

Cromatografía y
Técnicas
A fines

*Boletín del Grupo de Cromatografía
y Técnicas Afines de la Real Sociedad
Española de Química*

Volumen 10. Núm. 1 (1989)

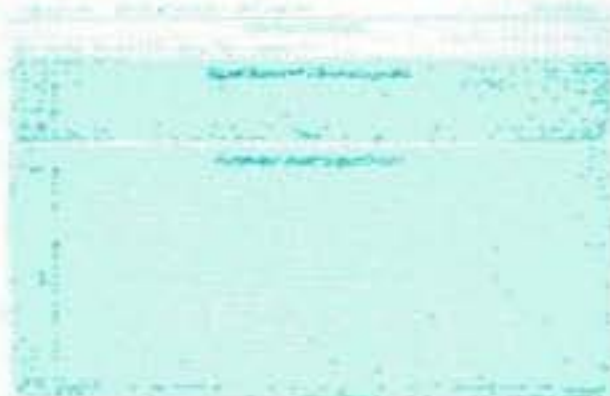
No hay nada difícil en nuestro software

El Cromatógrafo Personal SYSTEM GOLD aúna un avanzado sistema de μ y un Ordenador Personal, para simplificar muchas funciones de μ .

Nuestro software es lo que hace las cosas fáciles. Menús de ventana claros, pantallas de ayuda eficaces, ratón y gráficos de alta resolución, le ofrecen el control más sencillo de sus datos.

Todos los módulos del SYSTEM GOLD son completamente programables y están conectados en una red digital bidireccional. Así, usted puede controlar y mantener el sistema completo desde el teclado.

Los algoritmos de integración que utilizamos le ofrecen resultados precisos y reproducibles.



La perfección de los gráficos post-análisis facilita la comparación y estudio espectral de los datos almacenados.

Dado que es un sistema multitarea, usted puede obtener y revisar resultados al tiempo que el equipo analiza nuevas muestras.

Es, además muy fácil configurar el SYSTEM GOLD para cualquier aplicación: desarrollo de métodos, control de calidad, análisis de aminoácidos, proteínas, péptidos, etc.

Llámenos para más información.

BECKMAN

Beckman Instruments España, S. A.

AVDA. DE LAS CORTES, 107 - 28014 MADRID

Tel. (91) 724 25 01 - Telex 4105 BECT E - Telex (91) 724 25 02

Código de área 9146 - 19025 BARCELONA - Tel. (91) 724 25 01

CROMATOGRAFIA Y TECNICAS AFINES

Madrid, julio de 1989. Vol. 10. Núm. 1.

GRUPO DE CROMATOGRAFIA Y TECNICAS AFINES

(Real Sociedad Española de Química)

INDICE

- 3 PALABRAS DEL PRESIDENTE
- 5 ESTUDIO DE LA FRACCION VOLATIL DE LOS ZUMOS DE FRUTAS,
por G.P. Blanch y T. Herráiz
- 42 SEPARACION DE RACEMATOS POR HPLC, por Félix Sánchez Alonso
- 50 ANALISIS DE FOSFOLIPIDOS POR HPLC, por Manuel Pascual Marcos
- 65 ESTEREOISOMEROS EN ALIMENTOS. ANALISIS CROMATOGRAFICO,
por T. Herráiz y G.P. Blanch
- 72 CROMATOGRAFIA DE FLUIDOS SUPERCRITICOS: LA TECNICA DEL AÑO,
por J. Solé Ribalta
- 77 DETECTORES ELECTROQUIMICOS EN HPLC HOY. VENTAJAS DE LOS
DETECTORES COULOMETRICOS FRENTE A LOS AMPEROMETRICOS,
por Adrián García de la Marina
- 81 SFC/IR-FT: CROMATOGRAFIA DE FLUIDOS EN ESTADO SUPERCRITICO CON
DETECCION INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER,
por Dick Wieboldt, Greg Adams y J.M. Bruna
- 86 NOTICIAS DEL GCTA
- 90 ALGUNAS PUBLICACIONES DE MIEMBROS DEL GCTA
- 95 NUEVOS SOCIOS DEL GCTA
- 97 INFORMACIONES
- 102 CURSOS
- 103 RESEÑA DE LIBROS
- 104 NOVEDADES TECNICAS

Editores:

— **Isabel Martínez Castro**

Instituto de Química Orgánica General, CSIC

Juan de la Cierva, 3 - 28006 Madrid. Tel. 262 29 00 (ext. 212)

— **Guillermo Reglero Rada**

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

Juan de la Cierva, 3 - 28006 Madrid. Tel. 262 29 00 (ext. 277)

Depósito legal: M-1902-1975

Imprime:

HELIOS, S.A., Conde de Cartagena, 18 - Tel. 551 38 94 - 28007 Madrid

**LEE SCIENTIFIC
HA DEMOSTRADO
POR QUE LA SERIE**

**600
ES EL**



**UNICO
SFC Y SFC/GC
QUE UD.
DESEARIA USAR
SIEMPRE**



Palabras del presidente

En mi interior escrito hacía referencia a la conveniencia de plantearnos un relanzamiento de nuestras actividades e imagen de grupo científico y técnico y también invitaba a reflexionar sobre nuestro futuro en el GCTA. Pues bien, o la reflexión está resultando muy profunda o sólo reflexionamos los miembros de la Junta Directiva. Me hubiera complacido pulsar la opinión y establecer contacto con socios del grupo dispuestos a aportar ideas, críticas o sugerencias pero sólo se han recibido unas amables palabras de apoyo de un socio, que evidentemente agradecemos. Ante tal silencio colectivo no puedo sustraerme a la tentación de preguntarme si debo seguir insistiendo en si el GCTA podría ser más útil a todos los socios. Quizás ya lo es suficiente por lo que no caben mayores esfuerzos. Es realmente tentador pensar así pero sin duda resulta mucho más estimulante pensar en que necesariamente todavía queda mucho por hacer. Por lo tanto, en la Junta Directiva continuaremos buscando fórmulas para mejorar, si cabe, la proyección del Grupo hacia sus socios. Con este objetivo en mente hemos intentado dotar de un formato más ágil y atractivo a la reunión anual introduciendo elementos novedosos como la celebración de un curso teórico-práctico sobre columnas capilares que tendrá lugar un día antes, la organización de una exposición comercial íntimamente ligada en su ubicación a la exhibición de carteles científicos y el mantenimiento de estos últimos durante toda la reunión con la confianza en que todo ello redundará en mayores posibilidades de interacción y discusión entre todos los participantes.

Asimismo, para la selección de conferenciantes se ha intentado presentar un abanico de tópicos de actualidad incluyendo un tema en la frontera de la cromatografía líquida como la electrofóresis capilar junto a otros eminentemente prácticos como las normas GLP y la automatización y evaluación crítica de sistemas de tratamiento de datos sin olvidar por su importancia las aplicaciones biomédicas. Como complemento se han previsto dos sesiones de discusión sobre espectrómetros de masas de sobremesa como detectores cromatográficos y sobre cromatografía tónica. Tanto estas intervenciones como las comunicaciones que se presenten se recogerán en un libro de resúmenes.

No obstante quisiera insistir en que estamos a tiempo de recibir cualquier sugerencia encaminada a mejorar el programa o formato de la reunión tanto en sus aspectos científico, social o divulgativo y que todas ellas serán tenidas en cuenta por la Junta Directiva en la confección del programa final.

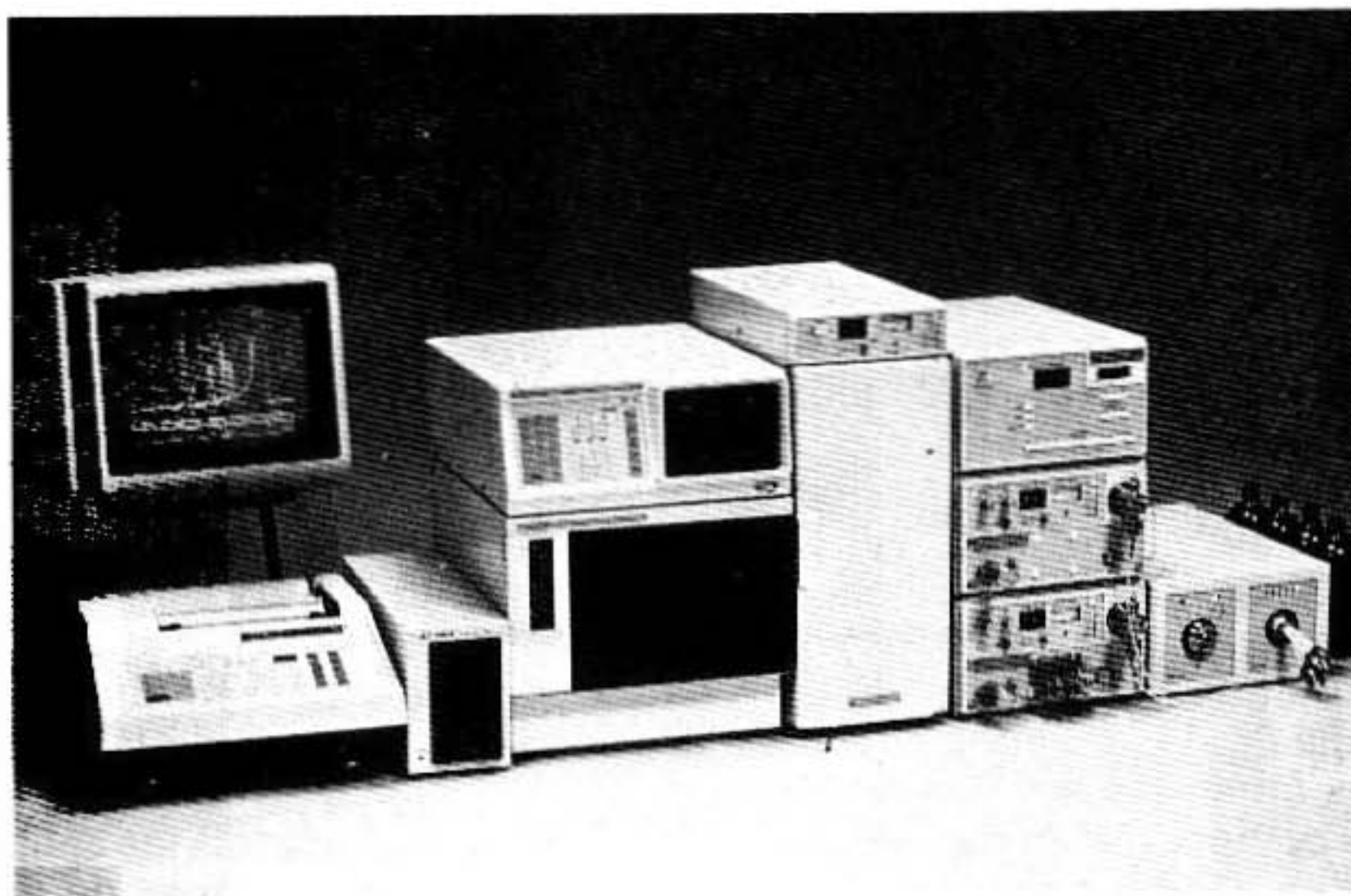
Pensamos que con estas premisas la reunión puede ser un éxito pero a partir de ahora esto ya no depende tanto de nosotros, sino de la participación entusiasta de todos los socios, no sólo asistiendo sino también enviando trabajos.

