

Métodos cromatográficos

Examen, 4 Junio 2005

Nombre:.....

El examen consta de 6 preguntas y 4 problemas con un valor total de 10 puntos (1 cada cuestión). Se han de contestar y resolver en el espacio correspondiente.

1. Técnicas de separación

- a) Dependencia del factor de recuperación con el volumen de fase orgánica y acuosa utilizados en una extracción líquido-líquido
- b) Desarrolla el coeficiente de distribución para una molécula con un grupo básico que dimeriza en fase orgánica.

2. Parámetros básicos en cromatografía.

a) Factor de capacidad

b) Expresar la altura del plato teórico de acuerdo con la ec. de Van Deemter. Explicar los términos que aparecen en la misma.

3. Cromatografía de gases.

a) Detector de ionización de llama (FID: principios básicos, características, limitaciones y principales aplicaciones.

b) Las columnas capilares han desplazado casi completamente a las rellenas en CG de reparto. ¿Por qué?. Justifica la respuesta.

4. Cromatografía líquida de alta resolución.

a) Describe como abordarías el problema de la elección de la fase móvil en HPLC, fase reversa C18, suponiendo un analito y una matriz de los que no hay referencias descritas en la bibliografía

b) ¿Qué significa y porqué se hace un gradiente de elución?. Justificalo en términos de variación del factor de capacidad.

5 Electroforesis capilar:

a) ¿Cual es el mecanismo de separación en electroforesis capilar de zona (CZE)?

c) ¿Cual es el mecanismo de separación en la Cromatografía Electrocinética Capilar Micelar (MEKC)

6

a) Cromatografía iónica (CI). Características de la fase estacionaria. Cita alguna de sus principales aplicaciones.

b) ¿Que se quiere significar por “cromatografía en capa fina bidimensional”?

7. Se ha de separar el compuesto A de la mezcla A+B mediante una extracción líquido-líquido. A) Calcular la relación de volúmenes de fases necesaria para extraer el 99,9% de la sustancia A. b) En estas condiciones, ¿qué porcentaje de B impurifica a A en fase orgánica?.

$$\alpha_{A/B} = 1,2 \times 10^4, (K_D)_B = 0,5$$

8. Bohman y colaboradores describieron un procedimiento de HPLC de fase inversa para el análisis cuantitativo de vitamina A en los alimentos, utilizando el método de adiciones de patrón. En un ejemplo típico, se colocó una muestra de 10,067 g. de cereales en un matraz erlenmeyer de 250 mL. junto con 1 g. de ascorbato sódico, 40 mL. de etanol y 10 mL. de KOH al 50% p/v. Tras refluir durante 330 minutos, se añadieron 60 mL. de etanol y se enfrió la disolución a temperatura ambiente. La

vitamina A se extrajo usando tres porciones de 100 mL. de hexano. Las porciones combinadas de hexano se evaporaron y el residuo con la vitamina A se transfirió a un matraz volumétrico de 5 mL. y se enrasó con metanol. Se preparó una adición de patrón de la misma forma, usando una muestra de 9,093 g. de cereal y añadiendo 0,200 mg. de vitamina A. La inyección de la muestra y la adición de patrón en el HPLC produjo áreas de pico de $6,77 \times 10^3$ y $1,32 \times 10^4$, respectivamente. Calcular el contenido en vitamina A de la muestra en $\mu\text{g/g}$ de cereal.

9. Dos compuestos con factores de capacidad de 4,00 y 5,00 se inyectan en una columna cromatográfica de 1000 platos teóricos. El tiempo de retención del compuesto menos retenido es de 10,0min.
 - a) Calcular el tiempo muerto y el tiempo de retención del compuesto 2
 - b) El ancho a mitad de banda y en la base de cada pico

10. Un grupo de estudiantes analiza metanol en un aguardiente por cromatografía de gases, usando acetona como patrón interno. El procedimiento experimental que siguen es: a una serie de matraces aforados de 25 mL, añaden 12 mL de etanol, unos 8 mL agua destilada, agitan y dejan reposar 0,5 hrs aprox.. Preparan una disolución stock de acetona, transfiriendo 10 mL a un matraz de 250 mL y enrasando con agua. La disolución stock de metanol se prepara de forma análoga diluyendo 8 mL a 250 mL con agua. A todos los matraces de 25 mL se añade 1 mL de la disolución de acetona y volúmenes diferentes de la disolución de metanol, enrasando con agua destilada. 20 mL del aguardiente se transfieren a un matraz de 25 mL, se añade 1 mL de la disolución de acetona y se enrasa con agua. Los resultados obtenidos son:

matraz	vol. disolución Metanol	área pico Metanol	área pico acetona
1	1	9.400	14.025
2	1,5	15.450	15.600
3	2	18.000	13.575
4	2,5	25.750	15.450
muestra	--	14.500	15.000

Calcular el % en volumen del metanol en el aguardiente.