

Cromatografía de gases



Profesor: Dr. Juan Manuel Silva

Is.Juanmnuelsilva@gmail.com

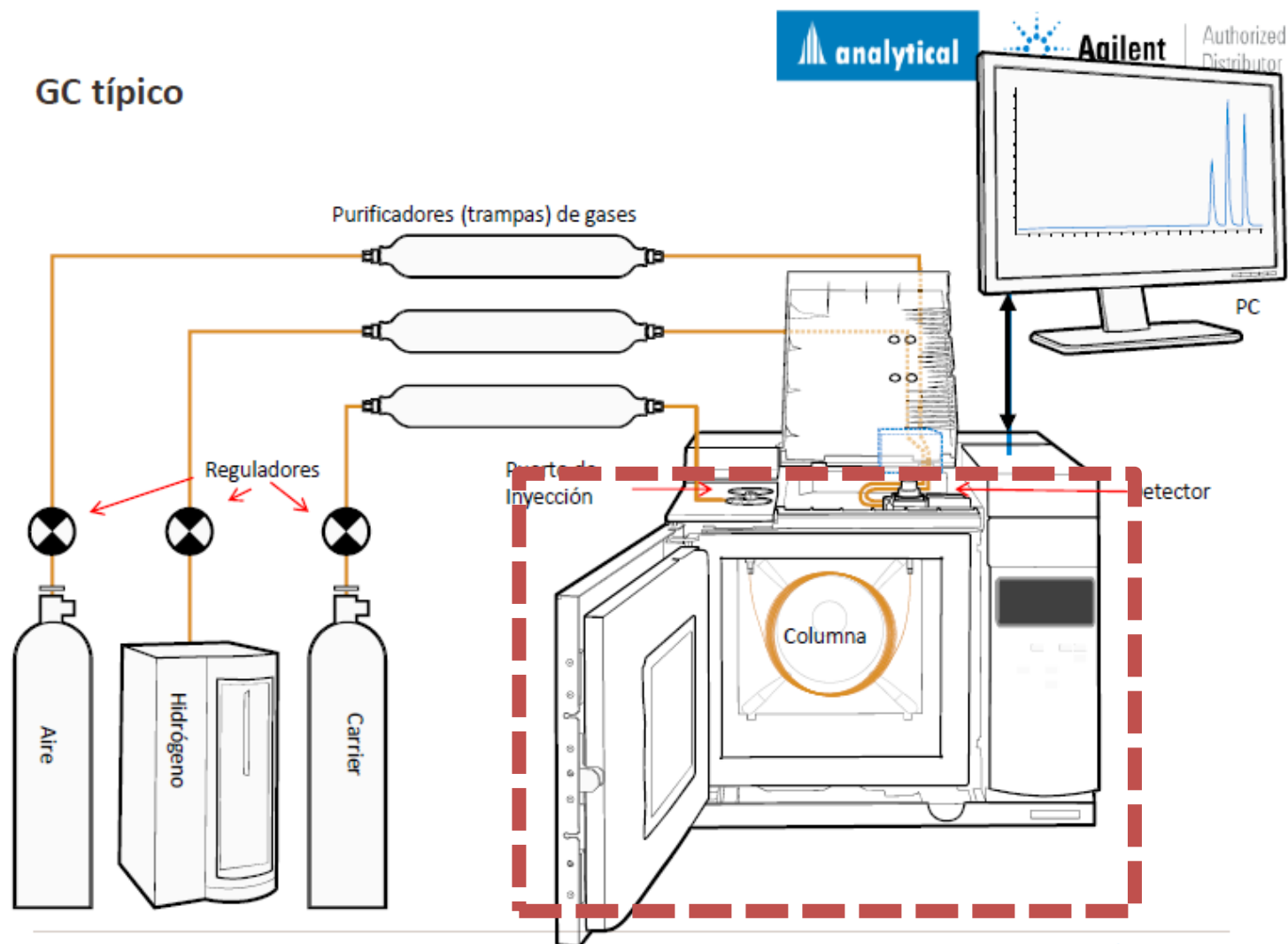
*Área tecnología química
Facultad Cs. Bioquímicas y
Farmacéuticas*

Temario

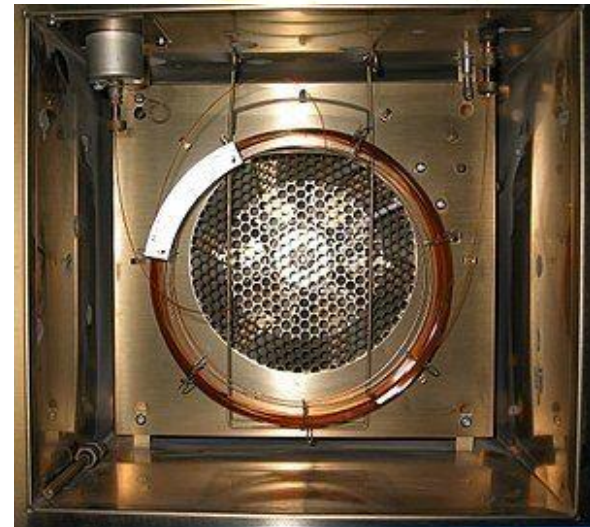
- Aplicaciones de la cromatografía de gases
- Método Cromatográfico
- Equipo de GC
- Tipos de Muestras para GC
- Gases para GC
- Puerto de inyección
- Introducción de muestras
- Columnas
- Problemas típicos en un cromatograma
- Detectores
- Mantenimiento
- GC-Troubleshooting
- GC Manuales