Nos veremos en noviembre.

E. Gelpi

Si Ud. quiere **HPLC**
Si Ud. quiere un **buen HPLC...**
Si Ud. quiere un **sistema modular...**
Si Ud. quiere un **excelente sensibilidad...**
Si Ud. quiere un **equipo que no se averíe...**
Si Ud. quiere **la mejor relación calidad precio...**

UD. QUIERE UN HPLC SHIMADZU



IZASA

IZASA, S. A.

C/. Aragoneses, 13
Pol. Ind. Alcobendas
28100 MADRID

C/. Calabria, 174
08015 BARCELONA

CONSULTENOS EN DELEGACIONES DE:

Barcelona: 425 01 00; **Bilbao:** 476 13 50; **Gijón:** 35 67 46; **Granada:** 28 07 50;
Las Palmas: 24 21 49; **Madrid:** 653 71 99; **Murcia:** 29 87 11; **La Laguna:** 65 01 12;
Santiago de Compostela: 58 28 00; **Sevilla:** 36 41 66; **Valencia:** 347 66 65;
Zaragoza: 77 17 14

Estudio de la fracción volátil de los zumos de frutas

G.P. Blanch, T. Herráiz

Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)

1.-INTRODUCCION

El aroma es una de las propiedades más importantes de los alimentos. El éxito y consumo de muchos de ellos depende en gran medida de su aroma característico. Este es el caso de los zumos de frutas, en los que el aroma juega un papel destacado en relación con su calidad. La investigación sobre la fracción volátil de los zumos ha abierto, además nuevas vías para la detección de adulteraciones o para la confirmación de la genuinidad de estos productos (1).

El aroma de los zumos de frutas está integrado por un elevado número de compuestos volátiles con distinto origen (2). Los denominados componentes naturales o "primarios" son biosintetizados en las células intactas de las frutas. Sus vías biogénicas, que derivan del metabolismo de los lípidos, terpenos y aminoácidos, conducen a la formación de un amplio espectro de diferentes clases de compuestos.

La composición del aroma natural puede alterarse significativamente en los procesos de elaboración del zumo. La principal vía de formación de "componentes secundarios" es la oxidación de lípidos. Otro proceso que altera el aroma primario es la liberación de compuestos volátiles de precursores glicosídicos.

Desde el punto de vista analítico, el aroma de los zumos es una muestra muy compleja. Al alto número de componentes y la variedad de sus naturalezas químicas se añaden otras dos notables dificultades: la baja concentración de los solutos y la presencia de componentes quirales, difíciles de separar (3). Así, en los frutos tropicales hay un gran número de compuestos quirales, algunos de los cuales sólo se encuentran como un enantiómero puro.

Hasta hace unos 20 años, el conocimiento de la composición del aroma de los zumos era muy limitado, pese a que los primeros estudios al respecto se realizaron a comienzos del siglo. Desde principios de los 60, con el desarrollo de la cromatografía de gases y su acoplamiento con espectrometría de masas, sin olvidar la investigación en técnicas de aislamiento y concentración, se han identificado y cuantificado un gran número de compuestos volátiles en zumos de frutas.

El objetivo de este trabajo es revisar el estado actual del conocimiento del aroma de los principales zumos de frutas con especial atención a los compuestos identificados hasta el momento y a las técnicas de aislamiento y concentración más utilizadas

IDENTIFICACION

A continuación se presenta una relación de los compuestos volátiles identificados hasta el momento en los zumos de frutas de más consumo. En la mayoría de los casos la identificación se llevó a cabo por cromatografía de gases y espectrometría de masas.

ACIDOS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Acido Acético		(7)						(16)	(22)		
Acido Hexanoico		(7)						(16),(18),(24)	(22)		
Acido Octanoico		(7)						(16),(24)	(22)		
Acido Decanoico		(7)						(16),(24)	(22)		
Acido Undecanoico		(7)						(24)			
Acido Dodecanoico		(7)						(16),(24)			
Acido Tridecanoico		(7)						(24)			
Acido Tetradecanoico		(7)						(24)			
Acido Hexadecanoico		(7)						(24)			
Acido Butírico								(16),(24)	(22)		
Acido Nonanoico								(16),(24)			
Acido Propiónico									(22)		
Acido 3-Metilbutírico								(16),(24)	(22)		
Acido 2,2-Dimetil-3-(2-Metilpropil) ciclopropano carboxílico								(16)			
Acido Benzoico								(16),(24)			
Acido 2-metilbutírico								(24)	(22)		
Acido Cinámico								(24)	(22)		
Acido 2-metil Propiónico								(16),(24)	(22)		

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Acido Pentanoico								(24)			
Acido Cis-3-Mexenoico								(24)			
Acido 2-Etilhexanoico								(24)			
Acido Heptanoico								(24)			
Acido 3-Fenilpropionico								(24)			
Acido Fenil acético								(24)			
Acido 4-metil benzoico								(24)			
Acido 2-hidroxibenzoico								(24)			
Acido 4-hidroxibenzoico								(24)			
Acido Succínico								(24)			
Acido Glutárico								(24)			
Acido Subérico								(24)			
Acido Azelaico								(24)			
Acido Behénico								(24)			
Acido Ftálico								(24)			
Acido Palmitoleico								(24)			
Acido Heptadecanoico								(24)			
Acido Estearico								(24)			
Acido Oleico								(24)			

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Acido Linoleico								(24)			
Acido Linolénico								(24)			
Acido Araquídico								(24)			

ALCOHOLES

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
1-Butanol	(4)	(6)	(9)					(14),(15), (16),(19) (24)		(23)	(25),(27)
3-Metilbut-2-en-1-ol	(4)	(7)						(24)			
Cis-p-ment-2,8-dien-1-ol	(4)										
Fenol		(6)						(16),(18)			
p-vinil fenol		(6)									
2-Isopropenil-3-metilen-4-ciclohexen-1-ol	(4)										
Etanol		(6),(7),(8)	(9)	(10)	(21)	(11)		(14),(15), (16)	(22)	(23)	(25),(27)
1-Propanol		(6),(8)						(14),(15)	(22)	(23)	
4-Vinil-2-Metoxifenol	(4)							(16)			
2,6,6-Trimetil-2-vinil-4-hidroxitetrahidro pirano	(4)										
2,6,6-trimetil-2-vinil-5-hidroxitetrahidro pirano	(4)										
2-metil-3-buten-2-ol		(6),(8)									
2-metil-1-propanol		(6),(8)		(10)		(12)		(14),(15), (16),(19)	(22)	(23)	(25)

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
1-penten-3-ol	(6),(7)					(12)		(24)		(23)	
3-metil-1-butanol	(6),(7),(8)	(9)				(12)		(14),(15), (16),(19)	(22)	(23)	(25)
1-pentanol	(6),(7)	(9)			(21)			(14),(15), (16),(24)		(23)	
2-metil-2-butanol	(6)									(23)	
Cis-3-hexen-1-ol	(6),(7)	(9)			(21)	(11),(12)		(14),(15), (18),(19), (24)	(22)	(23)	(25),(26), (27)
Trans-2-hexen-1-ol	(6),(7)	(9)			(21)	(11),(12)		(15),(16), (18),(24)		(23)	
1-hexanol	(6),(7)	(9)	(10)		(21)	(11),(12)		(14),(15), (16),(19), (24)		(23)	(27)
2-heptanol	(6),(7),(8)		(10)					(16),(19)			
1-heptanol	(6),(7)							(15),(18), (24)		(23)	
1-octen-3-ol	(6),(7)							(24)			
6-metil-5-hepten-2-ol	(6),(7)										
2-etil-1-hexanol	(6),(7)							(18),(19), (24)	(22)		
Bencilalcohol	(6),(7)							(15),(16), (17),(18), (19),(24)	(22)	(23)	
1-octanol	(6),(7)		(10)					(15),(18), (19),(24)		(23)	
Feniletanol	(6),(7),(8)							(15),(16), (17),(18), (19),(24)	(22)	(23)	
1-Nonanol	(6),(7)							(24)			
3-fenil-1-propanol	(6),(7),(8)										
1-decanol	(6),(7)							(15),(16), (24)			
Furfuralcohol	(6),(8)										
2-butoxi-etanol	(7)										

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
1-undecanol		(7)						(24)			
6-metil-1-heptanol		(7)									
Isomaltol		(6),(8)									
Trans-2,6-dimetil-2,6-epoxi-7-octen-3-ol										(23)	
Cis-2,6-dimetil-2,6-epoxi-7-octen-3-ol										(23)	
Hexadecanol											(26)
2-Penten-1-ol					(21)			(24)			
2-propanol						(12)					
Trans-2-octen-1-ol								(24)			
2,6-di-tert-butil-4-metil fenol								(16)			
Tert-butil-2-metoxifenol								(16)			
6-tert-butil-o-cresol								(16)			
2,6-di-t-butil-4-etilfenol											(27)
Cis-2-hexen-1-ol								(17),(19)			
3-metil-2-butanol								(17)			
3-pentenol					(21)						
2-fenil-2-propanol		(7)									
2-(3-isopropil fenil)-1-propanol		(7)									
2-butanol										(23)	
Metoxi furanol		(7)									
2-nonanol				(10)							
3-hexanol										(23)	(26)
2-pentanol				(10)				(14)		(23)	
3-pentanol						(12)		(14),(24)		(23)	

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2-metil butanol						(12)		(15),(19)	(22)	(23)	(27)
2-hexanol										(23)	
Metanol								(14),(15), (16)		(23)	
Trans-2,6-dimetil-3,6-epoxi-7-octen-2-ol										(23)	
Cis-2,6-dimetil-3,6-epoxi-7-octen-2-ol										(23)	
3-octanol								(24)			
4-metil-1-pentanol								(16)			
Trans-3-hexenol					(21)			(16),(24)			
5-metil-1-hexanol								(16)			

ALDEHIDOS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Furfural	(4)	(6),(8)						(17)	(22)		(26),(27)
Trans-2-pentenal								(24)			(27)
Fenilacetaldehido	(4)	(6),(7),(8)						(18),(24)			
Decanal	(4),(5)	(6),(7)					(13)	(24)			
Acetaldehido		(6),(8)				(12)		(14),(17)		(23)	(27)
2-metil butanal		(6)									
3-metil butanal		(6),(7),(8)									
Pentanal		(6),(7)						(24)			
3-metil-2-butenal		(6)						(24)			
Hexanal		(6),(7)	(9)	(10)	(21)	(11),(12)		(14),(17),			(25),(27)

