CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

25
BOLETIN DE LA SECYTA
VOLUMEN 25 NÚM.1 (2004)
WWW.SECYTA.ORG

MILLIPORE

De la pasión al compromiso

Antonio Pita

Service Management

Lab Water Division, España

Ya de pequeño, Antonio Pita sentía curiosidad por el agua. El agua es ahora su pasión en el seno de Millipore, donde, como miembro de la División de purificación de agua, aporta un alto nivel de servicio y de asistencia a cada uno de sus clientes en España. Todo Millipore comparte la pasión de Antonio por la purificación de agua. Esta pasión nos anima constantemente, donde y cuando quiera que trabajemos ofreciéndole asistencia personalizada para responder a sus necesidades específicas.

Millipore pone a su disposición una gama completa de sistemas de purificación de agua para satisfacer todo tipo de aplicaciones, desde el tratamiento previo hasta la ultrapurificación final. Aùnamos una profunda experiencia en técnicas de laboratorio y la utilización de los últimos avances tecnológicos ofreciéndole un servicio completo para cumplir los requisitos específicos de sus aplicaciones, acompañándole paso a paso.

Para obtener información adicional sobre los sistemas de purificación de agua de Millipore, contactenos:
Tel: +33-901 516 645 Fax: +33-902 011 644 E-mail: H2O@millipore.com Web: www.millipore.com/H2O

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES
Madrid, junio de 2004 Vol. 25, núm. 1
ISSN 1132-1369

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

INDICE

2 **Editorial**

ARTÍCULOS
4 Desarrollo de un método de análisis de contaminantes minoritarios en CO_2, *por Sofía Cavero, Guillermo Reglero y Elena Ibáñez*
14 Fundamentos de la cromatografía de fluidos supercríticos y su aplicación en la tecnología de los alimentos, *por Pilar Ramírez Calvo y Alejandro Ruiz Rodríguez*

INFORMACIONES
27 Calendario de actividades
31 Congresos celebrados

NOTICIAS DE LA SECyTA
32 La 4ª Reunión Científica de la SECyTA
34 Nuevos socios

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA
35 Reseña de libros
36 Artículos de interés

DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS
39 Novedades técnicas

Redacción: Isabel Martínez Castro (iqomc16@iqog.csic.es), Lourdes Ramos (l.ramos@iqog.csic.es)
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)
Elena Ibáñez (elena@ifi.csic.es), Alejandro Cifuentes (acifuentes@ifi.csic.es)
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. Tel.91-562 29 00

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: A. Cifuentes, M. de Frutos, E. Ibáñez, M.L. Marina, I. Martínez Castro, L. Ramos

Depósito legal: M-1902-1975

Diseño, preimpresión e impresión: Helios, S.L. • Duque de Sevilla 16 • 28002 Madrid • Tel. 91 768 49 50

Diseño de portada: Pau de Riba

Los autores son responsables del contenido de sus artículos.

MINI, MICRO, NANO

La IV Reunión Científica de la SECyTA tendrá lugar del 5 al 7 de octubre de este año en Madrid, en el Campus de Montepríncipe de la Universidad San Pablo-CEU. La reunión será organizada por la Profesora Coral Barbas ayudada por un Comité Organizador y otro Científico. Ella se encargará de que tanto el programa científico, como los actos sociales y el marco en el que se va a celebrar, hagan de esta reunión un simposium de alto nivel en el que se conjugue el trabajo con la tranquilidad que requiere toda actividad científica, y del que a veces nos vemos privados en el quehacer diario.

La Reunión Científica de nuestra Sociedad es un momento para hacer balance: ver lo que se está haciendo dentro del campo de la cromatografía y las técnicas relacionadas en España. Es el momento de tomar -o retomar- contacto con los colegas, de intercambiar ideas, de pensar –al filo de las conferencias, las comunicaciones orales o los poster– en nuevas ideas o replantearnos las que ya tenemos o tuvimos alguna vez.

Pero un congreso es también un buen momento para preguntarnos hacia dónde vamos: el *Quo Vadis? Cromatografía*. En este editorial, al filo de la IV Reunión Científica de la SECyTA, quisiera dar una respuesta personal, y por tanto casi seguro que parcial, a esa pregunta.

Decir que vamos hacia la miniaturización, no es nada nuevo. De hecho, la miniaturización ha sido compañera de andadura de la cromatografía casi desde sus inicios; Golay lanzó la idea de las columnas capilares de cromatografía de gases en 1958 [1], cuando la instrumentación de cromatografía de gases empezaba a comercializarse. En este caso la miniaturización del diámetro de la columna permitió alcanzar menores alturas de plato teórico junto con mayor permeabilidad de la columna, lo que redundó en columnas más largas y de mayor número de platos. En HPLC, la miniaturización ha tomado dos direcciones: miniaturización del diámetro de partícula y miniaturización del diámetro de columna. El resultado ha sido mayor eficacia y menor tiempo de análisis. De hecho, las columnas capilares rellenas para HPLC empiezan a ser una de las herramientas habituales en el acoplamiento HPLC-MS para los estudios de proteómica [2].

La Electroforesis Capilar ya nació “mini”. Sólo con la comercialización de los capilares de sílice fundida, a finales de la década de los 70, se pudo obtener un medio donde llevar a cabo la electroforesis en zona libre con altos campos eléctricos sin que se produjesen flujos de convección dentro del tampón de separación.

Dicen que las buenas esencias se venden en frascos pequeños. En separaciones, la miniaturización no sólo conlleva instrumentación de menor tamaño o menor consumo de disolvente, sino también menor tamaño de muestra. Los análisis a nivel de una sola célula que se llevan a cabo con las columnas capilares, pueden abrir un nuevo paradigma en los estudios de fisiología celular, desarrollo celular, evolución de células madre, etc. [3]. El que luego sepamos pasar de la fisiología de una sola célula a la de un sistema biológico, está todavía por demostrar.

Si seguimos bajando en la escala de tamaños llegamos a los sistemas “micro”: micro-chips, micro-arrays, micro-partículas magnéticas. Con ellos no sólo se consiguen análisis con pequeñas cantidades de muestras, sino que se incrementa la velocidad de análisis. Así por ejemplo, el desarrollo de micro-chips [4,5] ha permitido llevar a cabo análisis de proteínas con picolitros de muestra en unos pocos segundos. Su interés está además en la “portabilidad” del sistema analítico: poder llevar la instrumentación analítica a la cabecera del enfermo, llevar a cabo la monitorización en continuo de parámetros fisiológicos durante el desarrollo de la actividad normal del paciente, o poder analizar “sobre el terreno” amino ácidos en las rocas de Marte, son unos cuantos ejemplos de lo que esta “portabilidad” permitiría. Llegar a integrar varias operaciones analíticas, en concreto la preparación de la muestra, la separación de los analitos y la detección, en el mismo micro-chip, es uno de los retos pre-

sentes. Los resultados publicados hasta ahora demuestran que la inyección, tratamiento de muestra y separación pueden ser integrados en un micro-chip sin demasiadas dificultades, pero la integración de un sistema de detección dentro de un micro-chip, electrónica incluida, es uno de esos campos en la frontera de la química analítica, la microelectrónica, la ciencia de materiales y la bioquímica donde todavía queda mucho por hacer [6].

El escalón siguiente es la "nano". Aquí todavía queda un amplio campo para el desarrollo en la Ciencia de las Separaciones. Quizá el terreno más obvio para la innovación es el de las nano-partículas, usadas como relleno de los mini-canales en los micro-chips o como nano-imanes que capturan microbios, células o proteínas, o como "nano-dots" que permiten "derivatizar" anticuerpos o fragmentos de ADN para que produzcan fluorescencia [7]. ¿Por qué no pensar en utilizar nano-tubos como nano-columnas de separación? Supongamos, para simplificar, que la nano-columna tiene una sección cuadrada de 100 nm de lado y tiene 100 nm de longitud. En esta "columna" cabrían tan sólo 30 millones de moléculas de agua, unos 3 millones de moléculas de glucosa o unas 1.000 moléculas de hemoglobina. Si el volumen de muestra inyectada debe ser como máximo el 0.5% del volumen total de la columna para que la separación no pierda eficacia, hay que inyectar en la nano-columna 15.000 moléculas de glucosa o 5 moléculas de hemoglobina. El primer problema a resolver sería cómo inyectar 15.000 moléculas de glucosa o 5 moléculas de la proteína de manera reproducible. El siguiente sería detectar ese número tan reducido de moléculas. Aunque la detección a nivel de una sola molécula ha sido ya demostrada por varios grupos [8], el problema no es trivial. Si suponemos que en el nano-tubo podemos hacer electroforesis y que el flujo electroosmótico es de 1 mm/seg, el tiempo de análisis sería del orden de los 100 micro-segundos. ¿Cómo influiría la difusión en estas separaciones y otros fenómenos estadísticos asociados a la teoría de las separaciones?. ¡Pongámonos a trabajar!

En el programa científico que la Profesora Coral Barbas ha preparado para la IV Reunión de nuestra Sociedad habrá mini-, micro- y nano- y, naturalmente, macro-. Espero veros a todos en Montepríncipe.

J.C. Diez-Masa
Presidente de la SECyTA

Bibliografía citada:

[1] M.J.E. Golay, Gas Chormatography, 1958. D.E. Desty Ed., Butterworths, Londres, 1958, p.36.
[2] J.C. Sanchez, G.L. Corthals, D.F. Hocherstrasser, Eds., Biomedical Applications of Proteomics, Wiley-VCH, Weinheim, 2004.
[3] S. Hu, N.J. Dovichi, Curr. Opinion Chem. Biol. 7 (2003) 603-608.
[4] D.R. Reyes, D. Iossifidis, P.A. Arroux, A.Manz, Anal. Chem. 74 (2002) 2623-2636.
[5] P.A. Arroux, D. Iossifidis, D.R. Reyes, A.Manz, Anal. Chem. 74 (2002) 2637-2652.
[6] E.Verpoorte. Lab. Chip. 3 (2003) 42N-52N.
[7] W.C.W. Chan, D.J. Maxwell, X. Gao, R.E. Bailey, M. Han, S Nie, Curr. Opinion Chem. Biol. 7 (2003) 40-46
[8] A.J. de Mello, Lab. Chip. 3 (2003) 29N-34N.

Desarrollo de un método de análisis de contaminantes minoritarios en CO_2

*Sofía Cavero[1], Guillermo Reglero[1], Elena Ibáñez[2]**
[1]Área de Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Madrid, Unidad Asociada IFI-CSIC
[2]Departamento de Caracterización de Alimentos, Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC(elena@ifi.csic.es)

RESUMEN

En el presente trabajo se ha desarrollado un método de análisis de contaminantes minoritarios volátiles (acetaldehído y benceno) en dióxido de carbono (CO_2) mediante preconcentración en trampa criogénica y adsorción en un polímero inerte (Tenax), con posterior desorción en un cromatógrafo de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS). Para ello se han determinado los volúmenes de purga y ruptura para la trampa adsorbente. Posteriormente se han analizado botellas comerciales de CO_2 de diferentes calidades tanto en fase gas como en fase líquida.

INTRODUCCIÓN

El dióxido de carbono (CO_2) se usa hoy en día en campos muy variados como, por ejemplo, para realizar soldaduras y cortes, en extintores, para limpieza industrial, para la remineralización de aguas, y también en hospitales donde se emplea en cirugía cardiaca. La industria alimentaria es también una gran consumidora de CO_2, que en este caso se emplea en la dispensación de bebidas, en congelación, refrigeración y transporte de alimentos y como integrante de atmósferas modificadas. La carbonatación de bebidas como cerveza, agua mineral y refrescos es una de las principales aplicaciones del dióxido de carbono.

Comercialmente el CO_2 se recupera de los gases de hornos de calcinación, de procesos de fermentación de cerveza o alcohol, del craqueo del petróleo, de la reacción de los carbonatos con los ácidos, y de plantas de producción comercial de amoníaco. También existen pozos de CO_2 subterráneo en algunas zonas del planeta. Según su procedencia, el CO_2 puede tener diferentes impurezas: agua, oxígeno, hidrocarburos, monóxido de carbono, hidrógeno, nitrógeno, etc.

La industria alimentaria utiliza grandes cantidades de CO_2 en la fabricación de bebidas carbonatadas. La aparición en distintas partes de Europa (Reino Unido, Bélgica y Francia) de diversas alarmas alimentarias ocasionadas por este tipo de bebidas cuestionó la pureza del dióxido de carbono usado en su fabricación. Aunque no se identificaron claramente los agentes químicos o biológicos causantes de la aparición de dichos trastornos en todos los casos, sí se produjo una mayor atención hacia los contaminantes existentes en el CO_2.

A partir de ese momento la industria alimentaria y de bebidas, así como diversas asociaciones (Compressed Gas Association, CGA, la European Compressed Gas Association, EIGA, y la International Society of Beverage Technologists, ISBT) fijaron la pureza mínima del CO_2 de grado alimentario (pureza >99,95 %), así como las concentraciones máximas de las impurezas más importantes: humedad, CO, H_2S, NO, NO_2, NH_3, SO_2, CS, COS, acetaldehído, benceno, hidrocarburos totales y compuestos azufrados totales, que pudieran ser causantes de malos sabores y/o olores, o incluso de cierta toxicidad.

Entre los contaminantes que suscitaron más atención se encuentran los gases azufrados y determinados compuestos volátiles como el acetaldehído y el benceno. Por ejemplo, el nivel máximo de acetaldehído y benceno en CO_2 fue fijado en 0,2 y 0,02 ppm (µg/ml), respectivamente, en fase líquida. A raíz de la alarmas alimentarias anteriormente mencionadas muchas empresas alimentarias empezaron a solicitar la cuantificación de los contaminantes minoritarios a niveles de ppb (ng/ml).

En la actualidad en España existen distintas compañías suministradoras de CO_2. En la Tabla 1 (gentileza de la compañía Air Liquide España S.A.) se presentan distintos tipos de CO_2 comerciales, junto con el nivel máximo de impurezas mayoritarias permitido en cada uno de ellos. El análisis de otros contaminantes minoritarios se realiza bajo pedido o por contrato con casas comerciales que así lo solicitan.

Los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) son compuestos presentes normalmente en la fase gaseosa a temperatura ambiente, por lo que la cromatografía de gases (GC) es una de las técnicas más adecuadas para detectar y cuantificar cantidades traza de VOCs en una muestra de aire o de otro gas. En general, un procedimiento analítico que permita la cuantificación de VOCs a niveles de ppb

Tabla 1. Tipos de CO_2 y sus impurezas. (Fuente: Air Liquide España S.A.)

Gas	Impurezas (ppm)						
	H_2O	O_2	C_nH_m	CO	H_2	N_2	*Pureza (%)*
N-38	10	10	5				>99,98
N-48	3	2	2		0,5		>99,998
SFC	4	3		1	1	15	>99,9999
SFE	0,5	2		0,5	0,5	10	>99,9999

implica la necesidad de una etapa de preconcentración de estos compuestos previa a su análisis cromatográfico.

Las métodos más frecuentes para llevar a cabo la concentración de los VOCs se basan en el empleo de una trampa criogénica o en la retención de los analitos en un material polimérico adsorbente (Tenax TA, Tenax GR, etc.). La determinación de contaminantes volátiles en aire mediante el empleo de una trampa criogénica rellena con bolas de vidrio se ha utilizado en métodos oficiales de la Environmental Protection Agency (EPA) como el TO-14. Otros métodos oficiales tanto de la EPA como de la Health & Safety Executive (HSE, Reino Unido) emplean trampas rellenas con un material adsorbente, básicamente un polímero adsorbente como el Tenax, que presenta numerosas ventajas como su afinidad hacia moléculas orgánicas volátiles y semi-volátiles, su alta estabilidad térmica y su baja afinidad por el agua.

Uno de los parámetros fundamentales que caracterizan la capacidad de un adsorbente para la retención de un analito determinado es el volumen de ruptura, que se define como el volumen máximo de gas que puede pasar por la trampa antes de que el compuesto de interés empiece a ser desplazado de la misma y representa el volumen de gas por encima del cual el analito ya no es atrapado. Se ha demostrado que el volumen de ruptura depende de numerosos factores tales como la temperatura de la trampa (Cao, 1991; Ventura y col., 1993; Maier y col.; 1988), la concentración del analito (Brown y Purnell, 1979; Riba y col., 1985), la composición química de la muestra gaseosa, (Peters y Bakkeren, 1994; Comes y col., 1993), la humedad relativa (Maljaars y Nielen, 1988; Persson y Berg, 1989), el flujo y la velocidad del gas portador (Sturges y Elkins, 1993; Seshadri y Bozzelli, 1983), las dimensiones de la trampa y otros parámetros relacionados con el adsorbente como la masa, granulometría, diámetro de poro y superficie específica (Patil y Lonkar, 1992; Przyjazny, 1985) y acondicionamiento térmico (Persson y Berg, 1989, Coppi y col., 1983). De todos estos parámetros, la temperatura de adsorción y la concentración del analito parecen ser los más determinantes en el volumen de ruptura.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método fiable de análisis de contaminantes minoritarios volátiles (acetaldehído y benceno) a niveles de ppb en CO_2, basado en el empleo de una etapa de preconcentración y muestreo seguida por el análisis por GC-MS.

PARTE EXPERIMENTAL

El desarrollo de un método de análisis de contaminantes (VOCs) minoritarios de CO_2 se abordó empleando dos sistemas diferentes de preconcentración, que se describen a continuación:

1. Una trampa criogénica de 5 cm rellena de bolas de vidrio, situada en el sistema de muestreo de gases e integrada en el cromatógrafo de gases, enfriada a una temperatura de –160º C (durante 4 min).
2. Una trampa adsorbente de 29, 2 cm de longitud efectiva y rellena de Tenax GR (óxido de 2,6-difenileno con un 30 % de grafito) con un tamaño de partícula de 60-80 mesh (Varian, Walnut Creek, California), enfriada a 10º C durante el tiempo de preconcentración y de purga del CO_2 de la trampa.

El paso de muestra o de helio por el sistema de preconcentración se controló mediante la acción de una válvula de seis vías (Válvula 1) y una válvula de diez vías (Válvula 2). El esquema del sistema de muestreo de gases se presenta en la Figura 1.

El flujo de muestra se ajustó mediante un controlador de flujo másico (CFM) electrónico (Sierra Instruments Inc., Ámsterdam), con un intervalo de trabajo entre 1 y

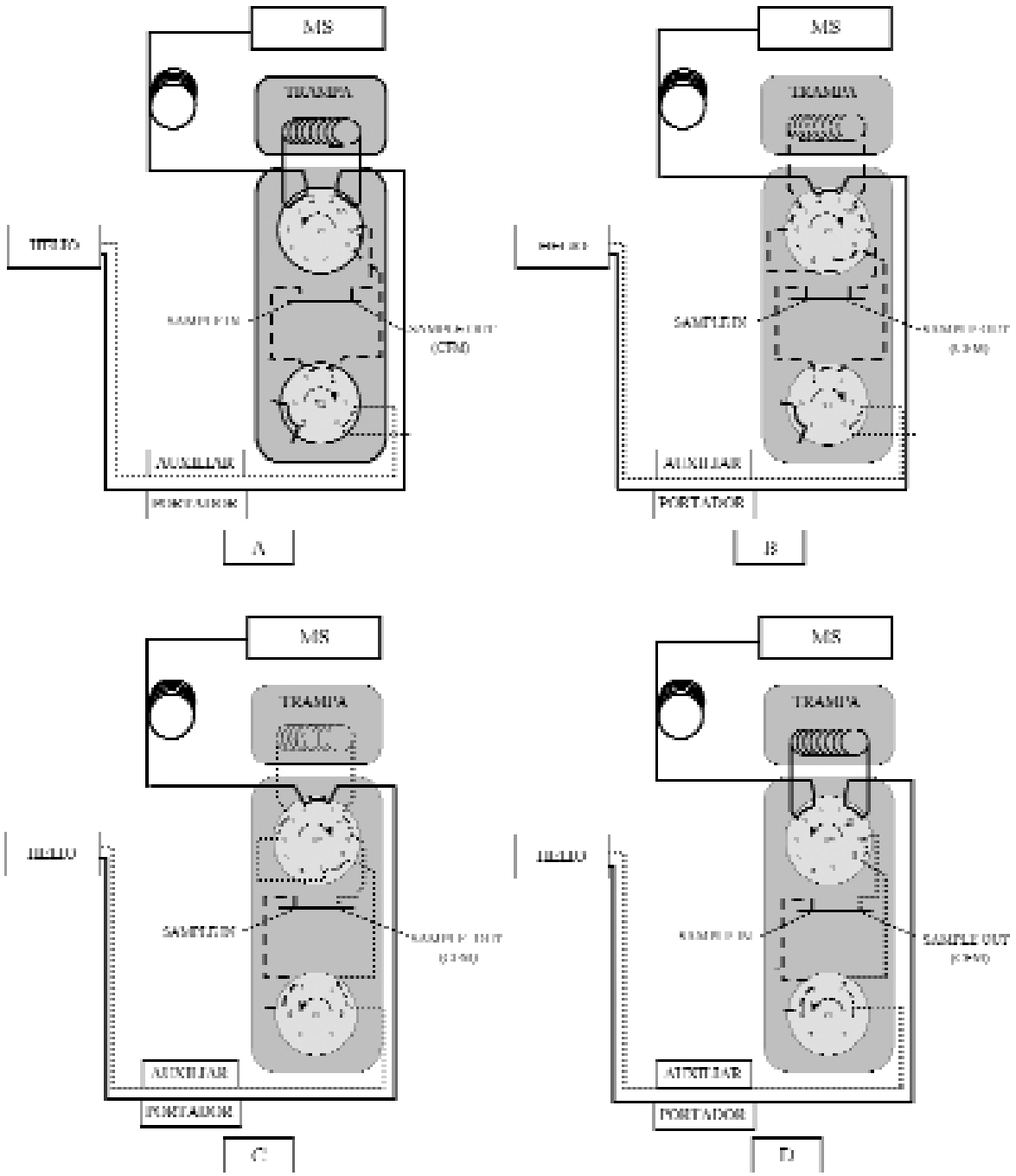


Figura 1. Esquemas de las válvulas de muestreo de gases. A. Situación de las válvulas en las etapas 1 y 5; B. Situación de las válvulas en la etapa 2; C. Situación de las válvulas en la etapa 3; D. Situación de las válvulas en la etapa 4. V1 y V2 son válvulas 1 y 2. CFM controlador de flujo másico. MS, espectrómetro de masas.

100 ml/min. El flujo de gas auxiliar, también helio, se ajustó mediante un controlador de flujo digital que quedó fijado en 40 ml/min.

Para el desarrollo del método de adsorción en una trampa rellena fue necesario elegir el tipo de adsorbente más adecuado que debía cumplir una serie de requisitos como la inercia química, una elevada capacidad de adsorción de los analitos de interés y una capacidad de desorción completa. En el presente trabajo se seleccionó Tenax GR, un polímero macroporoso semicristalino derivado del Tenax TA. El Tenax GR posee una superficie específica de 24,1 m2/g y una densidad de 0,55 g/cc. Entre sus características destacan su baja afinidad por el agua y su elevada estabilidad térmica que permite trabajar, sin descomposición, hasta 350º C.

