

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**ADECUACION DEL CROMATOGRAFO DE GASES PERKIN ELMER
AUTOSYSTEM XL UBICADO EN EL LABORATORIO DE ANALISIS FISICO
QUIMICO DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES Y DESARROLLO EN
SALUD (CENSALUD)**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

FERNANDO ALFONSO ESPINOZA MORALES

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

NOVIEMBRE 2012

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO.

SECRETARIO GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA. DE AMAYA.

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ.

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

ASESORAS DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS

MSc. Rocío Ruano de Sandoval.

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

DOCENTES DIRECTORES

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras.

Licda. María Esperanza Rodríguez de Cuéllar

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO:

Por haberme brindado sabiduría, entendimiento y ganas de luchar, permitiéndome culminar una meta más en mi vida.

A MI FAMILIA:

Por todo el apoyo y paciencia brindada durante todo este trabajo de graduación y a todas las personas que me ayudaron para que sea posible la culminación y sea un trabajo de éxito.

A LA COORDINADORA GENERAL Y ASESORES DE AREAS:

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo. MSc. Rocio Ruano de Sandoval. Y Licda Zenia Ivonne Arévalo de Márquez por su tiempo y dedicación en el desarrollo del presente trabajo.

A MIS DOCENTES DIRECTORES:

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras y Licda. María Esperanza Rodríguez de Cuéllar, por ser mis asesores y amigos, guiándome por el camino del saber, por su gran apoyo y paciencia, por haberme aportado con la orientación y conocimientos profesionales que fueron de mucha importancia para la elaboración de este trabajo.

Gracias por todo. Fernando Espinoza

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO: Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, por darme la fuerza y deseos de continuar, por guiarme cada paso e iluminar mi mente todos estos años. Por todo esto y mucho mas gracias Jehovah Dios.

A MIS PADRES: María Angélica Espinoza Morales y José Antonio Espinoza por haberme dado la vida y haberme apoyado en todo momento, por sus consejos y valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A MIS HERMANAS: Verónica y Claudia gracias por estar conmigo, por todo su apoyo, porque nunca dudaron de mí y mis capacidades.

A MIS ABUELOS Y ABUELA: Alfonso Morales y Fernando Rodriguez que me sirvieron como guía en la vida y que cada uno a su manera me demostró su amor. A mi abuela Chica quien siempre me cuido y me demostró su cariño desde pequeño.

A MI NOVIA: Carolina Araujo por su amor y apoyo, fuiste tu amor quien me ayudo en mis momentos de debilidad cuando estaba a punto de rendirme.

A MIS ASESORES: Lic. Cuéllar, Lic Henry y Lic Flores por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales.

A MIS AMIGOS Y FAMILIARES: Ulloa, Ivan, Max, tios, primas y a todos aquellos que estuvieron ahí en el momento justo para brindarme su apoyo.

INDICE

Contenido	N ° Pág
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xvii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
2.1 Objetivo General	
2.2 Objetivos Específicos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	22
3.1 Historia de la cromatografía de gases.	22
3.2 Cromatografía de gases.	23
3.3 Características de las muestras que pueden ser analizadas.	25
3.4 Ventajas de la cromatografía de gases	25
3.5 Limitaciones de la cromatografía de gases	25
3.6 Componentes de un cromatógrafo de gases	26
3.6.1 Gas portador (carrier)	27
3.6.2 Sistemas de control de flujo	27
3.6.3 Sistemas de inyección	28
3.6.4 Inyectores	28
3.6.5 Columnas y tipos de fases estacionarias	30
3.6.6 Detectores	35
3.7 Perfiles Analíticos	37
3.7.1 Tiempo de retención	37
3.7.2 Resolución	38
3.7.3 Control de flujo y su medida	40
3.7.4 Ecuación de Van Deemter	41
3.7.5 La eficacia de la columna	44

3.7.6 Eficacia teórica (número de platos teóricos)	46
3.7.7 Programación de temperatura	49
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico.	51
4.1. Tipo de Estudio.	51
4.2. Metodología.	
4.2.1. Investigación Bibliográfica.	52
4.2.2. Investigación de Campo.	52
Capítulo V	
5.0 . Resultados e Interpretación	61
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones.	75
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	78
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°		Pág.
1	Información de las condiciones de operación del equipo para los análisis	54
2	Tiempos de retención a diferentes presiones.	62
3	Altura de picos a diferentes presiones.	63
4	Información del Tiempo de retención óptimo y ancho medio.	64
5	Información de Valores de número de platos teóricos obtenida a diferentes presiones.	65
6	Factor de Capacidad	66
7	Valores de selectividad, resolución y altura equivalente a un plato teórico.	68
8	Alturas equivalentes a un plato teórico obtenidas a diferentes presiones	69
9	Condiciones de operación del equipo para el análisis de la mezcla (Etanol, Metanol, Butanol).	71
10	Condiciones óptimas con mejores resultados para la muestra utilizada.	73

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág.
1	Perfiles de Van Deemter, comparación de altura efectiva de platos teóricos contra la velocidad linear promedio para H ₂ , He, y N ₂ .	42
2	Ejemplo de tiempo de retención en un cromatograma	56
3	Formula factor de capacidad aplicada a un cromatograma	56
4	Formula de N con W _{0.5} aplicada en el cromatograma	57
5	Formula de selectividad aplicada a un cromatograma	58
6	Grafica de Van Deemter para el Etanol.	70

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Cromatógrafo de gases y sus partes.
- 2 Método de Determinación de Metanol en Bebidas Destiladas. .
- 3 Material, equipo y reactivos.
- 4 Manual de equipo Cromatógrafo de gases Marca Perkin Elmer AutoSystem XL.
- 5 Cromatogramas obtenidos.
- 6 Certificados de columna y reactivos.

ABREVIATURAS

AOAC	Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists
ECD	Detector de captura de electrones
FID	Detector de ionización de llama
FSOT	Columna tubular abiertas de sílice fundida
SCOT	Columna tubular soporte recubierto.
WCOT	Columna tubular pared recubierta
Ar	Argón.
eV	Electro volt.
H ₂	Hidrógeno
g/s	Gramos sobre segundos
m ² /g	Miligramo al cuadrado sobre gramos
µg	microgramos
Min	Minutos.
ml/min	Mililitro sobre minutos

mm	milímetros
Ppb	Partes por billón
Ppm	Partes por millón.
Psi	Libras por pulgadas cuadradas.
K'	Factor de capacidad.
N	Numero de platos teóricos
R _s	Resolución.
T ₀	Tiempo de retención del compuesto no retenido.
T' _R	Tiempo de retención optimizado.
T _R	Tiempo de retención.
W	Ancho de pico.

RESUMEN

RESUMEN

En la presente investigación se adecuó el cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer AutoSystem XL ubicado en el Centro de Investigación en Salud (CENSALUD) utilizando el método plasmado en Oficial de Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC), para la determinación de metanol en bebidas destiladas (AOAC 9.092).

Se verificó el correcto funcionamiento del cromatógrafo de gases Perkin Elmer AutoSystem XL, determinando ausencia de fuga y la presión de los gases (hidrogeno, oxigeno y helio), se instaló una columna marca Perkin Elmer Elite 1 de 15 metros de longitud y el software TotalChrome versión 2011 como preparación previa a las corridas de la muestra que consistían en una mezcla de 3 alcoholes de alta pureza (Etanol, Metanol y Butanol).

Se realizaron 6 corridas a diferentes presiones (1.5 Psi, 1.8 Psi, 2.0 Psi, 2.5 Psi, 3.0 Psi, 3.5 Psi), manteniendo constante los siguientes parámetros: Split, temperatura de inyección, horno, detector, cantidad de muestra inyectada, tipo de columna y gas.

A los cromatogramas se les identificó los tiempos de retención, anchura media, altura, selectividad, número de platos teóricos, resolución, flujo de fase móvil y número equivalente a un plato teórico.

Posteriormente se realizó la grafica de Van Demmter determinando el rango de presión óptima que fue de 2.5 psi, con el valor obtenido se hicieron cambios al Split manteniendo la presión constante, para buscar mejorar los cromatogramas. Los valores obtenidos se compararon con los cromatogramas a diferentes presiones y split determinando que el mejor perfil analítico es el obtenido a una presión de 2.5 psi y el split es de 25 mililitro por minutos, logrando adecuar el cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer AutoSystem XL ubicado en el Centro de Investigación en Salud CENSALUD, por lo tanto se recomienda validar el método de determinación de metanol en bebidas

alcohólicas por cromatografía de gases ya que se ha demostrado que el equipo es óptimo para este tipo de análisis.

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La cromatografía de gases es de gran utilidad por la alta resolución que presenta al realizar un análisis de muestras líquidas, gaseosas o sólidas (en solvente), que permiten la separación de muestras, sin embargo es necesario realizar una adecuación del equipo para que pueda funcionar en óptimas condiciones y de acuerdo a las necesidades del laboratorio, evitando así errores o problemas de funcionamiento del equipo.

El equipo de cromatografía de gases marca Perkin Elmer Autosystem XL ubicado en el “Laboratorio de Análisis Físico Químico del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud” CENSALUD, había estado inactivo por 4 años, por lo que se realizó una adecuación del cromatógrafo de gases para evidenciar el desempeño del mismo con el método Oficial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC), para la determinación de metanol en bebidas destiladas (AOAC 9.092).

Con la adecuación del equipo se revisó y arregló las fallas quedando en óptimas condiciones para el uso en investigaciones de los estudiantes, además se realizó un estudio de los perfiles analíticos que mostraron parámetros iniciales, por medio de la calibración y cambio de columnas, que permitirá un mejor control en la optimización de la resolución en los resultados y obtener así puntos de referencias que indiquen el estado del aparato.

Se utilizó como muestra una mezcla de alcoholes de alta pureza (Etanol, Metanol y Butanol) para determinar sus tiempos de retención optimizados.

Con los valores obtenidos se realizó gráficas de Van Deemter, lo cual permitió determinar el flujo óptimo y valores experimentales de altura de platos teóricos, velocidad final, especificando así los valores cercanos al valor real de presión para adecuar de una mejor forma los perfiles cromatográficos de gases.

La investigación bibliográfica y práctica, de este documento permitió que el analista trabajara con más facilidad y rapidez en la adecuación de un cromatógrafo de gases.

En la actualidad, en la Universidad de El Salvador hay pocas fuentes bibliográficas actualizadas que brinden referencias de estudios de perfiles analíticos y optimización de un cromatografo de gases, por lo que esta investigación servirá de apoyo en adecuaciones y optimizaciones futuras.

Todo este proceso y dicho estudio se realizó en el período de 18 meses

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Adecuar el cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer AutoSystem XL ubicado en el Laboratorio de Análisis Físico Químico del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Realizar una adecuada configuración del cromatógrafo de gases para lograr un óptimo rendimiento en el cromatograma.

2.2.2 Realizar ensayos por medio de corridas de solventes de referencias (Metanol, Etanol y Butanol) para determinar los números efectivos de platos teóricos, la velocidad lineal del gas de arrastre, la selectividad y resolución de los analitos.

2.2.3 Identificar problemas en la resolución de los cromatograma para obtener un óptimo rendimiento, modificando parámetros como, temperatura, flujo.

2.2.4 Seleccionar el mejor perfil analítico en los ensayos de pruebas

CAPITULO III

MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEÓRICO

La adecuación de un equipo consiste principalmente en acomodar el equipo a las condiciones del lugar de trabajo, logrando así el óptimo funcionamiento de este. Para lograr la adecuación del cromatógrafo de gases es necesario conocer las condiciones y herramientas de equipo con lo que se cuenta en el laboratorio, así como todas las generalidades que se explicarán a continuación.

3.1 HISTORIA DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES.^(5,14)

La cromatografía tuvo sus comienzos en 1850 con la separación de anilinas por F.F. Runge. En este proceso utilizó un filtro de papel y un solvente para lograr la separación de varios colorantes. Runge tomo como base la afinidad del color/papel y la diferencia de peso molecular.

Esta técnica es ampliamente conocida y se le conoce como cromatografía de papel.

En 1906 Tswett presentó la utilización de columnas empacadas con un adsorbente adecuado para separar pigmentos vegetales, a este procedimiento se le llamó cromatografía de tintas. En esta técnica también se empleó un líquido móvil para remover (eluir) los compuestos adheridos en el material de empaque. Los compuestos adsorbidos se eluyeron en la corriente del líquido móvil y pudieron colectarse al final de la columna.

En 1941, Martín y Singe sugirieron la posibilidad de utilizar un gas en la fase móvil del cromatógrafo, pero esto se quedó sólo en teoría y nunca se puso en la práctica.

En 1952, Martín y James empleaban una bureta automática para detectar y determinar los ácidos y bases. El primer cromatógrafo de gases satisfizo sólo estos grupos funcionales, el verdadero potencial no se pudo alcanzar hasta la publicación de Ray, del primer cromatograma en 1954, el detector utilizado fue conductividad térmica.

Fue en 1955 que los primeros instrumentos comerciales aparecieron en el mercado.⁽¹⁴⁾

En las últimas décadas, los instrumentos de cromatografía de gases que han aparecido en el mercado presentan muchos cambios y mejoras. En los años setenta, se hicieron habituales los integradores electrónicos y equipos de procesadores de datos basados en ordenadores. Los años ochenta introdujeron la utilización de los ordenadores para el control automático para la mayoría de los parámetros instrumentales, tales como la temperatura de la columna, caudal y la inyección de la muestra; el desarrollo de instrumentos de un muy alto rendimiento a un costo moderado; y tal vez lo más importante, el desarrollo de la columna abiertas que son capaces de separar una multitud de analitos en tiempos relativamente cortos.⁽⁵⁾

3.2 Cromatografía gaseosa⁽¹⁰⁾

La cromatografía gaseosa es un método de separación en el cual los componentes de una mezcla se reparten entre dos fases: la fase estacionaria (líquida), que posee una superficie de exposición muy grande y la otra, la fase móvil, que es un gas que circula en contacto con la fase estacionaria. La muestra se vaporiza en el sistema de inyección y es transportada por la fase móvil gaseosa (gas portador) a través de la columna. El reparto o partición de los componentes de la muestra con la fase estacionaria, se basa en sus diferentes solubilidades en esta fase a una temperatura dada. Por lo tanto, los componentes de la mezcla (solutos o analitos) se separan entre sí en base a sus presiones de vapor relativas y de acuerdo a sus afinidades con la fase estacionaria. Este tipo de proceso cromatográfico se denomina elución.

Los principales componentes en un sistema de cromatografía gaseosa son: la fuente de gas portador, el sistema de inyección, el horno que

contiene la columna, el detector y el sistema de registro e integración. (Ver anexo N° 1 figura N° 7 y 8)

En resumen, un cromatógrafo de gases funciona de la siguiente forma: un gas inerte fluye en forma continúa desde un cilindro de gas a través del inyector, la columna y el detector. La velocidad de flujo del gas transportador se controla para asegurar tiempos de retención reproducibles y minimizar las variaciones y ruidos en el detector. La muestra se inyecta (normalmente con una microjeringa) en el inyector que se encuentra a alta temperatura donde se vaporiza y es transportada a la columna, en general de 15 a 150 metros de largo, cubierta en la parte interior por un film de un líquido de alto punto de ebullición (la fase estacionaria).

La muestra se reparte entre la fase móvil y la estacionaria de modo de que los componentes individuales se separen en base a su solubilidad relativa en la fase líquida y sus presiones de vapor relativas.

Luego de la columna, el gas portador y la muestra pasan a través de un detector, donde se mide la cantidad de cada componente y se genera una señal eléctrica. Esta señal se transmite a un sistema de registro e integración, el cual genera un cromatograma que representa un registro del análisis. En la mayor parte de los casos, el sistema integra automáticamente el área de cada pico, realiza los cálculos e imprime un reporte con los resultados cuantitativos y los tiempos de retención.

Inicialmente se utilizaron columnas empacadas, actualmente para la mayor parte de las aplicaciones de la cromatografía gaseosa, se prefiere utilizar columnas capilares que permiten obtener una resolución más eficiente. (Ver anexo 1, figura N° 9)

3.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS QUE PUEDEN SER ANALIZADAS POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA.⁽¹¹⁾

- Gases, líquidos o sólidos.
- Peso molecular entre 2 a un aproximado de 400 unidades de masa. Valores mayores se alcanzan con técnicas especiales.
- Compuestos orgánicos o inorgánicos.
- La muestra debe ser *volátil* o debe poder ser transformada en volátil.

3.4 VENTAJAS DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES.^(9,13)

- Eficiente, permite alta resolución.
- Requiere muestras pequeñas.
- Alta sensibilidad, detecta ppm y a menudo ppb.
- Proporcionando información para los análisis cualitativo y cuantitativo.
- Alta velocidad de análisis: un análisis completo puede realizarse en tiempos relativamente cortos (30 min.).
- Buena exactitud.
- Fácil de usar.
- Usando las condiciones analíticas adecuadas se pueden hacer separaciones imposibles de realizar por otros métodos.

3.5 LIMITACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES. ⁽¹³⁾

- La muestra debe ser volátil.
- No aplicable a muestras termolábiles.
- Muestras “sucias” requieren de un filtrado previo.
- Se debe utilizar otro sistema de detección por ejemplo: Detector de masa (MS) para la confirmación de la identificación.
- Es necesario entrenamiento y experiencia por el técnico analista.

3.6 COMPONENTES DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES

3.6.1 Gas portador (carrier)

La función principal del gas portador es transportar la muestra a través de la columna. Es la fase móvil, debe ser inerte en las condiciones usadas y no debe interaccionar químicamente con la muestra. Una segunda función es actuar como una matriz conveniente en el detector para la medida de los componentes en la mezcla.

Un gas portador debe reunir ciertas condiciones las cuales son:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria).
- Debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa.
- Fácilmente disponible y puro.
- Económico.
- Adecuado al detector a utilizar.⁽¹⁵⁾

La selección del gas portador y su selección dependerá fundamentalmente del tipo de detector utilizado. Los gases más utilizados son Nitrógeno (N_2), hidrogeno (H_2), Helio (He) o Argón (Ar). El H_2 tiene la menor viscosidad de todos, lo que significa que su uso es ventajoso en columnas capilares largas en las cuales se requiere flujos relativamente altos. La curva de Van Deemter, que relaciona la altura de plato teórico de la columna con la velocidad de flujo lineal de la fase móvil, a partir de la cual la eficiencia de la columna puede ser optimizada, es muy diferente para el H_2 y N_2 .

En la figura N° 1, se observa la curva de Van Deemter para diferentes gases, donde se produce un mínimo más achatado para el H_2 , lo que determina una eficiencia de la columna considerablemente mayor a la velocidad de flujo altos. ⁽¹⁰⁾

3.6.2 Sistemas de control de flujo

El sistema de control de flujo está representado por los reguladores de dos etapas conectados a los cilindros del gas portador, necesarios para reducir la presión del cilindro desde aproximadamente 2500 psi a un nivel de 20 – 60 psi (presión).

Para cromatografía gaseosa isoterma (temperatura del horno constante durante toda la corrida), la presión de entrada constante es suficiente para tener una velocidad de flujo constante, asumiendo que la columna produce una caída de presión constante.

Para cromatografía gaseosa en la que se utilizan programas de temperatura, aun cuando la presión de entrada de la fase móvil es constante, la velocidad de flujo disminuirá a medida de que la temperatura de la columna aumenta. Esta disminución de la velocidad de flujo es debida al aumento de la viscosidad del gas portador a temperaturas elevadas. En todos los cromatógrafo de temperatura programada, se debe utilizar un controlador diferencial de flujo que asegure una velocidad de flujo constante.⁽¹⁰⁾

3.6.3 Sistemas de inyección

La inyección de muestra es un apartado crítico, ya que se debe inyectar una cantidad adecuada, y debe introducirse de forma tal (como un "tapón de vapor") que sea rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida; este efecto se da con cantidades elevadas de analito. El método más utilizado emplea una microjeringa (de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea. Esta cámara está 50 °C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil, y

está sellada por una junta de goma de silicona llamada septa o septum.

Si es necesaria una reproducibilidad del tamaño de muestra inyectado se puede usar una válvula de seis vías o válvula de inyección, donde la cantidad a inyectar es constante y determinada por el tamaño del bucle de dicha válvula.⁽¹⁴⁾

3.6.4 Inyectores

El inyector es la puerta de entrada de la muestra en el cromatógrafo. Tiene otras dos funciones: vaporizar y arrastrar a la cabeza de la columna la muestra mezclada con el gas portador. Las características de los inyectores así como la de los modos de inyección se diferencian según el tipo de columnas que se utiliza, la calidad de la separación depende de la calidad de este análisis.

A. Modalidad split o con división

- La muestra se vaporiza en un inyector a alta temperatura.
- La muestra vaporizada se divide (*split*) por lo que sólo una parte conocida de la muestra entra a la columna de separación.
- La relación normal de split utilizada está entre 10:1 a 200:1.
- El operador regula la relación de split abriendo o cerrando una válvula y controlando los valores de flujo.⁽¹¹⁾
- Es una forma de reducir el volumen de la muestra.
- No es adecuada para trazas.⁽¹⁴⁾

B. Modalidad splitless o sin división

Otra forma de inyectar la muestra para columnas capilares es la técnica de “splitless injection”, la cual es particularmente útil para muestras muy diluidas, dado que en este caso el sistema

concentra la muestra en la entrada de la columna (ver anexo 1, figura 10).

Características y pasos a seguir:

- Se inserta en el inyector la jeringa y se aguarda alrededor de 5 segundos
- Se cierra la válvula de split (requiere purga de septa)
- Se inyectan entre 1 a 3 micrólitos en la columna fría
- Se abre la válvula del split luego de 45 segundos para purgar el inyector (flujo 30-50 ml/min)
- Iniciar programa de temperatura de la columna (horno)
- El 80% de la muestra entra a la columna (ver anexo 1, figura N° 11).

C. Inyección On-column o dentro de la columna

- La muestra es introducida directamente, por medio de una jeringa especial, en la columna, sin calentamiento previo o mezcla con el gas portador.
- Se utiliza básicamente para aquellos solutos que son termolábiles y para los que tienen puntos de ebullición altos.
- La inyección se hace directamente en la columna manteniéndola temperatura inferior al punto de ebullición del disolvente (ver anexo 1, figura N° 12).
- La zona de inyección se refrigera con aire.
- Aumento brusco de temperatura después de la inyección⁽¹⁰⁾
- Se usa en muestras que pueden descomponerse al calentarse.⁽⁸⁾

3.6.5 Columnas y tipos de fases estacionarias

Existen 2 tipos de columnas, las columnas empaquetadas (o columnas de relleno) y las columnas capilares (o abiertas) y ambas tienen diferentes eficacias. En las columnas empaquetadas, la fase estacionaria está inmobilizada por la impregnación o por reacción química con el soporte poroso, mientras que en las columnas capilares una capa fina de fase estacionaria es depositada o una unidad mediante un enlace químico en la superficie interna de la columna.

A. Columnas de relleno

Las columnas de relleno o empacadas consisten en unos tubos de vidrio, metal (inerte a ser posible como el acero inoxidable, níquel, cobre o Aluminio) o teflón, de longitud de 2 a 4 metros y un diámetro interno de unos pocos milímetros, típicamente de 2 a 4. El interior se rellena con un material sólido, finamente dividido para tener una máxima superficie de interacción y recubierto con una capa de espesores entre 50 nm y 1 μm . Para que puedan introducirse en el horno, se enrollan convenientemente.

El material de relleno ideal consiste en pequeñas partículas, esféricas y uniformes, con una buena resistencia mecánica, para tener una máxima superficie donde interaccionar la fase estacionaria y el analito. La superficie específica mínima ha de ser de 1 m^2/g . Como todos los componentes de columnas para cromatografía de gases, debe ser inerte a altas temperaturas ($\sim 400\text{ }^\circ\text{C}$) y humectarse uniformemente con la fase líquida estacionaria durante el proceso de fabricación. El material preferido fue la tierra de diatomeas natural, debido a su tamaño de poro natural. Estas especies, ya extinguidas, utilizaban un

sistema de difusión molecular para tomar nutrientes del medio y expulsar sus residuos. Por tanto, debido a que el sistema de absorción superficial del analito y la fase estacionaria es parecido, son materiales especialmente útiles.

El tamaño es crítico a la hora de darse el proceso de interacción del analito, y a menores tamaños la eficacia de la columna es mejor. Pero existe el problema de la presión necesaria para hacer circular un caudal estable de gas portador por la columna, ya que dicha presión es inversamente proporcional al cuadrado del diámetro de dichas partículas. Así, el tamaño mínimo para usar presiones máximas de 50 psi de 250 a 149 μm .⁽¹⁵⁾

De una manera general podemos decir que La columna de relleno contiene una fase sólida, consistente por lo general en un material de soporte inorgánico (ver anexo 1 figura 13). Dicho material de soporte está cargado con un 0.5% al 30% de fase estacionaria. Estas columnas miden generalmente 2-6 m de longitud con un diámetro de 3-4 mm.⁽¹²⁾

B. Columnas capilares

Las columnas capilares son de dos tipos básicos: las de pared recubierta (WCOT) y las de soporte recubierto (SCOT). Las WCOT son simplemente tubos capilares donde la pared interna se ha recubierto con una finísima capa de fase estacionaria.

Las columnas SCOT tienen en su parte interna una fina capa de material absorbente como el empleado en las columnas de relleno (tierra de diatomeas) donde se ha adherido la fase estacionaria. Las ventajas de las SCOT frente a las WCOT es la mayor capacidad de carga de esta última, ya que en su

fabricación se emplean mayores cantidades de fase estacionaria, al ser la superficie de intercambio mayor.

Por orden de eficacia, en primer lugar están las WCOT, luego las SCOT y por último las columnas de relleno (ver anexo 1, figura N° 14).

Las columnas WCOT se fabrican a partir de sílice fundida, conocidas como columnas tubulares abiertas de sílice fundida o FSOT. Estas columnas se fabrican a partir de sílice especialmente pura, sin apenas contenido de óxidos metálicos. Debido a la fragilidad inherente a este material, en el mismo proceso de obtención del tubo se recubre con una capa de polihimida, de esta forma la columna puede enrollarse con un diámetro de unos pocos centímetros. Estas columnas, con propiedades como baja reactividad, resistencia física y flexibilidad, han sustituido a las WCOT clásicas.

Las columnas FSOT tienen diámetros internos variables, entre 250 μm y 320 μm (para columnas normales) y (150 – 200) μm para columnas de alta resolución. Estas últimas requieren menor cantidad de analito y un detector más sensible, al eluir menor cantidad de gas. Existen columnas macrocapilares con diámetros de hasta 530 μm , que admiten cantidades de analito comparables a las de relleno pero con mejores prestaciones.

En estas columnas existe un problema debido a la absorción del analito sobre la superficie de la sílice fundida, adsorción debida a la presencia de grupos silanol (Si-OH), los cuales interaccionan fuertemente con moléculas polares orgánicas.

Este inconveniente se suele solventar inactivando la superficie por sililación con dimetilclorosilano (DMCS). La absorción

debida a los óxidos metálicos se ve paliada en gran parte por la elevada pureza de la sílice empleada.⁽¹⁷⁾

Las principales diferencias de las columnas capilares con respecto a las columnas empaquetadas son:

- El diámetro interno es mucho menor.
- Su longitud es significativamente mayor.
- Carecen de material de empaque.
- Tienen menor capacidad de carga.

Esto permite que los componentes residan mayor tiempo en la columna, lográndose picos de excelentes formas y muy definidos. Además se obtiene mayor sensibilidad al ser los picos más estrechos, la sensibilidad mejora. Ambos picos tienen un área de 5000 unidades arbitrarias pero como el pico en la capilar tiene mayor altura, lo que se obtiene es una mayor relación señal/ruido. ⁽¹²⁾

C. La fase estacionaria

La técnica de impregnación para las columnas empaquetadas es muy sencilla y permite elegir numerosos compuestos orgánicos poco volátiles para su uso como fase estacionaria, pero las dificultades de fabricación de las columnas capilares imponen una elección más limitada. Las fases actuales corresponden a dos tipos principales: los polixiloxanos y los polietilenglicoles, cada categoría puede ser objeto de modificaciones menores. Se puede añadir fases particulares a base de ciclodextrinas para el estudio de compuestos ópticamente activos.

Las propiedades necesarias para una fase estacionaria líquida inmovilizada son:

- Características de reparto (factor de capacidad K' y factor de selectividad α) adecuados al analito.
- Baja volatilidad, el punto de ebullición de la fase estacionaria debe ser al menos 100 °C mayor que la máxima temperatura alcanzada en el horno.
- Baja reactividad.
- Estabilidad térmica, para evitar su descomposición durante la elución.

Existen como mucho una docena de disolventes con estas características. Para elegir uno, debe tenerse en cuenta la polaridad del analito, ya que a mayor polaridad del analito, mayor polaridad deberá tener la fase estacionaria.

Generalmente, en columnas comerciales, la fase estacionaria se presenta enlazada y entrecruzada para impedir su pérdida durante las operaciones de elución o lavado. De esta forma se obtiene una monocapa adherida químicamente a la superficie de la columna. La reacción implicada suele ser la adición de un peróxido al líquido a fijar, iniciándose una reacción por radicales libres, que tiene como resultado la formación de un enlace carbono-carbono que además incrementa su estabilidad térmica. Otra forma es la irradiación con rayos gamma.