Columnas

GC típico

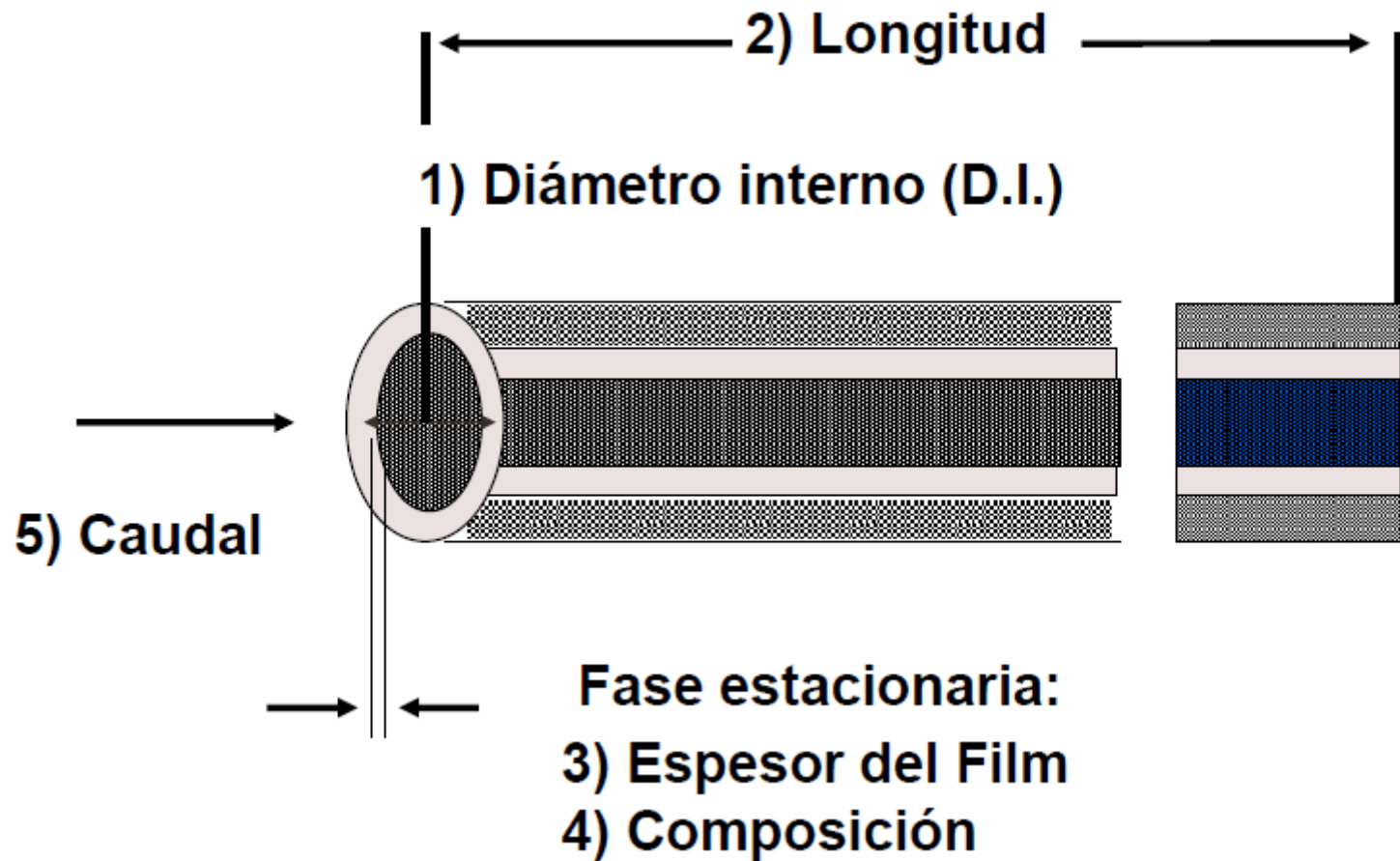


Columns



Columnas

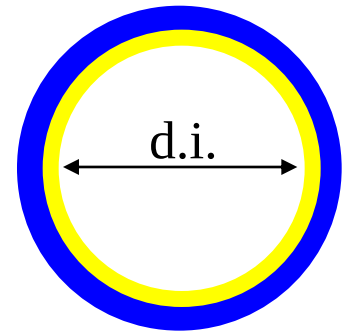
Parámetros importantes



Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

- El d.i, de la columna afecta la:
 - eficiencia columna (resolución)
 - retención de los analitos
 - capacidad de la columna (carga de la muestra)
 - presión interna de la columna
 - caudal de gas “carrier”



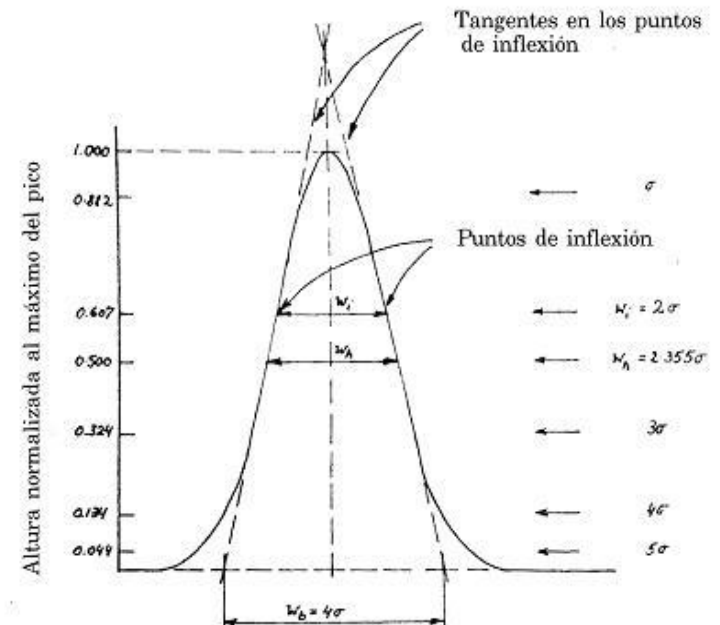
Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

- Eficiencia de la columna (N/m) es inversamente proporcional al d.i. de la columna.

La medida cuantitativa de la eficiencia es el número de platos teóricos n , el cual en términos de tiempos de retención es:

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2$$



NOTA – definiciones : plato teórico

mientras que el número de platos teóricos efectivos N, está en base del tiempo de retención corregido:

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} - t_m \right)^2$$

w = anchura del peak.

Por otra parte, el número de platos efectivos N, está relacionado con el número de platos teóricos:

$$N = \left(\frac{k'}{1 + k'} \right)^{2n}$$

obviamente el número de platos teóricos efectivos aumenta con la longitud de la columna, por lo tanto para comparar diferentes fases estacionarias es más conveniente considerar la altura del plato equivalente (HEPT) h, o la altura del plato equivalente efectivo H, los cuales están definidos por:

$$h = \frac{L}{n} \quad H = \frac{L}{N}$$

L = altura de la columna.

