

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

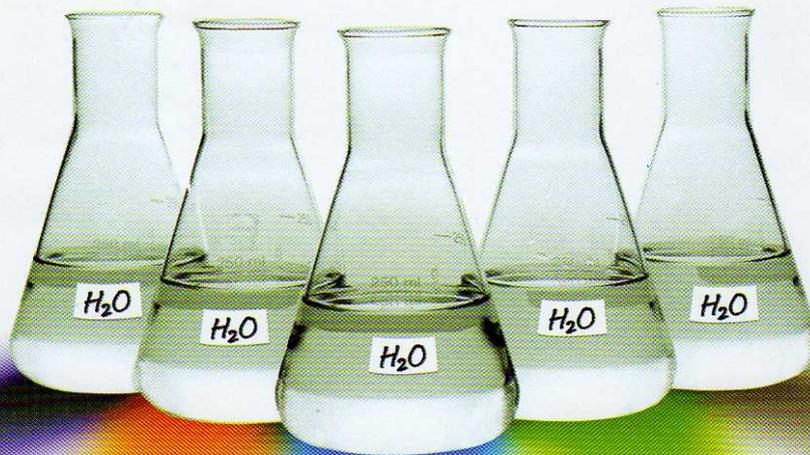
SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

22

BOLETIN DE LA SECYTA
VOLUMEN 22 NÚM. 2 (2001)
WWW.SECYTA.ORG

MILLIPORE



ahora hay una solución a su medida

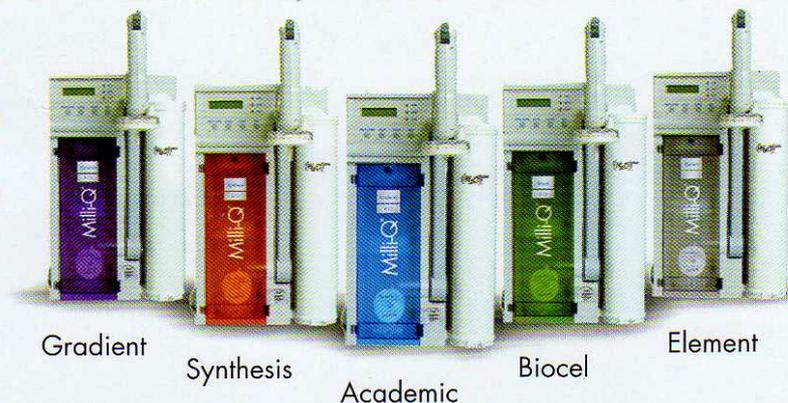
Tenemos una solución para cualquier laboratorio: agua de alta pureza, adaptada específicamente a cada aplicación.

Tanto si usted trabaja en biología como en medio ambiente, si necesita agua purificada para análisis de trazas o libre de pirógenos, uno de los nuevos sistemas Milli-Q® es la solución que usted precisa. **Para conocer el sistema mejor adaptado a sus aplicaciones, envíenos un**

e-mail a H2O@millipore.com

o llámenos al 917 283 960

web: www.millipore.com/H2O



Gradient

Synthesis

Academic

Biocel

Element

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

Madrid, diciembre de 2001 Vol. 22, núm. 2

ISSN 1132-1369

Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (<http://www.secyta.org>)

INDICE

38 **EDITORIAL**

ARTÍCULOS

39 Análisis de aminoácidos quirales por electroforesis capilar con fluorescencia inducida por láser, *por Carolina Simó*

57 Algo más sobre la palabra cromatografía, *por J.M. Bueno Marco*

NOTICIAS DE LA SECyTA

59 Próxima Reunión

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA

60 Reseña de libros

INFORMACIONES

61 Congresos celebrados: *23rd International Symposium on Chromatography*

62 Calendario de actividades

DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS

65 Novedades técnicas

Directora: Isabel Martínez Castro
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid. Tel.: 91 562 29 00, ext. 212
E-mail: iqomc16@iqog.csic.es

Publicidad: José Luis Andréu
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid. Tel.: 91 562 29 00, ext. 355

Comité Editorial: M. de Frutos, M.L. Marina, J. Sanz, M.D. Cabezudo, G. Reglero, C. Gutiérrez Blanco.

Depósito legal: M-1902-1975

Diseño, preimpresión e impresión: Helios, S.A. • Avda. de Manoteras, 22 • 28050 Madrid • Tel.: 91 768 49 50

Diseño de portada: Pau de Riba

Los autores son responsables del contenido de sus artículos.

EDITORIAL

Durante estos últimos meses la vida de nuestra sociedad ha transcurrido entre su puesta en marcha y el establecimiento de contactos con los antiguos socios del GCTA. Todo va funcionando según lo previsto aunque quizás con algo más de lentitud de lo que nos gustaría. Hasta ahora hemos recibido un número no desdeñable de inscripciones a la SECyTA aunque es menor que el correspondiente a los antiguos socios del GCTA. No creo que la falta de formalización de la inscripción a la SECyTA se deba a un deseo de no afiliarse a la nueva sociedad sino más bien a un problema de falta de información o bien de una cierta dificultad en encontrar el momento adecuado para mandar la inscripción. Me atrevo a pedir a todos los antiguos socios del GCTA que todavía no hayan formalizado su alta en la SECyTA que lo hagan lo antes posible, nosotros seguimos considerándolos socios y de hecho si su dirección es correcta, seguirán recibiendo el Boletín, pero conviene actualizar las direcciones y disponer de los correos electrónicos de todos los socios lo que nos facilitará mantener una comunicación fluida entre todos. Por tanto, insisto en que los que no lo hayáis hecho ya, os deis de alta en la SECyTA utilizando el folleto de inscripción que encontraréis en este mismo Boletín o en la web. Os recuerdo que la dirección de nuestra web es <http://www.secyta.org> y que en ella podéis encontrar información actualizada y de interés.

Por otro lado quisiera pedir disculpas por la tardanza en el cobro de las cuotas del año 2001. En la reunión de fundación de la SECyTA que tuvo lugar en Valencia la primavera pasada acordamos que pasaríamos a cobro la cuota de la nueva sociedad a todos los socios del antiguo GCTA excepto a los socios numerarios de la Real Sociedad Española de Química dado que esta sociedad ya había cobrado en Enero del 2001 las cuotas correspondientes. Este acuerdo es el que hemos aplicado, sin embargo al cambiar el nombre de la sociedad y además de banco, hemos tenido que elaborar un listado con los datos bancarios de todos los socios y esto ha demorado el proceso. Por tanto y para aclarar las cosas, os recuerdo que el pago que habéis efectuado en diciembre corresponde a la cuota del año 2001. La cuota del año 2002 la pasaremos a cobro a partir de la primavera. Respecto la disolución del GCTA que llevamos a cabo en Valencia, os quiero informar de que en el Acta 3/2001 de la Junta de Gobierno de la Real Sociedad de Química del 25 de Junio de 2001, consta que *el Presidente informó sobre la baja de socios adheridos del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines, grupo que como tal queda disuelto*, acuerdo que termina definitivamente con el GCTA. En relación con este tema quisiera comentar que recientemente los socios adheridos del antiguo GCTA están recibiendo una carta de la Real Sociedad de Química (RSEQ) en la cual se les comunica que en los nuevos Estatutos de la Real Sociedad de Química aprobados en el pasado mes de noviembre, existe únicamente un único tipo de socio. En la misma carta se pide confirmación de los datos bancarios a fin de seguir cobrando las cuotas. Os reitero que la SECyTA no tiene ninguna vinculación con la Real Sociedad Española de Química por lo que en caso de que no deséis continuar siendo socios de la RSEQ debéis comunicarlo personalmente a la mencionada sociedad a fin de evitar ulteriores problemas. Este es un tema de decisión personal de los antiguos socios adheridos de la RSEQ en el cual la Junta directiva de la SECyTA no puede ni debe inmiscuirse.

Finalmente os quisiera informar de la próxima reunión de la SECyTA ya que diversos miembros de nuestra sociedad han preguntado al respecto. En noviembre del año 2002 se celebrará Expoquimia en Barcelona y la Junta directiva a fin de potenciar la asistencia a nuestra reunión, acordó celebrar la II Reunión de la SECyTA en el marco de Expoquimia y de las Jornadas de Análisis Instrumental (JAI) que se celebran cada tres años coincidiendo con esta exposición comercial. Así, os comunico que la reunión tendrá lugar en Barcelona del 26 al 28 de noviembre de 2002. Os ruego que apuntéis estas fechas en la agenda y que con tiempo preparéis alguna comunicación para presentar en la reunión. Aprovecho también para informar que en el marco de las JAI se da un premio de la SECyTA (dotado por Agilent) al mejor trabajo en técnicas de separación y un premio de la SEEM (dotado por Thermo Instruments) al mejor trabajo en espectrometría de masas de compuestos orgánicos. Nuestros socios presentan normalmente trabajos en ambos campos por lo que os animo a considerar la posibilidad de concursar a los mencionados premios.

M. T. Galceran
Presidenta de la SECyTA

ARTICULOS

Análisis de aminoácidos quirales por electroforesis capilar con fluorescencia inducida por láser

Carolina Simó Ruiz

Instituto de Fermentaciones Industriales (C.S.I.C.)

Juan de la Cierva, 3 28006 Madrid

1. INTRODUCCIÓN

La quiralidad o isomería óptica es una característica de muchos compuestos orgánicos sintéticos y biológicos. Surge de la diferente orientación espacial de determinados sustituyentes en una molécula. En la mayoría de los casos, la isomería óptica se debe a la presencia en la estructura de la molécula de al menos un átomo de carbono asimétrico, es decir, con los cuatro sustituyentes distintos. Todas las propiedades físico-químicas de un enantiómero son idénticas a las de su imagen especular, a excepción del signo de la rotación óptica. Aquel que gira el plano de la luz polarizada hacia la derecha, con el observador mirando hacia la fuente de luz, es dextrógiro (d ó $+$), por el contrario, el otro enantiómero causará una rotación en sentido contrario y se denomina levógiro (l ó $-$). Las formas *levo* (L) y *dextro* (D) presentan en la mayoría de los casos diferentes funciones, actividades biológicas, etc.

Los aminoácidos (aa) son compuestos imprescindibles biológicamente que se asocian para formar péptidos y proteínas. Se encuentran en fluidos corporales, tejidos, alimentos, etc. Casi todos los aminoácidos naturales presentan un carbono asimétrico y tienen por tanto actividad óptica. Los aminoácidos se suelen nombrar empleando la nomenclatura de los azúcares y no según el sentido de la rotación de la luz polarizada; los D- y L-aa presentan la misma orientación espacial que el D- y L-gliceraldehído respectivamente. En la naturaleza aparecen en su forma L de forma mayoritaria.

En la industria de los alimentos, la determinación enantiomérica de aminoácidos se emplea para la detección de posibles fraudes. Este es el caso de una de las adulteraciones en los zumos de frutas: en la elaboración de los zumos que provienen de concentrados, la dilución que se lleva a cabo puede ser mayor a la establecida por ley; para evitar la detección de esta dilución y suplir la falta de aminoácidos naturales, se añaden mezclas de aminoácidos sintéticos (mezcla racémica). La aparición de las formas D de los aminoácidos puede ser un indicio de este tipo de adulteración¹. Se puede realizar también la monitorización de la racemización de determinados aminoácidos en el procesado de los alimentos, debida por ejemplo a tratamientos térmicos o químicos². Además, los procesos de fermentación (tanto en

el procesado como en el almacenamiento de alimentos), que se traducen en la aparición de determinados D-aminoácidos³, son indicadores de contaminaciones microbianas.

El análisis de D- y L-aa tiene gran importancia también en el campo de la investigación biomédica, diagnóstico médico e industria farmacéutica⁴. Ambas formas se sabe que poseen diferente actividad fisiológica. Determinadas relaciones de las formas D y L de algunos aminoácidos pueden ser indicadoras de algunas enfermedades, habiéndose demostrado que el contenido en D-aminoácidos de proteínas estructurales aumenta con la edad del organismo⁵. Aminoácidos como el L-Glu, involucrado en procesos biológicos cerebrales, está asociado en determinadas concentraciones a enfermedades como Parkinson y Alzheimer⁶.

Las aplicaciones del análisis de aminoácidos, y en general de compuestos quirales requieren la separación de mezclas cada vez más complejas, para lo que se necesitan altas eficacias e idealmente, tiempos de análisis cortos^{7,8}. Por esta razón, la aplicación de la electroforesis capilar (CE) en el campo de las separaciones quirales ha sido muy rápida a partir de los años 90 al ser una técnica analítica de separación que puede cumplir los requerimientos mencionados⁹⁻¹².

2. SEPARACIÓN DE COMPUESTOS QUIRALES POR ELECTROFORESIS CAPILAR. GENERALIDADES

Tradicionalmente, el análisis quiral de aminoácidos, y en general de cualquier compuesto con algún centro quiral, se ha llevado a cabo por técnicas cromatográficas¹³ como la cromatografía de gases (GC), cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) y cromatografía en capa fina (TLC), que emplean fases estacionarias quirales (y móviles también en el caso de HPLC). La separación por GC está limitada a compuestos volátiles, mientras que la técnica de HPLC viene condicionada por las bajas eficacias obtenidas en la separación, el empleo de columnas quirales relativamente caras y además, la utilización de volúmenes elevados de soluciones tamponadoras y disolventes, como fase móvil.

Además de las mayores eficacias en la separación obtenidas mediante electroforesis capilar (varios cientos de miles de platos teóricos), esta técnica presenta otras ventajas con respecto a las cromatografías: existe una gran variedad de selectores quirales en el mercado que se van a poder emplear añadiéndose simplemente al tampón de separación, presentándose además la posibilidad de emplear selectores quirales muy caros debido a la pequeña cantidad que es requerida.

Inicialmente, en CE, no es posible la separación de los enantiómeros ópticos de una misma especie química debido a que presentan la misma forma, tamaño y carga. Para alcanzar esta enantioseparación, es necesaria la formación de diastereómeros con los denominados selectores quirales. Como se verá después, los diastereómeros se pueden formar en el interior del capilar de forma reversible durante el proceso de separación (separación quiral directa) o bien la unión puede ser irreversible y previa a la separación electroforética (separación quiral indirecta).

2.1. Separación quiral directa por CE

La separación enantiomérica directa de una mezcla de isómeros ópticos supone en la mayoría de los casos, la adición de un selector quiral al tampón de separación, aunque también el capilar puede estar recubierto del selector quiral, o bien estar empaquetado de partículas de sílice con los selectores quirales enlazados covalentemente o adsorbidos en ellas. Este modo de separación supone la formación no covalente de formas diastereoméricas transitorias o bien de complejos de inclusión en un proceso de equilibrio dinámico. La estructura del compuesto con actividad óptica es determinante en la elección del selector quiral, que va a reconocer a los enantiómeros estereoespecíficamente, es decir, con constantes de enlace diferentes. Para llevar a cabo la separación quiral se requiere además, que las movilidades en el interior del capilar de las formas de los enantiómeros libres y asociados al selector sean diferentes, y que el equilibrio de este enlace sea rápido. Teóricamente se puede demostrar que se puede llevar a cabo la separación quiral directa de sustancias que aún teniendo constantes de enlace iguales, forman de manera transitoria compuestos diastereómeros con movilidades muy diferentes entre sí y por tanto con tiempos de migración distintos, aunque en la práctica este caso es minoritario.

La finalidad por lo tanto, de los selectores quirales en las separaciones quirales directas, es modificar la movilidad que poseen los enantiómeros en el interior del capilar (idéntica y no estereoselectiva), con el fin de tener diferentes movilidades electroforéticas efectivas, que son

combinación de la movilidad electroforética del enantiómero libre y la del enantiómero enlazado al selector quiral. Esta movilidad electroforética efectiva de los enantiómeros se puede expresar de la siguiente manera:

$$\mu_{\text{ef}} = \frac{[\text{E}]}{[\text{E}] + [\text{E-SQ}]} \mu_{\text{E}} + \frac{[\text{E-SQ}]}{[\text{E}] + [\text{E-SQ}]} \mu_{\text{E-SQ}}$$

donde [E] es la concentración del enantiómero libre, [E-SQ] es la concentración del enantiómero unido al selector quiral, μ_{E} es la movilidad del enantiómero libre y $\mu_{\text{E-SQ}}$ la movilidad del enantiómero anclado al selector quiral. La forma enantiomérica con la energía libre del enlace menos negativa se encontrará enlazado al selector quiral menos tiempo que la otra forma durante todo el proceso de separación. Tendrá por tanto una movilidad efectiva distinta y será la primera en eluir del capilar (o la última en función de la naturaleza del medio, del selector quiral y de la polaridad de los electrodos). Se han desarrollado diversos modelos teóricos que tratan de explicar esta separación enantiomérica¹⁴. En la actualidad la gran mayoría de las separaciones quirales electroforéticas de aminoácidos, y en general de sustancias con actividad óptica se lleva a cabo en esta modalidad.

2.2. Separación quiral indirecta por CE

En este modo de separación, los compuestos quirales de interés se hacen reaccionar de forma irreversible con el selector quiral, previo a la separación electroforética, formándose los diastereómeros correspondientes (Figura 1).

Es importante en este tipo de separaciones, que el selector quiral sea ópticamente puro, o al menos, con un valor de exceso enantiomérico conocido. Además, no debe producir racemizaciones en el proceso de derivatización.

Las formas diastereoméricas resultantes, van a tener diferentes movilidades en el interior del capilar, y por lo tanto se podrá llevar a cabo su separación en un medio no quiral. Dicha separación se debe a dos causas: en primer lugar, los diastereómeros tienen formas geométricas diferentes como resultado de su diferente orientación espacial o a la presencia de interacciones intramoleculares; de este modo, tendrá mayor movilidad electroforética aquel que presente menos resistencia al movimiento en el interior de la columna durante el proceso de migración. En segundo lugar, pueden existir pequeñas diferencias en los valores de pK_a de cada uno de ellos, así, al pH de la separación, tendrán una densidad de carga eléctrica distinta, y por tanto, una diferente movilidad electroforética.