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Trans-2-hexenal	(4)	(6),(7)	(9)		(21)	(11)		(14),(16), (17),(24)			
Trans, trans-2,4-hexadienal		(6)						(18),(24)			
Heptanal		(6),(7)						(24)			
Trans-2-heptenal		(6)						(16),(24)			
Benzaldehido		(6),(7),(8)		(10)		(11),(12)		(16),(17), (18),(19), (24)		(23)	
Cis, trans-2,4-heptadienal		(6),(7)						(24)			
Trans, trans-2,4-heptadienal		(6),(7)						(18),(24)			
Trans-2-octenal		(6),(7)						(24)			
Nonanal		(6),(7)						(18),(24)	(22)		
Trans-2-nonenal		(6),(7)									
2-furfural											(25)
Trans, trans-2,4-nonadienal		(6),(7)									
Trans-2-decenal		(6),(7)									
Undecanal		(6),(7)									
Trans, trans-2,4-decadienal		(6),(7)						(18)			
Trans-2-undecenal		(6),(7)									
Dodecanal		(6),(7)									
Tridecanal		(6),(7)									
Tetradecanal		(6),(7)									
Pentadecanal		(6),(7)									(27)
Hexadecanal		(6)									(27)
Heptadecanal		(6)									
Octadecanal		(6)									(27)
5-metil furfural		(6),(8)									(27)

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
5-hidroxi-5-metil furfural		(6)									
Metional		(6),(8)						(18)			
Butanal		(7)						(14)			
Trans, trans-2,4-octadienal		(7)						(24)			
Propenal		(8)									
Cis-2-pentenal								(24)			
Pentenal					(21)						
Cis-2-hexenal					(21)	(11)		(16),(24)			
Cis-3-hexenal						(11)		(24)			
Propanal								(14)			
2-metil pentenal								(24)		(23)	
2-metil-2-butenal								(24)			
Isobutiraldehido								(16)			
3,4-dimetoxi cinamaldehido								(16)			
2-heptenal								(18)			
Salicil aldehido								(18)			
Trans-2-cis-6-nonadienal								(18)			
Trans-2, cis-4-hexadienal								(18),(24)			
Trans-2, cis-4-heptadienal								(18),(24)			

CETONAS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2,3,6-trimetil 1-fenil buten-3-ona-2-p-isopropenacetofenona		(8)									
4-hidroxi-3-metoxiacetofenona								(16)			
Metilvinil cetona								(16)			
3-metil-3-buten-2-ona								(24)			
2-metil-3-pentanona								(24)			
1-penten-3-ona					(21)			(24)			
2-hexanona								(24)			
3-heptanona								(24)			
2-metil-2-hepten-6-ona								(24)			
6-metil-3,5-heptadien-2-ona								(24)			
2-nonanona				(10)				(24)			
2-decanona								(24)			
6, 10, 14-trimetil-2-heptadecanona								(24)			
5-butil dihidro-3H-furan-2-ona											(27)
Dihidro-5-hexil-3H-furan-2-ona											(27)
6-pentiltetrahidro-2H-piran-2-ona											(27)
Dihidro-5-octil-3H-furan-2-ona											
Cis-5,8-megastigmadien-4-ona		(7)									
3-buten-2-ona		(7)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2,3-butanodiona		(6),(7)				(12)					
3-metil-2-butanona		(7)						(24)			
3-pentanona	(5)	(7)				(12)		(24)			
2-metil-1-penten-3-ona		(6),(7)									
3-hidroxi-2-pentanona		(7)									
3-octanona		(7)				(12)					
2,3-octadiona		(6),(7)									
6-metil-5-hepten-2-ona		(6),(7)									
Trans, trans-3,5-octadien-2-ona		(7)									
4-metil acetofenona		(7)									(27)
2-tridecanona		(7)									
2-oxaciclo heptadecanona		(6),(7)									
Hexahidro farnesil acetona		(6),(7)						(16),(19)	(22)		
3-hidroxi-2-butanona		(7),(8)									
Acetofenona		(6),(7)						(16),(24)			
3,4-dimetil-2,5-furandiona		(7)									
Ciclopentanona				(10)				(17)			
Acetona				(10)		(12)		(14),(16),(19)			
2-octanona								(24)		(23)	
4-heptanona										(23)	
4-fenil-2-butanona		(6)									
2-undecanona		(6),(7)									
2-dodecanona		(6),(7)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2-oxaciclote- decanona		(6)									
4-hidroxi- 5-metil-(4,4)- dihidro-3-furanona		(8)									
2,5-dimetil- 4-hidroxi- 2,3-dihidro- 4-furanona									(22)		
2-metil- (2H) dihidro- 3-furanona		(6)									
α -furanona		(6)									
4-hidroxi-5- metil-(4H)-dihidro- 3-furanona		(6)									
4,4'-dimetil (3H)-dihidro- 2-furanona		(6)									
2-furil-1,2- propanodiona		(6),(8)									
Isobenzofuranona		(6)									
4,4,7A-trimetil- 6,7,7,7 A(4H)- tetrahidro-2- benzofuranona		(6)									
2-oxaciclo tetradecanona		(7)									
2,6,6-trimetilciclo hex-2-en-1-ona	(4)										
3-metil- 3-heptanona									(17)		
n-propil bencilacetona									(17)		
2-butanona		(6),(7)				(12)				(23)	
1-hidroxi- 2-propanona		(6)									
3-metil-3-buten- 3-ona		(6)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2-pentanona		(6),(7)		(10)				(17)		(23)	(26)
3-metil-4-penten-2-ona		(6)									
2,3-pentanodiona		(6),(8)									(27)
3-hidroxi-2-butanona		(6)						(16),(19)	(22)		
3-penten-2-ona		(6),(7)									
2,4-pentanodiona		(6)									
5-hexen-2-ona		(6),(8)									
1-hepten-3-ona		(6)									
2-heptanona		(6),(7),(8)		(10)				(24)		(23)	
Ciclohexanona		(6)									
2-metil-2-octanona		(6)									

ESTERES

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2-metil butanoato de etilo	(4)	(6),(7)	(9)							(23)	
Butanoato de metilo	(5)	(6),(7)	(9)	(10)	(21)	(12)		(15)	(22)	(23)	(27)
Acetato de etilo		(6),(7),(8)	(9)	(10)	(21)	(12)		(14),(15), (16),(19) (24)	(22)	(23)	(27)
Propanoato de metilo		(6),(7)						(15)		(23)	
Acetato de butilo		(6)	(9)	(10)		(12)		(17),(19)			
3-hidroxi butanoato de etilo		(6)						(19)			
Acetato de etoxi-etanol		(6)									
Butanoato de butilo		(6),(7)		(10)						(23)	

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Acetato de trans-3-hexenilo	(6),(7)										
Hexanoato de etilo	(6),(7)			(10)		(12)		(19),(24)	(22)		(27)
Pentanoato de isobutilo	(6)										
Acetato de hexilo	(6),(7)		(9)	(10)		(12)		(14),(15),(19),(24)			
Acetato de trans-2-hexenilo	(6),(7)							(24)			
Isopentanoato de butilo	(6)										
Levulinato de etilo	(6),(8)										
Butanoato de trans-2-hexenilo	(6),(8)										
Salicilato de metilo	(6),(8)							(18)			
Dodecanoato de metilo	(6),(7)							(15),(19)			
Dodecanoato de etilo	(6),(7)							(16)			(25),(27)
Tetradecanoato de etilo	(6),(7)										(27)
Hexadecanoato de metilo	(6),(7)					(12)					
Hexadecanoato de etilo	(6),(7)										(26),(27)
Carbonato de dietilo	(7)							(19)			
Isobutirato de metilo	(7)							(15)		(23)	
2-metil acrilato de metilo	(7)										
Propanoato de etilo	(7)		(9)	(10)		(12)					
Crotonoato de etilo								(19)		(23)	
Crotonoato de metilo	(7)									(23)	
Isopentanoato de metilo	(7)							(15)			

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Acetato de pentilo		(7)	(9)			(12)					
Butanoato de etilo		(7)	(9)	(10)	(21)	(12)				(23)	(25),(27)
Pentanoato de metilo		(7)								(23)	
Acetato de metilo				(10)		(12)		(15)	(22)		
Butanoato de propilo				(10)						(23)	
Pentanoato de etilo				(10)							
Acetato de 2-heptilo				(10)							
3-hexenoato de etilo				(10)							
Hexanoato de propilo				(10)							
2-hexenoato de etilo				(10)							
Butanoato de 2-heptilo				(10)							
Hexanoato de butilo				(10)							
Butanoato de cis-3-hexenilo				(10)		(12)					
Cis-3-octenoato de etilo				(10)							
Salicilato de etilo		(7)									
Adipato de dimetilo		(7)									
Isobutanoato de hexilo		(7)									
Decanoato de metilo		(7)				(12)		(15)		(23)	
Decanoato de etilo		(7)						(14),(16), (19)	(22)		(25),(27)
Cinamato de etilo		(7)									
5-hidroxi hexanoato de etilo		(7)									
Tridecanoato de metilo		(7)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Citrato de trimetilo		(7)									
5-hidroxi octanoato de etilo		(7)									
5-hidroxi decanoato de etilo		(7)									
Benzoato de bencilo		(7)									
Pentadecanoato de metilo		(7)									
Hexadecanoato de metilo		(7)									
9-hexadecanoato de metilo		(7)									
Heptadecanoato de metilo		(7)									
9-octadecanoato de metilo		(7)									
9,12,15-octadecatrienoato de metilo		(7)									
11,14,17-elcosatrienoato de metilo		(7)									
Butanoato de dimetilfenil carbinol		(7)									
Heptanoato de etilo						(12)		(19)			
Lactato de etilo		(8)							(22)		
3-metil butanoato de (Z)-3-hexenilo						(12)					
Acetato de propilo			(9)		(12)						
Acetato de isobutilo			(9)			(12)		(24)		(23)	
Acetato de bencilo								(17),(19)			

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Furanoato de metilo		(6),(8)									
3-metil butanoato de etilo		(7)				(12)				(23)	
Malonato de dimetilo		(7)									
Succinato de dimetilo		(7)									
Pentanoato de butilo		(7)									
Malonato de dietilo		(7)							(22)		
Octanoato de metilo		(7)				(12)		(15),(24)	(22)		
Succinato de dietilo		(7),(8)									
Benzoato de etilo		(7)								(23)	
Octanoato de etilo		(7)		(10)		(12)		(14),(16), (19),(24)			(25),(27)
Acetato de octilo		(7)				(12)					
Hexanoato de pentilo				(10)							
4,7-octadienato de etilo				(10)							
Hexanoato de 2-heptilo				(10)							
Hexanoato de hexilo				(10)		(12)					
Cis-3-octenoato de metilo						(12)					
(E)-4-octenoato de etilo						(12)					
Butanoato de hexilo			(9)	(10)		(12)	(13)				
3-metoxi-4-hidroxi benzoato de metilo								(16)			

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
3-metil butanoato de hexilo						(12)					
(E)-2-octenoato de etilo						(12)					
Octanoato de 2-propilo						(12)					
(Z)-4-decenoato de metilo						(12)					
Acetato de 2-fenil etilo								(16),(19)			
(Z)-4-decenoato de etilo						(12)					
Hexanoato de (Z)-3-hexenilo				(10)		(12)					
Hexanoato de isopropilo								(19)			
Heptanoato de (Z)-3-hexenilo						(12)					
Octanoato de (Z)-3-hexenilo						(12)					
Acetato de 3-metil butilo		(6),(7)	(9)			(12)		(14),(15), (19)	(22)	(23)	
Acetato de 2-metil butilo						(12)					
(E)-3-hexenoato de metilo						(12)					
Acetato de 3-metil-2-butenilo						(12)					
Acetato de 3-metil-3-butenilo						(12)					
2-metilpropanoato de etilo						(12)					
Benzoato de metilo					(21)			(19)		(23)	
Fenil acetato de etilo								(19)			
Acrilato de etilo									(22)		
Formiato de isoamilo											