La contribución a la altura equivalente del plato teórico está descrita por la ecuación de Van Deemter en función de la velocidad del gas portador (v).

$$H = A + \frac{B}{v} + (C_{liq} + C_{gas}) \cdot v$$

A = difusión de Eddy = $2\lambda d_p$

d_p = diámetro de las partículas;

λ = factor geométrico que indica la uniformidad de empaquetamiento de la columna;

B = difusión longitudinal o molecular = $2\gamma D_g$

D_g = coeficiente de difusión del soluto en el gas portador;

γ = factor de corrección que tiene que ver con el camino del gas por los canales tortuosos;

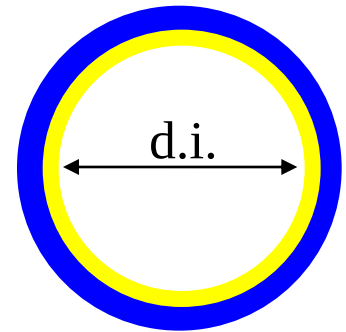
C_{liq} = es una función del factor de capacidad, del grosor de la película y de la difusión del soluto en la fase estacionaria líquida;

C_{gas} = está relacionado con el diámetro de las partículas (d_p^2/D_g) en columnas empaquetadas y del radio (r^2/D_g) en las columnas tubulares abiertas.

Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

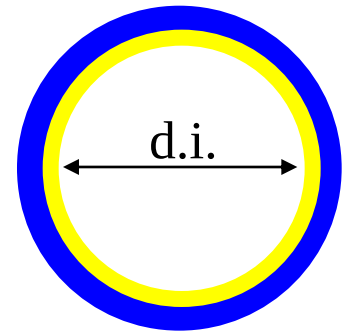
- Eficiencia de la columna (N/m) es inversamente proporcional al d.i. de la columna.
 - las columnas de menor diámetro tienen más platos teóricos por metro, mejor eficiencia de columna
 - las columnas de d.i. pequeños son necesarias cuando hay poca separación de los picos.



Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

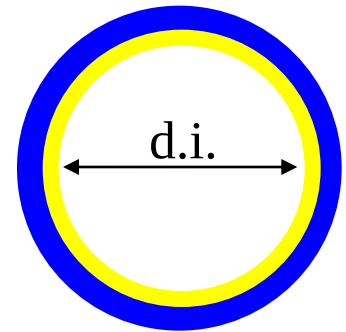
- La **Retención** de los analitos es inversamente proporcional al d.i. de la columna.
 - Efecto valido principalmente para análisis isotérmico
 - Para análisis con temperaturas programadas, el cambio en un tercio a un medio del valor isotérmico
 - **Los diámetros de las columnas raramente se seleccionan en base a la retención.**



Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

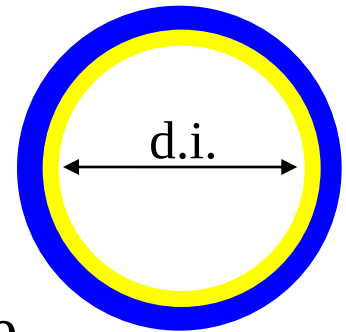
- La **capacidad de muestra** en la columna, se incrementa si se incrementa el d.i.
 - pero la capacidad de la columna también depende del espesor del film de la columna.



Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

- Los caudales de gas carrier se incrementan a medida que se incrementa el d.i. (a presión de columna constante)
 - Las columnas de d.i grandes se usan normalmente para aplicaciones o equipos que requieren altos caudales de gas, ej. sistemas “**headspace**” y **purga & trampa** (0.45 mm o 0.53 mm)
 - Las columnas de d.i pequeños (0.25~0.32 mm) se usan para aplicaciones o equipos que requieran bajos caudales, ej. **GCMS o MSMS**



Columnas

Parámetros importantes – diámetro interno

Capacidad de la columna: máxima cantidad de soluto introducida, antes que ocurra una distorsión significativa del pico

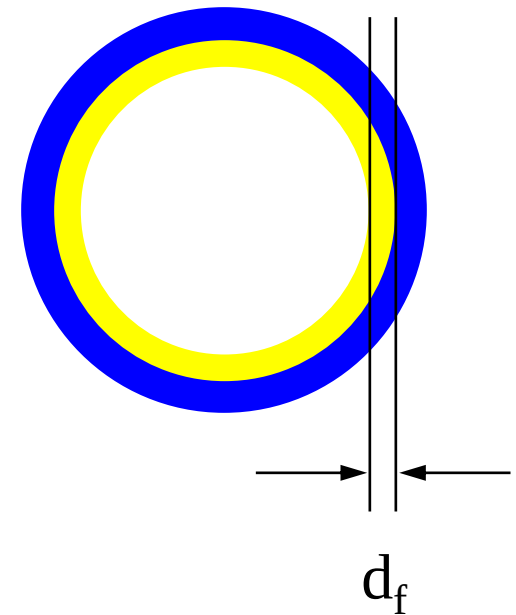
Diámetro interno	Resolución	Capacidad de columna	Velocidad
 100 um	Muy buena	Regular	Regular
 320 um	Buena	Buena	Buena
 530 um	Regular	Muy Buena	Muy buena

Columnas

Espesor del Film (d_f)

- El espesor de Film afecta la:
 - resolución del pico
 - sangrado de la columna
 - capacidad de la columna

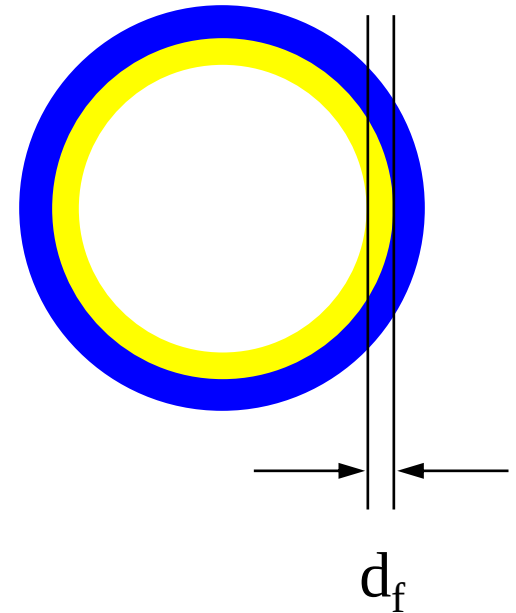
Espesor Film (μm)	Diámetro de la columna (mm)		
	0.25	0.32	0.53
0.25	50~100	75~125	100~250
0.50	100~200	125~250	250~500
1.00	200~300	250~500	500~1000