Otro tipo de fase estacionaria son las quirales, lo cual permite resolver mezclas enantioméricas. Este tipo de fases suelen ser aminoácidos quirales o algún derivado adaptado al trabajo en columna.

El grosor de la película varía entre 0.1 μm y 5 μm ; el grosor depende de la volatilidad del analito. Así, un analito muy volátil requerirá una capa gruesa para aumentar el tiempo de interacción y separar más efectivamente los diferentes

componentes de la mezcla. Para columnas típicas (diámetros internos de 0.25 mm o 0.32 mm) se emplean grosores de 0.25 μm , y en las columnas macrocapilares el grosor sube hasta 1 μm . El grosor máximo suele ser de 8 μm .⁽¹⁷⁾

3.6.6 Detectores

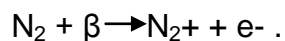
El detector es la parte del cromatógrafo que se encarga de determinar cuándo ha salido el analito por el final de la columna. Las características de un detector ideal son:

- Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10^{-8} g/s y 10^{-15} g/s de analito.
- Respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.
- Sensibilidad Tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida.
- Intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos (350-400) C, temperaturas típicas trabajo.
- Estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales.
- Respuesta semejante para todos los analitos, o respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos. ⁽¹⁵⁾

A la salida de la columna los analitos gaseosos han de ser detectados: Identificación y Cuantificación, Salvo los basados en Espectrometría de masas o acoplamiento con Transformada de Fourier.

Los detectores no identifican la naturaleza del analito saliente, la identificación se lleva a cabo por comparación de los cromatogramas obtenidos con un patrón en las mismas condiciones, algunos tipos de detectores:

- **Detector de ionización de llama** (FID, Flame Ionization Detector): el efluente de la columna se quema en la llama de un quemador. Los compuestos orgánicos al pirolizarse producen iones y electrones. Al aplicar una diferencia de potencial (170 V) entre el extremo del quemador y un electrodo colector se origina una pequeña corriente eléctrica que es convenientemente amplificada. Responde a los compuestos con enlace C-H. Grupos carbonilo, alcohol y halógeno se ionizan poco y dan una señal baja. Los gases incombustibles como el anhídrido carbónico no dan respuesta. Es un detector de elevada sensibilidad y amplio intervalo lineal.
- **Detector de conductividad térmica** (TCD, Thermal Conductivity Detector): es un detector universal y no destructivo, pero poco sensible y no muy estable. El hecho de ser universal, barato y de funcionamiento simple, lo hace extremadamente útil para análisis que no necesitan de alta sensibilidad.
- **Detector de captura de electrones** (ECD, Electrón-Capture Detector): una fuente radiactiva de (^{63}Ni) produce una emisión (electrones de alta energía) que ioniza los gases, como el portador:



Los electrones son atraídos por un ánodo, creando una corriente continua cuando llegan moléculas de analito con electroafinidad, captan electrones, y la intensidad de fondo disminuye. En este

detector se mide la pérdida de señal cuando el analito eluye de la columna.⁽⁹⁾

- Otros detectores minoritarios son el detector fotométrico de llama, empleado en compuestos como pesticidas e hidrocarburos que contengan fósforo o azufre. En este detector se hace pasar el gas eluido por una llama hidrógeno/oxígeno donde parte del fósforo se convierte en una especie HPO, la cual emite a $\lambda = 510\text{nm}$ y $\lambda = 526\text{ nm}$, y simultáneamente el azufre se convierte en S₂, con emisión a $\lambda = 394\text{ nm}$. Dicha radiación emitida se detecta con un fotómetro adecuado. Se han podido detectar otros elementos, como algunos halógenos, nitrógeno, estaño, germanio y otros. En el detector de fotoionización (PID), el gas eluido al final de la columna se somete a una radiación ultravioleta con energías entre 8,3eV y 11,7 eV, correspondiente a una $\lambda = 106\text{-}149\text{nm}$. Mediante la aplicación de un potencial a la celda de ionización se genera una corriente de iones, la cual es amplificada y registrada (ver anexo 1 figura 10). ⁽¹⁵⁾

3.7 PERFILES ANALÍTICOS

Los perfiles analíticos son parámetros que muestran el funcionamiento de un cromatógrafo con un analito a condiciones controladas, estos parámetros son:

3.7.1 Tiempo de retención

El tiempo de retención T_R para cada componente, es el tiempo transcurrido después que se ha inyectado una mezcla en la columna, hasta que llega al detector.

El ajuste del tiempo de retención para el soluto es el tiempo adicional para que el soluto viaje a través del largo de la columna además de la columna adelante del tiempo retenido.

El ajuste del tiempo de retención T'_R para un soluto es la adición del tiempo requerido para que el soluto viaje a través de la columna adelante del tiempo necesario del solvente no retenido.

Ajuste del tiempo de retención:

$$T'_R = T_R - T_m$$

Donde T_m es mínimo de tiempo destinado en que la fase móvil sin retener pasa a través de la columna.

3.7.2 Resolución

Resolución R_S es un término usado para describir cuantitativamente lo bien que se ha logrado la separación de los componentes de una mezcla. Se define como la diferencia de la retención dividida por el promedio del ancho de los picos en la base.

Cuando la resolución es muy baja, la exactitud cuantitativa y cualitativa queda comprometida. En las separaciones preparativas, una resolución inadecuada da como resultado contaminación en el material recogido.

Conforme aumenta la resolución, aumenta la exactitud y disminuya la contaminación. El que trabaja en cromatografía debe de determinar la resolución que es adecuada para el trabajo que se tiene. Para picos de tamaño similar, una resolución de 1.5 es adecuada.

Después de lograr una cierta resolución, si se aumenta la resolución no se tiene más mejoras y, por el contrario, se puede tener gasto de tiempo innecesario.⁽²⁾

La Optimización de Resolución (R_s) se lleva a cabo con la ecuación que define resolución es:

$$R_s = \frac{(T_{R2} - T_{R1})}{\frac{(W_1 + W_2)}{2}}$$

Dónde: Donde T_{R1} y T_{R2} son los tiempos de retención T_{R1} es el tiempo de retención más cercano al tiempo muerto y T_{R2} es más lejano al tiempo muerto de los componentes, y W_1 y W_2 = Anchos de los picos.

Esta fórmula no sugiere cómo controlar la resolución. La ecuación siguiente muestra cómo la resolución se ve afectada por parámetros operacionales. Cada uno de los tres términos de esta ecuación se puede variar para cambiar la resolución.

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'}{k' + 1} \right)$$

Dónde: α Selectividad, k' = factor de retención y N = número de platos. En esta ecuación N y k' se refiere al último pico eluido.

El termino eficacia de la resolución, en la ecuación se refiere al ancho del pico. Para picos con un espaciamiento constante la resolución aumenta al disminuir el ancho del pico.

La eficacia se expresa en términos de número de platos (N), en el número de platos teóricos se calcula del tiempo de retención (T_R) (ver figura 11) y el ancho del pico (W). Picos Anchos equivale a una mala eficiencia y picos angostos es igual a buena eficiencia,⁽²⁾ las fórmulas a utilizar para este cálculo son:

$$N = 16 \left(\frac{T_R}{W} \right)^2 \quad \text{ó} \quad N = 5.545 \left(\frac{T_R}{W_{0.5}} \right)^2$$

Dónde: $W_{0.5}$ se refiere a anchura del pico a la mitad de la altura.

La primera se refiere al cálculo de los platos teóricos utilizando la altura completa de un pico, y la segunda se refiere al cálculo de platos teóricos a media altura. Se usara la segunda puesto que da una mejor precisión en los datos en mediciones manuales.

Factor de capacidad (k') Es la razón entre los tiempos de residencia de la muestra entre la fase estacionaria y la fase móvil, la fórmula utiliza para su cálculo es:

$$K' = \frac{T_R'}{T_0} = \frac{T_R - T_0}{T_0} = \frac{T_R}{T_0} - 1$$

Dónde: T_R' es el tiempo de retención optimizado del pico analizado y T_0 es el tiempo de retención de un compuesto no retenido (tiempo muerto). Generalmente se considera el aire un compuesto no retenido y su tiempo de retención se toma como T_0 .

El término Selectividad (α) se refiere al espaciamiento relativo de los picos. Cuando mayor es la diferencia de retención entre los picos mayor la resolución.

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'}$$

Sustituyendo los valores da como resultado:

$$\alpha = \frac{T_{R2}'}{T_{R1}'}$$

Dónde: T_{R1}' es el tiempo de retención más cercano al tiempo muerto y T_{R2}' es más lejano al tiempo muerto de los componentes.

La separación de 2 compuestos es posible solo si α es mayor de 1

La selectividad muestra las diferencias de afinidad por los solutos en las fases involucradas e indica el potencial de la separación de esos solutos en el sistema pero no mide la separación real.

3.7.3 Control de flujo y su medida

La medida y control del flujo del gas portador es esencial para lograr una buena eficiencia de separación de la columna y para el análisis cualitativo de las mezclas. La eficiencia de una columna depende de la velocidad lineal del gas, al cual se puede determinar

fácilmente cambiando la velocidad de flujo hasta lograr el máximo número de platos (mejor resolución).

Para el análisis cualitativo de mezclas es esencial tener una velocidad de flujo constante y reproducible de forma que los tiempos de retención también sean reproducibles. La comparación de los tiempos de retención es la técnica más rápida y sencilla para la identificación de componentes. Se debe tener en cuenta de que 2 o más compuestos pueden presentar el mismo tiempo de retención, pero ningún componente puede presentar 2 tiempos de retención diferentes en las mismas condiciones instrumentales. Por lo tanto, el tiempo de retención es una característica de cada soluto, pero no único. Obviamente un buen control de flujo es esencial para este método de identificación.

El sistema más común utilizado en la medida de flujo de la fase móvil, está representado por un flujómetro que utiliza burbujas de jabón líquido. Se trata de un tubo calibrado a través del que se permite fluir el gas de arrastre. Se forman burbujas en el jabón con una pera de goma en la parte inferior del tubo y al pasar el gas desde el cromatógrafo arrastra estas burbujas que recorren una distancia (volumen) en un determinado tiempo indicando una determinada velocidad de flujo (mL/min) ver anexo 1, figura 15.

Como alternativas para la medida de la velocidad de flujo, se pueden utilizar sistemas electrónicos basados en sensores de estado sólido.⁽¹⁰⁾

3.7.4 Ecuación de Van Deemter

La primera ecuación cinética que explicaba la influencia de la velocidad de la fase móvil fue propuesta en 1956 por Van Deemter,

quien la desarrollo por columnas empaquetadas en cromatografía de gases.

La forma simplificada de dicha ecuación relaciona H con la velocidad linear media u cm/s de caudal de la fase móvil (gas de arrastre).

La ecuación de Van Deemter puede ser escrita de la siguiente manera:

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

Se comprobó que existe un caudal óptimo para cada columna correspondiente a un mínimo de la curva representativa en la ecuación 1 ver Figura N° 1.

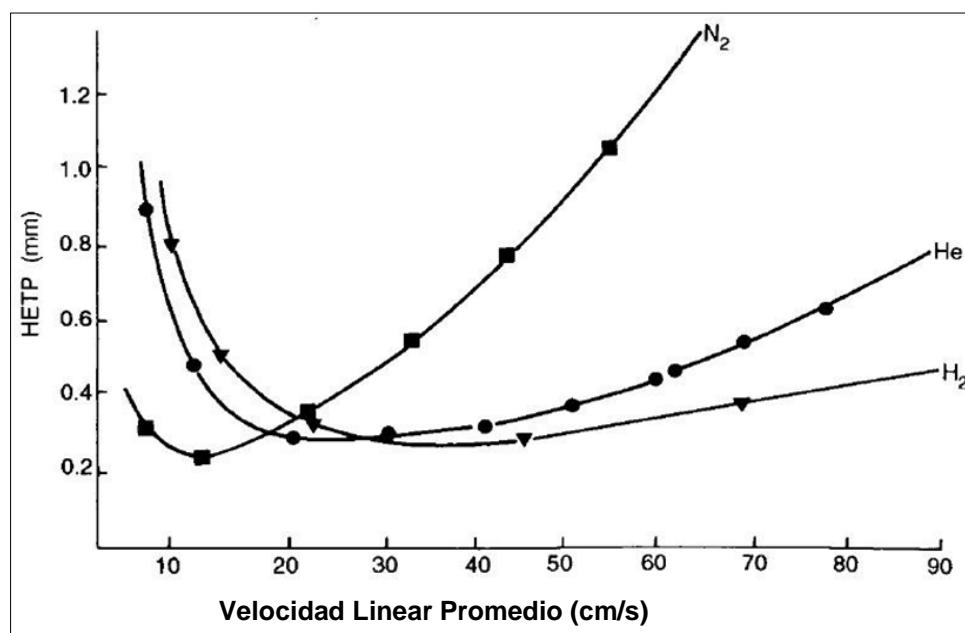


Figura N°1. Perfiles de Van Deemter, comparación de altura efectiva de platos teóricos contra la velocidad linear promedio para H₂, He, y N₂.

Esta disminución de la eficacia a medida que aumenta el caudal se pone de manifiesto cuando se pretende acelerar una separación

cromatográfica, aumentando el caudal de la fase móvil. Sin embargo lo que es menos intuitivo es la pérdida de la eficacia debido a un caudal que es demasiado lento. Para explicar este fenómeno hay que volver al origen de los términos A, B, C y están relacionados con diferentes parámetros fisicoquímicos, con la columna y con las condiciones operatorias. Si se decide expresar H en mm, el término “A” vendrá dado en cm, “B” en cm^2/s y “C” en s (siendo la velocidad en cm/s).

La curva representativa de esta función es una rama de hipérbola que pasa por un mínimo (H_{\min}) para:

$$U = \sqrt{BC}$$

El término A (difusión de eddy) o turbulencia ($A=2\lambda d_p$) es independiente de la velocidad lineal y está asociado a la multitud de caminos diferentes que pueden seguir las moléculas a través de una columna. Esto puede causar ensanchamiento de las bandas ya que partículas que sigan diferentes caminos recorrerán diferentes distancias y saldrán de la columna a tiempos diferentes.

El tamaño de la partícula (diámetro d_p), su distribución dimensional y regularidad de relleno (parámetro λ) son el origen de caminos preferentes que pueden conducir a intercambios imperfectos entre las dos fases. En el factor de difusión de Eddy o difusión turbulenta que es despreciable para las columnas capilares WCOT

El término B o de difusión longitudinal es inversamente proporcional a la velocidad lineal y está asociado al proceso en el cual el soluto se difunde desde una zona de mayor concentración (centro de la banda) hacia una zona de menor concentración delante y atrás de la banda causando un ensanchamiento. Como el proceso de difusión es mayor para gases que para líquidos, este término es

mucho más pronunciado en cromatografía de gases que de líquidos.

El término B que puede expresarse como coeficiente de difusión del analito en la fase móvil (factor de sinuosidad) y se debe de considerar ya que la fase móvil es un gas. La difusión longitudinal en la columna es rápida. Es una consecuencia de la entropía que nos recuerda que un sistema evoluciona espontáneamente hacia un desorden como consecuencia, si el caudal es demasiado débil, los productos en proceso de separación se mezclan de nuevo más rápido de los que puede migrar. Por lo tanto se debe de recordar que nunca se debe de interrumpir una cromatografía en proceso.

El término C es directamente proporcional a la velocidad lineal y está asociado con las transferencias de masa entre las fases móvil y estacionaria.

Al analito le toma cierto tiempo establecer un equilibrio entre las fases estacionaria/móvil; si la velocidad de la fase móvil es alta y el analito tiene una afinidad fuerte por la fase estacionaria, entonces el analito que queda en la fase móvil se adelantará al analito que se encuentra en la fase estacionaria creando un ensanchamiento de la banda. Entre más grande sea la velocidad de la fase móvil, mayor será el ensanchamiento

3.7.5 La eficacia de la columna.

La decisión más importante en la fijación de los parámetros para un análisis por cromatografía gaseosa, es la selección de la mejor columna o fase estacionaria. La otra decisión importante es la selección de la temperatura de la columna, pero se trata de una decisión menos crítica debido a la amplia posibilidad de programaciones que se pueden seleccionar y ensayar.

En la selección de una fase estacionaria se pueden seguir algunos o todos de los siguientes criterios:

- Información previa acerca de la separación requerida: las referencias en la literatura y las notas de aplicación son fuente de este tipo de información. Si se encuentran otras columnas disponibles en el laboratorio, evaluar los resultados al utilizarlas.
- Selectividad: determinar el tipo de interacción potencial entre el compuesto y la fase estacionaria (dispersión dipolar, enlaces de hidrógeno). Si los compuestos tienen diferentes dipolos o pueden formar puentes de hidrógeno, considerar una fase estacionaria selectiva con esas características.
- Polaridad: utilizar la fase estacionaria más no-polar que provea las separaciones requeridas.
- Límites de temperatura: compuestos con altos punto de ebullición o pesos moleculares elevados requieren altas temperaturas de columna para evitar tiempos de retención extremadamente largos. Los límites de temperatura menores para las fases estacionarias polares, restringen su uso a compuestos con bajo o medio punto de ebullición (como aproximación a su volatilidad).
- Actividad de cada compuesto: las columnas con fases estacionarias no polares generalmente son las más inertes. Con fases polares se pueden experimentar "tailings" importantes en los picos o adsorción.
- Tiempo de análisis: algunas fases estacionarias dan separaciones satisfactorias en menos tiempo de corrida.
- Capacidad: Las fases estacionarias similares en polaridad a los compuestos a separar, tienen mayor capacidad para esos compuestos.

- Sangrado: En general, las fases estacionarias no polares tienen menos sangrado. Compuestos con elevados punto de ebullición o peso molecular eluyen en zonas de alta temperatura donde el sangrado de la columna es más severo. Fases estacionarias no polares no sólo tienen menos sangrado, sino que además el máximo de sangrado ocurre a mayores temperaturas.
- Detectores selectivos: Se deben evitar las fases estacionarias que contengan especies o grupos funcionales que generen una fuerte respuesta a un detector selectivo (ej. cianopropil con un detector termoiónico). En este caso usualmente ocurren derivas extremas de la línea de base y elevado ruido.
- Versatilidad: Para análisis múltiples, se pueden requerir diferentes fases estacionarias para obtener una óptima separación. En algunos casos, diferentes análisis pueden ser realizados con una sola fase estacionaria sacrificando calidad en la respuesta y obteniendo resultados aceptables. Esta práctica reduce el número de columnas necesarias, lo que reduce la complejidad de su manejo y el costo.⁽¹⁰⁾

3.7.6 Eficacia teórica (número de platos teóricos)

A medida que el soluto migra en la columna, ocupa una zona al ensancharse. Esta dispersión lineal G_L , representada por la varianza G_L^2 , aumenta con la distancia recorrida. Cuando esta distancia vale L , longitud de la columna, se plantea:

$$GL^2 = H.L$$

Al recorrer el modelo de la teoría de platos, este enfoque conduce al valor de altura equivalente a un plato teórico H y una cantidad N de platos teóricos.

Entonces para todo cromatograma a partir de un pico de elución de un compuesto, del que se podrá medir la varianza temporal G^2 , se podrá calcular para el compuesto en cuestión la eficacia teórica N y deducir el valor de H sabiendo que

$$H = \frac{L}{N}$$

$$N = \frac{L^2}{GL^2}, N = \frac{T_R^2}{G^2}, N = 16 \left(\frac{T_R}{W} \right)^2 \text{ O } N = 5.545 \left(\frac{T_R}{W_{0.5}} \right)^2$$

En el cromatograma, G representa la medida de anchura del pico 60,6% de una altura y T_R el tiempo de retención del compuesto; G y T_R deben medirse en las mismas unidades (tiempo transcurrido, distancias o volumen eludido si el caudal es constante. ⁽⁶⁾)

3.7.7 Programación de temperatura

La columna se encuentra termostalizada de modo de obtener una buena separación en un tiempo razonable. Por lo tanto se hace necesario mantener la columna en un amplio rango de temperaturas diferentes, desde temperatura ambiente hasta la temperatura límite de la columna si fuese necesario. El control de la temperatura de la columna es una de las formas más sencillas y más efectivas de influenciar la separación de los componentes. La columna se fija entre un inyector mantenido a una temperatura de inyección, y un detector mantenido a una temperatura también predeterminada. Por lo tanto, se debe definir la temperatura a la que cada uno de los componentes opera:

- **Temperatura del inyector:** la temperatura del inyector debe ser suficientemente alta como para vaporizar la muestra en forma rápida, pero lo suficientemente baja como evitar su descomposición térmica o re arreglos químicos.

La determinación de los valores óptimos se logra mediante práctica y experiencia.

- **Temperatura de la columna:** la temperatura en la columna afecta en mucho la retención. Si la columna está demasiado caliente, los picos se juntan al principio del cromatograma y quedan mal resueltos. Si la columna está demasiado fría, algunos componentes podrían eluir en tiempo demasiados largos. Para que los tiempos de retención sean reproducibles, la temperatura del horno debe mantenerse dentro de más o menos 0.1 grado centígrados o menos.⁽⁶⁾

Las técnicas utilizadas implican el uso de sistemas isotérmicos (donde la temperatura de la columna se mantiene constante) o de temperatura programada (PTGC), donde la columna se somete a un incremento lineal de la temperatura con el tiempo.

- **Temperatura del detector:** la temperatura del detector depende fundamentalmente del tipo de detector empleado. Sin embargo, como regla general la temperatura del detector y la de su conexión a la salida de la columna, deben ser suficientemente altas como para evitar la condensación de la muestra. Si la temperatura es muy baja y ocurre condensación, se producirá ensanchamiento de los picos o la ausencia total de los mismos.

En el caso del detector de ionización de llama, una temperatura mínima razonable es de 250°C.

3.7.8 Procesamiento de datos

El procesamiento de datos en cromatografía incluye tres objetivos:

- Colectar y procesar la señal proveniente del detector de modo de producir un cromatograma y la información correspondiente como área de los picos, tiempos de retención y ancho de picos.
- Colectar y analizar los datos de modo de obtener información cualitativa, cuantificar y generar los reportes correspondientes.
- Optimizar los parámetros cromatográficos.

Los datos obtenidos pueden ser procesados mediante un sistema que incluya un registrador e integrador sin ninguna o muy poca capacidad de procesamiento, o a través de sistemas computarizados que incluyen un procesamiento posterior más sofisticado y completo mediante el empleo de un software apropiado.

En este caso del cromatógrafo de gases Perkin Elmer AutoSystem XL de CENSALUD cuenta con el software necesario para realizar los respectivos datos.

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

- **Transversal:** Se cuantifico la presión de los gases helio, hidrogeno y oxigeno del cromatógrafo de gases así como se determino los tiempos de retenciones, resolución, números de platos teóricos de la muestra (Etanol, Metanol, Butanol), en un tiempo determinado, interesando estudiar el problema en ese momento.
- **Prospectivo:** Es un estudio longitudinal en el tiempo que se diseña y comienza a realizarse en el presente determinando lo tiempos de retenciones, resolución, numero de platos teóricos de la muestra (Etanol, Metanol, Butanol) pero los datos se analizaron transcurrido un determinado tiempo, en el futuro al estar comparando los datos y seleccionado el mejor perfil analítico.
- **Experimental:** La muestra de alcoholes se prepara y se analizará en el laboratorio de CENSALUD y se experimentará hasta obtener resultados conformes.
- Además será un trabajo comparativo y concluyente porque los resultados obtenidos con los diferentes valores de presión y split, serán comparados escogiendo los datos que presenten un mejor desempeño en la separación y resolución, con las diferencias surgidas entre los datos se desarrollarán las conclusiones respectivas escogiéndose los que muestren mejor desempeños tanto en separación como en resolución.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Se realizó a través de un enfoque teórico, fundamentado en investigaciones bibliográficas, lo cual permitió consultar una serie de registros gráficos como: libros, trabajos de investigación, revistas, trabajos de internet; con la finalidad de sustentar teóricamente la investigación.

La investigación bibliográfica se realizó a través de consultas en las siguientes bibliotecas:

- Biblioteca Doctor Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador
- Biblioteca Central Universidad de El Salvador.
- Universidad Centroamericana José Simeón Cañas.
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Para lograr una adecuación del cromatógrafo de gases se necesitó conocer las condiciones y herramientas del equipo con el que cuenta el Laboratorio Físico Químico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), así como información necesaria para el funcionamiento óptimo del equipo contándose con el material bibliográfico del curso que fue impartido en las instalaciones del laboratorio de CENSALUD sobre “Cromatografía de Gases y análisis de Grasas Trans Censalud 2008” impartido por la Universidad de Costa Rica⁽²⁾, Manual del equipo de Marca Perkin Elmer modelo AutoSystem xl (ver anexo N°4), información bibliográfica consultada en internet “Determinación de la velocidad lineal y flujo óptimo de una columna cromatográfica empleando la curva de Van Deemter” ⁽⁷⁾ y se recibió una capacitación del uso general del equipo impartida por CORESA, representante de la marca Perkin Elmer en el país.

Universo: Cromatógrafo de gases de diferentes proveedores.

Muestra: Dirigida puntual al Cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer AutoSystem XL ubicado en el Laboratorio de de Análisis Físico Químico del Centro de Investigación en Salud (CENSALUD).

Se realizó un patrón de trabajo mezclando tres alcoholes de pureza cromatográfica (Metanol, Etanol y Butanol), para la calibración del flujo de gas y para la obtención de los parámetros analíticos.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

4.4.1 Revisión del funcionamiento del equipo ⁽⁸⁾.

Para determinar el buen funcionamiento del equipo se prosiguió de la siguiente manera:

- Se evaluaron posibles fugas de gases, para esto se agregó gotas de aceite a las uniones del sistema de control de flujo.
- Determino con el flujometro la presión del gas hidrogeno y aire la corroborar la ausencia de escapes.
- Con el sistema de flujo revisado se procedió a instalar la columna de marca Perkin Elmer de 15 metros de longitud por 0.25 milímetros de diámetro (Ver anexos 6).
- Se acondiciono la columna a una temperatura de 150 grados Centígrados durante un tiempo de 4 horas, para evitar que impurezas de la columna afecten los resultados obtenidos al final del proceso.
- Con la columna ya acondicionada se realizaron corridas por separado de los solventes de pureza cromatográficos: Metanol, Etanol y Butanol observando la retención de estos.

Al revisar lo anterior se puede continuar la preparación de la muestra (ver anexo 3).

4.4.2 Procedimiento para el análisis de muestra.^(1,7)

Para obtener cromatogramas uniformes y poder compararlos se equilibró el sistema agregando las condiciones de operación que se detallan a continuación permitiendo que el sistema alcance el equilibrio. Para mejores resultados se mantuvo el nivel del ruido al mínimo, con una línea base estable.

Cuadro N° 1 Información de las condiciones de operación del equipo de análisis.

Equipo	Perkin Elmer AutoSystem XL
Volumen de inyección	0.1 micrólitros
Temperatura de inyección	150°C
Temperatura del horno	Rampa de temperatura de 70 a 120 C
Temperatura del detector	70°C
Tiempo de corrida	10-20 minutos aproximadamente
Presión de gas de arrastre	1.5-3.5 según la corrida
Split	2.5
Detector	Detector Ionizador de llama
Gas usado	Helio
Columna usada	Perkin Elmer Elite 1 de 15 metros de longitud por 0.25 milímetros de diámetro.

Con las condiciones establecidas en el cuadro N° 1 se efectuaron las corridas en el cromatógrafo de gases cambiando la presión de gas de arrastre y el tiempo de corrida.

Para analizar la muestra se prosiguió de la siguiente manera.

- Se agregó 0.1 mL de solución jabonosa al medidor de flujo de burbuja.

- Se midió la presión de gas inicial.
- Con la presión inicial en la computadora del cromatógrafo de gases se configuro los valores del método.(ver anexo 1)
- Se inyectoro 0.1 mL la muestra.
- Se realizó la primera corrida con la muestra (Metanol, Etanol y Butanol) con los valores del método establecidos.
- Hacer corridas a 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 psi.
- A los cromatogramas obtenidos se le determino el tiempo del compuesto no retenido (T_0), el tiempo de retención de cada compuesto (T_R) y la altura de pico.
- Con los datos obtenidos se determino el tiempo de retención optimizado (T_R'), anchura media ($W_{0.5}$), números de platos teóricos (N), factor de capacidad (K'), selectividad (α), resolución (RS) y el valor equivalente de platos teóricos (H).
- Con los valores obtenidos se hizo la gráfica de Van Deemter para determinar el flujo óptimo de trabajo.
- Con el valor obtenido se realizaron nuevas corridas cambiando el valor del Split hasta obtener el mejor resultado.

