

Alcances y limitaciones de la cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia en I

Autor DRA. ALICIA LUCIA MORALES PEREZ
miércoles, 21 de febrero de 2007

Alcances y limitaciones de la cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia en los análisis forenses Dra. ALICIA LUCÍA MORALES PEREZ - COLOMBIA

INTRODUCCIÓN La cromatografía, en general, es un método de la física de separación en el cual los componentes de una muestra son separados como consecuencia de la diferente distribución entre una fase móvil y una fase estacionaria. Las distintas combinaciones de estas fases nos proporcionan las diferentes clases de cromatografía; por ejemplo si la fase móvil es un gas tenemos la cromatografía de gases, CG, la cual puede ser gas - sólido y gas - líquido según la naturaleza de la fase estacionaria.

En esta disertación nos vamos a referir solamente a la cromatografía de gases, CG, y a la cromatografía líquida de alta eficiencia, CLAE. A partir de la instrumentación básica explicaremos la forma de operar de cada una de ellas; analizaremos sus puntos comunes, sus ventajas y limitaciones y algunas aplicaciones en los análisis forenses.

CROMATOGRAFÍA DE GASES La instrumentación básica para la CG, podemos representarla en forma esquemática en la figura 1. Figura 1. Diagrama de un cromatógrafo de gases.

La muestra que va a ser analizada es introducida en el puesto de inyección por medio de un dispositivo automático o en forma manual con una microjeringa; así se pueden analizar sólidos, líquidos y gases. En el puesto de inyección la muestra es vaporizada en forma instantánea y por tanto, las muestras deben ser volátiles y térmicamente estables.

La muestra vaporizada es transportada por la fase móvil hacia la columna (fase estacionaria); aquí de acuerdo a la afinidad de cada componente por esta fase se va a lograr la separación cromatográfica. Los compuestos separados llegan al detector cuya función es "sentir"; la presencia de los diferentes compuestos y registrarla por la variación de alguna propiedad, según el principio de operación de cada detector. La señal producida, transformada y ampliada, va a alimentar un registrador o una estación de datos.

El registro gráfico obtenido se conoce como cromatograma (Figura 2), donde idealmente cada componente va a estar representado por una banda o pico de forma gaussiana; esta serie de picos sirven como base para los análisis cualitativo y cuantitativo.

TIEMPO DE RETENCIÓN

El análisis cualitativo se hace con base en los tiempos de retención, o sea el tiempo requerido para que un compuesto recorra el sistema cromatográfico; en teoría este dato debe ser útil para la identificación, pero en la práctica el número de variables que deben ser controladas para obtener valores reproducibles de tiempos de retención, limita la aplicación de la técnica; además siempre se debe disponer de una muestra auténtica de la sustancia y es posible que compuestos diferentes posean tiempos de retención similares son muy cercanos; en este caso es necesario recurrir a técnicas no cromatográficas como la espectrometría de masas para lograr una identificación certera. En las determinaciones cuantitativas se pueden obtener muy buenos resultados, si se emplean las técnicas adecuadas. Este análisis se basa en que el área bajo los picos es proporcional a la cantidad de compuesto en la muestra; sin embargo, se debe tener en cuenta que el detector no da igual respuesta a la misma cantidad de diferentes compuestos y es necesario hacer correcciones y/o curvas de calibración con estándares, para lograr una cuantificación confiable.

Las ventajas de la CG, sobre otras técnicas son: 1. Velocidad: un análisis completo puede realizarse en tiempos relativamente cortos (30 min.), Proporcionando información para los análisis cualitativo y cuantitativo. 2. Resolución: es la capacidad de separar componentes; usando las condiciones analíticas adecuadas se pueden hacer separaciones imposibles de realizar por otros métodos. 3. Sensibilidad: esta es la mejor razón par utilizar esta técnica. Utilizando detectores selectivos se han logrado detectar cantidades hasta de 10-12 gramos.

La técnica también tiene sus limitaciones en lo que se refiere a características de la muestra para análisis y la incertidumbre en la identificación de los componentes. Para superar las dificultades en los análisis de muestras poco volátiles, en la actualidad se está utilizando la cromatografía líquida de alta eficiencia.