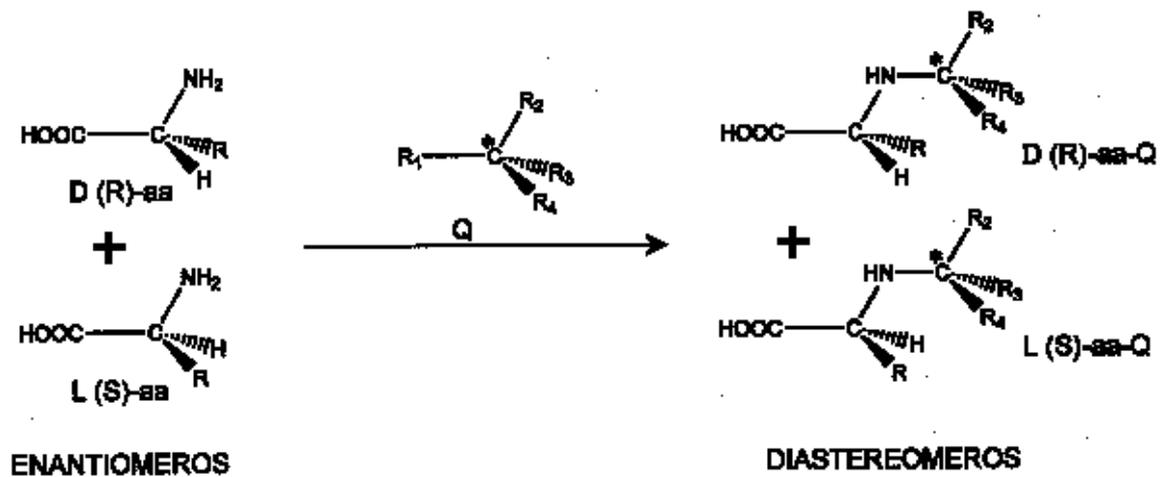


Figura 1. Reacción de una mezcla de D+L-aa con un derivatizante quiral (Q)

Además, en algunos casos debido a la diferente disposición espacial, las características hidrofóbicas en disolución de estas moléculas pueden ser distintas y por ello, determinantes en procesos de separación en los que inter vengan micelas.

Como ya se ha comentado, las diferencias en estas características electroforéticas e hidrofóbicas van a permitir que dos especies diastereómeras puedan separarse en un medio no quiral, lo que supondrá en muchos casos un desarrollo del método de separación más sencillo, ya que el número de variables a optimizar es menor.

3. LA DETECCIÓN CON FLUORESCENCIA INDUCIDA POR LÁSER EN CE

En CE los analitos pueden ser detectados mediante absorción UV-Visible, fluorescencia inducida por láser, espectrometría de masas, mediante detectores amperométricos, y en menor medida con detectores conductimétricos, radiométricos, de índice de refracción, basados en la espectrometría Raman, y en la quimioluminiscencia. Además, la detección se puede llevar a cabo *on-* y *post-column*, siendo la primera de ellas la más empleada en la gran mayoría de los instrumentos debido a que se trata de un sistema más sencillo. La detección *on-column* lleva asociada cierta difracción de la luz de excitación debida a la geometría cilíndrica del capilar, de modo que la relación señal/ruido (S/R) disminuye. La detección *post-column* es la que aporta los mejores límites de detección¹⁵; en esta configuración, la salida del capilar se acopla a una cubeta de cuarzo, y mediante un flujo de

fluido concéntrico se dirige el eluyente del capilar bajo condiciones de flujo laminar a la zona de detección en la cubeta. Se elimina de este modo la fluorescencia de fondo debida al capilar, mientras que la dispersión de la cubeta se evita parcialmente por filtración antes de la detección.

La detección basada en la absorción de luz en la zona visible y principalmente en la zona del UV es la más empleada por diversas razones: es un detector sencillo, de fácil manejo, bajo coste y puede ser empleado en todos los modos de CE. Además es una técnica que puede llegar a ser universal empleando longitudes de onda en el UV lejano o bien trabajando en modo indirecto, aunque disminuyendo en ambos casos la relación señal/ruido. El principal inconveniente de este detector son los límites de detección relativamente altos que se consiguen y la dificultad para detectar sustancias sin grupos cromóforos. La causa fundamental de esta falta de sensibilidad es la pequeña cantidad de muestra inyectada en el capilar (del orden de nanolitros) y el pequeño paso óptico (de entre 25 y 100 μm). Aunque existen diversas variantes de la típica ventana de detección de un capilar cilíndrico que mejoran la sensibilidad, como son, un paso óptico en forma de Z, un aumento del diámetro en la ventana (bubble cell), capilares rectangulares, celdas de multireflexión, se necesitan sistemas de detección que mejoren los límites de detección y cuantificación en varios órdenes de magnitud.

La fluorescencia inducida por láser (LIF, laser induced fluorescence) es el segundo método más usado después de la detección por absorbancia, y es además uno de los detectores que más sensibilidad aporta. En principio,

parece ser mucho más selectivo, ya que en conjunto existen pocos analitos con propiedades fluorescentes, y además, es necesario que la longitud de onda de excitación del analito coincida con la del haz de luz emitido por los láseres disponibles. Sin embargo, se puede recurrir a la derivatización de las sustancias a analizar con reactivos que tengan algún grupo fluoróforo o bien que al reaccionar con los compuestos de interés, el producto pueda emitir fluorescencia.

La derivatización de los analitos puede llevarse a cabo de tres formas distintas: *pre-*, *on-*, y *post-column*, en función del lugar físico en el cual se lleve a cabo¹⁶. En general, en separaciones quirales de aminoácidos, la derivatización suele ser *pre-column*. En este modo, las propiedades electroforéticas del analito se ven modificadas, a diferencia de la derivatización *post-column* en la que los compuestos son derivatizados una vez separados justo antes de llegar a la ventana de detección. Las características electroforéticas del analito no se modifican, siendo el ensanchamiento de las bandas electroforéticas (proporcional al tiempo que el analito se encuentra en el capilar de reacción) el principal problema de este tipo de derivatización. Aunque los límites de detección que se alcanzan son peores que los de la derivatización *pre-column*, su empleo es aconsejable cuando los productos de derivatización no son estables o bien cuando existen múltiples sitios de derivatización y se obtienen diversos productos fluorescentes que puedan interferir en la separación. En la derivatización *on-column* (Figura 2) al igual que en la derivatización *post-column*, se reduce la cantidad de muestra que se derivatiza a la cantidad que se inyecta, se evitan también las diluciones producidas en los procesos de derivatización *pre-column* y se disminuye la formación de complejos con múltiples sondas fluorescentes ancladas.

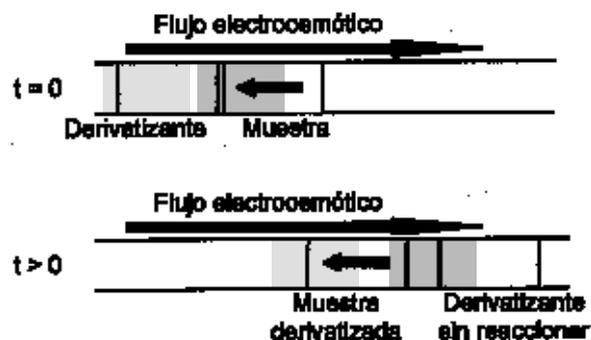


Figura 2. Representación esquemática de derivatización *on-column*¹⁷

Un reactivo derivatizante ideal debe tener una serie de propiedades:

- Debe ser estable y dar una reacción rápida con altos rendimientos a bajas temperaturas.
- Los productos de reacción deben ser altamente fluorescentes y lo suficientemente estables.
- El exceso de derivatizante o bien los productos de reacción no deseados no deben interferir en la separación electroforética y en la detección.

A la hora de elegir un derivatizante, hay que considerar también su disponibilidad comercial, toxicidad, pureza y precio. El principal inconveniente de los procesos de derivatización son los bajos rendimientos que se obtienen en disoluciones con concentraciones de analito muy bajas, así como los posibles efectos de la matriz de determinadas muestras. No existe un derivatizante fluorescente ideal para aminoácidos, por lo que es necesario recu-

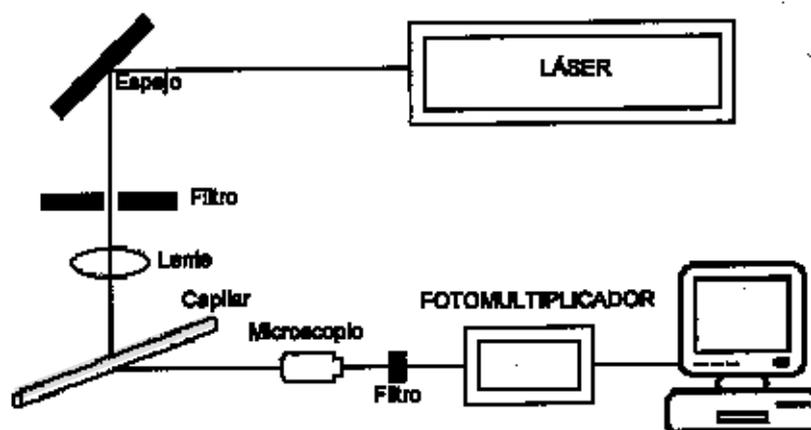


Figura 3. Instrumentación básica requerida para la detección por LIF en CE²⁰

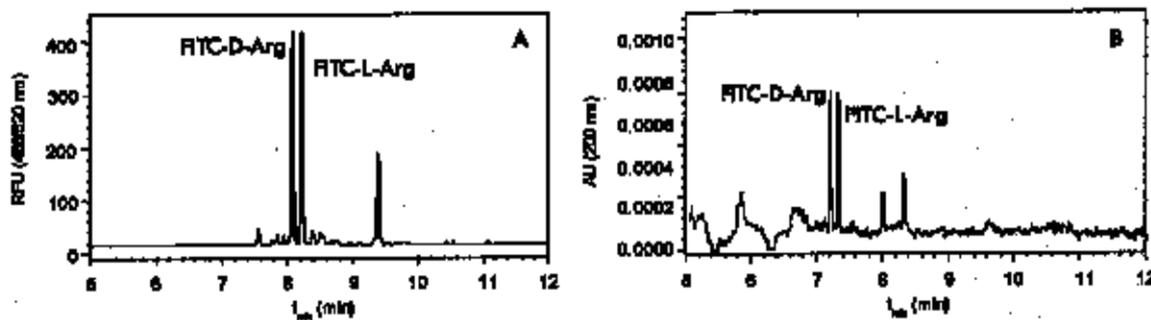


Figura 4. Separación de FITC-D,L-Arg empleando el selector quiral Dextrin10. Comparación entre la detección con LIF y UV. Condiciones de separación: Tampón Bórico/Tetraborato 100 mM, 125 mM SDS, pH 9, 10% Dextrin 10 (w/v), 25°C, +20 KV. (A) Capilar: 40 cm l_d , 50 cm l_t , 50 μm . d.i. Detección (LIF): λ_{exc} 488 nm. (B) Capilar: 40 cm l_d , 47 cm l_t , 50 μm . Detección (UV): λ_{ab} 200 nm.

rir a reactivos con unas propiedades óptimas para un determinado método de separación, aplicación, etc. Los reactivos derivatizantes empleados actualmente son muy diversos^{16,18,19}, pero se reduce el número cuando se trata de aminoácidos detectados con fluorescencia inducida por láser, los cuales serán descritos más tarde.

La instrumentación básica que requiere un sistema de detección por fluorescencia incluye una fuente de excitación (láser), una célula de detección (en la mayoría de los casos el propio capilar), el sistema óptico para una adecuada excitación y posterior colección de la fluorescencia y un fotomultiplicador, como se indica en la Figura 3.

Una de las ventajas de los láseres es la alta densidad de energía del haz de luz emitido (número de fotones por unidad de superficie), que supera a otras fuentes como las lámparas (de deuterio, tungsteno, xenon, arco de mercurio) en varios órdenes de magnitud. Los láseres más empleados para la detección por LIF son las fuentes de argón ionizado, He-Cd y He-Ne. A la hora de la elección del láser que se va a emplear en la separación es necesario tener en cuenta que la longitud de onda de excitación del analito debe coincidir con la de emisión del láser.

En la Figura 4, se muestra el aumento de sensibilidad que se obtiene mediante la detección con LIF (Fig. 4A) con respecto a la detección con absorción de radiación UV (Fig. 4B). Se logra aumentar la relación señal/ruido del aminoácido D,L-Arg derivatizado con el reactivo fluorescente FITC (Isotiocianato de fluoresceína) en casi tres órdenes de magnitud²¹ empleando LIF.

4. SEPARACIÓN QUIRAL DIRECTA DE AMINOÁCIDOS MEDIANTE CE-LIF

Como se ha comentado anteriormente, para llevar a cabo la detección de aminoácidos mediante LIF es necesaria la derivatización de los mismos antes de su

separación electroforética. En la Tabla 1 se muestran los reactivos derivatizantes que se utilizan en el análisis quiral directo de aminoácidos, junto con las longitudes de onda de excitación para su detección por LIF; y en el caso de algunos de ellos, también la longitud de onda de absorción máxima en la zona del UV. Es imprescindible en procesos de separación quiral directa con derivatización *pre-column* que el producto fluorescente resultante mantenga la quiralidad. En la Figura 5, se presentan las estructuras químicas de estos reactivos derivatizantes.

Debido a que la derivatización se lleva a cabo generalmente en el grupo amino, el pK_a de los aminoácidos varía, lo cual podría facilitar la separación simultánea de aminoácidos ácidos y básicos. Para la separación quiral de aminoácidos derivatizados se emplea una gran variedad de selectores quirales y diversos modos de electroforesis capilar que se detallan a continuación.

4.1. Separación con complejos metálicos

El mecanismo de reconocimiento quiral supone la interacción enantioselectiva de ambos isómeros quirales del analito en estudio con un complejo metal-ligando (que actúa como selector quiral), para formar complejos diastereómeros ternarios. La estabilidad de este nuevo compuesto va a depender de las diversas interacciones estereoselectivas que puedan darse: interacciones estéricas, electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , etc. La separación enantiomérica tendrá lugar como ya se ha comentado, cuando existan diferencias en la estabilidad del complejo enantiómero-metal-ligando de cada forma óptica, es decir, diferencias en las constantes de enlace. El ion central más empleado en estos compuestos es el Cu(II), que forma complejos metaestables con aminoácidos. La detección con fluorescencia es preferible a la detección con radiación ultravioleta para evitar la absorción del Cu(II).

Tabla 1. Reactivos derivatizantes de aminoácidos empleados en separaciones quirales directas y detección por LIF

Reactivo		$\lambda_{ex} / \lambda_{em} - \lambda_{max}$ (nm)	Ref
2-(9-Antril)etilcloroformiato	AEOC	348 / 366 – 256	22
6-Aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidilcarbamato	AQC	360 / 395 – 214 ó 254	23,24
Cianina	Cy5	365 / 670	25
Naftaleno-2,3-dicarboxaldehído	NDA	442 / 490 - 254	26,27
Cloruro de 5-dimetilamino naftaleno-1-sulfonilo	Dns	360 / 570 - 254	28
Isotiocianato de fluoresceína	FITC	488 / 520	15,21,29
9-Fluorenilmetil cloroformiato	FMOC	265 / 310 - 256	30
o-ftalalodialdehído	OPA	340 / 475 - 260	31

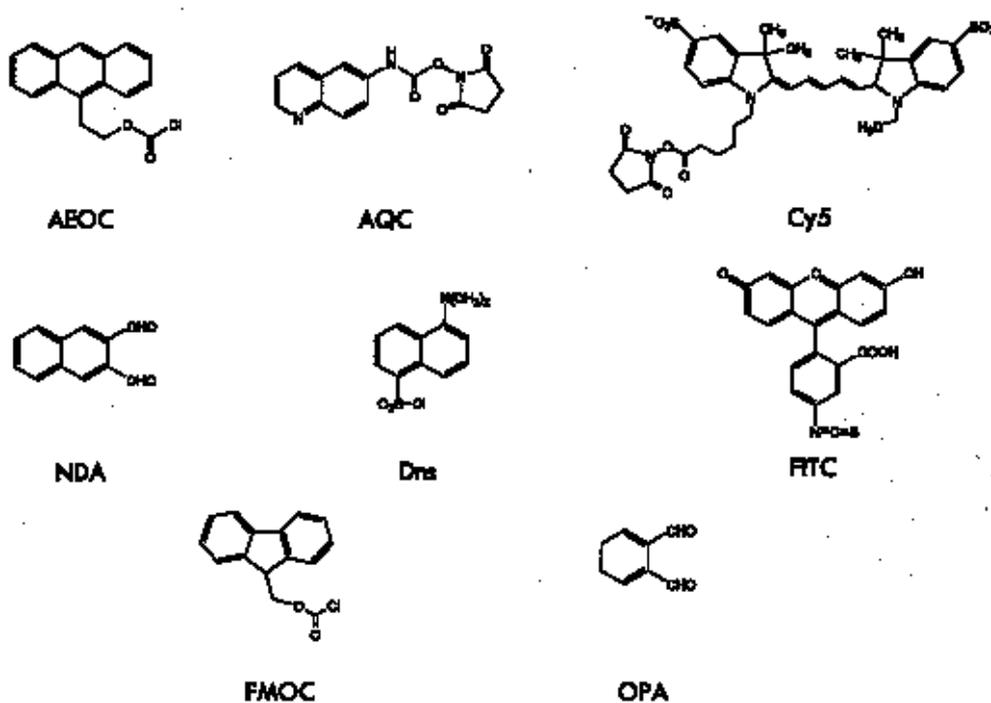


Figura 5. Estructuras de los derivatizantes de aminoácidos empleados en el análisis quiral directo y detección por LIF

La primera de las separaciones de aminoácidos quirales en electroforesis capilar fue llevada a cabo en 1985 por el grupo de Zare³² por medio de la interacción estereoselectiva con estos complejos metálicos, empleándose la fluorescencia inducida por láser como técnica de detección. Con este método se logró separar de forma individual nueve Dns-aa (Tyr, Met, Phe, Val, Cys, Asp, Glu, Ac. α -aminobutírico y Ac. cisteico) utilizando como selector quiral el complejo Cu(II)-L-histidina. Cuando se utilizaba el complejo Cu(II)-D-histidina se observaba la inversión del orden de elución de los enantiómeros. El límite de detección alcanzado con este método fue de unos pocos femtomoles (10^{-15} moles). Posteriormente este mismo grupo empleó el complejo Cu(II)-aspartamo

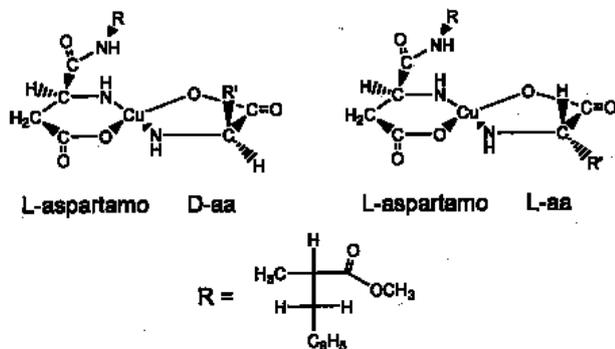


Figura 6. Complejos ternarios de Cu(II) con aspartamo (L-aspartil-L-fenilalanina metil éster) con D y L-aa

(Figura 6) para la separación individual de 14 Dns-aminoácidos (Try, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr, Norval, Ac. α -aminobutírico, Ala, Val, Cys, Asp, Ac. cisteico, y Glu)³³. Las diferencias en los tiempos de migración de los enantiómeros D y L son mayores a las obtenidas con el complejo Cu(II)-L-histidina, siendo los valores de resolución de 0.8-5.6. El límite de detección se estimó en 10^{-7} M llegando a detectar con este método $5 \cdot 10^{-17}$ moles aproximadamente.