4.4.3 Determinación del tiempo de retención optimizado T_R'

A los cromatogramas obtenidos se les determino el tiempo de retención del compuesto no retenido (T_0), midiendo desde el tiempo cero hasta la mitad del pico. (Ver figura N°2)

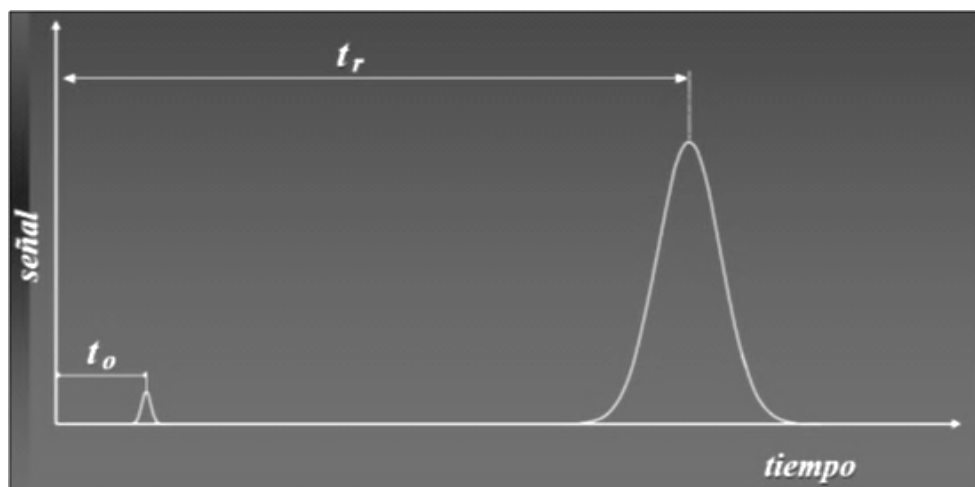


Figura N° 2: Ejemplo de tiempo de retención en un cromatograma

Se midió el tiempo de retención optimizado (T_R') midiendo desde el tiempo no retenido (T_0), hasta la mitad del pico a analizar. (Ver figura N°3).

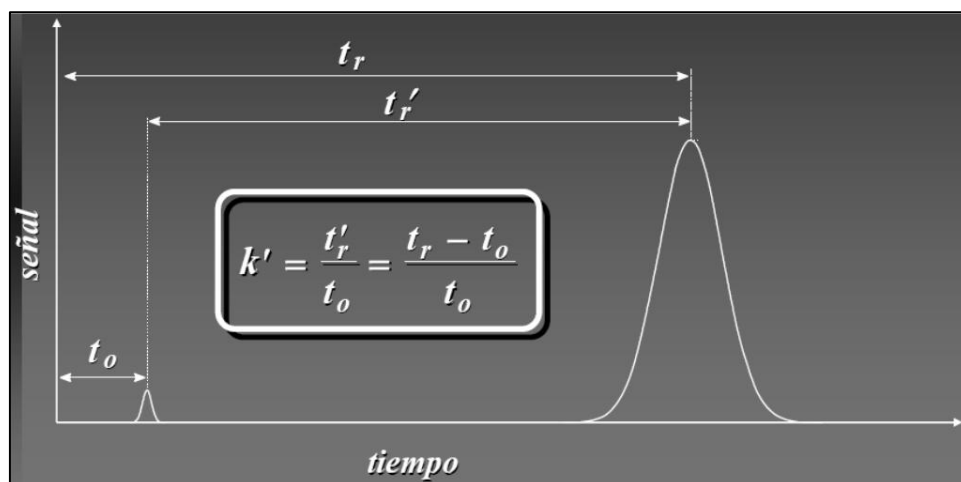


Figura N° 3: Formula del factor de capacidad de un analito eluido aplicada a un cromatograma.

4.4.4 Determinación de número de platos teóricos (N)

Se mide la altura del último pico y a la mitad del pico se mide el ancho. (Ver figura n°4). Al valor obtenido se le nombrará anchura media ($W_{0.5}$).

Con los valores de $W_{0.5}$ y el T_R' del último pico se aplican a la siguiente Fórmula.

$$N = 5.545 \left(\frac{T_R'}{W_{0.5}} \right)^2$$

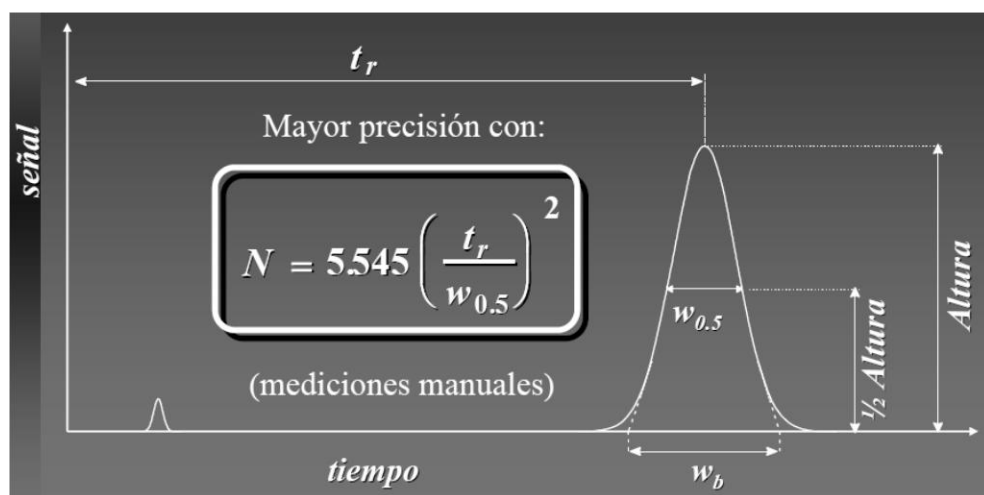


Figura N° 4: Formula de N con a la mitad de la altura ($W_{0.5}$)

4.4.5 Determinación de factor de capacidad (K')

Con los datos obtenidos se determinó el factor de capacidad aplicando la siguiente formula.

$$K' = \frac{T_R'}{T_0}$$

4.4.6 Determinación de selectividad (α)

Se determinó la selectividad (α) a dos picos cercanos, de la siguiente forma:

$$\alpha = \frac{K'2}{K'1}$$

Donde: $K'1$ se refiere al factor de capacidad del pico número 1 seleccionado del cromatograma y obtenido en el menor tiempo de retención y $K'2$ al del pico número 2 seleccionado del cromatograma obtenido en un mayor tiempo de retención. (Ver figura n°5)

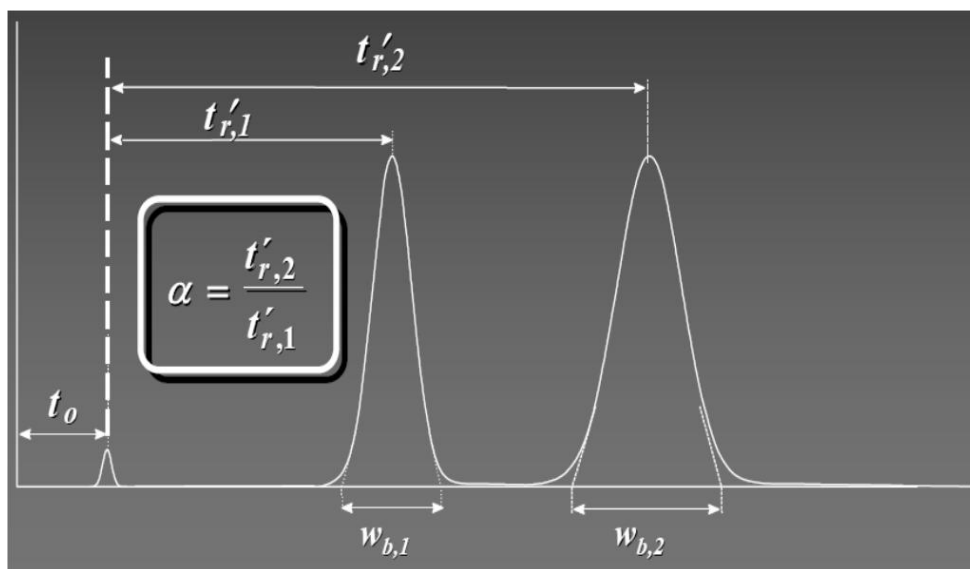


Figura N° 5: Formula de selectividad aplicada a un cromatograma.

4.4.7 Determinación de Resolución (RS)

Con los valores obtenidos anteriormente se aplicó a la siguiente formula:

$$R_s = \frac{1}{4} \cdot \sqrt{N} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{K'}{K'+1} \right)$$

4.4.7 Tabulación de datos y resultados.

Para obtener estos datos se analizaron los cromatogramas determinando los puntos de retención y altura media a las diferentes presiones (1.5, 1.8, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5).

Con los datos obtenidos anteriormente se continuo a aplicar las diferentes formulas descritas en los literales anteriores.

Se utilizaron cuadros comparativos en donde las presiones con sus respectivos resultados van de menos a mayor presión, de esta manera se facilito determinar cuáles eran las presiones con los mejores resultados y se escogieron los que presentaban un mejor desempeño.

Para escoger el mejor perfil analítico, los resultados mencionados anteriormente se compararon con la presión obtenida con la grafica de Van Deemter buscando que los resultados sean similares entre ellos.

CAPITULO V

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Se tomó como punto de partida el método AOAC 9.092 “Metanol en licores destilados método por cromatografía de gases” (Ver anexo N° 2).

Posteriormente se uso el documento “Determinación de la velocidad lineal y flujo óptimo de una columna cromatográfica empleando la curva de Van Deemter⁽⁷⁾ para la determinación del flujo óptimo del equipo cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer AutoSystem XL.

5.1 Con respecto a la realización de una adecuación de las condiciones del cromatógrafo de gases para lograr un óptimo rendimiento en el cromatograma.

Al revisar el estado general del equipo no se encontraron problemas y no se encontró ninguna fuga de gases en las uniones del control del flujo, corroborándose al medir el flujo de gas de hidrogeno y el del aire dando como resultado flujo gas Hidrogeno 476 centímetros por minuto y oxigeno 464 centímetros por minutos.

Luego de haber instalado y adecuado la columna con el nuevo software se hizo una prueba haciendo una corrida para ver si el equipo no mostraba ningún problema o error de lectura, y se encontró sin problema en la lectura y en el funcionamiento general del equipo, con todo lo anterior mencionado podemos proseguir con el siguiente objetivo.

5.2 Con respecto a la realización de ensayos por medio de corridas de solventes de referencias (Metanol, Etanol y Butanol) para determinar los números efectivos de platos teóricos, la velocidad lineal del gas de arrastre, la selectividad y resolución de los analítos.

Fue necesario realizar corridas por separado de los solventes de pureza cromatográfica(Metanol, Etanol y Butanol) para observar si había

retención de los compuestos (ver anexo N° 5 figuras N° 24, 25 y 26) y poder iniciar con la mezcla.

Con la mezcla se encontró el problema que no se lograba separar los compuestos con ninguna de las presiones mencionadas en el cuadro N° 1, tampoco se logro separarlo al cambiar el split ni cambiando nuevas rampas de temperaturas(ver anexo N° 5 figura N° 27).

Para poder solucionar este problema se cambio la columna y se adecuo de la misma forma que la anterior, obteniéndose resultados positivos con la nueva columna, logrando separar los compuestos con todas las presiones mencionadas el cuadro N° 2

Al hacer varios ensayos con parámetros controlados facilito poder cumplir con los objetivos esperados.

Con los mejores cromatogramas (ver anexo 5 figuras N° 28 a la 33) se prosiguió a leer los tiempos de retención (T_R) y altura (H) de picos obteniendo los resultados que se muestran en la tabla a continuación.

Cuadro N° 2 Tiempos de retención a diferentes presiones.

Presión (psi)	T_0 (min)	$T_{R \text{ Etanol}}$ (min)	$T_{R \text{ Metanol}}$ (min)	$T_{R \text{ Butanol}}$ (min)
1.5	3.45	5.20	5.31	5.35
1.8	1.13	4.35	4.41	4.45
2.0	0.54	1.89	1.90	2.09
2.5	0.37	2.98	3.05	3.23
3.0	0.22	2.49	2.52	2.62
3.5	0.11	2.17	2.20	2.23

En el Cuadro N°2, se muestran los tiempo de retención de la mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a diferentes presiones, observando un menor tiempo de retención a una presión de 2 psi.

Cuadro N° 3 Altura de picos a diferentes presiones

Presión (psi)	H _{Etanol} (mm)	H _{Metanol} (mm)	H _{Butanol} (mm)
1.5	42359,65	34376,45	7263,02
1,8	18534,46	21077,09	23086,10
2,0	169134,79	255408,87	83404,43
2,5	49878,78	32545,55	20651,38
3,0	137277,26	93782,44	48733,46
3,5	82883,01	193649,91	56767,71

En el Cuadro N° 3, se muestran los datos experimentales obtenidos de la mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a diferentes presiones, observando la formación de una mayor altura del pico con una presión de 2 psi y formando una menor altura del pico a una presión de 2.5 psi, sin embargo se observa una mejor separación y definición de picos con 2,5 psi. (ver anexos 5 figura N° 31)

Tiempo de retención optimizado (TR') y ancho medio de picos.

El tiempo de retención optimizado se mide por medio de la determinación del tiempo que el componente en estudio permanece en la fase estacionaria a diferentes presiones. Por ejemplo el tiempo de retención optimizado a la presión 1.5 psi de la mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) se obtiene de la siguiente manera.

Tiempo de compuesto no retenido (T_0): 3,45 min.

Tiempo de retención Etanol (T_R): 5,31 min.

Tiempo de retención Butanol (T_R): 5,35 min.

Tiempo de retención optimizado

$$T_R' = T_{R \text{ Etanol}} - T_{R \text{ del compuesto no retenido.}}$$

$$T_R'(\text{Etanol}) = (5.20 - 3.45) \text{ min} = 1.86 \text{ min.}$$

$$T_R'(\text{Butanol}) = (5.20 - 3.45) \text{ min} = 1.90 \text{ min.}$$

Los resultados obtenidos se observan en la tabla N° 4

Cuadro N° 4. Información del Tiempo de retención óptimo y ancho medio.

Presión (psi)	TR´	TR´	TR´	W _{0.5}	W _{0.5}	W _{0.5}
	Etanol (min)	Metanol (min)	Butanol (min)	Etanol (mm)	Metanol (mm)	Butanol (mm)
1.5	1,86	1,75	1,9	0,10	0,10	1,3
1.8	2,26	2,25	2,32	0,01	0,01	0,01
2.0	1,36	1,35	1,55	0,20	0,20	0,10
2.5	2,68	2,98	2,87	0,01	0,01	0,01
3.0	2,3	2,23	2,4	0,10	0,10	0,10
3.5	2,09	2,06	2,12	0,10	0,10	0,10

En el Cuadro N° 4 muestra los tiempos de retención optimizados y el ancho a mitad de altura obtenidos de la mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a diferentes presiones, observa una mejor separación de los analítos a las presiones de 1.8 psi, 2.5 psi y 3.0 psi de los picos a las presiones de 1.8 psi y 2.5 psi presentan un ancho más definidos y angosto.

Número de platos teóricos y Factor de capacidad.

Con el fin de encontrar si la columna es eficaz o no para la separación de los compuestos se determinó el número de platos teóricos.

Por ejemplo el número de platos teóricos (N) para mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a 1.5 psi se obtiene de la siguiente manera, con los datos:

$$T'_{REtanol}: 1,86 \text{ min.}$$

$$T'_{RButanol}: 1,90 \text{ min.}$$

$$\text{Ancho medio de Metanol } (W_{0.5}): 0.1 \text{ mm}$$

$$\text{Ancho medio de Butanol } (W_{0.5}): 1.30 \text{ mm}$$

$$N(\text{Etanol}): N=5.545 \left(\frac{T'_R}{W_{0.5}} \right)^2 = 5.545 \left(\frac{1.86 \text{ min}}{0.10 \text{ mm}} \right)^2 = 5.545(18.6)^2$$

$$= 1918,3482.$$

$$N(\text{Butanol}): 5.545 \left(\frac{1.9 \text{ min}}{1.4 \text{ mm}} \right)^2 = 5.545(0.12)^2 = 11,844.$$

Cuadro N° 5 Número de platos teóricos obtenida a diferentes presiones.

Presión (psi)	N _{Etanol}	N _{Metanol}	N _{Butanol}
1.5	1918,3482	1698,1562	11,8446
1.8	2832,1642	2797,1841	2979,3973
2.0	1024,0955	1007,5842	1337,3481
2.5	3970,7612	3774,4155	4526,0780
3.0	2940,9621	2864,8403	3188,5990
3.5	2419,7942	2348,5093	2482,7493

En el Cuadro N° 5, muestra el número de platos teóricos de Etanol, Metanol y el Butanol a diferentes presiones, observando un mayor número de platos teóricos en las presiones de 1.8 psi y 2.5 psi que determina una mejor eficacia de la columna que las demás presiones expuestas en tabla anterior.

El factor de capacidad o retención K' es la cantidad más importante de cromatografía en la columna, ya que relaciona el equilibrio de distribución de la muestra dentro de la columna con las propiedades termodinámicas y la temperatura.

Para determinar el Factor de capacidad (k') de una mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a 1.5 psi se realiza aplicando cálculos de la siguiente manera.

Datos:

T_0 : 3.45 min.

$T'_{R \text{ Etanol}}$: 1.86 min.

$T'_{R \text{ Butanol}}$: 1.90 min.

El Factor de capacidad k' de cada analito es:

$$k'_{\text{Etanol}} = \frac{T'_{R \text{ Etanol}}}{T_0} = \frac{1.86}{3.45} = 0.36538$$

$$k'_{\text{Butanol}} = \frac{T'_{R \text{ Butanol}}}{T_0} = \frac{1.90}{3.45} = 0.36538$$

Los resultados se pueden observar en siguiente tabla.

Cuadro N° 6. Factor de capacidad (k') para Etanol, Metanol y Butanol.

Presión (psi)	K'_{Etanol}	K'_{Metanol}	K'_{Butanol}
1.5	0,357692308	0,336538462	0,365384615
1.8	0,669034932	0,664890468	0,686204855
2.0	0,719809322	0,713983051	0,822563559
2.5	0,898288016	0,875797247	0,959046660
3.0	0,923786602	0,911752908	0,961893301
3.5	0,963560886	0,949261993	0,997865432

En el cuadro N° 6 se observa que el resultado es el esperado puesto que a medida que aumenta la presión la distribución en la columna va mejorando

Selectividad y Resolución.

La selectividad ayuda a determinar si hubo o no separación de una sustancias. Por ejemplo para determinar la selectividad (α) de una mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a 1.5 psi se realiza aplicando cálculos de la siguiente manera.

$$K'_{\text{Etanol}} = 0.357692308.$$

$$K'_{\text{Metanol}} = 0.336538462.$$

Selectividad

$$\alpha_{\text{Etanol, Metanol}} = \frac{K'2}{K'1} = \frac{0.357692308}{0.336538462} = 1.062857143.$$

Los resultados se pueden ser observados en la tabla N° 7

La resolución es el parámetro que expresa el grado de separación que se puede obtener en un sistema cromatográfico para dos componentes dados. Por ejemplo para obtener una resolución (R_s) de una mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a 1.5 psi. Se obtuvo de la siguiente forma con los datos:

$$\begin{aligned} N_{\text{Etanol}} &= 1918,3482 \\ N_{\text{Metanol}} &= 1698,15625. \\ K'_{\text{Etanol}} &= 0.357692308. \\ K'_{\text{Metanol}} &= 0.336538462. \\ \alpha_{\text{Etanol, Metanol}} &= 1.062857143. \end{aligned}$$

Resolución para el Etanol:

$$\begin{aligned} R_s &= \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha_1}{\alpha} \right) \left(\frac{K'}{K'+1} \right) \\ R_s &= \frac{1}{4} \sqrt{1918,3482} \left(\frac{1.06285743_1}{1.062857143} \right) \left(\frac{0.357692308}{0.357692308+1} \right) \\ &= \left(\frac{1}{4} \right) 43.7989(0.0591400)(0.263456) = \mathbf{0.170604983} \end{aligned}$$

Resolución para el Metanol:

$$\begin{aligned} R_s &= \frac{1}{4} \cdot \sqrt{11,844645} \cdot \left(\frac{1.06285743_1}{1.062857143} \right) \cdot \left(\frac{0.336538462}{0.336538462+1} \right) \\ &= \mathbf{0.153412878} \end{aligned}$$

Los resultados se pueden observar en el cuadro N° 7.

Cuadro N° 7. Valores de selectividad, resolución y altura equivalente a un plato teórico.

Presión (Psi)	Selectividad	R_S Etanol	R_S Metanol	R_S Butanol
1.5	1,062857143	0,170604983	0,153412878	0,004847331
1.8	1,006233304	0,033037120	0,032710303	0,138951177
2.0	1,008160237	0,027103204	0,026756868	0,515441399
2.5	1,025680337	0,186646172	0,179544141	0,521632108
3.0	1,013198416	0,084806043	0,083130986	0,274199024
3.5	1,015063168	0,089554470	0,087553858	0,151093246

El cuadro N° 7, muestra los valores de selectividad y resolución a diferentes presiones, en la cual los valores de selectividad son mayor de uno, por lo que se considera que se ha realizado la separación de los compuestos, otro factor en medición es la resolución y se observa que hay una mejor resolución en la presión de 2,5 psi para todos los compuestos.

Grafica de Van Deemter

Con la gráfica de Van Deemter se encuentra el rango de la presión de gas óptimo graficando la presión de gas contra la altura efectiva de un plato teórico (H_{ef}). Si La altura del plato teórico tiene un valor pequeño, la distancia entre los platos es menor y por tanto la eficiencia será mayor. Por el contrario, si la altura del plato teórico tiene un valor mayor, la distancia entre platos es mayor por lo que la eficiencia será menor para separar los componentes ya que sus moléculas estarán bastante dispersas. Por ejemplo para determinar el valor de la altura equivalente del plato teórico (H) de una mezcla (Etanol, Metanol y Butanol) a 1.5 psi. Se obtiene de la siguiente forma.

Numero de platos teóricos de etanol (N_{Etanol}): 0.781922698.

Longitud de la columna (L): 15000 mm.

$$H = \frac{L}{N} = \frac{15000 \text{ mm}}{1918,3482} = 0.78192 \text{ mm}$$

Para determinar la velocidad del gas portador (v) se midió el flujo de gas (F) a las presiones ya mencionadas anteriormente y los resultados se aplican a la siguiente formula:

$$V(\text{cm/s}) = \frac{F}{60\pi r^2}$$

Donde

F es el flujo de burbuja

r es el radio de la columna

Ejemplo para la Velocidad lineal del gas portador (V) de la muestra (Etanol, Metanol y Butanol) a 1.5 psi.

$F=114,2754 \text{ cm/min}$.

Radio de la columna(r)= 0.25

$$V = \frac{F}{60\pi r^2} = \frac{114,2754 \text{ cm/seg}}{(60)(3.1416)(0.25)^2} = 9.7 \text{ cm/min}$$

Nº 8 Alturas equivalentes a un plato teórico obtenidas a presiones

Presión (Psi)	Flujo de burbuja cm/min	Flujo de fase móvil cm/min	Altura de plato teórico mm
1.5	114,2754	9.7	7.819
1.8	169,6460	14.4	5.296
2.0	146,0841	12.4	4.647
2.3	215,5918	18.3	4.127
2.5	241,5099	20.5	3.778
3.0	314,5520	26.7	5.100
3.5	356,9635	30.3	6.199

En el Cuadro N° 8 se observa que la presión es directamente proporcional a la velocidad lineal a excepción de 2.0 psi por lo tanto no se graficó a esa presión ya que se sale de los parámetros normales del gráfico y se hizo una nueva corrida a 2.3 psi, dando como resultado la siguiente figura:

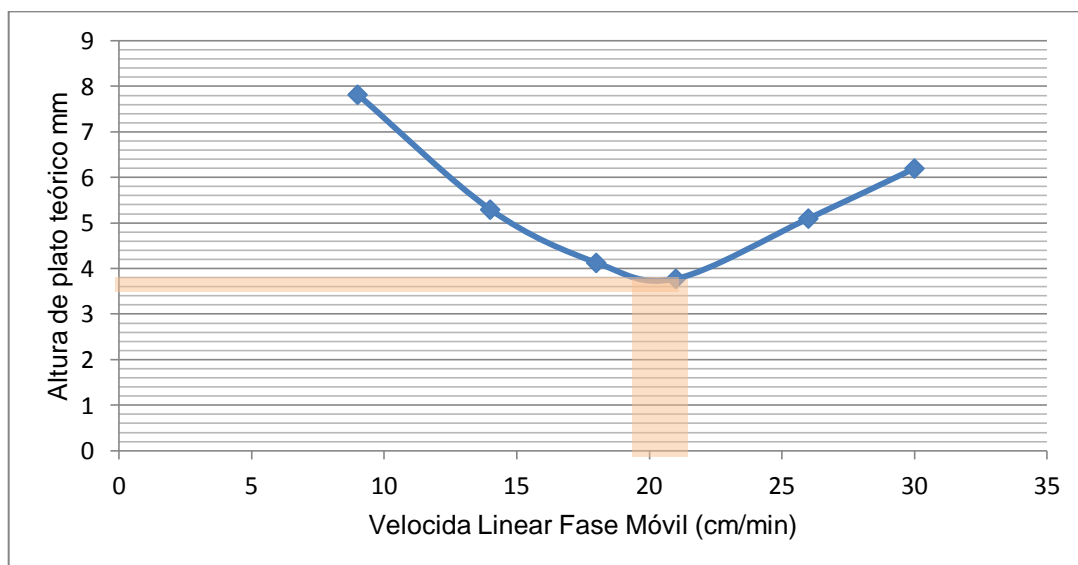


Fig. N° 6 Grafica de Van Deemter para el Etanol.

En la figura N° 6, se observa, la máxima eficiencia (menor valor de altura equivalente de platos teóricos (H) y mayor valor de platos teóricos (N)) para la separación del metanol, en las condiciones experimentales descritas, se alcanza a valores de flujo de fase móvil de 20.5 cm/seg que corresponde a una presión de 2.5 psi, además como se puede observar en la figura N° 1 la grafica presenta similar comportamiento por lo tanto los resultados son confiables. (4,5,8).

5.2 Con respecto a la identificación de problemas en la resolución de los cromatogramas para obtener un óptimo rendimiento, modificando parámetros como, Split y Flujo, se tomó los cromatogramas que presentaban picos más grandes y definidos, los cuales fueron los

encontrados a la presión de 2,5 psi, 1,8 psi y 3.5 psi (ver anexo N° 5 figuras N° 29, 31 y 33).

El principal problema encontrado fue debido a que el metanol y el etanol presentaban punto de ebullición muy cercanos (etanol 78°C, metanol 65°C) generando el problema en la resolución ya que los picos aparecían muy cercanos entre ellos, para solucionar esto se hicieron 5 corridas con la presión obtenida en la grafica de Van Deemter, haciendo cambios al split (30, 20, 15, 10 y 5 mL/min) y manteniendo constante los parámetros de volumen de inyección, temperatura de inyección y temperatura de horno, para poder observar si había mejora en la resolución del cromatograma y así poder determinar cuál es la cantidad optima de spit para la muestra usada, logrando con esto mejorar la resolución de los picos obtenidos, el sistema de operación se detalla en el cuadro siguiente:

Cuadro N° 9 Condiciones de operación del equipo para el análisis de la mezcla (Etanol, Metanol, Butanol).

EQUIPO	Perkin Elmer AutoSystem XL
Volumen de inyección	0.1 micrólitos
Temperatura de inyección.	150 °C
Temperatura del horno.	Rampa de temperatura de 70 a 120 °C
Temperatura del detector.	70 °C
Tiempo de corrida.	10-20 minutos aproximadamente
Presión de gas de arrastre.	2.5 según la corrida
Split	30, 20, 15, 10 y 5 mL/min
Detector	Detector Ionizador de llama
Gas usado	Helio
Columna usada	Perkin Elmer Elite 1 de 15 metros de longitud por 0.25 milímetros de diámetro.

Al variar el Split manteniendo los demás parámetros constantes los resultados fueron los siguientes:

- Con el Split de 30mL/min el cromatograma solo mostro 1 pico por lo cual no hubo separación del Metanol. Ver anexo 5 N° 35.
- Con los Split de 20mL/min y 15mL/min, no hubo reconocimiento de la mezcla, porque que se apagaba el detector.
- Con Split de 10 mL/min si hubo separación sin embargo no se definieron los picos del Etanol y Metanol, además se apagó el detector en la corrida. Ver anexo N° 5 figura N° 34.
- Con el Split de 5 mL/min solo reconoció el Metanol y luego se apagó el detector, Ver anexo N° 5 figura N° 34

Se comprobó que no hubo mejoras al cambiar el Split, por lo tanto se mantendrá el que trae especificado el equipo que es de 25 mL/min (2, 7).

5.3 Con respecto a la selección del mejor perfil analítico en los ensayos de pruebas, para poder determinar el mejor perfil analítico se hizo una comparación en los cromatogramas presentando una mejor separación a 1.8 psi y 2.5 psi (ver anexo N° 5 figuras N° 29 y 31), similar resultado lo podemos observar con el número de platos teóricos (ver cuadro N° 5) donde se observo que los mejores datos se obtenían a 1.8 psi y 2.5 psi, sin embargo a 2 psi y 3 psi presentaron una mejor altura de picos.

Con una presión de 3.5 se logro una mejor definición de los picos (ver anexo N° 5 figuras N° 33) pero los picos presentaron demasiada cercanía entre ellos, afectando la resolución y selectividad de la columna.

Con la gráfica de Van Deemter se determinó que la mejor presión de trabajo para el equipo es de 2.5 psi ya que presenta la menor altura equivalente a un plato teórico, este resultado se confirma en la separación de compuestos, resolución y en el número de platos teóricos ya que con 2.5 psi se presentó mayor resultado que con los otros valores de presión (ver cuadro N° 4 y 5), sin embargo se logro una mejor definición de picos a

una presión de 3.5 factor que se debe tomar en cuando se valide el método, pero debido a lo descrito anteriormente se mantendrá 2.5 Psi como presión óptima.

