

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
U.B.A.

- 1.- DEPARTAMENTO de QUIMICA ORGANICA
- 2.- CARRERA DE: POSTGRADO/DOCTORADO
- 3.- 1er. CUATRIMESTRE Año : 2001
- 4.- N° DE CODIGO DE CARRERA : 51
- 5.- MATERIA: *FUNDAMENTOS Y APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO*
N° DE CODIGO:
- 6.- PUNTAJE PROPUESTO : 4 puntos
- 7.- PLAN DE ESTUDIO Año :
- 8.- CARACTER DE LA MATERIA : Postgrado
- 9.- DURACION : Diez semanas
- 10.- HORAS DE CLASE SEMANAL:
 - a) Teóricas y seminarios : 4 Hs.
 - b) Problemas : 4 Hs.
 - c) Laboratorio : -- Hs.
 - d) Seminarios : -- Hs.
 - e) Problemas-seminario: -- Hs.
 - d) Trabajos Prácticos : 3 Hs.
 - g) Totales : 11 Hs.
- 11.- CARGA HORARIA TOTAL : 110 hs.
- 12.- ASIGNATURAS CORRELATIVAS : ---
- 13.- FORMA DE EVALUACION : Examen parcial, seminario y examen final
- 14.- PROGRAMA ANALITICO : Se adjunta
- 15.- BIBLIOGRAFIA : Se adjunta

FUNDAMENTOS Y APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO

Profesor responsable: Prof. Dra. Alicia Beatriz Pomilio

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad de Buenos Aires, Pabellón 2, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires.

Materia de posgrado y de doctorado (dar puntaje de doctorado).

Duración: 10 semanas.

Régimen: 8 hs semanales de clases teóricas y problemas. Una demostración con cromatógrafos para cada alumno.

Evaluación: 1 evaluación parcial, 1 seminario y 1 examen final.

Certificado: Se otorga certificado de asistencia, y diploma de aprobación.

Para Graduados en: Química, Biología, Bioquímica, Ingeniería, Farmacia, Agronomía, Veterinaria; Medicina; Química Alimentaria; Análisis Biológicos; Análisis Clínicos.

Ejemplos de aplicación de CGL en: Alimentos; colorantes; fármacos; agroquímicos; pesticidas; contaminación ambiental; fitoterápicos; compuestos de origen animal y vegetal; estudios de biodiversidad; evolución; aplicaciones clínicas; análisis biológicos.

- 1) Introducción: Fundamentos de la cromatografía. Aspectos históricos. Distinción entre cromatografía líquida y cromatografía gaseosa. Cromatografía de partición y de adsorción al utilizar como fase móvil un gas. Ejemplos de aplicación de la cromatografía gas-líquido (CGL) y cromatografía gas-sólido (CGS).
- 2) Fundamentos de la cromatografía gas-líquido. Concepto de plato teórico. Eficiencia de la columna. Número de platos teóricos. Altura equivalente a un plato teórico: Concepto y cálculo. Eficiencia de la fase estacionaria. Tiempos de retención; tiempos de retención corregidos. Transferencia de masa entre la fase móvil y la fase estacionaria. Selectividad. Factor de capacidad. Resolución. Ecuación de Van Deemter. Aplicabilidad. Optimización de parámetros cinéticos y termodinámicos. Cromatograma.
- 3) Instrumentos. Análisis de cada parte de los cromatógrafos. Gas portador o "carrier". Controles de flujo y reguladores de presión. Zona de inyección: Características de los inyectoros actuales. Septa que se comercializan en la actualidad. Termostatos para inyector, columna y detector. Condiciones de trabajo: Condiciones isotérmicas y de gradientes de temperatura.
- 4) Características de la columna cromatográfica: Columnas analíticas standard. Porcentaje de la fase líquida. Columnas con soporte: Soportes y fases. Selección del soporte. Columnas sin soporte: Base polimérica. Base de vidrio. Propiedades que debe presentar la fase estacionaria: Selección de la fase estacionaria según el tipo de compuesto:



- 5) Columnas capilares. Ventaja de las columnas capilares. Materiales de las columnas capilares: Eficiencia teórica vs. diámetro interno de la columna. Capacidad de muestra en columnas capilares. Fases estacionarias para CGL capilar y equivalencias entre distintas marcas comerciales.
- 6) Ejemplos de aplicación de CG capilar: a) esteroides: ej: androsterona, progesterona, colesterol, campesterol, sitosterol. b) barbituratos. c) alcoholes aromáticos. d) contaminantes de ftalatos. e) Análisis de solventes orgánicos en CS₂. f) tocoferoles. g) drogas básicas no-derivatizadas: ej: anfetamina, metanfetamina, nicotina, efedrina, benzocaína. h) impurezas de metiletilcetona. i) pesticidas clorados. j) ésteres metílicos de ácidos grasos. k) mezclas de ensayo de aromas. l) análisis de dioles, y de cetonas.
- 7) Usos de columnas capilares específicas: 1) Análisis de pesticidas: pesticidas clorados, pesticidas fosforados, aroclor y carbamatos. 2) Análisis de aminoácidos. 3) Análisis de ácidos carboxílicos. 4) Análisis de fármacos. 5) Análisis de compuestos volátiles. 6) Análisis de hidrocarburos volátiles y aromáticos purgables. 7) Análisis de mezclas complejas de hidrocarburos:
- 8) Columnas quirales. Fundamentos de la separación de compuestos quirales. Tipos de quiralidad. Exceso enantiomérico (ee). Resolución enantiomérica (Rs). Factor de retención (k'). Factor de separación (valor α). Tipos de fases estacionarias. Resolución de enantiómeros aromáticos; enantiómeros con pequeña funcionalidad; enantiómeros no-aromáticos, como: alcoholes saturados, aminas, ácidos carboxílicos, epóxidos, dioles, polioles, compuestos cíclicos, compuestos bicíclicos, compuestos heterocíclicos, lactonas, aminoalcoholes, aminoácidos, halohidrocarburos, ésteres α -halocarboxílicos, piranos y furanos.
- Aplicaciones de las columnas comerciales:
Separación de pequeñas aminas lineales y saturadas, aminas cíclicas, alcoholes, ácidos carboxílicos, epóxidos, lactonas, aminoalcoholes, azúcares, haloalcanos, y otros compuestos de mayor PM como esteroides e hidratos de carbono. Separación de aminas aromáticas conteniendo dos o más anillos, dioles cíclicos grandes, algunos heterocíclicos, compuestos multianulares o compuestos con sustituyentes voluminosos. Separación de un amplio rango de alquilalcoholes, ésteres de haloácidos, aminoalcanos, halocicloalcanos, algunas lactonas, dioles, haluros de alquilo, derivados de pirano y furano. Separación de series homólogas, derivados de pirano y furano, análogos glicidílicos y haloepihidrinas. Separación de isómeros ópticos de mentoles.
- 9) Preparación de las muestras. Derivatización de fases y de los componentes de la muestra a analizar. Aplicabilidad. Protección de grupos funcionales como: OH, C=O, COOH, NH₂, NHR, entre otros. Derivatización de disacáridos, azúcares en lipopolisacáridos, y aminoácidos.
- Análisis de gases y compuestos volátiles (desde gases permanentes a hidrocarburos volátiles y solventes de bajo p.eb.): Análisis de hidrocarburos livianos, separación de hidrocarburos saturados e insaturados de C₁-C₄. Análisis de gases permanentes, gases nobles, SF₆. Contaminantes semi-volátiles. Hidrocarburos halogenados, mercaptanos. Separación de gases fijos a temperatura ambiente y mayores. Ej: gases permanentes.
- Columnas de uso petroquímico: uso en naftas y gasolinas, parafinas, olefinas, naftalenos y aromáticos (PONA). Separación de *m*- y *p*-xileno, y de ciclopentano de 2,3-dimetilbutano. Ejemplos de aplicación: a) Hexafluoruro de azufre: SF₆, O₂, N₂. b) Clorofluorocarbonos y óxido de etileno: metano, CF₂Cl₂ (Freon-12), óxido de etileno. c) Gases permanentes:

Neon, O₂, N₂, CH₄, CO. d) 1,3-Butadieno crudo: *Isobutano*, *n-butano*, acetileno, metilciclopropano, *trans-2-buteno*, 1-buteno, isobutileno, *cis-2-buteno*, isopentano, butino, 1,2-butadieno, 1,3-butadieno, propino, vinilacetileno.