Columnas

Espesor del Film (d_f)

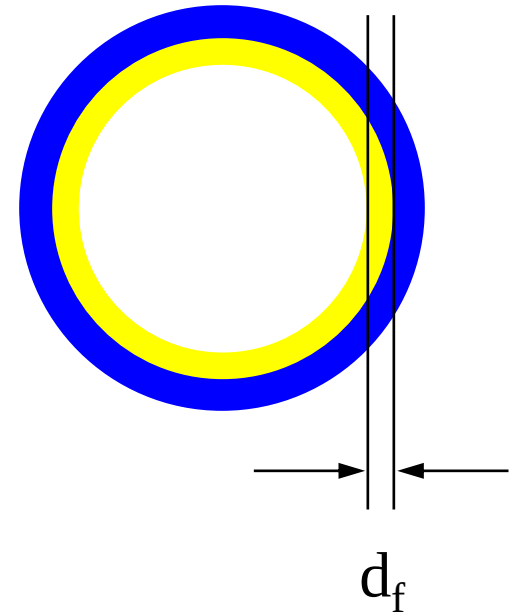
- Las columnas con film gruesos se usan para obtener alta resolución en **analitos muy volátiles**.
 - gran retención a altas temperaturas de columnas
- Columnas con films finos se usan para reducir los tiempos de retención de **analitos altamente retenidos**
 - elución más rápida o a temperaturas más bajas.



Columnas

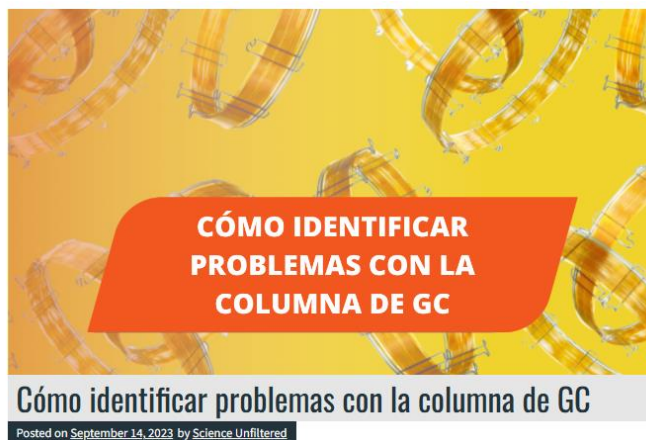
Espesor del Film (d_f)

- El **sangrado de la columna** se incrementa según se incrementa el espesor del film
 - los picos que eluyen últimos pueden aparecer en la zona de mayor sangrado de la columna a medida que el espesor del film se incrementa
- Los límites de temp. superiores de la columna son más bajos debido a los altos niveles de sangrado.



NOTA – definiciones : sangrado de columna

Se refiere a la degradación del polímero que constituye la fase estacionaria de la columna y su posterior elución junto con los analitos de la muestra. Esto genera señales de fondo que pueden obstaculizar el proceso de cuantificación.



<https://phenomenex.blog/2023/09/14/como-identificar-problemas-con-la-columna-de-gc/>

Columnas

Parámetros importantes – caudales recomendados

Type	Diameter	Carrier flow rate, mL/min		
		Hydrogen	Helium	Nitrogen
Packed	1/8-inch od	30	30	20
Packed	1/4-inch od	60	60	50
Capillary	0.05 mm id	0.2 to 0.5	0.1 to 0.3	0.02 to 0.1
Capillary	0.1mm id	0.3 to 1.0	0.2 to 0.5	0.05 to 0.2
Capillary	0.2 mm id	0.7 to 1.7	0.5 to 1.2	0.2 to 0.5
Capillary	0.25 mm id	1.2 to 2.5	0.7 to 1.7	0.3 to 0.6
Capillary	0.32 mm id	2 to 4	1.2 to 2.5	0.4 to 1.0
Capillary	0.53 mm id	5 to 10	3 to 7	1.3 to 2.6

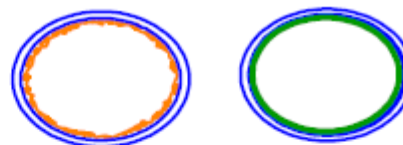
Columnas

Tipos de columnas

Empacadas



Capilares



Porous Layer Open
Tubular (PLOT)

Wall Coated Open
Tubular (WCOT)

	Empacada	Capilar		
		Megabore	WCOT (wide)	WCOT (narrow)
Longitud (meters)	0.5-10	5-100	5-100	5-100
D.I. (mm)	2-4	0,530	0,25-0,32	0,05-0,2
Flujo(ml/min.)	10-60	4-30	1-15	0,3-8,0
Caída de presión (psi)	10-90	1-20	1-40	5-90
Capacidad de muestra	100 ng/pico	10 ng/pico	1 ng/pico	<1 ng/pico