Aunque estos selectores quirales fueron los primeros empleados en las separaciones enantioméricas en CE, su utilización está limitada a la resolución de parejas de quirales que tienen dos grupos polares (como los aminoácidos). Actualmente se emplean en mayor medida otros selectores quirales como las ciclodextrinas.

4.2. Separación con ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos formados por asociación de unidades de D-glucopiranososa mediante enlaces glicosídicos α -1,4. En función del

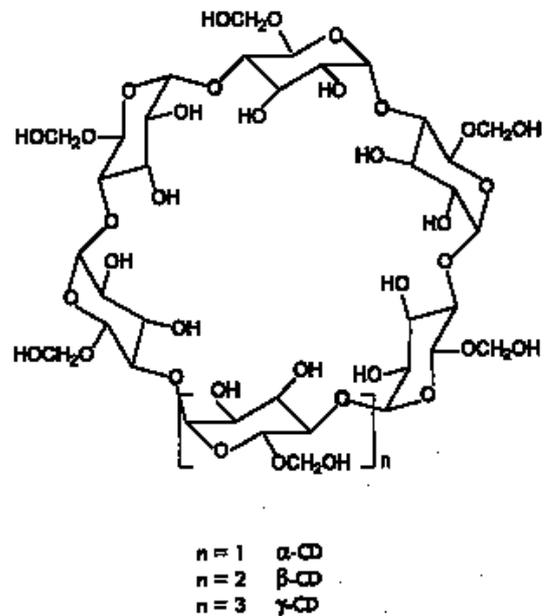


Figura 7. Estructura de las ciclodextrinas α , β y γ

número de unidades de glucosa, tenemos: α - (6 uds.), β - (7 uds.) y γ - (8 uds.) ciclodextrina (Figura 7).

Las ciclodextrinas tienen forma de cono truncado, siendo la superficie externa (en contacto directo con el agua cuando está en disolución) hidrofílica, mientras que la cavidad interna es hidrofóbica. Es esta cavidad hidrofóbica el sitio principal de interacción tanto con analitos quirales como aquirales. La derivatización de los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas produce cambios en sus propiedades fisico-químicas, lo cual tendrá una influencia decisiva en su afinidad por los analitos en estudio. La interacción con el enantiómero dependerá por lo tanto del tamaño de la cavidad y estará también afectada por el tipo de derivatización de los grupos hidroxilo.

Hasta el año 1994, el 90% de las separaciones quirales se llevaba a cabo empleando estas ciclodextrinas nativas o derivatizadas. Actualmente continúan siendo los selectores quirales más empleados en CE; esto se debe a una serie de razones favorables: son compuestos con una solubilidad relativamente alta, transparentes a la radiación UV, están disponibles en el mercado a bajo precio (si bien las ciclodextrinas derivatizadas son más caras), son estables en el tiempo, etc. Además, los complejos enantiómero-ciclodextrina formados, tienen por lo general una movilidad diferente al enantiómero aislado, y las interacciones con los isómeros son estereoespecíficas, características fundamentales para la diferenciación quiral.

Aunque el mecanismo de inclusión e interacción de los analitos con las ciclodextrinas no se conoce exactamente, existen diversas teorías, y se sabe que las principales fuerzas de enlace que se dan entre ellos son puentes de hidrógeno, fuerzas hidrofóbicas, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido y fuerzas de Van der Waals. La magnitud de cada una de ellas dependerá de las características químicas de los enantiómeros y del tipo de ciclodextrina (tamaño de la cavidad, número de grupos hidroxilo, existencia de otros grupos funcionales en las CDs derivatizadas).

Lindner y col.³⁴ llevaron a cabo estudios de la enantioselectividad de aminoácidos derivatizados con reactivos fluorescentes (FMOC, Dns, AQC) y no fluorescentes en función de las distintas ciclodextrinas utilizadas (α -CD, β -CD, Me- β -CD, HP- β -CD, γ -CD, Me- γ -CD y HP- γ -CD), pHs y disolventes orgánicos en el tampón de separación, además de la temperatura del capilar y el voltaje aplicado. Demostraron que existe una relación directa entre el tamaño del anillo aromático del derivatizante y el diámetro de la cavidad de la ciclodextrina. Los derivatizantes fluorescentes más voluminosos (FMOC y Dns) presentan mejores resoluciones con ciclodextrinas con diámetros internos grandes como la γ -CD. Además, en reactivos derivatizantes como el Dns, la unión de grupos dimetilamino a un anillo aromático aumenta la estereoespecificidad en la separación, debido probablemente a una reducción en la inclusión en la ciclodextrina, facilitando los enlaces de hidrógeno adicionales entre los grupos

amino y carboxilo de los aminoácidos con los grupos hidroxilo secundarios de las ciclodextrinas. En la Tabla 2 se muestran algunas de las ciclodextrinas empleadas en la separación de aminoácidos derivatizados con agentes fluorescentes.

Generalmente las separaciones con ciclodextrinas se llevan a cabo en el modo de electroforesis capilar micelar (MEKC), especialmente cuando se trata de mezclas complejas de aminoácidos, ya que determinados grupos de aa presentan características ácido-base similares a un mismo pH, siendo necesarias las interacciones hidrofóbicas para la separación.

Se han llevado a cabo estudios de la separación quiral de los 19 aa proteínicos naturales derivatizados con AQC, empleando como selectores quirales la β -CD y cinco de sus derivados (ver Tabla 2). Las β -ciclodextrinas derivatizadas presentan diferencias tanto en la forma geométrica como en la hidrofobicidad, dando lugar a distintas interacciones con los aminoácidos derivatizados. Logran la separación quiral a línea de base de todos los aminoácidos estudiados (a excepción del Ac. aspártico) inyectados individualmente, y empleando en cada caso como selector quiral al menos una de las ciclodextrinas mencionadas²⁴.

El primer trabajo de separación por CE-LIF quiral de aminoácidos derivatizados con NDA, fue realizado por Ueda y col.^{27,36}. En sus estudios, comparan la enantiose-

Tabla 2. Ciclodextrinas empleadas en la separación de aminoácidos derivatizados con agentes fluorescentes. DM- β -CD: Heptakis(2,6-di-*O*-metil)- β -CD; HP- β -CD: 2-Hidroxipropil- β -CD; TM- β -CD: Heptakis(2,3,6-tri-*O*-metil)- β -CD; CM- β -CD: Carboximetil- β -CD; DM- α -CD: Heptakis(2,6-di-*O*-metil)- α -CD; TM- α -CD: Heptakis(2,3,6-tri-*O*-metil)- α -CD; AM- β -CD: β -CD anfotérica; HP- γ -CD: 2-Hidroxipropil- γ -CD; CD-hm: 6-deoxi-6-N-histamina-CD; CD-mh: 6-deoxi-6-[4-(2-aminoetil)imidazolil]- β -CD

Derivatizante	Selector quiral	Ref.
AEOC	β -, γ -CD	35
AQC	β -, γ -CD; DM- β -CD; HP- β -CD; TM- β -CD; β -CD polimérica; CM- β -CD polimérica	24,34
NDA	β -, γ -CD; HP- β -CD	26,27,36
Cy5	γ -CD	25
Dns	α -, β -, γ -CD; DM- α -, DM- β -CD; TM- α -, TM- β -CD; AM- β -CD; HP- γ -CD; CD-hm; CD-mh	34,37,38
FITC	β -, γ -CD	21,39,40
FMOC	β -CD, HP- β -CD	30

lectividad de las ciclodextrinas β y γ , logrando separar en menos de 22 minutos 5 D,L-aa (Thr, Asp, Tyr, Ile y Phe) con la β -CD, y los enantiómeros de los aa Thr, Ser, Tyr, Leu y Phe en menos de 19 minutos empleando la γ -CD. Con la dextrina γ se mejora la resolución de los aminoácidos D,L-Thr, -Tyr y -Phe, mientras que la separación de NDA-D,L-Asp desaparece. En ambos métodos es necesaria la adición de SDS al tampón de separación. La concentración inyectada de cada aminoácido es de $2 \cdot 10^{-7}$ M; el límite de detección varía desde 3.6 a $6.4 \cdot 10^{-10}$ M, equivalente a 0.9-1.6 attomoles. La ciclodextrina derivatizada HP- β -CD se emplea también junto con micelas SDS en la separación de los enantiómeros NDA-D,L-Trp en presencia de otros 16 aminoácidos quirales²⁶. Se estimó un límite de detección de $3.3 \cdot 10^{-8}$ M para el D-Trp.

Kaneta y col.²⁵ utilizaron el modo de electroforesis capilar quiral en gel para la separación de los D,L-aminoácidos derivatizados con Cy5. El polímero añadido al tampón de separación fue la polivinilpirrolidona (PVP), empleado como aditivo para la supresión del flujo electroosmótico. El selector quiral γ -CD se emplea para la separación de 6 Cy5-aa (Glu, Ala, Val, Phe, Tyr y Trp) en 36 minutos. El límite de detección fue de $6 \cdot 10^{-6}$ M para la Tirosina, Alanina y Valina.

Según la bibliografía, el mayor número de aplicaciones de las ciclodextrinas como selectores quirales de aminoácidos se realiza cuando éstos están derivatizados con Dns. Copper y col.⁴¹ han llevado a cabo estudios sobre el empleo de modelos mecanísticos en las optimizaciones de separaciones quirales de Dns-aa empleando ciclodextrinas como selectores quirales.

Jin y col.²⁹ emplean el modo micelar (SDS) junto con la γ -CD para la separación enantiomérica de 21 FITC-D,L-aminoácidos (Trp, Ser, Phe, Leu, Val, Arg, Asp, Glu, Orn, Nval, Nleu, Thr, Homoserina, Cítrulina, Pro, Lys, Asn, Ale, His, Tyr y Met) de forma individual. Empleando la dextrina nativa β -CD se pierde estereoespecificidad en la separación de estos aminoácidos debido su menor diámetro interno. Con el método optimizado, se consigue la separación quiral en 30 minutos de siete aminoácidos con características básicas, neutras y ácidas: Lys, Orn, Cit, Pro, Ser, Glu y Asp. Los aminoácidos (10^{-3} M aprox.) son derivatizados y diluidos posteriormente, antes de la inyección hasta concentraciones de 3.8 - $5.4 \cdot 10^{-7}$ M. En trabajos posteriores se ha optimizado la separación en menos de 18 minutos de una mezcla de 7 aminoácidos quirales (D,L-Arg, -Pro, -Asn, -Ser, -Ala, -Glu y -Asp) y el aminoácido aquiral GABA, derivatizados con FITC empleando la β -ciclodextrina junto con micelas SDS, alcanzándose límites de detección de $1.5 \cdot 10^{-9}$ M (S/R 3) para el aminoácido FITC-L-Arg²¹.

Wan y col.³⁰ optimizaron un método para la separación, en un análisis de 35 minutos, de los siete D,L-aa-FMOC (Thr, Met, Leu, Phe, Trp, Glu y Asp), añadiendo al tampón de separación es β -CD, micelas SDS y un disolvente orgánico (isopropanol).

4.3. Separación con oligosacáridos lineales

Los oligosacáridos lineales (maltodextrinas) constituyen una familia muy amplia de polímeros. Se obtienen a partir de la hidrólisis del almidón, en la cual, los polímeros de glucosa de alto peso molecular se transforman en oligosacáridos más pequeños, unidos principalmente mediante enlaces glicosídicos α -(1,4).

D'Hulst y Verbeke⁴² publicaron los primeros trabajos con este tipo de oligosacáridos como selectores quirales en electroforesis capilar para el análisis de fármacos, principalmente de la familia de los antiinflamatorios.

La aplicación de las maltodextrinas en el análisis quiral de aminoácidos y posterior detección con fluorescencia inducida por láser es muy escasa; se reduce a la separación con Dextrin 10 (Figura 8) de 7 D,L-aa-FITC²¹: Arg, Pro, Asn, Ser, Ala, Glu y Asp, inyectados individualmente.

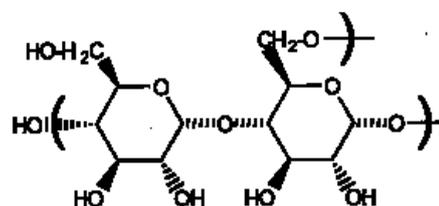


Figura 8. Estructura del selector quiral Dextrin 10

En la Figura 4 se muestra un ejemplo de la separación enantiomérica del aminoácido FITC-D,L-Arg con este tipo de oligosacáridos lineales. Con el método optimizado se alcanzó un límite de detección de $2.3 \cdot 10^{-8}$ M para este aminoácido. Anteriormente, Quang y Khaledi⁴³ lograron la separación quiral en 25 minutos de 6 aminoácidos dan-silados (Phe, Try, Leu, The, Glu y Asp), empleando también el selector Dextrin 10; obtuvieron igualmente enantioselectividad en análisis individuales de los aa-Dns: D,L-Val, -Nval, -Met, -Nleu y - α -amino-n-butiric acid; sin embargo, no se emplea el sistema de detección LIF.

4.4. Separación con antibióticos macrocíclicos

El empleo de antibióticos macrocíclicos en la separación quiral de compuestos se debe a la gran variedad de estructuras y propiedades que poseen estos compuestos,

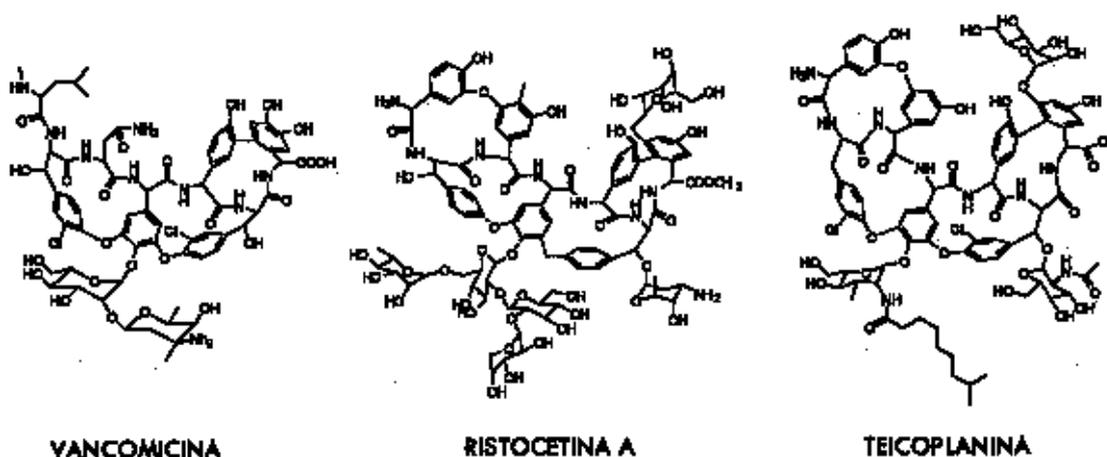


Figura 9. Estructuras de antibióticos macrocíclicos empleados como selectores quirales

es que aumentan las posibilidades de separación de sustancias con centros quirales⁴⁴⁻⁴⁷. Presentan múltiples centros quirales y grupos funcionales, lo cual permite multitud de interacciones con los enantiómeros: interacciones hidrofóbicas, dipolo-dipolo, enlaces de hidrógeno, etc.

De entre todos los antibióticos macrocíclicos empleados en el análisis quiral, la vancomicina, ristocetina A y teicoplanina (Figura 9) son los utilizados para la separación quiral de aminoácidos derivatizados con agentes fluorescentes.

Desiderio y Fanali⁴⁶ publicaron en 1998 una completa revisión bibliográfica en la cual se presentan las posibilidades de estos antibióticos macrocíclicos en el análisis quiral por electroforesis capilar. Se han empleado como selectores quirales de aminoácidos derivatizados con los reactivos fluorescentes AEOC, FMOC, AQC y Dns, sin embargo en los métodos de separación que se han optimizado, se utiliza la absorción de radiación UV como sistema de detección. Se han realizado también estudios comparativos de separaciones enantioméricas de aminoácidos derivatizados con tres de los reactivos derivatizantes mencionados anteriormente⁴⁸; se obtuvo una mayor resolución para los aa-Dns, seguido de aa-AEOC y aa-FMOC, empleando la vancomicina como selector quiral.

Con el empleo de este tipo de selectores quirales, los enantiómeros presentan grandes diferencias en sus movilidades, incluso con pequeñas concentraciones del selector, lo cual confirma el gran potencial de separación de este tipo de compuestos antibióticos en electroforesis capilar. Por otro lado, a pesar de tener una gran enantioselectividad no son equiparables a las ciclodextrinas ni otros selectores quirales más comunes ya que presentan limitaciones, como son su elevado precio y la tendencia

que tienen a adsorberse en las paredes del capilar, obteniéndose menores eficacias y tiempos de retención irreproducibles. Esta última limitación puede ser mejorada con la adición de SDS al tampón de separación, empleo de tampones biológicos zwitteriónicos, utilización de pHs por encima del punto isoeléctrico de los antibióticos, capilares recubiertos, etc.

5. SEPARACIÓN QUIRAL INDIRECTA DE AMINOÁCIDOS MEDIANTE CE-LIF

Los aminoácidos se hacen reaccionar con reactivos derivatizantes quirales, dando lugar a las especies diastereómeras con propiedades fluorescentes que podrán ser detectadas por LIF. Los diversos reactivos con centros quirales empleados en electroforesis capilar para la formación de las especies diastereómeras se presentan en la Tabla 3. Las reacciones que se llevan a cabo con los aminoácidos se presentan en la Figura 10.

La mayoría de las separaciones de los diastereómeros se llevan a cabo por electroforesis capilar micelar (MEKC), ya que las interacciones con las micelas aportan al medio un factor más de selectividad (interacciones hidrofóbicas) al proceso de separación, que suele ser necesario para la separación de este tipo de compuestos con diferencias muy pequeñas entre sí. Se están llevando a cabo también separaciones de diastereómeros con matrices poliméricas no iónicas como alternativa a la MEKC.

Existen diversos riesgos en la separación y determinación de la pureza enantiomérica de una sustancia empleando este tipo de reactivos derivatizantes quirales. Como ya se ha mencionado, es muy importante que estos compuestos sean ópticamente puros. Una pequeña impureza del derivatizante quiral puede suponer un gran error en la determinación

Agilent ofrece cuatro soluciones ICP-MS, con flexibilidad para manejar cualquier aplicación.