- 10) Tipos de detectores: Universales y específicos. Características: Selectividad. Sensibilidad o detectabilidad. Respuesta. Ruido o cantidad mínima detectable. Rango lineal. Fundamentos de los siguientes detectores: a) Detector de conductividad térmica, b) Detector de ionización de llama (FID), c) Detector de llama alcalina (N-FID y P-FID), d) Detector de captura electrónica (ECD), e) Detector fotométrico de llama (FPD), f) Detector de fotoionización (PID), g) Detector termioiónico de N y P (NPD), g) Detectores Tándem: Tandem PID/NPD. Tandem PID/detector de conductividad electrolítica Hall. Tandem PID/FID.

11) Ejemplos de aplicación de los detectores:

Usos del FPD: 1) Análisis de aromatizantes azufrados y contaminantes del petróleo. 2) Análisis de pesticidas organofosforados. 3) Análisis de compuestos de uso forense. 4) Análisis de compuestos organoestánicos en pinturas de recubrimiento de uso marino.

Usos del PID: 1) Análisis de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX) en agua. 2) Análisis de compuestos orgánicos en agua y suelos como contaminantes provenientes del petróleo. 3) Análisis de hidrocarburos insaturados volátiles (VOCs) en agua y suelo. 3) Análisis de compuestos aromáticos polinucleados: inyección directa en columna capilar. 4) Control de aire ambiental: búsqueda de cloruro de vinilo, tolueno, benceno, piridina, acetona, metiletilcetona, THF y S₂C. 5) Análisis de PH₃, AsH₃, NH₃, IH, I₂SeH₂, TeH₂.

Usos del NPD: 1) Análisis de herbicidas de triazina. 2) Análisis de pesticidas que contengan N y P. 3) Análisis de nicotina. 4) Análisis de cafeína. 5) Análisis de fármacos con N: procaína, metadona, anfetamina. 6) Análisis de nitrosaminas.

Usos del ECD: 1) Análisis de pesticidas organoclorados y aroclorados. 2) Análisis de trihalometanos, compuestos halocarbonados purgables. 3) Análisis de 1,2-dibromometano y 1,2-dibromo-3-cloropropano, EDB y DBCP. 4) PCBs en aceites industriales. 5) Herbicidas ácidos clorados: 2,4-D, Silvex. 6) Ésters de ftalato. 7) Fenoles. 8) Hidrocarburos clorados.

- 12) Registradores, integradores, tipo de software cromatográfico. Procesamiento de los datos cromatográficos y control de las operaciones en aparatos totalmente automáticos. Técnicas especiales. Programación. Análisis cuali y cuantitativo. Escala preparativa.

- 13) Análisis cualitativo: Identificación cromatográfica. Gráficos para series homólogas. Índice de retención (I): índices de Kovats y de Moffat; para hidrocarburos alifáticos. Patrones comerciales para índices de retención en CGL: a) tricloroacetatos de alquilo (ésteres del ácido tricloroacético), desde el hexil éster (C₆) hasta el estearil éster (C₁₈). b) lípidos: Mezclas de monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos. Mezcla de lípidos neutros. Mezcla de ácidos grasos. Mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos. Técnicas de caracterización y/o identificación: **A)** Identificación por respuesta relativa del detector (canal dual): a) FID y captura electrónica; b) FID y detector de radioactividad; c) FID y P-FID; y d) P-FID y captura electrónica. **B)** Identificación no cromatográfica: a) Ensayos microquímicos. b) Radioinmunoensayos (RIA) para compuestos bioactivos, más el PM o el p.eb. del gráfico de log. t_R. c) Identificación por formación de derivados. **C)** Identificación por instrumento auxiliar: a) Espectroscopía infrarroja (IR o FT-IR).

b) Espectrometría de masa (EM). c) Resonancia magnética nuclear (RMN). d) Otros métodos para identificación: coulombimétrico, polarografía, fotometría de llama, ultravioleta (UV), visible y análisis elemental.