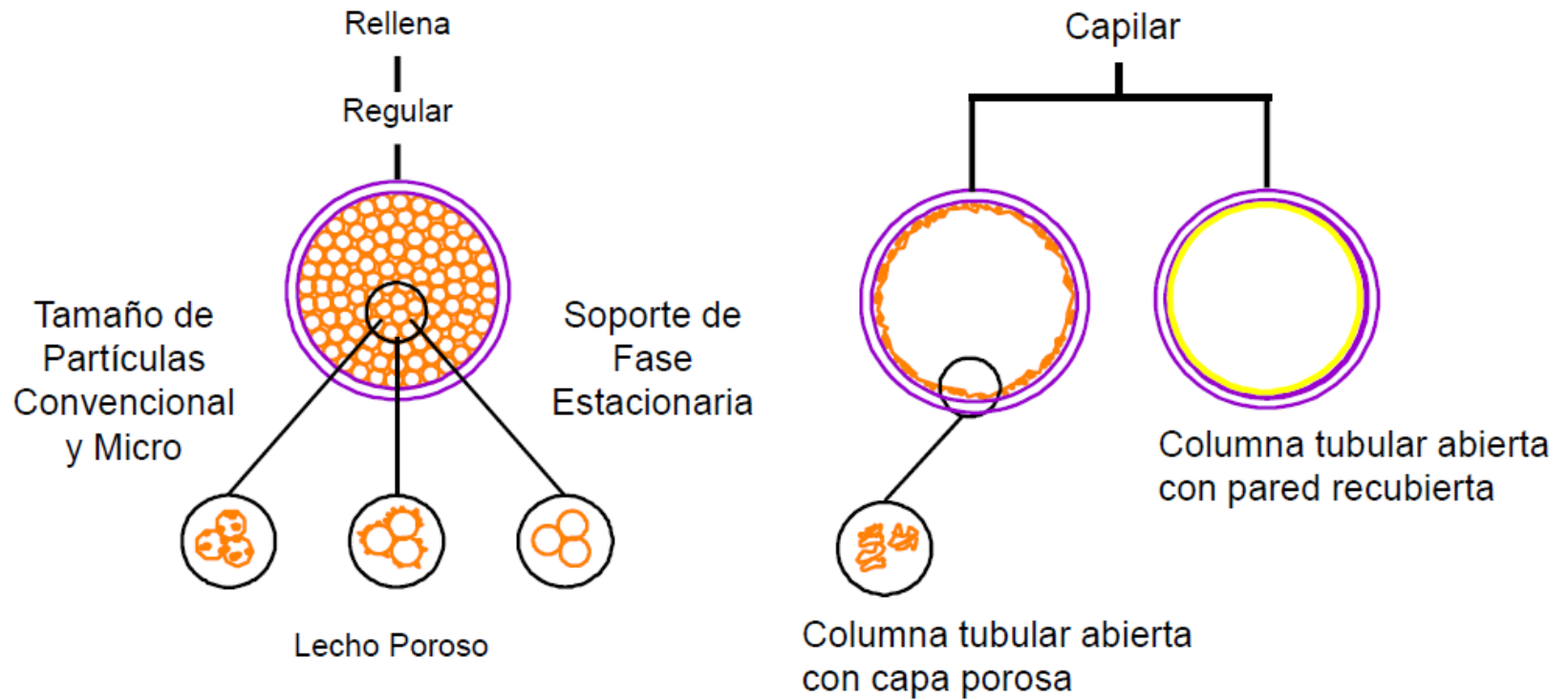


Puerto de Inyección	Columna	Modo	Concentración de la Muestra	Comentarios	Muestra a la columna
Split/splitless	Capilar	Split Split pulsado Splitless Splitless pulsado	Alta Alta Baja Baja	Útil para inyecciones grandes	Muy poca Muy poca Toda Toda
COC	Capilar	n/a	Baja o lábil	Distinción y descomposición mínima	Toda
PPI	Empacada Capilar ancha	n/a n/a	Cualquiera Cualquiera	Ok. Si la resolución no es algo crítico	Toda Toda
PTV/ MMI	Capilar	Split Split pulsado Splitless Splitless pulsado Venteo del solvente	Alta Alta Baja Baja Baja	Inyecciones múltiples	Muy poca Muy poca Toda Toda La mayor parte
VI	Capilar	Directo Split Splitless	Baja Alta Baja	El menor volumen muerto	Toda Muy poca Toda

- Puerto "Split/Splitless"(SS).
- Puerto en columna, en frío (COC).
- Puerto Empacado con Purga de septum (PP).
- Vaporizador de Temperatura Programable (PTV).
- Puerto para Volátiles (VI).
- Multimodo (MMI)

Columnas

Tipos de columnas

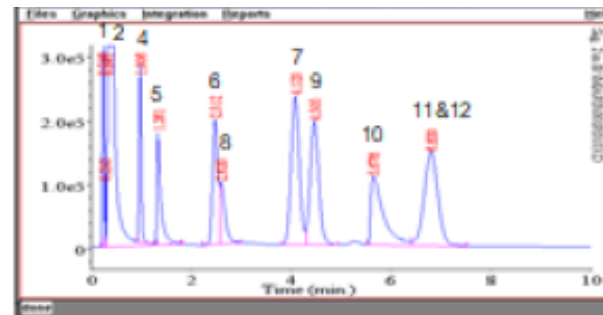


Columnas

Tipos de columnas – comparación de cromatogramas

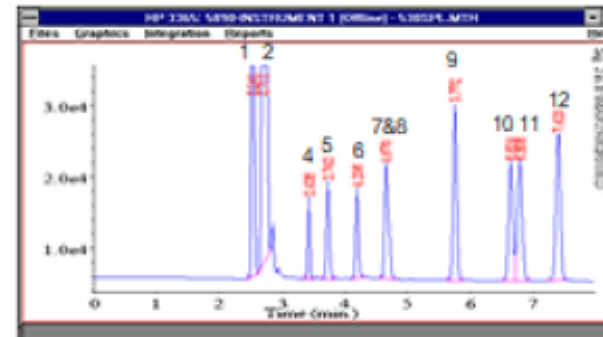
Columna Empacada:

5% OV101
on 80/100 Chromosorb
3 m



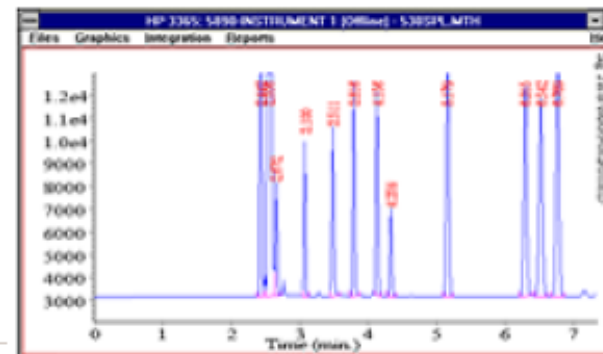
Columna Capilar: megabore

30m x 0.53mm x 0.88 μ m



Columna Capilar: narrowbore

30m x 0.32mm x 0.25 μ m



Longitud x
diámetro interno
x tamaño de
partícula

Columnas

Longitud

- Largo vs Eficiencia $h = \frac{L}{n}$ $H = \frac{L}{N}$
 - Las columnas más largas dan una mejor eficiencia de la columna (alto número de platos teóricos), teniendo una mejor resolución
- Costos
 - Las columnas más largas también
 - incrementan los tiempos de retención (análisis)
 - más costosas

Columnas

Longitud

Larga 60 – 100 m 	Resolución Alta	Velocidad lenta
Corta 5 – 10 m 	Resolución Moderada	Velocidad rápida
Media 25-30 m 	Compromiso Buen punto de partida	Compromiso Buen punto de partida

Columnas

Longitud

Larga		$\text{Eficiencia} = N \propto L$	
Corta		$\text{Resolución} = R \propto \sqrt{L}$	
Mediana		$\text{Tiempo de retención} = t_R \propto L$	ida