En ambos casos el equipo utilizado para el análisis del CO_2 fue un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 CX con detector de MS Saturn 2000 (Varian) equipado con un analizador de trampa iónica. El espectrómetro de masas se utilizó en modo Full Scan, con un rango de masas desde 25 m/z hasta 200 m/z, y registrando a una relación de 0.8 s/scan (3 µ scan/ scan analítico). La corriente de emisión fue de 10 µA. Se utilizó como modo de ionización impacto electrónico a 70 eV y con la modalidad AGC (Automatic Gain Control). En este modo el detector se llena siempre con el número óptimo de iones y varía el tiempo de ionización para compensar la cantidad variable de analitos que eluyen de la columna.

Para la separación de los compuestos se empleó una columna CP-Pora BOND Q, de 25m de longitud y 0.32 mm de diámetro interno (Chrompack, Middelburg). El flujo de gas portador, helio, se ajustó a 15 ml/min mediante un controlador de flujo digital en paralelo con un regulador de presión (presión de He igual a 18 psi.). Se determinó una división de flujo de 13,5 ml/min, por lo que el flujo por la columna fue de 1,5 ml/min. Se utilizó la siguiente programación de temperatura de la columna: 35º C durante 5 min, hasta 75º C a 9 °C/min, a 20 °C/min hasta 230º C, 2 min. La línea de transferencia se mantuvo a 120º C.

Se prepararon tres botellas de CO_2 patrón de calidad N-48, a las que se le añadieron acetaldehído y benceno como patrones en concentraciones conocidas de 315,7 y 29,4 ppb, respectivamente, en la primera botella; 227,5 y 20,50 ppb, en la segunda; y 113,10 y 10,2 ppb en la tercera.

Una vez optimizado el método de análisis de VOCs en botellas patrón, se procedió al análisis de CO_2 gas y líquido de botellas comerciales de calidad N-38 y N-48.

Procedimiento

En cada inyección se sucedieron cinco etapas distintas:

Etapa 1. Inicial

Posición de los relés: +1-2 (ver esquema en la Figura 1.A). Durante esta etapa, que transcurre entre inyecciones, el helio portador recorre la trampa y sigue hacia la columna capilar. La muestra sólo llena los tubos de conexión y sale por"Sample Out", que es donde está conectado el controlador electrónico de flujo. El gas auxiliar, helio, circula por la válvula 1 y sale al exterior por la vía 4.

Etapa 2. Muestreo

Posición de los relés: +1 +2 (Figura 1.B). Durante esta etapa, inicio de la inyección propiamente dicha, la válvula 2, de 10 vías, cambia su posición de tal forma que la muestra circula por la trampa adsorbente en sentido de retroceso con un caudal fijado por el controlador electrónico en "Sample Out". Esta etapa dura el tiempo necesario para obtener el volumen de muestra necesario. El gas portador, sin pasar por la trampa, es dirigido a la columna. El gas auxiliar sigue el mismo recorrido que en la etapa 1.

Etapa 3. Purga del CO_2

Posición de los relés: -1 +2 (Figura 1.C). El inicio de esta etapa se produce cuando el volumen necesario de muestra ha pasado por la trampa. En ese momento la válvula 1 cambia de posición dirigiendo el gas auxiliar a través de la trampa y de los tubos de conexión. Se elimina así el CO_2 residual de la trampa y de los tubos de conexión. La muestra permanece intacta en el interior de la trampa puesto que el puerto 6 de la válvula V2 se mantiene cerrado para preservar la muestra. El gas portador sigue el recorrido de la etapa 2.

Etapa 4. Desorción

Posición de los relés: -1 -2 (Figura 1.D). Es la etapa de desorción de los analitos de la trampa. La válvula 2 vuelve a su posición original y el gas portador circula a través de la trampa hacia la columna. En esta etapa la trampa se calienta a 40º C por segundo hasta una temperatura final de 200° C para facilitar la desorción térmica de los analitos. Éstos son arrastrados al interior de la columna por el gas portador. El gas auxiliar pasa por las dos válvulas y sale por "Sample Out".

Etapa 5. Limpieza de la trampa

Posición de los relés: +1 -2 (Figura 1.A). Una vez desorbidos los analitos, el helio auxiliar pasa por la trampa para acondicionar la trampa y eliminar cualquier posible

contaminante. Esta etapa se lleva a cabo a temperatura elevada (300°C) para facilitar el acondicionamiento de la trampa.

Las distintas etapas del método de muestreo se controlan automáticamente a través de un ordenador donde se selecciona, para cada una de ellas, la temperatura y el tiempo de conmutación de las válvulas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Optimización del método

Como se ha comentado anteriormente se seleccionaron dos métodos distintos de preconcentración, uno basado en el empleo de una trampa criogénica (rellena de bolas de vidrio) y otro basado en la adsorción en una trampa rellena de Tenax GR.

El primero de ellos consistía en la adaptación de un método utilizado para el análisis de contaminantes volátiles en aire (Método de la EPA, TO-14). Se utilizaba una trampa criogénica (de bolas de vidrio) empleando temperaturas cercanas a la del nitrógeno líquido. Ninguna de las variaciones que se introdujeron sobre la metodología original produjo los resultados adecuados, fundamentalmente por la aparición de hielo, observaciones que están en consonancia con lo publicado por otros autores (Harper, 2000). El empleo de temperaturas de adsorción más elevadas, por encima del punto de solidificación del CO_2, no produjo la retención deseada de los analitos. Por esta razón se desechó la posibilidad de usar la trampa de bolas de vidrio y se sustituyó por la trampa de Tenax GR. Los resultados que se muestran a continuación son los obtenidos con este tipo de trampa adsorbente.

El método consistió en dos etapas: la etapa de purga del CO_2 y la de concentración de la muestra. Para ello fue necesario determinar tanto el volumen de purga como el volumen de ruptura.

Volumen de Purga

El volumen de purga es el volumen de helio (gas portador en el análisis cromatográfico) capaz de eliminar el CO_2 residual, de la trampa y de los conductos, para evitar su entrada en la columna y, por tanto, su posible interferencia en el análisis posterior. El volumen de purga se determinó antes que el volumen de ruptura. Todas las pruebas que se describen se realizaron con la botella de patrones que contenía 315,7 ppb de acetaldehído y 29,4 ppb de benceno.

En primer lugar se seleccionó tentativamente la temperatura de preconcentración de muestra y de desorción basadas en datos publicados por casas comerciales (Scientific Instruments Services, Inc.) y publicadas en Internet. Los datos existentes daban un volumen de ruptura para el benceno de 25,0 l/g de Tenax GR a 0º C y 9,0 l/g a 20º C. Para el acetaldehído no se encontraron datos publicados. Se seleccionó un valor intermedio de 10º C como temperatura de preconcentración, y por consiguiente, de purga de CO_2, que proporcionaba suficiente capacidad de adsorción, pero sin el inconveniente de tra-

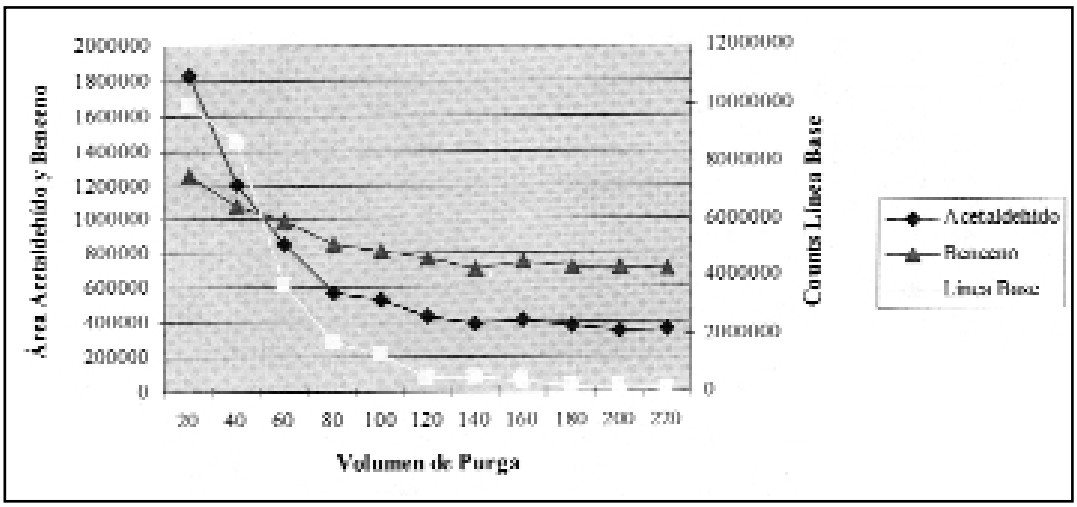


Figura 2. Optimización del Volumen de purga: disminución de a) línea de base del CO_2, b) área del acetaldehído, c) área del benceno, con el aumento del volumen de purga.

bajar a muy bajas temperaturas. Para la desorción se eligió un valor de 200º C, adecuado para ambos compuestos, según la misma referencia.

Según la configuración del sistema de muestreo, el volumen de purga se aplica en la etapa de purga de CO_2 (Etapa 3). En esta etapa el volumen de gas auxiliar viene fijado en primer lugar por el controlador digital del equipo, y en segundo lugar por el CFM, ya que está conectado a la salida del "Sample Out" (Figura 1.C). En ambos controladores se fijó el mismo caudal de tal forma que para modificar el volumen de muestra y de purga fue necesario variar el tiempo (manteniendo fijo el caudal).

Una vez establecidas las relaciones entre los diferentes volúmenes lo siguiente que se determinó fue el caudal mínimo de muestra (y de purga) regulable por el controlador electrónico que resultó ser estable a partir de 20 ml/min.

Para llevar a cabo la determinación del volumen de purga se fijó el volumen de inyección en 20 ml, es decir, un minuto a 20 ml/min, y se fue variando el tiempo de purga para ir barriendo el CO_2 con un volumen de helio cada vez mayor. Incluso en los caudales más bajos, el CO_2 aparecía al principio del cromatograma como un pico de gran área. Con el objetivo de proteger el filamento del espectrómetro de masas se fijó el tiempo de encendido del mismo a 7 minutos. A partir del minuto 7 el pico de CO_2 había prácticamente desaparecido.

Para determinar el volumen de purga en cada inyección se midió la disminución de la línea base (de la cola del CO_2) al hacer pasar por la trampa un volumen creciente de helio auxiliar. Simultáneamente se cuantificó el área del acetaldehído y benceno para confirmar que su detección no se veía afectada por el aumento del volumen de purga.

En la Figura 2 se puede observar la disminución de la línea base, y de las áreas del acetaldehído y del benceno, respectivamente, por efecto del volumen creciente de helio de purga (todos los valores son promedio de dos replicados).

Se eligió como volumen de purga 160 ml por ser un valor que proporcionaba una línea de base suficientemente pequeña (0,35 Mcuentas) y unas áreas estables para el acetaldehído (390000 área promedio, CV igual 8,47 % para volúmenes entre 120 y 220 ml) y para el benceno (725000 área promedio, CV igual a 3,21 %).

El volumen de purga seleccionado se obtuvo haciendo circular un flujo de He de 40 ml/min durante 4 minutos

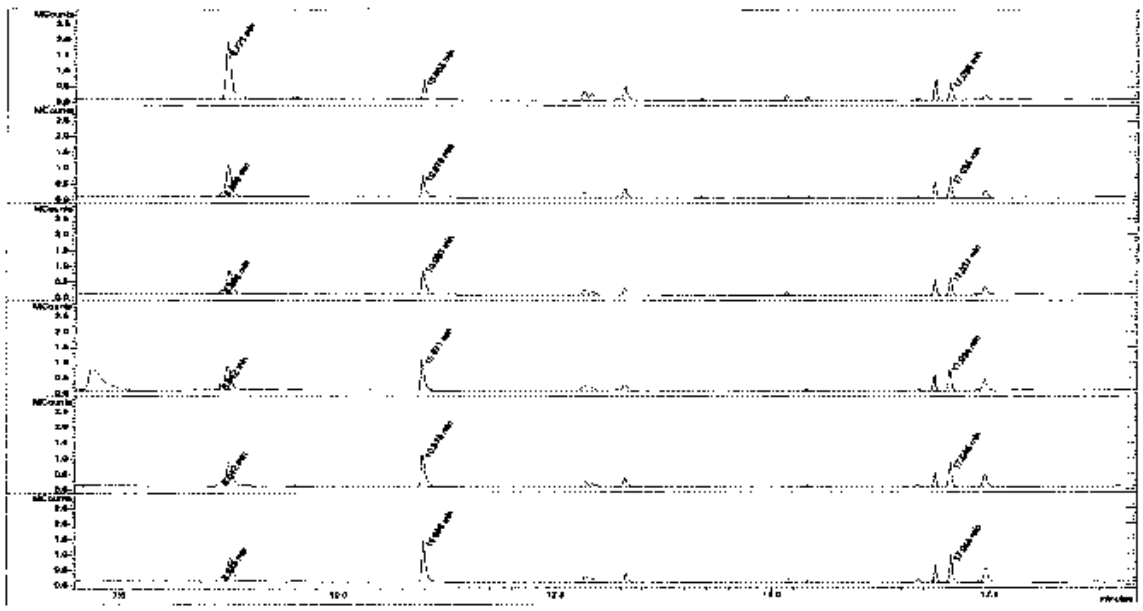


Figura 3. Cromatogramas correspondientes a la inyección de 40, 60, 80, 100, 120 y 140 ml de patrón (de arriba abajo) seguidos de 160 ml de purga de CO_2. Tiempo de retención del acetaldehído: 10,97 min; tiempo de retención del benceno: 17,06 min.

que resultó equivalente a trabajar a un flujo de 20 ml/min durante 8 min; por motivos prácticos se prefirió trabajar en estas condiciones de flujo y tiempo.

Volumen de Ruptura

Una vez determinado el volumen de purga, se procedió a evaluar el volumen de ruptura de los compuestos volátiles minoritarios del CO_2 estudiados. El procedimiento consistió en ir aumentando el volumen de muestra que circulaba por la trampa adsorbente (a 10° C), mediante el aumento del tiempo de muestreo. El rango en el que se varió el volumen fue desde 40 ml hasta 380 ml y se cuantificó el área del acetaldehído y del benceno en cada inyección.

En la Tabla 2 se presentan los datos experimentales obtenidos del área del acetaldehído respecto al volumen de muestra junto con su coeficiente de variación. Los puntos representados son el promedio de un mínimo de 3 inyecciones.

En la Tabla 3 se muestran los datos de las áreas del benceno frente al volumen de muestra. Como se puede observar en el caso del benceno no se alcanzó el volumen de ruptura para el Tenax GR a la temperatura elegida. Este hecho está en consonancia con los datos encontrados en la literatura.

En las Figuras 3 y 4 se pueden observar los cromatogramas correspondientes a la inyección de 40, 60, 80, 100, 120 y 140 ml de gas (Figura 3) y a la inyección de 280, 300, 320, 340 y 360 ml (Figura 4).

Aplicación

Una vez optimizado el método de análisis de CO_2 en botellas patrón se procedió al análisis de CO_2 de calidad N-38 y N-48 pero tomando la muestra de la fase líquida. Para ello se eligieron botellas comerciales con sifón. El sifón obliga al CO_2 de la parte inferior de la botella (fase líquida) a salir antes que el resto (la fase gas en equilibrio).

Tomar la muestra líquida de la botella implicó tener que gasificarlo antes de entrar en el equipo. Esto se logró con un manorreductor colocado a la salida de la botella. La elevación de caudal causada por la gasificación se controló con la ayuda de una válvula Millimiter situada antes del controlador de flujo electrónico.

Tabla 2. Datos experimentales correspondientes al área del acetaldehído en función del volumen de muestra.

Volumen de Muestra *(ml)*	**Área** *(Promedio)*	**Nº medidas**	**%CV**
40	502359	3	1,64
60	629869	3	1,16
80	802709	6	6,24
100	954562	3	8,64
120	1034144	4	0,82
140	1128193	3	0,44
160	1252025	3	5,33
180	1376991	5	3,26
200	1461152	4	2,51
220	1521325	3	0,98
240	1637556	4	2,70
260	1711711	5	5,17
280	1737188	6	7,61
300	1844677	3	5,04
320	1937254	3	3,59
340	2090029	3	1,26
360	2070959	3	2,26
380	2078074	3	3,05

Tabla 3. Valores experimentales correspondientes al área del benceno adsorbida en Tenax GR frente al volumen de muestra.

Volumen de Muestra *(ml)*	Área *(Promedio)*	Nº medidas	%CV
40	274818	3	10,98
60	298694	3	3,57
80	323129	6	9,81
100	456500	3	1,58
120	439419	4	9,97
140	503974	3	13,85
160	637339	3	12,47
180	639916	5	12,53
200	719344	4	11,67
220	814354	3	17,04
240	943345	4	10,60
260	1152771	5	9,78
280	1063991	6	11,70
300	1268068	3	8,72
320	1321767	3	2,28
340	1428038	3	6,27
360	1502926	3	2,28
380	1652452	3	13,95

Ambos tipos de CO_2 se analizaron con el mismo método ya optimizado para el análisis de CO_2 gas, junto con una botella de CO_2 de tipo N-38 comercial sin sifón. En la Figura 5 se comparan los cromatogramas obtenidos para la muestra seleccionada de CO_2 gas de calidad N-38 (A), las dos muestras de CO_2 de calidad N-38 y N-48 analizadas tomando la muestra de la fase líquida (B) y (D), y, el cromatograma de referencia obtenido de una botella de CO_2 preparada con 0,3 ppm de acetaldehído y 0,03 ppm de benceno (C). Como se puede observar en la Figura 5, no se apreciaron cantidades relevantes de acetaldehído o benceno en ninguna de las dos muestras líquidas. En la botella de N-38 gas se apreció un pico muy pequeño (0,003 ppm) de acetaldehído y de benceno, muy inferior al nivel de 0,2 y 0,02 ppm permitido, respectivamente, para cada uno de los compuestos. En vista de la ausencia de contaminantes encontrada en la botella de gas de calidad N-38, no se consideró necesario analizar los contaminantes del gas de calidad superior (N-48).

En el presente trabajo se ha desarrollado un método de análisis de contaminantes volátiles en dióxido de carbono, basado en el empleo de un sistema de preconcentración y un sistema de muestreo de gases, que permitió alcanzar límites de detección del orden de ppb y susceptible de ser utilizado para el análisis tanto de la fase gas como de la fase líquida del CO_2

AGRADECIMIENTOS

S. Cavero agradece al Ministerio de Educación y Cultura la concesión de una beca para la realización de su tesis doctoral. Los autores agradecen a CICYT la financiación concedida (proyecto AGL2000-0448).

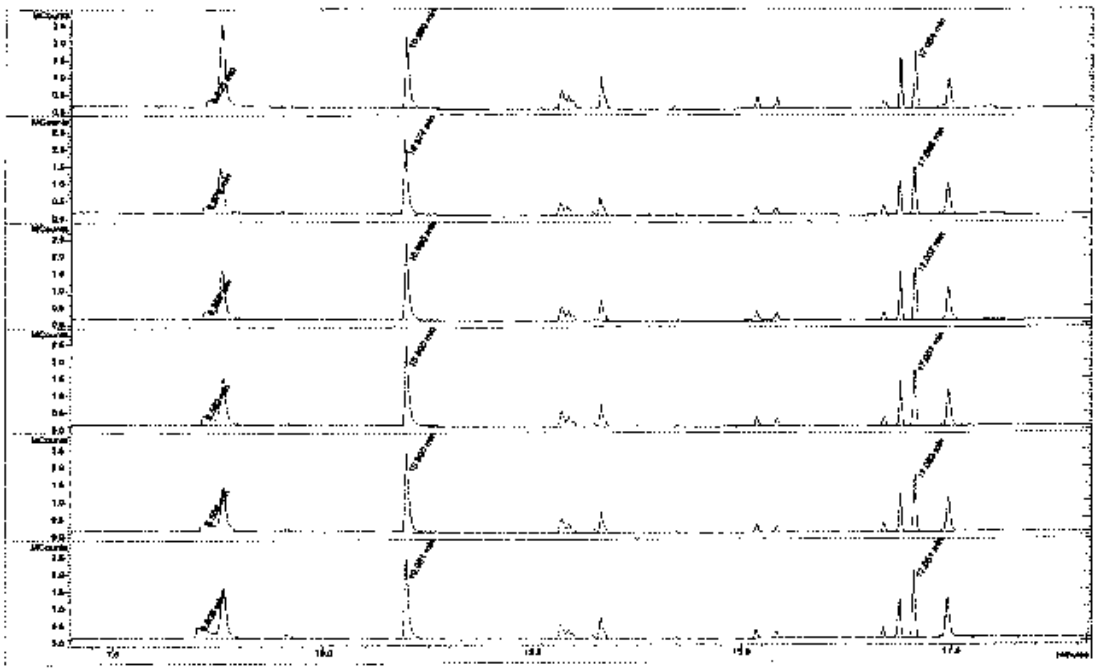


Figura 4. Cromatogramas correspondientes a la inyección de 280, 300, 320, 340 y 360 ml de patrón (de arriba abajo) seguidos de 160 ml de purga de CO_2. Tiempo de retención del acetaldehído: 10,97 min; tiempo de retención del benceno: 17,06 min.

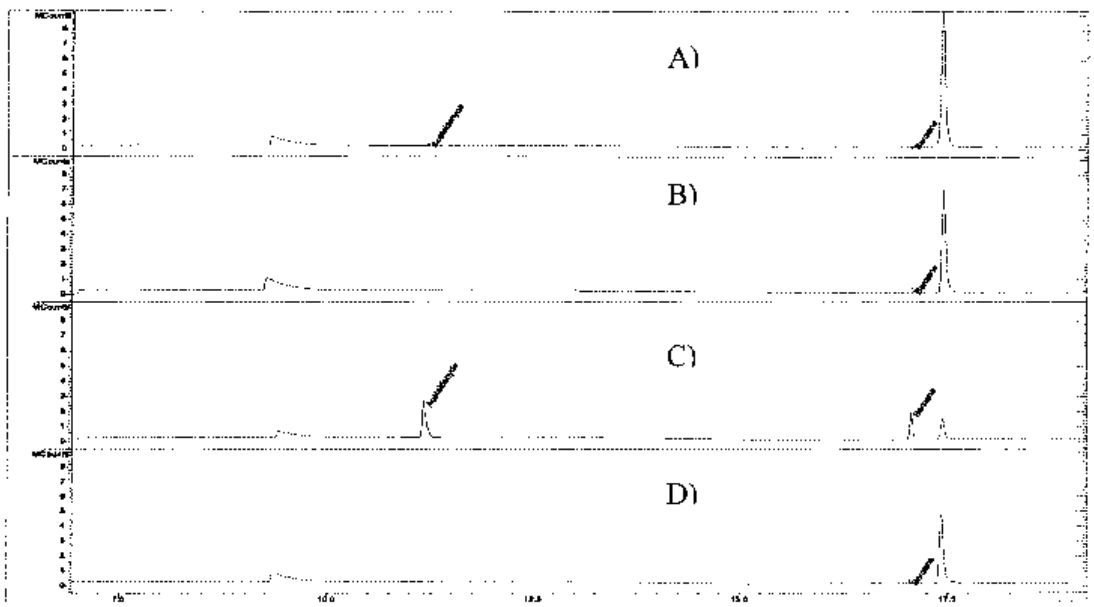


Figura 5. Cromatogramas en los que se representa la cantidad de acetaldehído y benceno encontrados en los distintos tipos de CO_2 en fase líquida y gas. A) botella de CO_2 gas de calidad N-38; B) botella de CO_2 de calidad N-38 tomando muestra de la fase líquida; C) botella patrón de CO_2 elaborada con 0,3 ppm de acetaldehído y 0,03 ppm de benceno; D) botella de CO_2 de calidad N-48 tomando la muestra de la fase líquida. Tiempo de retención del acetaldehído: 10,97 min; tiempo de retención del benceno: 17,06 min.

