

Técnicas analíticas de separación

M. VALCÁRCEL CASES
A. GÓMEZ HENS



EDITORIAL REVERTÉ

M. VALCÁRCEL CASES

A. GÓMEZ HENS

Departamento de Química Analítica
Universidad de Córdoba

TÉCNICAS ANALÍTICAS DE SEPARACIÓN



EDITORIAL
REVERTÉ

Barcelona · Bogotá · Buenos Aires · México

Copyright © M. Valcárcel Cases, A. Gómez Hens

Edición en papel

© Editorial Reverté, S. A., 1988

ISBN: 978-84-291-7984-2

Edición ebook (PDF)

© Editorial Reverté, S. A., 2021

ISBN: 978-84-291-9208-7

Propiedad de:

EDITORIAL REVERTÉ, S. A.

Loreto, 13-15, Local B

08029 Barcelona

Tel: (34) 93 419 33 36

E-mail: reverte@reverte.com

Internet: <http://www.reverte.com>

Reservados todos los derechos. La reproducción total o parcial de esta obra, por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares de ella mediante alquiler o préstamo públicos, queda rigurosamente prohibida sin la autorización escrita de los titulares del copyright, bajo las sanciones establecidas por las leyes.

#1068

Prólogo

Pese a la existencia de buenas monografías sobre las distintas técnicas de separación, desde hace años no se ha publicado una obra general con orientación fundamentalmente pedagógica. Nuestro objetivo al escribir este libro de texto es cubrir el hueco existente en la bibliografía y tratar de ofrecer una visión moderna, amplia y a la vez sencilla de las técnicas analíticas que impliquen la transferencia de materia entre dos fases. Se presenta pues con esta obra una alternativa actualizada a excelentes libros clásicos en esta materia (Dean, Miller, Karger et al.), hoy ya algo anticuados debido a la gran evolución experimentada por las separaciones analíticas, especialmente las cromatográficas.

Hemos intentado en todo momento un tratamiento unitario, estableciendo constantemente relaciones entre los diferentes aspectos de las distintas técnicas analíticas. La obra consta de dos partes dedicadas a las técnicas no cromatográficas (Capítulos 2 a 11) y cromatográficas (Capítulos 12 a 22) más usuales. En el contenido de cada capítulo se ha procurado huir de un planteamiento monográfico con un exceso de información, optando por una orientación fundamentalmente docente y, por tanto, sencilla. Sin abandonar los aspectos clásicos, se han abordado los avances en cada técnica separativa que ya han alcanzado un grado notable de consolidación. Al final de cada capítulo se han incluido algunas referencias de carácter marcadamente general para los lectores interesados en profundizar en la temática específica tratada en el capítulo. Asimismo, se han terminado los capítulos con cuestiones que pueden servir de base para desarrollar clases de seminarios. En definitiva, hemos tratado de volcar en este libro nuestra experiencia de muchos años en la explicación de esta materia en el segundo ciclo de la actual y en vías de extinción Licenciatura en Ciencias Químicas. También se pretende que sirva de base para el desarrollo de una materia

obligatoria que, con el título del libro, figure en los nuevos Planes de Estudios actualmente sometidos a debate.

Por último, los autores queremos manifestar nuestro reconocimiento a la editorial Reverté por su favorable acogida en la publicación de este libro, así como a D^a Elisa Losada por la composición del texto y al delineante D. Francisco Doctor por sus dibujos y gráficas.

LOS AUTORES

Índice analítico

Prólogo	V
CAPITULO 1 GENERALIDADES SOBRE LAS TECNICAS ANALITICAS DE SEPARACION	1
1.1 Introducción	1
1.2 Procesos de separación y Química Analítica	2
1.3 Clasificación de las técnicas analíticas de separación	6
1.3.1 Criterios estáticos	7
1.3.1.1 Clasificación según las fases implicadas	7
1.3.1.2 Clasificación según las fuerzas puestas en juego	8
1.3.1.3 Clasificación según el control del proceso	9
1.3.2 Criterios dinámicos	10
1.3.2.1 Clasificación según el contacto entre las fases	11
1.3.2.2 Clasificación según el flujo relativo entre fases	11
1.4 Fundamento de los procesos de separación	14
1.5 Errores genéricos originados por los procesos separativos	18
Bibliografía recomendada	21
Cuestiones	21
CAPITULO 2. SEPARACIONES POR ENMASCARAMIENTO	23
2.1 Introducción	23

2.2	Equilibrios de formación de complejos	24
2.2.1	Constante de formación de un complejo	24
2.2.2	Constantes de formación sucesivas y globales	25
2.2.3	Tratamiento cuantitativo	26
2.2.4	Influencia del pH en la estabilidad de los complejos	27
2.3	Agentes enmascarantes	31
2.4	Enmascaramiento subestequiométrico	37
2.5	Desenmascaramiento	37
2.5.1	Reacciones de desplazamiento	38
2.5.2	Conversión del agente enmascarante en especie no reactiva	38
2.5.3	Ajuste de pH	39
2.5.4	Destrucción del ligando	39
2.5.5	Separación física del ligando	39
2.5.6	Cambio en el estado de oxidación del catión	40
2.6	Aplicaciones	40
2.6.1	Aplicaciones al análisis cualitativo	40
2.6.2	Aplicaciones al análisis cuantitativo clásico	41
2.6.2.1	Volumetrías complexométricas	41
2.6.2.2	Volumetrías redox	42
2.6.2.3	Gravimetrías	43
2.6.3	Aplicaciones a las separaciones	43
2.6.3.1	Cambio iónico	43
2.6.3.2	Extracción	45
2.6.4	Aplicaciones al análisis instrumental	46
2.6.4.1	Espectrofotometría	46
2.6.4.2	Electroanálisis	48
	Bibliografía recomendada	51
	Cuestiones	51
CAPITULO 3.	SEPARACIONES POR PRECIPITACION	53
3.1	Introducción	53
3.2	Generalidades sobre el equilibrio de precipitación	54
3.3	Generalidades sobre la formación y evolución de los precipitados	56
3.4	Métodos de precipitación	58
3.5	Separación de especies inorgánicas	63
3.5.1	Separaciones por ajuste de pH	63