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA

En Cromatografía líquida de alta eficiencia, CLAE, la muestra es disuelta en un solvente líquido y forzada por presión a atravesar la columna cromatográfica donde es resuelta; la extensión de la resolución es importante y depende del grado de interacción entre el soluto y la fase estacionaria y móvil. Esta interacción puede ser modificada según la escogencia de solventes y columnas.

Los componentes básicos de un cromatógrafo líquido de alta eficiencia están representados en la figura 3.

Fig 3. Diagrama de un cromatógrafo líquido de alta eficiencia. Como en la CG, una vez realizada la separación, los componentes pasan al detector y la respuesta de éste es dibujada por un registrador (cromatograma). Este es similar al obtenido por CG y suministra la misma información para los análisis cualitativo y cuantitativo.

La CLAE posee las ventajas de la CG y sus limitaciones están relacionadas básicamente con los altos costos de los solventes y su instrumentación. **APLICACIONES**

Teniendo como base consideraciones anteriores, podemos afirmar que las dos técnicas no son excluyentes sino al contrario complementarias y son utilizadas frecuentemente en los análisis forenses como:

1. Control de Adulteraciones: Un análisis muy común es el control de licores: determinación de metanol y alcoholes superiores. 2. Identificación de Drogas de Abuso:

En el establecimiento de las pruebas de tráfico ilícito de drogas se necesitan métodos rápidos y sensibles; generalmente estas drogas se encuentran mezcladas con otras sustancias, lo que hace necesario el análisis selectivo de la materia sospechosa.

Las sustancias que generalmente se analizan son:

- a. En el análisis por CG de estos compuestos se presentan problemas puesto que es necesario hacer reacciones de derivatización que conducen a resultados cuantitativos erróneos debido a las interferencias causadas por los agentes de relleno, con los que generalmente están mezclados. Con estas limitaciones la CLAE, puede ser una alternativa en el análisis de narcotráfico.

b. Cocaína y Analgésicos:
Frecuentemente la cocaína ilícita contiene otros analgésicos no sujetos a control y los procesos cromatográficos deben ser capaces de separar estos compuestos de la cocaína; sin embargo no es tarea fácil lograr esta separación.

La cocaína y la mayoría de los anestésicos locales presentan excelentes propiedades para su análisis por CG. La CLAE solamente se recomienda para el análisis de isómeros de la cocaína.

- c. LSD y Alucinógenos: El alucinógeno ilícito más frecuentemente encontrado es el LSD (Diethyl amida del ácido lisérgico).

La CG de estos compuestos no es recomendada, debido a su baja estabilidad térmica; la separación de estereoisómeros no es posible y la estructura de los compuestos debe comprobarse por espectrometría de masas. Utilizando CLAE se han logrado detectar cantidades del orden de 10⁻¹⁵ moles.

- d. Anfetaminas: Estos compuestos presentan buenas características para su análisis por CG; por esto la CLAE no ha sido muy utilizada.

e. Barbitúricos:
La CG es muy utilizada en el análisis de barbitúricos, sin embargo no se han logrado las condiciones experimentales capaces de lograr la separación de todos los barbitúricos.

f. Canabinoides:

Las principales aplicaciones de la CG en este campo son la cuantificación de un compuesto en particular y la determinación de las cantidades relativas de los compuestos separados. Esta información es utilizada para comparar muestras y asignar tentativamente su origen.

3. Análisis de Solventes y Pesticidas:

Generalmente se utilizan las técnicas cromatográficas en el control de calidad de estos productos y para el estudio de los niveles de contaminación causada por su utilización.

4. Explosivos:

La industria militar necesita métodos para establecer los niveles de contaminación causada por la producción y utilización de explosivos. La toxicidad de algunos compuestos utilizados, hace necesario la utilización de técnicas sensibles como la CLAE.

CONCLUSIONES

Las técnicas cromatográficas solas, no son capaces de suministrar una identificación inequívoca de un compuesto particular y la confirmación por técnicas específicas como la espectrometría de masas es a menudo obligatoria.

Además, debemos enfatizar que no existe un método de análisis único; en los estudios forenses muchas veces una técnica clásica es lo suficientemente adecuada y no siempre requiere instrumentación sofisticada.

BIOGRAFÍA
DRA. ALICIA LUCIA MORALES PEREZ

Química, MSc. Universidad de Colombia Fuente: <http://www.policia.gov.co>