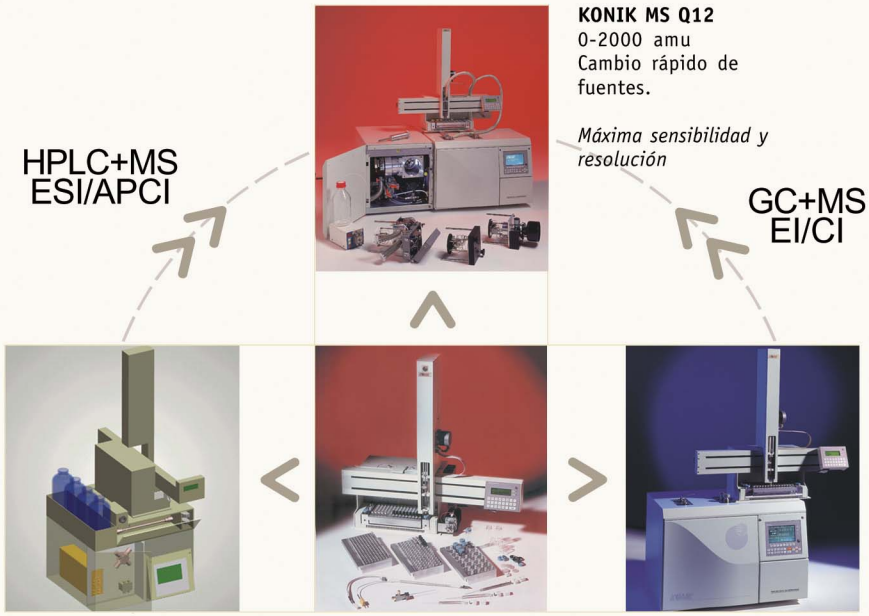
KONIK - TECH®

KROM+MASS Co.

25ANIVERSARIO
25 años de innovación

KONIK 2004/5

Descubra las sinergías de todos los acoplamientos



KONIK MS Q12
0-2000 amu
Cambio rápido de fuentes.

Máxima sensibilidad y resolución

HPLC+MS
ESI/APCI

GC+MS
EI/CI

KONIK HPLC 600
6 Disolventes
Programación
Temperatura

Automatización Total

KONIK ROBOKROM®
AS, HS, P&T, SPmE
Multimodal

Flexibilidad Inigualada

KONIK HRGC 4000
Horno ±0.1ºC
Inyector Estanco
Neumática Digital

Máxima Productividad

HPLC+GC
MULTIDIMENSIONAL
Pat US 6,402,947 B1

Oficinas Centrales:

EUROPA: BARCELONA
T (34) 93.590.28.40
F (34) 93.590.28.44
ventas@konik-group.com

EUROPA: MADRID
T (34) 91.328.25.26
F (34) 91.328.36.54
madrid@konik-group.com

IBEROAMERICA: MIAMI
T (1 305) 557.37.38
F (1 305) 556.47.21
miami@konik-group.com

MARKETING:
marketing@konik-group.com
SERVICIO TÉCNICO:
sat@konik-group.com
INVESTIGACIÓN:
research@konik-group.com

Visite nuestra web
www.konik-group.com

Aplicaciones. Información Técnica. Links Analíticos. Servicios Analíticos Especiales. Programas de Entrenamiento. Cursos y Seminarios.

Única compañía europea con una gama completa de Cromatografía y Espectrometría de Masas

El universo de las moléculas... KONIK The krom+mass Co. ... El mundo de KONIK

Distribuidores exclusivos para España de:

adixen by Alcatel Vacuum Technology	Astoria-Pacific INTERNATIONAL	BIONISIS OPLC	GV Instruments	OXFORD INSTRUMENTS	RHEODYNE	SCHMIDLIN
BOMBAS DE VACÍO y COMPONENTES	ANALIZADORES DE FLUJO CONTÍNUO	OPLC TLC EN CONTÍNUO	EM ISOTÓPICA ICP MS	CVD PLASMA	VÁLVULAS HPLC y LC	GENERADORES H_2, N_2 y AIRE

KONIK - TECH®

KROM+MASS Co.

25ANIVERSARIO
25 años de innovación

Línea Completa de Cromatografía y Espectrometría de Masas KONIK 2004/5

KONIK MS Q12
4-2000 amu
Cambio rápido de fuentes.

Máxima sensibilidad y resolución

KONIK MS Q12

El sistema combinado HRGC/HPLC-MS incorpora opcionalmente:

- Fuente para acoplamiento HRGC: permite ionización por impacto electrónico e ionización química; iones positivos y negativos.
- En el modo IQ (-) es el sistema más sensible del mercado.
- Fuente para acoplamiento HPLC: optimizada para ionización a presión atmosférica (API) y electrospray (ESI).
- Permite fácil análisis de péptidos y compuestos de alto peso molecular.

KONIK ROBOKROM®
AS, HS, P&T, SPmE
Multimodal

Flexibilidad Inigualada

KONIK ROBOKROM®

Sistema totalmente innovador exclusivo de KONIK. Puede configurarse a voluntad para siete modos operativos: (1) P&T: Purga y Trampa, (2) Espacio de Cabeza Estático, (3) µ-Extracción en Fase Sólida, (4) Desorción Térmica, (5) Inyección de Líquidos HRGC, (6) Inyección de Líquidos HPLC, (7) Micro-concentrador.

Opciones: Microagitación, Evaporación Controlada, Microdosificación, Microreacción. Estación de microquímica completa (derivatización precolumna, concentración, spiking,...). Soluciones combinadas con HRGC únicas: TOGA, BTX, EPA,...

KONIK HRGC 4000
Horno ±0.1°C
Inyector Estanco
Neumática Digital

Máxima Productividad

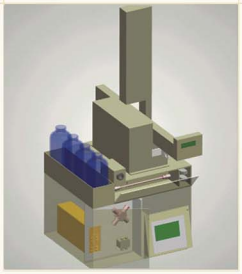
KONIK HRGC 4000 B

Cromatografía Ultra-Rápida: Horno de alta precisión y muy baja inercia térmica. Neumática Digital (EPC y EMC). Temperatura de 25 a 490°C en incrementos y visualización de 0.1°C.

Inyector Estanco con Septum Frío (sin purga de Septum): garantiza la máxima integridad de la muestra para compuestos de alto y bajo peso molecular. Ahorro de gas.

Todas las opciones de inyección disponibles para cualquier tipo de columna.

Gama completa de detectores, inclusive Masas.



KONIK HPLC 600
6 Disolventes
Programación
Temperatura

Automatización Total

KONIK HPLC 550 TORRE y HPLC 600 MONOBLOQUE

Línea completa en HPLC: Isocrático, Gradientes, Biocompatible, Semi-preparativo, Iónico, etc. Detectores Fluorescencia, PDA, UV-VIS, Índice de Refracción, Conductividad, Electroquímico, Masas, EVLSD, etc. La solución óptima para su laboratorio con la mejor relación calidad/precio.

KONIK HPLC+HRGC K2 MULTIDIMENSIONAL

Único sistema comercializado HPLC+GC MULTIDIMENSIONAL (patentado US,6,402,947 B1).

Descubra las sinergías de todos los acoplamientos

Visite nuestra web
www.konik-group.com

BARCELONA T (34) 93.590.28.40 F (34) 93.590.28.44 ventas@konik-group.com
MADRID T (34) 91.328.25.26 F (34) 91.328.36.54 madrid@konik-group.com
MIAMI T (1 305) 557.22.12 F (1 305) 556.47.21 miami@konik-group.com

BIBLIOGRAFÍA

Brown, R.H.; Purnell, C.J. (1979). Collection and analysis of trace organic vapor pollutants in ambient atmospheres-performance of a Tenax GC adsorbent tube. *Journal of Chromatography A, 178, 1, 79-90.*

Cao, X.L. (1991). Determination of specific retention columes at 20-degrees-C for hydrocarbons on microporous carbons. *Journal of Chromatography A, 586, 1, 161-165.*

Comes, P.; Gonzalez-Flesca, N.; Menard, T.; Grimalt, J.O. (1993). Langmuir-derived equations for the prediction of solid adsorbent breakthrough volumes of volatile organic compounds in atmospheric emission effluents. *Analytical Chemistry, 65, 8, 1048-1053.*

Coppi, S.; Betti, A.; Blo, G.; Bighi, C. (1983). Influence of thermal pre-treatment on adsorption properties of porous polymer air samplers. *Journal of Chromatography A, 267, 1, 91-99.*

Harper, M. (2000). Sorbent trapping of volatile organic compounds from air. *Journal of Chromatography A, 885, 129-151.*

Maier, I.; Fieber, M. (1988). Retention characteristics of volatile compounds on Tenax TA. *Journal of High Resolution Chromatography, 11, 8, 566-576.*

Maljaars, S.E.; Nielen, M.W.F. (1988). Evaluation of adsorption tubes for air sampling of C2-C4 unsaturated hydrocarbons. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 34, 4, 333-345.*

Martens, S.; Dietrich, M.; Doss, M.; Wimmer-Greinecker, G.; Moritz, A. (2002). Optimal carbon dioxide application for organ protection in cardiac surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery; 124(2):387-391.*

Patil, S.F.; Lonkar, S.T. (1992).Thermal desorption-gas chromatography for the determination of benzene, aniline, nitrobenzene and chlorobenzene in workplace air. *Journal of Chromatography A, 600, 2, 344-351.*

Persson, K.A.; Berg, S. (1989). Automatic determination of selected C2-C4 hydrocarbons in urban air by solid sorbent sampling and gas-chromatography. *Chromatographia, 27, 1-2, 55-59.*

Peters, R.J.B.; Bakkeren, H.A. (1994). Sorbents in sampling stability and breakthrough measurements. *Analyst, 119, 1, 71-74.*

Przyjazny, A. (1985). Evaluation of the suitability of selected porous polymers for preconcentration of organosulphur compounds from water. *Journal of Chromatography A, 346, 61-67.*

Riba, M.L.; Randrialimana, E.; Mathieu, J.; Torres, L. (1985). Preconcentration of atmospheric terpenes on solid sorbents. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 19, 2, 133-143.*

Seshadri, S.; Bozzelli, J.W. (1983). Collection of vapors of selected chlorocarbons and benzene on Tenax GC. *Chemosphere, 12, 6, 809-820.*

Sturges, W.T.; Elkins, J.W. (1993). Use of adsorbents to collect selected halocarbons and hydrohalocarbons of environmental interest from large air volumes. *Journal of Chromatography A, 642, 1-2, 123-134.*

Ventura, K.; Dostal, M.; Churacek, J. (1993). Retention characteristics of some volatiles compounds on Tenax GR. *Journal of Chromatography A, 642, 1-2, 379-382.*

***

Fundamentos de la Cromatografía de Fluidos Supercríticos y su aplicación en la Tecnología de los Alimentos

Pilar Ramírez Calvo, Alejandro Ruiz Rodríguez
Área de Tecnología de los Alimentos
Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid
Carretera Colmenar Km 15, 28049 Madrid

1. INTRODUCCIÓN

La **cromatografía de fluidos supercríticos** (SFC) es un tipo de cromatografía en la que la fase móvil es un fluido supercrítico.

La SFC es concebida como alternativa al empleo de la cromatografía de gases (GC), que aunque es rápida y altamente eficaz necesita que los compuestos de la muestra sean volátiles; y de la cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) que, pese a su gran uso y aplicaciones, tiene ciertas limitaciones como elevados tiempos de análisis para muestras complejas debido a su escasa difusividad y la ausencia de un detector simple, universal y sensible. Surgió así la SFC con el objetivo inicial de obtener una alta resolución a bajas temperaturas y en un corto tiempo de análisis. Posteriormente se han observado otras ventajas relativas a la universalidad de la detección, la posibilidad de utilizar columnas de muy distinta configuración y la compatibilidad para el acoplamiento directo con técnicas de aislamiento y concentración.

Aunque el "estado crítico" fue descrito por Andrews en 1869, la idea de utilizar un fluido supercrítico como fase móvil en cromatografía se atribuye a Lovelock y fue formulada en 1958 durante su estancia en la Universidad de Yale. Las primeras experiencias las llevaron a cabo Klesper, Corwin y Turner en 1962. Diez años más tarde, en 1972, Gouw y Jentoft publicaban una revisión de varios trabajos que empleaban la "cromatografía con gases densos" y ponían de manifiesto el gran potencial de esta técnica para analizar una gran variedad de compuestos que no podían ser separados mediante GC. Esta revisión precedió, sin embargo, al gran desarrollo posterior del HPLC en fase inversa, que eclipsó en gran parte el desarrollo de esta nueva técnica de separación. El primer equipo comercial de SFC fue desarrollado por Hewlett-Packard en 1983 e iba acompañado de unas hojas de aplicaciones que ya describían la separación de compuestos de matrices naturales, incluyendo compuestos termolábiles (Smith, 1999).

1.1. Propiedades de los fluidos supercríticos

Un fluido supercrítico (FS) es aquella sustancia que se encuentra a presiones y temperaturas superiores a las correspondientes al punto crítico. El diagrama de fases que se presenta en la Figura 1 indica la posición relativa de un FS con respecto a la fase gas, la líquida y la sólida de una sustancia pura, en función de la temperatura y la presión.

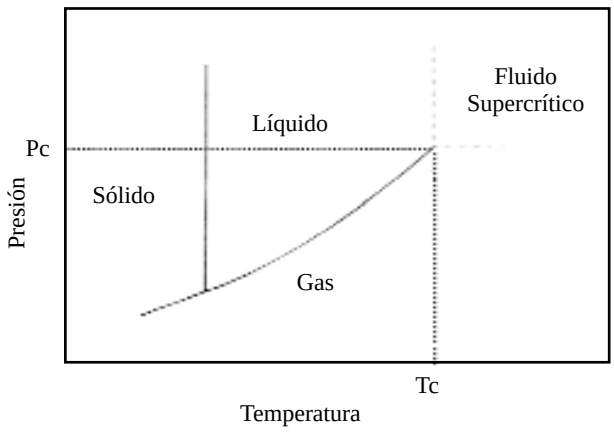


Figura 1. Diagrama de fases de un compuesto puro.

La temperatura crítica (Tc) y la presión crítica (Pc) definen el punto crítico de una sustancia. Por encima de ese punto, la sustancia no es un líquido ni un gas propiamente dicho, pero posee propiedades de ambos. Entre estas propiedades se encuentran: la *densidad*, que influye directamente en el poder de solvatación de la fase móvil; la *difusividad*, que afecta al tiempo de análisis; y la *viscosidad*, que determina las caídas de presión a lo largo de la columna cromatográfica.

En la Tabla 1 se presenta el valor medio de estas propiedades para gases, fluidos supercríticos y líquidos (Saito y col., 1994).

Los FS tienen, por tanto, un rango de densidades mayor que los gases, que además puede ser ajustado variando la presión y la temperatura para aproximarlo lo más posible a la solubilidad de los solutos a extraer o separar. Poseen también un coeficiente de difusión superior al de los líquidos, lo que justifica la mayor rapidez de análisis, y una viscosidad próxima a la de los gases, por lo que las caídas de presión son menores que en HPLC.

Tabla 1. Comparación en orden de magnitud de las propiedades físicas de los líquidos, gases y fluidos supercríticos.

Fase	Densidad (g/cm^3)	Difusividad (cm^2/s)	Viscosidad (g/cm s)
Gas (1 atm, 25ºC)	0,6 - 2 x 10^{-3}	1 – 4 x 10^{-1}	1 – 3 x 10^{-4}
Fluido Supercrítico	0,3 - 0,8	0,1 – 4 x 10^{-3}	1 – 3 x 10^{-4}
Líquido (1 atm, 25ºC)	0,6 – 1,6	0,2 – 2 x 10^{-5}	0,2 – 3 x 10^{-2}

2. FASES MÓVILES, POLARIDAD Y SOLUBILIDAD

2.1. Grupos de sustancias según los parámetros "críticos"

En la Tabla 2 se presenta una lista de los valores de algunas de las propiedades en el punto crítico de posibles sustancias puras que se pueden utilizar como fase móvil en cromatografía. Se presentan los datos de Temperatura (T_C), Presión (p_C) y Densidad (ρc) críticas, así como el parámetro de Solubilidad (δc) calculado a través de la temperatura y presión reducidas (T_R= T/T_C y p_R= p/pc). El interés de este último parámetro se debe a que su valor proporciona una medida de la polaridad y el poder de elución del eluyente (Schoenmarkers y Uunk, 1987).

En la tabla se han diferenciado tres grupos en función de sus propiedades. El primero de ellos se refiere a sustancias que, como el He, poseen una $T_C$inferior a 0ºC y no tienen poder de solvatación, por lo que no se emplean como fase móvil en SFC. En segundo lugar, se encuentran las sustancias más comúnmente utilizadas ya que es posible alcanzar densidades elevadas trabajando a temperaturas próximas al punto crítico (sus T_C varían entre 0 y 200ºC), utilizando presiones relativamente moderadas. El tercer grupo incluye aquellas sustancias que tienen una Tc superior a 200ºC y se emplean habitualmente en Cromatografía de Líquidos (LC). Estas sustancias no se utilizan en SFC por los problemas prácticos que ocasionaría alcanzar las condiciones supercríticas.

Algunas de estas sustancias que se han utilizado en SFC como fases móviles son: *hidrocarburos* (como el metano o el pentano), aunque sus poderes de solvatación son limitados y sus Tc muy elevadas; *amoniaco*, aunque parece ser demasiado agresivo para las partículas de sílice que contienen las columnas; *xenón*, apropiado para SFC acoplado a un detector de infrarrojos con transformada de Fourier; *óxido nitroso*, que parece tener una gran fuerza solvente tanto para extracción como para cromatografía y parece tener bastante interés en la separación de aminas; *agua subcrítica*, cuyo interés va en aumento en los últimos años; y otros como el dimetiléter (Smith, 1999 y Petersen, 1990).

2.2. Polaridad del CO2 y uso de modificadores

Pero, sin duda, de todas las sustancias que se muestran en la tabla 2, el dióxido de carbono es el más usado de todos por varias razones: tiene una presión crítica moderada (P_C= 72,90 atm) y una baja temperatura crítica (T_C = 31.05ºC), lo que hace que sea un fluido adecuado para el tratamiento de muestras con compuestos termolábiles; posee un alto poder disolvente (dentro de las sustancias del segundo grupo anteriormente citado sólo es superada por el amoniaco); es compatible con una amplia variedad de detectores; no es tóxico; no causa problemas medioambientales; no es inflamable y es relativamente barato. Sin embargo, su polaridad en muchos casos es insuficiente para el análisis de solutos muy polares, por lo que a veces es necesario el uso de modificadores (Schoenmarkers y Uunk, 1987).

Un modificador es un solvente orgánico que se añade al fluido supercrítico en pequeña cantidad (hasta un 10% v/v) con el fin de aumentar la polaridad del mismo. En procesos con columnas capilares, la influencia del modificador en la fuerza de elución es proporcional a su concentración. Por el contrario, en columnas rellenas, pequeñas cantidades de modificador pueden tener efectos dramáticos en la separación, sobre todo para compuestos polares. Existe una gran variedad de modificadores utilizados en SFC, incluyendo tetrahidrofurano, dimetil sulfóxido, hexanol, propan-2-ol, 2-metoxietanol, agua, ácido fórmico y otros, aunque los más habituales son: etanol, acetona y metanol (Smith, 1999 y Petersen, 1990). En la industria alimentaria únicamente está permitido el etanol. Los inconvenientes de su empleo son los atribuibles a los disolventes orgánicos, además de que impiden, en la mayoría de los caso, el uso de detectores universales, como por ejemplo, el detector de ionización de llama (FID). Varios grupos han investigado los efectos de algu-

Tabla 2. Propiedades físicas de algunas posibles fases móviles para cromatografía.

Fase móvil	T_c (ºC)	P_c (atm)	ρ_c (g/cm^3)	δ_c(cal$^{-1/2}$ cm$^{-3/2}$)
Helio	-268.00	2.24	0.070	1.0
Hidrógeno	-240.00	12.80	0.031	2.6
Neón	-229.00	27.20	0.484	4.2
Nitrógeno	-147.00	33.50	0.313	4.7
Metano	-82.00	45.41	0.169	--
Kriptón	-63.70	54.30	0.919	5.9
Eteno	9.20	49.70	0.217	5.8
Xenón	16.60	57.60	1.113	6.1
Dióxido de Carbono	**31.05**	**72.90**	**0.466**	**7.5**
Etano	32.20	48.20	0.203	5.8
Óxido Nitroso	36.40	71.50	0.452	7.2
Azufre	45.50	37.10	0.738	5.5
Amoníaco	132.40	111.30	0.235	9.3
n-Buteno	134.90	36.00	0.221	5.2
n-Butano	152.00	37,50	0.228	5.3
Dietil éter	193.50	35.90	0.265	5.4
n-Pentano	196.50	33.30	0.237	5.1
n-Hexano	234.20	29.30	0.233	4.9
2-Propanol	235.10	47.00	0.273	7.4
Metanol	239.40	79.90	0.272	8.9
Acetona	235.00	46.39	0.279	--
Etanol	241.00	60.61	0.276	--
Tetrahidrofurano	267.00	51.20	0.322	6.2
Acetonitrilo	274.80	47.70	0.253	6.3
Agua	374.10	217.60	0.322	13.5

nos de estos modificadores en columnas rellenas, en cuanto a los parámetros cromatográficos (Ibáñez y col., 1995 (b) y Zou y col., 2000).

2.3. Solubilidad y Retención

Para solubilizar un soluto, el parámetro de solubilidad de éste y del disolvente deben ser similares. Una de las características más interesantes de los fluidos supercríticos es que su solubilidad puede variarse modificando las condiciones de presión y temperatura (es decir, modificando la densidad), de manera que se aproxime lo más posible a la solubilidad del compuesto a separar. Este hecho se expresa matemáticamente en la ecuación siguiente, introducida por Hildebrand y Scott en 1958:

$$\delta_{SFC} = 1{,}25\ P_C - [\rho_{r,g}/\rho_{r,l}]$$

Donde δ_{SFC} es el parámetro de solubilidad (que indica el poder de elución de la fase móvil), P_C es la presión crítica, $\rho_{r,g}$ es la densidad reducida del FS y $\rho_{r,l}$ es la densidad reducida del eluyente a compresión infinita.

De esta manera, un aumento de presión (a temperatura constante) produce un incremento de solubilidad del compuesto en el FS. El efecto de la temperatura es algo más complejo. Para muchos compuestos, cuando se aumenta la temperatura desde el ambiente, se produce un aumento de la solubilidad, pero al llegar a la Tc la densidad del FS disminuye al aumentar la temperatura, por lo que la solubilidad de los analitos disminuye. Pero también al aumentar la temperatura se produce un incremento en la presión de vapor del analito, lo que aumenta su solubilidad en el FS. Estos dos hechos son los que explican el comportamiento de cada compuesto. A partir de la temperatura que produce la máxima retención, el efecto del aumento de volatilidad predomina sobre el de disminución de la densidad con lo que el efecto finalmente observado es un aumento en la solubilidad. Esto es más significativo cuanto más volátil es el compuesto (Leyendeker, 1986 y Lou y col., 1997).