3.5.2 Separaciones por evaporación con ácidos	67
3.5.3 Separaciones en forma de haluros	67
3.5.4 Separaciones en forma de sulfuros	68
3.5.5 Separaciones con reactivos orgánicos	70
3.5.6 Separaciones por reducción a estado elemental	75
3.6 Separación de compuestos orgánicos	76
3.6.1 Separaciones por ajuste de pH	76
3.6.2 Formación de derivados insolubles	77
3.6.3 Variación de la constante dieléctrica de medio	78
3.6.4 Variación de la fuerza iónica	78
3.6.5 Utilización de polímeros no iónicos	79
3.7 Preconcentración de trazas por coprecipitación	79
3.7.1 Colectores inorgánicos	83
3.7.2 Colectores orgánicos	85
3.8 Lixiviación	87
Bibliografía recomendada	88
Cuestiones	89
CAPITULO 4. SEPARACIONES ELECTROQUIMICAS	91
4.1 Introducción	91
4.2 Generalidades sobre la electrodeposición	92
4.3 Deposición electrolítica	94
4.3.1 Consideraciones generales	94
4.3.1.1 Electrolisis a intensidad constante	94
4.3.1.2 Electrolisis a potencial controlado	94
4.3.2 Deposición electrolítica sobre cátodo de mercurio	96
4.3.2.1 Separación de elementos traza	97
4.3.2.2 Separación de elementos mayoritarios	98
4.3.3 Deposición electrolítica sobre otros electrodos	98
4.4 Deposición electrolítica espontánea	100
4.5 Deposición no electrolítica	101
4.6 Técnicas de redisolución	103
Bibliografía recomendada	107
Cuestiones	107

CAPITULO 5. ELECTROFORESIS	109
5.1 Introducción	109
5.2 Principios básicos	111
5.2.1 Fenómenos de transporte de disolución	111
5.2.1.1 Difusión	111
5.2.1.2 Migración	111
5.2.1.3 Convección	118
5.2.1.4 Flujo térmico	118
5.2.2 Fenómenos de transporte en un medio estabilizante	119
5.2.2.1 Influencia de la estructura interna del estabilizante	119
5.2.2.2 Electrósmosis	120
5.2.2.3 Adsorción	121
5.2.3 Factores que influyen en las técnicas electroforéticas	122
5.2.3.1 Características de las especies cargadas	122
5.2.3.2 Factores externos (electroforéticos)	122
5.2.3.3 Reacciones electródicas	124
5.3 Clasificación de las técnicas electroforéticas	124
5.4 Electroforesis libre	126
5.5 Isotacoforesis	127
5.6 Electroforesis de zona	132
5.6.1 Electroforesis zonal con soporte sólido	134
5.6.1.1 Soporte material plano	134
5.6.1.2 Soporte sólido en columna	140
5.6.2 Electroforesis zonal en gel	140
5.7 Enfoque isoelectrico	142
Bibliografía recomendada	146
Cuestiones	146
CAPITULO 6. SEPARACIONES POR VOLATILIZACION Y DESTILACION	149
6.1 Introducción	149
6.2 Separaciones por volatilización	151
6.2.1 Volatilización al vacío	152
6.2.2 Volatilización en corriente de gas inerte	153
6.2.3 Volatilización en atmósfera de gas reactivo	154
6.2.3.1 Métodos de combustión	154
6.2.3.2 Utilización de otros gases reactivos	156
6.3 Separaciones por destilación	157
6.3.1 Destilación con adición de reactivo	159

6.3.1.1 Destilación de sustancias volátiles a temperatura ambiente	159
6.3.1.2 Destilación de sustancias no volátiles a temperatura ambiente	166
6.3.2 Destilación sin adición de reactivo	169
Bibliografía recomendada	170
Cuestiones	171
CAPITULO 7. EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO (I). ASPECTOS TERMODINAMICOS Y CINETICOS	173
7.1 Introducción	173
7.2 Equilibrios de extracción líquido-líquido	176
7.2.1 Equilibrios de distribución	176
7.2.2 Relación de distribución	181
7.2.3 Extracción de sustancias con propiedades ácido-base	182
7.2.4 Extracción de quelatos metálicos	185
7.2.4.1 Factor de recuperación	191
7.2.4.2 Presencia de agentes enmascarantes	193
7.2.4.3 Separación de quelatos entre sí	194
7.2.4.4 Sinergismo	196
7.2.4.5 Antisinergismo	201
7.2.5 Extracción de pares iónicos	201
7.2.6 Extracción de especies poliméricas	202
7.3 Cinética de la extracción líquido-líquido	203
7.3.1 Velocidad de formación de especies extraíbles	204
7.3.2 Velocidad de transferencia de especies extraíbles	205
Bibliografía recomendada	206
Cuestiones	207
CAPITULO 8. EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO (II). TECNICAS Y APLICACIONES	209
8.1 Introducción	209
8.2 Técnicas de la extracción líquido-líquido	209
8.2.1 Extracción simple	210
8.2.2 Extracción repetitiva	211
8.2.2.1 Extracción por etapas	211
8.2.2.2 Extracción por circulación	213
8.2.3 Extracción en contracorriente	214
8.3 Aplicaciones de la extracción líquido-líquido	225
8.3.1 Extracción de cationes metálicos	226