Para ICP-MS, sólo Agilent Technologies ofrece cuatro soluciones a medida, todas basadas en la misma estructura:

- **Agilent 7500a:** completo y de alto rendimiento, diseñado para resolver sus problemas.
- **Agilent 7500s:** sensibilidad extrema, para semiconductores y laboratorios de I + D.
- **Agilent 7500i:** un analizador de elevada automatización, para laboratorios de servicios.
- **Agilent 7500c:** con el sistema ORS (sistema de reacción octopolo) para análisis directo de agua marina, ultratrazas y relaciones isotópicas de Se, así como ultratrazas de As, Se y Cr en muestras con matrices clínicas. La Serie Agilent 7500 proporciona la flexibilidad para manejar cualquier aplicación, en cualquier matriz de muestra, para industrias que varían desde la medioambiental y la clínica hasta la química y de semiconductores. Cada versión modular puede ser actualizada con varios dispositivos de introducción de muestras y distintas opciones, como el software Plasma Cromatográfico de tiempo real.

www.agilent.com/chem

Para más información,
contacte con
Agilent Technologies,
Centro de Atención al Cliente,
Teléfono: 901 11 68 90



Agilent Technologies



El Nuevo Estándar

Alto rendimiento, bajo coste de mantenimiento

nuevo sistema
de purificación
HPLC Serie 1100
con BOMBA
PREPARATIVA

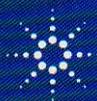
www.agilent.com/chem

Para más información,
contacte con Agilent
Technologies, Centro de
Atención al Cliente,
Teléfono: 901 11 68 90

En menos de cinco años, hemos desarrollado y vendido más de 120.000 módulos HPLC Serie 1100. Su enorme fiabilidad a lo largo de los años, no ha sido superada.

Ahora hemos mejorado aún más la serie HPLC 1100 aumentando la capacidad de nuestros Inyectores de muestras hasta 10 veces, e incorporando nuevos módulos para el trabajo en Cromatografía HPLC Capilar, Micro HPLC y HPLC Preparativa. Los nuevos módulos incluyen un muestreador de placas capaz de manejar más de 700 muestras, Bombas de gradiente a alta presión para columnas estándar, micro y capilares y una nueva Bomba de gradiente Preparativa que dispensa disolventes desde 0,001 a 100 ml/min y 400 bar, sin cambiar las cabezas. Además, el nuevo software ChemStation Plus de Agilent le ayuda a cumplir con nuevos requisitos de regulación, como 21 CFR Parte 11 de la FDA.

Sueños hechos realidad.



Agilent Technologies

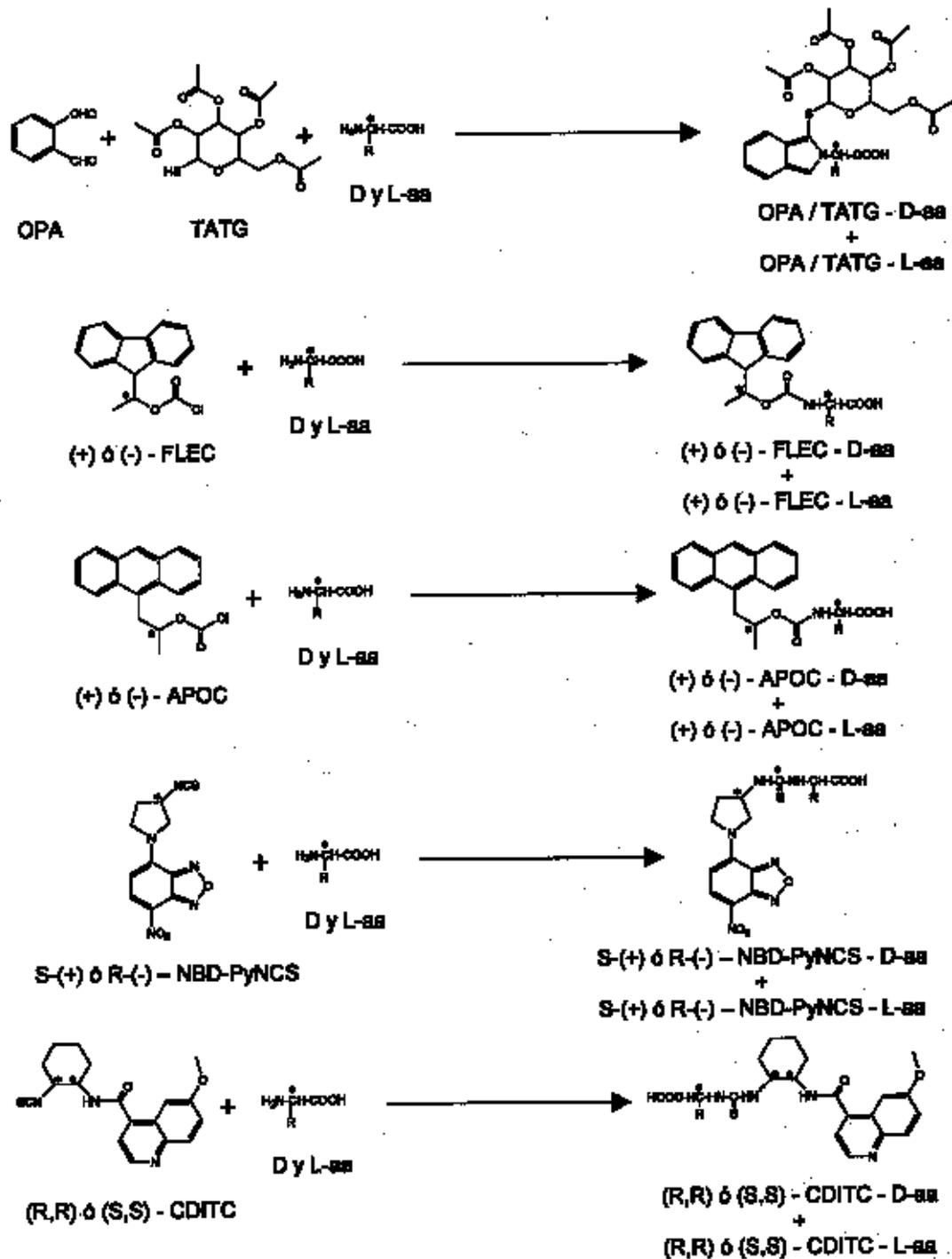


Figura 10. Reacciones de los derivatizantes quirales fluorescentes con D+L-aa

Tabla 3. Reactivos derivatizantes quirales para la separación y detección de aminoácidos mediante CE-LIF

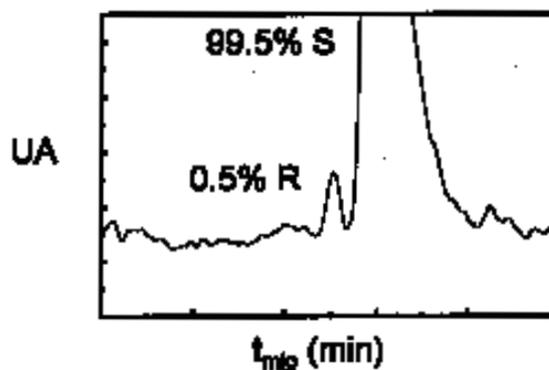
Reactivo quiral		$\lambda_{ex}/\lambda_{em} - \lambda_{max}$ (nm)	Ref
<i>o</i> -ftalatodialdehido + 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- β -D-glucopiranosas	OPA + TATG	350 / 415 - 340	49
(+) ó (-)-1-(9-Fluorenil)etil cloroformiato	FLEC	265 / 310 ; 244 / 330	30,50
(+) ó (-)-1-(9-Antril)-2-propilcloroformiato	APOC	351 / 412 - 256	51
R-(-) ó S-(+)-4-(3-Isotiocianatopirrolidin-1-il)-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol	NBD-PyNCS	488 / 520	52
(1R,2R) ó (1S,2S)-N-[(2-Isotiocianato)cicloexil]-6-metoxi-4-quinolinilamida	CDITC	333 / 430 - 254	53

del exceso enantiomérico de un determinado compuesto quiral. Si no existe esta pureza óptica, es importante conocer el porcentaje de impureza del otro enantiómero para poder aplicar los factores de corrección y así calcular el exceso enantiomérico del analito en estudio. Por otro lado, pueden darse procesos de racemización durante la derivatización.

Una ventaja del empleo de este tipo de separaciones quirales va a ser la facilidad de invertir el orden de elución de los diastereómeros formados empleando el enantiómero opuesto del reactivo derivatizante. Es por lo tanto, una herramienta útil en la determinación de impurezas de uno de los dos analitos con actividad óptica. El diastereómero que se encuentre en menor proporción deberá eluir con un tiempo de migración menor al diastereómero principal para conseguir determinar con mayor facilidad el menor exceso enantiomérico posible como se muestra en la Figura 11.

Este modo de separación de compuestos quirales tiene otras ventajas con respecto a la separación quiral directa; la primera, ya comentada, es la sencillez de la optimización del proceso, la segunda es la obtención de mayores eficacias en la separación con MEKC, ya que por lo general las interacciones que se producen entre los enantiómeros y los selectores quirales tienen cinéticas más lentas que las correspondientes con micelas y matrices poliméricas.

El reactivo **OPA** se utiliza en la actualidad como reactivo derivatizante fluorescente de aminas primarias. No presenta centros quirales en su estructura, sin embargo, cuando en el medio de la reacción de derivatización se añade un tiol quiral, se obtienen mezclas de diastereómeros con propiedades fluorescentes. En los estudios llevados a cabo por Tivesten y Folestad⁴⁹ se empleó el TATG

**Figura 11.** Típico electroferograma en la determinación del exceso enantiomérico

como tiol quiral en separaciones de diastereómeros por CE. Adicionando al tampón de separación micelas SDS y acetonitrilo, pudieron separar catorce DL-aa (28 formas enantioméricas) en menos de 5 minutos, si bien observan la comigración de 12 formas enantioméricas en 6 picos. Posteriormente, estos autores llevaron a cabo estudios comparativos de derivatizaciones *on-column* (Figura 2) de los DL-aa con OPA y diversos tioles quirales¹⁷ (N-acetil-L-cisteína (AC), N-acetil-D-penicilamina (AP), N-isobutiril-L-cisteína (IBC) y TATG). En las condiciones de derivatización *on-column*, el límite de detección obtenido para la L-Leu-OPA/IBC con detección con LIF fue de 55 nM.

El reactivo **FLEC** con estructura química similar al derivatizante fluorescente aquiral FMOC, ha sido empleado por diversos grupos de trabajo en separaciones quira-

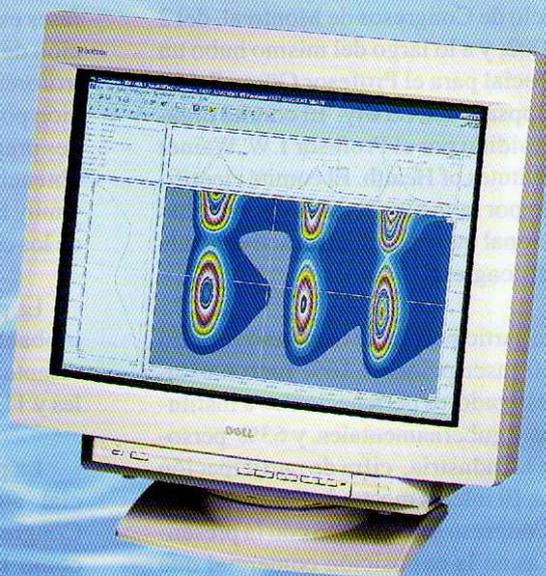


Compromiso de Calidad

Distribuidor en España de DIONEX
líder en **cromatografía iónica**

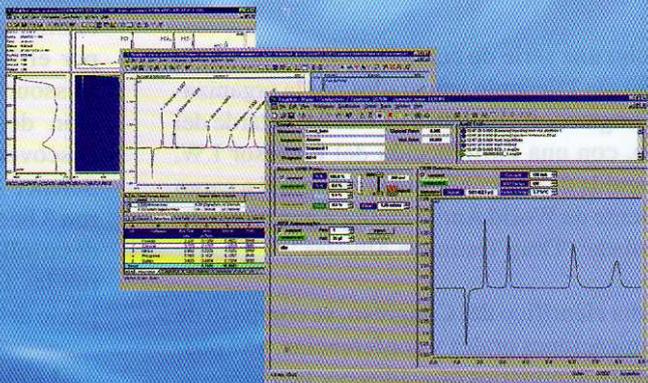


AHORA... NUEVO SUMMIT,
EL HPLC DE  **DIONEX**



Bombas de Gradiente
Autoinyectores
Detectores UV-VIS
Detectores Diodo Array

SOFTWARE Chromeleon
El software para
cromatografía más potente



Incluido en el nuevo catálogo gratuito de
Análisis y Técnicas preparativas VERTEX.

VERTEX Technics, S.L.

Barcelona 93 223 33 33 · Madrid 91 367 51 51 · Bilbao 94 447 19 99 · Valencia 96 348 90 92 · A Coruña 981 81 46 15

93 223 22 20    atencion.cliente@vertex.es · S.A.T. Asistencia Técnica 93 331 00 31

les indirectas. Chan y col.⁵⁰ lograron separar siete D,L-aa (Ser, Ala, Val, Met, Leu, Phe y Trp), añadiendo al tampón de separación SDS y acetonitrilo, llegando a límites de detección de 7 nM para la D,L-Val. En el estudio realizado por Wan y col.³⁰ se llevó a cabo la optimización del pH y la concentración de SDS del tampón mediante diseños estadísticos de experimentos, llegando a separar a línea de base diez D,L-aa-FLEC (Ser, Ala, Thr, Val, Nval, Met, Ile, Leu, Nleu y Phe) en un análisis de 10 minutos. Realizaron además estudios comparativos entre la separación quiral indirecta de los diastereoisómeros D y L-aa-FLEC y la separación quiral directa de aminoácidos derivatizados con el reactivo FMOC.

El **APOC** es un reactivo derivatizante similar al FLEC; se diferencian básicamente en el tipo de grupo cromóforo que presentan. Thorsén y col.⁵¹ realizaron la síntesis orgánica de este reactivo para llevar a cabo la separación posterior de 16 D,L-aminoácidos (Glu, Asp, Ser, Gln, Ala, Asn, Pro, Thr, Val, Tyr, Nval, Met, Ile, Leu, Phe y Trp) empleándose el modo de electroforesis capilar quiral micelar (con SDS).

En los trabajos llevados a cabo por Liu y col.⁵² se emplea el **NBD-PyNCS** como derivatizante quiral de aminoácidos, separando en 36 minutos los aminoácidos quirales Leu, Val, Ala, Pro, Glu y Asp con la comigración de los aminoácidos D-Pro y L-Glu. A diferencia de las separaciones diastereoméricas ya comentadas, en este caso se añade al tampón de separación un detergente no iónico para la formación de micelas (Triton X-100). Los límites de detección alcanzados con la detección por LIF fueron de 50 nM para el aminoácido S-(+)-NBD-PyNCS-Pro. El método se aplicó al análisis de D-Pro y D-Asp en matrices biológicas y de L-aminoácidos en el péptido Gramicidina D, previa hidrólisis ácida.

El derivatizante **CDITC** se ha empleado en separaciones quirales indirectas de aminoácidos por CE, empleando capilares rellenos con el polímero lineal PVA (alcohol polivinílico), cuya función es de seudo fase estacionaria⁵³. Se logran separar de forma individual los 19 aminoácidos quirales proteicos con valores de resolución entre 1.4 y 16. Sin embargo en un solo análisis el número se reduce a seis D,L-aa (Val, Leu, Met, Pro, His y Phe) con la comigración de los enantiómeros L-Val y L-Met.

C.Simó agradece a la Consejería de Educación y Cultura de la Comunidad de Madrid la beca predoctoral concedida.

ABREVIATURAS (Tablas 1-3)

AEOC: 2-(9-Antril)etilcloroformiato
 AM-β-CD: β-CD anfotérica
 APOC: 1-(9-Antril)-2-propilcloroformiato
 AQC: 6-Aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidilcarbamato
 CD: ciclodextrina
 CD-hm: 6-deoxi-6-N-histamina-CD
 CD-mh: 6-deoxi-6-[4-(2-aminoetil)imidazolil]-β-CD
 CDITC: N-[(2-Isotiocianato)ciclohexil]-6-metoxi-4-quinolinilamida
 CM-β-CD: Carboximetil-β-CD
 Cy5: Cianina
 DM-α-CD: Heptakis(2,6-di-O-metil)-α-CD
 DM-β-CD: Heptakis(2,6-di-O-metil)-β-CD
 Dns: Cloruro de 5-dimetilaminonaftaleno-1-sulfonilo
 FITC: Isotiocianato de fluoresceína
 FLEC: 1-(9-Fluorenil)etil cloroformiato
 FMOC: 9-Fluorenilmetil cloroformiato
 HP-β-CD: 2-Hidroxipropil-β-CD
 HP-γ-CD: 2-Hidroxipropil-γ-CD
 NBD-PyNCS: 4-(3-Isotiocianatopirrolidin-1-il)-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol
 NDA: Naftaleno-2,3-dicarboxaldehído
 OPA: o-ftalodialdehído
 TATG: 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranososa
 TM-β-CD: Heptakis(2,3,6-tri-O-metil)-β-CD
 TM-α-CD: Heptakis(2,3,6-tri-O-metil)-α-CD

BIBLIOGRAFÍA

1. Robards, K. y Antolovich, M. Methods for assessing the authenticity of orange juice. *Analyst*, **1995**, 120, 1-28.
2. Bednar, P., Aturki, Z., Stransky, Z. y Fanali, S. Chiral analysis of nonabsorbing compounds by capillary electrophoresis using macrocyclic antibiotics: 1. Separation of aspartic and glutamic acids enantiomers. *Electrophoresis*, **2001**, 22, 2129-2135.
3. Gandolfi, I., Palla, G., Marchelli, R., Dossena, A., Puelli, S. y Salvadori, C. D-alanine in fruit juices: A molecular marker of bacterial activity, heat treatments and shelf-life. *J. Food Sci.*, **1994**, 59, 152-154.
4. Amini, A. Recent developments in chiral capillary electrophoresis and applications of this technique to pharmaceutical and biomedical analysis. *Electrophoresis*, **2001**, 22, 3107-3130.
5. Masters, P. Aspartic acid racemisation in dentine as a measure of ageing. *Nature*, **1976**, 262-279.