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
3-hidroxi hexanoato de metilo									(22)		
3-hidroxi hexanoato de etilo				(10)					(22)		
3-acetoxi hexanoato de etilo									(22)		
4-acetoxi hexanoato de metilo									(22)		
5-acetoxi hexanoato de metilo									(22)		
5-acetoxi hexanoato de etilo									(22)		
Formiato de butilo											(27)
2-butenoato de etilo				(10)							(27)
Propionato de propilo										(23)	
Acetato de hexadecilo											(27)
Hexanoato de metilo				(10)				(15),(24)	(22)	(23)	
2-metil butanoato de 2-metil-1-propilo										(23)	
2-metil butanoato de 3-metil-1-butilo										(23)	
Heptanoato de metilo		(7)				(12)		(15)		(23)	
Benzoato de 2-metil-1-propilo										(23)	
Butanoato de bencilo										(23)	
Benzoato de 1-butilo										(23)	
Ftalato de dimetilo								(24)			
Acetato de cis-3-hexenilo				(10)		(12)		(24)			

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Formiato de metilo								(14)			
Formiato de etilo								(14)			
Butirato de isoámilo								(14)			
2-metilbutirato de metilo								(15)	(22)		
Isocaproato de metilo								(15)			
2-hexenoato de metilo								(15)			
Nonanoato de metilo		(7)						(15)	(22)		
Undecanoato de metilo								(15)			
Succinato de metil etilo								(15)			

ETERES

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
1,1'-dietoxi propano		(8)									
1,1'-dietoxi butano		(8)									
1,1'-dietoxi isopentano		(8)									
1,1-dietoxi etano		(6),(7),(8)								(23)	(27)
Eter dietílico								(14)			
1,1-dietoxi-2-metilpropano										(23)	
1-metoxi-1-propoximetano											

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
1,1'-dimetoxi etano		(6),(7)									
1,1'-dietoxi pentano		(6)									
1,2-dimetoxi benceno		(6)									
1,1'-dietoxi tolueno		(6)									
p,t-butil etoxi benceno		(6)									
3-metoxi hexano		(7)									
3-metoxi octano		(7)									
2,2'-dimetoxi etano		(7)									
1-etoxi-1-metoxietano		(7)								(23)	
1,1'-dimetoxi propano		(7)									
1,3'-dimetoxi propano		(7)									
1-etoxi-1-propoxi etano		(7)									
1,1'-dimetoxi heptano		(7)									
1,1'-dimetoxi octano		(7)									
1,1'-dimetoxi nonano		(7)									
1,1'-dimetoxi decano		(7)									
1,2-dimetoxi-1-feniletano								(12)			
2-metoxi-1-fenil-2-hidroxi etano		(7)						(12)			

HIDROCARBUROS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
4-isopropenil-1-metil benceno											(27)
Ciclohexano											(27)
1-isopropenil-4-metilbenceno	(4)										
Tolueno		(6),(7)				(12)		(17),(19),(24)		(23)	(25),(26)
o-xileno		(6),(7)				(12)		(24)		(23)	
p-xileno		(6),(7)				(12)		(24)		(23)	(25)
Estireno		(6),(7)				(12)		(19)			
m-xileno		(6),(7)				(12)		(24)			(25)
1,4-diacetil benceno		(6)									
Tetrametil benceno										(26)	
Difenilo								(24)			
Benceno		(7)				(12)					
3-metil difenilo								(24)			
1,2-dibromo etano										(23)	
Pentano				(10)							
Heptano				(10)		(12)		(17)		(23)	
Eicosano											(26)
3-metil pentano						(12)					
Heneicosano											(26)
1,1,1,-Tricloro etano											
Octano						(12)					
3-etilmetil benceno						(12)					
4-etilmetil benceno						(12)					
2-etilmetil benceno						(12)					

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2-etilmetil benceno						(12)					
Decano						(12)				(23)	
Naftaleno						(12)					
2-metil naftaleno						(12)		(24)			
1-metilnaftaleno						(12)					
Tridecano						(12)					
Tetradecano						(12)				(23)	
Pentadecano						(12)					
Hexadecano						(12)		(19)			
Heptadecano						(12)					
Diclorodifluoro metano						(12)					
Tricloroetileno						(12)					
2-metil pentano						(12)		(17)			
2-fenil-2-metilbutano								(17)			
3-fenil-2,4-dimetilpentano								(17)			
Butil benceno								(17)		(23)	
Cloruro de metileno								(19)		(23)	
2-propil ciclohexano										(23)	
1-propil ciclohexano										(23)	
1-propil benceno								(17)		(23)	
m-etil tolueno										(23)	
p-etil tolueno										(23)	
1,3,5-trimetil benceno										(23)	
p-etil tolueno										(23)	

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
1,2,3-trimetil benceno										(23)	
1-butil ciclohexano										(23)	
Docosano											(26)
1-hexeno								(16)			
1-dodeceno								(16)			
Tricosano											(26)
1-buteno								(16)			
2-hexino								(16)			
3-hexino								(16)			
2-metil-2,4-hexadieno								(16)			
Tert-butilbenceno								(16)			
1,4-dimetil-2-etilbenceno								(16)			
3-metil-1,4-heptadieno								(16)			
3-metil-1,4-hexadieno								(16)			
Hexano										(23)	
Metil ciclohexano										(23)	
Etil benceno								(24)		(23)	
2-propil benceno										(23)	

LACTONAS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
γ -Butirolactona		(6),(7),(8)									
γ -Hexalactona		(6),(7)				(11)			(22)	(23)	
γ -Octalactona		(6),(7)				(11),(12)			(22)	(23)	
γ -Nonalactona		(6),(7)				(11)				(23)	
γ -Decalactona		(6),(7)				(11)				(23)	
δ -Hexalactona		(6),(7)				(11)					
δ -Dodecalactona		(6),(7)									
δ -Tridecalactona		(6)									
δ -Tetradecalactona		(6)									
β -Angelicalactona		(6),(8)									
α -Angelicalactona		(6),(8)									
δ -Octalactona		(7)				(11)				(23)	
γ -Undecalactona		(7)									
δ -Undecalactona		(7)									
γ -Heptalactona										(23)	
γ -Dodecalactona						(11)					

COMPUESTOS TERPENICOS Y OTROS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
α -pineno	(4),(5)	(6),(7)				(12)	(13)				(25),(26)
Cis-óxido de limoneno	(4)										
Cis-óxido de anhidrolinalol	(4)										
Mirceno	(4)	(6)		(10)		(12)		(16),(24)			(25),(26),(27)
α -felandreno	(4)	(7)									(25),(26)

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Trans óxido de anhidrolinalol	(4)										
β -felandreno	(4)					(12)					(26),(27), (25)
Limoneno	(4),(5)	(6),(7),(8)		(10)		(12)	(13)	(19),(24)		(23)	(25),(26), (27)
d-limoneno								(17)			
Cis- β -ocimeno	(4)					(12)					(27)
Trans- β -ocimeno	(4)					(12)					
Cis-óxido de linalol	(4)							(24)			
Trans-óxido de linalol								(24)			
Linalol	(4)	(6),(7),(8)		(10)		(11),(12)	(13)	(15),(16), (17),(19) (24)	(22)	(23)	
β -terpineol	(4)	(6)									
Umbelulona	(4)										
P-cimen- α -ol	(4)										
α -terpineol	(4)	(7),(8)		(10)		(12)	(13)	(16),(17), (18),(19), (24)		(23)	
Cis-carveol	(4)										
Trans-carveol	(4)										
Carvona	(4)	(6),(7)									
Geraniol	(4)	(6),(7)						(16),(17), (18),(24)		(23)	
p-ment-1-en-9-ol	(4)										
p-ment-3-en-9-ol	(4)										
p-ment-4,8-dien-9-ol	(4)										
p-ment-1,8-dien-9-ol	(4)										
1,8-mentadien-7-al	(4)										

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
α -copaeno	(4)							(24)	(22)		(26),(27)
Cis-cariofileno	(4)										
α -cubebeno	(4)	(7)									
β -cubebeno	(4)										
Trans-cariofileno	(4)										
β -cariofileno	(4),(5)							(24)			(25),(26),(27)
α -humuleno	(4)							(24)			(25),(26),(27)
β -copaeno	(4)										
δ -cadineno	(4)	(7)						(24)	(22)		(26)
β -cariofileno alcohol	(4)										
β -nerolidol	(4)										
δ -cadinol	(4)										
Butanoato de geranilo	(5)										
β -pineno		(6),(7)								(23)	(25),(26)
p-cimeno		(6),(7),(8)				(12)		(19)		(23)	(25),(26),(27)
α -terpinoleno		(6),(7)									(25),(26),(27)
α -campolenal		(6)									
p-o-mentenal		(6),(8)									
Pulegona		(6),(7)									
Camfor		(6),(7)									
Verbenona		(6)									
Isopiperitona		(6)									
Damascenona		(8)									
Guaiacol		(6)									
p-vinil guaiacol		(6),(8)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Eugenol		(6),(7)									
Metil eugenol		(6),(7)						(17)			
Vainillina		(6),(7)									
Elemicina		(6),(7)									
Trans-óxido furanico de linalol		(6)						(16)			
γ -terpineno		(7)				(12)		(16)			(26),(27)
2-careno		(7)									
8-etoxi-p-cimeno		(7)									
Trans-pino carveol		(7)									
p-1,5-mentadien-7-ol		(7)									
p-1,4-mentadien-7-ol		(7)									
Timol		(7)									
Borneol		(7)						(19)			
Mircenol		(8)									
Terpinoleno				(10)							
Hotrienol						(11)		(16),(24)			
γ -Terpineno											(25)
Citronelol								(16),(24)			
trans-hotrienol								(16)			
λ -terpineno								(16)			
Car-3-eno								(16)			(25),(26) (27)
β -elemeno											(26)
Guaieno											(26)
Carveol											(27)
α -tujeno											(27)
γ -pirona		(6)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Cis-óxido furánico de linalol								(16)			
Oxido de nerol								(16)			
Trans-óxido piránico de linalol								(16),(18)			
Cis-óxido piránico de linalol								(16),(18)			
Oxido dehidro-furan linalol								(16)			
Propionato de geranilo								(17)			
1,4-cineol								(19)			
1,8-cineol		(6)						(19)			
Oxido de linalol									(22)		
α -ocimeno										(23)	
γ -cadineno								(24)			
Calameneno								(24)			
β -bourboneno								(24)			
α -muroleno								(24)			
γ -muroleno								(24)			
β -selineno								(24)			(26)
β -ylangeno								(24)			
α -guaieno								(24)			
α -farneseno								(24)			
α -cadinol								(24)			
Sabineno											(25),(26), (27)
Acetato de sabinilo											(25)
α -fencheno											(25)
α -selineno											(26)
Metil isoeugenol		(7)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
4-alil-2,4- dimetoxi fenol		(7)									
Mirtenal		(7)									
Ciclamenaldehido		(7)									
Verbona		(7)									
Piperitona		(7)									
Carvenona		(7)						(16)			
Isopiperitona		(7)									
β -ionona		(7)		(10)				(16),(17)		(23)	
Dihidro- β -ionona		(7)									
Trans-geranilacetona		(7)									
Propiovanillona		(7)									
Safranal		(8)									
α -camfolenal		(8)									
p-cresol		(8)						(16)			
Isoborneol		(6),(7)									
Terpinen-4-ol		(6),(7)						(16),(19),(24)			
p-cimen-8-ol		(6),(7),(8)									(27)
Mirtenol		(6),(7)									
Borneol		(6)									
2-hidroxicineol		(6)									
Nerol		(6)						(16),(17),(24)			
Geranial											(27)
p-cimen-7-ol		(6),(7)									
Acetato de linalilo	(4)										
Cinamil alcohol		(6)									
Vitispirano		(6),(8)									
Isoeugenol		(7)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Cadinol		(7)									
Alcohol cis-cinámico		(7)									
Cis-piperitol		(7)									
Oxido de nerol								(24)			
Cis-óxido de rosa								(24)			
Trans-óxido de rosa								(24)			