8.3.1.1 Extracción de compuestos covalentes	226
8.3.1.2 Extracción de quelatos metálicos neutros	227
8.3.1.3 Extracción de pares iónicos	235
8.3.2 Extracción de aniones inorgánicos	239
8.3.2.1 Extracción en estado elemental	240
8.3.2.2 Extracción de ácidos	240
8.3.2.3 Extracción de heteropoliácidos	240
8.3.2.4 Extracción de pares iónicos	241
8.3.3 Extracción de compuestos orgánicos	241
Bibliografía recomendada	244
Cuestiones	245
CAPITULO 9. CAMBIO IONICO (I). FUNDAMENTOS	247
9.1 Introducción	247
9.2 Clasificación de las sustancias cambiadoras	248
9.3 Resinas cambiadoras	252
9.3.1 Síntesis de resinas cambiadoras	252
9.3.1.1 Polímeros de condensación	253
9.3.1.2 Polímeros de adición	254
9.3.2 Propiedades generales	258
9.4 Cambiadores inorgánicos	266
9.4.1 Oxidos hidratados	266
9.4.2 Sales ácidas de metales divalentes	268
9.4.3 Otros cambiadores inorgánicos	269
9.5 Equilibrio del cambio iónico	270
9.5.1 Coeficiente de selectividad	270
9.5.2 Electroselectividad	273
9.5.3 Selectividad	274
9.5.3.1 Características de los iones	274
9.5.3.2 Características de la resina	275
9.5.3.3 Características de la disolución externa	276
9.6 Cinética del cambio iónico	277
9.6.1 Mecanismo del cambio iónico	278
9.6.2 Factores que afectan a la velocidad de intercambio	279
Bibliografía recomendada	281
Cuestiones	281
CAPITULO 10. CAMBIO IONICO (II). APLICACIONES ANALITICAS NO CROMATOGRAFICAS	283

10.1	Introducción	283
10.2	Purificación de disolventes y reactivos	284
10.2.1	Desionización de disolventes	284
10.2.2	Purificación de reactivos	285
10.3	Separación de interferencias	286
10.4	Concentración de trazas	287
10.4.1	Disoluciones con contenido electrolítico bajo	287
10.4.2	Disoluciones con contenido electrolítico alto	288
10.5	Aplicaciones al análisis cualitativo clásico	288
10.5.1	Disolución de sales poco solubles	288
10.5.2	Incremento de sensibilidad	289
10.6	Determinaciones cuantitativas	290
10.6.1	Determinación de la concentración salina total	290
10.6.2	Absorciometría de cambio iónico	291
10.7	Determinación de la constante de formación de un complejo	293
	Bibliografía recomendada	297
	Cuestiones	297
CAPÍTULO 11. SEPARACIONES CONTINUAS NO CROMATOGRÁFICAS		299
11.1	Introducción	299
11.2	Sistemas gas-líquido	300
11.2.1	Difusión gaseosa	301
11.2.2	Generación de hidruros	307
11.2.3	Evaporación	309
11.2.4	Destilación	310
11.3	Sistemas sólido-líquido	312
11.3.1	Precipitación/filtración	312
11.3.2	Sorción	316
11.3.3	Cambio iónico	318
11.4	Sistemas líquido-líquido	322
11.4.1	Diálisis	322
11.4.2	Extracción	328
	Bibliografía recomendada	331
	Cuestiones	331
CAPÍTULO 12. INTRODUCCIÓN A LA CROMATOGRAFÍA		333
12.1	Generalidades	333
12.2	Clasificaciones	335

12.2.1	Tipos de cromatografías	335
12.2.2	Técnicas cromatográficas	336
12.3	Metodologías generales	337
12.3.1	Desarrollo por elución	337
12.3.2	Desarrollo frontal	337
12.3.3	Desarrollo por desplazamiento	339
12.4	Principios básicos	339
12.4.1	Introducción	339
12.4.2	Plato teórico	343
12.4.3	Retención cromatográfica	344
12.5	Cromatograma	346
12.5.1	Relaciones de tiempo	347
12.5.2	Relaciones de espacio	350
12.5.3	Relaciones de volumen	350
12.6	Ensanchamiento de banda	352
12.6.1	Flujo a través de un medio poroso	352
12.6.2	Perfil de la distribución cromatográfica	355
12.6.3	Plato teórico: eficacia	358
12.6.4	Factores que influyen en el ensanchamiento de banda	360
12.6.4.1	Difusión de remolino	361
12.6.4.2	Difusión longitudinal	362
12.6.4.3	Resistencia a la transferencia de materia	362
12.6.4.4	Resistencias cinéticas	366
12.6.5	Ecuaciones de la AEPT	366
12.7	Separación de mezclas	373
12.7.1	Factor de separación	374
12.7.2	Resolución	374
12.7.3	Simulación de separaciones cromatográficas	376
12.7.4	Capacidad de pico	378
12.8	Procedimientos generales para mejorar la discriminación cromatográfica	379
	Bibliografía recomendada	385
	Cuestiones	385
CAPITULO 13. CROMATOGRAFIA PLANA		389
13.1	Introducción	389
13.2	Diferencias entre cromatografía plana y en columna	390
13.3	Principios teóricos	
13.4	Cromatografía en papel	398