6. Pines, G., Danbolt, N.C., Bjoras, M., Zhang, Y., Bendahan, A., Eide, L., Koepsell, H., Storm-Mathisen, J., Seeberg, E. y Kanner, B.I. *Nature*, **1992**, 360, 464-467.
7. Issaq, H.J. y Chan, K.C. Separation and detection of amino acids and their enantiomers by capillary electrophoresis: A review. *Electrophoresis*, **1995**, 16, 467-480.
8. Wan, H. y Blomerg, L.G. Chiral separation of amino acids and peptides by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **2000**, 875, 43-88.
9. Vespalec, R. y Bocek, P. Chiral separations by capillary electrophoresis: Present state of the art. *Electrophoresis*, **1997**, 18, 843-852.
10. Wang, F. y Khaleidi, M.G. Enantiomeric separations by nonaqueous capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **2000**, 875, 277-293.
11. Rizzi, A. Fundamental aspects of chiral separations by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **2001**, 22, 3079-3106.
12. Maier, N.M., Franco, P. y Lindner, W. Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 906, 3-33.
13. Ward, T.J. Chiral separations. *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 4521-4528.
14. *Capillary electrophoresis in chiral analysis*. Chankvetadze. John Wiley & Sons. **1997**. Capítulo 2.
15. Cheng, Y-F. y Dovichi, N.J. Subattomole amino acid analysis by capillary zone electrophoresis and laser-induced fluorescence. *Science*, **1988**, 242, 562-264.
16. Krull, I.S., Deyl, Z. y Lingeman, H. General strategies and selection of derivatization reactions for liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. B*, **1994**, 659, 1-17.
17. Tivesten, A y Folestad, S. Chiral o-phthalaldehyde reagents for fluorogenic on-column labelling of D- and L-amino acids in micellar electrokinetic chromatography. *Electrophoresis*, **1997**, 18, 970-977.
18. Szulc, M.E. y Krull, I.S. Improved detection and derivatization in capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **1994**, 659, 231-245.
19. Bardelmeijer, H.A., Lingeman, H., de Ruiter, C. y Underberg, W.J.M. Derivatization in capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 807, 3-26.
20. *Cromatografía y electroforesis en columna*. Dabrio, M.V., Blanch, G.P., Cifuentes, A., Díez-Masa, J.C., de Frutos, M., Herraiz, M., Martínez Castro, I y Sanz Perucha, J. Springer. **2000**. Pag. 227.
21. Simó, C., Barbas, C. y Cifuentes, A. Separación quiral de aminoácidos en concentrados y zumos de naranja por electroforesis capilar con fluorescencia inducida por láser. *Primer Congreso Virtual Iberoamericano de Gestión de Calidad en Laboratorios Agroalimentarios*. JCYL, Valladolid, **2001**.
22. Engström, A., Andersson, P.E., Pfeffer, W.D. y Josefsson, B. Determination of 2(9-anthryl)ethyl chloroformate-labeled amino acids by capillary electrophoresis and liquid chromatography with absorbance or fluorescence detection. *Anal. Chem.* **1995**, 67, 3018-3022.lk
23. Vespalec, R., Corstjens, H., Billiet, H.A.H., Frank, J. y Luyben, K.Ch.A.M. Enantiomeric separation of sulfur- and selenium-containing amino acids by capillary electrophoresis using vancomycin as a chiral selector. *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 3223-3228.
24. Cladrowa-Runge, S. y Rizzi, A. Enantioseparation of 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate-derivatized-amino acids by capillary zone electrophoresis using native and substituted β -cyclodextrins as chiral additives. I. Discussion of optimum separation conditions. *J. Chromatogr. A*, **1997**, 759, 157-165.
25. Kaneta, T., Shiba, H. y Imasaka, T. Determination of cyanine-labeled amino acid enantiomers by cyclodextrin-modified capillary gel electrophoresis combined with diode laser fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 805, 295-300.
26. Zhao, S. y Liu, Y-M. Electrophoretic separation of tryptophan enantiomers in biological samples. *Electrophoresis*, **2001**, 22, 2769-2774.
27. Ueda, T., Kitanura, F., Mitchell, R., Metcalf, T., Kuwana, T. y Nakamoto, A. Chiral separation of naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde-labeled amino acid enantiomers by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography with laser-induced fluorescence detection. *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 2979-2981.
28. Nergo, A., Garbisa, S., Gotte, L. y Spina, M. The use of reverse-phase high performance liquid chromatography and precolumn derivatization with dansyl chloride for quantitation of specific amino acids in collagen and elastin. *Anal. Biochem.*, **1987**, 160, 39-46.
29. Jin, L.J., Rodriguez, I. y Li, S.F.Y. Enantiomeric separation of amino acids derivatized with fluoresceine isothiocyanate isomer I by micellar electrokinetic chromatography using β - and γ -cyclodextrins as chiral selectors. *Electrophoresis*, **1999**, 20, 1538-1545.
30. Wan, H., Andersson, P., Engström, A. y Blomberg, L. Direct and indirect chiral separation of amino acids by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 704, 179-193.
31. *Handbook of derivatives for chromatography*. Skidmore, M.W. Wiley, New York, **1993**. Capítulo 10.
32. Gassmann, E., Kuo, J.E. y Zare, R.N. Electrokinetic separation of chiral compounds. *Science*, **1985**, 230, 813-814.
33. Gozel, P., Gassmann, E., Michelsen, H y Zare, R.N. Electrokinetic resolution of amino acid enantiomers with copper(II)-aspartame support electrolyte. *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 44-49.
34. Lindler, W., Böhs, B. y Seidel, V. Enantioselective capillary electrophoresis of amino acid derivatives on cyclodextrin. Evaluation of structure-resolution relationships. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 697, 549-560.
35. Wan, H., Engström, A y Blomberg, L.G. Direct chiral separation of amino acids derivatized with 2-(9-anthryl)ethyl chloroformate by capillary electrophoresis using cyclodextrins as chiral selectors. Effect of organic modifiers on resolution and enantiomeric elution order. *J. Chromatogr. A*, **1996**, 731, 283-292.
36. Ueda, T., Mitchell, R., Kitamura, F., Metcalf, T., Kuwana, T. y Nakamoto, A. Separation of naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde-labeled amino acids by high-performance capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *J. Chromatogr.*, **1992**, 593, 265-274.
37. Chang, H-M., Tsai, C-F. y Li, C-F. Enantiomeric separation of Dns-DL-amino acids by γ -cyclodextrin-modified micellar capillary electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, 46, 4598-4603.
38. Galaverna, G., Corradini, R., Dossena, A., Marchelli, R. y Vecchio, G. Histamine-modified β -cyclodextrins for the enantiomeric separation of dansyl-amino acids in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **1997**, 18, 905-911.
39. Nouadje, G., Nertz, M. y Courderc, F. Study of the racemization of L-serine by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography and laser-induced fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 716, 331-334.
40. Hutt, L.D., Glavin, D.P., Bada, J.L y Mathies, R.A. Microfabricated capillary electrophoresis amino acid chirality analyser for extraterrestrial exploration. *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 4000-4006.
41. Copper, C.L., Davis, J.B., Cole, R.O. y Sepaniak, M.J., Separations of derivatized amino acid enantiomers by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis: Mechanistic and molecular modeling studies. *Electrophoresis*, **1994**, 15, 785-792.
42. D'Hulst, A. y Verbeke, N. Chiral separation by capillary electrophoresis with oligosaccharides. *J. Chromatogr.*, **1992**, 608, 275-287.
43. Quang, C. y Khaleidi, M.G. Chiral separations of acidic compounds by Dextrin-mediated capillary zone electrophoresis. *J. High. Resol. Chromatogr.* **1994**, 17, 609-612.

(continúa en pág. 56)

TEMPUS™ TOF MS

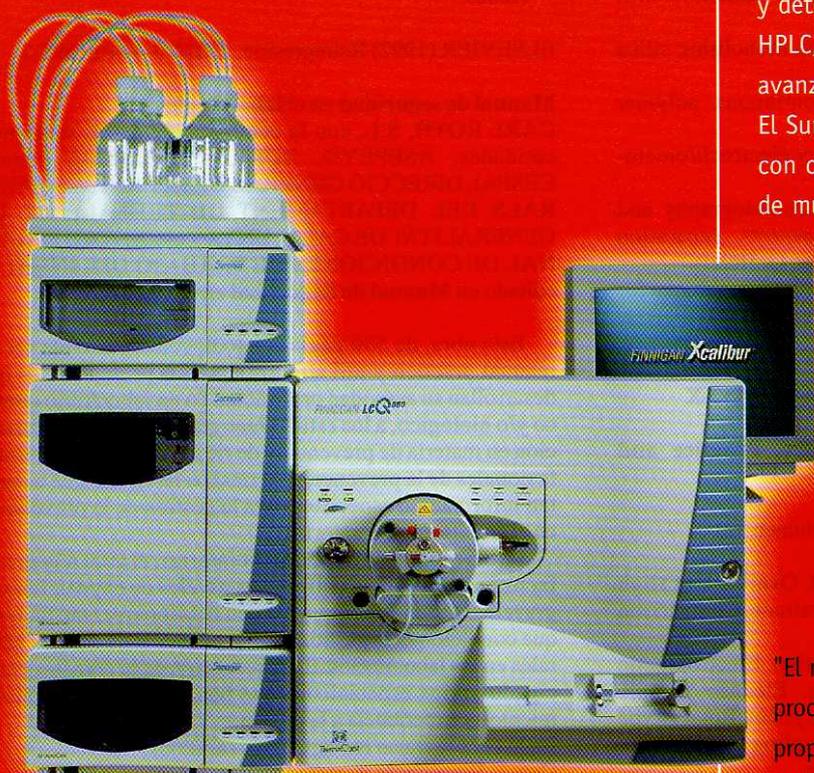
*¡El Sistema GC/MS más rápido!
Proporcionando simultáneamente
cuantificación y caracterización*



ThermoQuest

IN THE COMPANY OF SCIENTISTS™

PRESENTANDO EL
FASTⁿ ADVANTAGE
SISTEMA LC/MSⁿ ULTRA-RAPIDO



**COMPLETAMENTE INTEGRADO.
DEFINITIVO Y ULTRA-RAPIDO.**

El sistema FASTⁿ de ThermoQuest combina lo último en procesamiento de muestras y detección, integrando nuestro nuevo HPLC, Surveyor™ con cualquiera de nuestros avanzados Espectrómetros de Masas, MSⁿ. El Surveyor, proporciona una gran productividad con ciclos de tiempo cortos, alta capacidad de muestras y óptimas prestaciones de la bomba, para cubrir las crecientes demandas en aplicaciones LC/MSⁿ. Los Espectrómetros de Masas Finnigan AQA, LCQ™ DUO, LCQDECA y TSQ® proporcionan los más altos niveles de sensibilidad, precisión, fiabilidad



"El nuevo sistema Fast LC/MSⁿ puede procesar toda nuestra producción proporcionando una información definitiva de nuestras muestras."

y selectividad alcanzable actualmente. Todo este potencial está controlado, naturalmente, por el versátil sistema de tratamiento de datos Xcalibur™
Visítenos www.thermoquest.com

 **ThermoQuest**

IN THE COMPANY OF SCIENTISTS™

www.thermoquest.com

MADRID: Avda. de Valdelaparra, nº 27 28108-Alcobendas
Tel 91 657 4930
Fax 91 657 4937

BARCELONA: C/. Acero, nº 30-32 08038-Barcelona
Tel . 93 223 0918
Fax 93 223 0982

44. Armstrong, D.W., y Nair, U.B. Capillary electrophoretic enantioseparations using macrocyclic antibiotics as chiral selectors. *Electrophoresis*, **1997**, 18, 2331-2342.
45. Ward, T.J., y Oswald, T.M. Enantioselectivity in capillary electrophoresis using the macrocyclic antibiotics. *J. Chromatogr. A*, **1997**, 792, 309-325.
46. Desiderio, C. y Fanali, S. Chiral analysis by capillary electrophoresis using antibiotics as chiral selector. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 807, 37-56.
47. Ward, T.J. y Farris, A.B. Chiral separations using the macrocyclic antibiotics: a review. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 906, 73-89.
48. Wan, H. y Blomberg, L.G. Enantioseparation of amino acids and dipeptides using vancomycin as chiral selector in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **1996**, 17, 1938-1944.
49. Tivesten, A. y Folestad, S. Separation of precolumn-labelled D- and L-amino acids by micellar electrokinetic chromatography with UV and fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 708, 323-337.
50. Chan, K.C., Muschik, G.M. e Issaq, H.J. Enantiomeric separation of amino acids using micellar electrokinetic chromatography after pre-column derivatization with the chiral reagent 1-(9-fluorenyl)-ethyl chloroformate. *Electrophoresis*, **1995**, 16, 504-509.
51. Thorsén, G., Engström, A. y Josefsson, B. Enantiomeric determination of amino compounds with high sensitivity using the chiral reagents (+)- and (-)-1-(9-anthryl)-2-propyl chloroformate. *J. Chromatogr. A*, **1997**, 786, 347-354.
52. Liu, Y.M., Schneider, M., Sticha, C.M., Toyooka, T y Sweedler, J.V. Separation of amino acid and peptide stereoisomers by non-ionic micelle-mediated capillary electrophoresis after chiral derivatization. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 800, 345-354.
53. Kleidernigg, O.P y Lindner, W. Indirect separation of chiral proteinogenic α -amino acids using the fluorescence active (1R,2R)-N-[(2-isothiocyanato)cyclohexyl]-6-methoxy-4-quinolinyamide as chiral derivatizing agent. A comparison. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 795, 251-261.

* * *

Algo más sobre la palabra “Cromatografía”

J. M. Bueno Marco

Actualmente aceptamos que la cromatografía actual procede de los experimentos que realizó el botánico-químico italo-ruso Mikhail Semenovich Tsvet (1872-1919), conocido por nosotros como Tswett. Una biografía de este científico fue publicada en nuestra revista por nuestra compañera M^a Dolores Cabezudo (1). En casi toda la bibliografía que he consultado se indica que la palabra cromatografía se deriva de estos experimentos, ya que Tswett pudo observar la separación de unos colores al eluir con éter de petróleo un extracto de plantas depositado en el principio de un tubo relleno con carbonato de cal. Etimológicamente cromatografía se deriva de las palabras griegas cromatos (color) y graphé (acción de escribir). Por lo tanto parece deducirse que Tswett fue el inventor de la técnica y de la palabra.

Sin embargo esto no es correcto, ya que antes de Tswett, otros científicos habían realizado separaciones, como las denominadas análisis capilar, y que se podrían considerar como precursoras de la cromatografía. Y respecto a la palabra cromatografía ya era conocida en inglés desde por lo menos 1731, como nos indica José Guillermo Merck-Luengo en un artículo publicado en nuestra revista (2).

Antes de la acepción dada por Tswett, su significado era distinto, y normalmente estaba relacionado con el color en el mundo de las pinturas. Esto lo pudimos comprobar como consecuencia de una revisión que realizamos hace unos años, sobre la aplicación de las técnicas analíticas instrumentales en el mundo del arte, y de la que se publicó la parte correspondiente a la cromatografía en esta revista recientemente (3). En esta revisión descubrimos la cita de un libro publicado en 1835 titulado *Chromatography* (4). Su autor fue el químico George Field (1777?-1854), especialista en colores y pigmentos para artistas.

Field fue un gran especialista en la físico-química del color, tanto en el aspecto teórico como en el práctico, y escribió varios tratados a lo largo de su vida, que tuvieron una gran trascendencia en los círculos artísticos del siglo XIX, aunque fue prácticamente olvidado en el XX. En 1815 fue premiado con la medalla de oro de la Royal Society of Arts por sus estudios sobre las lacas. Dos años más tarde publicó su libro *Chromatics*, que trata de la analogía y armonía de los colores. En 1835 publicó

Chromatography, en el que daba en sus 424 páginas una amplia información sobre las propiedades de los colores y pigmentos utilizados en el arte (5).

Para Field la palabra cromatografía tenía el significado de descripción del color, y si bien el no fue su inventor, hizo gran uso de ella. En una de sus obras, Field describe un “metrochromo”, especie de espectrofotómetro ideado por él para el análisis de los colores, basado en el principio de utilizar tres vasos conteniendo líquidos de color rojo, amarillo y azul. A su manera, y en el sentido que él le daba, Field fue el primer cromatografista o metrochromista, ya que utilizó su aparato para el análisis de colores. Aunque el metrochromo no separaba los colores, sino que los medía a través de una mezcla de los tres colores primarios.

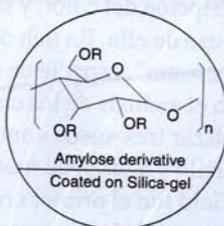
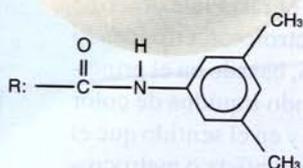
Sean estas pocas líneas un homenaje a un colega nuestro que se adelantó casi dos siglos a utilizar una palabra tan conocida por nosotros como es la cromatografía.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Cabezudo, M. D. *Cromatografía y Técnicas Afines* (1988) Vol. 9, nº 1 pp. 5-9
- (2) Merck-Luengo, J. G. *Cromatografía y Técnicas Afines* (1987) Vol. 8, nº 1 pp. 21-26
- (3) Bueno, J. M., Modenés, J.; *Cromatografía y Técnicas Afines* (2000) Vol. 21, nº 2 pp. 43-50
- (4) Field, G. *Chromatography: A treatise on colours and Pigments for the use of Artists*. London: *Charles Tilt*. (1835) Ediciones posteriores en 1841, London: *Tilt and Boque*, y en 186?, London: *Winson & Newton*.
- (5) Carlyle, L.; *JAIC* 1999, Vol. 38, nº 1, pp.69-82.

CHIRALPAK® AD™-RH

HPLC Quiral en Fase Inversa



- **Compuestos Neutros, Ácidos, Básicos.**
- **Inyección directa de extractos acuosos de muestras biológicas.**
- **Compatible con la mayor parte de fases móviles usadas en fase inversa.**



DAICEL Chiral HPLC Columns

MERCK
eurolab

Tel.: 93 565 55 60

NOTICIAS DE LA SECyTA

PRÓXIMA REUNIÓN

La II Reunión Científica de la SECyTA tendrá lugar en Barcelona, del 26 al 28 de noviembre, en el marco de EXPOQUIMIA y de las 10^{as} Jornadas de Análisis Instrumental. Los miembros de la SECyTA recibirán más adelante la primera circular. En el próximo número aparecerá información más detallada sobre la Reunión.