VARIOS

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Acetovanillona								(24)			
Teaspirano								(24)			
Dimetilsulfona								(16)			
2-vinil-2-metiltetra hidrofuran-5-ona								(24)			
N-metil antranilato de metilo	(5)										
Metil furano								(17)			
Pentil furano								(17)			
2-pentil furano						(12)		(24)			(26)
Cloroformo						(12)		(19)		(23)	
2-cloro propano								(16)			
Tetracloro etileno						(12)					
p-alicanisol								(19)			
Tiocianato de metilo										(23)	
Fenil acetonitrilo										(23)	

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
Isotiocianato de bencilo										(23)	
2-metil furano		(6),(7)				(12)					
2-propenil furano		(6)									
2-acetil furano		(6),(8)						(17)	(22)		(27)
2,6,6-trimetil-2-vinil-tetrahidropirano		(6),(8)				(12)					
Tetrahidro furano		(7)									
2-metil tetrahidrofurano		(7)									
3-metil tetrahidrofurano		(7)									
2,4-dimetil tetrahidro furano		(7)									
3-metil-(3H) dimitrofurano		(7)									
Dibenzofurano		(7)									
3,4-dimetil-1,3-dioxano		(7)									
2,4,5-trimetil 1,3-dioxolano		(7)									
Piridina		(7)						(16)			(26)
Benzotiazol		(7)						(16),(18), (24)		(23)	
Quinoleina		(7)									
Cis-teaspirano		(7)									
Trans-teaspirano		(7)									
α -toluato de etilo		(8)									
2-etil-3-metoxi piracina								(18)			
2-isopropil-3-metoxi piracina								(18)			
2-formilpirrol		(8)									

	Zumo de pomelo	Zumo de mora	Zumo de manzana	Zumo de fruta de la pasión	Zumo de kiwi	Zumo de nectarina	Zumo de naranja	Zumo de uva	Zumo de piña	Zumo de papaya	Zumo de mango
2-(1H)-pirrol etanona		(8)									
2-(1,1-dietoxi metil)-imidazol		(8)									
2-(1,1-dimetoxi etil)-imidazol		(8)									
2-(2,2-dietoxi etil)-imidazol		(8)									
2-(3,3-dietoxi propil)-imidazol		(8)									
2-(4,4-dietoxi butil) - imidazol		(8)									
2-(5,5-dietoxi pentil)-imidiazol		(8)									
Sulfuro de dimetilo		(8)									(27)
2-metil benzofurano		(8)									
Dimetil estireno						(12)					
3-metil furano						(12)					
2-isobutil-3-metoxi piracina								(18)			

TECNICAS DE AISLAMIENTO Y CONCENTRACION DE COMPUESTOS VOLATILES EN ZUMOS DE FRUTAS

El aroma de los alimentos en general y de los zumos en particular, está determinado por compuestos presentes en concentraciones muy pequeñas. Además, los zumos contienen sustancias no volátiles, como es el caso de los azúcares, que pueden causar interferencias en el análisis por inyección directa en cromatografía de gases. Por tanto, la primera etapa en el análisis del aroma debe ser el aislamiento y concentración de los compuestos que lo integran.

No existe un método universal para la concentración del aroma de los zumos con vistas a su análisis. En principio, cualquier método de extracción podría ser utilizado, siempre que se obtenga una muestra representativa, evitando la formación de artefactos. Los métodos más utilizados son: la destilación a presión reducida, la extracción líquido-líquido, la extracción y destilación simultáneas y la concentración del espacio de cabeza. Generalmente, la combinación de varios de estos métodos proporciona los mejores resultados.

La destilación a presión reducida evita la deformación del aroma original por alteraciones producidas por la temperatura, aunque se requiere un cuidadoso control del procedimiento. Utilizando una columna rellena de anillos Rasching y con la posterior extracción y concentración del destilado, se han obtenido buenos resultados en el estudio de la fracción aromática del zumo de fruta (13).

La extracción líquido-líquido en continuo ha sido ampliamente utilizada en el análisis de zumos. Permite emplear grandes volúmenes de muestra recuperando un gran número de compuestos minoritarios con buena reproducibilidad.

Los disolventes más empleados son: pentano, diclorometano, éter etílico, Freon 11 y mezclas de estos en distintas proporciones (7,11,14,24,28). De ellos Freon 11 y diclorometano proporcionan los mejores resultados ya que no extraen agua y son poco selectivos (29,30,31). Además producen una respuesta muy pequeña en el FID, se eluyen rápidamente y son fácilmente eliminables en la concentración (32). Los principales inconvenientes de estos disolventes son la dificultad de conservación de los extractos y su efecto sobre la capa de ozono.

Tras la extracción, es imprescindible una etapa de concentración del extracto, que implica el riesgo de la pérdida de los compuestos más volátiles, a menos que se utilicen procedimientos relativamente sofisticados, como por ejemplo el empleo de un inyector PTV en la modalidad de eliminación del disolvente (33).

La extracción y destilación simultáneas (SDE) está siendo cada vez más utilizada en los estudios sobre el aroma. La técnica, original de Likens y Nickerson (34), consiste en la destilación de la muestra al mismo tiempo que el disolvente de extracción y ha sufrido continuas modificaciones (23,35,36,38) hasta llegar a la versión de Godefroot (39), que permite el empleo de pequeños volúmenes de disolvente (1 ml), evitando así la posterior concentración. En los últimos años, son numerosos los ejemplos de utilización de SDE en el análisis de zumos en general, con buenos resultados en lo que se refiere a la recuperación de un gran número de compuestos con vistas a la identificación (4,6,8,17,25,26,40,41).

El método estático de análisis del espacio de cabeza proporciona un reflejo fiel del aroma del producto analizado. Sin embargo, para el análisis de zumos tiene poca utilidad, dada la baja concentración de los compuestos volátiles.

Las técnicas dinámicas o de concentración del espacio de cabeza han sido objeto de una intensa investigación en los últimos años y el desarrollo que han alcanzado permite obtener buenos resultados en la recuperación de compuestos volátiles (42). Distintos sistemas han sido empleados en el análisis del aroma de los zumos (5,10,12,18,20,37,43,44,45,46). Los mejores resultados se obtienen por adsorción sobre trampas de Tenax y desorción térmica.

REFERENCIAS

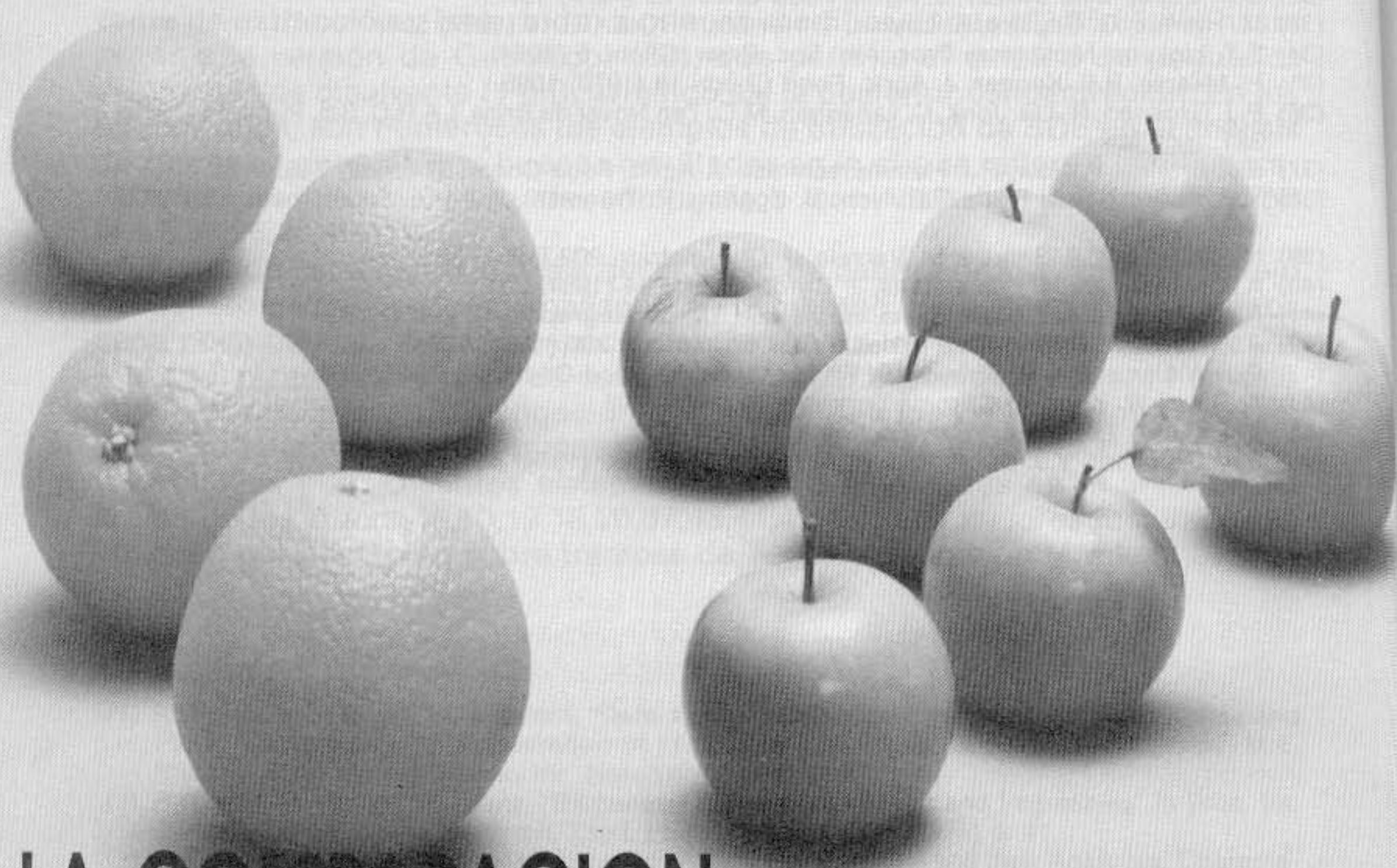
- (1) R. Tressl, K.H. Engel, W. Albrecht, "Detection of Adulteration by Investigation of Aroma and Flavor Components" in *Adulteration of Fruit Juice Beverages* (S. Nagy, J.A. Attaway, M.E. Rhodes, EDS) Marcel Dekker, Inc. New York (1988), p. 67.
- (2) R. Tressl, M. Holzer, M. Apetz, "Biogenesis of Volatiles in Fruit and Vegetables" in *Proc. Int. Symposium on Aroma Research*, Zeist. Pudoc, Wageningen (1975) p. 41.
- (3) R. Tressl, K.H. Engel, "Biogenesis of quiral Aroma Components and their Analytical Characterization at Trace Level" in *Process in Flavor Research* (J. Adda, Ed.) Elsevier, Amsterdam (1985) p. 44.