13.4.1 Factores que afectan a la cromatografía en papel	398
13.4.1.1 Papel de filtro	398
13.4.1.2 Disolventes y solutos	400
13.4.1.3 Temperatura	401
13.4.2 Técnicas operatorias	401
13.4.2.1 Procedimiento general	401
13.4.2.2 Cámaras de desarrollo	402
13.4.2.3 Tipos de desarrollos	402
13.4.2.4 Sistemas de detección	404
13.4.3 Aplicaciones	404
13.5 Cromatografía en capa fina	405
13.5.1 Características de la técnica	406
13.5.1.1 Tipos de CCF	406
13.5.1.2 Aditivos	406
13.5.1.3 Tipos de placas y capas	407
13.5.1.4 Tipos de sorbentes	407
13.5.1.5 Preparación de la placa	410
13.5.1.6 Técnicas de desarrollo en CCF	412
13.5.1.7 Determinación de los solutos en CCF	422
13.5.2 Aplicaciones de la CCF	423
13.6 Cromatografía en capa fina de alta resolución	426
13.6.1 Características de la CCFAR	426
13.6.1.1 Sorbentes	426
13.6.1.2 Muestra	427
13.6.1.3 Aplicación de la muestra	428
13.6.1.4 Tipos de desarrollos en CCFAR	430
13.6.1.5 Cámaras de desarrollo	431
13.6.1.6 Cuantificación en CCFAR	432
13.6.2 Aplicaciones de la CCFAR	434
Bibliografía recomendada	435
Cuestiones	435
CAPITULO 14. CROMATOGRAFIA LIQUIDA EN COLUMNA (I). GENERALIDADES	437
14.1 Introducción	437
14.2 Cromatógrafo de líquidos	439
14.3 Suministro de fase móvil	441
14.3.1 Naturaleza de la fase móvil	441
14.3.2 Sistemas de bombeo a alta presión	443
14.3.3 Formación de gradientes de elución	447
14.3.4 Gradiente de caudal	451

14.4	Sistemas de inyección	452
14.5	Columna cromatográfica	454
14.6	Termostatación	458
14.7	Sistemas de detección	459
14.7.1	Características generales	459
14.7.2	Tipos de detectores más empleados	467
14.7.2.1	Detectores fotométricos o colorimétricos	467
14.7.2.2	Detectores fluorimétricos	471
14.7.2.3	Detectores electroquímicos	472
14.7.2.4	Detectores conductimétricos	474
14.7.2.5	Detectores refractométricos	475
14.7.2.6	Detectores multifuncionales	476
14.8	Toma y tratamiento de datos	477
14.9	Aplicaciones	479
	Bibliografía recomendada	483
	Cuestiones	484
CAPITULO 15. CROMATOGRAFIA LIQUIDA EN COLUMNA (II). TECNICAS DE ADSORCION Y PARTICION		
15.1	Introducción	485
15.2	La sílice como material cromatográfico	487
15.3	Características de la fase móvil	491
15.4	Cromatografía líquida de adsorción	497
15.4.1	Tipos de adsorbentes	499
15.4.2	Fase móvil	500
15.4.3	Solutos-analitos	503
15.4.4	Limitaciones	504
15.4.5	Aplicaciones	505
15.5	Cromatografía de partición líquido-líquido	508
15.5.1	Empleo de fases estacionarias adsorbidas	509
15.5.1.1	Soportes	510
15.5.1.2	Fase estacionaria líquida	511
15.5.1.3	Limitaciones	512
15.5.1.4	Aplicaciones	512
15.5.2	Empleo de fases ligadas	514
15.5.2.1	Síntesis	514
15.5.2.2	Fases ligadas polares	519
15.5.2.3	Fases ligadas no polares:	
	cromatografía en fase invertida	521
	Bibliografía recomendada	530
	Cuestiones	531

CAPITULO 16. CROMATOGRAFIA LIQUIDA EN COLUMNA (III). CAMBIO IONICO	533
16.1 Introducción	533
16.2 Evolución instrumental: cromatografía iónica	535
16.3 Cromatografía de cambio iónico inorgánica	541
16.3.1 Cationes inorgánicos	542
16.3.1.1 Sin agentes complejantes	542
16.3.1.2 Con agentes complejantes	543
16.3.2 Aniones inorgánicos	546
16.4 Cromatografía de cambio iónico orgánica (bioquímica)	550
16.4.1 Acidos y bases orgánicas	554
16.4.2 Compuestos orgánicos sin carga neta	557
16.5 Cromatografía de pares iónicos	560
16.5.1 En fase normal	560
16.5.2 En fase invertida	562
16.6 Cromatografía de exclusión iónica	565
16.7 Cromatografía de intercambio de ligandos	568
Bibliografía recomendada	570
Cuestiones	571
CAPITULO 17. CROMATOGRAFIA LIQUIDA EN COLUMNA (IV). EXCLUSION	573
17.1 Introducción	573
17.2 Relaciones fundamentales	575
17.3 Características de los geles	579
17.4 Factores que afectan a la resolución	584
17.5 Interacciones complementarias	585
17.6 Aplicaciones	586
Bibliografía recomendada	592
Cuestiones	592
CAPITULO 18. CROMATOGRAFIA DE AFINIDAD	595
18.1 Introducción	595
18.2 Ligandos de afinidad	597
18.3 Soportes	599
18.4 Inmovilización de los ligandos de afinidad	601
18.5 Espaciadores	603
18.6 Métodos de elución	604
18.6.1 Elución bioespecífica	606
18.6.1.1 Elución bioespecífica normal	606
18.6.1.2 Elución bioespecífica invertida	607
18.6.2 Elución no específica	607
18.7 Retenciones inespecíficas	608