10 Jornadas de Análisis instrumental (JAI)

Como es habitual, tendrán lugar en el Palau de Congressos de Barcelona, en el marco de EXPOQUIMIA, del 26 al 29 de noviembre del año 2002. Constarán de conferencias plenarias, a cargo de destacados especialistas internacionales, comunicaciones orales, carteles y sesiones de presentación de nueva instrumentación. Las Jornadas pretenden recoger las contribuciones al desarrollo de las Ciencias de la separación, el Reconocimiento atómico y molecular y otras, relacionadas con la moderna Química analítica, así como sus aplicaciones en las diversas especialidades de la Ciencia y la tecnología, con especial énfasis en:

- Alimentos.
- Bioanálisis.
- Contribuciones teóricas, desarrollo instrumental y calidad.
- Materiales, combustibles y productos industriales.
- Medio ambiente
- Proteómica

Organizan las Jornadas los siguientes grupos:

- Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA)
- Sociedad Española de Espectrometría de Masas
- Sociedad Española de Química Analítica (SEQA)
- Comité de Espectroscopia (SEDO)
- Sociedad de Espectroscopia Aplicada (SEA)
- Grupo de Electroquímica (RSEQ y SEQA)
- Association of Environmental Sciences and Techniques
- Divisão de Química Analítica (Sociedade Portuguesa de Química)

Todos los Socios de los grupos organizadores recibirán la primera circular.



RESEÑA DE LIBROS

“Quimiometría”

Guillermo Ramis y M^a Celia García
Editorial Síntesis (<http://www.sintesis.com>)
Madrid 2001
238 páginas, ISBN 84-7738-904-7

La Quimiometría utiliza las matemáticas, la estadística y la lógica formal para diseñar y seleccionar procedimientos experimentales óptimos, y para obtener información y construir conocimiento mediante el análisis de los datos químicos. En castellano existe actualmente muy poca bibliografía sobre el tema, y en general, no se encuentra un texto que introduzca de un modo sistemático y pedagógico, paso a paso, la filosofía subyacente y las principales herramientas que utiliza la Quimiometría. Este texto viene a rellenar dicho hueco.

ÍNDICE ABREVIADO

1. Introducción

- 1.1. Definición y evolución histórica de la Quimiometría.
- 1.2. Máquinas y programas utilizados en Quimiometría.
- 1.3. La matriz objetos-variables.
- 1.4. Tipos de variables.
- 1.5. El estudio de la matriz objetos-variables.

2. Estadística descriptiva

- 2.1. Población y muestra.
- 2.2. El modelo de distribución normal.
- 2.3. Propiedades de la varianza y de la media.
- 2.4. La tipificación o transformación z.
- 2.5. Descriptores no paramétricos de la tendencia central y de la dispersión.
- 2.6. Ensayos de normalidad.
- 2.7. El intervalo de confianza.
- 2.8. Presentación final de los resultados.

3. Ensayos de hipótesis y anova

- 3.1. La hipótesis nula y su nivel de significación.
- 3.2. Errores alfa y beta.
- 3.3. La hipótesis alternativa.
- 3.4. Rechazo de resultados anómalos.
- 3.5. Ensayos de comparación de varianzas.
- 3.6. Ensayos de comparación de medias.
- 3.7. Ensayo de comparación de resultados apareados.
- 3.8. Ensayos de comparación de varias varianzas.
- 3.9. Comparación de varias medias muestrales mediante ANOVA de una entrada.

4. Regresión y calibración lineal simple

- 4.1. Correlación.
- 4.2. Introducción a la regresión lineal simple.
- 4.3. El método de regresión de mínimos cuadrados.
- 4.4. Condiciones de validez de un modelo de regresión de mínimos cuadrados.

- 4.5. Transformaciones matemáticas sobre las variables
- 4.6. Incertidumbres de los parámetros de la recta de regresión y de las predicciones.
- 4.7. La regresión ponderada.
- 4.8. El método de adiciones de estándar o calibración interna.
- 4.9. El método de regresión de la distancia ortogonal.

5. Validación de métodos analíticos

- 5.1. Criterios de la calidad de un método analítico.
- 5.2. Organismos de normalización y empresas de acreditación.
- 5.3. Naturaleza y origen de los errores.
- 5.4. La trazabilidad.
- 5.5. Validación de la trazabilidad a distintas concentraciones de analito.
- 5.6. Validación de la incertidumbre.
- 5.7. El límite de detección.
- 5.8. La relación señal-ruido.
- 5.9. El intervalo dinámico lineal.

6. Exploración de datos

- 6.1. Examen preliminar de la matriz de datos.
- 6.2. Preprocesado de la matriz de datos.
- 6.3. Correlaciones y distancias como medidas de similitud.
- 6.4. El dendrograma.

7. Análisis de componentes principales

- 7.1. Introducción y conceptos fundamentales.
- 7.2. Descomposición de una matriz en puntuaciones, cargas y autovalores.
- 7.3. Análisis de la matriz de las cargas.
- 7.4. Rotaciones adicionales de los componentes principales.

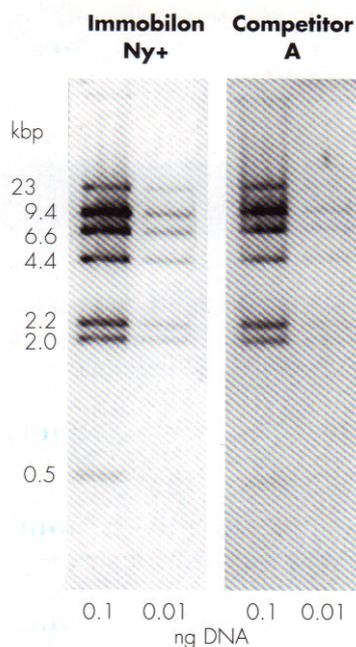
8. Análisis clasificatorio

- 8.1. Introducción.
- 8.2. El análisis discriminante.
- 8.3. El método k-NN.
- 8.4. El método de las redes neuronales artificiales.
- 8.5. Validación de un modelo de clasificación.
- 8.6. El olfato electrónico.

9. Calibración y regresión múltiple y multivariante

- 9.1. Modelos y métodos en calibración y regresión múltiple y multivariante.
- 9.2. Diseño del conjunto de estándares de calibración.
- 9.3. Calibración y regresión lineal múltiple.
- 9.4. Regresión de componentes principales.
- 9.5. Regresión de mínimos cuadrados parciales.

pure signal



Identificación de ADN
por debajo de picogramos

Si busca una intensidad de banda superior con el menor ruido de fondo, pruebe la nueva membrana para transferencia de ácidos nucleicos Immobilon™-Ny+. Esta membrana de nylon modificada, reforzada y cargada positivamente está optimizada para mejorar la adsorción y "re-probing" (hibridación y separación de sonda) de ácidos nucleicos.

Immobilon™-Ny+ es ideal para transferencias Southern y hibridación de placas de lisis o colonias. Cuando se comparan con otras membranas de nylon cargado, se produce un incremento del 50% en la intensidad de la señal, que llega a ser 5 veces mejor tras hibridar con 13 sondas consecutivas.

Para recibir más información: teléfono: 917 283 960
e-mail: aplicaciones@millipore.com

Para realizar un pedido: teléfono: 901 109 109,
fax: 913 582 455, e-mail: pedidos@millipore.com

Para más información visítenos en:
www.millipore.com/immobilon

MILLIPORE

pure speed

Para concentrar, purificar y preparar proteínas y otras muestras biológicas de forma rápida y eficaz, utilice los dispositivos de ultrafiltración Ultrafree® con membrana Biomax™ (PES) de alto caudal. Estos dispositivos incorporan un diseño exclusivo con la membrana en vertical para concentrar soluciones sin ensuciamiento de la membrana y sin llegar a la sequedad durante la centrifugación. Concentre la mayoría de sus muestras **hasta 50 veces en sólo 20 minutos***. El concentrado se recupera fácilmente con una pipeta.

*Ultrafree-15 con Biomax-10, 1 mg/ml de BSA

- Dispositivos disponibles para 4 volúmenes: 0,5, 4, 15 y 60 ml, y en un amplio rango de cortes de peso molecular: desde 5K hasta 100K.
- ¡NUEVO! El Ultrafree PF-60 concentra volúmenes iniciales de 60 ml y puede funcionar a presión o por centrifugación.

Para recibir más información: teléfono: 917 283 960
e-mail: aplicaciones@millipore.com

Para realizar un pedido: teléfono: 901 109 109,
fax: 913 582 455, e-mail: pedidos@millipore.com

Para más información visítenos en:
www.millipore.com/ultrafree

MILLIPORE



Si desea hacerse socio de la SECyTA rellene y envíe el siguiente boletín de inscripción, acompañado de la correspondiente autorización bancaria a:

Dr. Xavier Guardino

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo

C/ Dulcet, 2-10 - 08034 Barcelona

Cuota año 2002: 5.000 pta. 30 ¢

Señale la dirección en la que desea recibir la correspondencia.

Por favor, envíe un cheque por la cuota del primer año.

**SOCIEDAD ESPAÑOLA
de CROMATOLOGRAFIA y TÉCNICAS AFINES**

HOJA DE INSCRIPCIÓN

Apellidos Nombre
 Ciudad Código postal
Calle núm.
Teléfono Correo electrónico
 Industria u organización
..... Ciudad Código postal
Calle núm.
Teléfono FAX Correo electrónico
Firma

DATOS BANCARIOS

Banco/Caja de Ahorros
Sucursal
Dirección
D.
con domicilio en
y con cta. cte. / libreta de ahorro núm.en esta
sucursal, ruego a usted se digne dar las órdenes oportunas para que con cargo a dicha cuenta sean abonados
los recibos de mi cuota anual de socio que les serán presentados al cobro por la Sociedad Española de
Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA).
Atentamente le saluda,

Firma

Por favor, rellene los datos bancarios en el formato:

/ ___ / ___ / ___ / _____ /
Entidad Oficina D.C. Número de cuenta





CONGRESOS CELEBRADOS

25th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, HPLC 2001

Maastricht, Holanda, 17-22 Junio de 2001

La vigésimo quinta edición del *International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques* (HPLC) se celebró en el *Maastricht Exhibition and Congress Center* (MECC) de Maastricht (Holanda). El comité organizador estuvo presidido por H. Lingeman de la *Vrije Universiteit Amsterdam* (Holanda) y H. Poppe de la *Universiteit van Amsterdam* (Holanda), y constituido además por H.A.H. Billiet de la *Technische Universiteit Delft* (Holanda), J. Crommen de la Liège University (Bélgica), W.Th. Kok y P.J. Schoenmakers de la *Universiteit van Amsterdam* (Holanda), y Sj. van der Wal de *DSM Research* (Geleen, Holanda). El comité científico estuvo formado por numerosos científicos, algunos de los cuáles pronunciaron diversas conferencias y plenarios.

El intenso programa científico del HPLC 2001 se caracterizó por 119 comunicaciones orales, 457 comunicaciones en formato de póster, 10 conferencias, 9 tutoriales, así como numerosos seminarios ofrecidos por las empresas asistentes. Las comunicaciones se agruparon según su temática en diversas categorías, abarcando desde conceptos fundamentales hasta nuevas aplicaciones de las técnicas de separación. Los temas incluyeron técnicas acopladas y multidimensionales, nuevas tendencias en electroforesis capilar, desarrollo y validación de métodos, química farmacéutica y computacional, *drug monitoring*, quimiometría, avances en electrocromatografía, técnicas miniaturizadas (utilización de microchips), mecanismos de retención, biotecnología analítica, *genomics* y *proteomics*, *molecular imprinting*, separaciones quirales, técnicas y procesos preparativos, sistemas de detección, análisis de polímeros, etc.

Cabe destacar, en cuanto a los nuevos materiales para rellenos de columnas para cromatografía líquida, numerosos carteles así como conferencias sobre la utilización de rellenos monolíticos, con los cuales se obtienen separaciones rápidas y con eficacias elevadas. Asimismo muchos trabajos versaban sobre *high-throughput* (separaciones cuantitativas ultra-rápidas en HPLC).

En cuanto a la participación española cabe destacar que de los 739 asistentes 43 eran investigadores españoles (un 5.8% de la participación) con un total de 44 comunicaciones (7.6% de las comunicaciones) 5 de ellas en forma oral y las restantes en forma de cartel. Especial mención requieren las comunicaciones basadas en aplicaciones al análisis medioambiental donde las comunicaciones de origen español representaron más de un 22% del total de comunicaciones de esta temática.

En la ceremonia de clausura del congreso se hizo un efusivo homenaje al Doctor Hans Poppe con motivo de su reciente retirada y en reconocimiento a su larga y brillante carrera científica. Durante esta ceremonia también tuvo lugar la presentación de los próximos congresos. Así pues, en septiembre de este año tendrá lugar un congreso adicional en Kyoto (Japón) presidido por el Profesor N. Tanaka. El HPLC 2002 se celebrará en junio en Montreal (Canadá) organizado por el Profesor I.W. Wainer. Y finalmente, en junio de 2003 el congreso tendrá lugar en Niza (Francia) presidido por el Profesor A.M. Siouffi.

Laura Escuder y Juanjo Martínez

Universidad de Valencia

Fadoua Z. Oumada e Inmaculada Canals

Universitat de Barcelona

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

DIOXIN 2002

El XXII International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and Persistent Organic Pollutants (POPs) - "Dioxin 2002" tendrá lugar en Barcelona, del 12 al 16 de agosto de 2002, en el Palau de Congressos de Montjuich (<http://www.firabcn.es/ING/Home.htm>). Entre los patrocinadores figura la SECyTA.

Se admitirán comunicaciones hasta el 30 de abril.

Programa preliminar

Incluirá los siguientes temas, relacionados con los compuestos organohalogenados persistentes, incluyendo entre otros, bencenos, bifenilos (PCBs), naftalenos (PCNs) dibenzo-p-dioxinas (PCDDs), dibenzofuranos (PCDFs), parafinas (CPs) y canfenos (toxafenos), así como compuestos polibromados, especialmente retardantes de llamas. Los metabolitos y otros productos derivados de los organohalogenados son también objeto del interés de este simposio.

1. Analisis: muestreo, pre-separación, GC y MS, nuevas técnicas instrumentales, garantía y control de calidad, síntesis y caracterización, y bioensayos
2. Formación, fuentes y remediación
3. Formation, Sources and Remediation: inventario de fuentes, mecanismos de formación, control y métodos de remediación, compuestos organohalogenados naturales
4. Niveles ambientales y en alimentos: tendencias en tiempo y espacio, balances de mass, niveles en los distintos nichos
5. Epidemiología: cáncer, reproducción, desarrollo, etc
6. Disrupción endocrina: toxicología, mecanismos, métodos de ensayo, tendencias
7. Exposición humana: interna y externa, ingesta, niveles y tendencias, biodisponibilidad
8. Control de riesgos
9. Transferencias medioambientales: deposición atmosférica, transporte de largo alcance, transformaciones, modelos
10. Ecotoxicology: Bioacumulacion y biomagnificación, biomarcadores, sistemas modelo, efectos sobre poblaciones

Además se proponen algunas sesiones especiales para discutir en profundidad temas como: toxafenos, retardantes de llama polibromados, POPs en alimentos,

acreditación contra calidad en análisis de POPs, regulación sobre dioxinas, análisis rápidos, remediación en ambientes marinos, monitorización de fuentes industriales, POPs en la cuenca mediterránea, inventario de disruptores endocrinos

Comité organizador:

Presidente: Josep Rivera, CSIC

Vicepresidentes: M^a Teresa Galceran, U. de Barcelona, y Carmen Rodríguez, IQS

Secretario: José J. Llerena CSIC

Vocales: Esteban Abad, CSIC; Josep Maria Baldasano, UPC; Josep Caixach, CSIC; Salvador Doñate, IQS; Manolis Kogevas, IMIM; Josep Maria Llobet, U. de Barcelona; Francesc Xavier Santos, U. de Barcelona; Susana Bayarri, U. de Zaragoza; Josep Lluís Domingo, U. Rovira i Virgili; Begoña Fabrellas, CIEMAT; Joan Feliubadaló, E. Metropolitana de Barcelona; Jordi Díaz-Ferrero, IQS; María José González, CSIC; Joan Grimalt, CSIC; Begoña Jiménez, CSIC; Carlos Martínez-Orgado, Club español de los Residuos; Jesús del Mazo, CSIC; Ramón Nadal, SIRUSA; Nicolás Olea, U. de Granada; Lourdes Ramos, CSIC

Direcciones de contacto

Dr. Josep Rivera
IIQAB, CSIC
Jordi Girona, 18-26
08034 Barcelona, Spain
Tel. +34 93 400 61 67
Fax: +34 93 204 59 04
E-mail: chairman@dioxin2002.org

D. José J. Llerena
CSIC
Jordi Girona, 18-26
08034 Barcelona, Spain
Tel. +34 93 400 61 00
Fax: +34 93 204 59 04
E-mail: scientific@dioxin2002.org

Secretaría técnica
Catalana de Congressos S.L.
Casp, 120 3r 4a
08013 Barcelona, Spain
Tel. +34 93 244 91 50
Fax: +34 93 244 91 51
E-mail: info@catalanacongressos.com

Xth International Symposium on Luminiscence Spectrometry - Detection techniques in Flowing Streams - Quality Assurance and Applied Analysis

El X Symposium se celebrará en Granada en junio de 2002. Estará organizado por la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada. Estará dedicado a toda una serie de técnicas relacionadas con la luminiscencia, sus acoplamientos con cromatografía, electroforesis capilar o inmunoensayos, y sus aplicaciones químicas, clínicas, bioquímicas, farmacéuticas, toxicológicas, ambientales, etc. El programa constará de comunicaciones en forma de cartel y de presentaciones orales por invitación. Tendrá lugar una exposición comercial.

Los temas principales serán:

Espectroscopia de fluorescencia, fosforescencia, bioluminiscencia, quimiluminiscencia y electroluminiscencia, luminiscencia de sólidos, métodos de detección por luminiscencia en cromatografía y electroforesis capilar, métodos de preparación de derivados, validación de métodos, etc.

Para obtener más información, se puede escribir a:

Dra. Ana M^a García-Campaña
 Presidente Departamento de Química Analítica
 Facultad de Ciencias, Universidad de Granada
 Av.Fuente Nueva s/n. 18071-Granada
 Tel.: 34-958-24 85 94
 E-mail: amgarcia@goliat.ugr.es

También se puede obtener información en la página
 Web: <http://www.ugr.es/~ecugr/isls2002>

VIIth International Symposium on Drug Analysis "Drug Analysis 2002"

Organizado por la Belgian Society of Sciences, tendrá lugar en Brujas, Bélgica, del 21 al 25 de Abril de 2002, presidido por el Prof.Dr. Willy Baeyens, de la Universidad de Gante.