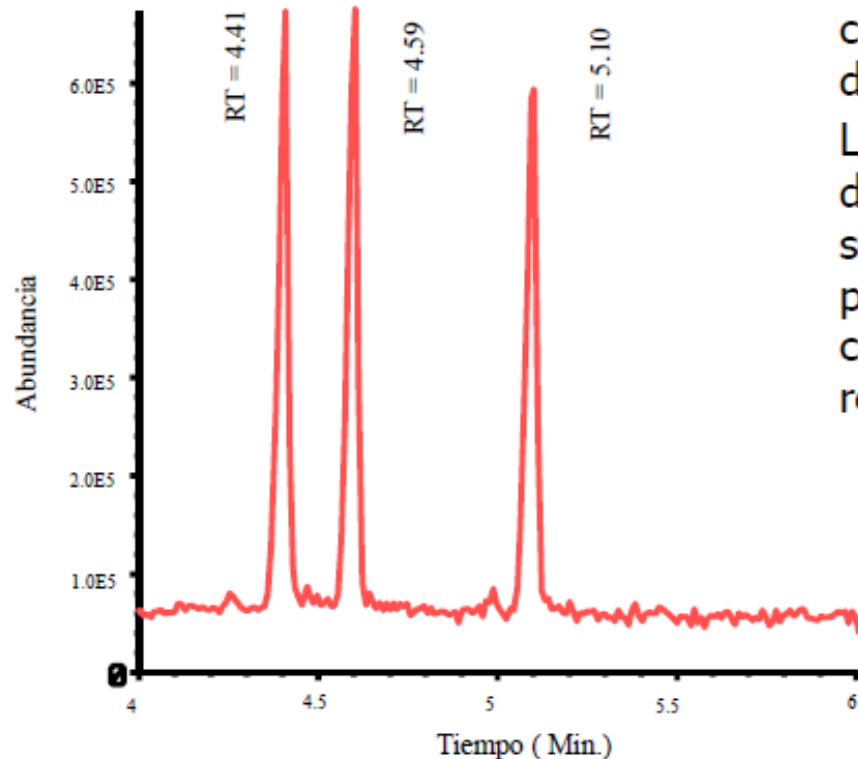
Columnas

Longitud

Conclusiones

- 15 m para screening o muestras simples con compuestos químicamente disímiles
- Empezar con 25 ~ 30 m
- Columnas Cortas
 - Para picos bien separados o pocos analitos
- Columnas Largas (60 m)
 - muestras complejas, alta resolución
 - muchos analitos en la muestra
 - análisis largos, alto costo

NOTA – definiciones : Resolución



La resolución es una medida de la capacidad de la columna para separar dos picos.

La resolución se mide en términos de dos picos adyacentes, que deseamos separar. Generalmente, se elige el par más difícil; si se pueden separar con éxito, todos los otros se resolverán igualmente.

$$R = \frac{1.18 (RT_2 - RT_1)}{(W_1 + W_2)}$$

w1 y w2 medidos a media altura de pico

R= 1,5 Separación hasta línea base.

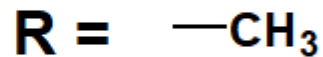
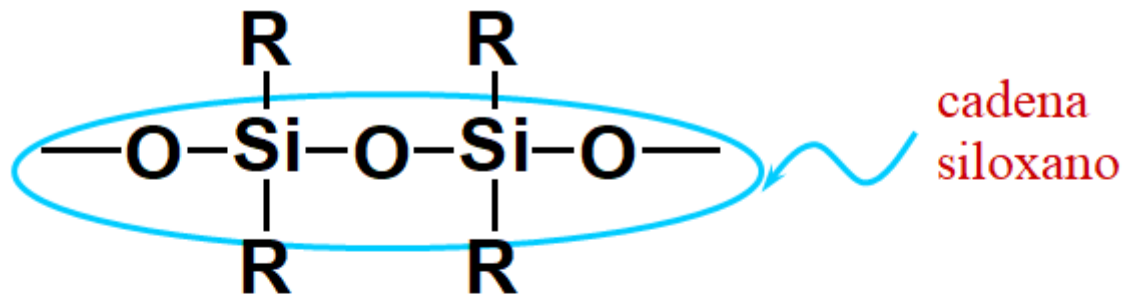
Columnas

Fase estacionaria

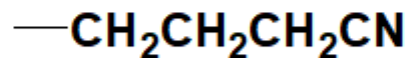
- La mayoría de las fases estacionarias son polímeros
 - Non-Bonded
 - Estabilizadas (altas polaridades)
 - Cross-linked (pueden lavarse con solvente)
- En las columnas capilares (WCOT) normalmente se usa
 - Polisiloxanos (siliconas)
 - Polietilen glicol (PEG)

Columnas

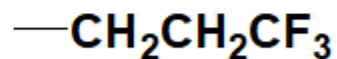
Fase estacionaria - Polisiloxanos



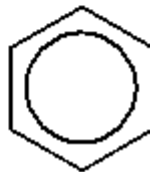
methyl



cyanopropyl



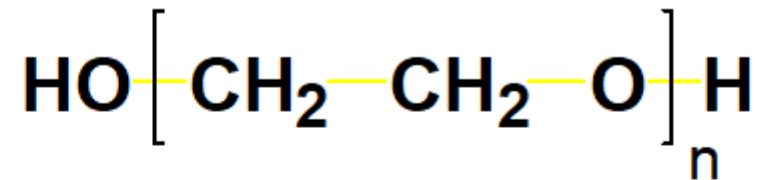
trifluoropropyl



phenyl

Columnas

Fase estacionaria - Polietilenglicoles (PEG)



- Tipo de fases “WAX” o “FFAP”
 - ej.DB-WAX, DB-FFAP
- Menor estabilidad térmica que los tipos polisiloxano-
límites de temperatura más bajos

Columnas

Fase estacionaria - Selectividad

Selectividad

Capacidad de la fase estacionaria para *diferenciar* (*reconocer*) analitos por medio de las diferencias en las propiedades físicas y químicas, tales como:

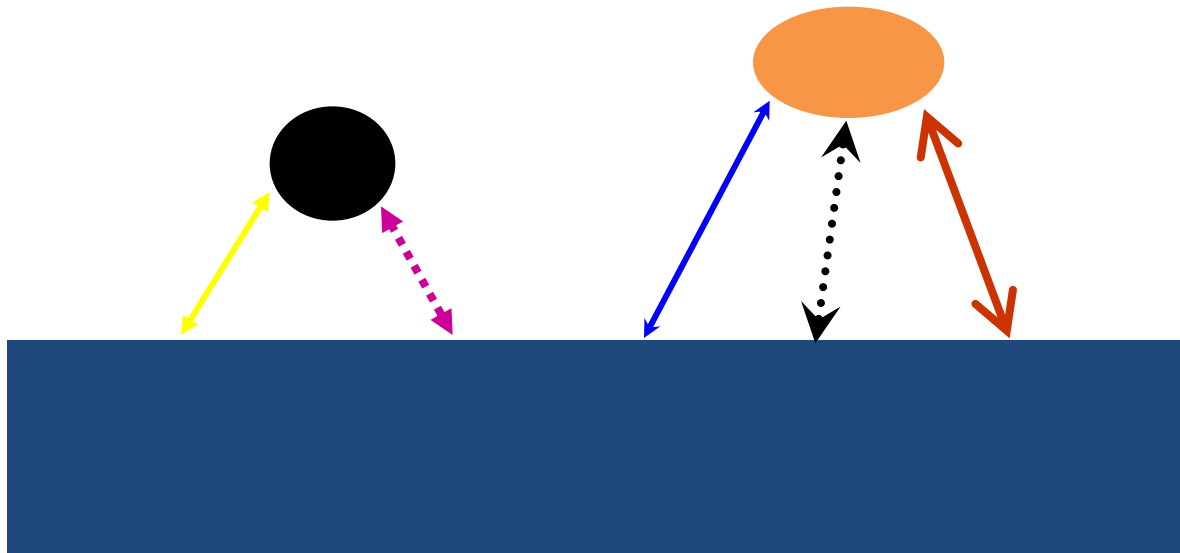
- la composición química,
- la estructura química,
- los puntos de ebullición,
- la polaridad

Columnas

Fase estacionaria - Selectividad

Esta determinada por las interacciones entre los grupos funcionales en la fase estacionaria y los analitos

La separación se obtiene si cada analito tiene diferentes (tipo o cantidad) interacciones con la fase estacionaria



Columnas

Fase estacionaria - Interacciones principales

Grupos Funcionales	Dispersión (London)	Dipolo	Puente - H
Metil	Fuerte	NO	NO
Fenil	Muy fuerte	NO	Débil
Cianopropil	Fuerte	Muy Fuerte	Moderada
PEG	Fuerte	Fuerte	Moderada

Columnas

Fase estacionaria - Polaridad

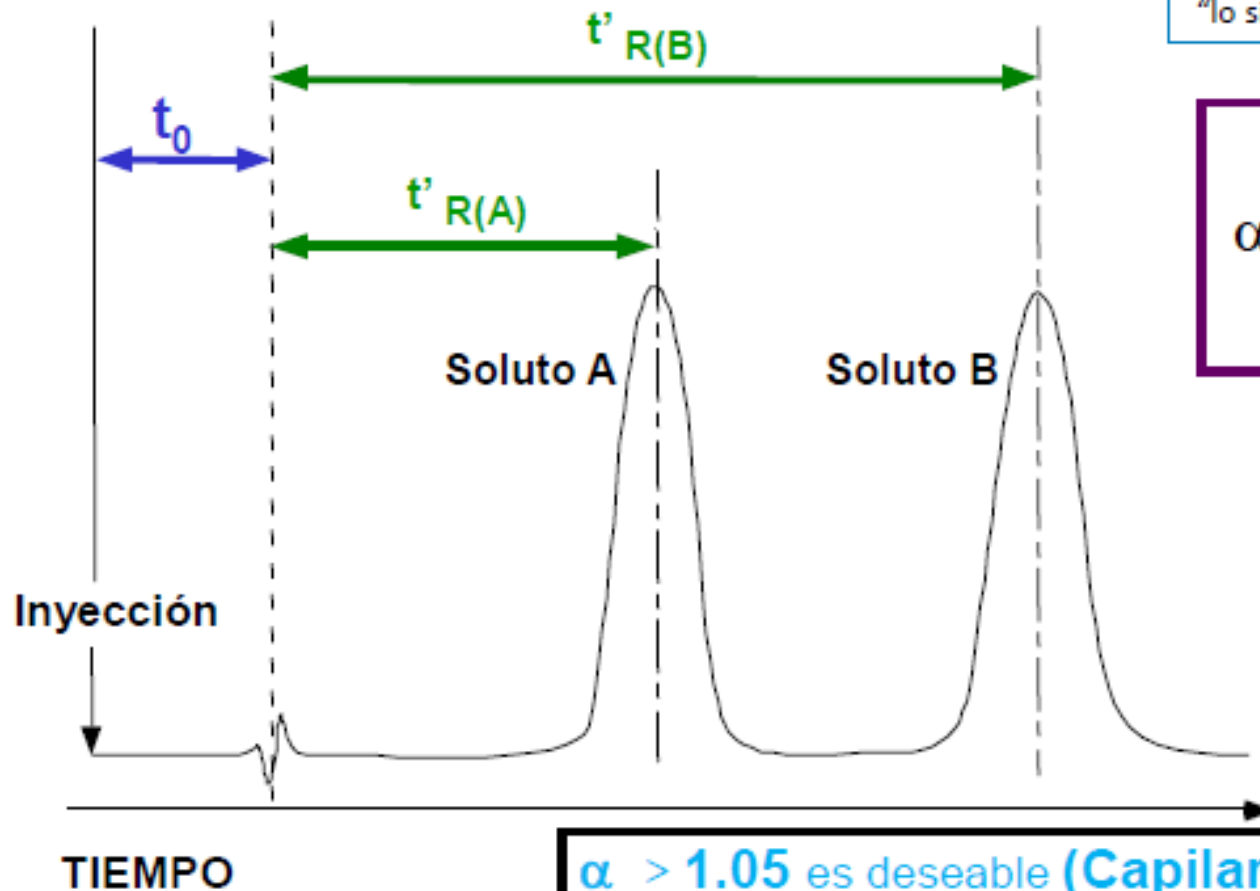
- La polaridad de la fase estacionaria esta determinada por la polaridad de los grupos funcionales y sus cantidades relativas.
- La polaridad tiene un efecto pronunciado sobre la retención del compuesto y por ende sobre la separación.