18.8 Tipos de cromatografía de afinidad	609
18.9 Aplicaciones	611
18.9.1 Aplicaciones bioanalíticas	611
18.9.2 Estudios bioquímicos básicos	612
18.9.3 Biotecnología	612
18.9.4 Diagnósticos médicos	612
18.9.5 Terapéuticas	613
Bibliografía recomendada	613
Cuestiones	613
CAPITULO 19. CROMATOGRAFIA DE GASES (I). GENERALIDADES	615
19.1 Introducción	615
19.2 Componentes básicos	616
19.3 Gas portador	618
19.3.1 Control de la velocidad de flujo	620
19.4 Sistemas de introducción de muestra	621
19.4.1 Muestras líquidas	622
19.4.2 Muestras gaseosas	622
19.4.3 Muestras sólidas	623
19.4.4 Cromatografía de espacio de cabeza	623
19.4.5 Bloques de inyección	625
19.4.5.1 Bloque de inyección para columnas empaquetadas	625
19.4.5.2 Bloque de inyección para columnas abiertas	626
19.5 Columna	628
19.5.1 Tipos de columnas	628
19.5.1.1 Columnas empaquetadas o rellenas	628
19.5.1.2 Columnas capilares o abiertas	629
19.5.2 Fases estacionarias	630
19.5.2.1 Sólidos adsorbentes	630
19.5.2.2 Fases líquidas	631
19.5.3 Columnas capilares	635
19.5.3.1 Características	635
19.5.3.2 Formación de superficies rugosas	636
19.5.3.3 Deposición de la fase estacionaria	638
19.5.3.4 Fases estacionarias inmovilizadas	639
19.6 Control de la temperatura	640
19.7 Programación del flujo	643
19.8 Sistemas de detección	644
19.8.1 Tipos de detectores	645
19.8.2 Características de un detector	646

19.8.2.1	Detector de conductividad térmica (TCD)	647
19.8.2.2	Detector de captura electrónica (ECD)	648
19.8.2.3	Detector de ionización de llama (FID)	650
19.8.2.4	Detector de ionización de llama con sal sódica (AFD o NPD)	652
	Bibliografía recomendada	653
	Cuestiones	653
CAPITULO 20. CROMATOGRAFIA DE GASES (II). APLICACIONES		655
20.1	Aspectos cualitativos	655
20.2	Aspectos cuantitativos	658
20.2.1	Método directo o de normalización de áreas	660
20.2.2	Método del estándar interno	661
20.2.3	Método de la calibración absoluta	662
20.3	Precisión	662
20.4	Aplicaciones generales	663
20.4.1	Separación de compuestos orgánicos	664
20.4.1.1	Análisis ambiental	664
20.4.1.2	Análisis farmacéutico	666
20.4.1.3	Análisis toxicológico	667
20.4.1.4	Derivados del petróleo	667
20.4.1.5	Otras separaciones	669
20.4.2	Separación de especies inorgánicas	670
20.4.2.1	Gases permanentes	672
20.4.2.2	Haluros metálicos	674
20.4.2.3	Compuestos organometálicos	674
	Bibliografía recomendada	674
	Cuestiones	675
CAPITULO 21. DERIVATIZACION EN CROMATOGRAFIA EN COLUMNA		677
21.1	Introducción	677
21.2	Derivatización en cromatografía líquida	682
21.2.1	Sistemas pre-columna	685
21.2.1.1	Detección por absorción UV-visible	686
21.2.1.2	Detección fluorimétrica	689
21.2.1.3	Detección electroquímica	692
21.2.2	Sistemas post-columna	692

21.3 Derivatización en cromatografía de gases	701
21.3.1 Objetivos	701
21.3.2 Tipos de reacciones de derivatización	702
21.3.2.1 Reacciones sustractivas	702
21.3.2.2 Reacciones no sustractivas	704
21.3.2.3 Procesos pirolíticos	715
Bibliografía recomendada	720
Cuestiones	720
CAPITULO 22. ASPECTOS ACTUALES DE LA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA	723
22.1 Introducción	723
22.2 Hibridación instrumental	724
22.2.1 Generalidades	724
22.2.2 Acoplamiento cromatografía-espectrometría de masas	730
22.2.2.1 Cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)	732
22.2.2.2 Cromatografía líquida-espectrometría de masas (CLAR-EM)	735
22.2.3 Acoplamiento cromatografía-espectroscopía IR (Transformada Fourier)	739
22.2.3.1 Cromatografía de gases-espectroscopía IR-TF	740
22.2.3.2 Cromatografía de gases-espectroscopía IR-espectrometría de masas	743
22.2.3.3 Cromatografía líquida-espectroscopía IR (TF)	744
22.2.4 Acoplamiento cromatografía-espectroscopía atómica	746
22.2.4.1 Cromatografía de gases-espectroscopía atómica	747
22.2.4.2 Cromatografía líquida-espectroscopía atómica	748
22.3 Cromatografía de fluidos supercríticos	750
22.3.1 Fluidos supercríticos	751
22.3.1.1 Definición	751
22.3.1.2 Propiedades de un fluido supercrítico	753
22.3.2 Características de la CFS	755
22.3.2.1 Fases móviles	755
22.3.2.2 Fases estacionarias	758

22.3.2.3 Técnicas utilizadas	758
22.3.3 Instrumentación	759
22.3.3.1 Sistemas de introducción de muestra	759
22.3.3.2 Columnas	759
22.3.3.3 Sistemas de detección	760
22.3.3.4 Tipos de cromatógrafos para CFS	761
22.3.4 Aplicaciones	763
22.3.5 Conclusiones	764
22.4 Cromatografía en contracorriente	766
Bibliografía recomendada	770
Cuestiones	771

Capítulo 1

Generalidades sobre las técnicas analíticas de separación

1.1 INTRODUCCION

El término separación es amplio. Basicamente puede considerarse como una operación que consiste en dividir una mezcla en, al menos, dos partes de composición distinta, con objeto de incrementar la fracción molar de un componente de la mezcla inicial con relación a los demás. La separación es un proceso físico, pero a menudo implica procesos químicos.