- (4) A.J. Núñez, H. Maarse, J.H. Bemelmans, *J. Sci. Food Agri.* 36 (1985) 757.
- (5) A.J. Núñez, H. Maarse, *Chromatographia*, 21 (1986) 44.
- (6) D.N. Georgilopoulos, A.N. Gallois, *Z. Lebens. Unters. Forsch.* 185 (1987) 299.
- (7) D.N. Georgilopoulos, Gallois, *Z. Lebens. Unters. Forsch.* 184 (1987) 374.
- (8) D.N. Georgilopoulos, A.N. Gallois, *Food Chem.* 28 (1988) 141.
- (9) L. Poll, M. FLink, *Food Chem.* 13 (1984) 193.
- (10) Ch-Ch.Chen, M. Kuo, L.S. Hwang, J.S. Wu.Ch.Wu, *J. Agric. Food.Chem.* 30 (1982) 1211.
- (11) K.H. Engel, D.W. Ramming, R.A. Flath, R. Teranishi, *J. Agric. Food Chem.* 36 (1988) 1003.
- (12) G.R. Takeoka, R.A. Flath, M. Güntert, W. Jennings, *J. Agric. Food, Chem.* 36 (1988) 553.
- (13) E. Sauri, I. Nadal, J. Alberola, J.M. Sendra, L. Izquierdo, *Rev. Agroq. Tecnol. Alim.* 20 (1980) 220.
- (14) J.L. Mesías, J.I. Maynar, I. Mareca, *Rev. Agroq. Tecnol. Alim.* 21 (1980) 114.
- (15) C.J. van Wyk, A. Dinsmoor Webb, R.E. Kepner, *J. Food Sci.* 32 (1967) 660.
- (16) J. Shimizu, *Agric. Biol. Chem.* 46 (1982) 2265.
- (17) R.J. Horvat, S.D. Senter, *J. Food Sci.* 49 (1984) 64.
- (18) O.P.H. Agustyn, A. Rapp, C.J. van Wyck, *S. Afric. J. Enol. Vitic.* 3 (1982) 53.
- (19) R.C. Welch, J.C. Johnston, G.L.K. Hunter, *J. Agric. Food Chem.* 30 (1982) 681.
- (20) K.J. Grob, *J. Chromatogr.* 84 (1973) 255.
- (21) H. Young, V.J. Paterson, D.J.W. Burns, *J. Sci. Food Agric.* 34 (1983) 81.
- (22) H. Ohta, S. Kinjo, Y. Osajima, *J. Chromatogr.* 409 (1987) 409.
- (23) R.A. Flath, R.R. Forrey, *J. Agric. Food Chem.* 25 (1977) 103.
- (24) P. Schreier, F. Drawert, A. Junker, *J. Agric. Food Chem.* 24 (1976).
- (25) A.J. MacLeod, C.H. Snyder, *J. Agri. Food Chem.* 33 (1985) 380.
- (26) A.J. MacLeod, C.H. Snyder, *J. Agric. Food Chem.* 36 (1988) 137.
- (27) A.J. MacLeod, G. McLeod, C.H. Snyder, *Phytochemistry* 27 (1989) 2189.
- (28) A.J. MacLeod, G. McLeod, G. Subramanian, *Phytochemistry* 27 (1988) 2185.
- (29) P.J. Hardy, *J. Agric. Food Chem.* 17 (1969) 656.
- (30) W.L. Stanley, J.E. Brekke, R. Teranishi, R.(to U.S. Government), U.S. Patent 3, 113, 031 (Dec. e 1963).
- (31) J. Marais, A.C. Houtman, *Am. J. Enol. Vitic.* 30 (1979) 250.
- (32) C.S. Cobb, M.M. Bursey, *J. Agric. Food Chem.* 26 (1978) 197.
- (33) M. Herráiz, G. Reglero, E. Loyola, T. Herráiz, *HRC & CC* 10 (1987) 598.
- (34) S.T. Lickens, Nickerson, *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* 5 (1964).
- (35) H. Maarse, R.E. Kepner, *J. Agric. Food Chem.* 18 (1970) 1095.
- (36) P.J. Groenen, R.J.G. Jonk, C. van Ingen, M.C. Ten Nover de Braw, *I.A.R.C. Sci. Publi.* 14 (1976) 321.
- (37) E.J. Brunke, P. Mair, F.J. Hammerschmidt, *J. Agric. Food Chem.* 37 (1989) 746.
- (38) T.H. Schultz, R.A. Flath, T.R. Non, B. Egging, R. Teranishi, *J. Agric. Food Chem.* 25 (1977) 446.
- (39) M. Godefroot, P. Sandra, M. Verzele, *J. Chromatogr.* 203 (1981) 325.
- (40) A.J. Núñez, J.M.H. Bemelmans, *J. Chromatogr.* 294 (1984) 361.
- (41) A.J. Núñez, J.M.H. Bemelmans, H. Maarse, *Chromatographia* 18 (1984) 153.
- (42) A.J. Núñez, L.F. González, J. Janak, *J. Chromatogr.* 300 (1984) 127.
- (43) P.J. Williams; Ch. R. Strauss, B. Wilson, *J. Agric. Food Chem.* 28 (1980) 766.
- (44) A. Rapp, W. Knipser, *Chromatographia* 13 (1980) 698.
- (45) V. Ducruet, *Lebensm. Wiss. Technol.* 17 (1984) 217.
- (46) E.A. Guichard, V.J. Ducruet, *J. Agric. Food Chem.* 32 (1984) 838.


* * *

THERE'S NO COMPARISON

DIONEX



**LA COMPARACION
NO ES POSIBLE**

 *Hucoa-Erlöss*

Empresas colaboradoras

PROTECTORAS

- HEWLETT-PACKARD ESPAÑOLA, S.A.
Ctra. N-VI, Km. 16,500
28230 LAS ROZAS (Madrid)
- KONIK INSTRUMENTS, S.A.
Ctra. Cerdanyola, 65-67
08190 SANT CUGAT DEL VALLES
(Barcelona)
- PERKIN ELMER HISPANIA, S.A.
General Vives, 25-27
08017 BARCELONA

ASOCIADAS

- BECKMAN INSTRUMENTS ESPAÑA, S.A.
Avda. del Llano Castellano, 16
28034 MADRID
- CES ANALITICA, S.A.
Santa Engracia, 141, 1º
28003 MADRID
- CHEMICONTROL, S.L.
Avda. de Filipinas, 46
28003 MADRID
- CHROMPACK
Avda. de América, 58
28028 MADRID
- HUCOA-ERLOSS, S.A.
Pº de la Castellana, 241
28046 MADRID
- INSTRUMATIC ESPAÑOLA, S.A.
Pº de la Castellana, 127, 2º A
28046 MADRID
- IGODA, S.A.
General Martínez Campos, 41-3º
28010 MADRID
- IZASA, S.A.
Ctra. Madrid-Irún, Km. 12,300
28034 MADRID
- KROMXPEK ANALITICA, S.A.
Ctra. Cerdanyola, 65-67
08190 SANT CUGAT DEL VALLES
(Barcelona)
- LASING, S.A.
Marqués de Pico Velasco, 64
28027 MADRID
- MICROBEAM, S.A.
Rambla Volart, 38, entlo. 3º
08026 BARCELONA
- MILLIPORE IBERICA.
DIV. CROMATOLOGRAFIA WATERS
Entenza, 28
08015 BARCELONA
- PHILIPS IBERICA, S.A.
Martínez Villergas, 2
28007 MADRID
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DEL OXIGENO
Paseo de Recoletos, 18-20
28001 MADRID
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CARBUROS METALICOS
Plaza de Cronos, 5
28037 MADRID
- SUGELABOR
Sierra Toledana, 17
28038 MADRID

Separación de racematos por HPLC

Félix Sánchez Alonso

Instituto de Química Orgánica General (CSIC). Juan de la Cierva, 3.
28006 Madrid.

1.-INTRODUCCION

La separación de los dos enantiómeros puros de una sustancia a partir de una mezcla es importante en muchas disciplinas científicas, como son la síntesis, los estudios mecanísticos, la catálisis, la biología, la farmacología, la medicina o la geocronología. A lo largo del tiempo, se han desarrollado varios métodos para separar mezclas recémicas en sus dos enantiómeros aislados. Destacan entre ellos:

a) Formación de mezclas diastereoisoméricas por reacción con un auxiliar quiral, separación de los diastereoisómeros, por los métodos habituales (cristalización, cromatografía, etc.) y liberación de cada uno de los enantiómeros, a partir del correspondiente diastereoisómero puro.

b) Tratamiento microbiológico o enzimático de la mezcla en condiciones adecuadas, bien por transformación de un enantiómero en otro o por degradación de uno de ellos, dejando el otro inalterado que puede entonces ser aislado puro.

c) Cristalización de muestras sobresaturadas de la mezcla de los enantiómeros, sembrando con un cristal de uno de los enantiómeros puro.

Todas ellas son técnicas laboriosas y caras, por ello se han ensayado algunas alternativas entre las que destaca la separación cromatográfica.

A principio de los años 60, se abordaron las técnicas cromatográficas en auge en aquel momento, la columna abierta y la cromatografía de gases, a pesar de las altas temperaturas usualmente empleadas, que implican una posible racemización de los auxiliares quirales empleados y a la obligatoriedad de la volatilidad de los sustratos, pero los resultados encontrados no pasaron de discretos, y es sólo a lo largo de los 70, con la aparición de la HPLC en la rutina de los laboratorios, tanto como técnica analítica como preparativa, cuando se amplían los límites de aplicación de la separación cromatográfica de enantiómeros, se desarrollan métodos, y se comercializan columnas quirales y aditivos de la fase móvil.

