

Laboratorio 3: Operación de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia

Introducción

La cromatografía de líquidos es una metodología que permite separar e identificar compuestos en una mezcla. En esta técnica, los analitos disueltos en la fase móvil son transportados a través de una columna donde interaccionan con la fase estacionaria y, como resultado de dicha interacción, se separan para ser identificados en el detector.

Para estudiar tales principios se propone evaluar el efecto de modificar las variables cromatográficas, como la fase móvil, el flujo, la columna, la temperatura, etc. y analizar los parámetros obtenidos.

Objetivos

- Conocer la configuración de un cromatógrafo de líquidos
- Confeccionar métodos de corrida discutiendo todos los parámetros de relevancia.
- Analizar una mezcla siguiendo un método de referencia
- Identificar analitos individuales en la mezcla
- Realizar modificaciones en el método de referencia y evaluar cómo repercuten dichos cambios sobre los parámetros cromatográficos de los analitos.

Procedimiento:

Equipamiento:

Equipo: Cromatógrafo de líquidos Thermo Scientific serie Ultimate 3000, equipado con inyector automático, horno de columna y detectores de arreglos de diodos y de fluorescencia todos los módulos de la misma serie.

Columnas:

- Kromosil C18 de 250 x 4.6 mm x 5 µm
- Phenomenex Synergi de 50 x 4.6 mm x 2.5 µm
- Merck Chromolite de 50 x 4.6 mm

Configuración:

FM A: Agua Milli Q

FM B: MeOH

T_{iny}: Ambiente

T_{col}: 30 °C

Detector: λ 256 nm

Soluciones:

- Soluciones de 2000 ug/mL de benceno, tolueno, fenol y bifenilo en metanol
- Solución mezcla de benceno, tolueno 800 ug/mL y 200 ug/mL de fenol y bifenilo en metanol
- Solución mezcla de benceno, tolueno 800 ug/mL y 200 ug/mL de fenol y bifenilo en metanol/agua (4/6)

Desarrollo:

Configurar el método cromatográfico.

Correr los patrones individuales y la mezcla de patrones

Evaluar el efecto del disolvente solventes para le patrón

Evaluar el efecto de diferentes fases móviles

Evaluar el efecto de la temperatura

Realizar el cambio

Evaluar los parámetros cromatográficos de los analitos en el cromatograma

Proponer modificaciones es en el método para mejorar los parámetros cromatográficos de los picos en la mezcla.

Calculadores

- <https://ez.restek.com/ezlc-mt>
- <https://www.phenomenex.com/tools/lc-transfer?srsId=AfmBOor5g1yr7seWq4b8U5KR83xGTLIKHV6hCikn0n3wJPIWa9HQPBNq>

Bibliografía

- Quattrochi, O. A. (2019). Compendio de HPLC.