La importancia de las técnicas de separación es cada vez más notoria y espectacular y su aplicación ha contribuido con nitidez al desarrollo de la Química, aunque con especial incidencia en la Química Analítica. Basta considerar el aislamiento de los iones de los elementos lantánidos y de los aminoácidos por cambio iónico, la separación de isómeros ópticos por cromatografía de gases y las aplicaciones de la cromatografía líquida (detección de nanogramos de pesticidas en alimentos, determinación de contaminantes atmosféricos y de aguas, la detección rápida de drogas en fluidos humanos, etc), para darnos una idea de la incidencia de las técnicas separativas en aspectos tan importantes de la vida cotidiana y en el desarrollo de las diversas ramas de la Química.

El gran número de técnicas separativas descritas, las interrelaciones entre las mismas, los estudios teóricos publicados y el gran número de aplicaciones descritas, algunas de ellas trascendentales, nos ofrecen un panorama que justifica el hecho de que revistas científicas, tratados y monografías recientes hablen de una *Ciencia de las Separaciones*. En la Figura I.1 se representa el número de artículos científicos originales sobre las técnicas de separación más significativas publicados entre los años 1950 y 1970, según el trabajo estadístico realizado por Brooks y Smithe. Se observa un aumento importante de los artículos publicados sobre las distintas técnicas, en especial las cromatográficas. La destilación, por el contrario, sufre un brusco descenso debido al auge de la cromatografía.

fía de gases que sin duda ha reducido drásticamente las ventajas de la aplicación en Química Analítica de la primera.

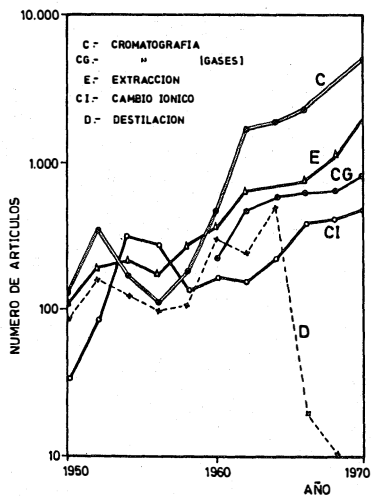


Figura I.1
Evolución de las técnicas analíticas de separación a través de los artículos científicos publicados según Brooks y Smythe. (*Talanta*, 22 (1975) 495).

1.2 PROCESOS DE SEPARACION Y QUIMICA ANALITICA

Concebir la Química Analítica como un conjunto de procesos encaminados a la determinación cualitativa, cuantitativa y estructural de la materia, constituye una visión pobre que puede considerarse ya prácticamente obsoleta. En la nueva visión jerarquizada de esta disciplina (Figura I.2), el escalón más elemental es la medición de la señal analítica por un instrumento. La determinación abarca el conjunto de operaciones analíticas concretas: toma y preparación de muestra, cambios físicos y/o químicos, además de la medida. El Análisis Químico se refiere al conjunto de la actuación de un proceso analítico incluyendo, además de la determinación, la selección de datos, elección de la técnica y el método, interpretación de los resultados, etc. La Química Analítica es la Ciencia que comprende, además de los eslabones anteriores, aspectos tales como educación, desarrollo e investigación.

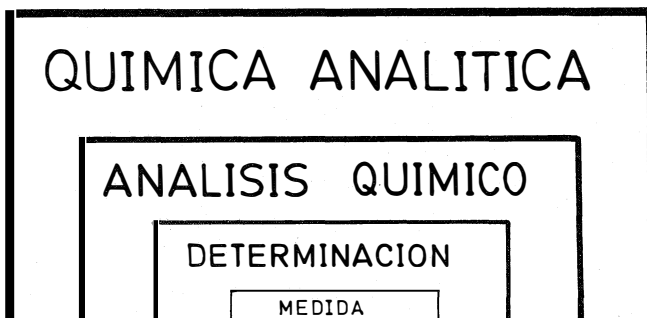


Figura I.2
Diagrama esquemático del contenido jerárquico de la Química Analítica.

En esta concepción de la Química Analítica, el problema (objetivo primordial del Análisis Químico) ha sustituido a la muestra (objeto principal de la determinación). Sólo de esta manera, el químico analítico puede colaborar en otras áreas científicas y, de forma efectiva, a resolver problemáticas sociales y a mejorar la situación mundial en áreas tales como nutrición, sanidad, contaminación, nuevas energías, nuevos materiales, etc.

Al iniciar un libro de texto sobre un aspecto de la Química Analítica, es conveniente establecer una distinción clara entre técnica, método y procedimiento, los cuales con frecuencia no son usados adecuadamente. La técnica puede considerarse basada en un principio científico-básico utilizado para obtener información sobre la composición de la materia (v.i. espectrofotometría, gravimetría, cromatografía). El método constituye la adaptación variada de la técnica para llevar a cabo una determinación definida (v.i. método de la p-rosanilina para determinar dióxido de azufre, método cromatográfico para determinar metanol en bebidas alcohólicas). El procedimiento está constituido por el conjunto de instrucciones generales necesarias para aplicar un método (v.i. normas de la ASTM para analizar una variedad de sustancias).