Para más información, escribir a:
 Orga-med Congress Office
 Mr. Peter Erard, Project Manager
 Essenestraat 77, B - 1740 Ternat (Bélgica)
 Fax: +32- 9- 264 81 96
 E-mail: willy.baeyens@rug.ac.be
 web:www.allserv.rug.ac.be/~elsmet/conferences.html

14th Congress on Methods in Protein Structure Analysis

Tendrá lugar en Valencia, del 8 al 12 de septiembre de 2002

Para recibir la 2^a circular, dirigirse por correo ordinario o electrónico al organizador:

MPSA-2002
 el Gabinete
 San Vicente Mártir, 208-2a
 Fax: +34 96 341 4898
 E-mail: elgabinete@ctv.es
MPSA2002@ibv.csic.es

24 International Symposium on Chromatography

Tendrá lugar en Leipzig, Alemania, del 16 al 20 de septiembre de 2002.

Puede obtenerse más información en:

Wgesellschaft Deutcher Chemiker
 Abteilung Tagungen
 Postfach 90 04 40
 D-60444 Frankfurt am Main, (Alemania)
 Fax: +49 69 7917 475
 E-mail: engewald@rz.uni-leipzig.de

HPLC-2002

El 26 International Symposium on HP Liquid Phase Separations and related Techniques tendrá lugar en Montreal del 2 al 7 de junio de 2002. Precedido por varios cursillos sobre temas específicos, incluirá conferencias plenarias, comunicaciones orales, carteles, y sesiones de discusión, así como exhibición comercial.

Puede obtenerse más información en:

HPLC 2002 Secretariat
 1110 Avenue des Pins Ouest
 Montreal, Quebec
 Canada H3A 1A 3
 Fax: + 514-398-4854
 E-mail: hplc2002@mcgill.ca
 Internet: www.med.mcgill.ca/hplc2002



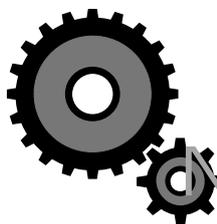
EMPRESAS colaboradoras

PROTECTORAS

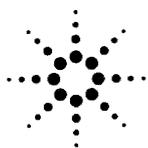
- AGILENT TECHNOLOGIES
SPAIN, S.L.
Ctra. N-VI, km 18,200
28230 LAS ROZAS (Madrid)
- HUCÖA ERLOSS, S.A.
Luis I, 9 - Edificio Hucoa
28031 MADRID
- PERKIN ELMER HISPANIA, S.A.
Avda. Universitat Autònoma, 3A
Parc Tecnològic del Vallés
08290 CERDANYOLA (Barcelona)
- THERMO QUEST, S.A.
Grupo Thermo Instruments
Valdelaparra, 27 - Edif. Alcor, 2ª planta
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- WATERS CROMATOGRAFÍA, S.A.
Entenza, 24
08015 BARCELONA

ASOCIADAS

- AL AIR LIQUIDE ESPAÑA, S.A.
Paseo de la Castellana, 35
28046 MADRID
- ALFAQUIMIA, S.L.
Santa Engracia, 43
28010 MADRID
- GOMENSORO, S.A.
Aguacate, 15
28044 MADRID
- IZASA, S.A.
Aragoneses, 13
Polígono Industrial Alcobendas
28100 ALCOBENDAS (Madrid)
- KONIK-TECH, S.A.
Ctra. de Cerdanyola, 73
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS (Barcelona)
- KONTRON, S.A.
Salvaterra, 4
28034 MADRID
- INGENIERÍA ANALITICA, S.L.
Ctra. Cerdanyola, 65-67
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS
(Barcelona)
- MERCK EUROLAB, S.A.
Polígono Merck
08100 MOLLET DEL VALLÉS
(Barcelona)
- MICROMASS INSTRUMENTS, S.A.
Roger de Flor, 180
08013 BARCELONA
- MILLIPORE IBÉRICA, S.A.
Avda. Llano Castellano, 13
28034 MADRID
- SCHARLAB, S.L.
La Jota, 86
08016 BARCELONA
- S.I.A. Enginyers, S.A.
Llacuna, 162
08018 BARCELONA
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CARBUROS METALICOS
Plaza de Cronos, 5
28037 MADRID
- SUGELABOR
Sicilia, 36
28038 MADRID
- TEKNOKROMA
Camí de Can Calders, 14
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS
(Barcelona)
- VARIAN-IBÉRICA, S.L.
Avda. Pedro Díez, 25, 3º
28019 MADRID
- VERTEX TECHNICS, S.L.
Comercio, 12-14 bajos
08902 HOSPITALET DE LLOBREGAT
(Barcelona)



NOVEDADES TÉCNICAS



Agilent Technologies

Innovating the HP Way

AGILENT TECHNOLOGIES PUBLICA UNA NUEVA NOTA DE APLICACIÓN SOBRE LOS LINERS DE CONEXIÓN DIRECTA PARA MEJORAR EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS ACTIVOS

Agilent Technologies Europe ha anunciado la publicación de una nota de aplicación titulada “Direct Connect Liners: Improved Response for Active Compounds” (“Liners de conexión directa: respuesta mejorada para los compuestos activos”), número de publicación 5988-3933EN.

Esta nota ilustra las mejoras en la respuesta de los liners de conexión directa en comparación con otros tipos de liner splitless (sin división). Se ha comparado la sensibilidad de los instrumentos para cada uno de los cinco tipos distintos de liner mediante la utilización del analito 2,4-dinitrofenol activo como ejemplo, con concentraciones entre 5 ng y 160 ng.

Ahora se puede disponer de los liners de conexión directa para la inyección split/splitless (con/sin división) en los cromatógrafos de gases Agilent 6890. La mejora de sensibilidad resultante para los compuestos problemáticos se acerca a la obtenida con un inyector frío en-columna. Estos liners aumentan la sensibilidad de los instrumentos para los compuestos activos al mejorar la transferencia desde el inyector a la columna.

Estos liners son los más adecuados para muestras relativamente limpias, como extractos de agua, pero también se han utilizado satisfactoriamente para métodos de residuos sólidos y otras matrices que presentaban dificultades.

Disponibilidad

“Direct Connect Liners: Improved Response for Active Compounds” (“Liners de conexión directa: respuesta mejorada para los compuestos activos”) se encuentra disponible de forma gratuita en la web de Agilent, www.agilent.com/chem, o en cualquier oficina de ventas de Agilent del mundo.

LA BASE DE DATOS DE CROMATOGRAMAS EN LÍNEA DE AGILENT TECHNOLOGIES AYUDA A LOS CROMATOGRAFISTAS A SELECCIONAR LA TÉCNICA CORRECTA PARA SUPERAR RETOS ANALÍTICOS ESPECÍFICOS

Agilent Technologies Europe ha anunciado una base de datos de cromatogramas en línea, un nuevo y valioso recurso para los cromatografistas, que proporciona información vital para superar los retos analíticos. Este recurso contiene cientos de compuestos analizados de la forma habitual que pueden ayudar a los cromatografistas a seleccionar la técnica analítica, la columna y las condiciones correctas para sus aplicaciones. Esto ahorra tiempo, evitando experimentos de ensayo y errores, y proporciona el modelo para una cromatografía de alta calidad.

La base de datos contiene las bibliotecas de los cromatogramas de Agilent y de la antigua J&W Scientific Inc., un líder mundial desde hace mucho tiempo en columnas de cromatografía de gases y accesorios, ahora propiedad de Agilent. La base de datos también contiene múltiples cromatogramas que los clientes han enviado para su estudio. Las aplicaciones abarcan la cromatografía de gases, la cromatografía de líquidos y la electroforesis capilar.

Esta base de datos permite acceder en línea de forma rápida y fácil a todos los cromatogramas y electroferogramas. Los cromatografistas pueden dirigirse a la Web de Agilent (www.agilent.com/chem) y pinchar en “Library” (“Biblioteca”) para acceder al enlace de la biblioteca de los cromatogramas.

Los usuarios pueden buscar en la biblioteca por nombre de compuesto o por número del Servicio de Extractos Químicos (CAS). Además de los nombres de compuestos comunes, la base de datos utiliza nombres de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry), la autoridad reconocida en la nomenclatura química correcta. Los usuarios pueden limitar su búsqueda a una técnica concreta o pueden explorar toda la biblioteca. Agilent seguirá ampliando la base de datos a medida que disponga de los cromatogramas.

Disponibilidad

En la actualidad puede disponerse de este recurso en la Web de Agilent, en la dirección www.agilent.com/chem.



Acerca de Agilent Technologies

Agilent Technologies Inc. (NYSE: A) es líder mundial en tecnologías de comunicaciones, electrónica y cuidado de la salud. Sus 41.000 empleados atienden a los clientes en más de 120 países. Durante el ejercicio fiscal de 2001, la facturación neta de Agilent ascendió a 8.400 millones de dólares. Para más información acerca de Agilent Technologies, visite la web en la dirección www.agilent.com.

División de Análisis Químico de Agilent

La División de Análisis Químico de Agilent, con domicilio social en Palo Alto (California), es proveedor líder de soluciones, servicios y asistencia para la medida y la información de análisis químico, así como servicios y soporte, columnas y consumibles para laboratorios científicos del sector industrial, público y académico. El grupo ha tenido unos ingresos de más de 1.100 millones de dólares en el ejercicio fiscal de 2001.

En la página web: <http://www.chem.agilent.com/cag/products/products.html> se puede encontrar más información sobre los productos y servicios para análisis químico de Agilent.

líticas. Estas mezclas están reconocidas por ENAC mediante el Acuerdo Multilateral de Reconocimiento Mutuo firmado por los Organismos de Acreditación Europeos. Organismo con el cual AIR LIQUIDE ESPAÑA tiene solicitado su acreditación del Laboratorio de Villaverde (Madrid), como "Laboratorio de Calibración de Mezclas de Gases Puros", con lo que a partir de su concesión, nuestro Grupo dispondrá de tres Acreditaciones reconocidas por los Organismos antes indicados, y con los que se cubre las mezclas necesarias para la calibración de analizadores

- Elección de dos niveles de pureza para la gama internacional ALPHAGAZ. Disponemos, según calidades, de botellas, recipientes criogenicos móviles y tanques criogenicos fijos
- ALPHAGAZ 1 para análisis hasta 10 ppm con especificaciones de $H_2O < 3 \text{ ppm}$; $O_2 < 2 \text{ ppm}$ y $CnHm < 0,5 \text{ ppm}$
- ALPHAGAZ 2 para analisis de gran precisión del orden de ppm e inferio con especificaciones de $H_2O < 0,5 \text{ ppm}$; $O_2 < 0,1 \text{ ppm}$; $CO < 0,1 \text{ ppm}$; $CO_2 < 0,1 \text{ ppm}$; $CnHm < 0,1 \text{ ppm}$; $H_2 < 0,1 \text{ ppm}$ y $N_2 < 0,1 \text{ ppm}$
- ALPHAGAZ FLO. Producción insitu de aire, nitrógeno e hidrogeno de elevado nivel de pureza (hasta 99,99999%)



OFERTA GLOBAL ALPHAGAZ PARA ANALISIS Y LABORATORIOS

ALPHAGAZ una gama internacional de gases, materiales y servicios, especialmente diseñada para sus equipos de análisis.

ALPHAGAZ :

- Garantiza sus especificaciones de gases puros para 5 años
- Certificación ISO 9002
- El Grupo AIR LIQUIDE dispone actualmente de las Acreditaciones COFRAC (Francia) y SAS (Suiza) para mezclas que cubren todas las aplicaciones ana-



Todas estas gamas internacionales ALPHAGAZ, se utilizan en diferentes sectores de actividad.

□ REFINERIAS Y PETROQUIMICAS

• GASES PUROS Y MEZCLAS

- Gases ALPHAGAZ 1,2 y FLO como gases portadores en cromatografía gaseosa
- Mezclas liquidas de hidrocarburos como estándares de calibración para materias primas y productos acabados

- Mezclas líquidas de hidrocarburos PIANO (Parafinas, Isoparafinas, Aromáticos, Naftenos y Olefinas) en viales de 0,1 y 1 ml para inyección
- Mezclas gaseosas de hidrocarburos y odorizantes
- Mezclas VOC, SO₂, NO_x, H₂S, ... como estándares de calibración para emisiones
- Mezclas H₂O/N₂ como estándares de calibración de humedad
- Mezclas de estándares de referencia de gas natural.
- Mezclas de oxigenados como estándares de calibración

• MATERIALES

- Materiales e instalaciones especialmente diseñadas para los gases ALPHAGAZ 1 (Nivel de fuga < 10-6 mbar.l/s He) y ALPHAGAZ 2 (Nivel de fuga < 10-7 mbar.l/s He)



• SERVICIOS

- Toda una gama de prestaciones diseñadas para optimizar la eficacia de su cadena de suministro de gas:
- Centro de Servicios
- Servicio DATAL
- Servicio gestión de envases
- Mantenimiento preventivo y correctivo (SERVI-GAZ)
- Auditoria de sus instalaciones
- Análisis de Gases
- Curso de Formación



De manera similar toda esta gama internacional de gases, materiales y servicios, son aplicables de manera personalizada para los siguientes sectores industriales:

□ CONTROL DE CONTAMINACIÓN

- Empresas de servicios que le trabajan a las Comunidades Autónomas para el control de inmisión y emisión
- Laboratorios de Referencia de Sanidad o de Medio Ambiente
- Empresas autorizadas como entidades de inspección y control que efectúan los controles reglamentarios
- Centrales Térmicas
- Plantas incineradoras
- Fabricantes de vehículos
- Centro de homologación
- ITV

□ GAS NATURAL

□ INDUSTRIA FARMACEUTICA

□ UNIVERSIDADES Y CENTROS I + D

□ INDUSTRIA QUIMICA BASICA

□ INDUSTRIA PESADA (SIDERURGICA, FUNDICIONES, VIDRIERAS, CEMENTERAS)

□ CENTRALES NUCLEARES

□ AGROALIMENTACION

□ ELECTRONICA

Para ampliar la información sobre nuestra gama internacional ALPHAGAZ o para cualquier consulta técnica y/o comercial, contacte con:

AI Air Liquide España, S.A.
 Paseo de la Castellana, 35
 28046 Madrid
 Teléf.: 91 502 93 00
 Fax.: 91 502 96 84
<http://www.lab.airliquide.com>

KONIK - TECH®

EL GRUPO KONIK CELEBRA SU 25 ANIVERSARIO

En el año 2002 celebramos nuestro 25 aniversario y queremos compartir la efeméride con todos nuestros clientes, colaboradores y proveedores como parte integral de nuestro equipo. El primer cromatógrafo de gases Konik diseñado, fabricado y comercializado por Konik-Tech se presentó en el Palacio de Congresos de Barcelona durante la Reunión de la Real Sociedad Española de Química y Física en Diciembre de 1977.

Durante la Feria ChemAsia de Singapur en 1985 presentamos el primer HPLC de gradientes a baja presión (el primero del mundo), coincidiendo con el lanzamiento internacional de nuestras actividades.

Nuestra experiencia en Espectrometría de Masas se desarrolló en paralelo como agentes del Grupo VG entre 1981 y 1991. Durante estos diez años promocionamos la línea completa de cuadrupolos y espectrómetros de sector magnético, a los que acoplamos nuestros propios HRGC y HPLC. Fruto de esta experiencia ha sido el desarrollo de un nuevo Espectrómetro de Masas, el K-MASS11, que formalmente se presentará durante la próxima Expoquimia 2002 el próximo Noviembre tras una breve pre-promoción con unos resultados excelentes por sus conceptos únicos de diseño, modularidad y flexibilidad.

Finalmente, queremos agradecer a todas las personas e instituciones que nos han apoyado y siguen apoyando y que con su contribución ayudan a que las personas, la ciencia y la tecnología de nuestro país alcance los niveles que le corresponden y que con orgullo hacemos llegar a más de setenta países en la actualidad.

RENOVACIÓN DE LA CERTIFICACIÓN ISO 9001

El pasado mes de Noviembre renovamos con satisfacción por tercer año consecutivo la Auditoría Anual de nuestro sistema de Calidad basado en la Norma ISO 9001 por SGS ICS Ibérica. El objetivo de nuestro sistema de calidad es la satisfacción permanente y total del equipo que integra nuestro propio personal, nuestros proveedores y nuestros clientes en el diseño, fabricación, comercialización y desarrollo de nuestros equipos y servicios.

NUEVA REPRESENTACIÓN DE ALCATEL VACUUM TECHNOLOGY

La División de Vacío de Konik-Tech es la nueva responsable de la representación en nuestro país de los productos y servicios de Alcatel Vacuum Technology, líder mundial en sistemas y componentes de vacío y ultra-alto vacío. La presentación formal se realizó durante el 7th European Vacuum Conference and 3rd European Topical Conference on Hard Coatings, celebrado en Madrid del 17 al 20 de Septiembre de 2001. Los productos de Alcatel se dividen en los siguientes grupos: bombas de vacío rotativas de paletas, grupos de bombeo rotativa/roots, bombas secas, bombas turbomoleculares e híbridas, grupos de bombeo secos, detectores de fugas por Espectrometría de Masas, medidores, controladores y accesorios de vacío.

NUEVO ESPECTRÓMETRO DE MASAS K-MASS11

Durante la próxima edición de la Expoquimia que se celebra del 12 al 16 de Noviembre presentaremos formalmente en nuestro país el nuevo Espectrómetro de Masas K-MASS11, fruto de nuestra dilatada experiencia en esta tecnología. El nuevo K-MASS11 es un equipo de sobremesa HRGC/HPLC/DIP-MS modular, flexible, compacto y potente con 12 modos de ionización intercambiables en menos de 10 minutos para CG y HPLC. Basado en un cuadrupolo con prefiltros y un rango de masas de 2000Da, ofrece una sensibilidad inigualada por ningún otro equipo similar actualmente en el mercado.



Konik-Tech
Av. Cerdanyola, 73
08190 Sant Cugat (Barcelona)
Tfno.: 93 590 2840
Fax: 93 590 2844
e-mail: ventas@konik-group.com
www.konik-group.com

MILLIPORE

NUEVA GAMA MILLI-Q LA REFERENCIA PARA AGUA ULTRAPURA EN EL LABORATORIO

Millipore ha creado una gama de sistemas de producción de agua ultrapura diseñados para adaptarse a diversos campos de aplicación. Estos sistemas incorporan una serie de características versátiles que contribuyen a la creación de un eficaz entorno de trabajo en el laboratorio.



Millipore estableció el patrón de calidad para la producción de agua ultrapura en 1972, año en que lanzó al mercado el primer sistema de purificación de agua Milli-Q. Desde ese momento, el "agua Milli-Q" se ha convertido en un punto de referencia y los sistemas Milli-Q han definido los requisitos para obtener una calidad de agua ultrapura, controlada con gran precisión y reproducible de forma sistemática.