Con respecto al Split como se explicó anteriormente, se debe de mantener el que recomienda el fabricante del equipo 25 mL/min ya que es el que presenta los mejores resultados y no da problemas durante la corrida.

Por lo tanto el mejor perfil Analítico es el obtenido utilizando las condiciones del cuadro N° 10.

Cuadro N° 10 Condiciones óptimas con mejores resultados para la muestra utilizada.

Volumen de inyección	0.1 microlitros
Temperatura de inyección	150° C
Temperatura del horno	Rampa de temperatura de 70 a 120°C
Temperatura del detector	70 °C
Tiempo de corrida	15 minutos
Presión de gas de arrastre	2,5 Psi
Split	25 ml/min
Detector	Detector Ionizador de llama
Gas usado	Helio
Columna usada	Perkin Elmer Elite 1 de 15 metros de longitud por 0.25 milímetros de diámetro.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Se logró una correcta adecuación del cromatógrafo de gases, marca Perkin Elmer Autosystem XL, al establecer los parámetros iniciales de la columna capilar, el software Total Chrome versión 2011, así como los flujos de gases de helio 241, hidrogeno 476 y oxígeno 464 (centímetro por minuto).
2. La columna capilar posee una correcta condición para el buen funcionamiento del equipo, pues al llevar acabo los ensayos se identificó que posee una selectividad mayor de uno punto cero, con una resolución de 0.1866 y con respecto a los números de platos teóricos 3970,76119.
3. Los resultados de presión obtenidos por medio de la grafica de Van Deemter son los adecuados, puesto que presentan similar comportamiento que los obtenidos en estudios realizados con otros cromatógrafos de gases.
4. En el equipo se debe mantener las condiciones del Split, indicadas por el fabricante, para eliminar el problema que se apague el detector y así obtener una buena resolución.
5. El mejor perfil obtenido, es el que cumple con la gráfica de Van Deemter ya que presenta parámetros óptimos de resolución, selectividad y número de platos teóricos, así como una mejor separación de compuestos.
6. La gráfica de Van Deemter determina que la mejor presión de trabajo para el equipo es de 2.5 psi por presentar la menor altura equivalente a un plato teórico; este resultado se confirma en la resolución y en el número de platos teóricos ya que con 2.5 psi se presentó un número mayor que con los otros valores de presión

7. Debido a las condiciones de trabajo empleadas se confirma, que es posible llevar a cabo la determinación de metanol en bebidas alcohólicas, puesto que la obtención de los datos muestran el mejor perfil analítico con respecto a la separación y resolución del compuesto, por lo que se podrá dar inicio a la validación del método.

8. Los resultados obtenidos en cada ensayo muestran una correcta adecuación del cromatógrafo de gases en el Laboratorio de Análisis Físico Químico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), para el análisis de metanol en bebidas alcohólicas o en los diferentes compuestos que deseen analizar.

CAPITULO VII

RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Cuidar que las válvulas de gases estén abiertas cuando se encienda el equipo, para evitar que la fase estacionaria se sobrecaliente y se deteriore.
2. Dejar al menos 15 minutos antes del análisis, acondicionando el equipo, sobre todo antes de encender el detector para así facilitar el encendido de la llama y obtener resultados más precisos.
3. Contar con un plan de mantenimiento del equipo, para evitar problemas en el funcionamiento óptimo del cromatógrafo de gases y evitar posible desperfecto en el equipo con respecto al tiempo.
4. Determinar el periodo de tiempo en el que deberá evaluarse los perfiles analíticos y con qué frecuencia y establecer condiciones principalmente en el momento del cambio de columna.
5. Al instalar un cromatógrafo de gases se debe de observar principalmente los escapes de gases ya que pueden causar problemas en las columnas y desperdiciar los gases para el equipo.
6. Evitar usar un Split mayor que los recomendados por el equipo, puesto pueden causar diversas dificultades como apagado del equipo, no detección de la muestra en los análisis realizados, entre otros.
7. Validar el método de determinación de metanol en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases ya que se ha demostrado que el equipo es óptimo para este tipo de análisis.

8. Tomar en consideración la presión de 3.5 psi cuando se valide el método de determinación de metanol en bebidas alcohólicas, puesto que a pesar que no se obtuvo un buen número de platos teóricos o la mejor resolución se logró una buena definición de los picos obtenidos.

9. Fomentar la investigación en donde se incluya análisis de cromatografía de gases y así dar un mejor aprovechamiento del uso de la tecnología en la población estudiantil.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

1. AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th Edition. 1984. Método No. 9.091-9.093 pag 184,187.
2. Doglas A, Holler J, Nieman Thimoti 2001, Principios de análisis instrumental 5 ed, Madrid Esp, Concepción Fernández Madrid 761-762.
3. Ramoz A, Curso sobre cromatografía de gases y análisis de grasas trans Censalud 2008, San Salvador, El Salvador. Pag 13-17.
4. Perkin Elmer Instruments, User Guide of AutoSystem XL GC IPM, Marzo 2001, Shelton Conectituc U.S.A pag. 13-36.
5. Agencia estatal antidopaje; España; actualizado 29 de abril del 2011; acceso 20 de marzo de 2011; métodos cromatográfica; disponible en: <http://www.aea.gob.es/media/126615/metodos%20cromatogr%C3%A1ficos-nuevo.pdf>.
6. Castillo J; Introducción a la separación cromatográfica definiciones y términos comúnmente empleados en los métodos cromatográfica; clase de Universidad de Puerto Rico en Humaca; acceso 5 de enero del 2011; disponible en: www1.uprh.edu/jorcas/paginas_clase/pag_pdf/CROMADEF.pdf.
7. Castillo R J; Determinación de la velocidad lineal y flujo óptimo de una columna cromatográfica empleando la curva de Van Deemter; Documento de clase; acceso 22 de marzo de 2011; disponible en: www1.uphr.edu/jorcas/paginas.../info.../det_flujo_optim2.pdf.

8. Cromatografía de gases; acceso 5 de enero del 2011; disponible en:http://www.slidefinder.net/1/10__20CROMATOGRAFIA_20DE_20GASES/1638692.
9. Detectores para cromatografía de gases; acceso 7 de marzo de 2011; disponible en: <http://www.marsopa.es/page3/assets/Tema4C.pdf>.12
10. .Humberto R; Cromatografía gaseosa; Documento de grupo de química, 24 de julio del 2008; acceso 20 de marzo de 2011; disponible en: http://grupos.emagister.com/documento/cromatografia_gaseosa/106_7-58427.
11. Instituto de Geocronología y Geología Isotópica; Universidad de Buenos aires Argentina, actualizado en el 2003; acceso 7 de marzo de 2011; Laboratorios de cromatografía de gases; disponible en: <http://www.ingeis.uba.ar/default.php?page=geoquimicaorganica.htm>.
12. Knedel W; Columnas capilares en cromatografía de gases; Instituto de Investigación Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas; Guatemala, acceso 5 de enero del 2011; disponible en: <http://www.slideshare.net/McAlejo/columnas-capilares-en-cromatografia-de-gases>.
13. Morales A; Alcances y limitaciones de la cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia en los análisis forenses; La página criminalista de México; acceso 22 de marzo de 2011; disponible en:http://criminalistic.org/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=300

14. Quiminet.com; México; actualizado 10 de marzo de 2011; acceso 10 de marzo del 2011; Historia de la cromatografía de gases; disponible en: http://www.quiminet.com/ar8/ar_bcBuzgtbcBu-historia-de-la-cromatografia-de-gases.htm.

15. Skoog, Douglas A. y Leary, James J, Análisis Instrumental. Armenia; Cromatografía de gases; 7 de julio del 2009 (actualizado 24 de mayo del 2011), acceso 29 de abril del 2010 disponible en: <http://es.scribd.com/doc/74092291/Informe-de-Lab-Oratorio-de-Analisis-Instrumental-Cromatografia-de-Gases-2>

GLOSARIO (3, 6,15)

Acondicionamiento de columna: El proceso de preparar una columna para usarla. Se eliminan de la columna los materiales volátiles calentándola a una temperatura cercana al límite superior de temperatura de la fase estacionaria mientras se pasa un gas inerte a través de ella.

Adsorbente: Un material sólido con superficie activa usado como fase estacionaria.

AEPT: Abreviatura por altura equivalente a un plato teórico. Es otro término de H, altura del plato. Se calcula dividiendo el largo de la columna por el número de platos.

Altura de pico: La altura desde la línea base hasta la cima del pico.

Altura de plato: El largo de la columna dividido por el número de platos.

Ámbito lineal dinámico: El ámbito de concentración inyectado al cromatógrafo que da una curva de calibración lineal.

Análisis cualitativo: El proceso de identificar muestras o componentes de las muestras.

Análisis cuantitativo: El proceso de determinar la cantidad o concentración de componentes en una muestra.

Ancho de banda: El largo de banda que tiene un soluto en la columna.

Ancho de pico: Normalmente se refiere al tiempo o distancia, en la base, entre las tangentes extrapoladas del pico, dibujadas en el punto de inflexión. También se refiere al ancho de un pico medido a una fracción especificada de su altura total.

Área de pico: El área bajo el pico y por encima de la línea base.

Cantidad mínima detectable: El peso de material inyectado a un cromatógrafo que da una altura de pico igual a tres veces la altura pie a pico del ruido de la línea base.

Capacidad de carga: El peso máximo de muestra que se puede inyectar a una columna dada sin aumentar el factor de retención (k) en más del 10%.

Capacidad de la columna: El peso máximo de muestra que se puede separar sin cambiar el tiempo de retención en más de un 10%.

Columna: Un tubo que tiene una fase estacionaria en la que se efectúa la cromatografía.

Constante de distribución K_c : La razón de la concentración, en equilibrio, de un compuesto en la fase estacionaria a la concentración en la fase móvil.

Constante de tiempo: Se refiere al circuito electrónico que suaviza el ruido. Cuanto mayor la constante de tiempo, mayor el suavizado.

Control de calidad (CC): En análisis químico, se refiere a los pasos dados para lograr un nivel esperado de exactitud y precisión.

Cromatografía de gases: El proceso de separación de mezclas químicas vaporizándolas y pasándolas a través de una columna cromatográfica.

Cromatografía gas Líquido: Cromatografía de gases hecha una columna con una fase estacionaria líquida,

Cromatografía gas sólido: Cromatografía de gases hecha con una columna que tiene un adsorbente sólido.

Cromatógrafo: El instrumento para efectuar la cromatografía.

Cromatograma: Un gráfico en papel de una separación cromatográfica.

Cromatograma de ion seleccionado: Un gráfico de la intensidad del ion a una sola razón de masa a carga versus el tiempo.

Curva de calibración: Un gráfico del área o altura de los picos versus las concentraciones de masas inyectadas.

Derivatización: Una reacción química que agrega un grupo funcional o compuesto a los componentes de interés. Muchos compuestos no volátiles se pueden analizar en cromatografía de gases convirtiéndolos a derivados volátiles.

Desviación estándar: Una medida de la precisión expresada en las unidades de la medición. Expeditamente es la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las desviaciones de las mediciones individuales menos el promedio, dividida por el número de mediciones menos uno.

Detector selectivo: Un detector que solo responde a algunos tipos de compuestos.

Detector universal: Un detector que responde a todos los tipos de componentes de las muestras.

Diatomáceo: Se refiere a los materiales que se preparan de esqueletos de diatomeas (animales microscópicos).

Eficiencia: Un término general usado para expresar el ancho de pico producido por una columna. La eficiencia se mide en términos del número de platos.

Eficiencia de columna: Un término que se refiere al número de platos generado por una columna.

Elución: El proceso de transportar un componente a través de la columna con una fase móvil.

Empaque (Nombre): Las partículas de fase estacionaria usadas para empacar una columna cromatográfica.

Enantiómero: Una configuración molecular no superponible con su imagen especular, (ver quiral).

Ensanchamiento de bandas: la tendencia de una banda cromatográfica según avanza por la columna.

Entrelazar: Enlazar químicamente cadenas adyacentes de polímeros. El entrelazado se da cuando se introducen monómeros disfuncionales en la polimerización.

Errores sistemáticos: Se refiere a errores en una medición que siempre están en la misma dirección (opuesto a errores al azar).

Espacio de cabeza: La fase gaseosa de una muestra en equilibrio con un líquido o sólido mantenida en un recipiente cerrado.

Espectro de masas: Un gráfico de las intensidades de los picos de los fragmentos de masas versus su razón de masa a carga.

Espectrometría de masas: La ciencia que trata de la medición de la masa molecular y la masa de los fragmentos iónicos moleculares usando un espectrómetro de masas.

Espectrómetro de masas: Un instrumento usado a veces como detector en cromatografía de gases que mide la razón de masa a cargo de una molécula ionizándola y pasándola por un campo eléctrico magnético. Las moléculas ionizadas se fragmentan en iones menores y las masas de estos fragmentos se pueden usar para deducir la estructura de la molécula.

Estándar externo: Un método para calibración y análisis. La calibración se hace inyectando un conjunto de estándares de calibración. Normalmente todas las inyecciones de las muestras y de los estándares se hacen con el mismo volumen de inyección.

Estándar interno: Un compuesto especialmente seleccionado, no presente en la muestra, pero agregado a ella para análisis cualitativo o cuantitativo. Debido a que se usan las relaciones de las áreas de los picos, el volumen inyectado no requiere ser constante ni exactamente conocido.

Extracción en fase sólida: Una técnica de limpieza de muestras que emplea un pequeño cartucho relleno con fase cromatográfica estacionaria o un filtro de membrana embebido con la fase estacionaria.

Fase enlazada: El material de empaque consistente en un material de soporte con grupos funcionales orgánicos covalentemente enlazados a su superficie.

Fase estacionaria: La fase inmóvil en cromatografía. Una fase estacionaria consiste en un material sólido o líquido que interacciona con los solutos conforme pasan por la columna.

Fase móvil: Un término general para la fase en movimiento en cromatografía. En CG es la fase gaseosa. En cromatografía líquida es la fase líquida (eluyente).

Férula: Un anillo de metal o plástico colocado alrededor del tubo en una conexión y que se comprime contra el tubo para formar un sello a prueba de presión.

Filamento: Un alambre delgado calentado eléctricamente. Se usa en el detector de conductividad térmica.

Fuera delinea: En análisis cromatográfica, se refiere al análisis de fracciones recogidas previamente de una columna cromatográfica.

Gas portador: Un gas como el helio, hidrogeno o nitrógeno que sirve como fase móvil para transporte la muestra a través de la columna.

Gráfico de control: Un gráfico del comportamiento de un parámetro versus el tiempo, usado para verificar que el parámetro está dentro de especificaciones y para predecir cuándo es necesaria una reparación o el cambio de una pieza.

Gráfico de Van Deemter: Un gráfico de la velocidad del gas portador versus la altura de plato.

Inyección con bifurcación: Un modo de inyección en columna capilar en que la cantidad de muestra que entra a la columna es limitada al bifurcar el flujo de gas portador en dos corrientes. Una corriente va a la columna y la otra va hacia afuera.

Inyección en columna: Se refiere al modo de inyección en el que la muestra se deposita como un líquido directamente en la columna cromatográfica en vez de vaporizarla previamente.

Inyección sin bifurcación: Un modo de inyección en columna capilar para medir materiales a concentraciones bajas en un solvente. La muestra se vaporiza en el inyector y todo el vapor se pasa a la columna que está suficientemente fría para condensar al solvente. El solvente condensado concentra los componentes de la muestra en una banda pequeña a la cabeza de la columna. Se usa programación de temperatura para eluir el solvente y los componentes de la muestra.

Inyector: El dispositivo en un cromatógrafo que inyecta un pequeño volumen de muestra al instrumento.

Isotérmico: Se refiere a trabajar un cromatógrafo de gases a temperatura constante.

Límite de detección: La concentración menor que se puede detectar. Normalmente se define como la cantidad o concentración de componente que da un pico de altura igual a 3 veces el ruido.

Límite inferior de control: El límite inferior en un gráfico de control que indica cuando el parámetro controlado está fuera de especificaciones. Normalmente se define como el promedio menos 3 desviaciones estándares.

Límite superior de control: El límite superior de un gráfico de control que indica cuando el parámetro controlado está fuera de especificaciones. Normalmente se define como el promedio más 3 desviaciones estándares.

Límite superior de temperatura: La temperatura máxima a la que se puede usar una fase estacionaria sin producir excesivo sangrado de columna.

Muestreo de espacio de cabeza: Análisis de los componentes de un líquido (normalmente una solución acuosa) analizando el vapor en equilibrio con el líquido.

No volátil: Se refiere a un compuesto cuya presión de vapor a las temperaturas normales del cromatógrafo de gases es demasiado pequeña para que se pueda separar por cromatografía de gases.

Numero de platos: El número de platos generado por una columna.

Parámetro de ancho de pico: Parámetro del integrador o del sistema de datos, seleccionable por el usuario, que ayuda a distinguir entre ruido y picos.

Perfiles cromatográfica: Otra terminología de perfiles analíticos.

Pico del aire: Un pico resultante de la inyección de aire.

Picos: En cromatografía, los perfiles de concentración de los componentes separados y registrados en un cromatograma.

Picos fantasmas: Los picos cromatográfica que no provienen directamente de la muestra inyectada. Los picos fantasmas normalmente provienen de contaminación de la jeringa o del inyector.

Platos teóricos: El número de platos, N , es una medida de la eficiencia de la columna. N se calcula elevando al cuadrado la razón del tiempo de retención al ancho del pico en la línea base y multiplicado por 16.

Precisión: Una medida de la reproducibilidad de las mediciones de la misma cantidad.

Programación de temperatura: La técnica de aumentar la temperatura de la columna durante una corrida en cromatografía de gases.

Puerta de inyección: Un dispositivo por el que se introducen las muestras al cromatógrafo con una jeringa.

Purgar y atrapar: Una técnica para concentrar materiales orgánicos de soluciones acuosas y de sólidos.

Quiral: Una configuración molecular que no se puede superponer a su imagen especular. Las moléculas quirales también se llaman enantiómeros o isómeros ópticos.

Rampa: Cambio de temperatura con respecto al tiempo manteniendo la presión constante.

Razón de respuesta: La razón de respuestas de dos detectores al mismo componente. Las respuestas pueden ser del mismo detector tomadas a dos longitudes de onda o de dos detectores diferentes.

Resolución: La diferencia en retención de picos adyacentes dividida por el promedio del ancho de sus picos en la base.

Retención: La tendencia de los solutos a moverse a través de la columna más lentamente que la fase móvil.

Sangrado de columna: La pérdida de fase estacionaria líquida.

Sangrado del septum: Se refiere a la liberación de materiales volátiles atrapados en el septum. Estos materiales se resorben del septum cuando se inyecta la muestra.

Selectividad: La razón de los factores de retención (k) de los picos adyacentes. También se llama factor de selectividad.

Selectividad del detector: La propiedad de un detector de responder solo a algunos tipos de compuestos.

Sensibilidad a la temperatura: Se refiere a los detectores que responden a pequeños cambios en la temperatura.

Sensibilidad al flujo: Se refiere a los detectores cuya respuesta cambia con el flujo.

Sensible a la masa: Se refiere a detectores que responden a la masa de la muestra que entra por unidad de tiempo más bien que a la concentración de la muestra.

Sistema de datos: Un sistema de cómputo para adquirir, integrar y manipular los datos cromatográfica.

Sobreponer: La capacidad de un sistema de datos de presentar o graficar dos o más cromatograma o espectros uno encima del otro.

Soporte sólido: Un sólido inerte y poroso que se recubre con la fase estacionaria líquida.

Temperatura programada: La técnica de aumentar la temperatura de la columna durante una corrida en cromatografía de gases.

Tiempo de retención: El tiempo medido entre la inyección y la cima del pico.

Tiempo de retención ajustado: El tiempo de retención de un pico menos el tiempo de retención de un pico no retenido.

Tiempo de travesía: El tiempo necesario para que el gas portador pase del inyector al detector. Se determina midiendo el tiempo de retención de un compuesto no retenido.

Velocidad de flujo: La velocidad lineal del eluyente.

Velocidad lineal: La velocidad de la fase móvil a través de la columna.

Volumen de estrato: El volumen de una columna empacada.

Volumen de pico: El volumen eluído en el lapso de tiempo de un ancho de banda en la línea base.

Volumen de retención: El volumen de gas portador que pasa a través de la columna entre la inyección y la cima del pico.

