

a) Nombre del Laboratorio: Análisis instrumental

b) Nombre del alumno: Abdías Rivera Bautista

c) Fecha: martes 14:00 -16:00 pm

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

e) Objetivos:

- Integra los elementos estructurales de un cromatógrafo de líquidos, traslada los conocimientos adquiridos de los parámetros cromatográficos y utiliza la información para el análisis cualitativo y cuantitativo de una muestra real.
- Interpreta los resultados obtenidos a partir de parámetros de calidad de mediciones. Introducción

Introducción:

La cromatografía de líquidos es una técnica utilizada para separar, cuantificar y analizar los componentes de una mezcla de especies no volátiles o termolábiles, compuesto iónicos o de peso molecular elevado. Se basa en los diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna. En cromatografía de líquidos la fase móvil es un líquido que fluye a presiones elevadas a través de la columna que contiene la fase estacionaria. La muestra en solución es inyectada y acarreada por la fase móvil y los componentes de la solución son separados a lo largo de la columna, los cuales llegan al detector, el cual mide su cantidad. La señal generada por el detector es registrada en función del tiempo, en una gráfica llamada cromatograma. Entre los detectores más usados se encuentran los detectores de absorción (UV-Visible), de fluorescencia, de conductividad y de índice de refracción diferencial.

f) Resumen de la Investigación Teórica:

1.- ¿Qué es la Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia (CLAR o HPLC)?

La cromatografía líquida (HPLC), es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase estacionaria es sílica que se ha tratado con RMe_2SiCl . La fase móvil actúa de portador de la muestra. La muestra en solución es inyectada en la fase móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra. La utilización de los diferentes detectores dependerá de la naturaleza de los compuestos a determinar.

2.- Para establecer el método en Cromatografía de reparto, ¿cuáles son las distintas propiedades y funciones de la fase móvil en la Cromatografía de Gases y en la Cromatografía de Líquidos? y ¿cómo influyen esas características en los dos métodos (Cromatografía de Gases y HPLC)? Arrastrar al analito a través de la columna.

- Gas inerte como helio o nitrógeno
- Capaz de minimizar la difusión gaseosa
- De alta pureza
- Adecuado al tipo de detector que se emplea.
- Gas ligero

En cromatografía de líquidos la fase móvil es un líquido, se basa en un reparto de soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria.

- Alta pureza. (Ser grado HPLC)
- In-inflamabilidad. (por la seguridad en el trabajo)
- Efectos de mezcla (que la solubilidad de todos los analitos sea optima en el disolvente y que la mezcla sea estable, no toxica)
- Compatibilidad con la columna empleada
- Polaridad (es uno de los factores que influyen en la separación cromatográfica)
- Estabilidad (se debe asegurar que el sistema cromatográfico sea lo más estable posible para hacerlo más repetible y reproducible)

3.- En cromatografía de reparto, cuáles son las características de las columnas para:

a) Rellenos de fase normal

La fase estacionaria presenta puntos activos de alta polaridad y las interacciones que se producen con el soluto son específicas del grupo activo, la fase estacionaria puede ser un sólido adsorbente (sílice o alúmina), o bien un soporte al que se unen químicamente moléculas orgánicas que se presentan grupos funcionales de alta polaridad (Ciano, amino etc)

- Fase estacionaria polar
- Fase móvil No-polar

b) Rellenos de fase inversa

la fase estacionaria tiene una naturaleza apolar (cadenas hidrocarbonadas ,grupos fenilo) interacciones que se producen son inespecíficas (efecto solvofobo).

- Fase estacionaria no-polar
- Fase móvil polar.

4.- a) ¿Qué es elución isocrática?

Cuando la fase móvil mantiene la misma composición durante la elución

b) ¿Qué es elución con gradiente?

Cuando la composición de la fase móvil cambia según una función dependiente del tiempo, es necesario que el equipo tenga un dispositivo capaz de realizar mezclas de disolventes con un control preciso y reproducible.

5.- a) Menciona cinco tipos de detectores para HPLC.

- DETECCIÓN ULTRAVIOLETA (UV)
- DETECTOR ÍNDICE REFRACCIÓN
- DETECTOR FLUORESCENCIA
- DETECTOR ELECTROQUÍMICO
- MS/FTIR/Conductividad

b) Explica ¿Cómo funciona el Detector de Absorbancia Ultravioleta?