El mecanismo de separación implica la formación de un complejo diastereoisomérico temporal entre cada uno de los enantiómeros y la fase estacionaria, con diferentes estabilidades, lo que conduce a una retención selectiva y por lo tanto, a la separación. El reconocimiento quiral y como consecuencia la formación diferenciada de complejos requiere al menos tres puntos de interacción simultáneos entre el soluto y la fase estacionaria (1), siendo necesario en algunos casos la derivatización de algunos sustratos para crear centros selectivos de anclaje. Los modelos de interacción más comúnmente aceptados son: a) considerar la fase estacionaria y el sustrato como dos tetrahedros que se aproximan según una de sus caras, que se aplica directamente, al caso de moléculas quirales enlazadas a superficies de silice, que interacciona con la molécula a separar (fig. 1) y un modelo de cavidad con quiralidad helicoidal anclada sobre la silice que corresponde a los casos de ciclodextrinas y a alguno de los

adsorbentes poliméricos (fig. 2). En las figuras 1 y 2 se esquematizan los modelos y se muestran los tipos de interacciones con una pareja de enantiómeros sobre cada uno de los modelos.

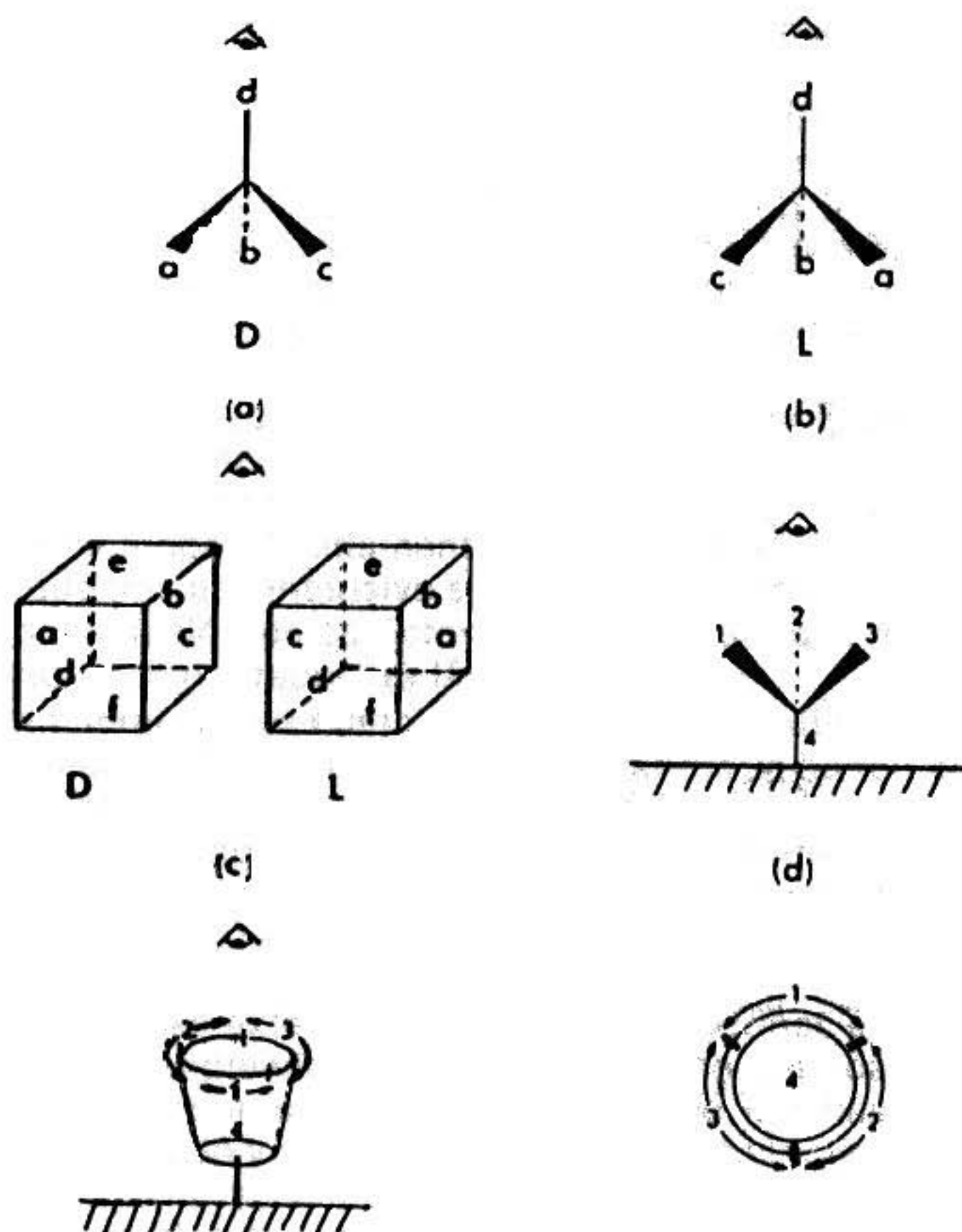


Fig. 1

Hay dos aproximaciones generales para la separación directa de enantiómeros, el primero implica la utilización de fases estacionarias quirales y el segundo se basa en el empleo de aditivos quirales añadidos a la fase móvil sobre fases estacionarias aquirales.

2.-FASES ESTACIONARIAS QUIRALES

Una de las aproximaciones, quizás la más elaborada y más estudiada sea la utilización de fases estacionarias quirales que estudia a continuación, atendiendo a su estabilidad en las condiciones de trabajo, selectividad, campo de aplicación, limitaciones y asequibilidad comercial de las columnas o del relleno empleado.

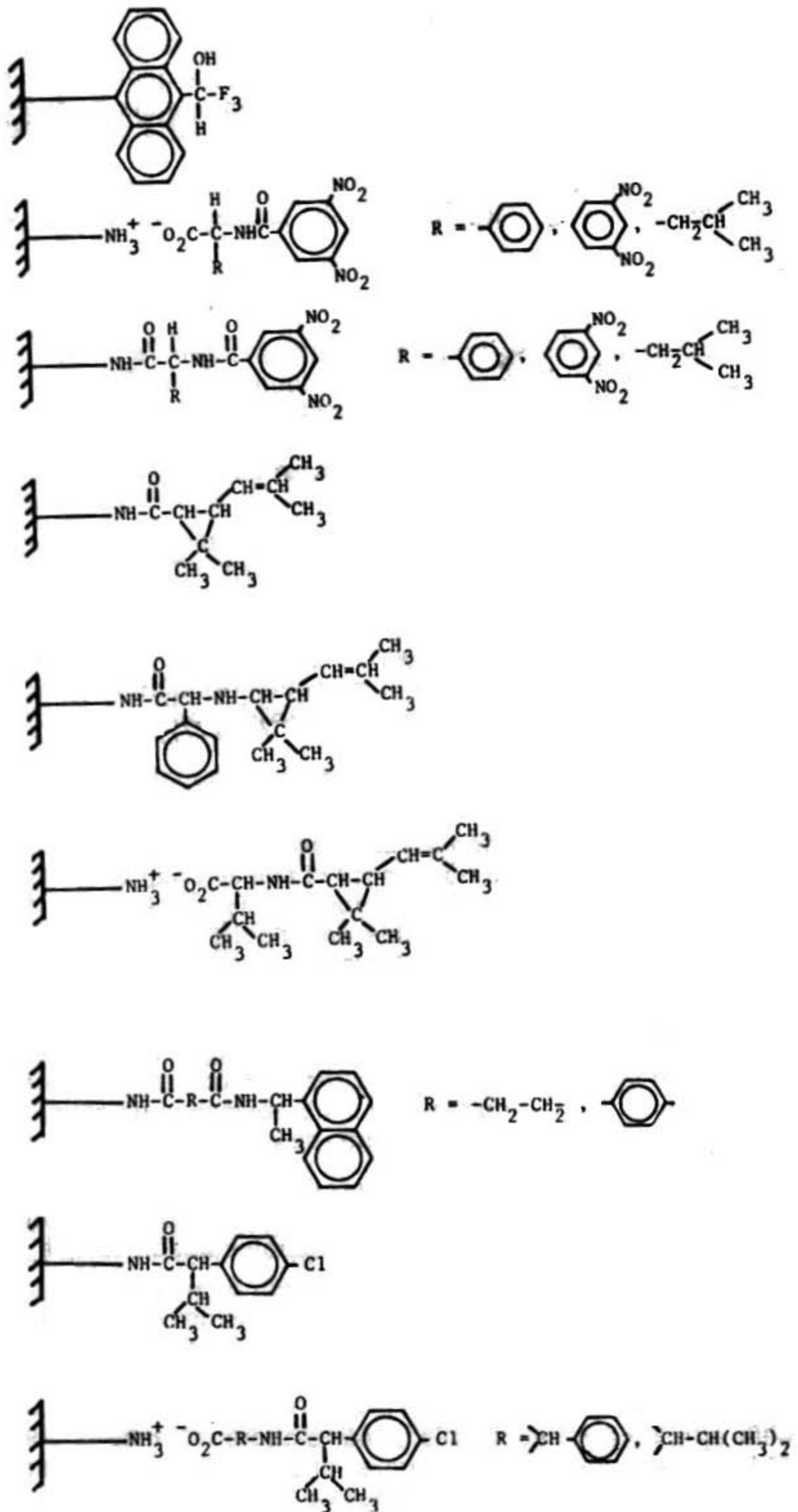


Fig. 2

a) Ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas son moléculas quirales toroidales que se forman generalmente por acción del *Ballius macarans* sobre el almidón. Estos polímeros contienen de 6 a 12 unidades de glucosa enlazadas por uniones α -1,4, de los que los anillos de α -, β - y γ - ciclodextrinas, de 6, 7 y 8 unidades, respectivamente, son comerciales y pueden ser utilizadas directamente o mejor absorbidas sobre superficies de sílice como fases estacionarias en HPLC². El tipo de separación ejercida es debido a que estas moléculas poseen cavidades quirales relativamente hidrofóbicas y una corona de OHs en la entrada de la cavidad, lo que constituye un entorno de absorción quiral del modelo 2.

En este tipo de absorbentes se pueden utilizar con fases móviles mezcla de metanol-agua, que generalmente arruinan cualquier otro tipo de absorbentes, o bien con mezcla de hexano-alcohol, aunque en este caso la separación no sea debida a complejos de inclusión sino a interacciones dipolares y a puentes de hidrógeno. Se han utilizado para la separación de aminoácidos y una serie de diferentes productos farmacéuticos.

Los inconvenientes más importantes que presentan son: que las columnas de ciclodextrinas tienen aproximadamente sólo un 80% de eficacia que otras de fase reversa, y que tras uso intensivo se van inutilizando debido a la formación de complejos de inclusión de carácter irreversible, aunque a veces un precolado con metanol o etanol recupera la actividad inicial.

b) Fases con interacciones complejos- π -enlaces de hidrógeno.

El modelo de reconocimiento quiral de tres puntos se ha tomado como referencia para la preparación de una serie de fases estacionarias quirales. Su esquema general es el anclaje sobre superficie de gel de sílice de tamaño de partícula y de poro adecuado algunas moléculas orgánicas quirales. Varios autores han publicado la preparación de este tipo de fases, destacan Pirkle y Oi (3, 4, 5).

Son de aplicación más extendida que las ciclodextrinas en cuanto a tipo de sustrato, así se han empleado en la separación de aminoácidos, productos farmacéuticos, hidrocarburos, alcoholes, aminas, etc. Muchas de ellas se hallan disponibles en el mercado y son fáciles de manejar. El inconveniente mayor es la necesidad de emplear fases móviles orgánicas ya que la presencia de agua suele llevar asociada el deterioro tanto de la separación en curso como de la fase, ya que hidroliza las uniones del compuesto quiral con el soporte de sílice y la fase se eluye con los productos. Las más usuales se indican a continuación:

c) Fases poliméricas.

