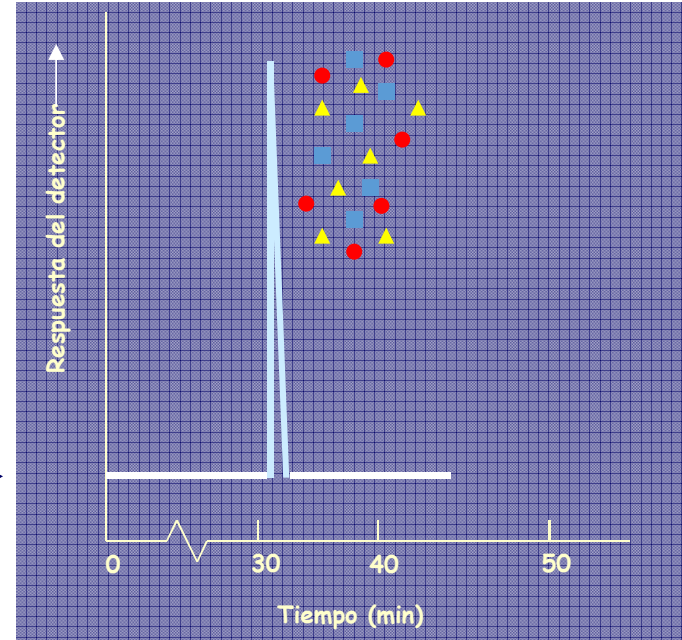
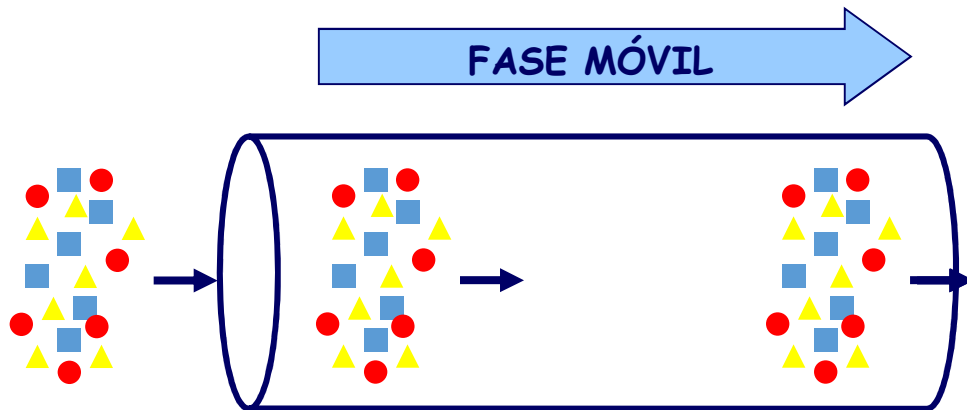


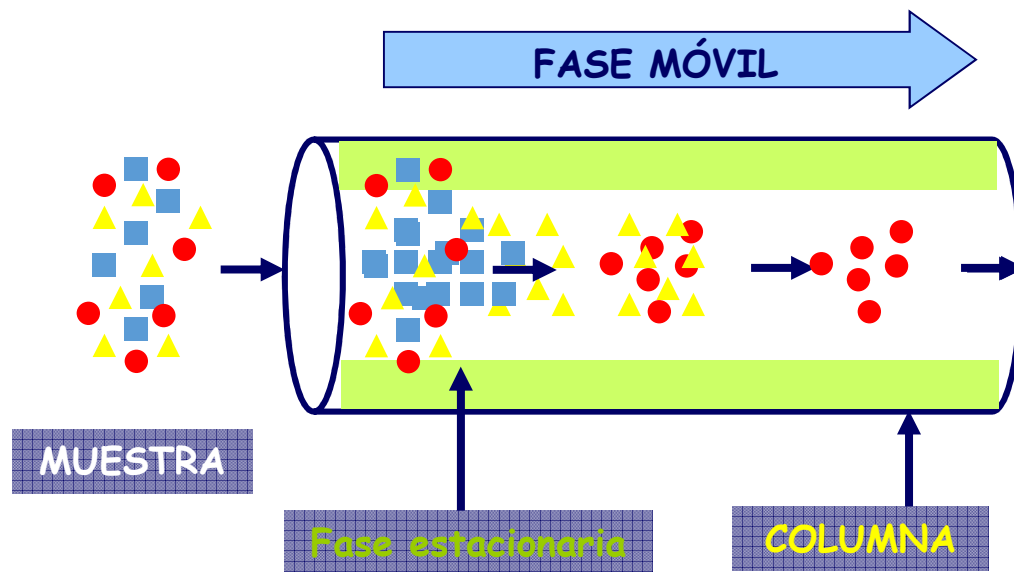
CROMATOGRAFÍA DE GASES Y LÍQUIDOS

MUESTRA

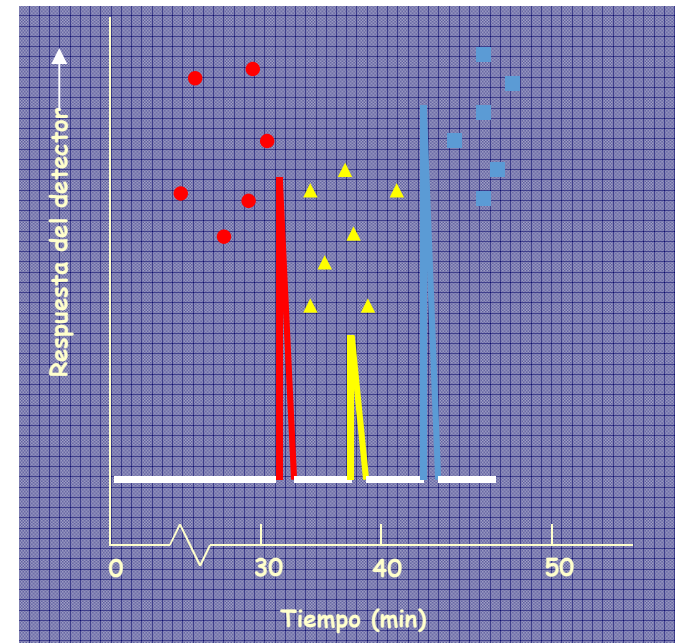


DETECTOR

CROMATOGRAFÍA



CROMATOGRAMA

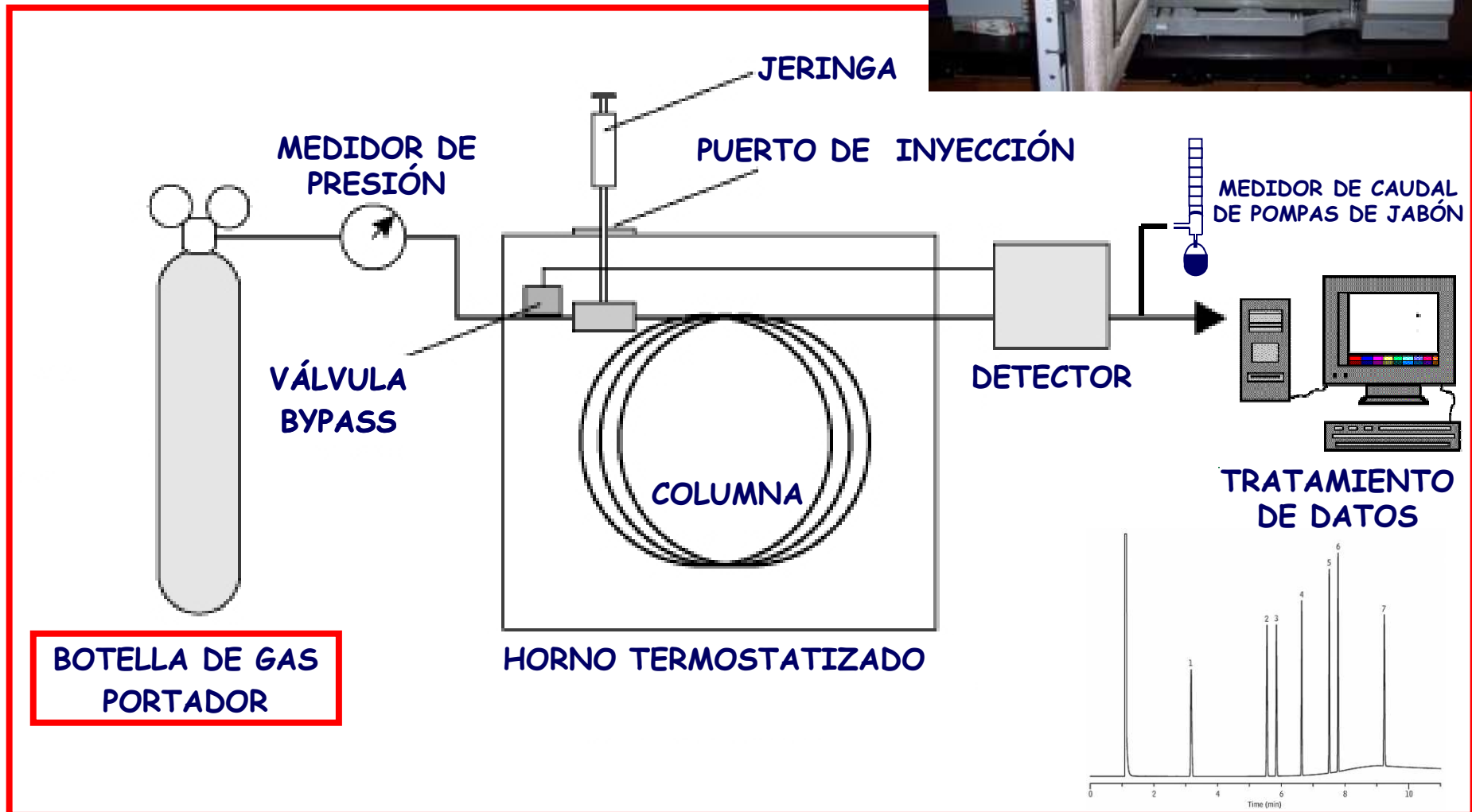
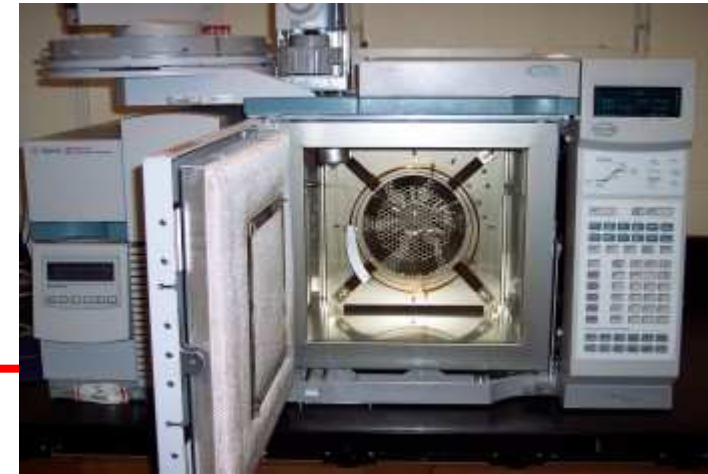


