLUMNA
CON DIVISION/SIN DIVISION DE FLUJO (CAPILARES)

TEMPERATURA DE COLUMNA

ISOTERMA

PROGRAMACION

TIPOS DE DETECTORES

CONDUCTIVIDAD TERMICA TCD

IONIZACION DE LLAMA FID

CAPTURA ELECTRONICA ECD

PARAMETROS CUALITATIVOS

TIEMPO DE RETENCION

RETENCION RELATIVA

INDICE DE RETENCION DE KOVATS

9.-Bibliografía

- Braithwaite, A. and Smith, F.J. "*Chromatographic methods*". Chapman and Hall, Ltd., London (1985).
- Dabrio, M. V. "*Cromatografía de gases*" I y II Ed. Alhambra, Madrid (1971 y 1973).
- Gascó, L. "*Teoría y Práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa*" Ed. Publicaciones de la Junta de Energía Nuclear, Madrid (1969).
- Grob, R. L. "*Modern Practice of Chromatography*" Ed. John Wiley & Sons, New York (1985).