Los nuevos sistemas Milli-Q han sido creados para anticiparse a las tendencias de los laboratorios analíticos modernos. Se han producido cambios espectaculares gracias a la introducción de nuevos métodos de ensayo y de rápidos sistemas automatizados de procesamiento de muestras. Estos cambios no sólo implican un mayor énfasis en la precisión, en el control de calidad y en la reducción de costes, sino que también requieren el uso de reactivos químicos puros. Puesto que el agua constituye más del 99% de la mayoría de soluciones utilizadas en un laboratorio, el agua de alta pureza es un reactivo imprescindible para alcanzar, o incluso superar, la pureza requerida por cada aplicación.

El agua ultrapura (Tipo I) que resulta idónea para las aplicaciones críticas de laboratorio debe satisfacer una serie de características comunes mínimas, tales como un nivel de resistividad de 18,2 MegaOhmios.cm a 25° C y un nivel de COT (carbono orgánico total) inferior a 10 ppb. No obstante, según las distintas aplicaciones, el agua

ultrapura también debe cumplir requisitos más específicos. Un contaminante crítico en una aplicación puede no tener ningún impacto en otra. Por ejemplo, mientras que la contaminación con 100 ng/L de boro no afecta al análisis orgánico, en un laboratorio de control de calidad de una planta de semiconductores puede echar por tierra el análisis básico realizado por ICP-MS.

Cada uno de los cinco nuevos sistemas Milli-Q se ha concebido específicamente para hacer frente a los contaminantes que afectan a las distintas aplicaciones.

El sistema Milli-Q Gradient es el sistema preferido para cromatografía (HPLC, LC, ILC, GC-MS). Incorpora las mismas 3 etapas básicas del Milli-Q Academic (purificación previa con un módulo Q-Gard, ultrapurificación con un módulo Quantum y filtración final con una unidad Millipak o Pyrogard) y, además, está dotado de una etapa de foto-oxidación UV diseñada para reducir las sustancias orgánicas a niveles inferiores a 5 ppb, a fin de optimizar los resultados cromatográficos y aumentar el tiempo de vida de las columnas.

Los resistívimetros de alta precisión de los sistemas Milli-Q verifican que la contaminación iónica del agua purificada esté a niveles inferiores de ppb.



La medición de COT garantiza que el proceso de eliminación de sustancias orgánicas de los sistemas Milli-Q opera dentro de las especificaciones establecidas.

Para conocer mejor la nueva gama Milli-Q, solicite, gratis y sin compromiso, el folleto de 20 páginas en castellano a:

Millipore Ibérica, S.A.
Avda. Llano Castellano, 13
28034 Madrid
Tel. 917 283 960
Fax 917 292 909
E-mail iberica@millipore.com



VERTEX

Technics S.L.

DIONEX: LA APLICACIÓN DE LA CROMATOGRAFÍA IÓNICA ACOPLADA A LA DETECCIÓN ESPECTROSCÓPICA DE MASAS IC/ESI-MS

Vertex Technics S.L. presenta una nueva aplicación impulsada por Dionex:

La espectrometría de masas con ionización electrospray (ESI-MS). Es una potente técnica de detección para aniones y cationes polares, y para compuestos ionizables.

El electrospray es una técnica de ionización suave por lo que nos proporciona principalmente información másica molecular. También podemos encontrar algunas fragmentaciones por fuentes inductoras de colisión.

Los avances en el diseño de la fuente nos permiten manejar flujos típicos de la cromatografía de líquidos (hasta 2 mL/min); el ESI-MS puede acoplarse fácilmente a la cromatografía iónica. El uso de supresoras trabajando en el modo de agua externa o en modo químico aumenta la sensibilidad, minimizando las interferencias de la ionización.

Podemos encontrar más ventajas en la combinación IC/ESI-MS:

- Gran especificidad en la detección, permitiendo confirmar el analito y cuantificar solutos complejos.
- Elevada sensibilidad, incluso mejor que la detección por conductividad.
- Capacidad de identificar “desconocidos”.

Esto nos abre muchas puertas a la hora de aplicar el IC/ESI-MS en química analítica medioambiental donde se necesita identificar un analito en unos límites de detección muy bajos.

INSTRUMENTACIÓN

Cromatografía Iónica

- Dionex DX600 Cromatógrafo Iónico, con bomba microbore GP40
- Dionex LC20, Módulo de columnas.
- Columnas:
 - IonPac AS16, 2 mm

- IonPac AS9-HC, 2 mm
- Dionex ED40, modo de conductividad
- Dionex ASRS-ULTRA (2 mm), modo agua externa.

AQA Espectrómetro de Masas

- Espectrómetro de masas cuadrupolo de estado simple
- Fuente ortogonal
- Sistema de ionización por electrospray
- Rango de masas 60-1600 m/z



Figura 1

APLICACIONES

Perclorato en aguas potables

El perclorato amónico habitual combustible propulsor en cohetes, sin embargo interfiere la función del tiroides. Aunque a niveles muy bajos, puede encontrarse en aguas potables. La normativa americana ya exige no sobrepasar el límite de 18 ug/L (ppb) de perclorato.

En estos últimos años se han desarrollado métodos de detección por cromatografía iónica con supresión. El último método desarrollado utiliza un gran loop de inyección y una columna IonPac AS16. Haciendo una elución isocrática con hidróxido, este método es capaz de detectar perclorato, en agua reactiva, a concentraciones inferiores a 1 ppb. La presencia en la matriz de iones con alta concentración, como sulfato o nitrato, puede hacer difícil o casi imposible la detección de ppbs de perclorato.

Por ejemplo, un intento de determinar perclorato por Cromatografía iónica con detección por conductividad en aguas municipales tratadas, produce un cromatograma en el que aparecen picos muy pequeños próximos a nuestro pico de interés. Sin embargo estos picos no son integrables. En la detección con ESI-MS el perclorato puede integrarse y cuantificarse fácilmente.

Perchlorate in Reclaimed Wastewater

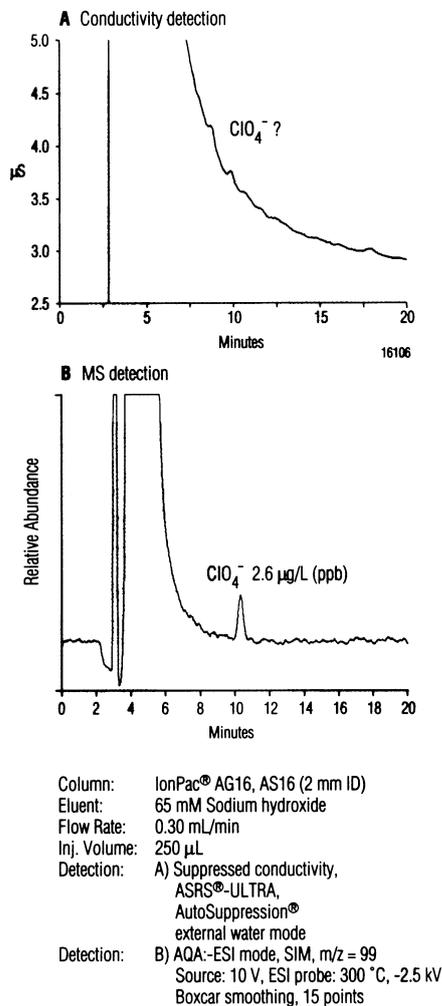
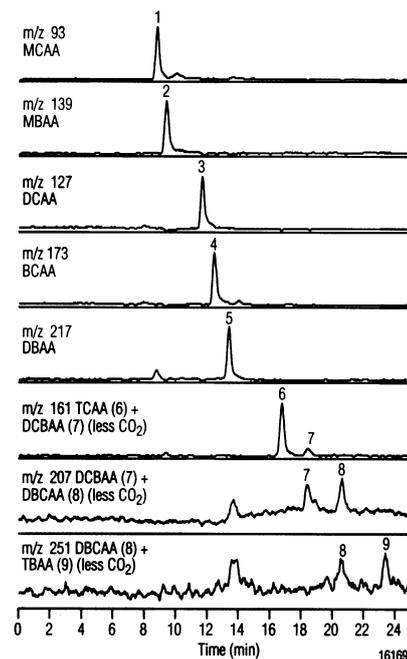


Figura 2

Ácidos haloacéticos en aguas

Los ácidos cloro y bromoacético son subproductos habituales encontrados en la desinfección de las aguas. Por su potencial efecto contra la salud, sus niveles deben monitorizarse en el proceso final de potabilización. Cada uno de los métodos analíticos aceptados por la EPA para determinar ácidos haloacéticos se basa en la cromatografía de gases con detección por captura de electrones (GC-ECD). Para ser sensibles a la cromatografía de gases, los ácidos haloacéticos deben extraerse de muestras de agua con metil-tributil-éter y entonces derivatizarse a sus ésteres metílicos. Los diferentes pasos de extracción y derivatización llevan un tiempo y pueden implicar contaminaciones y pérdidas de analito.

En Cromatografía Iónica por conductividad, la detección es muy difícil ya que se necesita separar todo el analito de interés de otros constituyentes iónicos como podrían ser el cloruro, clorato, bromuro, nitrato o sulfato. Trabajos preliminares con IC/ESI-MS y preconcentradores demuestran que podemos separar y detectar selectivamente a niveles de ppb ($\mu\text{g/l}$), cualquiera de los nueve ácidos haloacéticos.



Determination of haloacetic acids at 1-3 $\mu\text{g/L}$ in drinking water using IC/MS: monochloroacetic acid (1), monobromoacetic acid (2), dichloroacetic acid (3), bromochloroacetic acid (4), dichlorobromoacetic acid (5), trichloroacetic acid (6), dichlorobromoacetic acid (7), dibromochloroacetic acid (8), and tribromoacetic acid (9).

Figura 3

Determinación de bromato en aguas potables

El bromato, subproducto de la ozonización de aguas que tienen bromuro, ha sido clasificado por la EPA como un potencial carcinógeno, incluso a niveles traza. La legislación marca unos niveles máximos de contaminantes: para bromato 10 $\mu\text{g/L}$ y para clorito 1000 $\mu\text{g/L}$. El método EPA 300.1 es el único aprobado en la actualidad para analizar bromato. Los métodos EPA 300.0 y 300.1 lo están para el análisis de bromuro y clorito.

El 317.0 es un nuevo método para Cromatografía iónica publicado por la EPA en el 2000; concretamente por su departamento para aguas potables y superficiales. Este método utiliza una columna analítica IonPac AS9-HC y una columna supresora, seguido de una derivatización postcolumna con o-dianisidina (ODA) para intensificar la detección por absorbancia visible del bromato.

La detección por ESI-MS proporcionará resultados similares a los especificados en el método 317.0 para esta aplicación. La figura 3 muestra el resultado obtenido usando una columna IonPac AS9-HC, carbonato como eluyente y (A) la detección por conductividad y (B) la detección ESI-MS. Mientras que en A se observa un pico muy pequeño, en B con un detector MS, puede determinarse con mayor especificidad y sensibilidad. Además el ácido dicloroacético, un ácido haloacético significativo en el ámbito medioambiental, se detecta a la misma masa que el bromato ($m/z=127$); aun más, este soluto no es detectado usando la conductividad como detección. El resultado de la inyección de siete réplicas de un patrón de 1 ppb ($\mu\text{g/L}$), permite calcular un límite de detección para el método de 0,5 $\mu\text{g/L}$, para un $m/z=127$.

Conclusiones.

- El ESI-MS es una técnica de detección versátil, específica y sensible para cromatografía iónica.
- Es particularmente útil en aplicaciones medioambientales para la identificación de un analito problema y para la detección selectiva de solutos irresolubles.
- Junto con una columna supresora ASRS-ULTRA de Dionex, el IC/ESI-MS es una técnica robusta y fácil de usar para aniones.
- La sensibilidad del ESI-MS se puede comparar favorablemente con la detección por conductividad, con algunos límites de detección dentro del rango sub-ppb.
- La cuantificación de analitos a nivel traza requiere una optimización cuidadosa de las condiciones del IC, del MS y de los parámetros de adquisición.

VERTEX Technics (Distribuidor de Dionex en España)
 Barcelona (93) 2 23 33 33
 Madrid (91) 3 67 51 51
 Bilbao (94) 4 47 19 99
 Valencia (96) 3 48 90 92
 A Coruña (98) 1 53 66 46

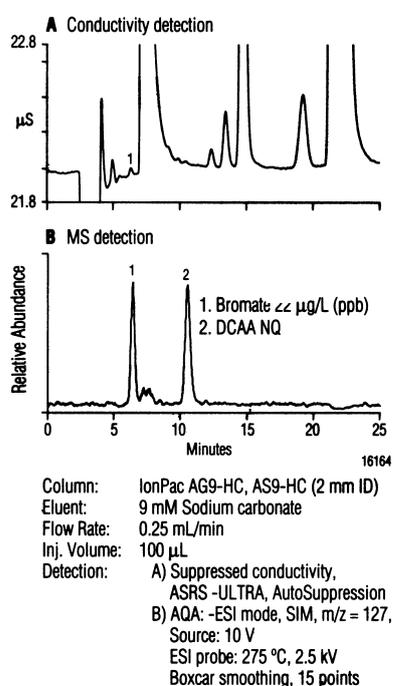
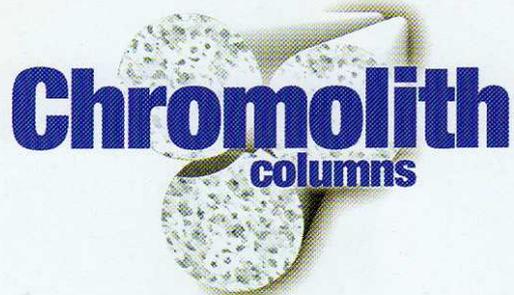
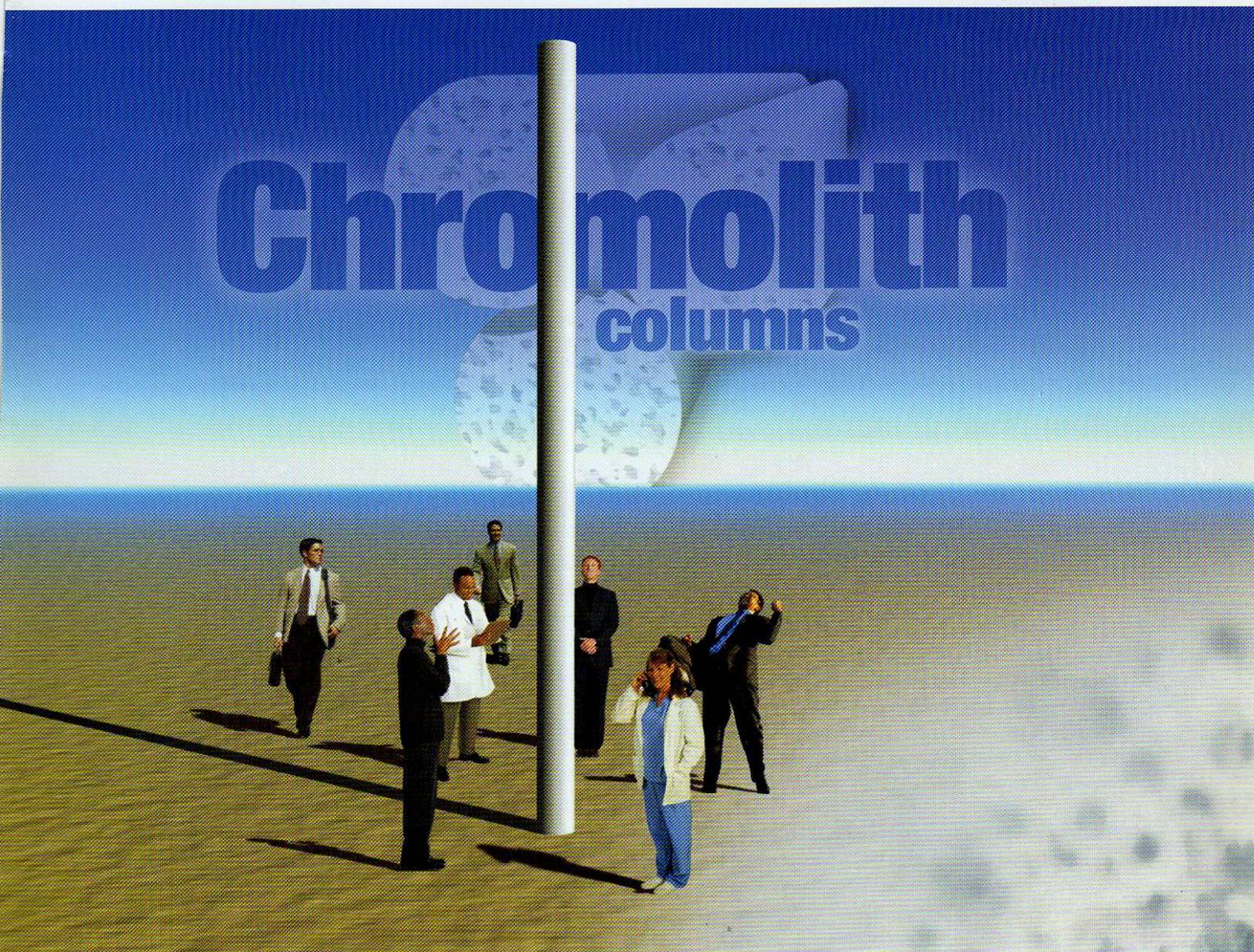


Figura 4



MERCK

Descubra los secretos de una nueva era en cromatografía



Inauguramos una nueva era en HPLC con la introducción de las varillas monolíticas de sílice Chromolith™. Con ellas ahora se puede:

- ✓ Reducir enormemente el tiempo de análisis
- ✓ Aplicar gradientes combinados de flujo y concentración

Chromolith™ Speed ROD y Chromolith™ Performace son columnas de una generación fabricada con la nueva tecnología de monolitos porosos.

Especialmente idóneas en situaciones en donde el tiempo de análisis es un factor crucial, Chromolith™ permite el trabajo con regímenes de flujo más elevados que los utilizados en columnas convencionales sin cambios en selectividad de la separación, por lo que la transferencia directa de los métodos existentes está asegurada.

Para más información:

VWR 
INTERNATIONAL

Apartado 48 - 08100 Mollet del Vallés (Barcelona)

Tel. 93 565 55 60 Fax 93 544 02 87

Alianza. (De *aliar*.) f. || ... || 6. fig. Unión de cosas que concurren a un mismo fin.

Nueva generación de sistemas HPLC Alliance.



Detector PDA 2996



Detector de Índice de Refracción 2414



Millennium[®] 32 Software
Version 4.0



Detector de Fluorescencia 2475

Módulo de Separaciones 2695



Nuevos aliados para mejorar su cromatografía.

Waters
www.waters.com

alliance

Waters Cromatografía, S.A. Entenza, 24 bajos - 08015 Barcelona Tel. 93 600 93 00 Fax 93 325 98 96 eMail spain@waters.com

© 2001 Waters Corporation Europe. Waters, Millennium y Alliance son marcas registradas de Waters Corporation.