DETECTOR

Cromatografía de gases (GC)

INSTRUMENTACIÓN

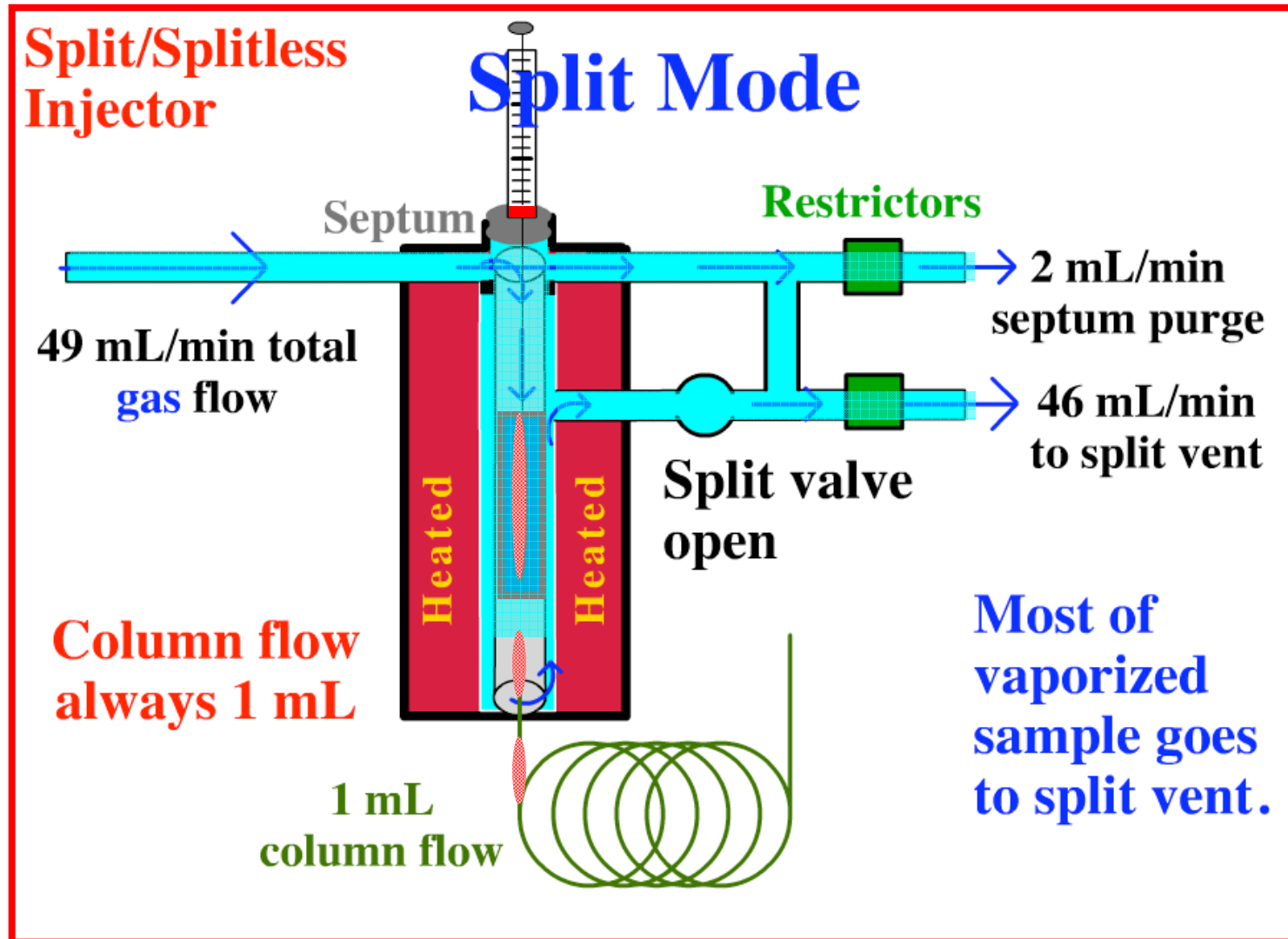
Un cromatógrafo de gases consta de:



Cromatografía de gases (GC)

SISTEMAS PARA LA INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA

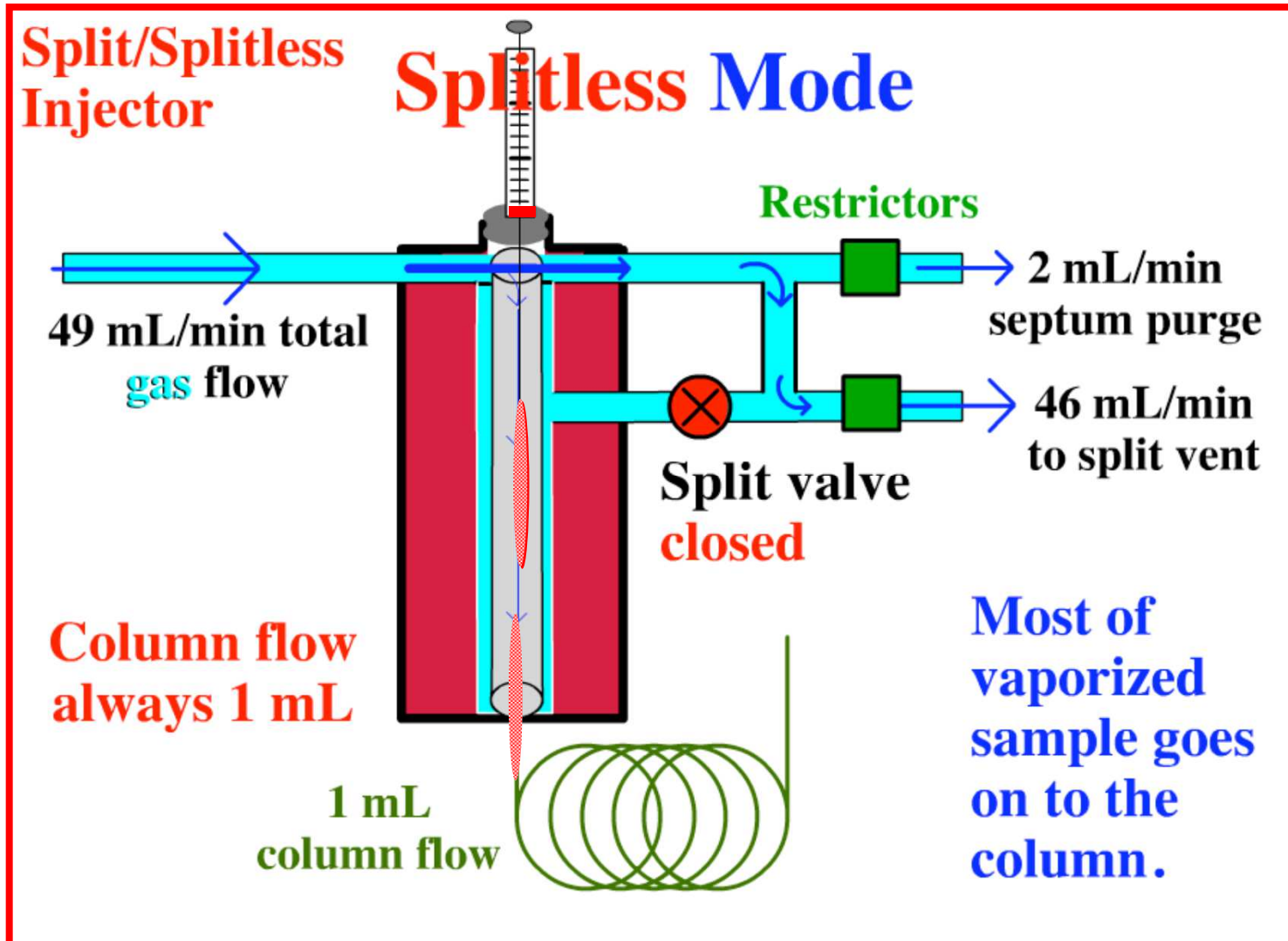
- Inyector split/splitless: **MODO SPLIT** (con división de muestra)



Cromatografía de gases (GC)