De esta manera y modificando estos dos parámetros a lo largo del desarrollo cromatográfico, se pueden conseguir gradientes de densidad para optimizar la separación de los compuestos de la muestra con un aumento en la eficacia. Esto ha sido utilizado por varios grupos para la separación de vitaminas, tocoferoles y carotenoides (Ibáñez y col., 1995 (c), Ibáñez y col., 1999 y Turner y col., 2001).

Otro parámetro que también tiene mucho que ver con la solubilidad es la retención. Desde los inicios de la investigación en FS se han diseñado sistemas en SFC para el estudio de la interacción de la fase móvil y los solutos, proponiendo modelos termodinámicos o estadísticos teóricos que se ajustan bastante bien a los resultados experimentales. Por ejemplo, Smith y col., 1999 sugieren que el modelo para explicar la retención de una serie homóloga de cetonas en una columna de sílice unida a diol puede ser una combinación de la interacciones polares en fase normal y el efecto de volatilidad, cuya contribución se incrementa con la longitud de la cadena (Smith, 1999). Otros autores sugieren que las principales interacciones que controlan la retención cuando se usa dióxido de carbono puro son las hidrofóbicas, aunque también se presta atención a las interacciones entre grupos polares (Chester y col., 1996). El problema fundamental que se extrae de ellos es que todos esos estudios están realizados empleando un rango limitado de analitos, por lo que los resultados de la modelización de la retención no se puede extrapolar para otro tipo de compuestos. En un intento por explicar de forma sistemática la retención de los solutos con diferentes grupos funcionales, varios autores sugieren el parámetro de solubilidad de Fedors (Fedors, 1974) como guía para el cálculo de la solubilidad y la retención de los analitos en el fluido supercrítico (Favati y col., 1988; Galia y col., 2002 y Smith, 1999).

3. FASES ESTACIONARIAS

Otra manera interesante de cambiar las propiedades del sistema cromatográfico para analizar compuestos polares sin usar modificadores es ajustar la polaridad de la fase estacionaria utilizando como fase móvil CO_2 puro, puesto que se ha demostrado que las fases de las columnas pueden ser fácil y ampliamente adaptadas en SFC (Chester y col., 1996). Esta interacción es más importante cuanto más altas son las temperaturas y presiones utilizadas (Lou y col., 1997).

En **columnas capilares**, las fases estacionarias empleadas en SFC son polímeros del tipo de los que se utilizan en GC. Las fases líquidas más comunes son metil-, octil-, fenil- y cianopropil-polisiloxanos, así como las fases de la serie Carbowax (polietilenglicoles).

Con **columnas rellenas**, se emplean rellenos porosos de sílice o de alúmina y rellenos peliculares de sílice para el análisis de solutos apolares o moderadamente polares. Para la separación de compuestos polares son más recomendables los rellenos de sílice químicamente modificada: fases orgánicas monomoleculares (octil, octadecil, ciano, amino, diol) ligadas a la superficie de sílice (Turner y col., 2001).

Una consideración importante es que las fases estacionarias en SFC deben ser insolubles en la fase móvil o estar firmemente entrecruzadas y enlazadas a la pared interna de la columna. Esto es debido al elevado poder de

solvatación que presentan los FS, que pueden provocar la disolución de la fase estacionaria y su arrastre fuera de la columna. Evidentemente, la inmovilización de la fase estacionaria no debe disminuir excesivamente la difusividad de los solutos. Un elevado entrecruzamiento genera estructuras rígidas que reducen drásticamente la eficacia de la columna. Por tanto, debe alcanzarse un compromiso entre la estabilidad (entrecruzamiento fuerte) y la eficacia (entrecruzamiento débil) (Lee y Markides, 1986).

Uno de los procedimientos para lograr la inmovilización de la fase estacionaria consiste en introducir en la columna un iniciador de radicales libres para producir un entrecruzamiento del polímero. Entre los iniciadores de radicales libres más empleados destacan el azo-t-butano (Kong y col., 1984), el peróxido de dicumilo (Markides y col., 1983) y la radiación gamma (Schomburg y col., 1982).

El fluido supercrítico utilizado influye en la estabilidad química de la columna. Fases del tipo polisiloxano son poco solubles en dióxido de carbono y muy solubles en n-pentano y amoníaco. Las fases estacionarias tipo polietilenglicol de elevado peso molecular no se extraen con CO_2 en condiciones supercríticas y se pueden utilizar sin entrecruzar (Lee y Markides, 1990).

El mayor problema que presentan las partículas de sílice es su elevada actividad superficial para el análisis de compuestos polares. Este tipo de solutos sufren adsorciones reversibles que se traducen en picos asimétricos ("tailing"). El problema se solventa de varias maneras: utilizando un modificador orgánico que sea capaz de competir con las moléculas del soluto polar por los puntos activos de la superficie de la sílice; desarrollando nuevos métodos de desactivación, como la utilización de polímeros químicamente ligados a las partículas de sílice y a los que posteriormente se aplica un método de entrecruzamiento que bloquea los grupos silanol responsables de la adsorción de los solutos polares (Taylor y Chang, 1990); y empleando nuevos materiales de relleno.

Otras fases estacionarias que también se emplean en la actualidad y que cubren un amplio rango de polaridad para el análisis de compuestos por SFC utilizando CO_2 puro son:

3.1. Fases estacionarias quirales

El desarrollo de estas fases ha tenido un gran avance debido fundamentalmente a que se han desarrollado métodos más rápidos y fáciles en la preparación de las mismas. Se han utilizado fases muy diversas entre las que se encuentran: polidimetilsiloxanos unidos a, β y γ-ciclodextrinas, Chirasil-DEX (para separar hexobarbital), polisiloxanos y polietilenglicol con derivados de benzoil-celulosa, Chirasil-Niquel y Chirasil-Zinc, fases basadas en tirosina para separar isómeros de sustancias farmacéuticas, fases basadas en amilosa y otras (Chester y col., 1996 y Chester y Pinkston, 2002).

3.2. Fases estacionarias basadas en Sílice

Cristales líquidos poliméricos: Se usan para separaciones selectivas por tamaño. En SFC, incluso sin inmovilización previa, usando CO_2 puro se ha conseguido analizar compuestos polares, como los esteroides. También se han desarrollado cristales líquidos de polisiloxanos recubiertos sobre partículas de sílice para la separación de vitaminas liposolubles.

Partículas de sílice recubiertas de polímeros, que necesitan de la previa desactivación de las partículas mediante alguno de los procesos siguientes: reacción con reactivos sililados mono o poliméricos; recubrimiento con polímeros y entrecruzamiento o desactivación y recubrimiento simultáneos.

3.3. Nuevos materiales

Se utilizan como soporte de fases poliméricas alúmina, zirconio y titanio por su estabilidad química, su poder de separación y sus posibilidades en el desarrollo cromatográfico. También se han utilizado partículas de poliestireno-divinilbenceno y cristales de proteínas entrecruzadas (Ibáñez y Señoráns, 2000 (b)).

4. TIPOS DE COLUMNAS

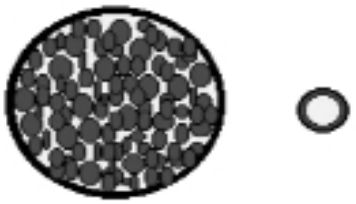
Como en otras técnicas cromatográficas, en SFC la columna es la parte fundamental del sistema. La intervención de la instrumentación consiste básicamente en proporcionar el entorno adecuado de operación y minimizar la contribución de los efectos extracolumna al proceso cromatográfico, de forma que la separación dependa exclusivamente de las interacciones entre la fase móvil, la fase estacionaria y las moléculas del soluto.

En el diseño de una columna se deben hacer dos tipos de consideraciones: unas geométricas y otras químicas. Las primeras incluyen parámetros tales como el diámetro de partícula (d_p), el diámetro de columna (d_c), el espesor de película de fase (d_f), la porosidad (ε), y la longitud de la columna (L) que condicionan la eficacia, la caída de presión, la capacidad de carga y el tiempo de análisis. Las químicas, que afectan a la selectividad del sistema, se refieren a la actividad superficial de la columna, y a la naturaleza y estabilidad de la fase estacionaria.

El desarrollo de la SFC ha seguido dos líneas según la columna empleada: SFC con columnas rellenas y SFC con columnas capilares abiertas. Las primeras son del tipo de las habitualmente empleadas en HPLC (d_c= 1-4,6

mm. y d_p= 3-10 mm.) y operan con grandes caídas de presión por unidad de longitud y plato teórico. Las capilares (d_c= 50-100 mm.), impregnadas con las fases líquidas típicas de GC, muestran un gran poder de separación y una alta permeabilidad. En contra tienen el elevado tiempo de análisis y las dificultades de introducción de muestra (Schoenmarkers, 1988; Smith, 1999 y Turner y col., 2001). En la Figura 2 se presenta un esquema de estos dos tipos de columnas empleados en SFC:

Dimensiones Típicas de Columnas Cromatográficas



	ID (mm)	Longitud (mm)	
Rellena	2.0 - 4.6	0.03 - 0.25	3 - 10 µm diámetro partícula
Capilar	0.025 - 0.1	1 - 35	0.1 - 3 µm espesor de fase

Figura 2. Tipos de columnas fundamentales empleados en SFC.

El número de platos teóricos por unidad longitud es aproximadamente idéntico cuando el diámetro interno de las columnas capilares es igual al de las partículas de las columnas rellenas. Al ser más pequeño el diámetro de las partículas (3-10 µm en vez de 50 µm, que es el diámetro más común en columnas capilares), el resultado es que las columnas rellenas tienen mayor número de platos por unidad de longitud (Petersen, 1990).

Pero también han despertado un cierto interés las columnas capilares rellenas, desarrolladas para tener una mayor versatilidad que las anteriores. La configuración de estas columnas consiste en un tubo de diámetro inferior a 1 mm y soporte sólido, monocapa o impregnado con polímeros, de 5-10 µm (De Weerdt y col., 1990). Columnas de este tipo tienen un número de platos teóricos suficiente con longitudes de columna pequeños (de 10 a 30 cm) lo que se traduce en una reducción del tiempo de análisis (Petersen, 1990).

A continuación se revisan más extensamente las características de los tres tipos de columnas anteriormente citados y se incluye al final una pequeña revisión sobre la Cromatografía de Fluidos Supercríticos preparativa (Prep-SFC).

4.1. Columnas Capilares Abiertas

Las **variables geométricas** de las columnas capilares en SFC coinciden con las de GC y son: el diámetro interno, el espesor de película de fase estacionaria y la longitud.

El *diámetro* de la columna es probablemente el parámetro más importante porque limita el flujo de fase móvil y, por tanto, los volúmenes muertos máximos aceptables para el inyector y el detector y, lo que es más importante, condicionan la caída de presión en la columna, la eficacia, la velocidad lineal óptima de la fase móvil y el tiempo de análisis.

El espesor de película de fase estacionaria afecta a la eficacia y a la capacidad de carga. Si su valor aumenta es posible inyectar mayor cantidad de muestra y, como consecuencia, se dispondrá finalmente de un método de análisis de mayor sensibilidad.

La longitud de la columna debe ser la menor posible, ya que un aumento de la misma provoca una disminución de la sensibilidad y un incremento del tiempo de análisis, pero suficiente para conseguir el número de platos que se precisa (Schoenmarkers, 1988, (a)). En la práctica, las longitudes de columna utilizadas varían entre 1 y 30 m., para d_c= 50 mm, puesto que proporcionan una elevada eficacia, sin pérdida apreciable de sensibilidad y su preparación y manipulación son asequibles (Lee y Markides, 1986).

Existe un acuerdo unánime en la bibliografía sobre el cálculo de eficacia en columnas capilares en SFC utilizando la ecuación de Golay (Golay, 1958), que expresa la altura equivalente a un plato teórico (H) en función de las dimensiones de la columna, la difusividad del soluto en la fase móvil (DM) y en la fase estacionaria (Ds) y de otros parámetros cromatográficos y donde u es la velocidad de la fase móvil:

$$H = \frac{2\,D_M}{u} + \frac{d_c^{\,2}\,(1 + 6k + 11k^2)\,u}{96\,(1 + k)^2\,D_M} + \frac{2\,k\,d_f^{\,2}\,u}{3\,(1 + k)^2\,D_s}$$

La representación gráfica de esta ecuación permite evaluar la variación de H frente a u.

La **caída de presión** es uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta en SFC puesto que tiene un efecto directo sobre la retención, la selectividad, la resolución y la eficacia de la columna (Peaden y Lee, 1983). Este efecto se ve magnificado cuando se trabaja en las zonas próximas a la temperatura y presión críticas de la fase móvil, donde los cambios de la densidad con la presión son más acentuados que en otras zonas.

La ley de Darcy puede utilizarse en SFC para describir la caída de presión si se desprecia la expansión de la fase móvil a lo largo de la columna en columnas capilares y rellenas en condiciones no muy próximas al punto crítica de la fase móvil. En estas condiciones:

$$\Delta p = B^o \eta L u$$

donde Δp es la caída de presión en la columna (en Pa), B^o es la permeabilidad específica (en m^{-2}), h es la viscosidad de la fase móvil (en Pa x seg.), L es la longitud de la columna (en m) y u es la velocidad de la fase móvil (en m x seg^{-1}).

Debido a su baja caída de presión se pueden emplear grandes longitudes de columnas capilares y obtener, por consiguiente, un gran poder de separación.

La cromatografía de fluidos supercríticos con columnas capilares **se utiliza** para separaciones que requieren baja densidad de la fase móvil, para el análisis de compuestos polares, y, puesto que estas columnas proporcionan eficacias elevadas, se usan para la separación de mezclas complejas, en combinación con el detector de ionización de llama (FID) y otros detectores de flujo másico.

El acoplamiento de SFC-MS, para la elucidación estructural de compuestos presentes en mezclas complejas, constituye una herramienta de gran valor cuando las muestras no son suficientemente volátiles o estables para ser analizadas mediante GC.

4.2. Columnas Rellenas

En **dimensiones**, los avances en SFC con columnas rellenas van siempre precedidos por el desarrollo de nuevos materiales para HPLC. El diámetro de las columnas más frecuentemente utilizadas se encuentra en el intervalo de 1 a 4,6 mm (Lee y Markides, 1990). El diámetro de partícula varía entre 3 y 10 mm. La viabilidad de la utilización de partículas de tamaño menor ha sido también estudiada (Gere, 1982), pero su uso no se ha extendido ya que aún posee serios inconvenientes. Por otro lado, algunos autores (Pacholec y col., 1988) han sugerido el interés que puede suponer la utilización de partículas de diámetro superior a 10 mm en SFC, debido principalmente a la menor caída de presión observada en la columna cromatográfica.

Al contrario que en el caso de las columnas capilares abiertas, no se aprecia en la bibliografía un acuerdo general sobre la ecuación que mejor expresa la **eficacia** o relación existente entre la altura equivalente a un plato teórico y la velocidad lineal de la fase móvil para columnas rellenas (Scott, 1992). La ecuación de Van Deemter (Van Deemter y col., 1956) se ha demostrado que es la más apropiada en muchos casos para una predicción correcta de la dispersión observada en columnas de cromatografía de líquidos, particularmente cuando se trabaja con velocidades lineales de la fase móvil próximas a la óptima.

Habitualmente se utiliza la ecuación de Van Deemter simplificada:

$$H = A + \frac{B}{u} + (C_M + C_S)\, u$$

donde A, B, C_M y C_S definen respectivamente, la contribución de la difusión parásita, de la difusión molecular y de la resistencia a la transferencia de materia en la fase móvil y en la fase estacionaria, al ensanchamiento de la banda cromatográfica. La ecuación es una función hiperbólica en la que existe un mínimo valor de H a un valor determinado de u; en este punto la columna proporciona la máxima eficacia.

La permeabilidad específica de las columnas rellenas es muy inferior a la de las capilares. Altas **caídas de presión** en la columna pueden provocar modificaciones en la densidad del fluido y, por tanto, variaciones en la retención de los solutos que en último término se traducen en pérdidas de resolución (Pacholec y col., 1988). Este efecto puede minimizarse cuando se opera a altas presiones donde la variación de la densidad con la presión es mínima.

Las columnas rellenas **se utilizan** principalmente para aquellas separaciones que requieren elevadas densidades de la fase móvil (Schoenmarkers y Uunk, 1987) y son más adecuadas para la separación de compuestos apolares o poco polares.

La cromatografía de fluidos supercríticos con columnas rellenas permite llevar a cabo análisis más rápidos que con columnas capilares. Sin embargo, el número total de platos que proporcionan las columnas rellenas es moderado por lo que generalmente son sólo útiles para analizar muestras con un número limitado de compuestos. Una ventaja fundamental de estas columnas frente a las capilares es su elevada capacidad de carga que permite analizar cuantitativamente compuestos presentes en cantidades traza, sin que las dificultades instrumentales relativas a la introducción de muestra sean significativas.

4.3. Columnas Capilares Rellenas

Son columnas con las siguientes dimensiones: tienen un diámetro inferior a 1 mm y valores de la relación diámetro de partícula a diámetro columna (d_p/d_c) menor de 0,3. Según esta relación se pueden dividir en:

La masa exacta más fácil

para una mayor confianza en la identificación

Agilent LC/MSD TOF

- *3 ppm de exactitud en la masa*
- *Poder de resolución de 10.000*
- *Amplio rango dinámico*
- *Sensibilidad a nivel de bajos picogramos*

La exactitud en la masa aporta confianza a la confirmación de productos de síntesis y la determinación de la composición elemental. El espectrómetro de masas Agilent LC/MSD TOF hace más sencilla la obtención de masas exactas mediante un sistema continuo y automatizado de introducción de una masa de referencia.

El amplio rango dinámico de los espectros asegura que se aprecien los componentes de la muestra tanto de mayor como de menor tamaño, y elimina la necesidad de diluir y repetir el análisis.

Con 3 ppm de exactitud en la masa, un poder de resolución de 10.000 y sensibilidad a nivel de bajos picogramos, el Agilent LC/MSD TOF cuenta con la exactitud, resolución y sensibilidad necesarias para hacer frente a prácticamente cualquier desafío.

Para ganar confianza en todas y cada una de sus identificaciones, póngase en contacto con Agilent inmediatamente.

Teléfono de contacto: 901 11 68 90
www.agilent.com/chem

Agilent Technologies
dreams made real

©Agilent Technologies, Inc. 2004

Tipo A: Con diámetros de partícula muy pequeños (5-10 mm.) y relaciones $d_p d_c < 0,1$. Estas columnas proporcionan un elevado número de platos teóricos, pero a costa de una notable caída de presión, incluso para longitudes pequeñas. En cuanto a las ventajas que su uso supone, comparado con el empleo de las columnas capilares, se pueden resumir en dos: menor tiempo de análisis y mayor capacidad de carga. Como inconvenientes se puede mencionar el menor número de platos teóricos, la mayor caída de presión y, como en el caso de las columnas rellenas, una mayor actividad superficial que puede llevar consigo problemas de adsorción.

Tipo B: Están rellenas con partículas de diámetro relativamente grande y tienen una elevada permeabilidad debido a su gran porosidad interparticular. La relación dp/dc varía, en este caso, entre 0,1-0,3. Reglero y col., 1985 estudiaron las ventajas aportadas por este tipo de columnas en GC: estas columnas alcanzan eficacias específicas notables a relaciones de fase bajas con caídas de presión razonables, si se evaluaban cuidadosamente los factores que afectan a la eficacia de la separación (características del soporte, uniformidad de la fase líquida, porcentaje de impregnación) y a la permeabilidad (tamaño medio de las partículas de relleno y densidad de empacado). Su preparación con fases estacionarias poliméricas usadas habitualmente en GC permite cubrir un amplio intervalo de polaridades y selectividades, además de reducir su actividad superficial. Además, han sido objeto de estudio en SFC para la separación de vitaminas liposolubles (Ibáñez, 1993).

No existe aún un acuerdo generalizado sobre la ecuación que debe utilizarse para evaluar la **eficacia** de una columna capilar rellena.

La **caída de presión** en las columnas capilares rellenas es, en general, inferior a la de las columnas rellenas, aunque entre los dos tipos A y B mencionados con antelación existen diferencias (la caída de presión en las de tipo A es mayor por tener un menor diámetro de partícula que provoca una menor permeabilidad).

Se han descrito **aplicaciones** de las columnas de tipo A para la separación de anilinas (De Weerdt y col., 1990) y al análisis de ácidos grasos insaturados (Demirbürker y col., 1992). Y para las tipo B para la separación de vitaminas liposolubles (Ibáñez y col., 1995 (a), Ibáñez y col., 1995 (c) y Ibáñez y col., 1995 (d)).

4.4. Columnas en Prep-SFC

La cromatografía supercrítica preparativa (Prep-SFC) es una prolongación de la cromatografía supercrítica con columnas rellenas (Berger y Perrut, 1990). En realidad, la posibilidad de utilizar la SFC con fines preparativos fue propuesta hace muchos años (Klesper y col. 1962). Junto con Klesper y colaboradores, Gouw y Jentoft fueron los pioneros de la Prep-SFC (Gouw y Jentoft, 1972). Anteriormente a la aparición de la Prep-SFC la técnica de fraccionamiento fino más empleada era la cromatografía de líquidos de alta eficacia a escala preparativa (Prep-HPLC), técnica que continua siendo aplicada en la actualidad a multitud de separaciones con fines preparativos (Esaki y col., 1998; Smith y col., 1998).

El interés de la Prep-SFC en relación con la Prep-HPLC se basa en la facilidad de recuperar los compuestos aislados mediante una simple descompresión en la que se elimina espontáneamente la fase móvil (Coleman y col., 1999). En algunos casos además, se necesita de menos cantidad de fase móvil y de menos tiempo que para condiciones iguales en Prep-HPLC (Chester y Pinkston, 2002). Por tanto, la posibilidad de obtener productos exentos de disolventes y su carácter limpio y no contaminante potencian el interés de la Prep-SFC que ya ha sido objeto de atención en aplicaciones en tecnología de los alimentos (Chester y Pinkston, 2002; Saito y col., 1994; Saito y Yamauchi, 1990; Taylor y King, 2002; Yamauchi y Saito, 1990 y Yuen y col., 1996).

No obstante, en Europa la única aplicación a escala de producción es el fraccionamiento de los ésteres de los ácidos grasos de derivados de aceites de pescado (Engelhardt, 1993). Esta aplicación es llevada a cabo por la compañía KD Pharma, Bexpach, Alemania para producir ácidos grasos v-3 de los aceites de pescado que se utilizan como alimentos nutracéuticos, utilizando temperaturas moderadas y presiones elevadas para obtener un total de nueve fracciones. Esta compañía tiene en la actualidad la planta más grande de SFC en Tarragona, España que produce 30 ton./año. (Mermelstein, 1999)

5. APLICACIONES

Como ocurre con todas las técnicas analíticas nuevas, es necesario, para su implantación generalizada, demostrar que las aplicaciones de los métodos desarrollados son mejores (en eficacia, selectividad, rapidez o coste) que las técnicas en uso. De esta manera es más fácil que sean aceptadas con éxito por parte de la comunidad científica (Smith, 1999). A continuación, se presentan las áreas en las que más impacto ha tenido la aplicación de los fluidos supercríticos por ofrecer ventajas frente a la cromatografía de gases o de líquidos, sin que ello quiera decir que no existan otras en las que actualmente se investiga.