ANEXO Nº 1

CROMATOGRAFO DE GASES Y SUS PARTES



Figura N° 7: Equipo de cromatografía de gases Perkin Elmer Auto System

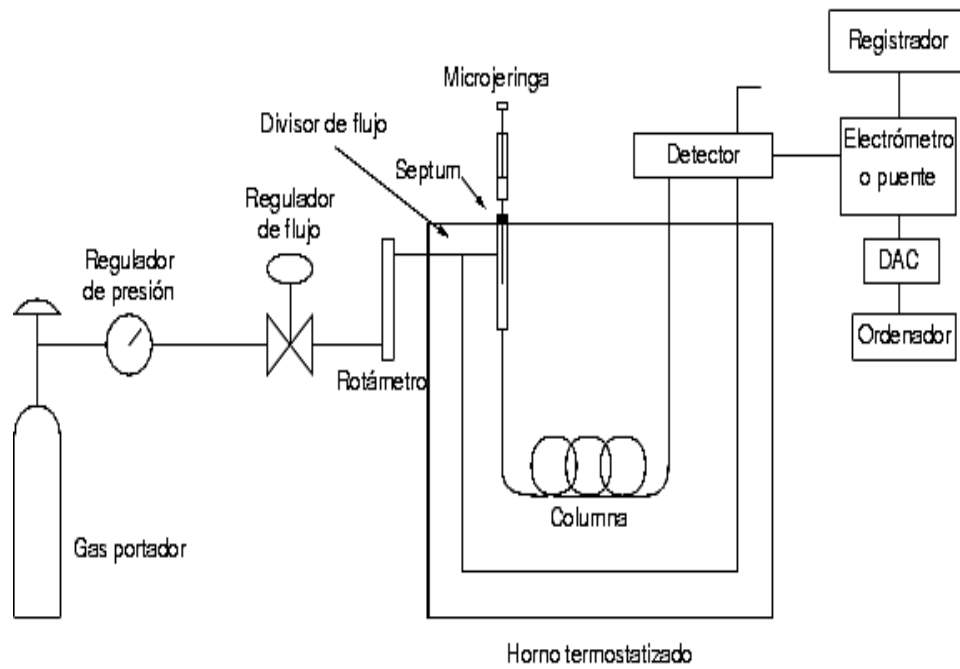


Figura N° 8: Representación esquemática de un sistema de cromatografía gaseosa

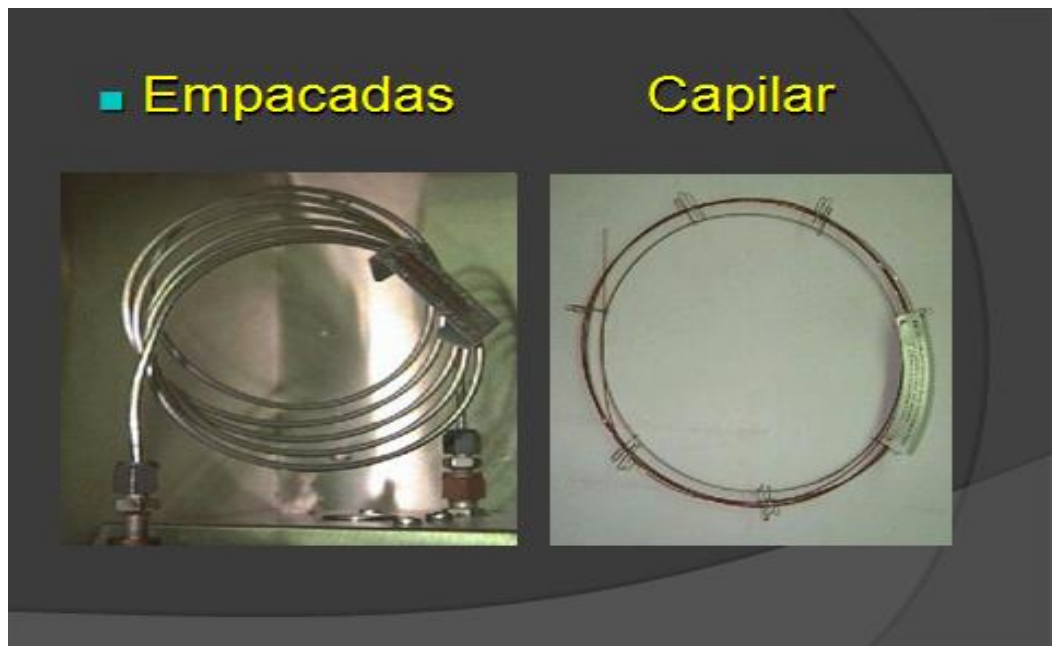


Figura N°9: Comparación entre una columna empacada y una capilar

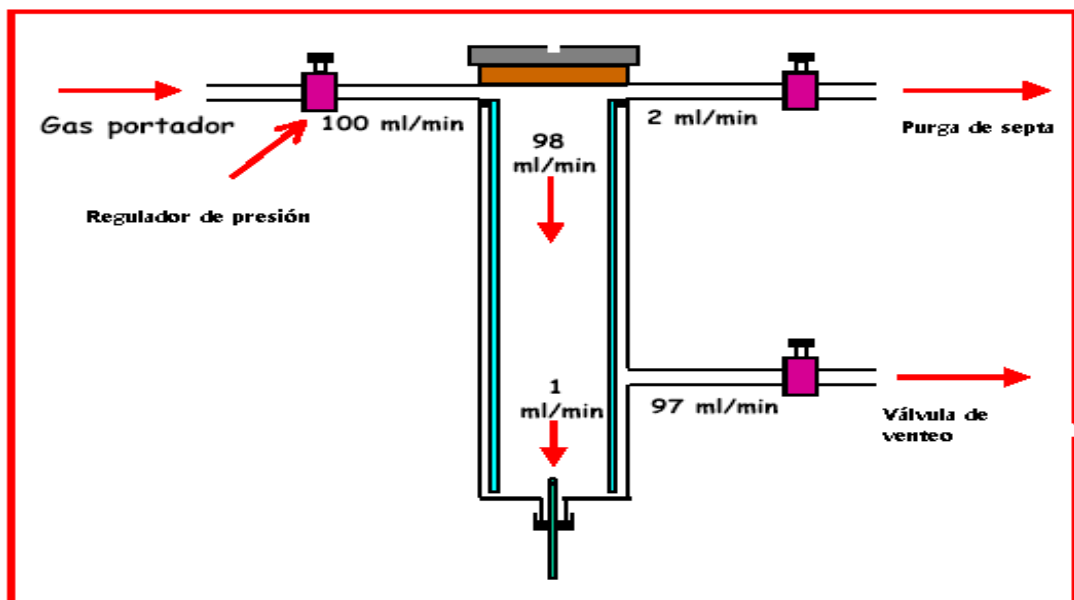


Figura N°. 10: Diseño básico para inyector split o con división

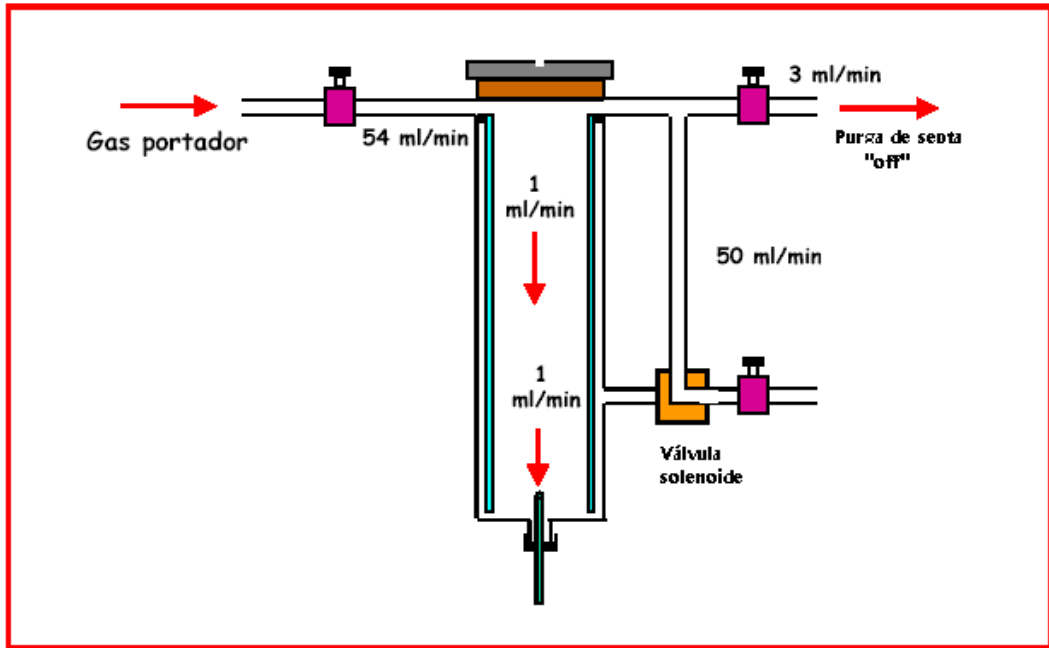


Figura N° 11: Esquema de inyector splitless

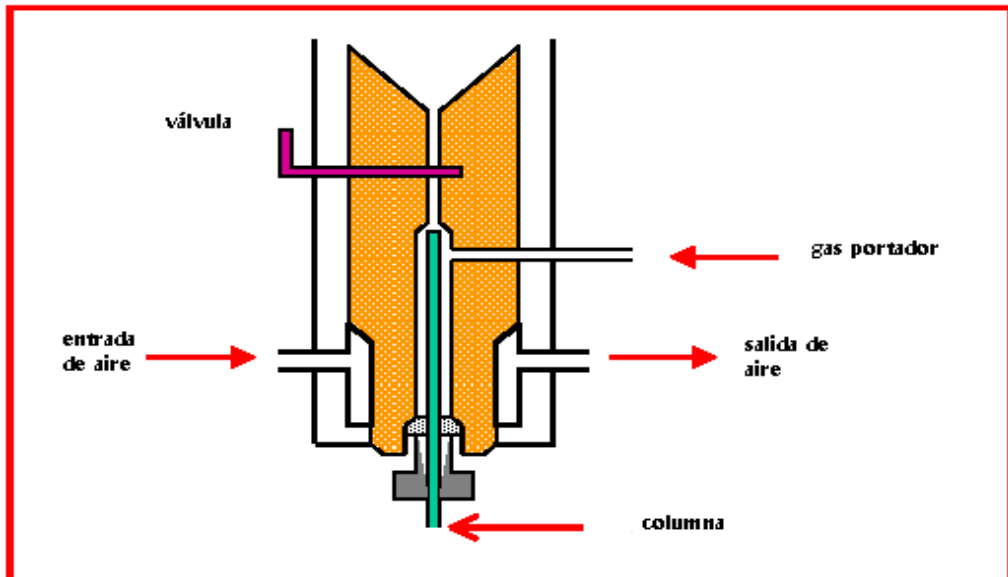


Figura N° 12. Esquema de inyector sobre la columna

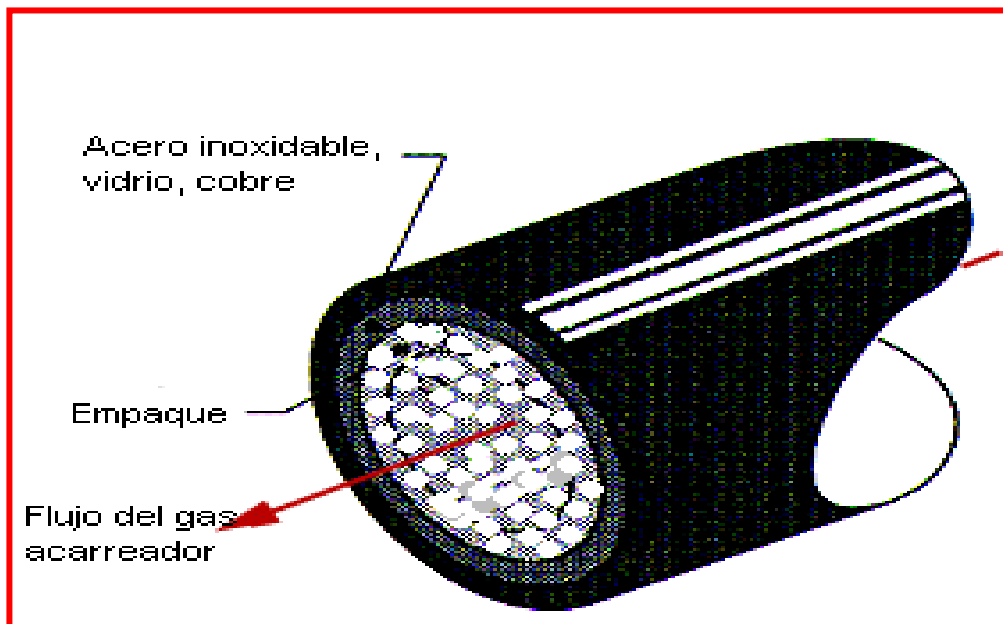


Figura N° 13: Esquema de columna de relleno

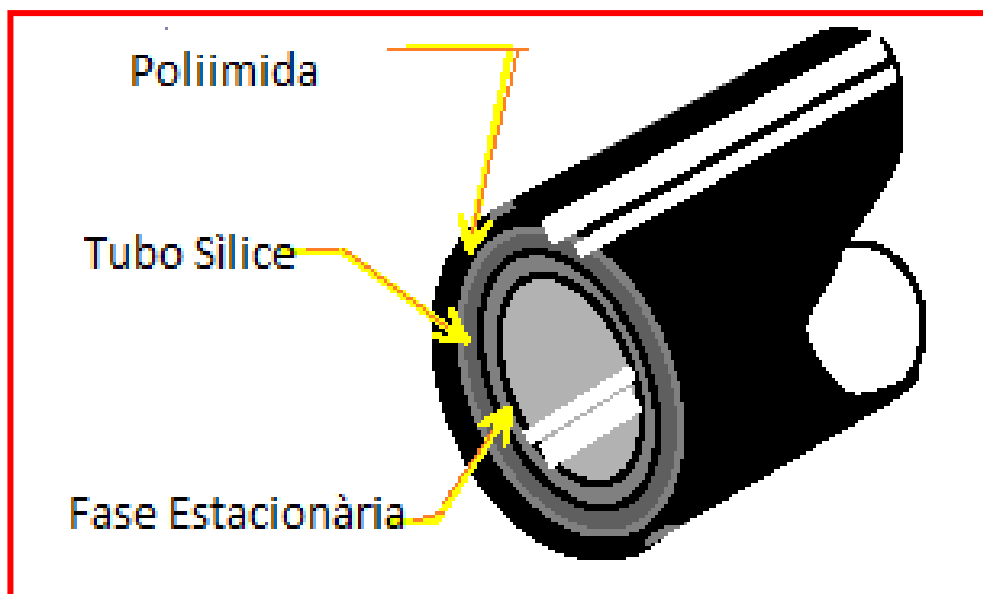


Figura N° 14: Esquema de columna capilar



Figura N° 15: Vista de un detector GC del tipo FID (desmontado)

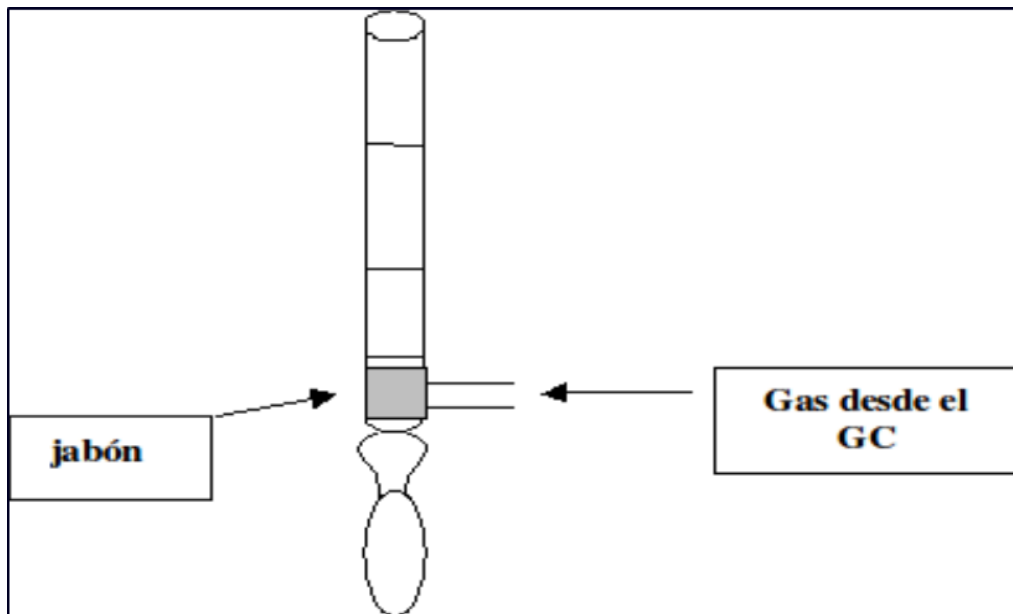
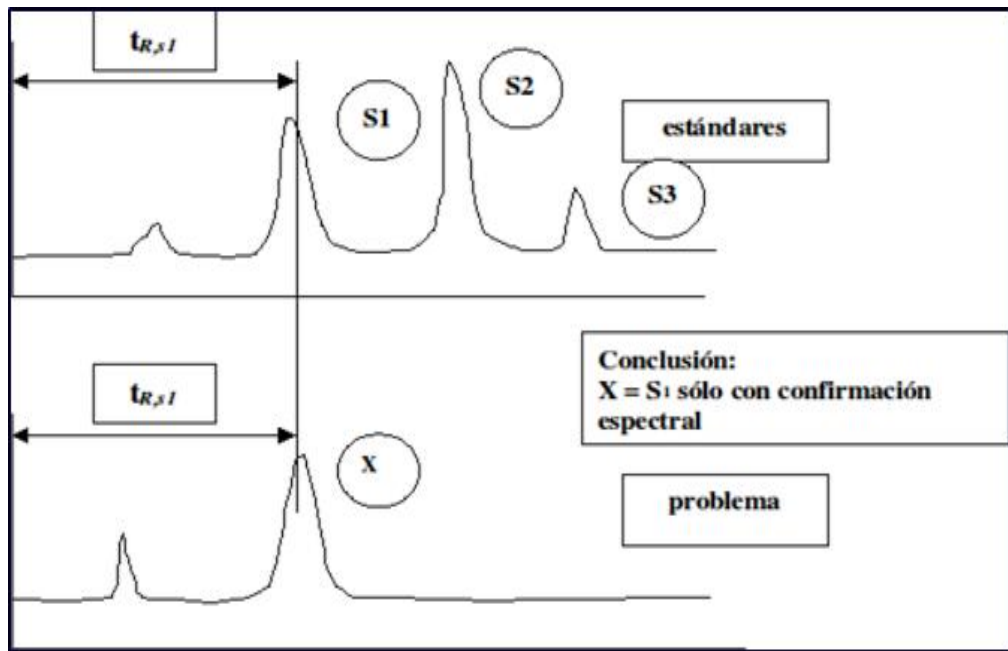


Figura N° 16 Diagrama de pompa de jabón



FiguraNº17. Ejemplo de un análisis cualitativo

ANEXO Nº 2

**METODO DE DETERMINACION DE METANOL EN BEBIDAS
DESTILADAS⁽¹⁾**

Methanol in Distilled Liquors
Gas Chromatographic Method
Final Action

9.091

Apparatus

See 9.075.

9.092

Reagents

(a) *Alcohol*.—USP, MeOH-free.

(b) *Methanol stock soln.*—Dil. 10 mL MeOH, 99.9 mol % (Fisher Scientific Co., A-936, or equiv.) to 100 mL with 40% alcohol.

(c) *n-Butyl alcohol internal std stock soln.*—Dil. 10 mL *n*-BuOH, 99.9 mol % (Fisher Scientific Co., A-384, or equiv.) to 100 mL with 40% alcohol.

(d) *Methanol std soln.*—0.050% MeOH plus 0.030% *n*-BuOH internal std. Fill 100 mL vol. flask to ca 99 mL with 40% alcohol and add, by syringe, 500 μ L MeOH stock soln, (b), and 300 μ L *n*-BuOH stock soln, (c). Mix and dil. to vol. with 40% alcohol. Mix again.

Figura N° 18. Método AOAC Metanol en licores destilados método por cromatografía de gases.

Traducción.

Metanol en licores destilados método por cromatografía de gases acción final.

Aparato ver 9.075 (mirar 26.1.30)

Reactivos:

- a) Alcohol. – USP, libre de metanol.
- b) Metanol solución stock. Diluir 10 mL de metanol 99.9% molar a 100 mL con alcohol al 40%.
- c) Solución stock de n-butanol: diluir 10 mL de n-butanol 99.9% molar a 100 mL con alcohol al 40%.

- d) Estándar interno de Metanol solución stock -0.050%, metanol plus 0.030%, n-butanol: En un frasco volumétrico de 100 mL llevar a 99 mL con alcohol al 40 % y agregar con jeringa 500 micrólitos de solución stock de metanol, 300 micrólitos de solución stock de n-butanol y mezclar. Llevar a volumen y mezclar otra vez.

Higher Alcohols (*n*-Propyl Alcohol, Isobutyl Alcohol, and Isoamyl Alcohol) and Ethyl Acetate—Official Final Action

Gas Chromatographic Method (16)

9.075

Apparatus

(a) *Gas chromatograph*.—Equipped with flame ionization detector. (1) *Column*.—23% Carbowax 1500 (w/w) on Chromosorb W (60–80 mesh, acid-washed). Weigh 9 g Carbowax 1500 into 250 mL beaker and mix with H₂O on steam bath. Weigh 30 g Chromosorb W in 250 mL beaker and combine with Carbowax soln in large flat-bottom Pyrex glass baking dish or flat-bottom polyethylene container (ca 20 × 25 cm). Add H₂O to just cover solid support and mix thoroly. Evap. H₂O with frequent stirring in hood. (Gentle steam may be applied to hasten evapn.) After evapn of H₂O, heat coated support ca 2 hr in 100° oven.

Pack 2.4 m (8') × ¼" od Cu tubing tightly and evenly by repeated tapping, and condition in column oven at 150° with He flow rate of 150 mL/min until steady baseline is observed at attenuation 1× at operating parameters (ca 24 hr).

(2) *Approximate parameters*.—Column temp. 70° (isothermal); detector and inlet temp. 150°; He carrier flow 150 mL/min.

Optimum operating conditions vary with column and instrument, and must be detd by using std solns. Adjust parameters for max. peak sharpness and optimum sepn. With high level std, *n*-PrOH should give almost complete baseline sepn from EtOH.

(b) *Syringe*.—10 μL, Hamilton Co. No. 701, or equiv.

Figura N° 19. Método 9,075 método de cromatografía de gases para grandes alcoholes(alcohol n- propílico, alcohol isobutilico y isoamil alcohol) y acetato de etilo

Aparato: Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionizador de llama.

Parámetros aproximados: temperatura de columna 70° grados, detector y temperatura de inyección 150° grados, gas de arrastre helio a un flujo de 150 mL/minuto.

Las condiciones óptimas varían con el instrumentó y la columna, deben de usarse soluciones estándares. Ajustar parámetros para picos más definidos y óptimos.

ANEXO N° 3

REACTIVOS, MATERIAL Y EQUIPO^(1,2)

1.0 Reactivos:

- Etanol de pureza cromatográfica.
- Etanol de pureza cromatográfica.
- Agua destilada de pureza cromatográfica.
- N-butanol de grado pureza cromatográfica.

2.0 Material

- Jeringa graduada en micrólitos.
- Pipetas volumétricas de vidrio de 10.0mL.
- Balones volumétricos de 100.0mL.
- Micropipetas.
- Beaker de 50 mL.
- Probeta de 50 mL
- Embudos de vidrio

3.0 Equipo.

- Cromatógrafo de gases Perkin Elmer AutoSystem XL.
- Columna cromatográfica de gases Perkin Elmer de 15 metros de longitud x 0.25 milímetros de diámetro.
- Medidor de presión de burbuja de jabón.
- Filtros de gases Perkin Elmer.

4.0 Preparación de muestra y estándares de trabajo.⁽¹⁾

4.1 Estándares de trabajo.

4.1.1 Solución madre de etanol.

Con una pipeta volumétrica se medirá 40.0 mL de Etanol de pureza cromatográfica y se agregará un balón volumétrico de 100.0mL y se llevara a aforo con agua de pureza cromatográfica (ver figura N° 20).

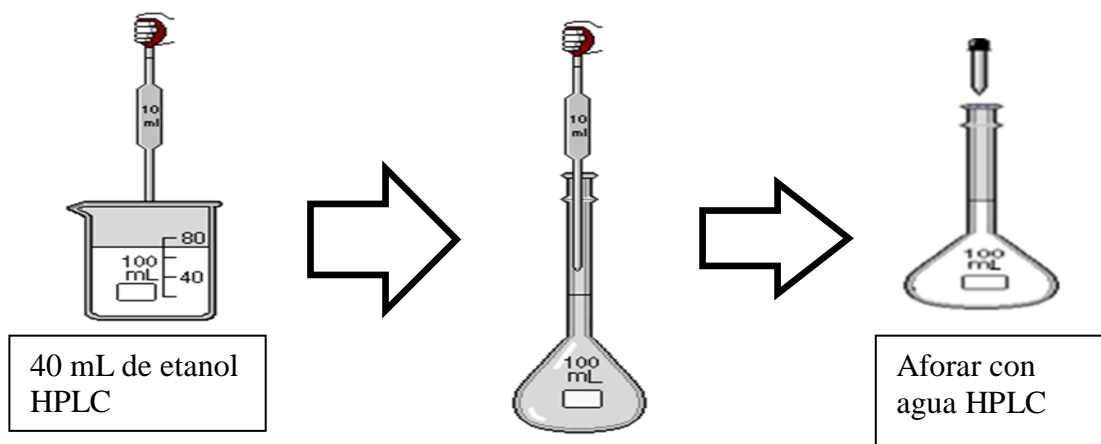


Figura N° 20: Preparación de solución madre de metanol

4.1.2 Estándar de metanol.

Con una pipeta volumétrica se medirá 10.0mL de Metanol de pureza cromatográfica y se agregará a un balón volumétrico de 100.0mL y se aforará con la solución madre de Etanol. (ver figura N° 21)

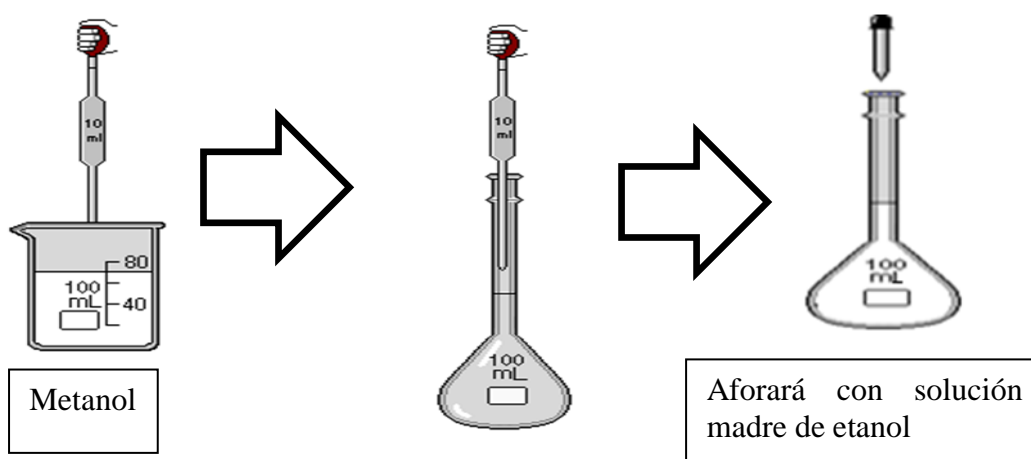


Figura N° 21 Preparación de estándar de metanol

4.1.3 Estándar de N-butanol.

Con una pipeta volumétrica se medirá 10.0mL de N-Butanol de pureza cromatográfica y se agregará a un balón

volumétrico de 100.0mL y se aforará a con la solución madre de Etanol (ver figura N° 22).

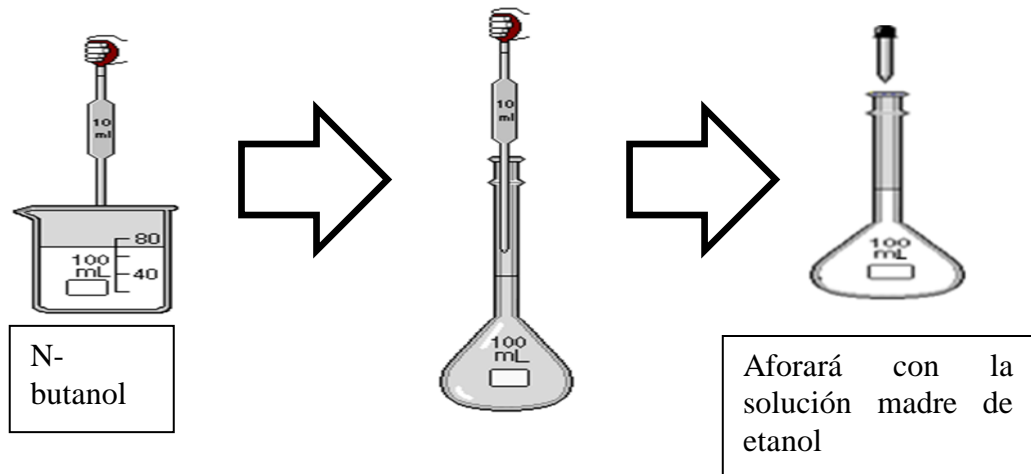


Figura N° 22. Preparación de estañar de N-butanol

4.2 Preparación de muestra.

Con una micropipeta volumétrica se medirá 500.0 microlitos de la solución estándar de metanol y 300.0microlitos de la solución estándar de N-Butanol y se agregara a un balón volumétrico de 100.0 mL y se aforara con la solución madre de Etanol.(ver figura N° 23).

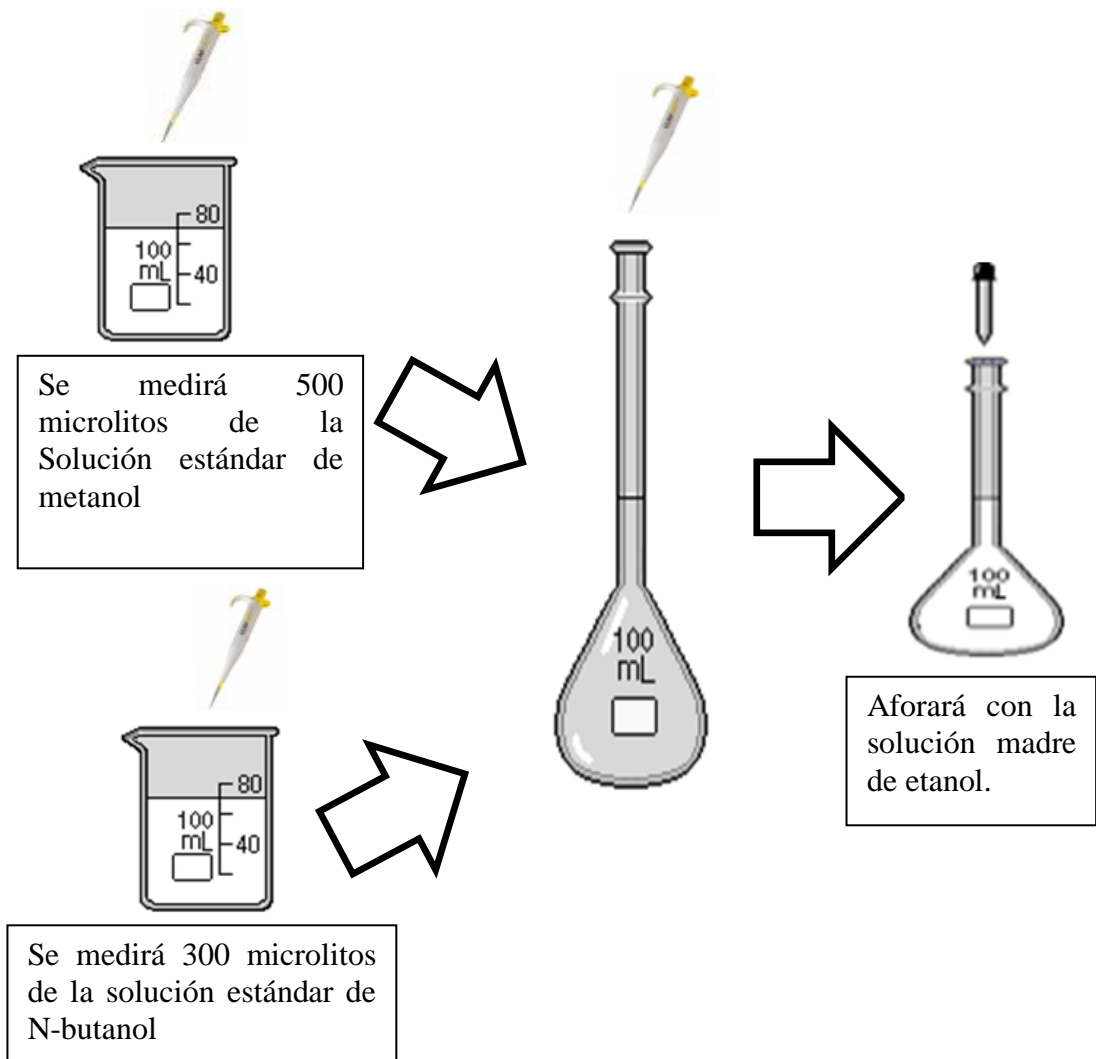
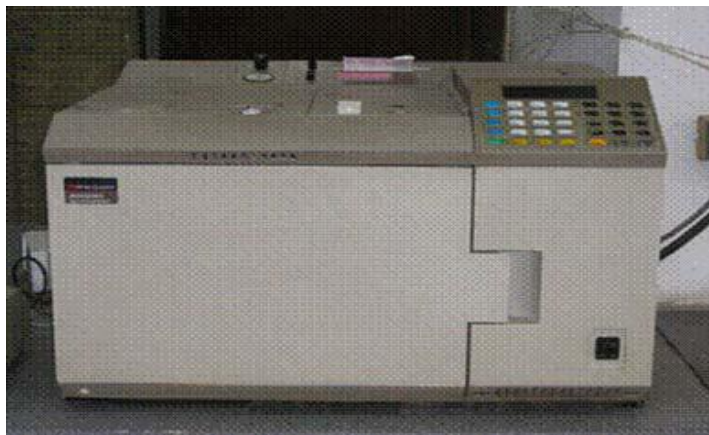


Figura N° 23: Preparación de la muestra.

ANEXO Nº 4
MANUAL DE CROMATÓGRAFO DE GASES AUTOSYSTEM XL⁽⁴⁾
(SE RESPETO EL MANUAL DEL PROVEEDOR)

MANUAL DE CROMATÓGRAFO DE GASES AUTOSYSTEM XL



Cromatógrafo de gases "PERKIN ELMER AUTO SYSTEM"

El Cromatógrafo de gases Perkin Elmer AutoSystem XL Cuenta con:

- Detector de Ionización a la Llama (FID).
- Gas portador: Helio, Hidrogeno y Oxigeno.
- Columna capilar.

I. Resumen de las Instrucciones para el manejo del Cromatógrafo.

1. Abrir las válvulas de gases de aire, hidrógeno y helio.
2. Encender el aparato en el interruptor N.
3. Colocar la temperatura del detector, 200 °C, para ello presionar la tecla (DET TEMP) asignar la temperatura y (ENTER).
4. Asignar la temperatura de trabajo del puerto de inyección, también 200 °C, para ello presionar la tecla (INJ TEMP), asignar la temperatura y (ENTER).
5. Asignar la temperatura de la columna a 60°C (temperatura inicial) para ello presionarla tecla (OVEN TEMP), asignar la temperatura y (ENTER).
6. Después de asignar las temperaturas, encender el detector. Para ello las válvulas de H2 y aire deben estar cerradas, luego abrir la válvula

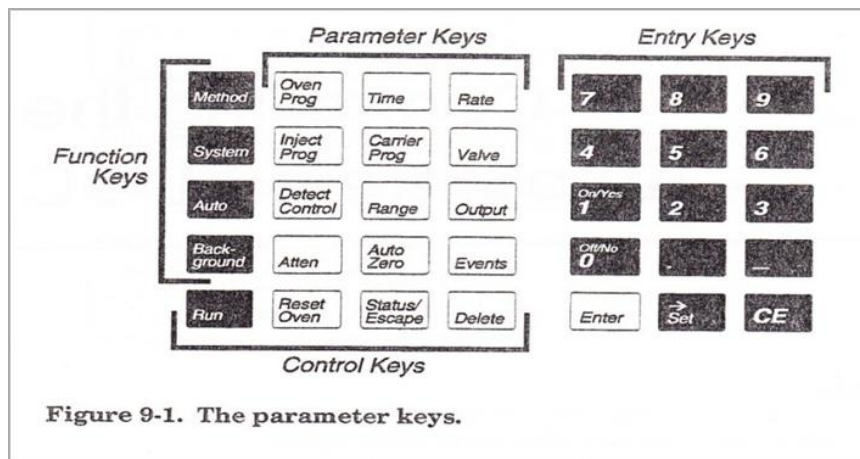
de H₂ en el sentido contrario a las agujas del reloj. Encender el detector para ello se observa el voltaje del detector

Presionando la tecla (AUTOZERO), (1) y (ENTER).

Colocar el encendedor sobre la salida del detector y presionar ligeramente hasta observar un reflejo de luz roja sobre la superficie metálica de la salida del detector.

Seguidamente rotar en el sentido contrario a las agujas del reloj la válvula de aire poco a poco hasta que se escuche una pequeña explosión la cual indica que el detector está encendido. Para verificar que el detector está encendido se debe observar si existe voltaje en el detector y colocando una pipeta en la salida del mismo (si el vidrio está empañado de vapor de agua, el detector está encendido). Si no, vuelve a intentar el procedimiento para encenderlo.