SISTEMAS PARA LA INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA

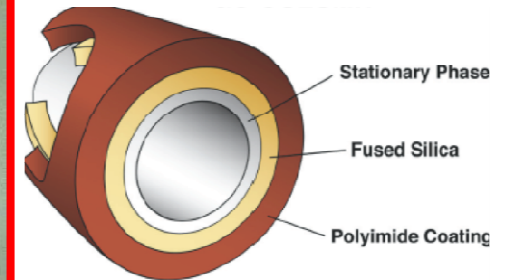
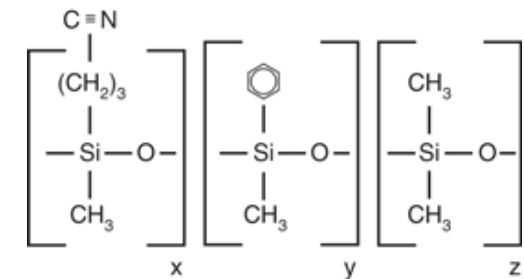
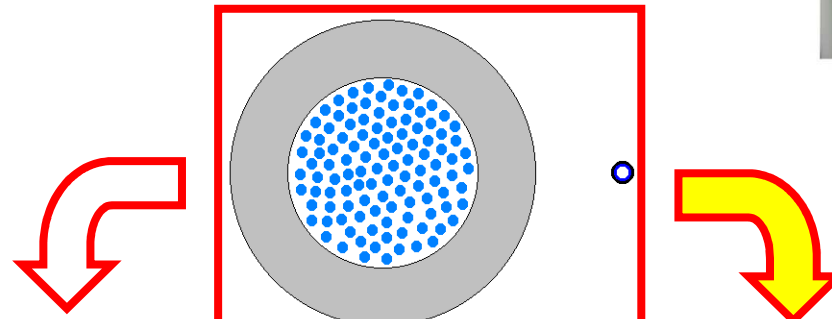
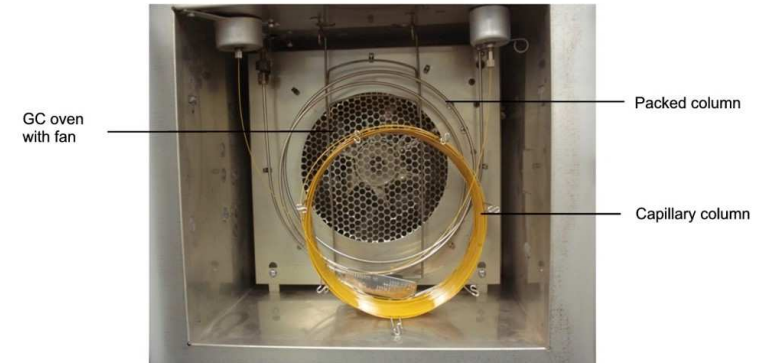
- Inyector split/splitless: **SPLITLESS** (sin división de muestra)



Cromatografía de gases (GC)

COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS

Packed and capillary columns in GC oven



EMPAQUETADA O DE RELLENO

$\varnothing = 2 \text{ a } 6 \text{ mm}$

$L = 1 \text{ m a } 6 \text{ m}$

1.000-2.000 platos teóricos/m

ABIERTAS O CAPILARES

$\varnothing = 0,1 \text{ a } 0,6 \text{ mm}$

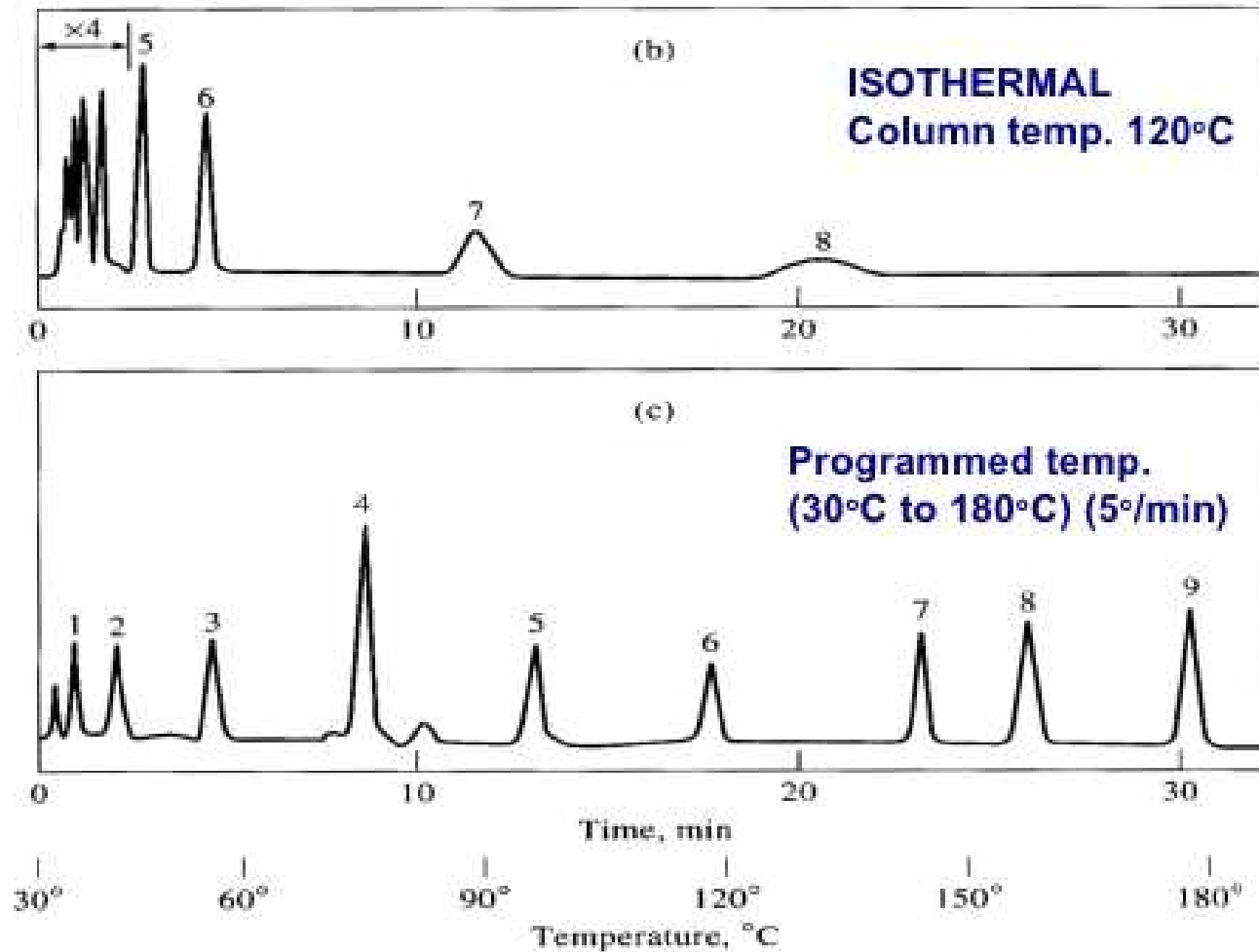
$L = 10 \text{ m a } 100 \text{ m}$

10.000 platos teóricos/m

Cromatografía de gases (GC)

Elución: Isotérmica vs programa de Temperatura

Elución de analitos depende de su P de vapor y por tanto de la Temperatura

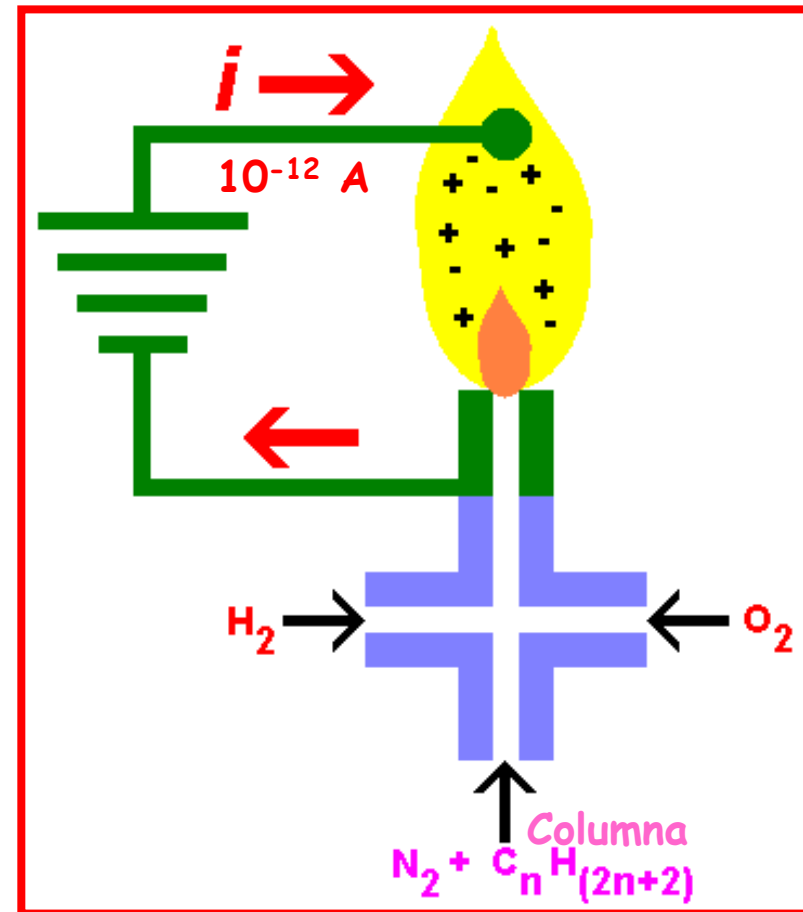
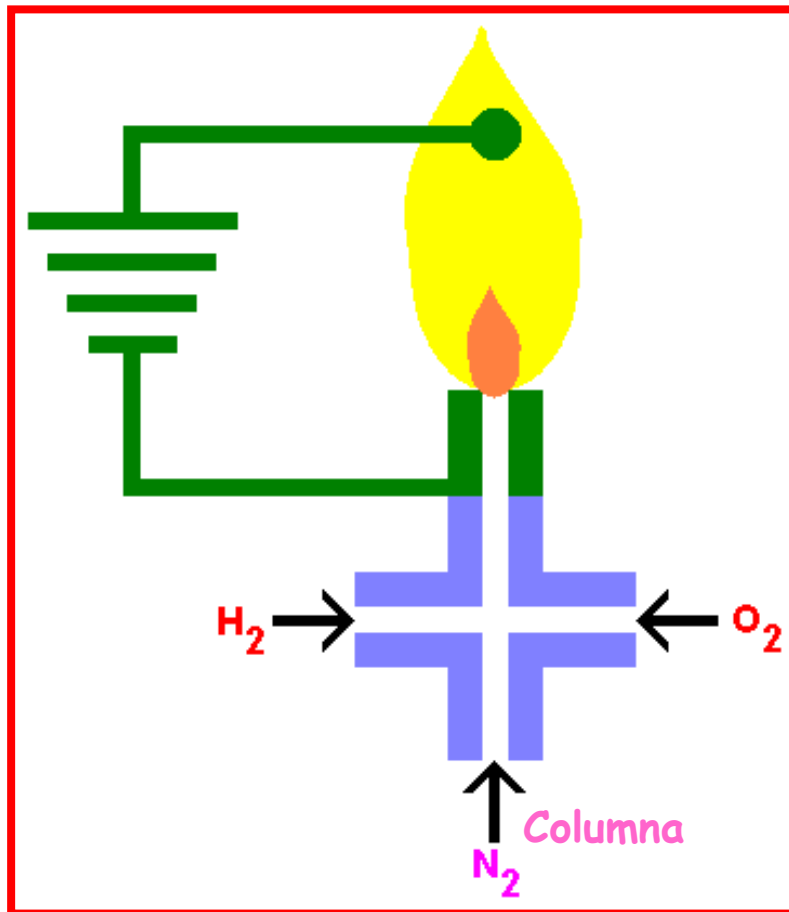