5.1. Grasas, Aceites y otros lípidos

Las ventajas de la SFC para la caracterización de lípidos procedentes de alimentos hacen que sea una buena alternativa frente a otras técnicas para el análisis de componentes de grasas y aceites, por lo que existen multitud

de métodos que han sido revisados recientemente (Lesellier, 2001 y Señoráns e Ibáñez, 2002). Entre ellos, se incluyen la separación y análisis de esteres metílicos de ácidos grasos y ácidos grasos libres que sirven para determinar el origen y el tipo de aceite y para evaluar su calidad a lo largo del procesado; la extracción y análisis de los lípidos insaponificables de elevado peso molecular y estructuras complejas, por lo que son difíciles de determinar con otras técnicas; y la determinación de componentes minoritarios de los aceites de gran valor como esteroles, tocoferoles y carotenoides (Ibáñez y col, 1995 (d)).

Están descritos procedimientos con los tres tipos de columnas que se detallaban en el punto anterior: capilares abiertas, capilares rellenas y rellenas; con fases de sílice modificadas con distintos radicales y fases de la serie Carbowax (polietilenglicoles) como fases estacionarias más utilizadas. Parece que el uso de modificadores se da exclusivamente en las columnas rellenas, lo que hace prescindir del uso de gradientes de presión (Lesellier, 2001).

Recientemente también se ha descrito el acoplamiento SFE-SFC a nivel preparativo para la obtención de fracciones enriquecidas en esteroles del salvado de maíz (Taylor y King, 2002).

5.2. Vitaminas

El uso de los FS en el análisis de vitaminas es una alternativa al uso de los disolventes orgánicos por dos razones fundamentales: la ausencia de atmósferas de oxígeno que provocaría su descomposición por oxidación y el uso de temperaturas moderadas que evita su destrucción por calor.

Aprovechando estas ventajas, se ha conseguido separar con una buena resolución vitaminas hidrosolubles (polares) con la ayuda de modificadores (Pyo, 2000). También se ha conseguido la separación de tocoferoles (vitamina E) y carotenoides (provitamina A) a través de la optimización de la fase estacionaria elegida y sin el empleo de modificadores (Ibáñez y col., 1999 e Ibáñez y col., 1998).

Existen diversos métodos de análisis y separación de vitaminas por SFC que han sido recientemente revisados y que abarcan la mayoría de variables descritas hasta ahora en cuanto a tipos de columnas, control de la densidad, uso de distintas fases, etc. (Turner y col., 2001).

5.3. Productos naturales obtenidos de plantas

Existen muchos métodos que utilizan los fluidos supercríticos (de forma aislada o mediante el acoplamiento SFE-SFC) para la caracterización de productos naturales obtenidos de diversas estructuras de plantas como: Artemisia annua, L.; Valeriana officinalis, Sinapis alba L., Atropa belladona L., plantas de la familia Brassicacea, planta de la mostaza, semillas de uva y otras (Chester y Pinkston, 2002; Kamangerpour y col., 2002 y Kohler y col, 1997).

Los compuestos que se extraen y separan de estas fuentes suelen tener actividades funcionales interesantes como actividad antioxidante, antitumoral, antibacteriana, insecticida, etc. Dos de los estudios pioneros en este tema fueron la separación de tocoferoles de germen de trigo y el aislamiento de cafeína de café y te (Sugiyama y col., 1985 y Saito y Yamauchi, 1990). En la actualidad, las ventajas que ofrece esta técnica hacen que algunos de estos procesos se estén llevando a cabo a escala preparativa (Chester y Pinkston, 2002 y Smith, 1999).

5.4. Otros no relacionados con los alimentos

Otros campos que en los que se está investigando en la actualidad son:

En la industria farmacéutica, que es uno de los que más ha crecido en los últimos años. Se han desarrollado métodos, por ejemplo, para la separación de esteroides (Yaku y Morishita, 2000), o el análisis de ceras cosméticas por acoplamiento SFE-SFC (Li, 1999) , además de la separación de antibióticos y el estudio de las distintas variables que intervienen en el proceso cromatográfico (Chester y Pinkston, 2002).

En la industria de los combustibles, donde las técnicas de SFC son frecuentemente utilizadas debido a su rapidez y eficacia para separar los compuestos de muestras de petróleo y ciertos lubricantes (Chester y col., 1996).

En el campo de los pesticidas y agroquímicos, por ejemplo para el análisis de suelos o aguas con límites de detección bajos y análisis rápidos (Chester y Pinkston, 2002).

AGRADECIMIENTOS:

P. Ramírez Calvo agradece al Ministerio de Ciencia y Tecnología la beca F.P.I. para la realización de su tesis doctoral.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Berger, C.; Perrut, M. J. Chromatogr. **(1990)** 505, 37-43.
- Chester, T. L.; Pinkston, J. D. Anal. Chem. **(2002)** 74 (12) 2801-2812.
- Chester, T. L.; Pinkston, J. D.; Raynie, D. E. Anal. Chem. **(1996)** 68 (12) 487R-510R.
- Coleman, K.; Boutant, R.; Verillon, F. Practical aspects of preparative supercritical fluid chromatography. Gordon & Breach Science Publishers. UK **(1999)**.
- De Weerdt, M.; Dewale, C.; Verzele, M.; Sandra, P. J. High Resol. Chromatogr. (1990) 13, 40-46.
- Demirbürker, M.; Hägglund, I.; Blomberg, L.G. J. Chromatogr. **(1992)** 605, 263-267.

La Nueva Generación ha llegado

All trademarks are the property of Thermo Electron Corporation and its subsidiaries.
©2004 Thermo Electron Corporation. All rights reserved.

Finnigan™ Surveyor™ HPLC y Finnigan Surveyor MSQ™

HPLC

LC/MS

Líderes en tecnología HPLC y MS

Thermo amplia su gama para análisis de líquidos aportando la sensibilidad de la espectrometría de masas al mundo del cromatografista. Como pioneros en HPLC y LC/MS, seguimos desarrollando instrumentos que ofrecen prestaciones sin igual.

El sistema Finnigan Surveyor MSQ, el espectrómetro de masas cuadrupolar más pequeño y más potente, no sólo extiende la sensibilidad más allá del PDA o UV/Vis sino que puede acelerar su productividad y trabajar de forma automática en combinación con el sistema HPLC Finnigan Surveyor.

Los sistemas HPLC Finnigan Surveyor y Finnigan MSQ ofrecen prestaciones cualitativas y cuantitativas únicas para satisfacer las exigencias de precisión y fiabilidad del laboratorio biofarmacéutico.

Descubra más en www.thermo.com/chromatography o contacte con nosotros para más información en

Tel: +34 916 574 930 ó +34 932 230 918
Email: analyze.eu@thermo.com

Analyze • Detect • Measure • Control™

Thermo
ELECTRON CORPORATION

Lock and key image supplied by Comstock.com. All trademarks are the property of Thermo Electron Corporation and its subsidiaries. ©2004 Thermo Electron Corporation. All rights reserved.

Nuevas Columnas Hypersil™ GOLD
La Llave de la Cromatografía Superior

Las columnas Hypersil GOLD de Thermo Electron ofrecen lo último en prestaciones, reproducibilidad y fiabilidad para liberar su potencial en LC.

Basadas en la última generación de sílice ultra pura, las columnas Hypersil GOLD de alta eficiencia ofrecen separaciones con forma de pico sin igual a pHs extremos para analitos polares convirtiéndolas en su opción ideal.

Formas de pico sin igual junto con una total flexibilidad en desarrollo de métodos, hacen de la Hypersil GOLD la columna que hay que tener en el 2004.

Para más información sobre esta fantástica nueva columna, visite nuestra web www.thermo.com/chromatography o contacte con nosotros en el +34 916 574 930, +34 932 230 918 ó analyze.eu@thermo.com

Analyze • Detect • Measure • Control™

Thermo
ELECTRON CORPORATION

- Engelhardt, H. Verfaren zum Gewinnen ungesättiger Fettsäuren. EU Patent 0 558 974 **(1993).**
- Esaki, H.; Onozaki, H.; Morimitsu, Y.; Kawakishi, S.; Osawa, T. Biosci., Biotechnol. & Biochem. **(1998)** 62, 740.
- Favati, F.; King, J. W.; Friedrich, J. P.; Eskins, K. J. Food Sci. **(1988)** 53, 1532-1536
- Fedors, R. F.. Poly. Eng. Sci. **(1974)** 14, 147-154
- Galia, A.; Argentino, A.; Scialdone, O; Filardo, G. J. Supercrit. Fluids **(2002)** 24, 7-17.
- Gere, D. R. Anal. Chem. **(1982)** 54, 736-740.
- Golay, M. J. E. Gas chromatography. D. H. Desty (Ed.). Butterworths, London **(1958)** pag. 35.
- Gouw, T. H.; Jentoft, R.E. J. Chromatogr. Rev. **(1972)** 68, 303.
- Hildebrand, J. H.; Scott, R. T. **(1958)** Reinhold, New York.
- Ibáñez, E. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid. **(1993)**.
- Ibáñez, E.; Cifuentes, A.; Crego, A.L.; Señoráns, F.J.; Cavero, S.; Reglero, G.(a). J. Agric. Food Chem. **(2000)** 9, 4060-4065.
- Ibáñez, E.; Herraiz, M.; Reglero, G (a). J. High Res. Chromatogr. **(1995)** 18, 507-509.
- Ibáñez, E.; Li, W.; Malik, A.; Lee, M.L (b). J. High Resol. Chromatogr. **(1995)** 18, 559-563.
- Ibáñez, E.; López-Sebastián, S.; Tabera, J.; Reglero, G (a). J. Chromatogr. A **(1998)** 823, 313-319.
- Ibáñez, E.; Palacios, J.; Reglero, G. (b) J.Microcolumn Sep. **(1999)** 11(8), 605-611.
- Ibáñez, E.; Señorans, F. J. (b). J. Biochem. Biopphys. Methods **(2000)** 43, 25-43.
- Ibáñez, E.; Tabera, J.; Reglero, G.; Herraiz, M (c). Chromatographia **(1995)** 40, 448-452.
- Ibáñez, E.; Tabera, J.; Reglero, R.; Herraiz, M (d). J. Agric. Food Chem. **(1995)** 43, 2667 – 2671.
- Kamangerpour, A.; Ashraf-Khorassani, M.; Taylor, L.T.; McNair, H.M.; Chorida, L. Chromatographia **(2002)** 55, 417-421.
- Klesper, E.; Corwin, A. H.; Turner, D. A. J. Org. Chem. **(1962)** 27, 700.
- Kohler, M.; Haerdi, W.; Christen, P.; Veuthey, J-L. J. Chromatogr. A **(1997)** 785, 353-360.
- Kong, R. C.; Fields, S. M.; Jackson, W. P.; Lee, M. L. J. Chromatogr. **(1984)** 289, 105-116.
- Lee, M. L.; Markides, K. E. Chromatography conferences, Inc., Provo, Utah, **1990**.
- BLee, M. L.; Markides, K. E. J. High Resol. Chromatogr. **(1986)** 9, 652-656.
- Lesellier, E. J. Chromatogr. A **(2001)** 936, 201-214
- Leyendeker, D.Ph D Thesis, RWTH Aachen, **(1986)**.
- Li, J. Quantitative analysis of cosmetic waxes by using SFE-SFC and multivariate data analysis. Chemometr. Intell. Lab. Syst. **(1999)** 45, 385-395.
- Lou, X.; Janssen H-G.; Cramers, C. A. J. Chromatogr. A **(1997)** 57-64.
- Markides, K. E.; Blomberg, L.; Buijten, J.; Wännman, J. J. Chromatogr. **(1983)** 267, 29-38.
- Mermelstein, N. H. Food Tech. **(1999)** 53 (2), 82-83
- Pacholec, F.; Boyer, D. S.; Houck, R. K.; Rosselli, A. C. C. M. White (Ed.), Chromatographic Methods, Heidelberg **(1988)**, pag. 17-43.
- Peaden, P. A.; Lee, M. L. J. Chromatogr. **(1983)** 259, 1-16.
- Petersen, M. J. Chromatogr. **(1990)** 505, 3-18.
- Pyo, D. J. Biochem. Biophys. Methods **(2000)** 43, 113-123.
- Reglero, G.; Herráiz, M.; Cabezudo, M. D.; Fernández-Sánchez, E.; García-Domínguez, J. A. J. Chromatogr. **(1985)**. 327-337.
- Saito, M.; Yamauchi, Y. J Chromatogr. A, **(1990)** 505, 257-271.
- Saito, M.; Yamauchi, Y.; Okuyama, T. Fractionation by packed-column SFC and SFE. Principles and applications. VCH Publishers Inc. New York. **(1994)**.
- Schoenmarkers, P. J. (a) R. M. Smith (Ed.), RSC Chromatography Monographs, London **(1988)**.
- Schoenmarkers, P. J.. J. High Resol. Chromatogr. **(1988)** 11, 278-282.
- Schoenmarkers,P. J.; Uunk, L. G. M. Europ. Chromatogr. News **(1987)** 1, 14-22.
- Schomburg, G.; Husman, H.; Ruthe, S.; Herraiz, M.. Chromatographia **(1982)** 15 (9), 599-610.
- Scott, R. P. W. John Wiley and Sons, Chichester **(1992)** pág. 149.
- Señoráns, F. J.; Ibáñez, E. Anal. Chem. Acta **(2002)** 465, 131-144.
- Smith, R. J.; Davidson D.; Wilson R. J. H. J. Am. Soc. Brew. Chem. **(1998)** 56, 52-57.
- Smith, R. M. J. Chromatogr. A **(1999)** 83-115.
- Sugiyama, K.; Saito, M.;, T. Hondo, T.; Senda, M. J. Chromatogr. A **(1985)** 32, 107-116.
- Taylor, S. L.; King, J. W. JAOCS **(2002)** 79 (11), 1133-1136.
- Turner, C.; King, J. W.; Mathiasson, L. J. Chromatogr. A **(2001)** 936, 215-237.
- Van Deemter J. J.; Zuiderweg, F. J.; Klinkemberg, A. Chem. Eng. Sci. **(1956)** 5, 271-289.
- Yaku, K.; Morishita, F. J. Biochem. Biophys. Methods **(2000)** 43, 59-76.
- Yamauchi, Y.; Saito M. J. Chromatogr. (1990) 505, 237-246.
- Yuen, M.C.; Ah, N.M.; Yahaya, H.; Yamauchi, Y.; Bounoshita, M.; Saito, M. JAOCS **(1996)** 73, 523.
- Zou, W.; Dorsey, J. G.; Chester, T. L. Anal. Chem. **(2000)** 72, 3620-3626.

INFORMACIONES

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

En la página web de la SECyTA (www.secyta.org) se puede encontrar información actualizada sobre próximos congresos.

SFC/SFE: 13th International Symposium on Supercritical Fluid Chromatography, Extraction and Processing.

1 - 4 Agosto. 2004. Pittsburgh, Pennsylvania, USA
Co-Chairmen:
Dr. Jerry King and Dr. Thomas Chester
www.supercritconf.org
Contacto:
Janet Cunningham
Symposium Manager
c/o BARR Enterprises
PO Box 279
Walkersville, MD 21793, USA
T +1 301 668 6001
F +1 301 668 4312
janetbarr@aol.com
www.supercritconf.org

CE in the Biotechnology and Pharmaceutical Industries. 6th Symposium on the Practical Applications for the Analysis of Proteins, Nucleotides and Small Molecules.

13 - 17 Agosto. 2004. San Juan, Puerto Rico
Contacto:
Karen Bertani
Manager del Simposio
California Separation Science Society (CaSSS)
156 South Spruce Ave., Suite 214
South San Francisco, CA 94080-4556
USA
T 650-876-0792
F 650-876-0793
kbertani@casss.org
www.itp2004.mlib.cnr.it

SOFT/TIAFT: 2004 FBI Laboratory Forensic Toxicology Symposium and Loint Meeting of the Society of Forensic Toxicologists (SOFT) and the International Society of Forensic Toxicologists (TIAFT).

28 Agosto - 3 Septiembre. Washington, DC, USA
Contacto:
Marc A. LeBeau
Federal Bureau of Investigation, Chemistry Unit
FBI Laboratory, Room 4220 2501 Investigation Parkway
Quantico, VA, 22135, USA
T +1 202 324 8472
F +1 202 324 4633
mlebeau@fbi.gov
www.tiaft.org

ExTech 2004: 6th International Symposium on Advances in Extraction Techniques.

6 - 8 Septiembre. 2004. USA
Contacto:
Ogarit Uhlmann / Dr. Hildegard Feldmann
UFZ Centre for Environmental Research Leipzig-Halle
Permoserstr, 15
D-04318 Lepizig, Germany
T +49 341 235 2413
F +49 341 235 2782
extech2004@ufz.de
www.ufz.de/extech2004

ITP 2004: 14th International Symposium on Capillary Electroseparation Techniques.

13 - 15 Septiembre. 2004. Roma, Italia
Contacto:
Dr. S. Fanali / Mr M. Cristalli
Istituto di Metodologie Chimiche, CNR
PO Box 10-00016 Monterotondo Scalo, Italia
T +39 06 9067 2723
F +39 06 9067 2269
michele.cristalli@imc.cnr.it
www.itp2004.mlib.cnr.it

ICS-2004: 17th International Ion Chromatography.

21 - 23 Septiembre. 2004. Trier, Alemania
Contacto:
Dr. Joachim Weiss
T +49 (0) 6126 99 1223
F +49 (0) 6126 99 1272
joachim.weiss@dionex.de

AIR LIQUIDE™

EL COMPROMISO CON LA CALIDAD

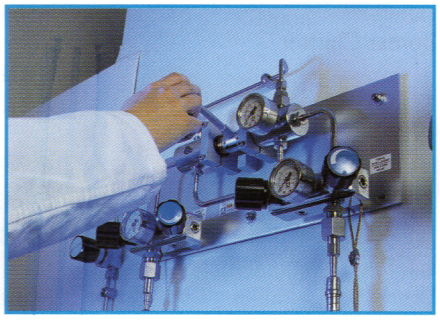
AIR LIQUIDE *dispone de una línea de productos específicamente concebida para las necesidades en Instrumentación Analítica e Investigación.*

GASES PUROS

- Nuevas gamas ALPHAGAZ 1 y 2 para aplicaciones especificas:
  - Cromatografía gases / líquidos / MS / Supercrítica
  - Absorción atómica
  - Emisión
- Nuevas gamas ALPHAGAZ 1.000 (N2, Ar y He líquidos) en investigación y Control Analítico.
- Otros productos con amplia gama de purezas.

MEZCLAS

- Multicomponentes / niveles de concentración hasta ppb.
- Catalogadas por aplicaciones específicas: POL, OTO, etc.
- Bajo pedido: incluidos gases licuados, reactivos, pares combustible comburante, etc.
- Acreditación ENAC.
- Certificaciones: ISO 9002, ISO 6141, ISO 6142, ISO 6143.



EQUIPOS PARA GASES

- Manorreductores (doble / simple expansión, latón, inox.,etc.)
- Reguladores de caudal: volumétricos, másicos.
- Válvulas de cierre, de regulación, etc. (inox. / latón).

MATERIALES PARA GASES LICUADOS

- Recipientes de N2, Ar y He líquidos.
- Canalizaciones bajo vacío.
- Instalaciones automáticas de llenado.

INSTALACIONES "LLAVE EN MANO"

- Proyectos a medida.
- Sistemas manuales y automáticos.
- Canalizaciones en acero inoxidable.
- Regulación de presión / caudal en el punto de utilización.
- Sistemas de señalización de alarmas.
- Detección de gases.
- Casetas de almacenamiento.

SERVICIOS

- Generación "in situ" de N2, H2 y Aire.
- Mantenimiento preventivo y correctivo de instalaciones.
- Televigilancia de stock y parámetros de utilización.
- Gestión optimizada de gases.
- Formación específica usuarios de gases.

AL AIR LIQUIDE ESPAÑA, S.A. / Paseo de la Castellana, 35 / 28046 Madrid / Telf.: 91 50 29 300 - Fax: 91 50 29 330
http://www.airliquide.es

µTAS-2004: 8th International Conference on Miniaturized Systems Chemistry and Life Sciences.

26 - 30 Septiembre. 2004. Malmö, Suecia
Contacto:
Anna Martinsson
Malmö Conference Agency
Norra Vallgatan 16
s-211 25 Malmö, Sweden
Tel: + 46 40 25 85 50
Fax: + 46 40 25 85 59
info@malmo-congress.com
www.microTAS2004.lu.se

The 31st Annual Conference of the Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies (FACSS).

3 - 7 Octubre. 2004. Portland, USA
Contacto:
FACSS
PO Box 224379
Santa Fe, NM 87502, USA
T +1 505 820 1648
F +1 505 989 1073
facss@facss.org
http://facss.org

ISC-2004: 25th International Symposium on Chromatography.

4 - 8 Octubre. 2004. Paris, Francia
Contacto:
MCI Manifestations et Communications Internationales
19, rue d'Athènes
F-75009, France
T +33 1 44 53 72 20
F +33 1 44 53 72 22
congres@mci-salons.fr
www.isc04.com

10th International Symposium on New Achievements in Chromatography.

12 - 14 Octubre. 2004. Opatija, Croacia
Organized by the Section for Chromatography of the Croatian Society of Chemical Engineers and supported by the Central European group for Separation Science
Contacto:
Croatian Society of Chemical Engineers
Berislaviceva 6
PO Box 123
HR-10000 Zagreb, Croatia
T +385 1 4672499
F +385 1 4672490
hdli@zg.tel.hr
www.hdki.hr

I Congreso Internacional de Laboratorios Agroalimentarios.

13 - 15 Octubre. 2004. Lugo, España
Contacto:
Secretaría Científica
Consellería de Sanidade
Delegación de Lugo
Laboratorio de Saúde Pública
Rúa Montevideo, 9
27071 Lugo
T +34 981 569 040
F +34 981 294 085
paloma.bellver.moreira@sergas.es
Secretaría Técnica
Viajes Atlántico
Plaza de Fuenterrabía, 3
15702 Santiago de Compostela
T +34 981 569 040
F +34 981 569 042
mailto:jcarlos@viajesatlantico.co
www.atlanticocongresos.com

SPICA 2004: International Symposium on Preparative and Industrial Chromatography and Allied Techniques.

17 - 20 Octubre. 2004. Aquisgrán, Alemania
Organizado por Dechema e.V., Frankfurt am Main
Contacto:
Conference Secretariat
DECHEMA e.V. Conference Secretariat
Ms Xueqing Wu
Theodor Heuss Alle 25
60486 Frankfurt am Main, Germany
T ++ 49 69 7564 152
F ++ 49 69 7564 176
wu@dechema.de
www.dechema.de/veranstaltung/SPICA2004/englisch/index.htm

ISPPP 2004: International Symposium on the Separation of Proteins, Peptides and Polynucleotides.

19 - 22 Octubre. 2004. Aquisgrán, Alemania
Organizado por Dechema e.V., Frankfurt am Main
Contacto:
Conference Secretariat
DECHEMA e.V. Conference Secretariat
Ms Heike Geiling
Theodor Heuss Alle 25
60486 Frankfurt am Main, Germany
T ++ 49 69 7564 280
F ++ 49 69 7564 176
wu@dechema.de
www.dechema.de/veranstaltung/SPICA2004/englisch/index.htm

LACE 2004: 10th Latin American Capillary Electrophoresis Symposium. Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchips Technology.