- 14) Técnica de CGS capilar. Tipos de columnas. Adsorbentes. Material de los capilares. Usos: análisis ambiental de trazas. hidrocarburos de bajo PM; clorofluorocarbonos (CFC, freones); compuestos orgánicos volátiles (VOC); hidrocarburos de p.eb. intermedios (nafta virgen, etc.).

compuestos polares (alcoholes en soluciones acuosas, bebidas); herbicidas.

Cromatografía gas-líquido comparada con cromatografía líquida de alta resolución. Ventajas, limitaciones, complementación y ejemplos de aplicación.

CGL capilar de última generación: Columna capilares de alta polaridad y estabilidad térmica. Usos: análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME), incluyendo separaciones de los isómeros *cis/trans*, ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y ésteres metílicos de ácidos bacterianos; separaciones de dioxifuranos y de hidratos de carbono como alditoles acetilados.

Ejemplos: 1) Alditoles acetilados. 2) Aceite de oliva (ésteres metílicos). 3) Aceite de canola (ésteres metílicos). 4) FAME.

Columnas capilares de alta resolución (HP): Fases de diferente polaridad. Ejemplo: Mezcla de calibración para perfumes.

Columnas capilares de alto poder resolutivo (HP Ultra): para análisis y control de mezclas de fármacos, mezclas complejas y muestras con compuestos activos como aminas, alcoholes y halógenos. Ejemplo: Antipsicóticos tricíclicos.

Columnas capilares de alta resolución y alta velocidad (HP High-Speed): usos en CG-EM; y en cromatografía capilar de fluidos supercríticos.

BIBLIOGRAFIA

A) Libros de Consulta:

- 1) W. McFadden, *Techniques of combined gas chromatography/mass spectrometry: Applications in Organic Analysis*, John Wiley and Sons, New York, London, Sydney, Toronto (1973) 463 pp.
- 2) P.J. Baugh, *Gas chromatography: A practical approach*, IRL Press at Oxford University Press, Oxford, Inglaterra (1994) 448 pp.
- 3) D.R. Knapp, *Handbook of analytical derivatization reactions*, John Wiley and Sons, New York, EE. UU. (1979) 741 pp.
- 4) K. Blau y J.M. Halket, *Handbook of derivatives for chromatography*, John Wiley and Sons, New York, EE. UU., 2a. edición (1993) 369 pp.
- 5) J.E. Andrews, P. Brimblecombe, T.D. Jickells y P.S. Liss, *Introduction to Environmental Chemistry*, Blackwell Science Ltd., Oxford, Inglaterra (1996) 209 pp.
- 6) S. Ahuja, *Chiral Separations: Applications and Technology*, American Chemical Society, Washington, DC, EE. UU. (1996) 368 pp.
- 7) M. Zief y L.J. Crane, *Chromatographic Chiral Separations, Vol. 40*, Marcel Dekker, N.Y., EE. UU. (1988) 410 pp.
- 8) A.B. Pomilio, *Actualización en Cromatografía Gaseosa: Columnas, detectores y aplicaciones*, Serie Química, IDECEFYN, Buenos Aires (1999); 2a ed. (2000) 38 pp.
- 9) F. Gunstone, *Fatty acid and Lipid chemistry*, Blackie Academic and Professional, London, Inglaterra (1996) 252 pp.
- 10) I.A. Fowles, *Gas chromatography*, 2a. edición, John Wiley and Sons, New York, EE. UU. (1995) 300 pp.