Cromatografía de gases (GC)

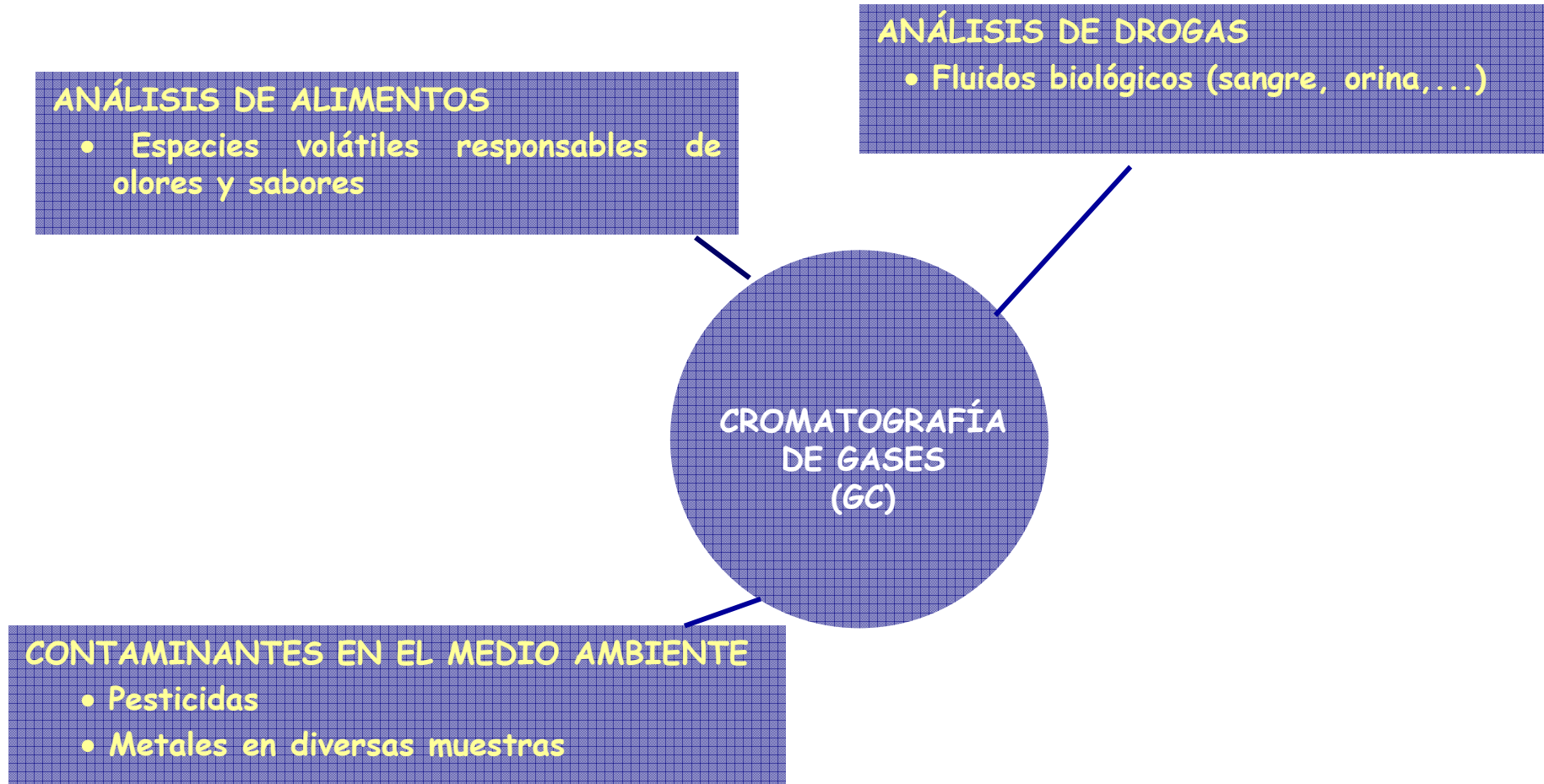
✓ Detector de ionización de llama (FID)

FUNDAMENTO

Formación de iones y electrones ($\text{CHO}^+ + e^-$) cuando se pirolizan átomos de carbono a la temperatura de una llama aire/hidrógeno



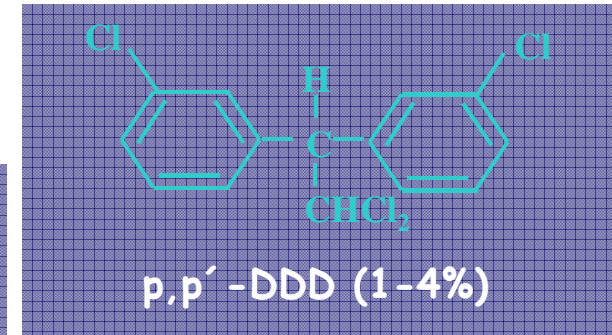
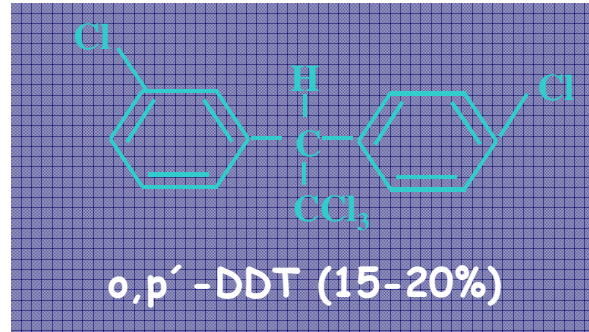
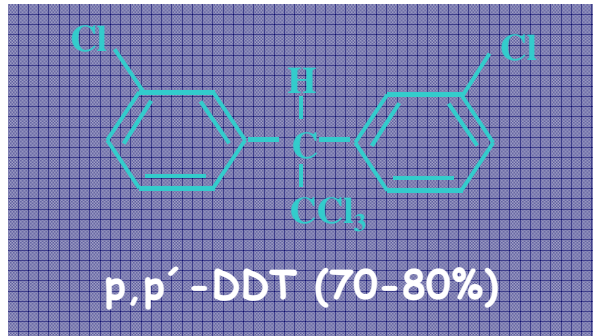
Cromatografía de gases (GC). Aplicaciones



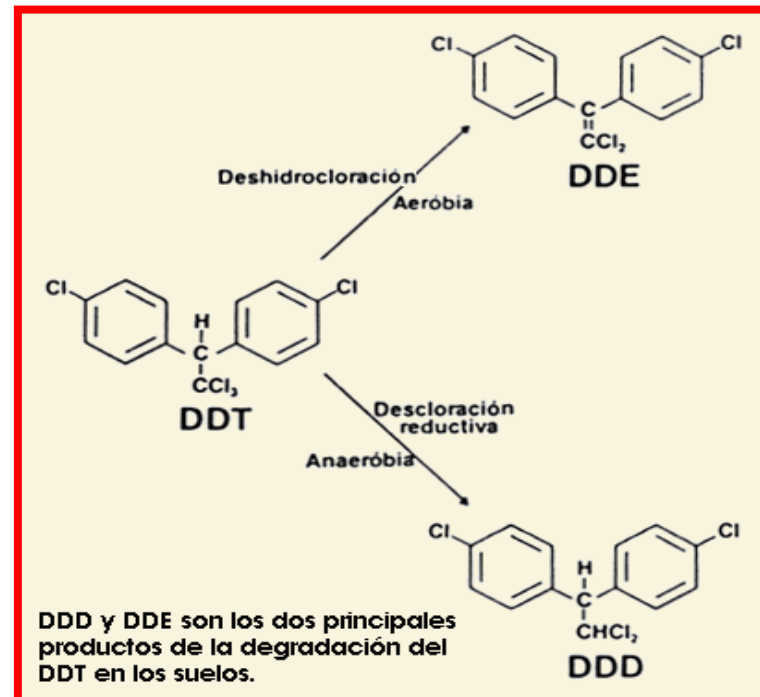
Cromatografía de gases (GC). Aplicaciones

Compuestos orgánicos: Pesticida DDT

✓ COMPONENTES:

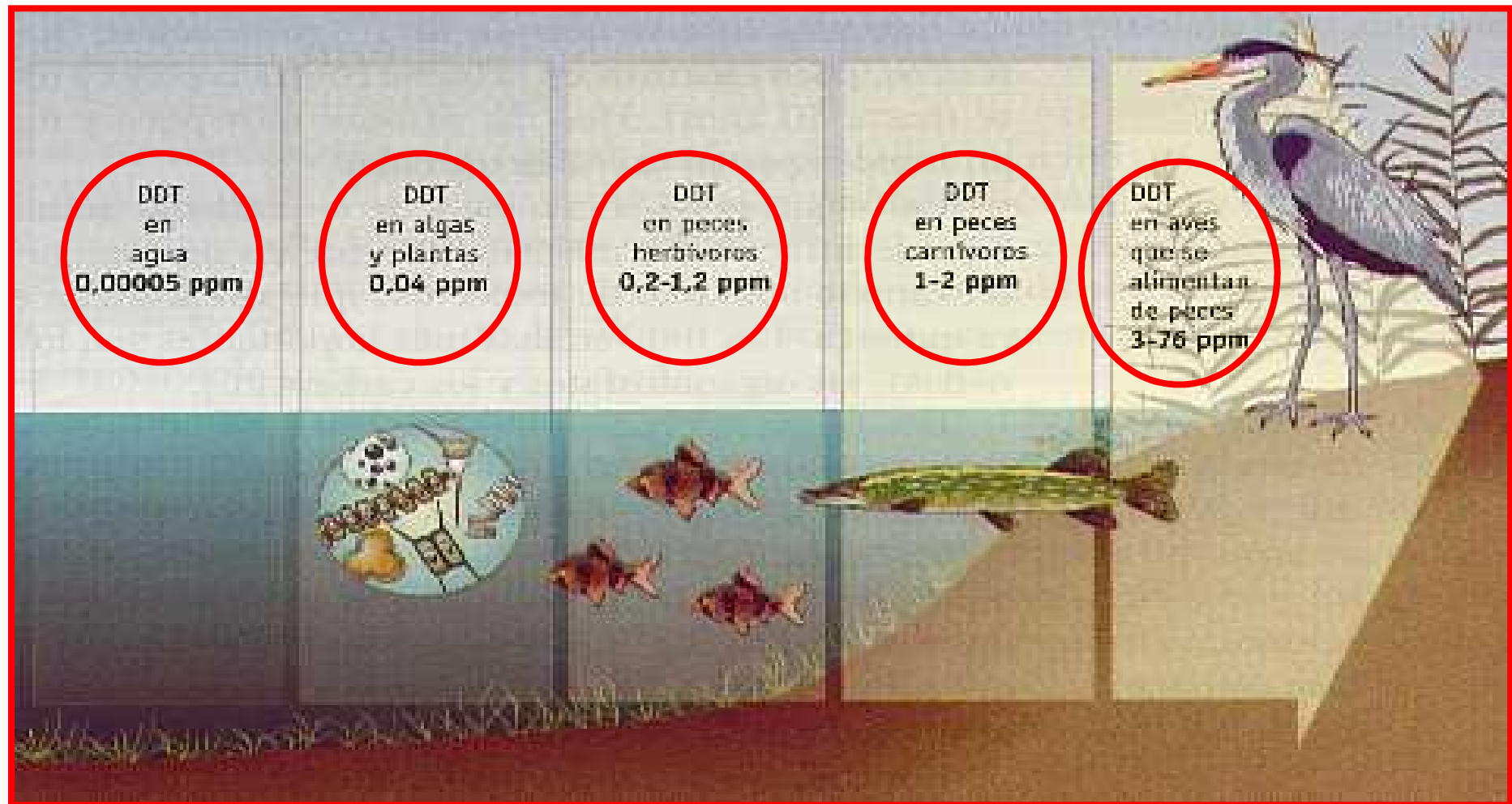


✓ DESCOMPOSICIÓN:

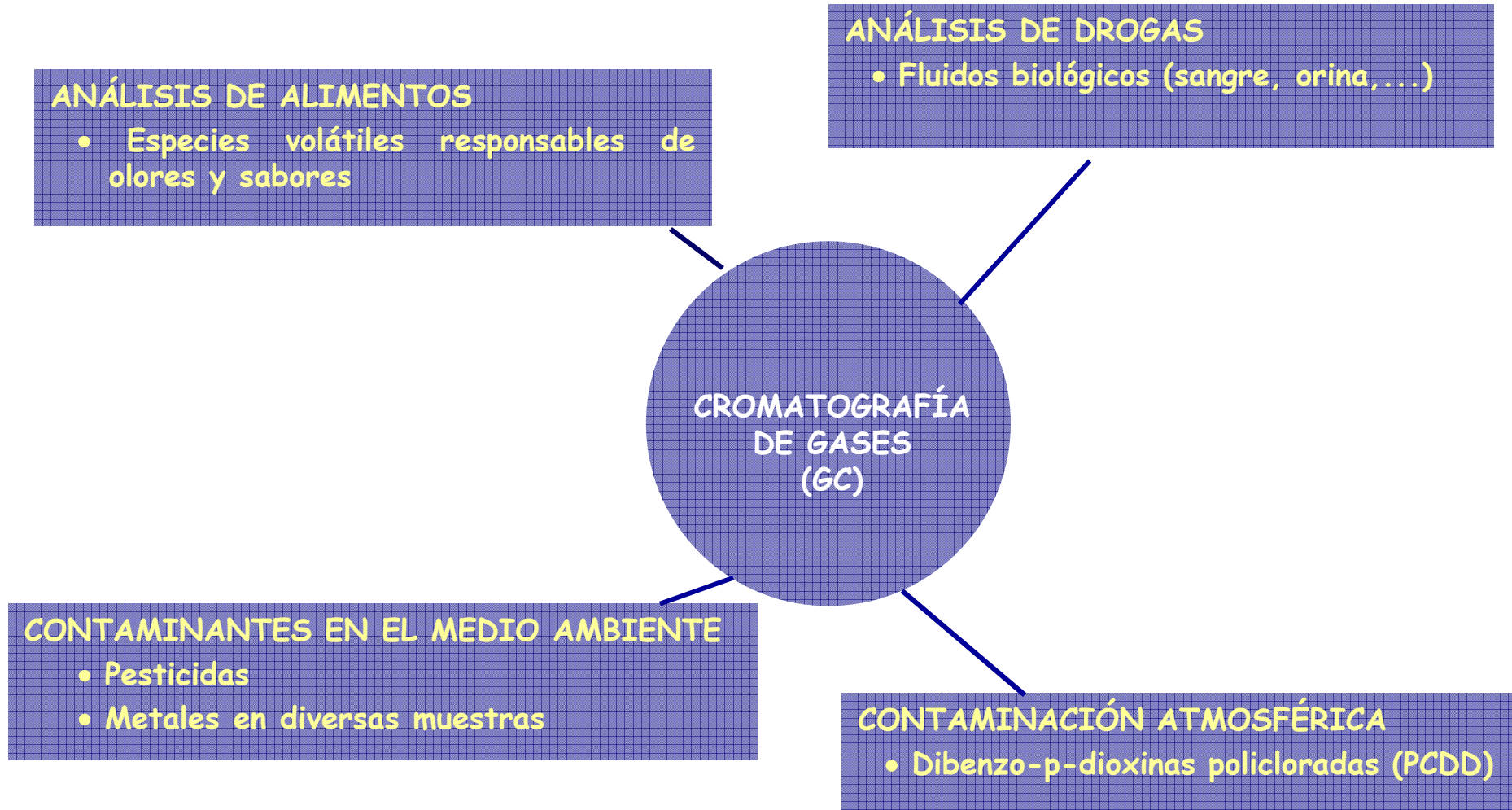


Cromatografía de gases (GC). Aplicaciones

Compuestos orgánicos: Pesticida DDT

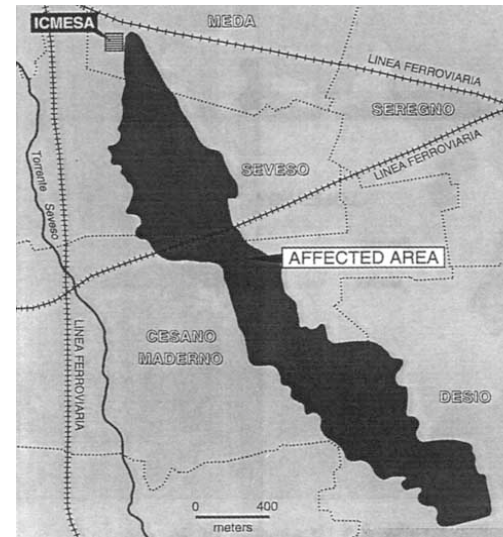
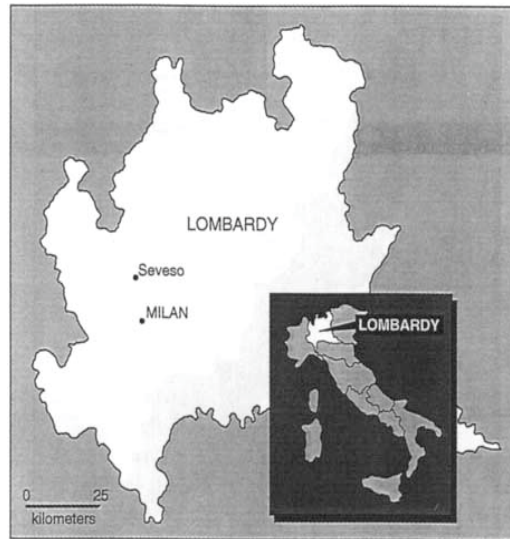


Cromatografía de gases (GC). Aplicaciones



Cromatografía de gases (GC). Aplicaciones

- Seveso, 1976: una nube tóxica que contenía TCDD (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina)



- Contaminación de alimentos:



- Envenenamiento:



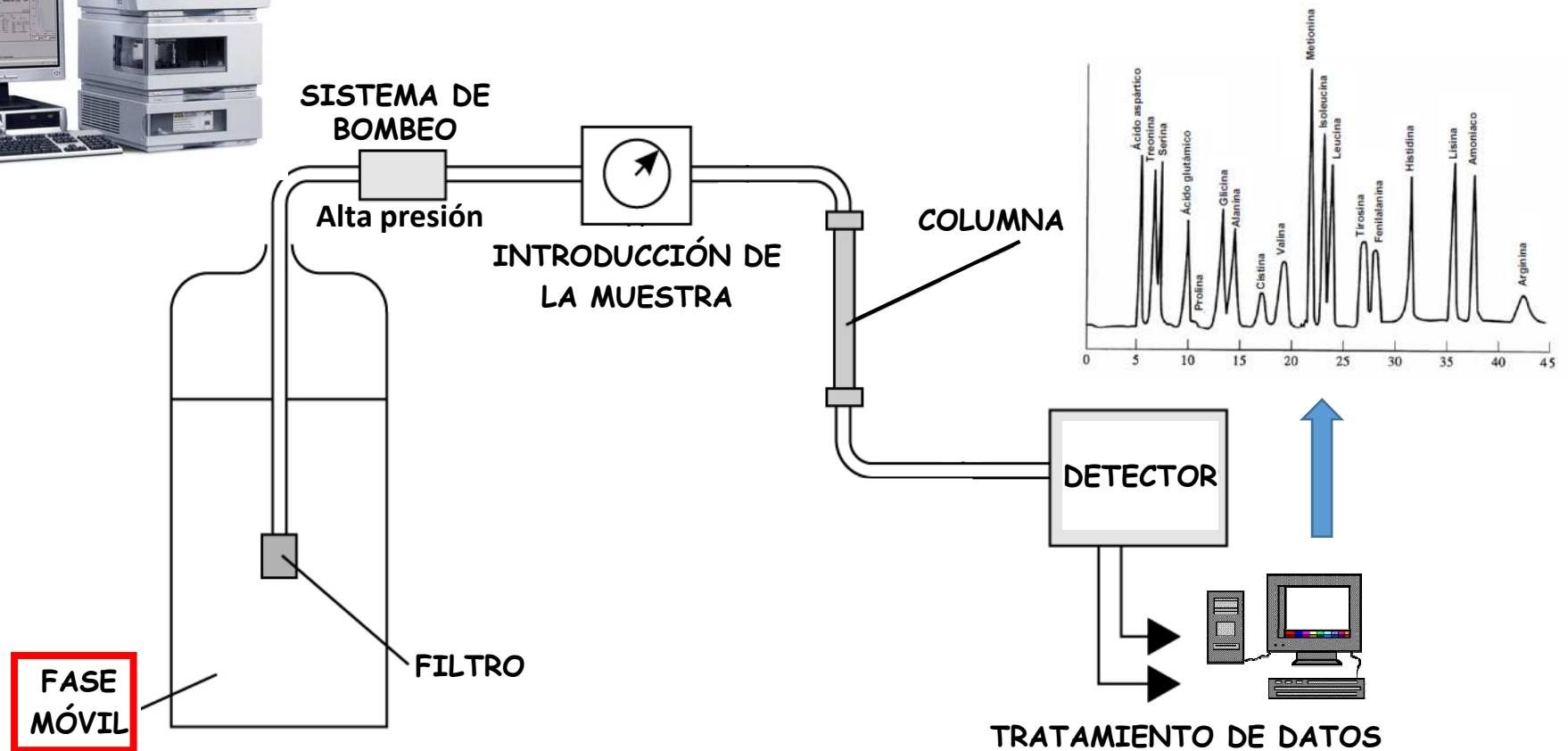


Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)

INSTRUMENTACIÓN



Un cromatógrafo de líquidos consta de:



Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)



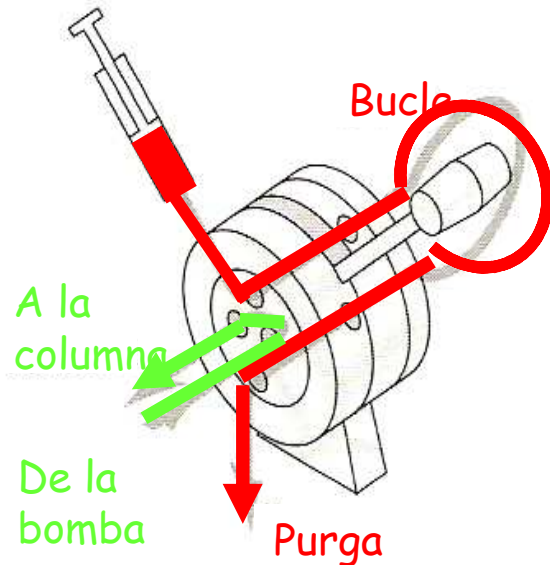
INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA

✓ Volúmenes pequeños para evitar sobrecarga de la columna

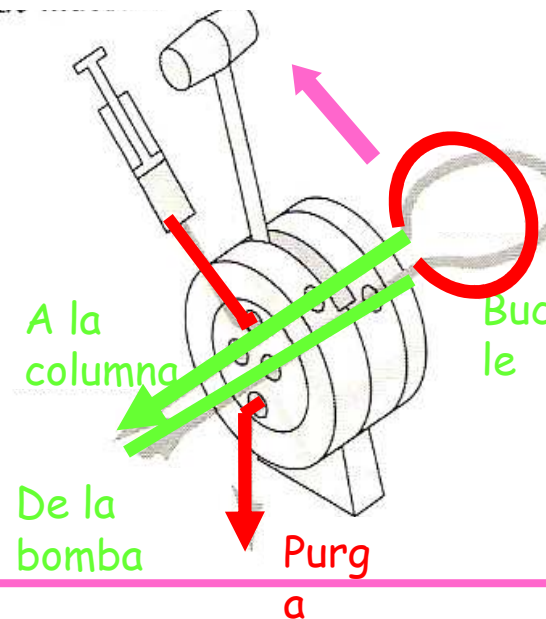
✓ Válvulas de inyección con bucles volumen conocido (5-500 μ l)



CARGA DE MUESTRA



INYECCIÓN DE MUESTRA





Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)

COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS

MODOS CROMATOGRÁFICOS

- Fase normal
- Fase inversa
- Cambio iónico
- Pares iónicos
- Exclusión por tamaños
- Afinidad

❖ Fase normal vs fase inversa



Fases estacionarias comunes

Reversed-Phase (RPC)

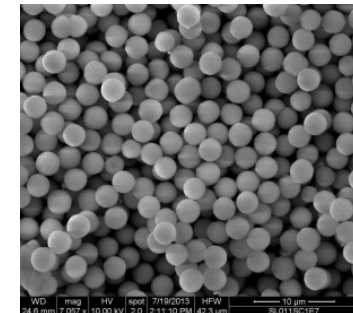
C18	Octadecyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - (\text{CH}_2)_{17} - \text{CH}_3$
C8	Octyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$
CN	Cyano	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CN}$
ϕ	Phenyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{C}_6\text{H}_5$
Polar-embedded (Amide)		$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{NHCO}(\text{CH}_2)_{14} - \text{CH}_3$

Normal-Phase (NPC)

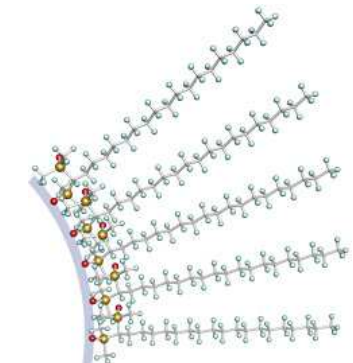
Si	Silica	Si - OH
NH ₂	Amino	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$

Ion-Exchange (IEC)

SP	Sulfo propyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{SO}_3^-$
CM	Carboxymethyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CO}_2^-$
DEAE	Diethylaminoethyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}^+ (\text{C}_2\text{H}_5)_2$
SAX	Triethylaminopropyl	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}^+ (\text{C}_2\text{H}_5)_3$



