

a) Nombre del Laboratorio: Análisis instrumental

b) Nombre del alumno: Abdías Rivera Bautista

c) Fecha: martes 9:00-11:00 am

d) Nombre del tema: ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

e) Objetivos:

- Interpreta la información cromatográfica, utiliza el método de series homólogas para el análisis cualitativo y aplica el método de estándar interno y externo para el análisis cuantitativo.

#### Introducción

La cromatografía gas-líquido (CGL) lleva a cabo la separación por medio del reparto de los componentes de una mezcla química, entre una fase gaseosa que fluye (móvil) y una fase líquida estacionaria sujeta a un soporte sólido. La cromatografía gas-sólido (CGS) utiliza un absorbente sólido como fase estacionaria. Aplicaciones de la cromatografía de gases La cromatografía de gases tiene amplia aplicación, en las industrias se enfoca principalmente a evaluar la pureza de los reactantes y productos de reacción o bien a monitorear la secuencia de la reacción, para los fabricantes de reactivos químicos su aplicación para la determinación de la pureza es lo más importante. En la investigación es un auxiliar indispensable para diversas técnicas de evaluación, entre las principales están los estudios cinéticos, análisis de adsorción a temperatura programada, determinación de áreas específicas por adsorción de gas y determinación de isotermas de adsorción. En el campo también pueden ser aplicados, principalmente en estudios de contaminantes del agua: insecticidas en agua, pesticidas en aguas de lagos, lagunas, ríos; desechos industriales descargados en ríos o lagunas. En la industria del petróleo juega una función primordial, por medio de la cromatografía se pueden analizar los constituyentes de las gasolinas, las mezclas de gases de refinería, gases de combustión, etc.

#### Procedimiento

Disponible en el laboratorio.

f) Resumen de la investigación teórica.

1. a) Menciona los parámetros cromatográficos con los que se logra valorar la eficiencia de una columna.

- Altura de plato y Numero de platos teóricos
- Asimetría de la banda
- Resolución

- b) Define los siguientes términos y expresa la ecuación para sus cálculos:

-Volumen de retención (VR).

El volumen de fase móvil necesario para transportar la banda de soluto desde el punto de inyección a través de la columna, hasta el detector (en el máximo del pico del soluto). Se puede obtener directamente del cromatograma multiplicando el tiempo de retención correspondiente,  $t_R$ , por el gasto o flujo volumétrico,  $F_c$  expresado como el volumen de fase móvil por unidad de tiempo:

$$VR = t_R \cdot F_c$$

-Retención relativa o selectividad ( $\alpha$ ).

Se define como la relación de la constante de distribución de soluto más fuertemente retenido (B) con respecto a la constante de distribución para el soluto retenido con menos fuerza (A)

$$\alpha = \frac{k_B}{k_A}$$

$\alpha > 1$  Muestra la afinidad de los solutos en las fases.

-Resolución ( $R_s$ ).

La resolución es la separación de dos componentes en una mezcla, calculada por:

$$R_s = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (W_1 + W_2)$$

Donde  $t_{R2}$  y  $t_{R1}$  son los tiempos de retención de los dos componentes; y  $W_2$  y  $W_1$  son los anchos correspondientes en las bases de los picos obtenidos en minutos.

2. ¿Qué es una curva de calibración? y ¿Cómo se elabora una curva de calibración para un análisis cromatográfico?

una curva de calibración es la representación gráfica que relaciona una señal instrumental en función de la concentración de un analito y define un intervalo de trabajo en el cual, los resultados a informar tienen una precisión y exactitud conocida que ha sido documentada en la validación de cada método.

El contenido del analito en la muestra se obtiene a través de un patrón o estándar de referencia certificado. A partir de éste, es posible preparar una disolución de concentración exactamente conocida denominada solución madre. Luego, utilizando la solución madre, se preparan un conjunto de soluciones a distinta concentración para la obtención de una curva de calibración.

La etapa de calibración analítica, se realiza mediante un modelo, que consiste en encontrar la recta de calibrado (expresión matemática) que mejor ajuste a una serie de "n" puntos experimentales, donde cada punto se encuentra definido por una variable "x" (variable independiente, generalmente concentración del analito de interés) y una variable "y" (variable dependiente, generalmente respuesta instrumental). La recta de calibrado se encuentra definida por una ordenada al origen (b) y una pendiente (m), mediante la ecuación  $y = mx + b$ . Conjuntamente, los datos experimentales permiten calcular y justificar la linealidad mediante el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), este último debe ser mayor a 0,995 ( $R^2 > 0,995$ ).

Luego, al momento de realizar la medición de una muestra, lo que se obtiene es una respuesta instrumental que se interpola en la recta de calibración, esto último permite obtener la concentración del analito.

3. Explica tres métodos para realizar un análisis cualitativo por cromatografía de gases.

**Método gráfico:** Se corren 5 puntos de una serie homóloga, se grafica una curva patrón  $\log t_r$  vs  $\# C$ , muestra problema por triplicado, se interpola el  $t_r$  promedio y se obtiene el número de átomos de carbono.