Si se considera el proceso analítico (etapa determinativa) de manera globalizada (Figura I.3), se observa que la acción fundamental consiste en obtener unos resultados a partir de una muestra a través de la "caja negra" analítica. No obstante, esta visión simplista se amplía si se consi-

dera el proceso analítico dividido en tres etapas fundamentales: operaciones previas, medición de la señal analítica y toma y tratamiento de datos. La primera etapa es muy distinta según la problemática analítica a abordar y comprende operaciones tales como toma y preparación de la muestra, medida (peso o volumen) de la misma, disolución, desarrollo de la(s) reacción(es) analítica(s) y transporte hacia el instrumento donde se llevará a cabo la medición (y transformación) de la señal analítica, que constituye la segunda etapa. En la tercera, las señales procedentes del instrumento, transformadas o no, son recogidas y tratadas convenientemente para ofrecer los resultados.

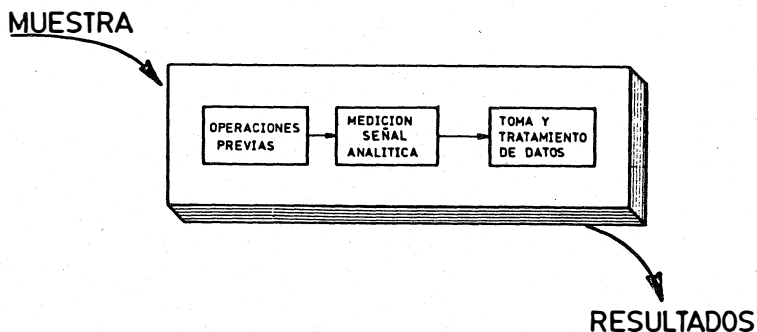


Figura I.3
Esquema simplificado del proceso analítico.

Las técnicas de separación se incluyen dentro de la primera etapa, generalmente antes del desarrollo de la reacción analítica. Aunque es difícil hacer una simplificación, puede afirmarse que se utilizan en el proceso analítico para mejorar dos aspectos fundamentales del mismo: la selectividad y la sensibilidad. Ocurre con frecuencia que los métodos analíticos no poseen un nivel adecuado de estos parámetros para la resolución de problemas analíticos concretos. Las técnicas de separación palián indirectamente estas deficiencias. Cuando las muestras contienen especies con características semejantes a las del analito, o bien simplemente perturban en esta medición (efecto matriz), una etapa previa de separación es indispensable para aislar al analito de las especies interferentes (Figura I.4). No obstante, los objetivos de las técnicas de separación pueden ser más ambiciosos y su inclusión en la metodología analítica posibilita la separación individual de todos o varios componen-

tes de la muestra, permitiendo así su determinación simultánea, tal como ocurre en la cromatografía líquida o gaseosa.

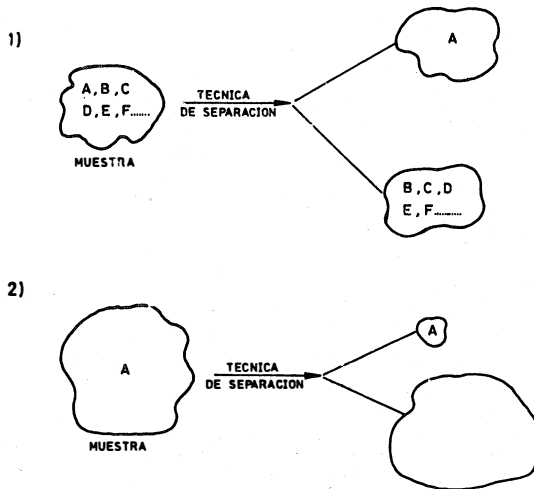


Figura I.4
Objetivos principales de los procesos de separación en Química Analítica: (1) mejorar la selectividad, (2) mejorar indirectamente la sensibilidad (preconcentración).

Cuando la concentración de analito es muy baja (análisis de trazas), es frecuente que la aplicación directa del método analítico bien no origine señal o ésta esté por debajo de los límites de detección o determinación; en este caso, la aplicación de un método de separación conduce a una preconcentración indispensable para el uso del método analítico disponible (Figura I.4).

Desde el punto de vista químico-analítico, los procesos de separación pueden ser de dos tipos muy generales:

(a) Las técnicas de separación comprendidas en el primer tipo son aquellas que no comportan en sí mismas la detección o determinación de las especies separadas; es decir, la medición de la señal analítica se efectúa de manera discontinua respecto a la separativa. Tal es el caso de la precipitación, extracción líquido-líquido, diálisis, etc. El método analítico

correspondiente hace uso por separado de al menos dos técnicas: una separativa y otra determinativa.

(b) Otro tipo general de técnicas analíticas de separación son aquellas que implican o pueden implicar la detección o determinación de las especies involucradas de manera continua después de ser separadas. Las técnicas de separación más en uso (cromatografía líquida o gaseosa) tienen integrados los sistemas de separación y de detección, por lo que el cromatógrafo actúa globalmente como instrumento suministrando información cualitativa y cuantitativa, aunque una etapa previa clave sea la separación de los analitos en la columna. No es de extrañar que estas técnicas de separación sean tratadas en el contexto del Análisis Instrumental en numerosos libros de texto.

1.3 CLASIFICACION DE LAS TECNICAS ANALITICAS DE SEPARACION

Existen numerosas clasificaciones de los procesos de separación. En todos los tratados sobre la materia se incluyen varias. Estos intentos de sistematización son, a primera vista, reiterativos, pero la enumeración de varias clasificaciones es muy intuitivo y pedagógico ya que el número de técnicas separativas descritas es muy elevado, y además, proporcionan una idea del funcionamiento de cada una y su interrelación. Es frecuente, no obstante, que cada clasificación no sea exhaustiva y técnicas especiales aparecen sólo en algunas de ellas.