6-9 Noviembre. 2004. Toledo, España.
Contacto:
Juana Rodríguez Flores
Departamento Química Analítica y Tecnologia de Alimentos.
Universidad de Castilla-La Mancha.
Campus Universitario s/n. Ciudad Real 13071
T +34 926-295300-Ext. 3444
F +34 926-295318
juana.rflores@uclm.es
www.latince.com

21st (Montreux) Symposium on Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS, SFC-MS, CE-MS, MS-MS).

10 - 12 Noviembre. 2004. Montreux, Suiza.
Contacto:
Mrs. M. Frei-Häusler
IAEAC Secretariat
PO Box 46,
CH-4123 Allschwill 2, Suiza
T +41 61 481 2789
F +41 61 482 0805
iaeac@dplanet.ch
www.iaeac.ch

II Reunión Nacional de Espectrometría de Masas.

29 Noviembre - 1 Diciembre. 2004. Barcelona, España.
Contacto:
Secretaría
E. Moyano
Departamento de Química Analítica
Universidad de Barcelona
Diagonal 647
08028 Barcelona
T +34 93 402 12 86
F +34 93 402 12 33
secretaria@2rnem-bcn2004.org
www.2rnem-bcn2004.org

APCE 2004: The 5th Asia-Pacific Symposium on Microscale Separations and Analysis.

5-8 Diciembre. 2004. Seúl, Korea.
Contacto:
Chairman del Simposio
Jong Hoon Hahn
Pohang University of Science and Technology, Korea
Pohang University of Science and Technology
San 31 Hyojadong, Namgu, Pohang, SOUTH KOREA
T +82-54-279-2773
F +82-54-279-8365
hahn@postech.ac.kr
www.postech.ac.kr/chem/labbi/
Symposium Co-Chairmen
Bingcheng Lin
Dalian Institute of Chemical Physics, China
Yoshinobu Baba
University of Tokushima, Japan

SCM-2: 2nd International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules.

2 - 4 Febrero. 2005. Amsterdam, Holanda.
Contacto:
Secretaría del Congreso
Ordibo Bvba
Edenlan 26
B-2610 Wilrijk
Bélgica
T +32-58-523116 ó +323 828 8961
F +32-58-514575 ó +32 323 8262
scm@ordibo.be

CONGRESOS CELEBRADOS

17th International Symposium on Microscale Separations and Capillary Electrophoresis

Entre el 8-12 de Febrero de 2004 se celebró en Salzburgo (Austria) el 17th International Symposium on Microscale separations and Capillary Electrophoresis HPCE (2004).

El comité organizador estuvo presidido por el Prof. Wolfgang Lindner (Universidad de Viena) y el comité científico estuvo formado por 16 investigadores de reconocido prestigio internacional.

Previo al Symposium se realizaron 3 cursos especialmente enfocados hacia las técnicas utilizadas para el análisis proteómico destacando el uso de la cromatografía líquida multidimensional, el acoplamiento de las técnicas de microseparación con la espectrometría de masas y el uso de la electroforesis en un contexto industrial.

El congreso fue inaugurado el Lunes 9 de Febrero por el Prof.Wolfgang Lindler seguido de dos conferencias plenarias "Systems biology, a new discovery strategy and challenge for analytical sciences" por J.Van der Greef (TNO and Leiden University, Leiden, The Netherlands) y "The human brain proteome project" por H.E. Meyer (Medical Proteome Center, Ruhr-University Bochum, Bochum Alemania).

En la ceremonia de inauguración se entregaron los premios Halàsz para jóvenes investigadores otorgado a Yuji Tachibana (Japón).

Durante el congreso también se entregó el premio Michael Widmer al Prof. Barry L. Karger (Northeastern University, Boston, USA) por su carrera investigadora en el campo de las separaciones en microescala.

En cuanto al programa científico se dividió en tres sesiones dedicadas a proteómica, dos a análisis farmaceútico, marcadores biológicos y bioanálisis, dos a teoría y aspectos prácticos y una a metodologías enantioselectivas, principios de detección, genómica, separación en 2-D, sistemas biológicos y metaboloma, cerrándose la sesión con una interesantísima exposición sobre tendencias de futuro en estos campos de investigación.

También se realizaron dos mesas redondas, una con expertos de la industria farmaceútica que trató sobre la eterna discusión de la madurez de la electroforesis capilar para competir con la cromatografía en lo que se refiere a metodología a evaluar por las agencias reguladoras y la otra sobre biomarcadores donde se plantea la duda de si lo que consideramos como biomarcadores es real o si sólo es una parte muy pequeña de un todo, invitándonos a unir nuestros esfuerzos y conocimientos para poder descifrar esa gran imagen.

Por el número de conferencias y posters sobre proteómica se observó que sigue siendo la línea de investigación de mayor interés en cuanto a las aplicaciones de la electroforesis capilar.

También hay que destacar el interés general por la multidimensionalidad consiguiendo así un mayor conocimiento de la muestra en un solo análisis.

Se presentaron 244 posters en 4 sesiones a lo largo del congreso centrados en los temas principales de las conferencias, muchos de estos trabajos trataban del uso de microchips combinados con las técnicas clásicas de análisis.

También hay que señalar la participación de las casas comerciales, un total de 21, que exhibieron sus productos y novedades, habiendo también dos seminarios por parte de LC Packings-A Dionex Company y por Beckman Coulter, Inc.

Finalmente el congreso fue clausurado el día 10 de Febrero por la tarde donde se hizo entrega de los premios a las 3 mejores presentaciones en forma de poster y se invitó a los asistentes al Symposium a participar en los próximos congresos HPCE 2005 y 2006 que tendrán lugar en New Orleans y en Amsterdam respectivamente.

Beatriz Baena
Sección Química Analítica
Universidad San Pablo CEU
Madrid

LA IV REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SECYTA

IV Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA).
5-7 de Octubre de 2004, Universidad San Pablo-CEU
Campus Montepríncipe, Boadilla del Monte, Madrid

Invitación

En nombre del Comité Organizador nos gustaría invitar a la comunidad científica a la 4ª reunión de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines que tendrá lugar en Madrid del 5 al 7 de Octubre de 2004. La reunión pretende proporcionar un foro para el intercambio de conocimientos y tecnología entre científicos interesados en la cromatografía y técnicas relacionadas, así como en sus aplicaciones.

El Simposium cubrirá los aspectos fundamentales y aplicaciones de la cromatografía de gases, HPLC y electroforesis capilar y otras técnicas microanalíticas, analíticas y preparativas de separación, incluyendo la detección y preparación de muestras. Las aplicaciones se centrarán especialmente en el **análisis de alimentos**, **análisis farmacéutico y biomédico y análisis medioambiental**, dedicando sesiones monográficas a cada uno de esos temas.

Comité Científico

Joan Albaigés, Consejo Superior Investigaciones Científicas (CSIC, España)
Bert van Babel, Örebro University (Suecia)
Coral Barbas, Universidad San Pablo-CEU (España)
Albert van den Berg, University of Twente (Holanda)
Rainer Bischoff, Groningen University (Holanda)
Mª Dolores Cabezudo, Universidad Castilla La Mancha (España)
Bezhan Chankvetadze, Tbilisi State University (Georgia)
Alejandro Cifuentes, CSIC (España)
Jose Carlos Diez-Masa, CSIC (España)
Mercedes de Frutos, CSIC (España)
Mª Teresa Galcerán, Universidad de Barcelona (España)
Emilio Gelpí, CSIC (España)
Hortensia Iturriaga, Universidad Autónoma de Barcelona
Rosa Lebrón, CSIC (España)
Adela Velázquez, Agencia Española del Medicamento (España)

Comité Organizador

Coral Barbas, Universidad San Pablo-CEU (Presidenta)
F. Javier Rupérez, Universidad San Pablo-CEU (Secretario)
Antonia García, Universidad San Pablo-CEU
Elena Ibáñez, CSIC
Begoña Jiménez, CSIC
Mª Paz Martínez, Universidad San Pablo-CEU
Agustín Probanza, Universidad San Pablo-CEU
Luis Saavedra, Universidad San Pablo-CEU
Mercedes Torre, Universidad de Alcalá

Solicitud de resúmenes

Todos aquellos relacionados con cualquier aspecto de la cromatografía y técnicas afines están cordialmente invitados a participar activamente enviando resúmenes de comunicaciones para su presentación tanto oral como en forma de póster. Tanto la aceptación final como su forma dependerán del Comité Científico.

Los resúmenes deberían enviarse tan pronto como sea posible, pero siempre antes del **15 de julio de 2004**. Los resúmenes deben escribirse en INGLÉS y se enviarán a la Secretaría del Congreso: ivcongresosecyta@ceu.es. En la página web (www.uspceu.com/ivcongresosecyta) se encuentra el modelo del formato.

Para que los resúmenes se incluyan en el correspondiente Libro de Abstracts, al menos uno de los autores debe haber pagado la inscripción antes del 15 de septiembre de 2004.

Los resúmenes recibidos después del 15 de julio de 2004 se considerarán como “last minute posters” y no se garantiza su inclusión en el Libro de Abstracts.

En el texto del mensaje que acompañe al resumen, se debería indicar la preferencia respecto a la forma de presentación (oral o póster) y su asignación a una de las siguientes áreas:

Análisis de alimentos
Fundamental
Análisis Farmacéutico
Bioanálisis

Análisis medioambiental
Quimiometría
Nuevas Tendencias

Alojamiento

Información disponible en la página web del congreso: www.uspceu.com/ivcongresosecyta

Inscripción

	Antes 1.09.04	Después 1.09.04
Participantes[1]	380 €	410 €
Miembros SECyTA[1]	320 €	350 €
Miembros AEFI[1]	320 €	350 €
Estudiantes[1,*]	150 €	180 €
1 Día[2]	100 €	120 €

* Se deberá acreditar mediante carta del responsable de grupo
[1] Libro de abstracts, cafés, comidas y cena de gala incluidos
[2] Libro de abstracts, cafés y comida incluidos

Transferencia bancaria a:
BBVA
Pº San Francisco de Sales, 29. 28003-Madrid
C.C.C.: 0182/0972/15/0201507261

Fundación Universitaria San Pablo-CEU:
CIF: G-28423275
Deberá indicar claramente su nombre, añadiendo "Congreso Sociedad Española de Cromatografía"
ENVIAR POR E-MAIL O FAX LA COPIA DE LA TRANSFERENCIA

Para cualquier información adicional:

Página web del congreso:
www.uspceu.com/ivcongresosecyta
Secretaría:
ivcongresosecyta@ceu.es
Tel.: +34 91 37 24 711: Fax: +34 91 351 04 75

Fechas clave:

15 de Julio de 2004: Último día para envío de resúmenes
1 de Septiembre de 2004: Inscripción económica

NUEVOS SOCIOS

Mitjans Roca, David
Germans Martí, 10, 4º2ª
08760 MARTORELL (Barcelona)

Bermudo Rubio, Elisabet
Sicilia, 95, 1º3ª
08021 BARCELONA

Ramos López, José Miguel
Centro de Instrumentación
Univ. de Granada
Campus Fuentenueva, s/n
18071 GRANADA

Benavente Moreno, Fernando J.
Dpto. Química Analítica
Fac. Química (UB)
Diagonal, 647
08028 BARCELONA

Malavia Muñoz, Jessica
Grupo CECEM, Dpto. Quím. Analítica
Fac. Química (UB)
Diagonal, 647
08028 BARCELONA

Sánchez Navarro, Juan Manuel
Dpto. de Química
Univ. de Girona
Campus Montilivi, s/n
17071 GIRONA

Fabrellas Rodríguez, Begoña
Dpto. Combustibles Fósiles
CIEMAT
Avda. Complutense, 22, Ed. 20
28040 MADRID

Castro Rubio, Florentina
Dpto. Quim. Analít. e Ing. Química
Fac. Química, Univ. Alcalá
Ctra. A-2, Km. 33,600
28871 ALCALÁ DE HENARES (Madrid)

Castro Rubio, Asunción
Dpto. Quím. Analít. e Ing. Química
Fac. Química, Univ. Alcalá
Ctra. A-2, Km. 33,600
28871 ALCALÁ DE HENARES (Madrid)

Castro Puyana, María
Dpto. Quím. Analít. e Ing. Química
Fac. Química, Univ. Alcalá
Ctra. A-2, Km. 33,600
28871 ALCALÁ DE HENARES (Madrid)

Nozal Martínez, Leonor
Dpto. Química Analítica
Univ. de Córdoba
Campus Rabanales, Edif. Curie
14071 CÓRDOBA

Santos Luque, Bricio
Dpto. Química Analítica
Univ. de Córdoba
Campus Rabanales, Edif. Anexo C3
14071 CÓRDOBA

Hermo Outeiral, Mª Pilar
Dpto. Química Analítica
Fac. Química (UB)
Martí i Franquès, 1-11
08028 BARCELONA

Giménez López, Estela
Dpto. Química Analítica
Fac. Química (UB)
Martí i Franquès, 1-11
08028 BARCELONA

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 ESPAÑA, S.L.
  Avda. Encuartes, 19
  28760 TRES CANTOS (Madrid)
- THERMO ELECTRON CORPORATION
  Sepúlveda, 7 - A
  28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- WATERS CROMATOGRAFÍA, S.A.
  Ronda Can Fatjo, 7-A, 24
  Parc Tecnologic del Vallés
  08290 CERDANYOLA DEL VALLES (Barcelona)
- KONIK-TECH, S.A.
  Corregidor José de Pasamonte, 31
  28030 MADRID

ASOCIADAS

- AL AIR LIQUIDE ESPAÑA, S.A.
  Paseo de la Castellana, 35
  28046 MADRID
- ALFAQUIMIA, S.L.
  Santa Engracia, 43
  28010 MADRID
- BRUKER ESPAÑOLA, S.A.
  Av. de Castilla, 2 (P. E. San Fernando)
  28830 SAN FERNANDO DE HENARES (Madrid)
- GILSON INTERNATIONAL B.V.
  Apartado de Correos, 1075
  28830 SAN FERNANDO DE HENARES (Madrid)
- GOMENSORO, S.A.
  Aguacate, 15
  28044 MADRID
- INGENIERÍA ANALÍTICA, S.L.
  Carretera de Cerdanyola, 73
  08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS
  (Barcelona)
- IZASA, S.A.
  Aragoneses, 13
  Polígono Industrial Alcobendas
  28100 ALCOBENDAS (Madrid)
- MILLIPORE IBÉRICA, S.A.
  Avda. Llano Castellano, 13
  28034 MADRID
- SCHARLAB, S.L.
  La Jota, 86
  08016 BARCELONA
- Servicio y Mantenimiento de Técnicas Analíticas, S.A.L. (SYMTA, S.A.L.)
  San Máximo, 31
  28041 MADRID
- S.I.A. Enginyers, S.A.
  Monturiol, 16, baixos
  08018 BARCELONA
- S. E. DE CARBUROS METÁLICOS, S.A.
  Av. Matapiñonera, 9
  28700 S. SEBASTIÁN DE LOS REYES (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)
- VWR International - EUROLAB, S.A.
  Polígono Merck
  08100 MOLLET DEL VALLÉS
  (Barcelona)

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA

RESEÑA DE LIBROS

"Quality Assurance in Analytical Chemistry. Training and Teaching"
B.W. Wenclawiak, M. Koch, E. Hadjicostas (Eds.)
Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg) 2004
ISBN 3-540-40578-X

Este libro presenta el uso de las técnicas de Garantía de la Calidad que han logrado mejoras en la calidad de muchos productos y servicios. Estas técnicas están bien documentadas, en forma de guías y normas, y enfocadas hacia el área de medidas y pruebas, particularmente en análisis químico.

Aunque la formación de analistas en técnicas de Garantía de Calidad es una tarea importante para universidades y laboratorios industriales y públicos, el reciclaje resulta también necesario dado que la búsqueda de mejoras en la calidad parece no tener fin.

El objetivo de este libro es proporcionar el material didáctico en forma de diapositivas de PowerPoint, con apuntes sobre detalles de los contenidos de las mismas. Cada uno de los capítulos ha sido escrito por expertos en la materia, con experiencia directa en conferencias sobre, o en la utilización de, su contenido. Casi todos los aspectos de la Garantía de la Calidad están incluidos, desde fundamentos básicos como estadísticos, incertidumbre y trazabilidad, que se aplican a todos los tipos de medida, hasta directrices específicas sobre la validación del método, empleo de materiales de referencia y gráficos de control, siempre en el contexto de administración de la calidad total, certificación y acreditación. Cada capítulo es intencionadamente autónomo en contenidos, lo que inevitablemente conduce a alguna duplicación y se incluyen referencias a otros capítulossi existen tratamientos más detallados en los mismos.

Se incorpora un CD que contiene más de 700 diapositivas de PowerPoint, que pueden usarse para presentaciones sin, o con pocas, modificaciones y con una extensa lista de referencias sobre guías y normas que pueden consultarse para ampliar los apuntes de cada diapositiva. El uso del material de este libro podría ayudar a reducir, considerablemente, el tiempo y esfuerzo necesario para preparar presentaciones y material didáctico.

En cuanto a su contenido, además de dar información para los lectores y usuarios del CD, incluye un glosario de términos de Química Analítica, normas de acreditación, sistema de dirección de calidad, buenas prácticas de laboratorio, coste de la calidad, manual de calidad, Estadística básica (contraste de medias y varianzas), calibración y límites de detección (incluye una aplicación de Excel para los cálculos y gráficos), metrología en Química, resultados de trazabilidad de medidas analíticas, validación de métodos analíticos (selectividad y especificidad, límite de detección y de cuantificación, linealidad y rango de trabajo, exactitud, sensitividad, robustez y recuperación), incertidumbre en la medida, gráficos de control, materiales de referencia y ensayos entre laboratorios.

En su conjunto puede considerarse como un libro de texto avanzado para estudiantes de tercer ciclo y profesionales de la industria y laboratorios de servicio, del área de Química Analítica, interesados en la Garantía de la Calidad, y como texto de referencia y fuente de material didáctico para conferencias.

Pedro J. Martín-Alvarez
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)

"NMR-From spectra to structures. An experimental approach"
Terence N. Mitchell, Burkhard Costisella
ISBN 3-540-40695-6, Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg). 2004

La espectroscopía de RMN es una técnica muy versátil, que comprende numerosos y variados experimentos que proporcionan distinta información. Esta complejidad se traduce en la dificultad en la elección de los experimentos a realizar, así como en la interpretación de los espectros obtenidos, cuyos resultados, combinados apropiadamente, darán como resultado la estructura de la molécula. Este libro es una introducción a la práctica de la elucidación estructural de moléculas orgánicas mediante RMN. Es un libro sencillo, que escapa de los conceptos teóricos, para acercarnos directamente a la práctica.

El libro consta de dos secciones. En la primera, se describen los distintos experimentos de RMN que se pueden utilizar y se muestran espectros de moléculas modelo, que sirven para ilustrar, en cada uno de los casos, la información que se puede extraer de ellos. También se introducen conceptos relacionados directamente con la práctica de la RMN y se dan consejos prácticos. Se centra, sobre todo, en tres núcleos (^{1}H, ^{13}C y ^{31}P), e incluye experimentos mono- y bidimensionales. También se dedica una parte a la detección de ^{17}O y otra al acoplamiento HPLC-RMN. La segunda parte del libro consiste en una serie de problemas que se pueden realizar para ejercitarse en la interpretación de espectros, basándose en

un ejemplo que se encuentra al principio de la sección. Las soluciones a los problemas, se pueden conseguir escribiendo a los autores mediante correo convencional o electrónico.

Este libro es un complemento para aquellas personas que tengan conceptos teóricos básicos de la RMN (como desplazamiento químico, acoplamiento, relajación, efecto NOE), y es de utilidad para aquellos que se acercan por primera vez a la práctica de la RMN, para los que quieren ampliar sus posibilidades experimentales y para quién tenga curiosidad por conocer el tipo de información que se puede obtener de esta técnica.

Josefina Belloque
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)

La Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA) agradece a la editorial Springer-Verlag la amable cesión de los libros que aparecen reseñados en esta sección.

ARTÍCULOS DE INTERÉS

Las técnicas multidimensionales de separación de proteínas están cobrando un gran interés en los últimos tiempos debido fundamentalmente al desarrollo de la proteómica, ya que el estudio de las proteínas expresadas por una célula o un grupo de células en un momento o en unas condiciones determinadas necesita técnicas de separación con alto poder de resolución y el de una técnica de separación unidimensional puede ser insuficiente.
La técnica de separación multidimensional más usada hasta el momento ha sido la electroforesis bidimensional en geles (2D-electroforesis). Aún así existe mucha controversia sobre el uso o no de esta técnica debido a su alto coste, elevado tiempo de análisis y difícil automatización.

También se ha demostrado el aumento en el poder de resolución al acoplar técnicas cromatográficas (GC-GC, LC-GC, LC-LC), donde los problemas más importantes se presentaron a la hora de conseguir la ortogonalidad, la compatibilidad entre los métodos utilizados en una y otra dimensión y por último, y no por eso menos importante, en el desarrollo de interfases que conserven la separación obtenida en la primera dimensión durante la transferencia a la segunda que es de vital importancia en estos acoplamientos. Recientemente, se ha comenzado a explorar el acoplamiento de técnicas de separación basadas en la electroforesis capilar (CE), donde es previsible que la rapidez y automatización de la CE se una a la elevada capacidad de resolución de la 2D-electroforesis. Por estas razones la electroforesis capilar bidimensional (2D-CE) parece una técnica apropiada para el análisis de proteinas donde el alto poder de resolución es un factor imprescindible.

A continuación se revisan unos artículos interesantes sobre el desarrollo de sistemas de separación por 2D-CE.

"Fully Automated Two-dimensional Capillary Electrophoresis for High Sensitivity Protein Analysis"
David A. Michels, Shen Hu, Regine M. Schoenherr, Michael J. Eggertson, and Norman J. Dovichi
Molecular & Cellular Proteomics 1 (2002) 69-74.
Disponible en www.mcponline.org

En este artículo se presenta un sistema automático de separación por 2D-CE para el análisis de proteínas. Las proteínas, procedentes de la lisis de células HT29, son marcadas con un agente fluorogénico, 3-(2-furoil)quinolin-2-carboxialdehido, que al reaccionar con los residuos de lisina da un producto altamente fluorescente. Las proteínas marcadas son analizadas por CE submicelar a pH 7.5 en la primera dimensión. Conforme se van separando en la primera dimensión las fracciones son transferidas a la segunda donde se analizan por CE submicelar a pH 11.1. Aunque el mecanismo de separación en ambas dimensiones sea el mismo, los perfiles de separación conseguidos a pH 7.5 y pH 11.1 son diferentes para las proteínas analizadas por lo que se mantiene una cierta ortogonalidad entre las dos dimensiones.

La inyección de la muestra (≈ 5 nl) en la primera dimensión es hidrodinámica mientras que la transferencia de las fracciones de una dimensión a otra y la separación dentro de éstas se realiza controlando por ordenador dos fuentes de alto voltaje. La transferencia de la primera dimensión a la segunda es "a ciegas", todo lo que hay en el capilar es transferido a la segunda dimensión donde se realiza la detección.

