

SELECCIÓN DE FASES ESTACIONARIAS EN CROMATOGRAFÍA SUPERCRÍTICA

Cristina PÉREZ GAMARRA

Director: Dra. Mónica Rodríguez García-Risco

Departamento de Química Física UAM – CIAL

Resumen

La cromatografía supercrítica (SFC) es una técnica de separación que emplea como fase móvil un fluido supercrítico. Es una técnica alternativa o complementaria a la GC, puesto que emplea temperaturas moderadas, lo que permite el análisis de compuestos termolábiles, y alternativa a HPLC puesto que reduce los tiempos de análisis y el consumo de disolventes. En la separación por SFC la fase móvil ejerce una gran influencia. Sus propiedades y poder de elución están determinados por su composición, si es fluido puro o con modificadores, tipo y proporción de estos modificadores y condiciones de presión y temperatura empleadas en el proceso. La fase estacionaria también ejerce un papel muy importante en SFC, junto a los mecanismos de retención de los diferentes compuestos y por tanto la posibilidad de separación de los mismos en un determinado análisis va a depender de la elección óptima de la columna cromatográfica.

En este trabajo se recogen los estudios exhaustivos realizados por West y Lessellier sobre la comparación de los mecanismos de retención de un grupo muy numeroso de compuestos en columnas cromatográficas de diferente naturaleza manteniendo constante la fase móvil, tanto en composición como en propiedades, es decir, presión, temperatura y porcentaje de modificador, con el objetivo de estudiar exclusivamente la influencia de la fase estacionaria.

La comparación se basa en la representación de los logaritmos de los factores de retención ($\log k$) de unos compuestos seleccionados en cada una de las diferentes columnas respecto al $\log k$ en una columna convencional C18, utilizando una fase móvil constante de CO₂-MeOH 90:10 (v/v), a 15 MPa de presión, 25°C de temperatura y un flujo de 3 mL/min. En las representaciones de este parámetro, las pendientes de las regresiones lineales de los factores de retención indican si las columnas seleccionadas tienen el mismo mecanismo de retención frente a una familia de compuestos. Si las pendientes son positivas, con valores similares o iguales a la unidad, las columnas se comportan de manera similar y la separación no se mejora con el cambio de columna. Cuanto mayor sea la pendiente, respecto a la de referencia, mayor es la selectividad del soluto hacia ella, por lo que mejor será la separación en esa columna y por último, pendientes negativas y ángulos entre vectores cercanos a 90° indican comportamientos opuestos de retención¹.

Los resultados de estos estudios muestran que las fases estacionarias tipo C4, C8 y C12 tienen el mismo mecanismo de retención que las C18 en SFC y su retención será mayor cuanto mayor sea la hidrofobicidad del compuesto, y menor cuando el compuesto tenga grupos polares en su estructura. Las fases estacionarias tipo C6PHE



y PE se comportan de manera muy diferente dependiendo del tipo de compuestos a analizar respecto a la de referencia. Los alquilbencenos se podrían analizar indistintamente por estas columnas y las C18, los compuestos aromáticos y fenólicos con C6PHE. La fase estacionaria PE es adecuada para la separación de mezclas de compuestos no polares y polares con SFC. Las aromáticas tipo PGC y OPHE tienen gran afinidad por los compuestos ácidos y llegan incluso a separar isómeros de compuestos aromáticos y las fases estacionarias polares como SI, PEG, EP se pueden utilizar para separar los alquilbenzoatos y compuestos fenólicos, mientras que los alquilbencenos no se retienen ni en SI ni en PEG. La fase más utilizada en SFC es la EP, ya que se producen diversas interacciones entre el compuesto y la fase estacionaria¹.

La selección de la fase estacionaria se puede realizar también en base a diferentes factores o utilizando distintas metodologías. Una de ellas, empleada por West y Lesellier en sus estudios, es la relación lineal del parámetro de solvatación (LSER), que permite predecir el factor de retención, k . Conocer este factor es importante porque permite predecir el comportamiento de un compuesto en una determinada columna y determinar así si es adecuada o no para una separación en concreto¹.

$$\log(k) = c + eE + sS + aA + bB + vV$$

Este modelo se basa en dos tipos de datos, por un lado los descriptores del soluto (E, S, A, B, V). Cada descriptor representa un tipo de interacción que puede experimentar el soluto por sus grupos funcionales, y se expresa con valores positivos y elevados de ese determinante. Y por otro lado los coeficientes de solvatación (e, s, a, b, v), que recogen las clases de interacciones que puede experimentar el sistema cromatográfico. Si los valores son positivos y elevados el tipo de interacción al que representa ese factor, se dará entre la fase estacionaria y el soluto (sólo si el soluto elegido presenta ese tipo de interacción), y si es negativo con la fase móvil. Todos estos parámetros se determinan experimentalmente, aunque existen algunos programas informáticos y métodos simplificados que reducen esta experimentación^{2,3}.

Este método también permite estimar la separación de dos solutos a través del factor de separación, α . Es decir puede predecir si la columna va a ser capaz de separar dos compuestos sin necesidad de experimentación, sólo conociendo los descriptores del soluto y los coeficientes de solvatación².

La aplicación de estos modelos de selección permite reducir costes y tiempos de experimentación al determinar la fase estacionaria óptima en un proceso separativo.

Bibliografía

- [1] E. Lesellier (2009). J Chromatogr A, 1216, pp. 1881–1890
- [2] C. West, E. Lesellier (2008). J Chromatogr A, 1189, pp. 227–244
- [3] C. West, J. Ogde, E. Lesellier (2009). J Chromatogr A, 216; pp. 5600–5607