HPLC - Normal Phase HPLC vs Reverse Phase HPLC

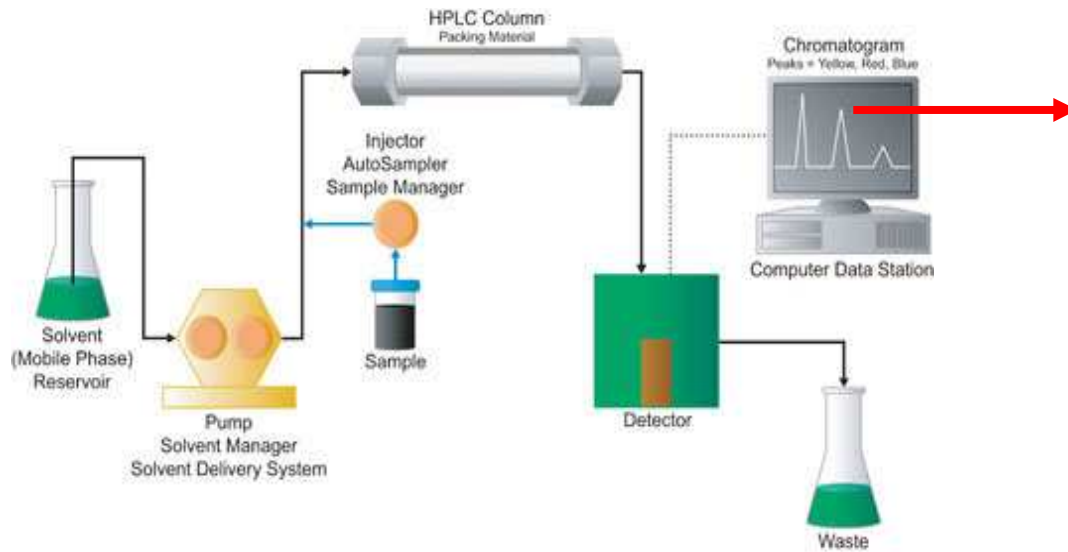


C18

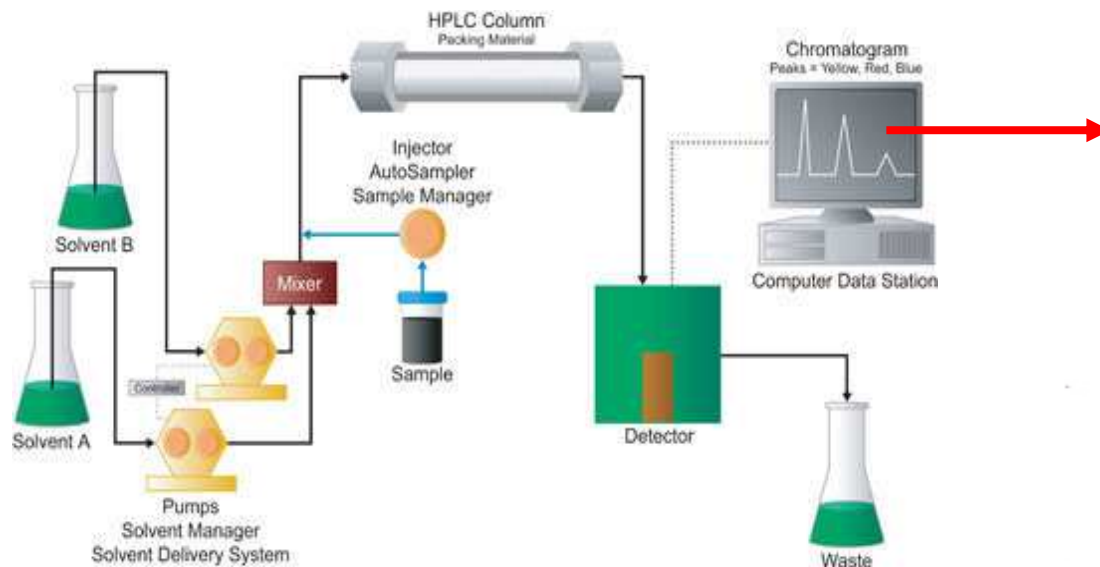
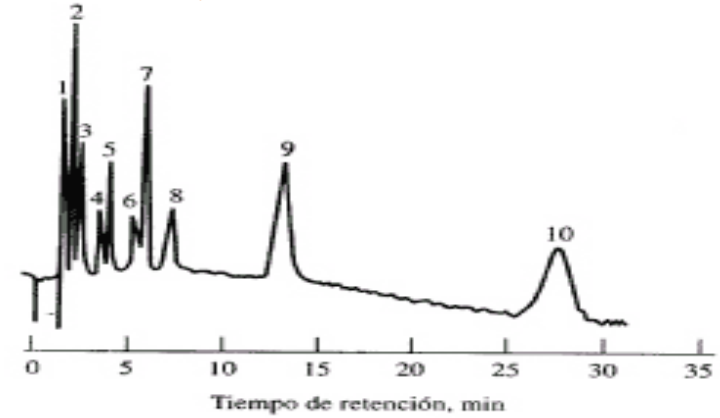


Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)

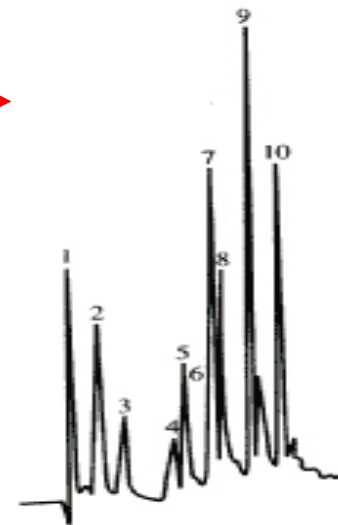
MODOS DE ELUCIÓN



Elución **ISOCRÁTICA**: fase móvil con composición constante



Elución **EN GRADIENTE**: cambio de la composición de la fase móvil



Identificación de picos

1. Benceno
2. Monoclorobenceno
3. Ortodichlorobenceno
4. 1,2,3-triclorobenceno
5. 1,3,5-triclorobenceno
6. 1,2,4-triclorobenceno
7. 1,2,3,4-tetraclorobenceno
8. 1,2,4,5-tetraclorobenceno
9. Pentaclorobenceno
10. Hexaclorobenceno

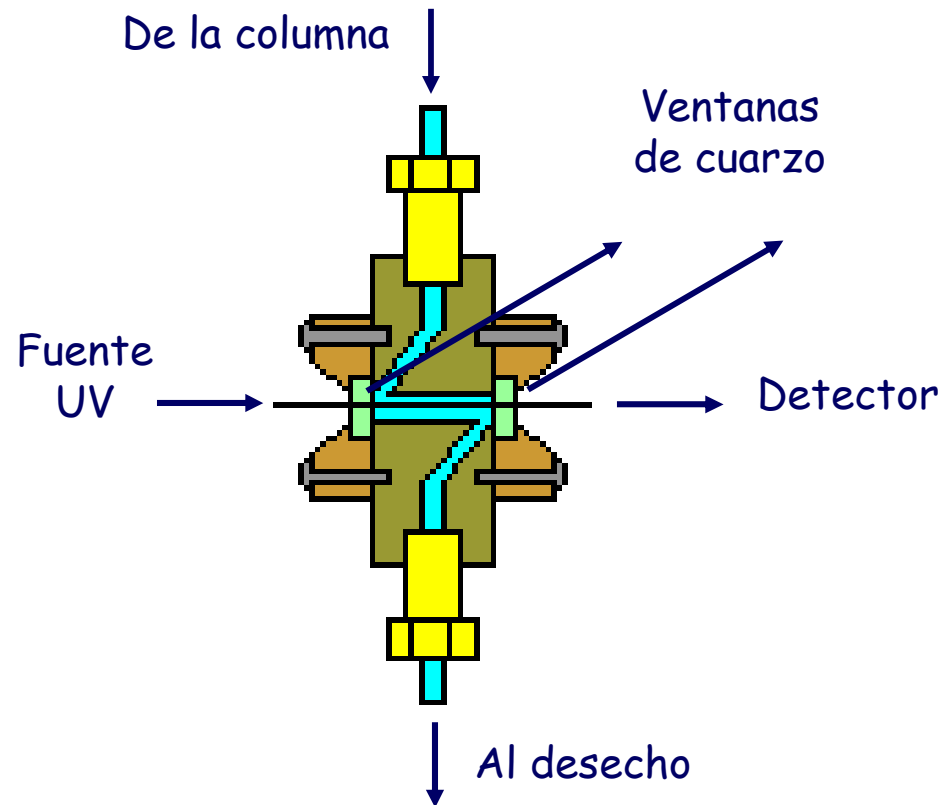
Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)



✓ DETECTOR DE UV/VISIBLE

- Fundamento: absorción de radiación ultravioleta o visible

- Célula de flujo: volumen mínimo entre 1 y 10 μ l



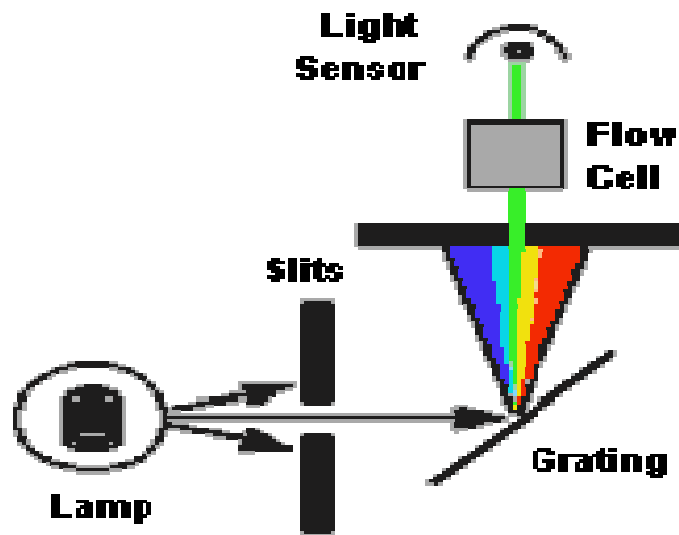


Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)