7. Si se requiere programación de temperatura para obtener una mejor resolución de las bandas cromatográficas: Asignar la temperatura 1 con la tecla (OVEN TEMP) y luego (ENTER). Asignar el tiempo 1 con la tecla (TIME) y luego (ENTER). Asignar la rampa de calentamiento con la tecla (RATE) a un valor de 42°/min y (ENTER). Asignar la temperatura 2 con la tecla (OVEN TEMP) y luego (ENTER). Asignar el tiempo 2 con la tecla (TIME) y luego (ENTER).
8. Para que la programación de temperatura se ejecute después de la inyección se debe presionar la tecla (RUN).
9. Al terminar la jornada de trabajo: Apagar el detector para ello presionar las teclas (AUTOZERO), (0) Y (ENTER). Apagar la temperatura del detector para ello presionar las teclas (DET TEMP), (0) Y (ENTER). Apagar la temperatura del puerto de inyección para ello presionar las teclas (INJ TEMP), (0) Y (ENTER). Apagar la temperatura de la columna para ello presionar las teclas (OVEN TEMP), (0) Y (ENTER). Esperar 15 min hasta que la temperatura de la columna haya disminuido hasta 25°C. Cerrar las válvulas de aire, H₂, y helio y aire. Cerrar las perillas P y S de los flujos de gases H₂ y aire que entran al detector. Apaga el instrumental en el Control.



II. Descripción general

El Cromatógrafo de Gases AutoSystem XL está controlado por un conjunto de parámetros de funcionamiento llamado método activo. Se puede preparar y guardar hasta cinco métodos y realizar cualquiera de los métodos activos. Sin embargo, el método 5 es generalmente reservado para el control del equipo externo del Cromatógrafo de gases (computadora). Si no se controla el Cromatógrafo de Gases desde un equipo externo (Pc), puede utilizar 5 métodos de la misma manera que lo haría usando los otros métodos.

El Cromatógrafo de Gases AutoSystem XL incluye los parámetros de funcionamiento tales como programa de temperatura del horno, programa de temperatura del inyector; temperatura del detector o un programa detector de temperatura, programa de presión de gas transportador, programa velocidad de gas transportador, la configuración de la válvula (por ejemplo, el funcionamiento de un muestreo de gas de la válvula o división/ divisiones de operación de la columna capilar), una tabla programada de eventos, y una variedad de parámetros para la salida de control de datos.

Los parámetros del Método activo se guardan siempre cuando se

apague correctamente y se vuelve a cargar automáticamente cuando se enciende de nuevo.

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

- Visualización de parámetros de Activos
- Modificar el método activo
- Métodos de servicio

III. Parámetros del método activo

Las 12 teclas da Acceso a los parámetros del método activo cuando el sistema no está en el modo de configuración. Para salir del modo de configuración, presione **[Status Escape]**.

Nota: Tenga en cuenta que exclusivamente el método Activo puede ser editado directamente desde las teclas de parámetro sin pasar del menú Método. Para ver y editar un método almacenado, consulte "Edición de un método almacenado". Para generar un nuevo método, consulte la sección "Generación de un método."

Las teclas de parámetros están relacionadas de orden de izquierda a derecha, de arriba a abajo. Para mostrar la pantalla el primer parámetro, presione **[Oven Prog]**. Para mostrar las pantallas siguientes, presione **[Enter]**.

Después de seleccionar una pantalla de parámetros, las pantallas de parámetros restantes se disponen en un loop. Después de mostrar la pantalla del último parámetro, al pulsar **[Enter]** muestra la pantalla del primer parámetro. No tienes que ver los parámetros en secuencia. Para ver una pantalla de parámetro específico, simplemente pulse la tecla de parámetro adecuado.

En la tabla siguiente se enumeran las tareas del cromatógrafo de gases y las teclas de parámetros correspondientes:

Tabla10. Tareas Para el panel de control con los parámetros correspondientes.

Tarea del cromatógrafo de gases	Tecla de Parámetro
Configuración de un programa de temperatura del horno	[Oven Prog], [Time] y [Rate].
Configuración de una temperatura del inyector / programa	[Inject Prog]
Configuración del detector de temperatura	[Detect Control]
Ver / configuración del gas portador	[Carrier Prog]
Ver/ configuración del flujo de gas portador / programa	[Carrier Prog]
Configuración de válvulas	[Valve]
Configuración del FID, PID, NPD, FPD o rango	[Range]
Configuración de filamentos TCD actual	[Range]
salida del detector	[Output]
Atenuar las señales del detector	[Atten]
Autocero del detector	[Auto Zero]
Configuración de una tabla programada	[Events]

Los ejemplos mostrados son para un Cromatógrafo de gases Auto System XL con un inyector capilar instalado en la posición 1 (frontal) y un inyector lleno de PPC en la posición 2 (trasero). Por el lado de un detector FID se instala en la posición 1 (frontal) y un TCD se encuentra en la posición 2 (trasero).

IV. Ejemplos de parámetros del método activo

La siguiente secuencia de pantalla de parámetros del método se obtuvieron presionando una vez **[Oven Prog]**, presionando repetidas veces **[Enter]** se muestran las pantallas siguientes

<p>Oven READY 75° TEMP 175°</p>	<p>TEMP 1 programa inicial de la temperatura del horno,</p>
<p>Oven READY 0.00m TEMP 1 999.9m</p>	<p>TIEMPO 1 Tiempo de Espera para TEMP 1</p>
<p>Oven READY 75° RATE 1 End</p>	<p>RATE 1 es el aumento de la velocidad de la temperatura('C / min) para pasar de TEMP1 a TEMP 2 en el programa de temperatura del horno. "End", significa una expresión de O'C / min.</p>
<p>Cap 1 READY 125° Temperature 125°</p>	<p>La línea superior muestra el tipo de inyector en posición 1 (frontal) y su temperatura. La línea inferior muestra la temperatura del sistema.</p>
<p>Pkd 2 READY 150° Temperature 150°</p>	<p>La línea superior muestra el tipo de inyector en la posición 2 (trasera) y la temperatura actual. La línea inferior muestra la temperatura del sistema</p>

Las siguientes pantallas en el cromatografo de gases AutoSystem XL está configurado para ajustar presión de gas..

<p>Split 1 READY 100 Flow 100ml/min</p>	<p>Esta pantalla dividida muestra el inyector 1 cuando es configurado como un inyector capilar. Al presionar [→Set] muestra la relación de la pantalla dividida.</p>
---	--

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> Press 1 READY 10 Initial 10 psi </div>	Muestra el gas portador para el inyector 1 cuando está configurado para hacer presión. Pulsando [→Set] muestra el flujo y velocidad en pantalla.
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> Press 1 2.0 TIME 1 999.0m </div>	Este es tiempo de espera en minutos para la presión1.

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> Prees 1 2.0 RATE End ml/m </div>	Tasa para el flujo 1. "End" indica que no hay ningún tipo de cambio. Una entrada de 999 es un tipo de rampa.
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> Flow 2 2.0 Initial 2.0 ml/m </div>	Muestra el flujo 2 del gas portador cuando el flujo este es configurado. Presionando [→set] muestra la presión y la velocidad en pantalla.
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> Flow 2 2.0 TIME 999.0 m </div>	El tiempo de retención del flujo 2. Un valor de 999 indica que el flujo se mantiene constante hasta el final de la corrida.
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> Flow 2 0.0 Initial End ml/m </div>	Tasa para el flujo 2 en ml/min. 'End' indica que no existe ningún cambio
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> FID 1 250° Temperature 250° </div>	La línea superior muestra el tipo de detector en la posición 1 y su temperatura real.

	La línea inferior muestra el punto de consigna.						
<table border="1"> <tr> <td>TCD 2</td> <td>300°</td> </tr> <tr> <td>Temperature</td> <td>300°</td> </tr> </table>	TCD 2	300°	Temperature	300°	<p>La línea superior muestra el tipo de detector en la posición 2 y su temperatura real.</p> <p>La línea inferior muestra el punto de consigna.</p>		
TCD 2	300°						
Temperature	300°						
<table border="1"> <tr> <td>FID 1 Range</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Initial</td> <td>1</td> </tr> </table>	FID 1 Range	1	Initial	1	<p>La línea superior muestra el tipo de detector, su posición y el rango actual.</p> <p>La línea inferior muestra el intervalo inicial.</p>		
FID 1 Range	1						
Initial	1						
<table border="1"> <tr> <td>TCD 2 Range</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Initial</td> <td>2</td> </tr> </table>	TCD 2 Range	2	Initial	2	<p>La línea superior muestra el tipo de detector, su posición y el rango actual.</p> <p>La línea inferior muestra el intervalo inicial</p>		
TCD 2 Range	2						
Initial	2						
<table border="1"> <tr> <td>Int 1 Output</td> <td>FID 1</td> </tr> <tr> <td>Initial</td> <td>FID 1</td> </tr> </table>	Int 1 Output	FID 1	Initial	FID 1	<p>La línea superior muestra si un integrador o grabadora está configurada para la salida del detector de 1. La línea inferior muestra que detector es conectado al dispositivo.</p>		
Int 1 Output	FID 1						
Initial	FID 1						
<table border="1"> <tr> <td>Rec</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Output TCD</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Initial TCD</td> <td>2</td> </tr> </table>	Rec	2	Output TCD	2	Initial TCD	2	<p>La línea superior muestra si un integrador o grabadora está configurada para la salida del detector 2. La línea inferior muestra que detector es conectado al dispositivo.</p>
Rec	2						
Output TCD	2						
Initial TCD	2						

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> <pre>FID 1 A/Z 1.2 mV Initial on</pre> </div>	<p>La línea superior muestra el tipo de detector en la posición 1 y la señal del detector.</p> <p>La línea inferior muestra el estado Autocero inicial.</p>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> <pre>TCD 2 A/Z 1.2 mV Initial on</pre> </div>	<p>La línea superior muestra el tipo de detector en la posición 2 y la señal del detector.</p> <p>La línea inferior muestra el estado Autocero inicial.</p>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> <pre>Time 2 Event Value 50 split 2</pre> </div>	<p>La línea inferior establece el tiempo de evento para una corrida de “2” minutos “Split 2” el flujo para 50 ml / min, después de la inyección de una muestra.</p>

V. Editar el método activo

Si ha leído y utilizado los capítulos de este manual de forma secuencial, como se recomienda, por ahora es probable que haya instalado y acondicionado una o dos columnas, y crear uno o dos detectores. También, usted probablemente no era consciente en el momento en que ha modificado algunos de los parámetros del Método activo. Desde las condiciones utilizadas no eran necesarias los requerimientos para el

análisis que se desea realizar, ahora se debe modificar el método activo para establecer su funcionamiento de los parámetros.

Ejemplos de cómo realizar las tareas que se enumeran a continuación se describen en las secciones que siguen. Usted debe, por supuesto, sustituir los valores por los nuestros.

- Establecimiento de programas de la temperatura del horno.
- Ajuste la temperatura del inyector / programas (PSS y POC).
- Ajuste la temperatura del detector.
- Visualización / ajuste del operador de presión de gas / programas (PPC)
- Visualización / ajuste del operador de flujo de gas / programas (PPC)
- Configuración de las válvulas.
- Ajuste de rango de FID, PID, NPD o FPD.
- Ajuste de la corriente del filamento TCD.
- Enrutamiento de la salida del detector
- Atenuamiento del detector de señales.
- Ajustar a cero el detector.
- Creación de una tabla de eventos programado.

Hasta este punto acaba de instalar una columna, establecer el portador de gas o flujo, y configurado el detector. Si Este todos los gases se encienden en la fuente de gas, y el cromatógrafo de gases Autosystem XL deberá estar encendido. Si usted acaba de crear un FID o FPD, usted debe encender la llama.

Después las tareas antes mencionadas representan un sección llamada "Método de utilidades". Se le muestra cómo generar, crear, copiar, borrar, editar e imprimir un método.

VI. Preparándose para editar el método activo

Dependiendo de lo que ha ocurrido antes de llegar a este capítulo, el horno de puerta puede o no ser cerrado. Para hacer más fácil seguir los ejemplos presentados en este capítulo:

1. Cerrar la puerta del horno.

Method 1	NOT RDY	
Ovn Det Inj		40°

Method 1	READY	
		75°

Una pantalla de estado parece que es similar a uno de los siguientes:

Tanto el NOT RDY y pantallas de estado READY muestran el actual número de método activo. En el ejemplo anterior, el método 1 es el método activo.

2. Si pulsa **[Status Escape]** una segunda vez, el análisis en tiempo total es demostrado. Si el sistema está listo o no, usted puede pasar a la
3. siguiente sección.

Nota: Cuando se cambia un parámetro de método activo, el cambio entra en vigor inmediatamente. Por ejemplo: Si el sistema está cambia de un inyector punto de consigna de temperatura, la p muestra el estado de RDY hasta alcanzar el nuevo punto de aju

Configuración del programa de entrada de temperatura del horno

El software AutoSystem XL GC le permite configurar cuatro niveles (que son **0** [isoterma], **1**, **2**, o **3**) con las claves **[Oven Prog]**, **[Time]**, **[Rate]**, **[InjectProg]**, **[Time]** y **[Rate]**.

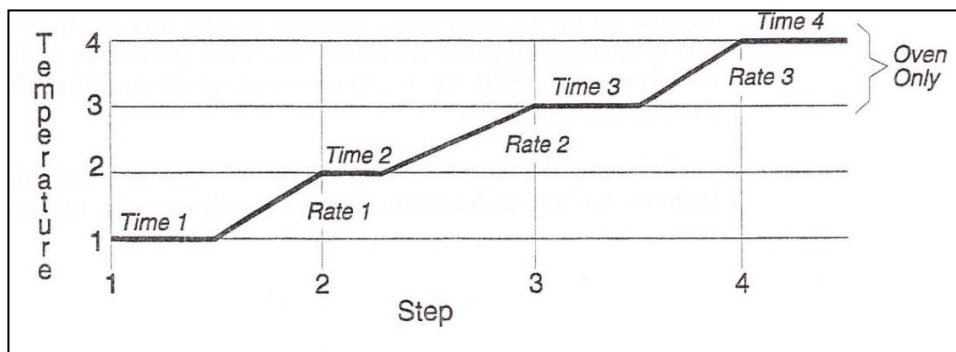


Fig. Esquema de Pasos del programa GC temperatura

Para una ejecución isotérmica, TIME 1 es equivalente al tiempo de ejecución total. Al del final del tiempo (TIME 1), los cambios de sistema para NOT RDY, se equilibra y luego se va READY.

Para cambiar el tiempo de retención:

4. Presionar **[Enter]**.

Oven	0.00m
TIME 1	999.9m

El tiempo 1 aparece en pantalla.

5. Introduzca un tiempo de retención adecuado para su análisis, por ejemplo, **25 min.**

Oven	0.00m
TIME 1	25.0m

Ahora muestra la ejecución del nuevo tiempo total.

6. Presione **[Enter]**.

Oven	100°
RATE 1	End

El RATE 1 aparece la pantalla.

Nota: Dado que la temperatura del horno se mantiene constante para la operación isotérmica, la tasa de la temperatura aumento se debe establecer en 0. Si el método activo que se está editando ya está isotérmica, el parámetro de RATE han sido adecuadamente fijado en 0 y esa parece en la pantalla por la palabra "End". Si otro programa

isotérmico se ha previamente establecido, un valor aparecerá en la pantalla. Por ejemplo:

Para establecer la RATE a 0:

- Presione **[0] [Enter]** o **[Delete] [Enter]**.

El valor se sustituye por la palabra "End".

Nota: Cada vez que un parámetro (RATE) se fija a "0", cualquier posterior del programa, si existe, se eliminan del Método activo.

VII. Configuración de un programa de one-ramp de temperatura

La creación de un programa de una rampa requiere introducir la siguiente información en la secuencia mostrada:

- La temperatura del horno inicial (TEMP 1).
- Tiempo isotérmico para la temperatura inicial (tiempo 1).
- Tasa de aumento de la temperatura del horno desde la inicial hasta la temperatura final (RATE 1).
- La temperatura del horno Final (TEMP 2).
- Tiempo isotérmico para la temperatura final (tiempo 2).
- Aumento de la temperatura de 0 °C/min, que significa el final del RATE.

El siguiente ejemplo muestra cómo convertir un programa isotérmico en un programa de una rampa con el método isotérmico parámetros de temperatura del horno como punto de partida:

Parámetro	Valor
TEMP 1	50 °C
TIME 1	5 min
RATE 1	2 °C/min
TEMP 2	70 °C
TIME 2	10 min
RATE 2	End (0 °C/min)

Para configurar de un programa de una rampa

1. Pulse **[OverProg]**.

```
Oven  NOT RDY  100°  
TEMP 1          █ 100°
```

El Time aparece en pantalla

2. Escriba 50 para TEMP 1

```
Oven  NOT RDY  90°  
TEMP 1          █ 50°
```

Los cambios en el estado el horno
RDY.

El cambio de la temperatura del horno se muestra en
la línea superior ya que el horno se enfría a la nueva temperatura.

3. Presione **[Enter]**

```
Oven  NOT RDY  0.00m  
TIME 1          █ 25.0m
```

1. Introduzca 5 para TIME 1, a continuación, presione **[Enter]**.

```
Oven  NOT RDY  75°  
RATE 1          █ End
```

RATE 1 aparecera en la pantalla.

2. Introduzca una rango para RATE 1 de 2°C/min, presione **[Enter]**.

```
Oven  NOT RDY  60°  
TEMP 2          █ 50°
```

La TEMP 2 aparecerá en pantalla.

```
Oven  NOT RDY  0.00m  
TIME 2          █ 0.00m
```

3. Para TEMP 2, introduzca la
temperatura de 70°C, presione

[Enter].

El TIME 2 aparecerá en pantalla.

4. Introduzca un tiempo de 10 minutos, a continuación, presione **[Enter]**.

```
Oven  NOT RDY  51°  
RATE 2          █ End
```

El RATE 2 aparecerá en pantalla

5. Si un valor aparece en vez de **End**, presione **[0] [Enter]** o **[Delete] [Enter]**.

VIII. Establecimiento de un programa de temperatura multi-rango.

El siguiente ejemplo muestra cómo ampliar el rango anterior del programa (una rampa) a un programa de dos rampas. Los valores de parámetros utilizados en el ejemplo se muestran a continuación:

Parámetro	Valor
RATE 2	4 °C/min
TEMP 3	100 °C
TIME 3	5 min
RATE 3	0 °C/min

Si el RATE no está en la pantalla, pulse **[Rate]** dos veces para que aparezca.

```
Oven   NOT RDY   60°  
RATE 2           █ End
```

1. Introduzca una rate de 4 , a continuación, presione **[Enter]**.

```
Oven   NOT RDY   60°  
TEMP 3           █ 70°
```

La TEMP 3 está en pantalla.

2. Introducir la temperatura de 100, luego presione **[Enter]**

```
Oven           0.00m  
TIME 3         █ 0.00m
```

El TIME 3 aparecerá.

3. Introduzca un tiempo de 5, a continuación, presione **[Enter]**.

```
Oven           50°  
RATE 3         █ End
```

El RATE 3 aparece en pantalla.

4. Si "End" no aparece, pulse **[01] [Enter]** o **[Delete] [Enter]** para poner fin a temperatura del programa.

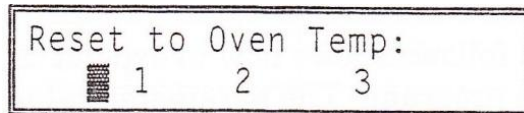
Nota: Puede introducir RATE 3 TEMP 4, y TIME 4 para programar una rampa de tres.

IX. Mantenimiento de una temperatura de horno

Mientras se ejecuta un programa de temperatura, puede mantener temperatura del horno mediante el ajuste de la temperatura de las medidas no ejecutadas.

Para mantener una temperatura de horno durante un programa de temperatura:

1. Presione **[Reset Oven]** y aparecerá la siguiente pantalla:



2. Pulse **[→set]** para mover el cursor del horno de Temp 1 a Temp 2. a continuación, pulse **[Enter]**.

El horno se calienta básicamente al valor de temperatura Temp 2 y se mantiene, en lugar de ejecutar el tiempo asociado con Temp 2.

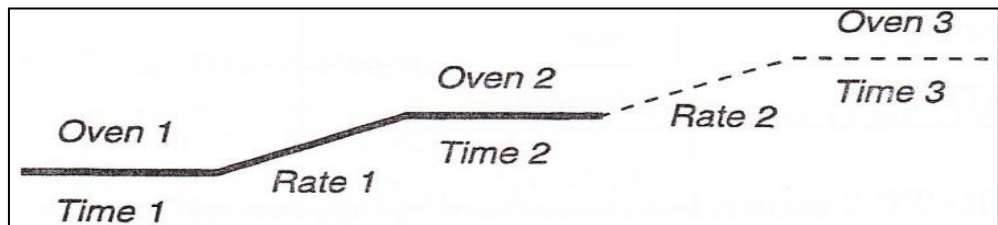


Fig: Temperatura del horno Programa de RATE I.

3. Pulse el botón **[Run]** para continuar con el siguiente paso del programa o **[Reset Oven][Enter]** para restablecer el horno para el comienzo del programa de la temperatura.

Para mantener el programa de horno a una hora específica durante o

antes de una corrida, utilice el horno en HOLD evento programado.
Vea la sección de eventos programados.

X. Ajuste de temperatura del inyector

Columna capilar (split/splitless), programada en columna y programado con split/splitless.

Los ejemplos en esta sección se derivan de la modificación del método activo con un inyector capilar instalado y configurado en la posición 1 (frontal), y una bolsa del inyector instalado y configurado en la posición 2 (posterior).


Esta sección contiene ejemplos tal cómo:

- Pantallas de visualización de temperatura del inyector.
- Cambios de temperatura de inyección.
- Apague de calentadores de inyección.
- Encendido de calentadores de inyección.
- Establecer el modo de programación del horno.
- Establecer la entrada en modo de programación.

Visualizar las pantallas del inyector de temperatura.

- 1 Presione [Inyectar Prog].

Una pantalla de inyector similar a la siguiente pantalla.

Cap 1	150°
Temperature	 150°

- 2 Para mostrar la pantalla del inyector 2, presione **[Intrer]**, o presione **[InyectProg]** otra vez.

XI. Cambio de temperatura del inyector

- 1 Mostrar en la pantalla las propiedades de inyección.
- 2 Introduzca un punto de consigna de temperatura del inyector de 275. La pantalla cambia a:

```
Cap 1 NOT RDY 165°
Temperature █ 275°
```

Los cambios de estado del inyector listo para NOT READY, se calienta hasta la nueva la temperatura. En pantalla aparece como se muestra a continuación:

```
Cap 1 275°
Temperature █ 275°
```

XII. Apagar calentador del inyector

1. Mostrar en pantalla las propiedades del inyector, por ejemplo:

```
Pkd 2 325°
Temperature █ 325°
```

2. Presionar **[Off/No 0]**. La pantalla cambia a:

```
Pkd 2 325°
Temperature █ 0°
```

3. Pulse **[Enter]**. La pantalla cambia a:

```
Pkd 2 295°
Temperature █ Off
```

Como el inyector se enfría, la temperatura del inyector se muestra en la parte superior en la línea de la pantalla de arriba.

Con inyectores programados (PSS o POC), una temperatura posible.

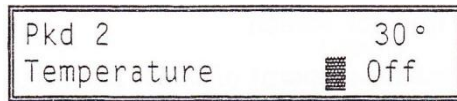
Por lo tanto, cuando 0 se introduce para el punto de control de inicial, las siguientes aparecerá la pantalla:

```
PSS 1 READY 50°C
Choose: █ 0° Off
```

4. Mover el cursor a la posición de apagado y presione **[Enter]**.

XIII. Encender el calentador del inyector

1. Muestra la pantalla las propiedades del inyector, por ejemplo:



2. Escriba una adecuada temperatura, a continuación pulse **[Enter]**.

XIV. Modo de programación de la temperatura del horno

En este modo el inyector POC o PSS se configura como horno. La temperatura del inyector se establece en la temperatura del horno más 5°C. Este es el modo predeterminado y más fácil de operar. Por ejemplo si se programa el horno se efectúa de la siguiente manera:

Parámetro	Valor
Temp 1	50 °C
Time 1	2 min
Rate 1	5°C/min
Temp 2	240 °C
Time 2	10 min

La temperatura del inyector inicial será de 55 ° C. Cuando la corrida comienza GC, el inyector se calentará a esta temperatura durante 2 minutos, entonces será la rampa de hasta 245 ° C a 5 ° C / min y se mantendrá durante 10 min.

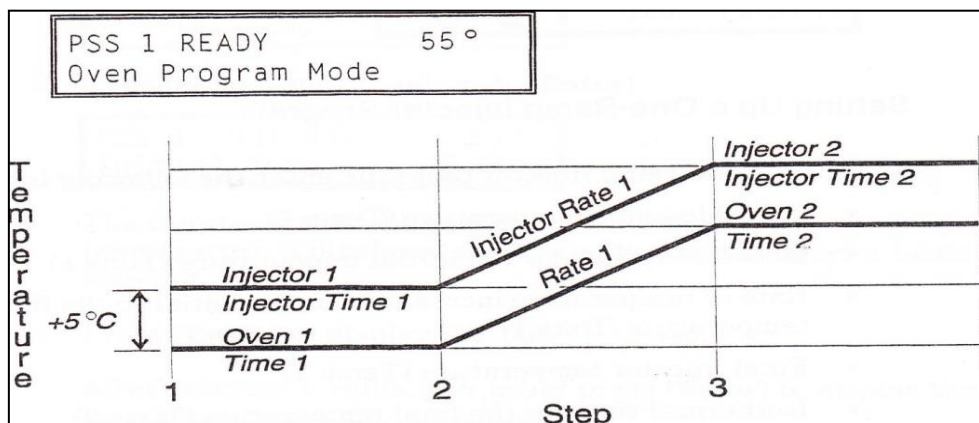


Fig. Programa de temperatura del horno de modo PSS.

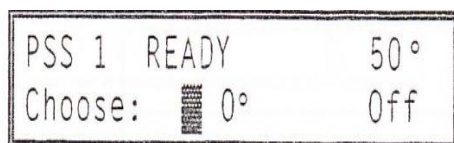
Precaución

Abriendo la puerta del horno se apaga el horno y el calentador del inyector. Además, si se restablece el horno la temperatura durante la siguiente corrida a nivel, la temperatura del inyector se mantiene.

XV. Modo de introducir programación de temperatura

La entrada al modo de programación de la temperatura se utiliza cuando el inyector POC o PSS es configurado como entrada. En este modo, el inyector de temperatura se programa de la siguiente manera cuando se ha introducido en el método. Los valores iniciales por defecto son: Temp 1 es 50 ° C, Tiempo es 999 minutos, y Rate es 0. Con inyectores no programados, una entrada de 0 vuelve fuera de la zona calentada.

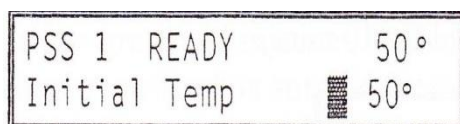
Con inyectores programados, una temperatura de 0 es posible. Por lo tanto, cuando 0 que se consignan para el punto de control de inyección inicial, se muestra la siguiente pantalla:



A screenshot of a control panel display showing the following text: "PSS 1 READY" followed by "50°" on the right. Below that, "Choose:" is followed by a vertical bar cursor pointing to "0°", and "Off" is shown to the right.

3. Sitúe el cursor junto a 0° para seleccionar una temperatura de 0, o la posición el cursor al lado de **OFF** para apagar el calentador del inyector.

4. Presione [InjectProg]. La temperatura inicial aparece en pantalla



A screenshot of a control panel display showing the following text: "PSS 1 READY" followed by "50°" on the right. Below that, "Initial Temp" is followed by a vertical bar cursor pointing to "50°".

XVI. Configuración de un programa de inyector de una rampa.

Para configurar un programa de una rampa de inyectores, introduzca la siguiente información:

- temperatura inicial del inyector (Temp 1).
- Tiempo isotérmico para la temperatura inicial (Time 1).
- Tasa de aumento de la temperatura desde la inicial hasta la temperatura final del inyector (Rate 1).
- Temperatura final del inyector (Temp 2).
- Tiempo isotérmico para la temperatura final (Time 2).
- Aumento de la temperatura de 0 ° C/ min que significa el final de la tasa de aumento al paso dos.

El siguiente ejemplo muestra cómo construir una rampa de temperatura de programa para su inyector POC o PSS. Los valores de los parámetros utilizados en el ejemplo se muestran a continuación:

Parámetro	Valor
Inj Temp 1	60 °C
Inj Time 1	0 min
Inj Rate 1	100 °C/min
Inj Temp 2	250 °C
Inj Time 2	15 min
Inj Rate 2	End (0°C/min)

Para configurar un programa de rampa de un inyector:

1. Presione **[Inject Prog]**.

```
PSS 1  READY      50°  
Initial Temp      █ 50°
```

2. Digite 60 para Temp 1 y presione **[Enter]**.

```
PSS 1  NOT RDY   55°  
Initial Temp      █ 60°
```

Los cambios de estado para el inyector NOT RDY. El cambio de la temperatura del inyector se visualiza en la línea superior ya que el inyector se calienta al punto dado.