Muchos detectores de absorbancia son dispositivos de doble haz, en los que uno de los haces pasa por la cubeta de flujo y el otro a través de un filtro que reduce su intensidad. Para

comparar las intensidades de los dos haces se utilizan detectores fotoeléctricos contrastados. También se utilizan instrumentos de un solo haz. En este caso, las medidas de intensidad del disolvente se almacenan en la memoria de un ordenador y al final se recuperan para el cálculo de la absorbancia.

4 g) Da cinco aplicaciones de la HPLC

- Fármacos: Antibióticos, sedantes esteroides, analgésicos
- Bioquímica: Aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos
- Productos de alimentación: Edulcorantes artificiales, antioxidantes, aflatoxinas, aditivos
- Productos de la industria química: Aromáticos condensados, tensoactivos, propulsores, colorantes
- Contaminantes: fenoles, Pesticidas, herbicidas, PCB
- Química forense: Drogas, venenos, alcohol en sangre, narcóticos
- Medicina clínica: Ácidos biliares, metabolitos de drogas, extractos de orina, estrógenos.

4 h) 1. Diagrama descriptivo de un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Eficacia.

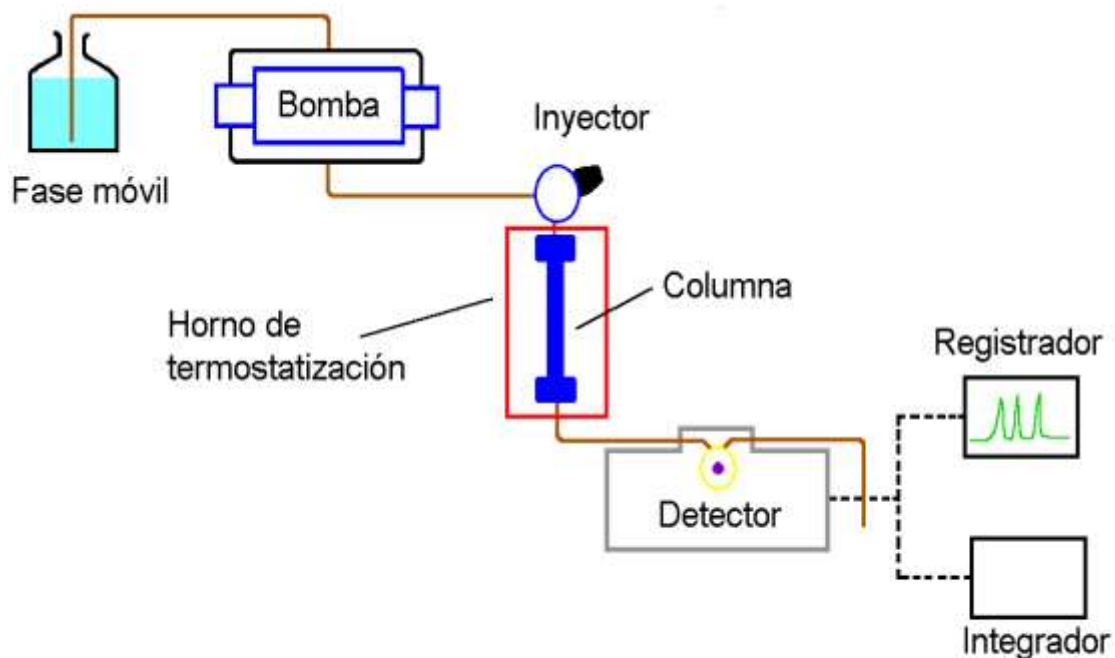


Figura 1.- Esquema de un cromatógrafo de líquidos

2. Explica la función de cada una de sus partes

Fase móvil: es un líquido, se basa en un reparto de soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria, su función es arrastrar al analito.

Bomba: Suministrar un caudal constante y libre de pulsos de la fase móvil a través de la columna.

Columna: es en ella donde se tiene lugar la separación, por lo tanto, resulta fundamental la correcta elección de la columna adecuada para cada separación, ya que con una columna inadecuada o de mala calidad nunca se obtendrán buenos resultados, aunque se disponga del mejor instrumental.

Inyector: Introducir la muestra en la columna como una banda lo más estrecha posible, ser de fácil manejo, dar lugar a resultados reproducibles, tanto en la cantidad de muestra inyectada como en el ensanchamiento que origina en la banda cromatográfica, ser capaz de trabajar a presiones elevadas, existen dos tipos de inyector, los de jeringa y los de válvula.

Detector: Dispositivo que permite medir, a la salida de la columna, una propiedad física del eluyente, que deberá depender de la composición de este.

Registrador: Sistema de tratamiento de datos en forma de variación del voltaje de salida.