- 11) J. Yinon, *Forensic applications of mass spectrometry*, CRC Press, Boca Raton, FL, EE. UU. (1995) 320 pp. (LC-EM y CG-EM).
- 12) K. Grob, *On-line coupled Liquid Chromatography-Gas Chromatography*, Hüthig, (1991) 462 pp.
- 13) K. Grob, *On-column injection in Capillary Gas Chromatography*, Hüthig, 2a, edición (1991) 591 pp.
- 14) K. Grob, *Modern practice of Gas Chromatography*, Hüthig, 2a. edición (1985) 897 pp.
- 15) M. L. Lee, F. J. Yang y K.D. Burtle, *Open tubular Column Gas chromatography: Theory and Practice*, John Wiley and Sons, Inc. (1984) 445 pp.
- 16) R.J. Hamilton y S. Hamilton, *Lipid analysis: A practical approach*, IRL Press, (1992) 311 pp.
- 17) L.S. Ettre, *Introduction to Open Tubular Columns*, Perkin-Elmer Corp., (1979) 69 pp.
- 18) K.J. Hyver y P. Sandra, *High Resolution Gas Chromatography*, Hewlett-Packard, 3a. edición (1989) 308 pp.
- 19) B.V. Ioffe y A.G. Vitenberg, *Head-Space Analysis and related methods in Gas Chromatography*, John Wiley and Sons (1984) 276 pp.
- 20) K.K. Unger, *Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques (Chrom. Sci. Series, Vol. 47)*, Marcel Dekker, N.Y., EE. UU. (1990) 831 pp.
- 21) A.A. Swigar y R. M. Silverstein, *Monoterpenes: Infrared, Mass, 1H NMR and 13C NMR Spectra, and Kovats Indices*, Aldrich Chemical Co. (1981) 130 pp.
- 22) K. Grob, *Split and splitless injection in Capillary Gas Chromatography*, Hüthig, 3a. edición (1993) 547 pp.
- 23) R.E. Wagner, *Guide to Environmental Analytical Methods*, Genium Publishing Corp., (1992) 204 pp.
- 24) E. Katz, *Quantitative analysis using chromatographic techniques*, John Wiley and Sons (1987) 427 pp.
- 25) W. Jennings y T. Shibamoto, *Qualitative analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by glass capillary gas chromatography*, Academic Press (1980) 472 pp.
- 26) W.A. König, *Gas chromatographic enantiomer separation with modified cyclodextrins*, Hüthig, (1992) 168 pp.
- 27) C.F. Poole y S.K. Poole, *Chromatography Today*, Elsevier Science Publishing (1991) 1026 pp.

Durante el transcurso de la materia se utilizarán trabajos de investigación realizados recientemente que se encuentran en las siguientes publicaciones periódicas especializadas en los temas de cromatografía, y en particular en cromatografía gaseosa, así como los referidos a química analítica, y en las temáticas de interés, por ej. química ambiental, fragancias, química clínica, petroquímica, agroquímica, fitoquímica, etc.: *Journal of Chromatography A*; *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications*; *Journal of Chromatographic Science*; *Chromatographia*; *Journal of High Resolution Chromatography-Chromatographic Communications*; *Phytochemical Analysis*; *Analytical Chemistry*; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*; *Instruments and Experimental Techniques*; *Reviews of Scientific Instruments*; *The Science of Chromatography- J. Chromatogr. Libr. (Serie)*; *Separation and Purification Methods*; *Separation Science and Technology*; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *Analytical Sciences*; *Analytica Chimica Acta*; *Analytical Letters*; *Chirality*; *Analytical Instrumentation*; *Analytical Biochemistry*; *Analisis*; *American Laboratory*; *Clinica Chimica Acta*; *Clinical Chemistry*; *Biomedical Chromatography*; *Biotechnology and Bioengineering*; *Environmental Science and Technology*; *Analyst (London)*; *Energy Sources*; *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*; entre otras.


 Dr. OSCAR VARELA
 DIRECTOR DEPTO. QUÍMICA ORGÁNICA

41- FEB. 2001