Selectividad (α)

Es la habilidad de la fase estacionaria de diferenciar entre un grupo de compuestos

"lo similar disuelve lo similar".

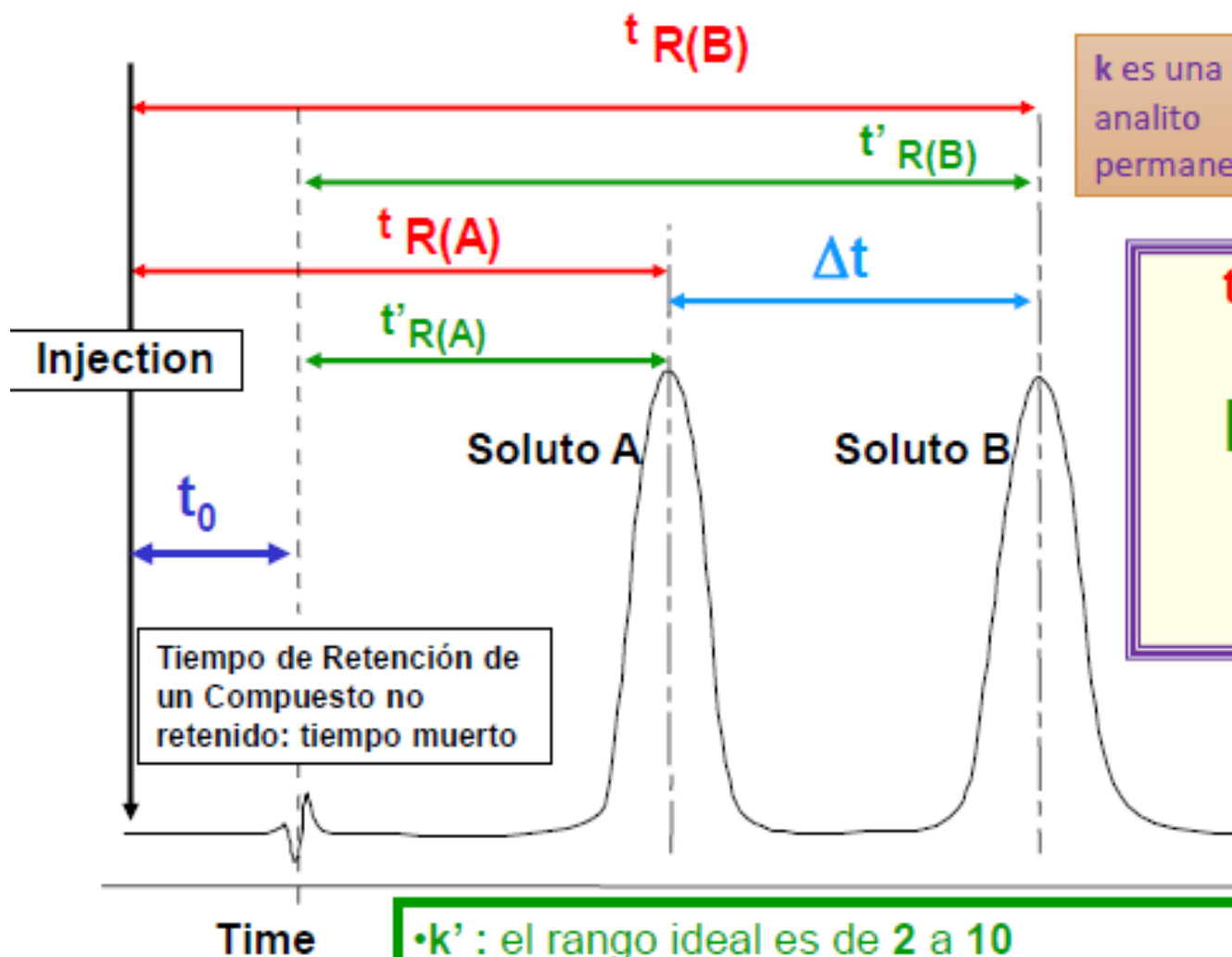
$$\alpha = \frac{t'_{R(B)}}{t'_{R(A)}} = \frac{k_{(B)}}{k_{(A)}}$$



$\alpha > 1.05$ es deseable (Capilar).
 $\alpha > 1.2$ es deseable (Empacadas).
 α es una función de la Fase Estacionaria.

Factor de Capacidad(k') ó Factor de Retención(k)

Factor de Capacidad (k') ó Factor de Retención (k)



k es una medida de cuanto tiempo el analito permaneció en la fase estacionaria

$$t'_{R(A)} = t_{R(A)} - t_0$$

$$k_{(A)} = t'_{R(A)} / t_0$$

$$\Delta t = t_{R(B)} - t_{R(A)}$$

• k' : el rango ideal es de 2 a 10

• k' : es inversamente proporcional a la temperatura de la columna

Columnas

Fase estacionaria - Polaridad

- Las fases no polares tienden a tener un mejor tiempo de vida, límites de temperatura más altos, mayor eficiencia de la columna comparada con las fases más polares.

Columnas

**Fase Estacionaria:
Estabilidad Térmica**

Sangrado de la columna:

El sangrado está causado por la ruptura / degradación de la fase estacionaria, la cual ocurre al las temperaturas más altas.

Los productos de degradación eluyen continuamente de la columna y aparecen con un ruido en forma de pico, en la línea de base, esto ocurre a $30\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ por debajo de la temperatura máxima de la columna

Columnas

Límites de temperatura de operación

- Trabajando cerca del limite Inferior: 50% perdida de eficiencia (en general coincidente con la temperatura de fusión)
 - Temperaturas más bajas generan picos extremadamente anchos
- Trabajando cerca del limite Superior: aumenta nivel de sangrado, se reduce durabilidad y reproducibilidad.



Columnas

Consideraciones en la selección de columnas

- Objetivos del Análisis.
- Muestra a ser separada.
- Diámetro de la columna.
- Fase estacionaria.
- Longitud de la columna.
- Espesor del film ó % de carga.

Columnas

Conectores de columnas



Ferrules: Los más usados son de grafito y de grafito-Vespel



Conector para la interfaz del masas



Conector común



Conectores de ajuste manual

Columnas

Cómo ajustar el conector de la columna



Incorrecto

Correcto



Herramienta para ajustar la columna según el puerto de inyección