Se ha intentado aquí reunir las clasificaciones más interesantes. Previamente se ha realizado una ordenación de estas clasificaciones, según se consideren estas técnicas desde un punto de vista estático o dinámico, es decir, según se considere el proceso "disecado" o se observe desde un punto de vista operativo. En la Tabla I.1 se encuentra la clasificación general de estas sistematizaciones.

Tabla I.1
Ordenación de las distintas clasificaciones de las técnicas analíticas de separación

Criterios estáticos	Según las fases	Según el tipo de fase
		Según el origen de la 2ª fase
	Según las fuerzas puestas en juego	
Criterios dinámicos	Según el tipo de control del proceso	
	Según el contacto entre las fases	Según el flujo relativo entre fases

A continuación se va a exponer cada una de las clasificaciones, de las que se hará un breve comentario.

1.3.1 Criterios estáticos

1.3.1.1 Clasificación según las fases implicadas

Varias clasificaciones de los procesos de separación se basan en las fases implicadas en los mismos, y que facilitan la separación de la mezcla problema.

TABLA I.2
Clasificación de los procesos analíticos de separación basada en la naturaleza de las fases

Fases	Nombre de la técnica	Esquema del proceso de separación de la mezcla binaria A+B	
Sólido-líquido	Precipitación	$(A+B)_{dis}$ + Reactivo precip.	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (sól)} \\ \swarrow & B \text{ (dis)} \end{matrix}$
	Cristalización	$(A+B)_{sól}$ + Disolvente	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (dis)} \\ \swarrow & B \text{ (sól)} \end{matrix}$
	Cromatografía líquida de adsorción	$(A+B)_{sól}$ + Sólido	$\begin{matrix} \nearrow & A \text{ (dis)} \\ \searrow & B \text{ (sól)} \end{matrix}$
	Cambio iónico	$(A+B)_{dis}$ + Resina	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (res)} \\ \swarrow & B \text{ (dis)} \end{matrix}$
	Cromatografía de exclusión	$(A+B)_{dis}$ + Gel poroso	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (gel)} \\ \swarrow & B \text{ (dis)} \end{matrix}$
Sólido-gas	Cromatografía gas-sólido	$(A+B)_{gas}$ + Sólido	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (sól)} \\ \swarrow & B \text{ (gas)} \end{matrix}$
	Sublimación	$(A+B)_{sól}$ + Calor	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (sól)} \\ \swarrow & B \text{ (gas)} \end{matrix}$
Líquido-líquido	Extracción	$(A+B)_{dis1}$ + Disolución ₂	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (dis}_1) \\ \swarrow & B \text{ (dis}_2) \end{matrix}$
	Cromatografía líquida de partición	$(A+B)_{dis1}$ + Disolución ₂ (soporte)	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (dis}_2) \\ \swarrow & B \text{ (dis}_1) \end{matrix}$
	Electrodeposición con cátodo de mercurio	$(A+B)_{dis}$ + Hg + Corr. elect.	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (amal)} \\ \swarrow & B \text{ (dis)} \end{matrix}$
Líquido-gas	Destilación	$(A+B)_{dis}$ + Calor	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (gas)} \\ \swarrow & B \text{ (dis)} \end{matrix}$
	Cromatografía gas-líquido	$(A+B)_{gas}$ + Disolvente (soporte)	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (dis, sop)} \\ \swarrow & B \text{ (gas)} \end{matrix}$
	Fraccionamiento espumante	$(A+B)_{dis}$ + Formación espuma	$\begin{matrix} \searrow & A \text{ (esp)} \\ \swarrow & B \text{ (dis)} \end{matrix}$

sól: sólido dis: disolución res: resina amal: amalgama
sop: soporte esp: espuma

La sistematización más simple es la basada en la naturaleza o tipo de las dos fases puestas en contacto. Comprende cuatro apartados, que corresponden a las combinaciones binarias de los tres estados (sólido, líquido y gaseoso) en que pueden encontrarse cada una de las fases, a excepción de sólido-sólido y gas-gas. En la Tabla I.2 se muestran las diferentes técnicas dentro de cada apartado, y además se incluye un esquema de separación de la mezcla binaria de dos sustancias A y B, en cada técnica.

La existencia de las dos fases es indispensable para originar el proceso separativo. Normalmente, la fase que contiene a la muestra se denomina fase inicial. La segunda fase puede originarse de dos maneras:

(a) Directamente, es decir, mediante la provocación "in situ" de un fenómeno físico o químico que crea una segunda fase en la ya existente. Los ejemplos más característicos son la precipitación (adición de un reactivo disuelto que provoca la aparición de un precipitado) y la destilación (la elevación de la temperatura provoca la formación de la fase gaseosa).

(b) Indirectamente, mediante el uso de una fase externa al sistema inicial, que se incorpora al mismo (un líquido inmiscible: extracción, un sólido: cromatografía, cambio iónico).

En la Tabla I.3 se clasifican algunos procesos de separación según el criterio estático del origen de la segunda fase.

Tabla I.3
Clasificación de las técnicas de separación según el origen de la segunda fase

Segunda fase formada "in situ"	Segunda fase añadida
Precipitación Destilación Electrodeposición Fusión por zonas Fraccionamiento espumante	Extracción Cromatografía Cambio iónico Electroforesis Diálisis

1.3.1.2 Clasificación según las fuerzas puestas en juego

Las técnicas de separación también pueden clasificarse según el tipo básico de proceso que facilita la separación, es decir, según el tipo de fuerzas implicadas, las cuales pueden ser mecánicas, físicas o químicas. La clasificación de la Tabla I.4 no pretende ser rigurosa, toda vez que muchos procesos de separación se basan realmente en fenómenos físico-químicos, aunque predomine uno en particular.