**Método de adición:** 1.  $A + B + C$  2. Adiciono un estándar A + el problema 3. El pico de A debe incrementarse.

**Método de retención:** En un sistema cromatográfico estable, el tiempo de retención de un soluto particular es constante, y por lo tanto puede utilizarse para identificar ese soluto. Así, aunque la cromatografía es primordialmente una técnica de separación, es posible identificar los compuestos separados de una mezcla compleja por medio de sus tiempos de retención.

4. Con un “ejemplo analítico” explica cómo se evalúan los conceptos de precisión y de exactitud.

La precisión se evalúa mediante el cálculo del porcentaje del coeficiente de variación (%CV) y el criterio de aceptación para métodos instrumentales es  $\leq 2\%$  de CV.

La exactitud se mide con el grado de separación o resolución de dos bandas adyacentes definida como la distancia entre los picos de las bandas (o centros) dividida entre el ancho promedio de las bandas

$$R_s = (t'_{R,2} - t'_{R,1}) / (0.5 \cdot (W_2 + W_1))$$

5. a) Menciona tres métodos para el análisis cuantitativo por cromatografía.

**Método de adición estándar:** se usa cuando es difícil o imposible duplicar la matriz de la muestra. Se adiciona a la muestra una cantidad o cantidades conocidas de una disolución estándar del analito. En el método de un solo punto, se toman dos porciones de muestra: una se mide como de costumbre, y a la otra se le agrega una cantidad conocida del analito. Ambas respuestas se utilizan para calcular la concentración de analito en la muestra. En el método de adiciones múltiples, a varias alícuotas de muestra se le agregan cantidades conocidas de la disolución estándar del analito y se obtiene la curva de calibración de adiciones múltiples.

**% de Área:** Considera el 100 % de la muestra, sumas sus áreas, Asume que la respuesta del detector es la misma para todos los componentes,

$$\%A = (\text{área pico A} / \text{área total de los picos}) \cdot 100$$

**% de Normalización:** Factor de respuesta (RF) = [analito] / área del analito

Concentración desconocida = área (pk) X RF (pk)

$$\text{NORM \%} = \frac{\text{RF (pk)} \times \text{AREA (pk)}}{\sum [\text{RF (pk)} \times \text{AREA (pk)}]} \times 100\%$$

- b) Describe los métodos de estándar interno y estándar externo.

**Método del estándar interno:** El método del patrón interno permite que varíen las condiciones de operación entre muestra y muestra y no requiere de repetibilidad en las inyecciones. El patrón interno debe ser un compuesto que pueda resolverse completamente de los picos adyacentes, que no esté presente en la muestra problema y que no produzca ningún efecto interferente.

Como en el caso anterior se preparan estándares que contienen los componentes de la muestra a analizar. A cada uno de ellos se añade una cantidad conocida del llamado patrón interno que obviamente no es uno de los componentes que se quiere analizar. Se obtienen los cromatogramas de cada estándar y se obtiene la gráfica: cociente entre el área de componente y área del patrón interno frente a cociente entre cantidad de componente y cantidad de patrón interno.

Entonces se añade una cantidad conocida del patrón interno a la mezcla desconocida. Se obtiene el cromatograma, y con el cociente entre las áreas del pico de componente a determinar y la de patrón interno en la muestra problema se obtiene (con la gráfica anterior determinada con estándares) el cociente entre cantidad de componente y cantidad de patrón

interno. Como la cantidad de patrón interno añadida a la muestra problema es conocida puede calcularse la cantidad desconocida de componente

**Metodo de estándar externo:** En la práctica, se preparan las soluciones estándar de(los) componentes de interés y se inyectan en el cromatógrafo. Para cada componente se obtiene la gráfica: área del pico en función de cantidad de componente.

Después, para el cálculo de una concentración desconocida, se obtiene el cromatograma de la muestra problema y el área de cada pico se utiliza con la gráfica anterior para obtener la cantidad.

4. g) Fundamento para la separación de los componentes de una mezcla por cromatografía de gases.

La cromatografía gas-líquido (CGL) lleva a cabo la separación por medio del reparto de los componentes de una mezcla química, entre una fase gaseosa que fluye (móvil) y una fase líquida estacionaria sujeta a un soporte sólido. La cromatografía gas-sólido (CGS) utiliza un absorbente sólido como fase estacionaria

4 h) Fundamento y diagrama descriptivo de un detector de ionización de flama.

Un detector de ionización de llama suele utilizar una llama de aire o hidrógeno por la cual se pasa la muestra para oxidar las moléculas orgánicas y que produce partículas con carga eléctrica (iones). Los iones se recogen y se produce una señal eléctrica, que se mide a continuación.

Como es habitual también en otras técnicas de cromatografía de gases, se necesita un gas portador con pocas impurezas de agua y oxígeno, ya que el agua y el oxígeno pueden interactuar con la fase estacionaria y provocar problemas significativos, como un elevado ruido de línea base y purga de la columna en el cromatograma de gases de salida, lo que reduciría la sensibilidad del analizador y la vida útil de la columna. El detector de ionización de llama es además extremadamente sensible a las impurezas de hidrocarburo del suministro de hidrógeno y aire de la llama. Estas impurezas pueden aumentar el ruido de línea base y reducir la sensibilidad del detector.