3. Presione **[Enter]** para mostrar la pantalla de Tiempo 1.

Después de introducir un valor, debe presionar **[Enter]** para visualizar la siguiente pantalla:

PSS 1	READY	60 °
TIME 1		999.9m

4. Digite 0 minutos para Time 1 y pulse **[Enter]**. Presion nuevo para mostrar la pantalla Rate 1.

PSS 1	READY	60 °
RATE 1		0°/min

5. Digite 100 °C/min para la rampa Rate 1 y presione **[Enter]**
Pulse **[Enter]** de nuevo para mostrar la pantalla de Temp 2:

PSS 1	READY	60 °
TEMP 2		60 °

6. Digite 250 °C para Temp 2 y presione **[Enter]**.Pulse **[Enter]** de nuevo para mostrar en pantalla Time 2:

PSS 1	READY	60 °
TIME 2		999.9m

7. Digita 15 min para Time 2 y pulse **[Enter]**. Presione**[Enter]** de nuevo para mostrar en pantalla Rate 2:

PSS 1	READY	60 °
RATE 2		End

8. Si **End** no aparece, presione**[0]** **[Enter]** o **[Delete]** **[Enter]** para poner fin al programa de temperatura.

Nota: puede entrar a Rate 2, Temp 3, y el time 3 para ajustar hasta una segunda rampa. Una entrada de 999 para la tarifa 1 o 2 hará que el inyector se caliente.

Precaución

Si el tiempo del inyector se establece con el valor por defecto de 999, la temperatura del inyector se mantendrá con la temperatura del horno programada hasta el final. De lo contrario, la temperatura del inyector

se mantendrá por el tiempo que ha introducido, o hasta que la corrida termine.

Precaución

Si usted tiene la opción sub-ambiente, los inyectores POC y PSS están vinculados a la opción sub-ambiente del horno; por lo tanto, los inyectores no pueden operar por debajo de la temperatura ambiental del horno.

XVII. Configuración de la presión del gas transportador en la versión manual.

Visualización / ajuste de la presión del gas portador depende de su versión del Cromatógrafo de gases, si es la versión PPC o versión manual.

Nota: Cuando el punto de ajuste es mayor que cero, el Cromatógrafo de gases compara el punto de consigna y la lectura actual de la presión. Si la presión actual no está dentro de la ventana de READY, el "NOT RDY" aparece el estado.

Cuando la presión de entrada se encuentra dentro de la ventana de READY, NOT RDY desaparece de la pantalla

Para ver o establecer el transportador de presión:

1. Presione [**CarrierProg**]

En este ejemplo, el cromatógrafo de gases está configurado con el modo capilar de la presión. La pantalla que aparece **Pres 1**. Pulse [→Set] para ver el flujo y la velocidad en pantalla.

```
Pres 1  READY  10.0  
Initial  █ 10.0 psi>
```

```
Flow 1  2.1 mL/m  
Vel 1   26.5 cm/s >
```

2. Digite valor inicial de la presión, presione **[Enter]**

El Time 1 aparece en pantalla:

```
Pres 1  READY  0.0  
TIME 1  █ 999.0m
```

3. Escriba el valor de Time inicial, a continuación, presione **[Enter]**.

El Rate 1 aparece pantalla:

```
Pres 1  READY  0.0  
RATE 1  █ 1 psi/m
```

El rango es de 0 (final) a 99. Una tasa de 999 es un ajuste

Precaución

El modo balístico de la programación no es recomendado establecer un programa de tasa sería más reproducible.

4. Escriba el valor de la tasa inicial, y luego pulsar **[Enter]**.

```
Pres 1  READY  0.0  
Step 2  █ 50 psi
```

5. Escriba el valor de la **presión del paso 2**, a continua

[Enter].

```
Pres 1  READY  0.0  
TIME 2  █ 999.0m
```

6. Escriba el valor del **tiempo del paso 2**, a continuación, presione

[Enter].

```
Pres 1  READY  0.0  
RATE 2  █ 1 psi/m
```

7. Escriba el valor de **Rate del paso 2**, a continuación, presione

[Enter].

Para ver la pantalla:

1. Pulse [**CarrierProg**].

Una pantalla similar a la siguiente para inyector 1.

Pres 1	25.4
Set	25.0 psi

La pantalla muestra una lectura de presión digital de la presión real (línea superior) y el ajuste de presión (línea inferior).

2. Si el cromatógrafo tiene un inyector capilar en segundo lugar, puede verse la pantalla de presión al presionar [**Enter**] una vez en la pantalla de presión **CarrierProg** dos veces si otro parámetro está en la pantalla.

Para ajustar la presión del gas portador:

1. Escriba un nuevo valor de punto de consigna, por ejemplo, 20, a continuación, presione [**Enter**]. La pantalla cambia a:

Pres 1	NOT RDY	25.4
Set		20.0 psi

Nota:

Cuando el punto de ajuste es mayor que cero, el Cromatógrafo compara la lectura de la presión de consigna y el actual. Si la p actual no está dentro de la ventana de READY, el "NOTRDY" aparece en el estado. Cuando la presión de entrada se encuentra dentro de la Ventana de READY, NOT RDY desaparece de la pantalla.

2. Ajustar la presión al punto de control con el mando de control de presión.

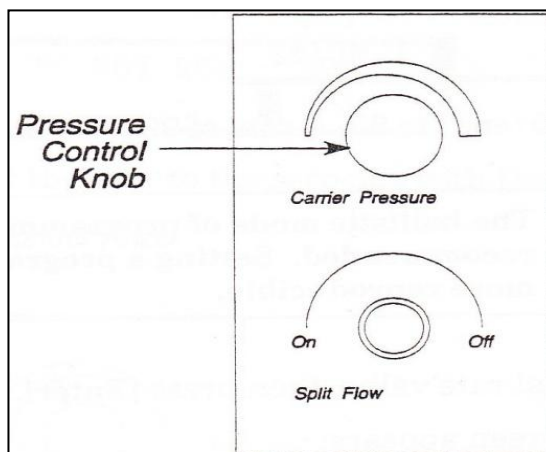


Fig. Botón de control de presión.

Nota:

Introducción de un punto de consigna de "0" desactiva el modo
READY / NOT READY.

XVIII. Configuración del flujo del gas transportador en la versión manual

Programación / configuración del flujo del gas portador depende de su versión de Autosystem XL GC, si es la versión manual.

Para establecer el flujo portador

1. Presione **[ProgCarrier]**.

En este ejemplo, el Cromatógrafo de gas está configurado el flujo con el modo capilar. El **Flow 1** de flujo aparece en pantalla. Pulse **[→Set]** para ver la en pantalla la presión y la velocidad.

```
Flow 1  READY  2.1
Initial  ███  2.0 mL/m >
```

```
Pres 1      10.2 psi
Vel  1      26.7 cm/s >
```

2. Escriba el valor de flujo inicial, a continuación, presione **[Enter]**.

El **Time 1** aparece en pantalla:

```
Flow 1  READY  2.0
TIME 1  ███  999.0m
```

3. Escriba el valor del tiempo inicial, a continuación, presione **[Enter]**.

La **Rate 1** aparece en pantalla:

```
Flow 1  READY  2.0
RATE 1  ████ 1 mL/m2
```

El rango es de 0 (End) a 99. Una **rate** de 999 es un ajuste balístico.

Precaución

El modo de balísticos de programación no es recomendado.

Establecer un programa de una tasa sería más reproducible.

4. Escriba el valor del tasa inicial, y luego pulsar **[Enter]**.

Step 2 aparece en pantalla:

```
Flow 1  READY  2.0
Step 2  ████ 5.0 mL
```

5. Escriba el valor del flujo de Step 2, a continuación, presione **[Enter]**.

Time 2 aparece en pantalla:

```
Flow 1  READY  2.0
TIME 2  ████ 999.0m
```

6. Escriba el valor del tiempo para Step 2, y luego pulsar **[Enter]**.

El **Rate 2** aparece en pantalla:

```
Flow 1  READY  20.0
RATE 2  ████ 1 mL/m2
```

7. Escriba el valor de la tasa para Step 2, a continuación, presione **[Enter]**.

8. Pulse el tecla **[InjectProg]** para seleccionar e introducir los tipos división de flujo.

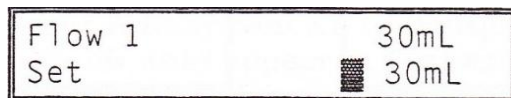
XIX. Programación / configuración de flujo del gas portador de forma manual

Para ver la pantalla:

Pulse **[CarrierProg]**.

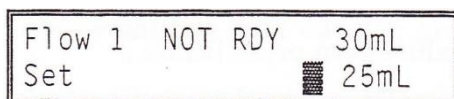
Una pantalla similar a la siguiente aparece si un controlador de flujo con la lectura de flujo opcional se ha instalado en la posición La línea

superior muestra el flujo real. La línea inferior muestra el punto de control.



Para ajustar el flujo:

1. Introduzca un nuevo valor, por ejemplo, 25. La pantalla cambia a



2. Ajuste el flujo hacia el punto de control con el mando de control de flujo

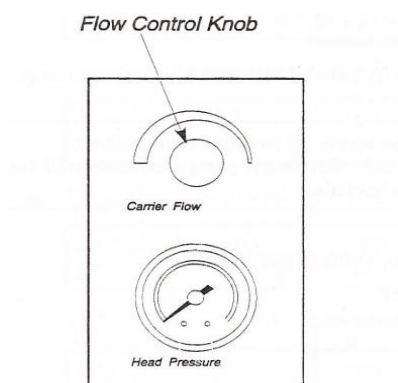


Figure 9-6. Flow control knob.

Nota: Introducción de un punto de referencia de "0"(apagado) inhabilita control READY / NOT RDY.

Programación / Configuración de la velocidad del gas en la versión PPC.

Programación / ajuste de la velocidad del gas portador depende la versión del Autosystem XL GC. Puede establecer la velocidad del gas portador sólo si usted tiene la Versión PPC.

Para ver o establecer la velocidad del gas portador:

1. Presione **[CarrierProg]**.

En este ejemplo, el Cromatógrafo de gases la velocidad está configurada con el modo capilar. Vel 1 aparece en pantalla. Pulse **[→Set]** para ver ella presión y flujo en pantalla.

```
Vel 1  READY      30.0
Initial █ 30.0 cm/s >
```

```
Pres 1      18.0 psi
Flow 1      2.5 mL/m >
```

2. Escriba el valor de velocidad inicial, a continuación, presione **[Enter]**.

El **Time 1** aparece en pantalla:

```
Vel 1  READY      0.0
TIME 1 █ 999.0m
```

3. Escriba el valor del tiempo inicial, a continuación, presione **[Enter]**.

La **Rate 1** aparece en pantalla:

```
Vel 1  READY      0.0
RATE 1 █ 1 cm/sm
```

El rango es de 0 (End) a 99. Una **rate** de 999 es un ajuste balístico.

Precaución

El modo de balísticos de programación no es recomendado.

Establecer un programa de una tasa sería más reproducible.


4. Escriba el valor del tasa inicial, y luego pulsar **[Enter]**.

Step 2 aparece en pantalla:

```
Vel 1  READY      0.0
Step 2 █ 30.0 cm/sm
```


5. Escriba el valor del velocidad de Step 2, a continuación, presione **[Enter]**.

Time 2 aparece en pantalla:

Vel 1	READY	0.0
TIME 2		999.0m

6. Escriba el valor del tiempo de Step 2, luego presione **[Enter]**.

El Rate 2 aparece en pantalla:

Vel 1	READY	0.0
RATE 2		1 cm/sm

7. Escriba el valor de la tasa de Step 2, a continuación, presione **[Enter]**

ANEXO Nº5

CROMATOGRAMAS OBTENIDOS



Figura N°24. Cromatograma obtenido con el Metanol puro.

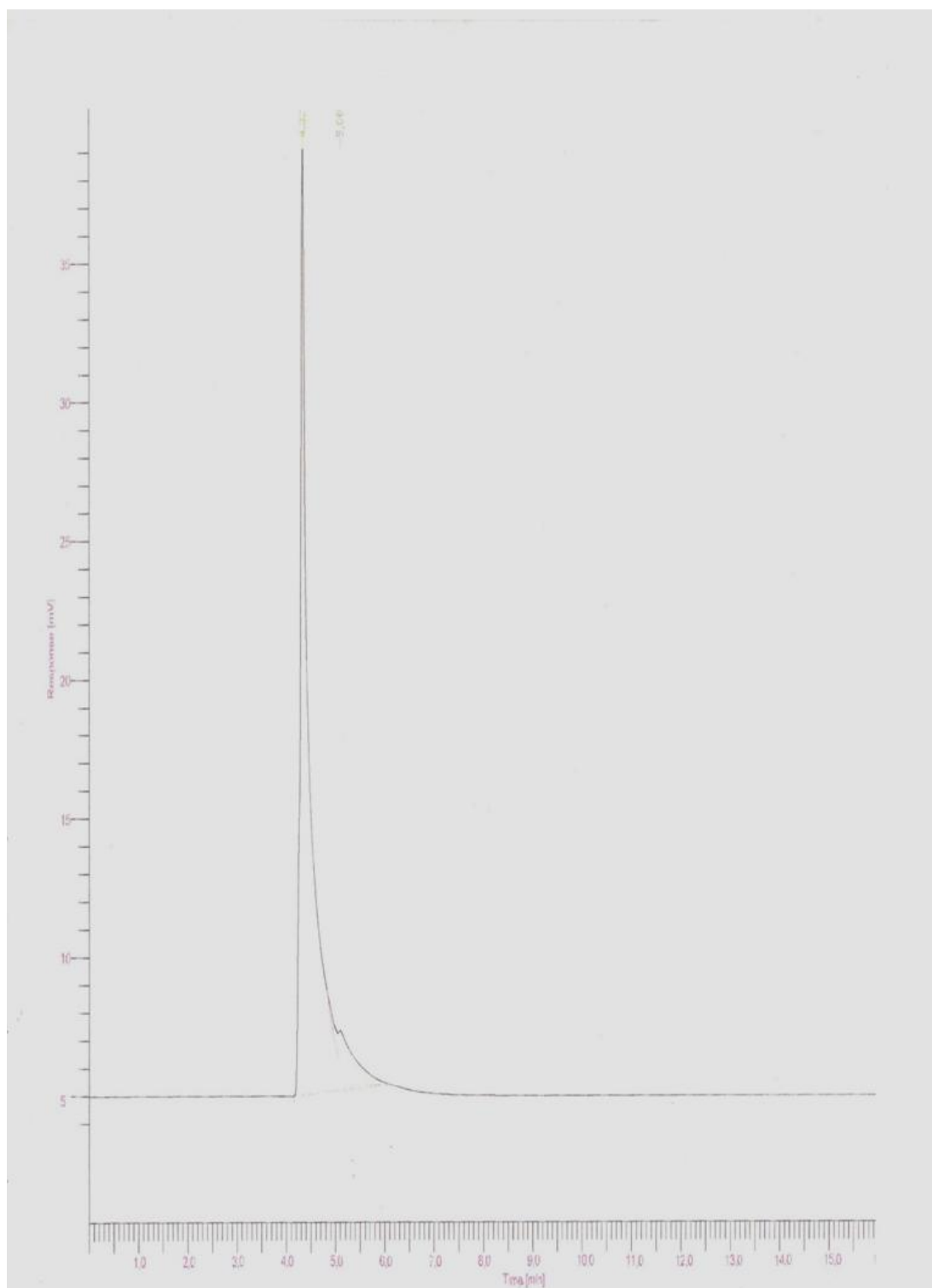


Figura N°25. Cromatograma obtenido con el etanol puro.

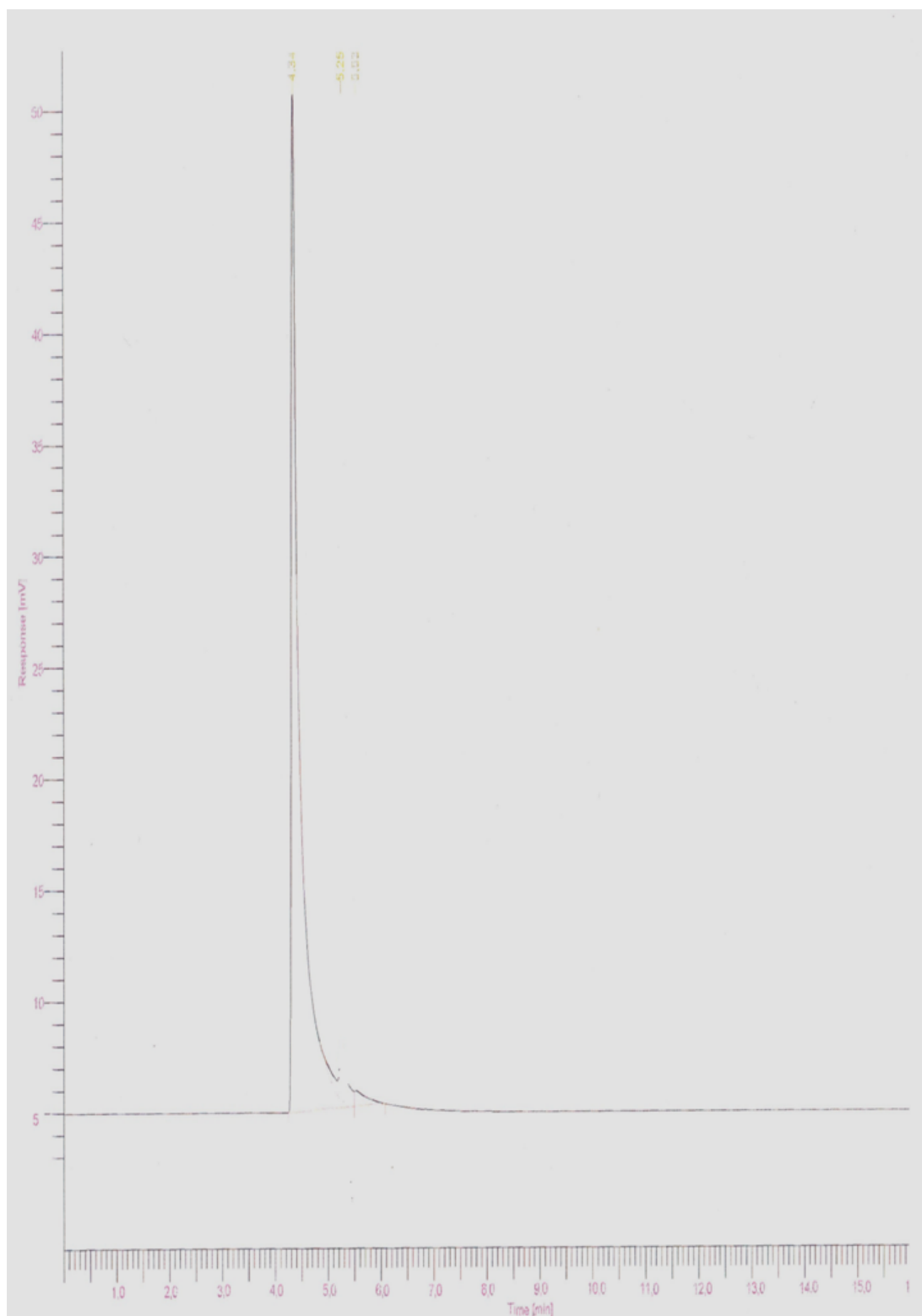


Figura N°26. Cromatograma obtenido con el butanol puro

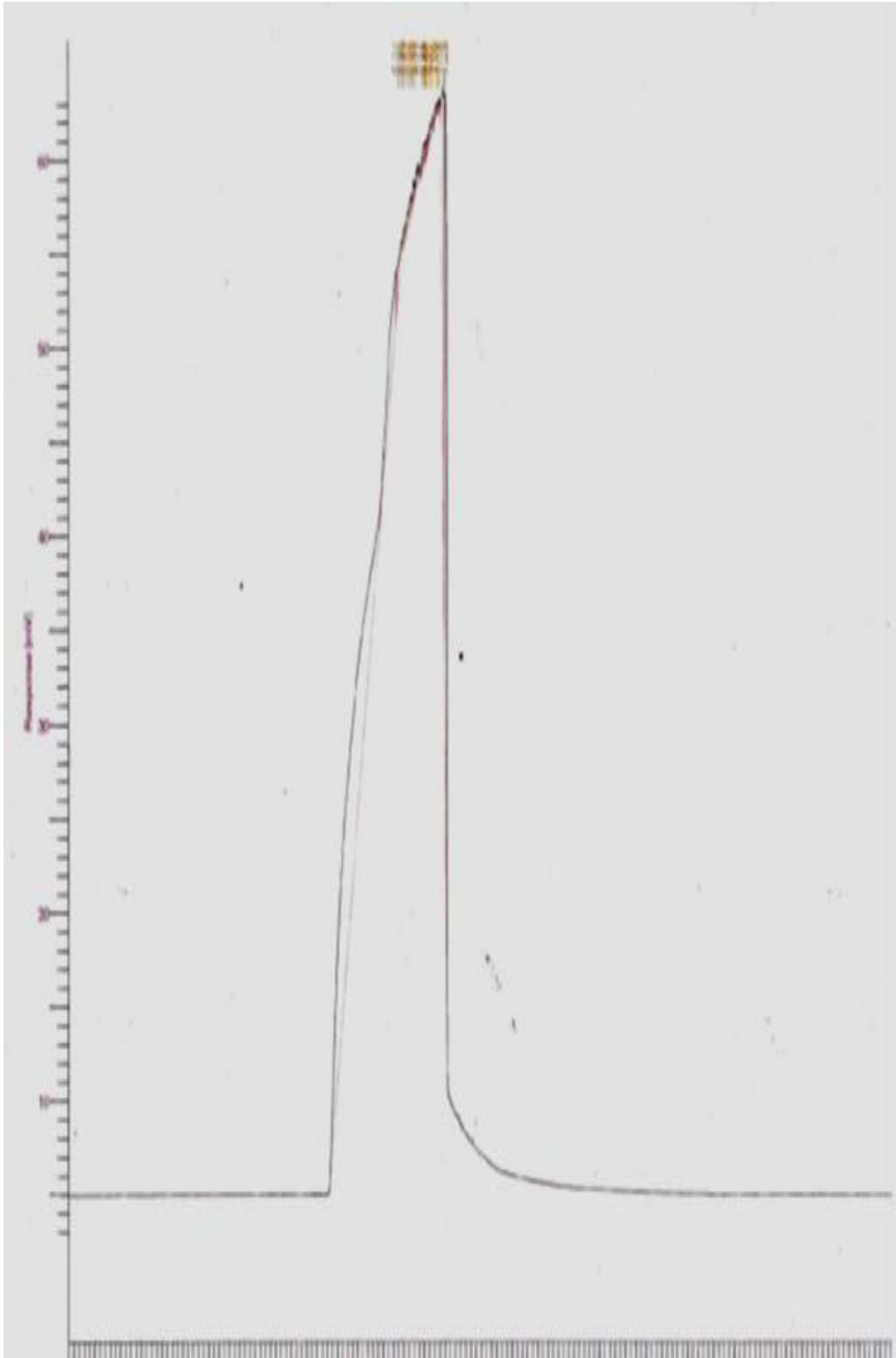


Figura N°27. Primer Cromatograma obtenido con la mezcla Etanol, Metanol y Butanol.

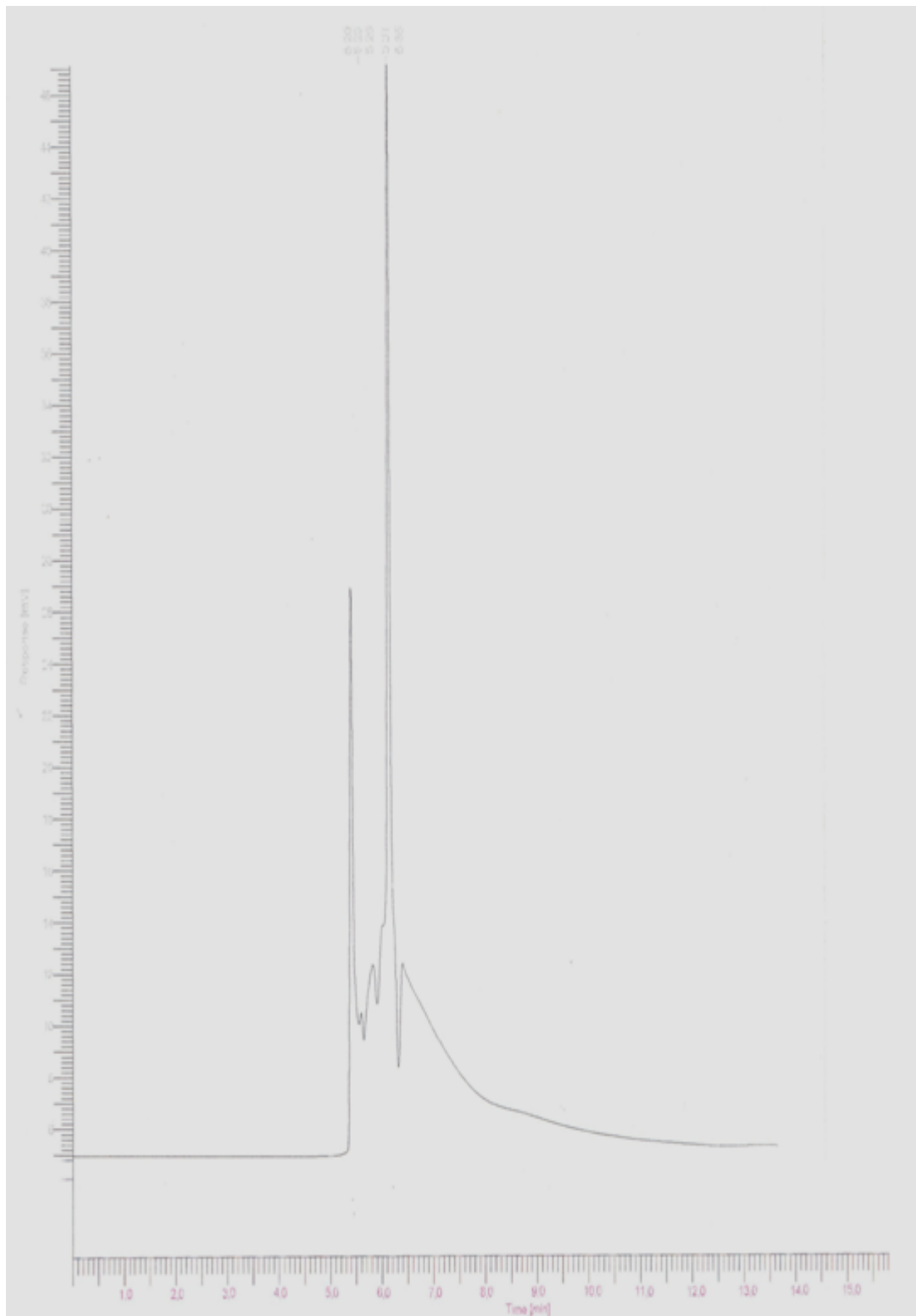


Figura N°28. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol a 1.5 psi de presión.

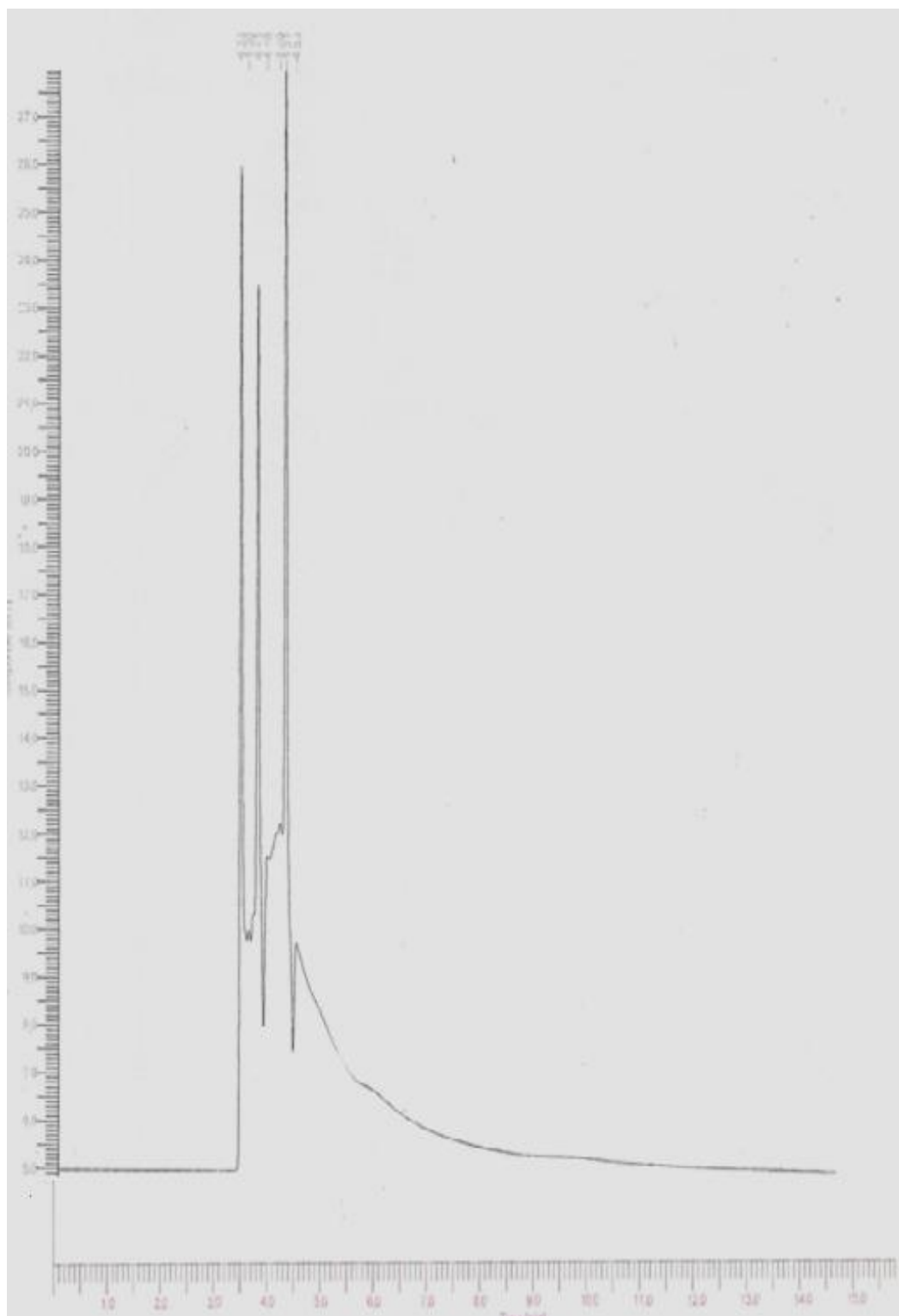


Figura N°29. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol a 1.8 psi de presión.