Uno de los puntos a destacar en este artículo es el diseño de la interfase de acoplamiento entre la primera y segunda dimensión. Esta interfase consiste en un adaptador en cruz construido en lexan donde quedan alineados los dos capilares de separación y los dos capilares de entrada y salida de buffer.

VERTEX

Compromiso de Calidad

Tecnología Reagent-Free IC: La Cromatografía Iónica sin reactivos

UTILICE SÓLO AGUA DESIONIZADA PARA LA

GENERACIÓN AUTOMÁTICA DE ELUYENTES

Reagent-Free™ IC

NUEVOS MODELOS DIONEX

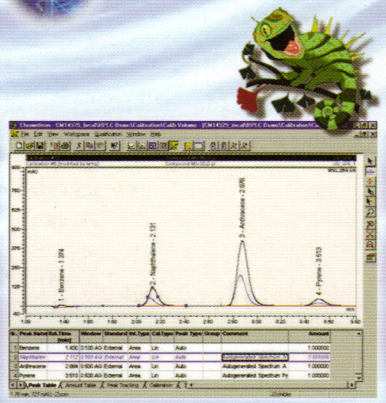
DIONEX

EL FUTURO DE LA CROMATOGRAFÍA IÓNICA

HPLC · SUMMIT

- Ahorro de tiempo, trabajo y coste.
- Mejora de la reproducibilidad.
- Rango más amplio.
- Mayor sensibilidad.
- Gradientes de forma fácil y de rutina.

CHROMELEON® 6



- Incluido en el NUEVO CATÁLOGO gratuito de Analítica y Técnicas Preparativas VERTEX 2004

VERTEX Technics, S.L.

Barcelona 93 223 33 33 · Madrid 91 324 00 14 · Bilbao 94 447 19 99 · Valencia 96 348 90 92 · A Coruña 981 53 66 46

93 223 22 20 vertex@vertex.es · S.A.T. Asistencia Técnica 902 19 97 92

La detección se lleva a cabo por fluorescencia inducida con láser en una cubeta de sheath flow consiguiendo una sensibilidad extraordinaria, (LOD 10^{-13} M)

Las principales ventajas de este sistema son: i) el uso de electroforesis capilar en ambas dimensiones elimina el uso de válvulas, bombas y grandes volumenes de muestra y disolventes necesarias en cromatografía, ii) la transferencia de fracciones de un capilar a otro es completa, eliminando pérdidas en interfases, iii) una vez inyectada la muestra, la separación es automática y simultánea en ambas dimensiones en contraposición a la 2D-electroforesis. La limitación más importante de este sistema es que el detector de fluorescencia ofrece una baja información sobre la identidad de las proteínas.

"Two-dimensional Capillary Electrophoresis Involving Capillary Isoelectric Focusing and Capillary Zone Electrophoresis"

Chun Yang, Lingyi Zhang, Hechun Liu, Weibing Zhang, and Yukui Zhang

Journal of Chromatography A 1018 (2003) 97-103.

Disponible en www.sciencedirect.com

En este artículo las técnicas utilizadas para el desarrollo del sistema de 2D-CE son isoelectroenfoque capilar (cIEF) en la primera dimensión y electroforesis capilar en zona libre (CZE) en la segunda. En este caso se utiliza una sola fuente de voltaje para ambas dimensiones y tres electrodos, de los cuales, uno hace de cátodo compartido. Las dos dimensiones se unen a través de una interfase de diálisis que consta de una fibra hueca fijada en un recipiente de metacrilato y un hilo de platino que se introduce en el recipiente como electrodo (cátodo compartido). Las ranuras que quedan se sellan con cianoacrilato para que no se produzcan fugas. En los dos extremos de la fibra hueca se fijan fuertemente los capilares de separación, teniendo cuidado de que los diámetros internos queden alineados con el hueco de la fibra para que el volumen muerto sea mínimo. La zona enfocada en la primera dimensión es conducida a la interfase de diálisis por el flujo electroosmótico (EOF) y movilización química desde el ánodo de la primera dimensión al cátodo compartido. En la interfase de diálisis las moléculas con carga neta cero, enfocadas en la primera dimensión, se recargan de acuerdo al pH del buffer usado en la segunda. Una vez en la segunda dimensión, la separación en zona libre se lleva a cabo con el EOF invertido gracias a la adsorción de un surfactante catiónico en las paredes del capilar. La detección se realiza por absorbancia ultravioleta-visible.

La fiabilidad y el alto poder de resolución de la técnica se ilustra con una separación de ribonucleasa de páncreas bovino obteniendo dos picos claramente diferenciados, mientras que, por cIEF y CZE por separado sólo se obtenía uno.

La reproducibilidad de este sistema es aceptable, obteniéndose RSDs para los tiempos de migración, en seis inyecciones de ribonucleasa, de 2,7% para el primer pico y de 3,1% para el segundo.

"A Prototype Two-Dimensional Capillary Electrophoresis System Fabricated in Poly(dimethylsiloxane)"

Xiaoxi Chen, Hongkai Wu, Chengde Mao, and George M. Whitesides.

Analytical Chemistry 74 (2002) 1772-1778.

Disponible en www.sciencedirect.com

En este artículo se describe cómo realizar una separación 2D-electroforética en formato capilar, para lo que se crean canales a modo de capilar en placas de polidimetilsiloxano (PDMS). La separación en la primera dimensión se realiza por isoelectroenfoque en un canal horizontal aislado físicamente de los canales donde se producirá la segunda separación por tamaño molecular. La segunda dimensión consta de varios canales dispuestos perpendicularmente al canal de la primera dimensión y paralelos entre sí. Para conseguir esta distribución 3D se utilizan capas de PDMS que gracias a su naturaleza elastomérica permiten la conexión reversible entre ellas, pudiendo desconectar la primera dimensión de la segunda a conveniencia. Una vez que se ha producido la separación en la primera dimensión, las bandas de proteína son transferidas a los canales de la segunda por medio de unas aberturas, realizadas en el canal horizontal, que durante la separación en la primera dimensión estaban selladas para evitar pérdidas de proteína y difusión de bandas. Esto no sería posible en un formato capilar convencional donde las proteínas sólo podrían pasar de la primera dimensión a la segunda por los extremos del capilar.

Para demostrar la fiabilidad del sistema se usa una mezcla de proteínas que contiene anhidrasa carbónica, seroalbúmina bovina y ovoalbúmina. Los principales inconvenientes de este sistema son la difícil miniaturización y automatización. Aún así supone un avance importante para el diseño de sistemas multidimensionales de separación.

Mª Pilar Lara-Quintanar
Instituto de Química Orgánica (CSIC)

Si desea hacerse socio de la SECyTA rellene y envíe el siguiente boletín de inscripción, acompañado de la correspondiente autorización bancaria a:
Dra. Mercedes Torre
Departamento de Química Analítica e Ingeniería Química
Facultad de Química. Universidad de Alcalá
28871-Alcalá de Henares, Madrid
E-mail: mercedes.torre@uah.es
Cuota año 2004: 30 €

☐ Señale la dirección en la que desea recibir la correspondencia y si desea que su e-mail aparezca en la página web de la SECyTA

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

☐ Autorizo a incluir mi correo electrónico en la web de la SECyTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

HOJA DE INSCRIPCION

Apellidos ..... Nombre .....
Domicilio particular:
☐ 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, ruega 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.
Atentamente le saluda,

Firma

Por favor, rellene los datos bancarios en el formato:
/_ _ _ _/_ _ _ _/_ _/_ _ _ _ _ _ _ _ _ _/
Entidad Oficina D.C. Número de cuenta

NOVEDADES TÉCNICAS

Agilent Technologies
Innovating the HP Way

AGILENT TECHNOLOGIES PRESENTA UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS CON TRAMPA DE IONES DE SENSIBILIDAD CUATRO VECES MEJORADA.

La compañía ofrece software de cumplimiento para su familia de MS con trampa de iones

GINEBRA, Suiza, 31 de marzo de 2004. Agilent Technologies Inc. (NYSE: A) presentó hoy a modo de "buque insignia" un espectrómetro de masas (MS) con trampa de iones que es cuatro veces más sensible que su predecesor. El LC/MSD Trap XCT Plus mejora el rendimiento en un amplio rango de aplicaciones tales como del desarrollo de fármacos y la identificación de biomarcadores para investigación en enfermedades. Incorpora una nueva tecnología de detección y procesos de fabricación mejorados para conseguir una especificación de sensibilidad de 250 femtogramos para la reserpina.

"Nuestro objetivo es elevar de forma continua la sensibilidad y resolución de nuestros productos de trampa de iones", declaró Ken Imatani, gerente de marketing de productos para la línea de espectrómetros de masas con trampa de iones de Agilent. "No es necesario renunciar a las ventajas inherentes a la tecnología de trampa de iones no lineal para conseguir una mayor sensibilidad".

Se prevee incorporar el LC/MSD Trap XCT Plus a las soluciones Agilent para identificación y caracterización de proteínas de alto rendimiento.

Agilent presentó asimismo su software LC/MSD Trap Security Pack 1.0 para la familia de MS con trampa de iones de Agilent. Dicho software cumple los criterios de la norma 21 CFR Parte 11 de la Food and Drug Administration (FDA) estadounidense y las normativas asociadas de Prácticas Recomendadas de Laboratorio y Prácticas Recomendadas de Fabricación. Facilita el uso de los espectrómetros de masas con trampa de iones Agilent en el descubrimiento y desarrollo de fármacos así como en otros procesos regulados.

El software LC/MSD Security Pack, compatible con los sistemas operativos Microsoft® Windows® 2000 y Windows XP, incluye las características siguientes:

- Almacenamiento de todos los metadatos y registros de auditoría para una plena trazabilidad
- Acceso al sistema restringido mediante contraseñas de protección y la desconexión temporizada de la aplicación
- Sencilla gestión de usuarios para la rápida configuración de operadores, contraseñas y derechos
- Protección de los registros electrónicos para su recuperación durante el período de retención de los mismos, incluyendo versionado de resultados de modo que no se sobrescriban los resultados procesados
- Seguimientos de auditoría seguros, con sello temporal e independientes del usuario, donde se registran todos los eventos del sistema y las acciones de los usuarios
- Comprobaciones operativas del sistema para forzar el secuenciado permitido de pasos y eventos cuando sea necesario
- Firmas electrónicas utilizando el nombre de usuario y la contraseña

Además, Agilent ofrece servicios de validación del sistema para garantizar la exactitud y fiabilidad de sus espectrómetros de masas con trampa de iones, incluyendo cualificación de la instalación (IQ) y cualificación operacional/verificación del rendimiento (OQ/PV).

Disponibilidad

Se espera que el espectrómetro de masas con trampa de iones Agilent Serie 1100 LC/MSD Trap XCT Plus esté disponible en julio de 2004. Se espera que el software LC/MSD Trap Security Pack 1.0 de Agilent esté disponible en abril de 2004.

AGILENT TECHNOLOGIES PRESENTA UN SISTEMA DE DATOS PARA GC/MS CAPAZ DE SATISFACER LOS REQUISITOS DE LA NORMA 21 CFR PARTE 11 DE LA FDA

CHICAGO, PITTCON, 8 de marzo de 2004. Agilent Technologies Inc. (NYSE: A) presentó hoy su MSD Security ChemStation, el primer sistema de datos para cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) de Agilent que contempla todos los requisitos de la norma 21 CFR Parte 11 de la FDA para un sistema cerrado. El nuevo software facilita el uso conforme de GC/MS en entornos farmacéuticos.

Con la introducción de este nuevo software ChemStation, Agilent cuenta con soluciones de cumplimiento para todas sus principales plataformas analíticas

de uso en la industria farmacéutica, incluyendo GC, GC/MS, cromatografía líquida (LC), LC/MS, electroforesis capilar (CE), CE/MS y espectroscopía UV/Vis.

La nueva MSD Security ChemStation ofrece funciones de productividad y soporte del cumplimiento para dar respuesta a los requisitos de seguridad, integridad y trazabilidad de los datos de la norma 21 CFR Parte 11 de la FDA. El software incluye funciones de versionado de los resultados y gestión de versiones, seguimientos de auditoría automáticos e independientes del usuario, y capacidades de firma electrónica para registros electrónicos. El acceso a la aplicación está protegido mediante la introducción obligatoria de un código de identificación del usuario y una contraseña. Los registros electrónicos generados por la aplicación se almacenan siempre junto con todos los datos originales, metadatos y resultados relacionados.

El software incluye búsquedas automáticas e interactivas en librerías para la confirmación adicional de los resultados. Es posible almacenar los datos en soportes duraderos usando la herramienta de archivo de datos incorporada. La función de archivo integrada es un modo práctico de archivar datos electrónicos asegurando la integridad de los datos y manteniendo su plena trazabilidad.

La MSD Security ChemStation de Agilent soporta todos los GCs Serie 6890 y MSDs Serie 5973 de Agilent. El nuevo software es compatible con Microsoft® Windows® 2000 y Windows XP, y se integra sin problemas en los entornos de IT existentes. Utiliza la funcionalidad de administración de usuarios estándar en Windows, aprovechando todas las políticas de seguridad y auditoría de Windows.

Los servicios de cualificación GC/MS de Agilent se han ampliado para incluir dentro de su ámbito el nuevo software. Los servicios de IQ (cualificación de la instalación) y OQ/PV (cualificación operacional/verificación del rendimiento) ayudan a los clientes a validar la correcta instalación y operación de sus sistemas GC/MS Agilent.

La MSD Security ChemStation de Agilent se encuentra disponible en todo el mundo. Para clientes que ya dispongan de una MSD Productivity ChemStation, Agilent ofrece la actualización puntual a MSD Security ChemStation a precio reducido.

AGILENT TECHNOLOGIES ACTUALIZA SU SOFTWARE PARA INVESTIGACIÓN PROTEÓMICA BASADA EN ESPECTROMETRÍA DE MASAS

GINEBRA, Suiza, 29 de marzo de 2004. Agilent Technologies Inc. (NYSE: A) presentó hoy una actualización mayor de su software Spectrum Mill Workbench para MS proteómica. La nueva versión mejora el rendimiento del software y su sencillez de uso en un amplio rango de aplicaciones proteómicas.

Spectrum Mill Workbench es un protocolo de herramientas de software para la identificación de proteínas a partir de datos de espectrometría de masas (MS) con la máxima fiabilidad, la determinación de niveles de expresión de proteínas y la correlación de datos procedentes de múltiples muestras o experimentos. Incluye funcionalidad avanzada de búsqueda y extracción de datos que agiliza enormemente la identificación de proteínas y reduce el número de falsos positivos. El software puede procesar datos procedentes de espectrómetros de masas tanto de Agilent como de otros proveedores.

Esta actualización incluye las siguientes funciones solicitadas por los clientes:

- Soporte de la base de datos de proteínas International Protein Index (IPI)
- Identificación de modificaciones adicionales de los aminoácidos, como la perdeuterometilación
- Soporte del nuevo reactivo Agilent de marcado de masas específico para la lisina, que mejora la identificación de proteínas mediante MS con ionización/desorción láser asistida por matriz
- Soporte de datos de “huellas dactilares” de masas de péptidos (PMF) obtenidos con el espectrómetro de masas de tiempo de vuelo Agilent
- Modo de puntuación de mezclas PMF para una alta confianza en la identificación de proteínas a partir de mezclas de digestión multicomponentes.
- Tolerancia de la masa dinámica para compensar el error en la masa de datos procedentes de instrumentos con calibración externa
- Integración con el sistema informático Synapsia de Agilent, permitiendo a los usuarios de Synapsia importar informes resumen de proteínas del software Spectrum Mill Workbench

La nueva versión del Spectrum Mill Workbench para MS proteómica soporta los sistemas operativos de Microsoft® Windows® Server 2003 y Windows 2000 Server.

KONIK-TECH: EVOLUCIÓN TECNOLÓGICA EN SUS 25 AÑOS DE EXISTENCIA
por Josep M. Gibert

25 años de cromatografía española proyectada internacionalmente.

KONIK-Tech es una firma de capital 100% español, ubicada en Sant Cugat del Vallès, Barcelona, que desde 1978 viene desarrollando equipos de cromatografía, sistemas de preparación e introducción de muestras y, mas recientemente, espectrometría de masas. En el proceso KONIK se ha convertido en la única firma europea, y en una de las 6 que a nivel mundial ofrecen una línea completa de HRGC, HPLC, Robótica y Masas, todos ellos de su propio diseño y fabricación que exporta a 70 países. El Grupo fue fundado por el Dr. Josep M. Gibert, cuya trayectoria profesional se resume en la nota al pie.

En 1978 KONIK presentó el primer cromatógrafo de gases de fabricación española, seguidos del primer HPLC en 1985, el primer Inyector automático multimodal (Espacio de Cabeza, Purga y Preconcentración, y SPmE entre otros modos), en 1997, y el primer espectrómetro de masas cuadrupolar el 2002,... Durante 2004 KONIK introducirá el nuevo HPLC 600 de características innovadoras con objeto de potenciar el Sistema Multidimensional HPLC+HRGC K2, fruto de la explotación de la patente de la interfase TOTAD que KONIK ha licenciado al consorcio CSIC, U. De Castilla La Mancha y U. De Alcalá de Henares. KONIK-Tech tiene en desarrollo un ToF multimodal para cromatografía ultrarrápida y equipos híbridos MS-MS

La estrategia seguida por KONIK ha pivotado sobre tres grandes ejes,

1. Innovación / investigación, lo cual la ha convertido en una de las seis firmas que a nivel mundial ofrecen una línea completa de cromatógrafos (HRGC y HPLC) y Sistemas Combinados a Espectrómetros de Masas, y a su vez en la única que dispone de robótica de su propio diseño y fabricación, y la única que ofrece un sistema (patentado) HPLC+HRGC con el que se están desarrollando innovadores métodos de análisis (Ej. Residuos de plaguicidas en aceites por inyección directa en el HPLC)
2. Internacionalización. KONIK ha pasado a ser una compañía netamente exportadora que en la actualidad tiene equipos instalados, en funcionamiento, en 70 países... lo que supone el 92% de su cifra de negocios, y
3. Calidad, precio y servicio para proyección al mercado de la satisfacción de todos los clientes.

La "modularidad" de los KONIK los convierten en equipos de prestaciones únicas

El diseño de todos los equipos KONIK, generación tras generación, en módulos independientes de medidas normalizadas, garantiza una modernización permanente y en consecuencia la mínima obsolescencia del conjunto.
KONIK diseña teniendo en mente las compañías y países en desarrollo, y todas las Universidades y Centros de Investigación que no se pueden permitir altos niveles de obsolescencia, así como tampoco renunciar a las nuevas prestaciones y especificaciones que derivan del continuo proceso de innovación de las tecnologías que subyacen en los equipos analíticos.

Diseños originales KONIK y prestaciones únicas

La visión de KONIK ha ido en muchas ocasiones a contracorriente de las tendencias impuestas por las firmas líderes del sector... y en otras KONIK ha aportado soluciones totalmente originales a problemas conocidos por todos, creando sus propios productos. Resistiéndose a la tentación de imitar, cada producto se diseña con un triple objetivo, lo que ahora se ha dado en llamar "visión". Esta visión es la esencia de la filosofía de KONIK,...de los KONIK,...

1. los equipos deben ser íntegramente modulares, para facilitar y reducir el costo de reparaciones y ampliaciones, a la vez que minimizar al máximo su obsolescencia,
2. deben controlar los parámetros básicos que rigen los procesos separativos y de identificación molecular con la máxima precisión, para conseguir las mejores especificaciones, máxima reproducibilidad y mínimos niveles de detección, garantizando la integridad de la muestra, y por último,
3. deben aportar el máximo poder analítico y automatización, que facilite acceder al estado de la técnica en cada momento, al menor costo.

Principales resultados del Programa de i+I+D de KONIK a lo largo de estos 25 años.

A. HRGC. Desde 1978 KONIK ha producido ocho generaciones de equipos,

en los que se han introducido, entre otras, las siguientes innovaciones relevantes:

1. El inyector KONIK totalmente estanco, libre de purga de septum del que se está en proceso de solicitud de una nueva patente. En un test comparativo que llevó a

término BASF en Ludwigshafen (Sres. Lehner y Krüger), entre el KONIK HRGC 4000 y dos equipos de proveedores alternativos se evidenció que el KONIK, merced a su combinación inyector / horno, proporcionó los mejores resultados tanto de la fracción más volátil (no observaron ninguna discriminación), como de la más pesada (nunca antes habían obtenido algunos de los compuestos de mayor peso molecular "perdidos" en los otros dos sistemas comparados).

2. El Horno de baja inercia térmica que le convierte en el único que visualiza la décima de grado centígrado, cinco grados por encima de la temperatura ambiente.
3. Neumática digital basada en controladores digitales de presión y flujo másico, diseñados específicamente por KONIK, para los gases y rangos de flujos utilizados en cromatografía. Con los mismos se obtiene en rutina, junto con el inyector y horno, RSD's de los tiempos de retención incluso inferiores a 0,05%, amén de efectuar rampas de flujos simultáneamente a las de temperatura, con lo cual se puede llevar a término cromatografía rápida en un equipo "convencional", y
4. Flexibilidad para adaptar cualquier sistema de válvulas (hasta 6) y de esta forma desarrollar equipos híbridos, cromatografía multidimensional y "la ingeniería de soluciones llaves en mano" a cualquier problema.

Foto 1 del Primer cromatógrafo de Gases de Fabricación Española (1978)

B. HPLC. Desde 1985 "State-of-the-Art from Spain"

En HPLC KONIK fue la primera empresa en desarrollar y ofrecer un sistema de gradientes cuaternarios a baja presión con un nivel mínimo de pulsaciones (Waters y la mayor parte de las demás compañías ofrecían formación de gradientes con dos bombas con mezcla a alta presión). KONIK utilizó una bomba patentada de doble pistón asíncrono, en la que los cilindros se conectan en serie, con la cual se mantiene el suministro de fase móvil libre de pulsaciones. El sistema fue tan innovador y conveniente para acoplamiento a masas que VG, una empresa líder en masas en aquel momento seleccionó a KONIK como la mejor alternativa para las interfases "termospray" que acababan de desarrollar. De hecho el icono de acoplamientos a HPLC en el software de VG mimetizaba el KONIK HPLC 500. Además el K500 HPLC ofreció de forma pionera un horno de columnas y un sistema automático de conmutación de columnas y detectores, en un chasis modular normalizado en la línea de KONIK. El K500 HPLC fue el primer producto que KONIK diseño directamente pensando en el mercado internacional. El K600 HPLC ha sido diseñado para aunar las exigencias del Sistema HPLC+HRGC y el microelectrospray HPLC+MS.

Foto 2 del Primer KONIK HPLC en su presentación en Asia (Singapur) en 1985

C. RoboKrom desde 1997.

La contribución de KONIK al desarrollo de la Robótica, imprescindible en cualquier laboratorio, se ha centrado en el RoboKrom, un robot con movimiento en las tres ejes (x,y,z) que permite 7 modos operativos incluyendo Inyección Directa en HRGC y HPLC, HS, P&T, y SPME entre otros. En realidad es una estación de microquímica completa que permite micro-reacciones y micro-concentraciones controladas abriendo nuevas dimensiones, y finalmente,

D. Desde 2002 en Masas.

El esfuerzo innovador de KONIK se ha centrado en potenciar la "multi-modalidad" rediseñando la arquitectura y las plataformas básicas de todos los equipos. El detector de masas se ha convertido como era previsible en el detector de elección. En su desarrollo KONIK se vio alentada por el hecho de conocer a fondo las técnicas en las que, en el Grupo, ya se había trabajado extensamente (véase nota al pie).