✓ DETECTOR DE UV/VISIBLE

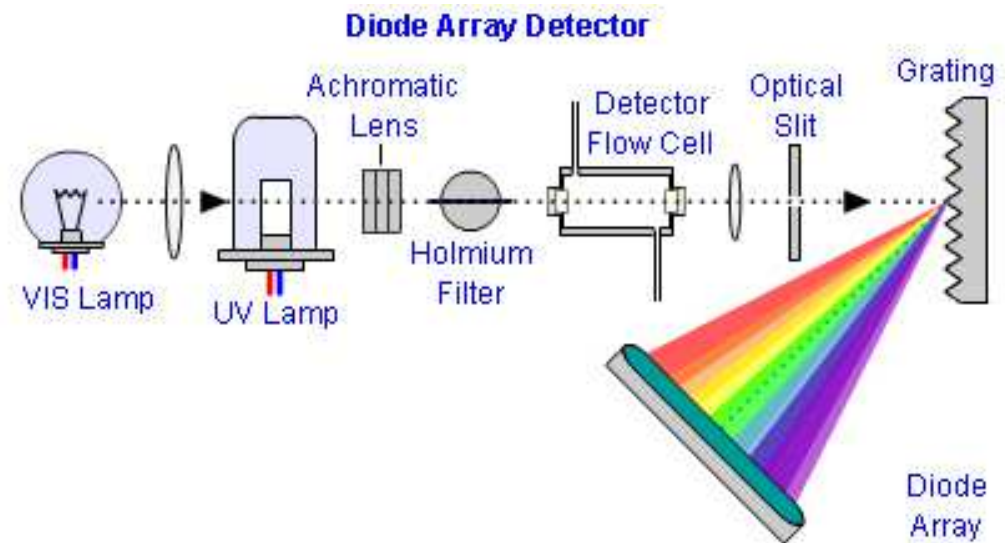
- **Detección monocromática**

Detección a una sola longitud de onda



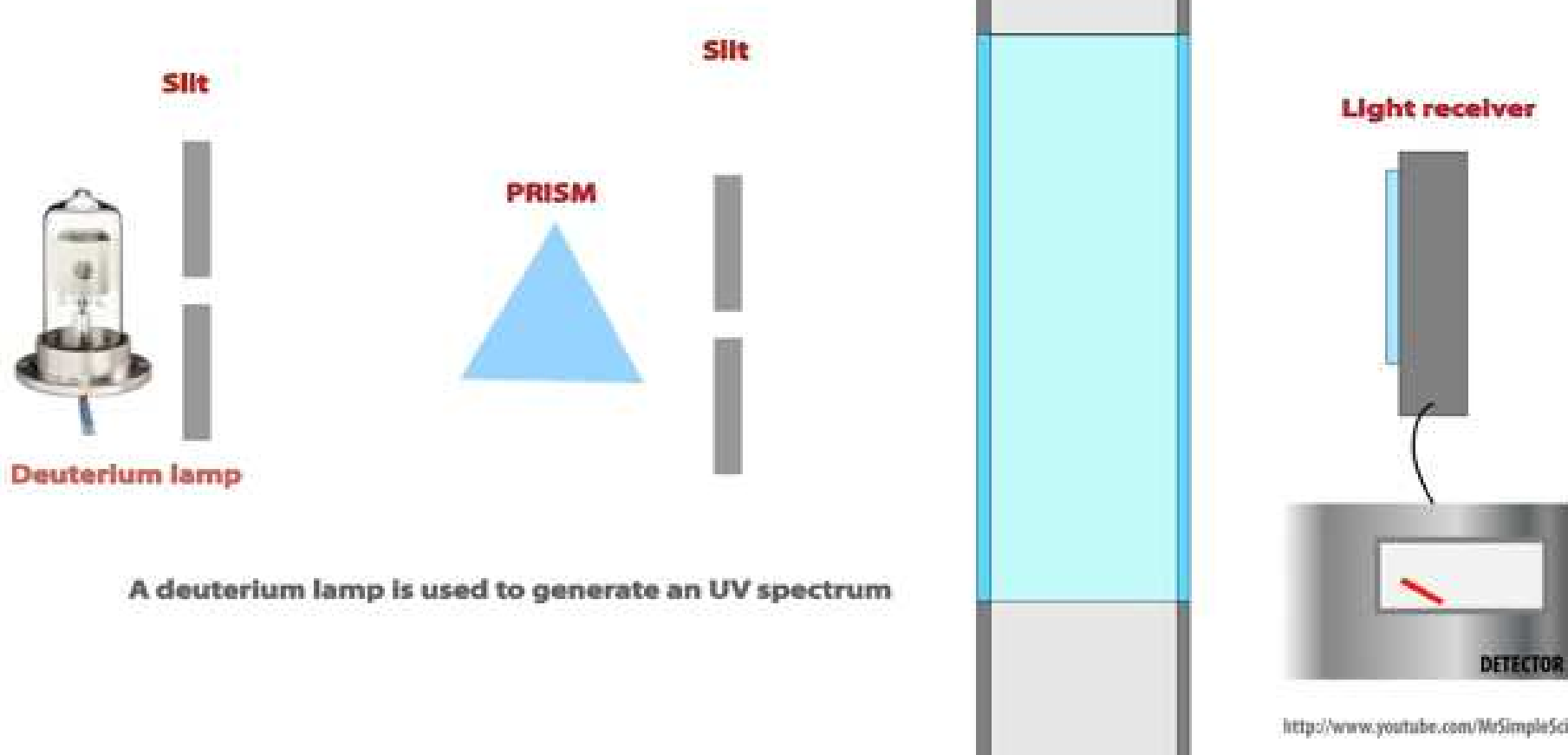
- **Detección policromática ("Fotodiodos")**

Lámpara de deuterio y un monocromador para mediciones a longitud de onda variable





UV-VIS detection by Monochromator

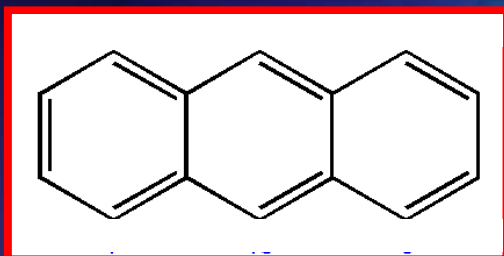




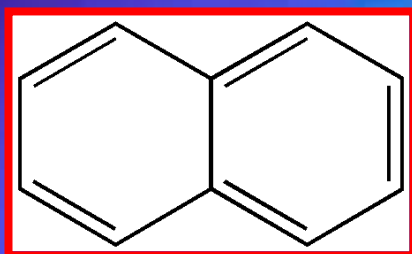
Cromatografía líquida (HPLC): APLICACIONES

EJEMPLO 2: HPLC CON DETECCIÓN DE FLUORESCENCIA

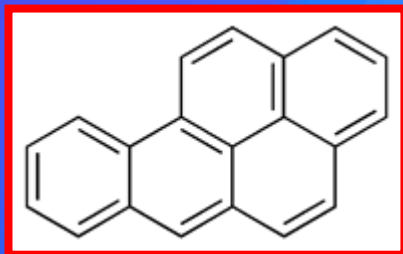
✓ Hidrocarburos polinucleares aromáticos (PAHs)



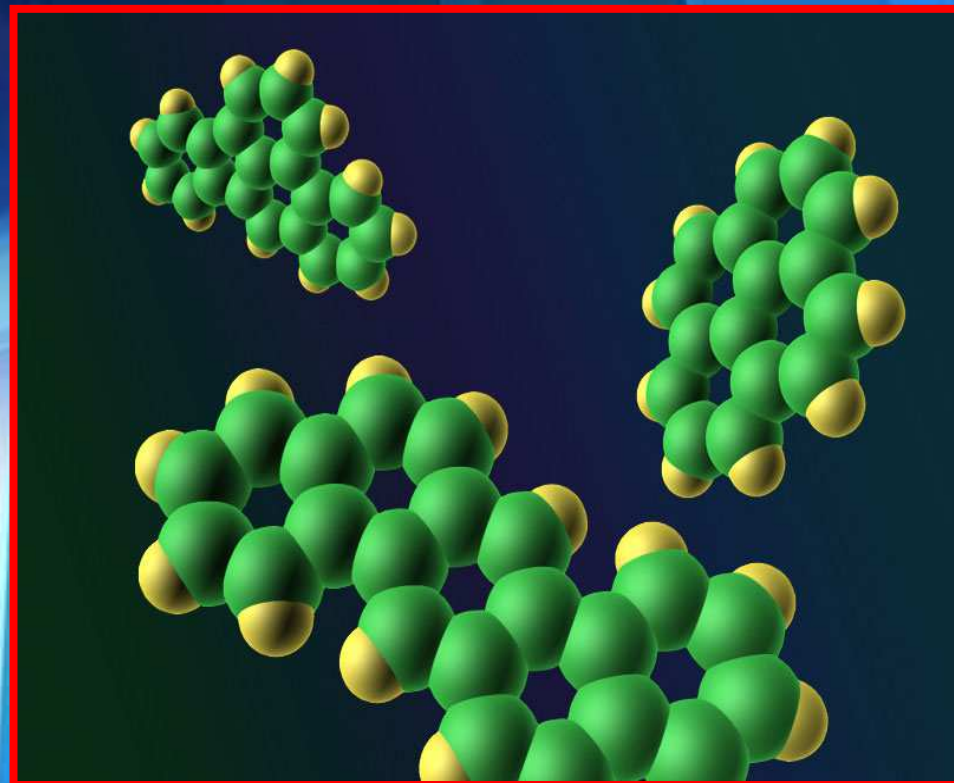
Antraceno



Naftaleno



Benzo[a,h]pireno





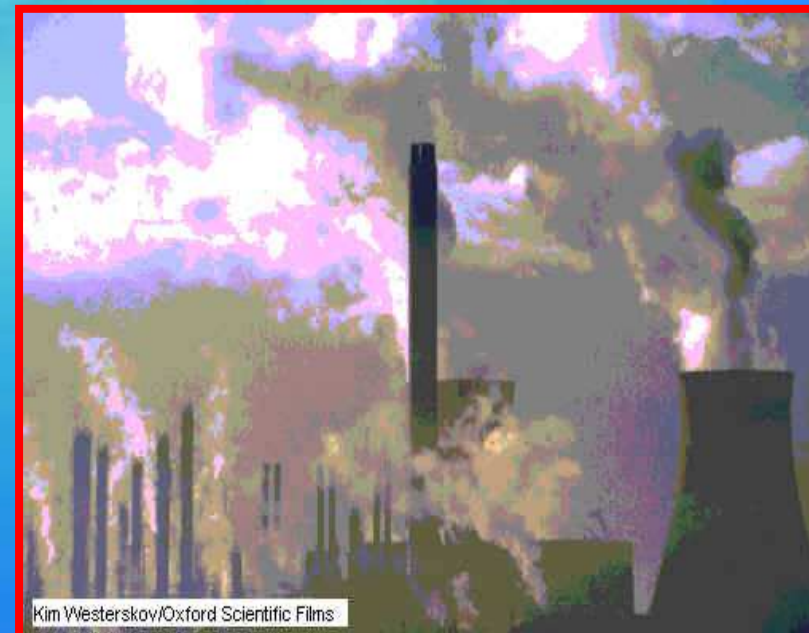
Cromatografía líquida (HPLC): APLICACIONES

EJEMPLO 2: HPLC CON DETECCIÓN DE FLUORESCENCIA

✓ Hidrocarburos polinucleares aromáticos (PAHs)

FUENTES

Combustión **INCOMPLETA** petróleo y derivados y materia orgánica (carbón, madera, tabaco o vegetación)



Kim Westerskov/Oxford Scientific Films