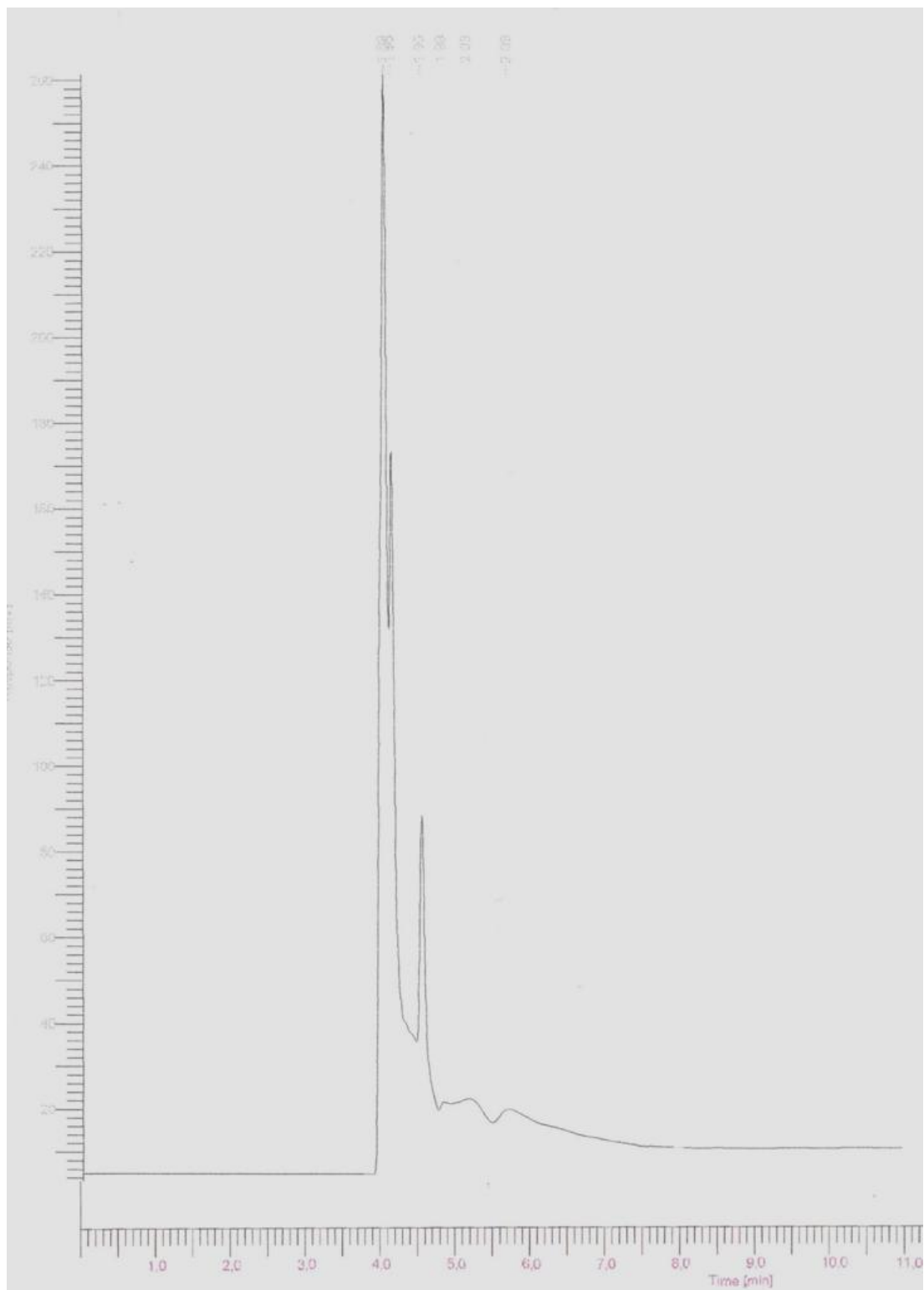


Figura N° 30. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol a 2.0 psi de presión.

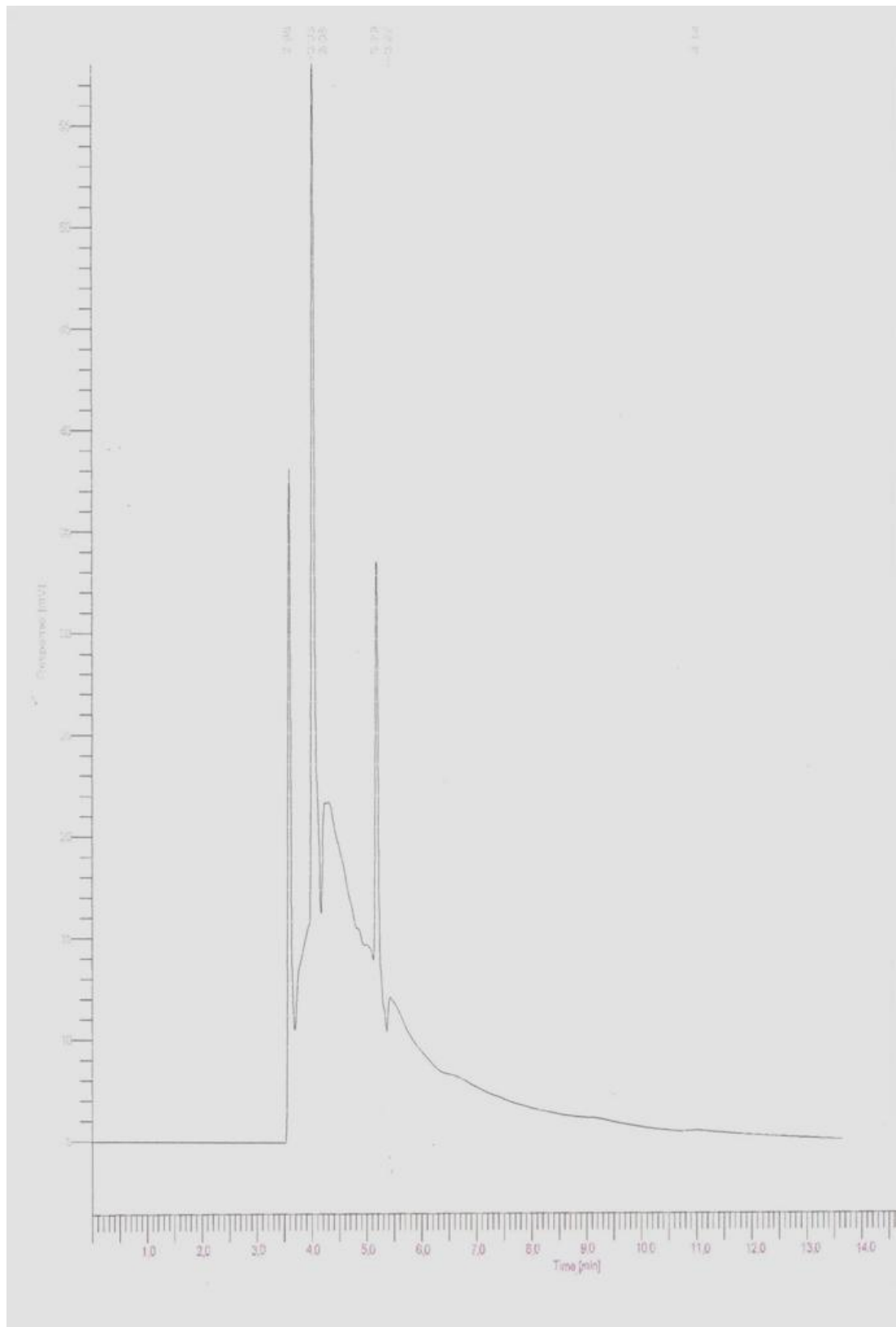


Figura N°31. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol a 2.5 psi de presión.

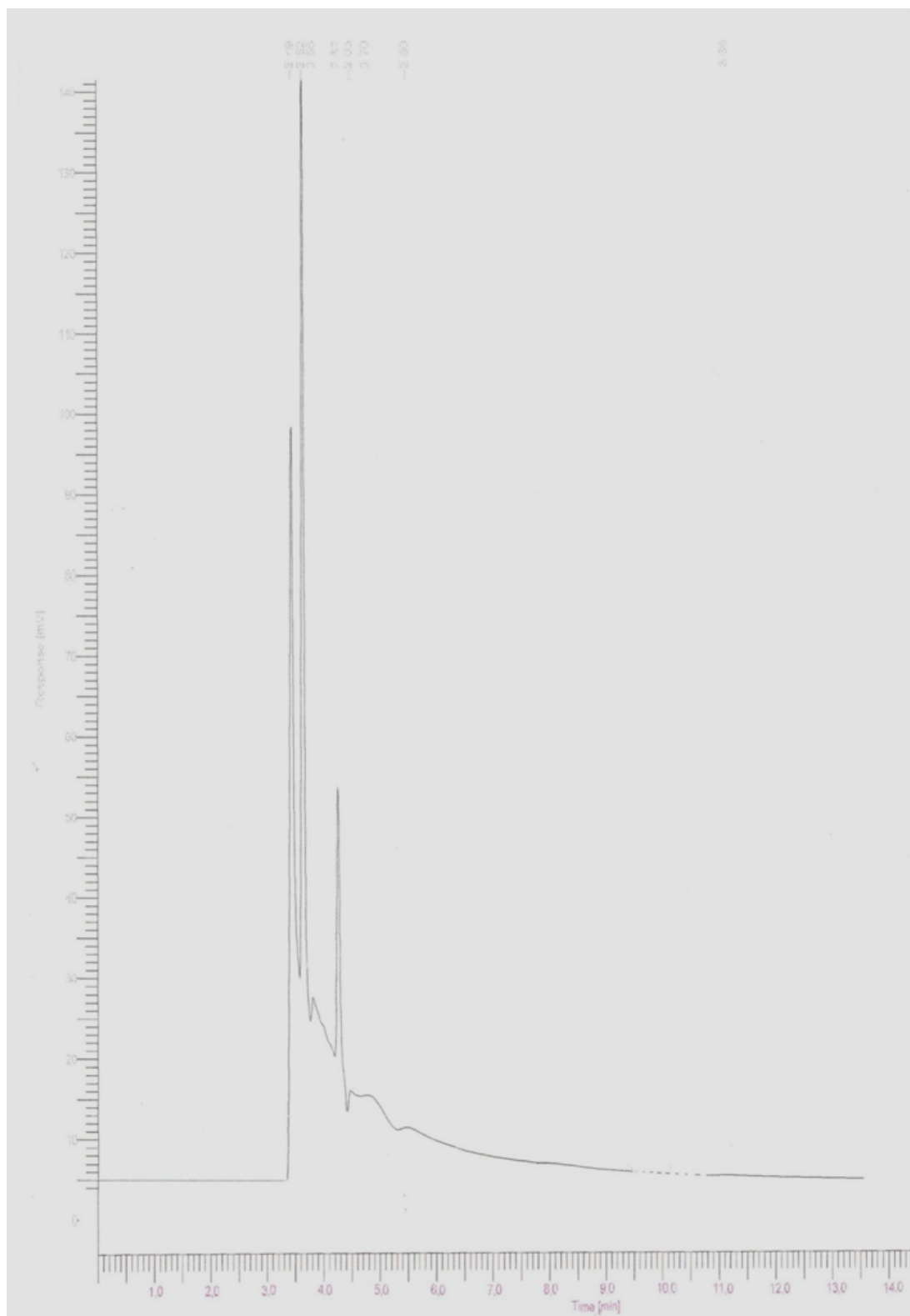


Figura N°32. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol a 3.0 psi de presión.

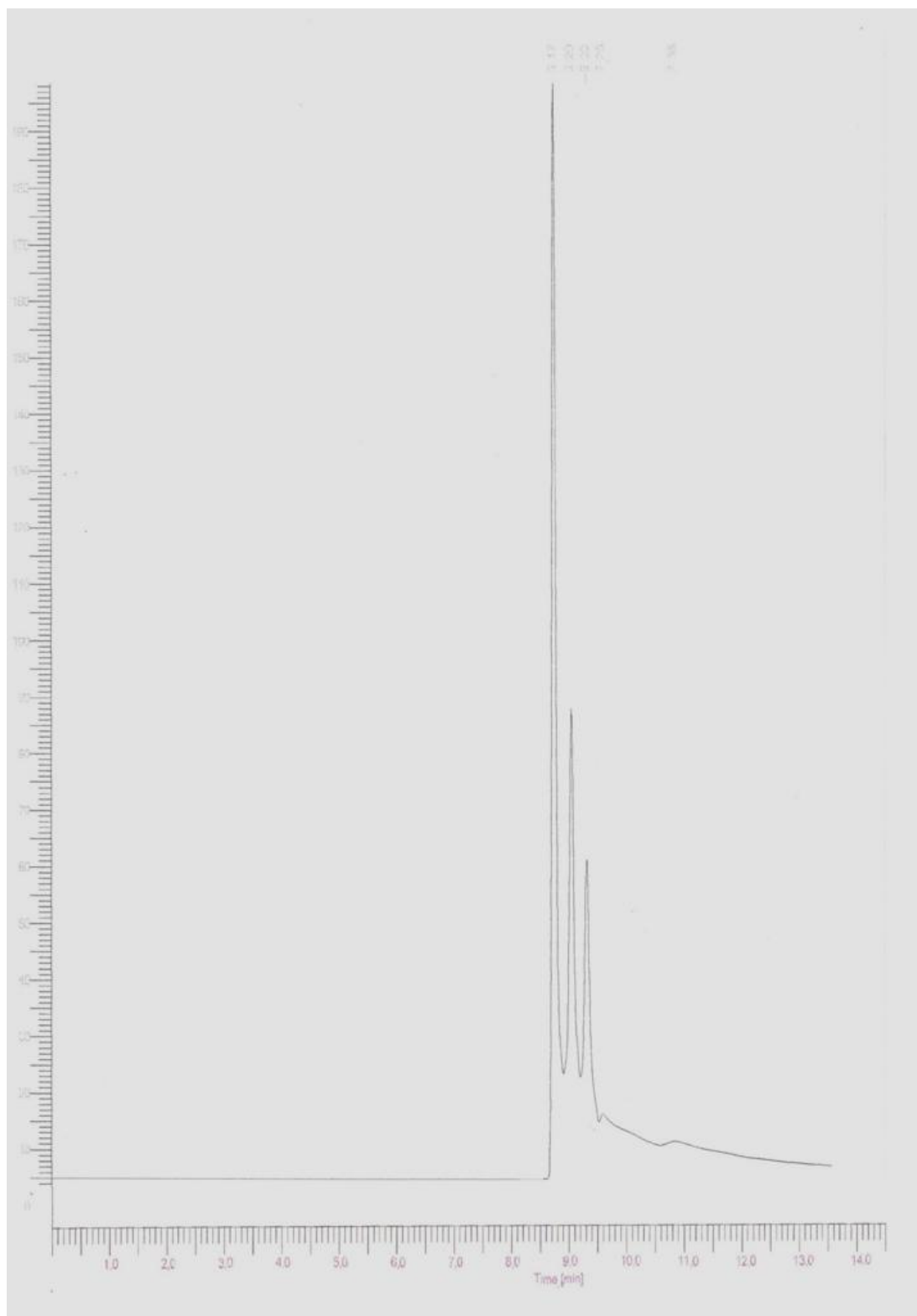


Figura N°33. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol a 3.5 psi de presión.

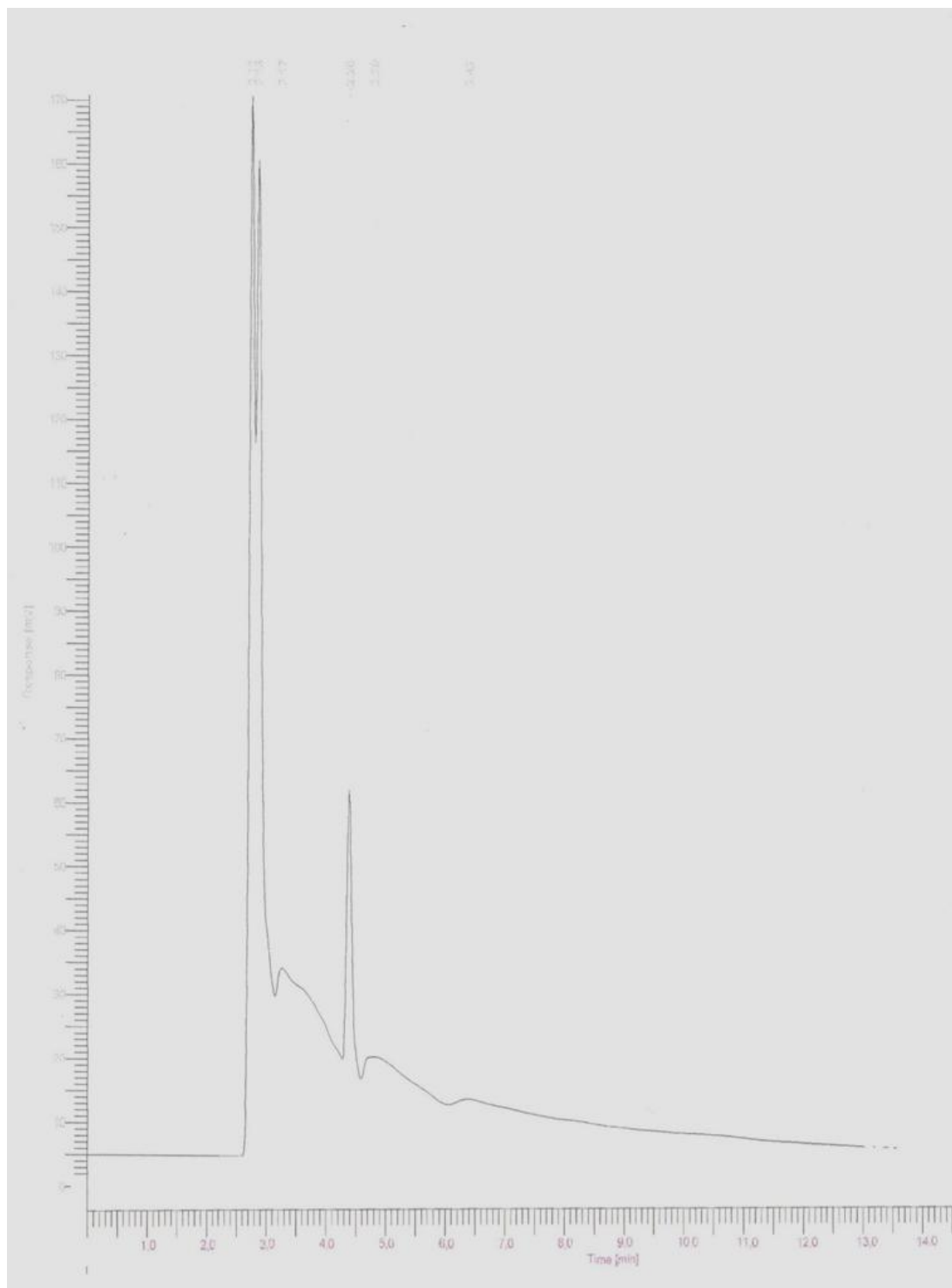


Figura N°34. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol con Split 10

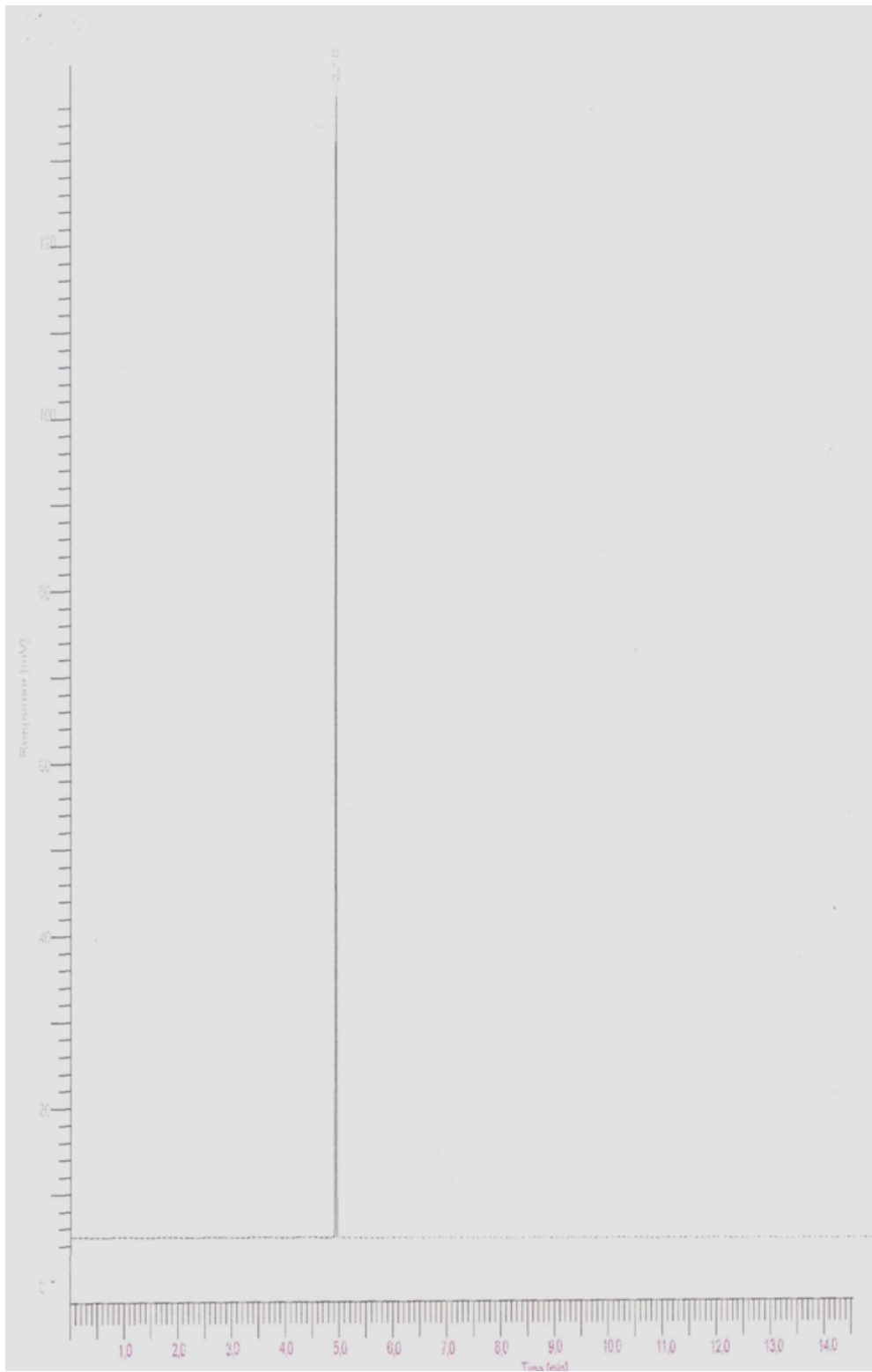
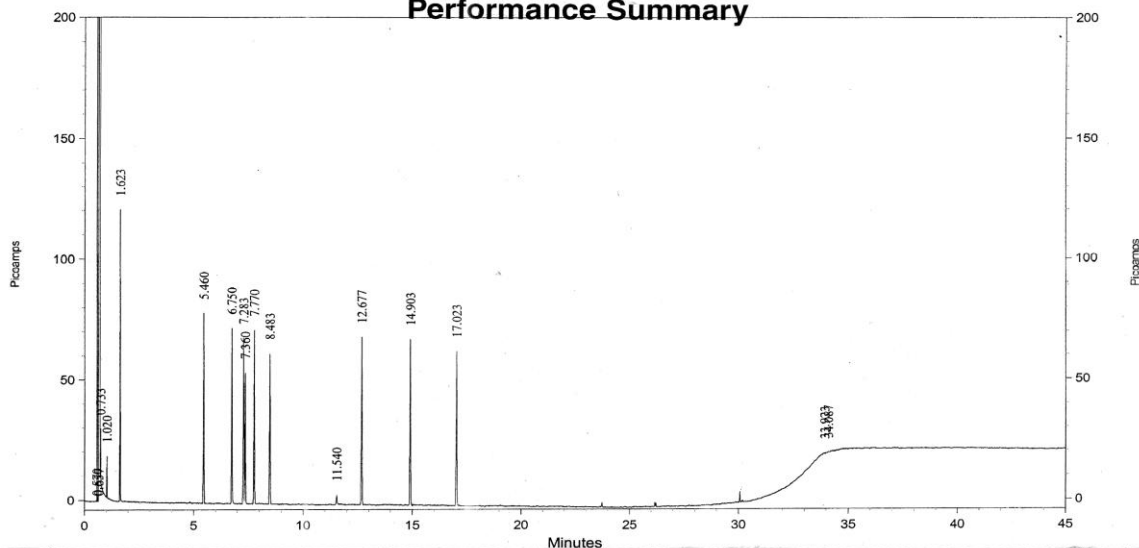


Figura N°35. Cromatograma obtenido con la mezcla de Etanol, Metanol y Butanol con Split 5.

ANEXO N° 6

CERTIFICADOS DE COLUMNA Y REACTIVOS

Performance Summary



PART # N9316007

ELITE 1 15m x 0.25mm x .25µm

SERIAL # 466544

TEMP PROGRAM: 40° (0 min) to 180° (0 min) @ 6°/min to 330° (15 min) @ 15°/min

INJ. TYPE: SPLIT

INJ. TEMP: 250° C

DET. TYPE: FID

DET. TEMP: 330° C

LINEAR VELOCITY: 40 cm/sec.

SPLIT FLOW: 40 ml/min. @ 40° C

GC 14 A Results

PK #	Retention Time	Analyte Name	Width at 50% height	Relative RT	Peak Height Ratio
5	1.62	2,3-Butanediol	0.01	0.22	1.53
6	5.46	Decane	0.03	1.00	1.00
7	6.75	1-Octanol	0.03	1.26	0.92
8	7.28	2,6-Dimethylphenol	0.03	1.37	0.87
9	7.36	Nonanal	0.03	1.39	0.69
10	7.77	Undecane	0.03	1.47	0.91
11	8.48	2,6-Dimethylaniline	0.04	1.62	0.79
13	12.68	C-10 FAME	0.04	2.47	0.88
14	14.90	C-11 FAME	0.04	2.92	0.87
15	17.02	C-12 FAME	0.04	3.36	0.81

Trenzahl Values

C10 / C11 29.8509
C11 / C12 26.9525

E-12 Elution Temp. (°c) 142.14
Column Bleed (pA) 23.02

Technician Signoff *[Signature]*

\\Qadata\PEdata\N9316007-466544-5-28-02 11-48-02 AM

Figura N°36. Cromatograma con la información de la columna

Certificate of Analysis



1.06018.4004 Methanol for liquid chromatography LiChrosolv®
Batch I612418

	Batch Values	
Purity (GC)	≥ 99,8	%
Identity (IR)	conforms	
residue on evaporation	≤ 3,0	mg/l
Water	≤ 0,03	%
Colour	≤ 10	Hazen
Acidity	≤ 0,0002	meq/g
Alkalinity	≤ 0,0002	meq/g
Transmission		
at 225 nm	≥ 50	%
at 240 nm	≥ 80	%
from 265 nm	≥ 98	%

Filtered by 0,2 µm filter

Date of release (DD.MM.YYYY): 01.11.2011
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 30.11.2014

Dr. Michael Savelsberg

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Figura Nº 37. Certificado de análisis del Metanol.

Certificate of Analysis



1.00983.2500
Batch

Ethanol for liquid chromatography LiChrosolv®
K42513083

	Batch Values	
Purity (GC)	≥ 99.9	%
Identity (IR)	conforms	
Appearance	conforms	
residue on evaporation	≤ 3.0	mg/l
Water	≤ 0.03	%
Colour	≤ 10	Hazen
Acidity	≤ 0.0002	meq/g
Alkalinity	≤ 0.0002	meq/g
Transmission		
at 225 nm	≥ 50	%
at 240 nm	≥ 80	%
from 265 nm	≥ 98	%
UV absorption	conforms	
<i>Filtered by 0.2 µm filter</i>		
Fusel oils	conforms	

Dr. Michael Savelsberg

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Figura N° 38. Certificado de análisis del Etanol.