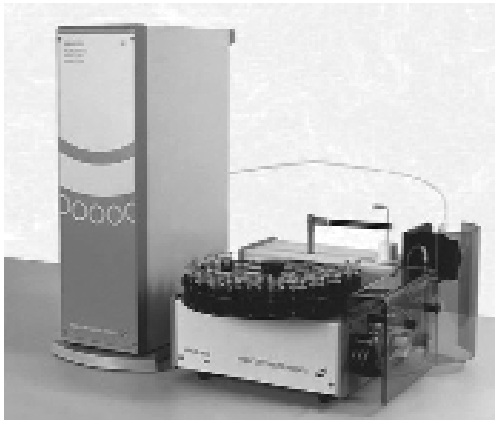
KONIK ha desarrollado en Espectrometría de Masas una nueva generación de cuadrupolos multimodales de sobremesa, compactos, en los que se ha innovado la tecnología de vacío en colaboración con Alcatel, (actualmente Adixen de los que KONIK es representante exclusivo para España), con objeto de facilitar el intercambio rápido de fuentes y modos de ionización y por lo tanto los acoplamientos HPLC y/o HRGC y/o DIP. En la electrónica se han incorporado PCs micro embebidos y FPGAs de última generación que facilitan el control remoto de los equipos desde cualquier lugar del mundo, para su rápido diagnóstico, volcado de métodos, cromatogramas, espectros, actualizaciones de software, etc.

Foto 3 Inauguración del nuevo Centro KONIK de i+I+D

El pasado 28 de Noviembre coincidiendo con la celebración de su 25 aniversario KONIK-Tech inauguró con la presencia del Honorable Conçeller d'Industria de la Generalitat de Catalunya y el Alcalde de Sant Cugat el nuevo Centro de i+I+D (momento que recoge la foto). La plantilla del Centro la constituyen unas 30 personas entre las que se encuentran 5 doctores y 15 ingenieros. Entre el Conçeller y el Dr. Gibert el joven Ingeniero Roger Gibert, Director Técnico de KONIK-Tech.

Nota: El Dr. J.M.Gibert es Ingeniero Químico de Sarriá, donde ya en 1967 trabajó con el Prof. Miquel Gassiot exPresidente del SECyTA, y realizó su tesis doctoral en la Universidad de Houston bajo el Prof. Joan Oró y en estrecha colaboración con el Dr. Albert Zlatkis. Tuvo la inmensa suerte de que en el 1968 le pusieran al cargo de los equipos (lo que implicaba implicarse en su mantenimiento preventivo) del Laboratorio de Análisis Biomolecular de la Universidad entre los que se encontraba la joya de la corona, un Sistema Combinado CG-EM LKB9000 que la NASA había financiado a la Universidad el cual utilizó para los análisis de las muestra de la Luna de los Apolo 11 al 17. Entre 1972 y 1977 fue Profesor Agregado del Dpto. de Química Analítica de la UAB y de Investigación en el IBF.
Por su parte KONIK-Tech había sido representante del Grupo VG durante mas de 10 años, así como de Edwards, y de Tekmar, cada una de las mismas líderes en su especialidad. Anecdóticamente las propiedades del Tenax, base de las trampas de Purga y Preconcentración, y de todos los P&T, como la propia Tekmar recoge en sus publicaciones (así como de la interfase patentada HPLC+HRGC "Totad"), fueron "descubiertas" en el mismo laboratorio por el Dr. H. Lichstenstein compañero de equipo con Gibert del tandem Oró-Zlatkis.

Gomensoro S.A.



La compañía Alemana MERCURY INSTRUMENTS representada por GOMENSORO, S.A. presenta su nuevo **Analizador de Mercurio para laboratorio, "AULA ASD GOLD TRAP"**, sistema completo con cambiador de 53 muestras con sistema de digestión en continuo de muestras liquidas para analizar el mercurio total (iónico, elemental y molecular).

La gran ventaja es el sistema de digestión de muestras en línea de forma automática mediante adición independiente con dos bombas peristálticas de tres canales de ácido, permanganato y muestra a un loop en caliente a 95º C y posterior reducción del exceso de oxidante con cloruro de hidroxilamina, reducción del mercurio iónico a elemental con cloruro de estaño II y detección por (CVAAS) UV a 253,7 nm.

Muy económico de mantenimiento. El consumo de reactivos para 100 análisis es de: 2 a 10 gr. de reactivos y 5 litros de agua desionizada.

Gran sensibilidad en medidas reales con un rango de medida ajustable desde: 0,001 –10 ug/l (0,1ppt...10ppm) para 10 ml de muestra y con un limite de detección <1 ng/l

El principio de la medida es el conocido método de vapor frío y absorción UV mediante espectrofotometro UV MI (VM-3000 detector) con lampara de mercurio de gran duración sin electrodos, longitud de onda de 253,7 nm. Y unidad de Trampa de Oro incorporada con calentamiento y válvula.

El sistema de preconcentración con Trampa de Oro mejora sensiblemente los limites de detección <1 ng/l. Utilizando reactivos ultra puros y siguiendo las directrices para análisis de ultra trazas se pueden medir concentraciones desde 1 ppt a 5000 ppt (Norma EPA método 245-7 o método 1631).

La versatilidad del equipo para cualquier aplicación hace que se pueda trabajar con o sin preconcentración con trampa de oro dependiendo del rango de concentración que se quiera trabajar sin necesidad de manipulación, solamente indicándolo vía software.

NOVEDAD EN ANÁLISIS QUÍMICO AUTOMÁTICO

SISTEMA INTEGRAL FUTURA DE LA FIRMA ALLIANCE INSTRUMENTS, REPRESENTADA EN ESPAÑA POR GOMENSORO INSTRUMENTACIÓN CIENTIFICA.

El **INTEGRAL FUTURA**, es un analizador automático de flujo continuo de 3ª generación dotado de una moderna electrónica y computador para manejo de datos y control total del sistema.

Con un diseño modular, los canales analíticos son totalmente autónomos, dotados de todos los elementos necesarios para cada determinación química requerida, integrado en consolas separadas.

Implementado con un computador se obtienen informes completos de resultados y gráficos de acuerdo con requerimientos GLP.

El extensor campo de aplicaciones incluye métodos para todo tipo de aguas, enología, cervecería y maltería, suelos y plantas, piensos y m. primas, carne y derivados, lácteos, etc.

METROHM: NUEVO CATÁLOGO DE APARATOS

Metrohm es el único fabricante de aparatos en el mundo que cubre todos los métodos más importantes sobre el análisis de iones:

- Titración (potenciométrica y KF).
- Polarografía / Voltametría
- Cromatografía Iónica.

Pero hay más:

Metrohm también fabrica otro tipo de aparatos para los laboratorios actuales:

Medidores de pH, ionómetros, conductímetros, rancimat, sistemas para dosificación y manipulación de líquidos (buretas automáticas), así como una gama amplísima de productos para solucionar cualquier tipo de automatización. Además, produce electrodos para muchas aplicaciones totalmente diferentes.

Información completa:

En éste catálogo de 124 páginas, Metrohm presenta el programa completo de instrumentos para el análisis iónico, ordenado por grupos de productos. La información a través de pictogramas facilita la orientación y localización rápida del instrumento requerido. Los numerosos detalles de los productos son también muy prácticos, nos facilitan la información de las características comunes y diferencias entre instrumentos de la misma familia. De ésta manera Vd., por ejemplo, puede comparar de un vistazo, los diferentes modelos de Titrandos, Procesadores de Muestras, Sistemas de Cromatografía Iónica, etc..

¿Qué son los "MATi", "MVA", "MIC"?:

En el nuevo catálogo de instrumentos, Vd. también encontrará nuestros Sistemas llamados MATi, MVA y MIC. Son sistemas predefinidos que están preparados para el uso inmediato según las aplicaciones específicas para las que han sido diseñados, en los sectores de automatización de titraciones, voltametría o cromatografía iónica. Metrohm ofrece soluciones reales para la automatización en los laboratorios.

Para mayor información póngase en contacto con:
GOMENSORO, S.A.
C/ Aguacate, 15. 28044 MADRID
Tlf: 91 508 65 86. Fax: 91 508 65 11
Email: ventas@gomensoro.net

VERTEX
Technics S.L.

DIONEX: NUEVO SISTEMA DE DOBLE GRADIENTE EN HPLC Y LC-MS (SUMMIT DUAL-GRADIENT HPLC & LC-MS SYSTEMS)

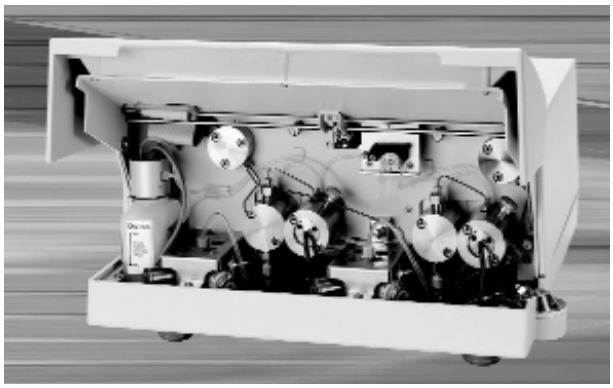
DIONEX ha ideado un sistema para aquellas aplicaciones que requieran el uso de dos bombas, dos columnas,…

- Preparación de muestra en línea para eliminar la interferencia de la matriz de la muestra, así como el enriquecimiento o concentración de la muestra.
- Aplicaciones con doble columna con regeneración off-line de la columna.
- Cromatografía 2-D

Las características que ofrecen esta capacidad y flexibilidad al sistema son:

- Bomba de doble gradiente en baja presión, que incorpora dos bombas de gradiente ternario en baja presión en un único módulo.

Modelo P-680A DGP-6 DUAL GRADIENT



- Bandeja para eluyentes con desgasificación para seis canales incorporado.

Modelo SOR-100

- Horno de columnas con válvula de dos posiciones y diez puertos, asociado al ahorro de tiempo de reequilibrio de la columna después de un gradiente.

Modelo TCC-100

AUMENTA EL RENDIMIENTO PARA UN MISMO MÉTODO

Permite efectuar cualquier técnica cromatográfica que requiera dos columnas, cambio automático de columna, sin la interrupción del análisis, de manera que se incrementa la productividad en un 60% o más.

La bomba de doble gradiente P680, la válvula versátil del horno TCC-100 y la flexibilidad del automuestreador automático ASI-100, permiten trabajar con HPLC aumentando el rendimiento.

Los laboratorios de Desarrollo farmacéutico, de Control de Calidad y otros deben procesar una gran cantidad de muestras y se pueden beneficiar en gran medida del incremento de productividad.

FÁCIL MANEJO, MEJORA LA FIABILIDAD Y LA CONFORMIDAD DE MÉTODOS

Todo el sistema utiliza el potente software Chromeleon como único punto de control.

Se manejan con facilidad todos los componentes del sistema y las operaciones de doble gradiente.

El software Chromeleon automatiza los procedimientos para el instrumento y el software de la Conformidad de la instalación (IQ), la Conformidad Operacional (OQ) y la Conformidad del Funcionamiento (PQ). Simplemente hay que seleccionar los tests que se quieran realizar, cargar el automuestreador e iniciar. Chromeleon hace el resto, y saca los informes detallados de todo el proceso.

FÁCIL PUESTA EN MARCHA DE APLICACIONES COMPLEJAS

Elimina el tiempo consumido en etapas manuales, aumentando el rendimiento y mejorando la robustez del método.

Por ejemplo, se pueden realizar rápidamente y en línea la extracción en fase sólida (SPE) de PAH en aceite de oliva para su separación y cuantificación posterior.

Chromeleon permite la automatización y simplificación de esta aplicación compleja. Esta preparación de muestra requiere tres posiciones de la válvula para el cambio de columnas. Se necesita dos gradientes ternarios alimentando una válvula de dos posiciones y seis puertos del módulo TCC-100. De esta manera la configuración permite la inyección directa del aceite de oliva desde el automuestreador automático ASI-100 (con bandeja termostatizada). El tiempo total de análisis es aproximadamente 80 minutos, comparado con las 8-10 horas con métodos tradicionales.

Especificaciones del sistema Summit Dual-Gradient HPLC & LC-MS

SOR-100 Bandeja de eluyentes con desgasificación por vacío: Canales analíticos: Ninguno, dos, cuatro o seis

P680A DGP-6 Rango de flujo: 1 a 10.000 µL

P680 exactitud y precisión de flujo: ±0,1% a 1 mL/min

P680 volumen muerto del gradiente (con mezclador estándar): <400 µL

P680 volumen muerto con kit de microflujo (requiere modificación de hardware): <300 µL

ASI-100 Capacidad del automuestreador: Micro: 192 con viales 1,2 mL. Analítico: 117 con viales 2 mL

ASI-100 volumen de inyección (estándar): 0,1 a 250 µL

ASI-100 volumen inyección con jeringa y loop opcionales: Micro: 0,1 a 100 µL

ASI-100 precisión: 5 a 100 µL inyecciones: <0.2% RSD. 1 a 5 µL inyecciones: <1% RSD

ASI-100 (versión termostatizada): Rango de temperatura: 4 a 45 °C

TCC-100 Horno de columnas
- Rango de temperatura: 5 a 85 °C
- Exactitud de temperatura: ±0,5 °C
- Estabilidad de temperatura: ±0,1 °C
- Precisión de temperatura: ±0,1 °C
- Enfriamiento/Calentamiento: Menor que 20 min de 20 a 50 °C

UVD 170U Detector UV/Vis de 4-canales
- Rango longitud de onda: 200 a 595 nm
- Ruido: ±5 µAU; 254 nm
- Señales: Hasta 4 longitudes de onda
- El detector es actualizable a la versión photodiode array UVD 340U

UVD 340U Detector Photodiode Array
- Rango longitud de onda: 200 a 595 nm
- Ruido: ±5 µAU; 254 nm
- Resolución espectral: 1,9 nm (UV); 3,3 nm (Vis)

PDA-100 Detector Photodiode Array
- Rango de longitud de onda: 190 a 800 nm
- Ruido: ±10 µAU; 254 nm
- Resolución espectral: 1 nm
- Lámparas: Deuterio y tungsteno

RF 2000 Detector de Fluorescencia
- Long. De onda de excitación: 200 a 650 nm
- Long. De onda de emisión: 200 a 650 nm
- Barrido de longitud de onda: para longitudes de onda de excitación y de emisión

MSQ™ Detector Espectrometría de Masas
- Rango: 50 a 2000 m/z (estándar)
- 18–1500 m/z (opción low-mass)
- Sensibilidad, Ion positivo ESI (5 pg iny. eritromicina): 100:1 s/n ratio
- Sensibilidad, Ion Negativo ESI (2 pg iny. p-nitrofenol): 50:1 s/n ratio
- Sensibilidad, Ion Positivo APCI (50 pg iny. eritromicina): 200:1 s/n ratio
- Sensibilidad, Ion Negativo APCI (20 pg iny. p-nitrofenol): 50:1 s/n ratio

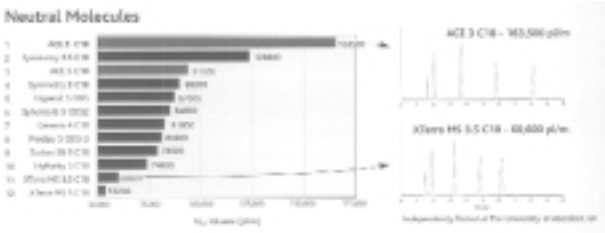
VERTEX Technics, S.L.
Distribuidor en España de DIONEX

Of. Barcelona	93 223 33 33
Of. Madrid	91 324 00 14
Of. Bilbao	94 447 19 99
Of. Valencia	96 348 90 92
Of. A Coruña	98 181 66 46

GUIA COMPARATIVA EN COLUMNAS C18 DE 100 Å PARA 3µM Y 5µM

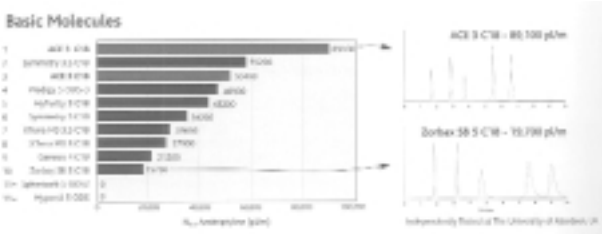
Testado de modo independiente en la Universidad de Aberdeen, Gran Bretaña.

- Principales columnas C18 de 3µm y 5µm y150x 4.6 mm
- Las pruebas se han realizado con moléculas, ácidas, básicas y neutras.
- Se compararon la asimetría y eficacia de los resultados cromatográficos.



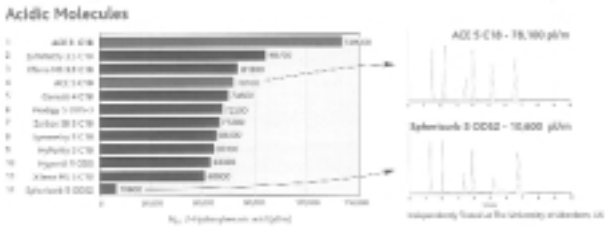
Resumen:

La eficacia de las columnas varía considerablemente. Se recomienda el uso de columnas de alta eficacia, para reducir el tiempo de análisis. Puede reducirse la longitud de la columna sin sufrir pérdidas en la resolución.



Resumen:

Las diferentes columnas de HPLC C18 "bonded", nos muestran diferencias significativas en análisis para compuestos básicos. Dichas variaciones son normalmente producidas por las indeseables interacciones secundarias de los grupos silanol en la superficie de la sílica. El incremento de la actividad de los grupos silanol provoca como resultado el deterioro de la resolución cromatográfica. Las columnas C18 de base desactivada altamente inertes, con muy baja actividad de grupos silanol, exhiben una selectividad similar, con pequeñas diferencias en eficacia y forma de pico.

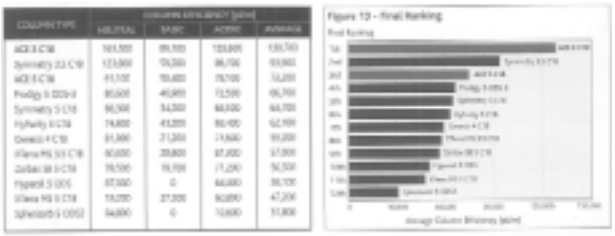


Resumen:

Las pruebas con moléculas ácidas muestran tendencias similares a las realizadas con moléculas básicas. Con tamaños de partícula muy pequeños, las fases de base desactivada altamente inertes, ofrecen mejoras en las separaciones de los compuestos analizados.

CLASIFICACIÓN FINAL

Los resultados de las tres pruebas han sido analizados y comparados en las tablas que podemos ver a continuación. Como ayuda para comparar entre las distintas columnas, se ha realizado la clasificación y de este modo obtener un promedio en la resolución de dichas columnas, para cada prueba.



CONCLUSIÓN

Observamos diferencias significativas cuando evaluamos compuestos ácidos y básicos para la eficacia, forma de pico y selectividad en columnas con recubrimientos de C18. Estas variaciones son causadas por las indeseables interacciones secundarias de los grupos silanol.

La selección de una fase de base desactivada con alta eficacia y niveles muy bajos de actividad de grupos silanol, prueba las ventajas en la mayoría de los análisis.

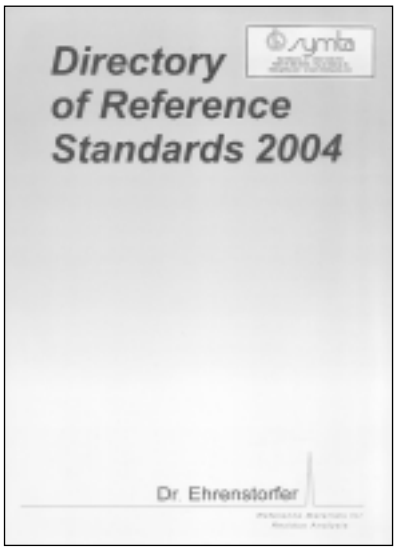
Los materiales ACE C18 mostraron altas resoluciones en fases de 3µm y 5µm, respectivamente. Una muy alta eficacia y forma de pico, ofrecen excelentes separaciones tanto en análisis con moléculas ácidas, básicas y neutras.

Mas información sobre columnas ACE: www.ace-hplc.com
Representante en España: SYMTA, S.A.L.

NUEVO CATALOGO DR. EHRENSTORFER PATRONES MEDIOAMBIENTALES

Nuevos desarrollos en patrones y materiales de referencia de Pesticidas, PCB, PAH, Fenoles, nitroaromativos, vitaminas, compuestos farmacéuticos etc. Más de 200 nuevos estándares añadidos desde la versión anterior.

Solicite su catálogo como más fácil le resulte, teléfono, fax o correo-e. Disponemos de versión en pdf.



Representante en España:
SYMTA, S.A.L. Tel.: 915 002 060
San máximo, 31 Fax: 915 000 045
28041-Madrid e-mail: info@symta.com

VWR INTERNATIONAL™

Un Experto Extra en su laboratorio:

ELITE LaChrom

El nuevo Sistema de HPLC

LaChrom®Elite con sus nuevos "asistentes virtuales" puede automatizar y simplificar gran parte de las tareas habituales en HPLC, lo que le ahorra tiempo y esfuerzo en el laboratorio.

- ***Especificaciones excepcionales en términos de eficacia y fiabilidad***
- ***Apto para todo tipo de columnas, desde 1 mm i.d. hasta ultrarrápidas***
- ***Satisface las exigencias de la FDA, GMP y otros entornos de calidad***
- ***Estación cromatográfica tipo Client / Server***
- ***Valida su sistema y métodos automáticamente***
- ***¡Incluso puede desarrollar métodos de HPLC de forma automática¡***

LaChrom®Elite:
¡Es como tener un Experto en HPLC Extra en su laboratorio!

VWR International S.L. Instrumentación Cromatografía

Polígono Merck. 08100 Mollet del Vallés

Tel.: 93 485 14 09
Fax: 93 485 30 92
www.vwr.com
cromatografia@es.vwr.com

Waters

Ayer.

Hoy.

Acquity
Ultra Performance LC

Presentamos el nuevo sistema Waters® ACQUITY Ultra Performance Liquid Chromatography™ (UPLC™). Ultra rapidez, ultra sensibilidad y ultra resolución que rebasan los límites de la HPLC de hoy para entrar en un nuevo dominio de ultra productividad y ultra prestaciones. Basada en los mismos principios fundamentales que la HPLC la UPLC™ permite expandir las aplicaciones de la cromatografía líquida a extremos no imaginados hasta ahora. Ya es posible ver más claro. ACQUITY UPLC™ de Waters: más confianza en los resultados.

Visite www.ultraperformanceic.com

For Complete Confidence

Waters Cromatografía, S.A.
Ronda de Can Fatjó 7A • Parc Tecnològic del Vallès • 08290 Cerdanyola del Vallès
Tel. 936 00 93 00 • Fax 936 00 93 60
Avenida de Europa, 21 • Parque Empresarial La Moraleja • 28810 Alcobendas
Tel. 912 03 91 00 • Fax 916 61 08 55
www.waters.com • eMail spain@waters.com

© 2004 Waters Corporation. Waters, ACQUITY Ultra Performance Liquid Chromatography y UPLC son marcas registradas de Waters Corporation.