Se han empleado una gran variedad de polímeros tanto naturales como sintéticos en la separación cromatográfica de enantiómeros, ejemplos típicos son: celulosa, triacetato de celulosa microcristalino, almidón, poliaminoácidos, poliestirenos entrecruzados soportando alcaloides, y destacando sobre ellos tanto en su forma libre, como funcionalizado, el polimetacrilato de trifenilmetilo isotáctico (6, 7), generalmente depositado sobre un lecho de gel de sílice de características físicas adecuadas, que le proporcionan rigidez y estabilidad.

Este tipo de fase se ha empleado algo menos que las anteriores aunque los ensayos llevados a cabo permite asegurar un crecimiento en un futuro próximo. Su aplicación en muchas circunstancias puede ser complementaria de otras fases, ya que el modelo de retención es diferente, basándose en fenómenos de inclusión y de fuerzas de Van der Waals. Los inconvenientes a destacar son: que no hay una gama de fases disponibles en el mercado y que la fase se va perdiendo con las sucesivas eluciones por deabsorción de la sílice (6, 7).

d) Fases con interacciones de transferencia de carga.

Se ha llevado a cabo un estudio muy exhaustivo sobre la separación de helicenos en fases estacionarias con interacciones de transferencia de carga, obtenidas por anclaje covalente de moléculas aromáticas con gran capacidad para formar complejos de transferencia de carga a sílices o alúminas de características físicas adecuadas (8); pero hasta el momento no se ha demostrado su aplicabilidad en procesos de separación estándar. Presentan el inconveniente de su no asequibilidad comercial y el deterioro de las fases en presencia de agua, y su sensibilidad a las condiciones de trabajo.

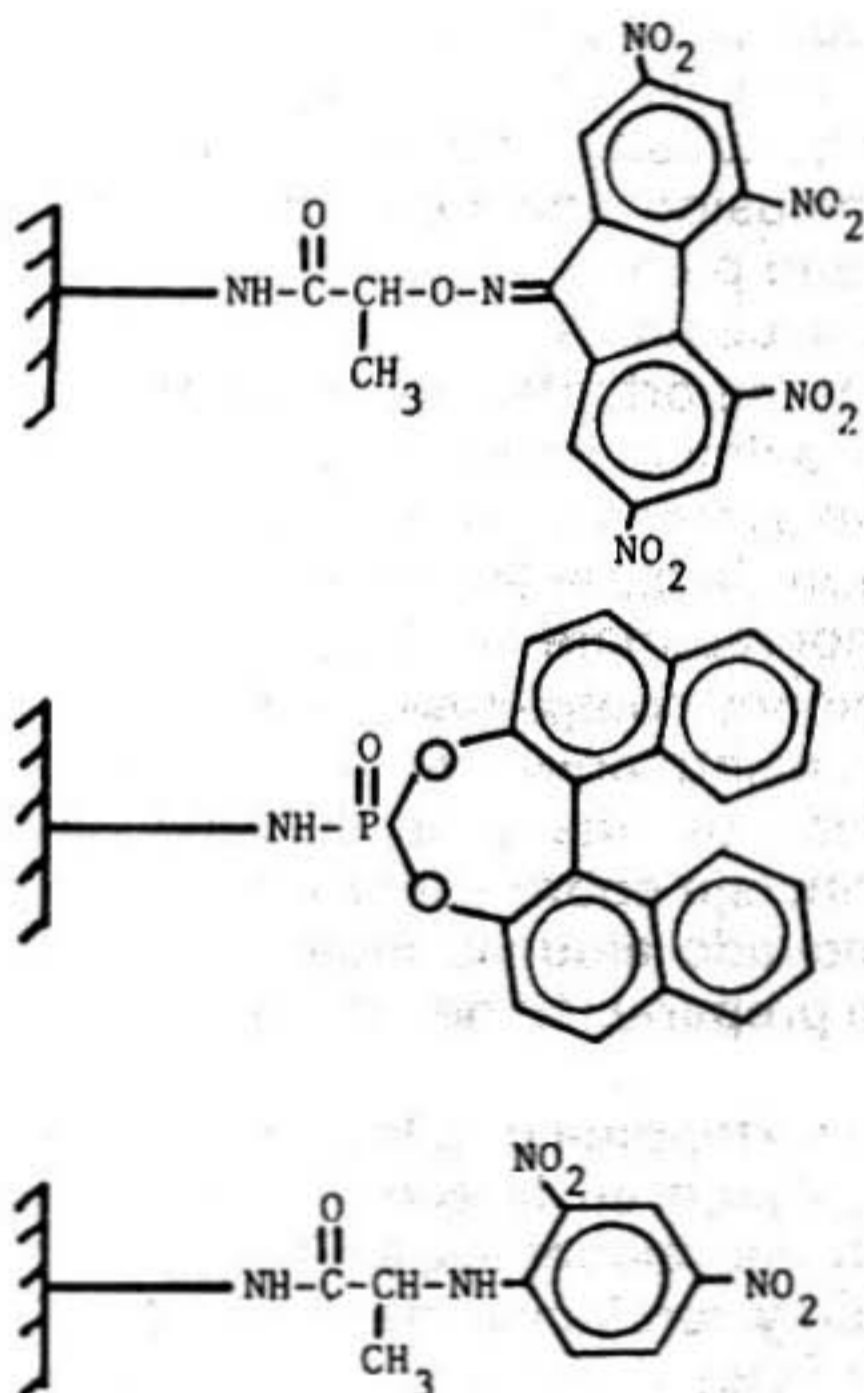


Fig. 3

e) Proteínas o proteínas enlazadas.

Las proteínas y especialmente la BSA anclada sobre agarosa es la más empleada en cromatografía clásica para la separación de aminoácidos; sólo recientemente se ha aplicado a la HPLC, en forma de pequeñas películas depositadas sobre gel de sílice. Ahora tenemos a nuestra disposición una serie de proteínas soportadas sobre sílice de tamaño adecuado y útiles en la separación de una gran gama de sustratos. Las fases más ampliamente utilizadas son las de albúmina, —glicoproteína del plasma y la BSA que se han empleado en la separación de aminas, amidas, aminoácidos y sus derivados, ésteres, aminoalcoholes y un amplio rango de compuestos de interés farmacéutico. Presenta las mismas ventajas de las ciclodextrinas, que son asequibles comercialmente y que pueden utilizarse en ambas técnicas, fase normal y fase reversa y los inconvenientes más llamativos son su baja capacidad y su no clara regeneración cuando se usan de forma exhaustiva (9, 10).

3.-ADITIVOS QUIRALES A LA FASE MOVIL

a) Cromatografía de intercambio de ligando. Complejos ternarios.

Esta técnica consiste en utilizar una fase estacionaria que pueda formar un complejo con el sustrato y con aditivo contenido en la fase móvil; el auxiliar quiral de separación puede encontrarse en la fase o en el aditivo (11), pero en la gran mayoría de los casos se encuentra en la primera. El modelo de separación se esquematiza en la figura siguiente tomando como ejemplo una fase estacionaria con un aminoácido anclado a un soporte por medio de una cadena de aminopropilsilano y una sal de cobre como aditivo a la fase móvil.

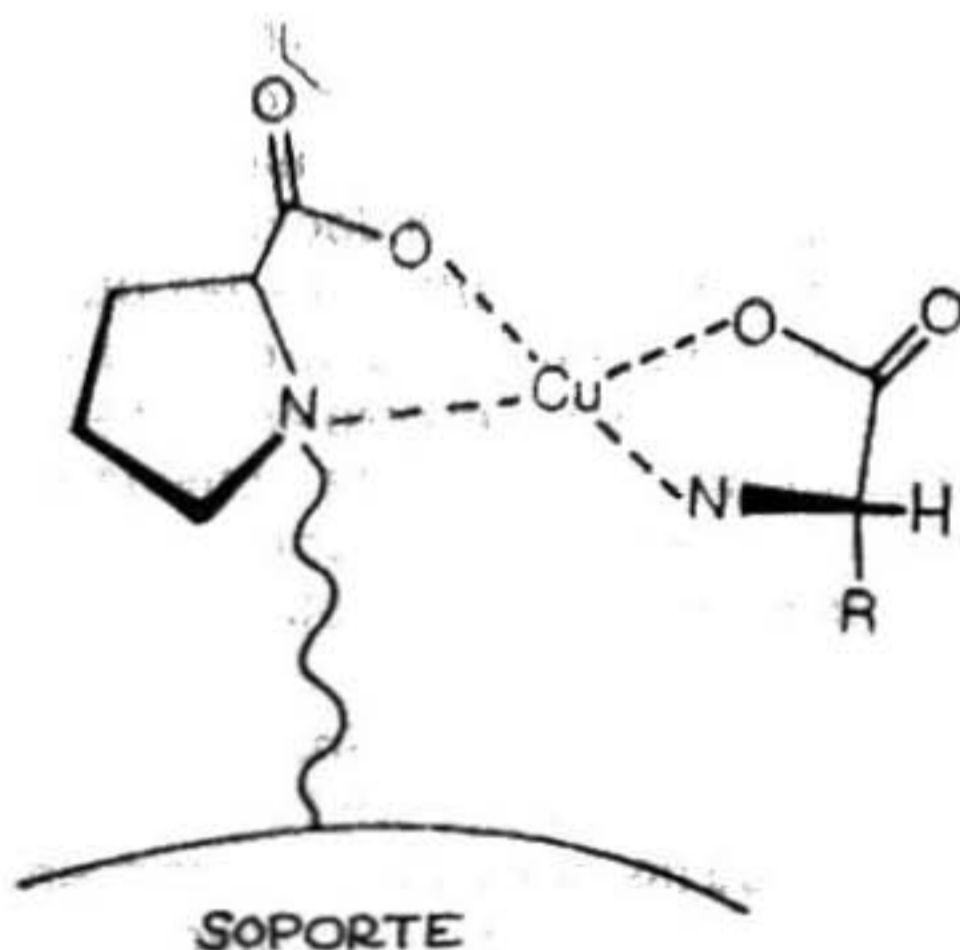


Fig. 4

b) Otros aditivos.

Las dos vertientes de esta técnica son la utilización de reactivos cargados, de polaridad distinta del sustrato, añadidos a la fase móvil, que formarán complejos diastereoisoméricos que se separan con una fase estacionaria convencional, empleando aminas, alcaloides o ácidos orgánicos quirales como la quinina, epinefrina o el ácido canforsulfónico, y por otra parte la adición de moléculas orgánicas quirales a la fase móvil para formar complejos de inclusión, de transferencia de carga o simples agregados moleculares que pueden ser separados de nuevo en columnas convencionales; ejemplos de estos aditivos son la ciclodextrinas, derivados del ácido tartárico, etc.

Entre estos últimos reactivos merecen especial atención los complejos metálicos en los que uno de los ligandos es quiral y otro de ellos le confiere propiedades adecuadas a la cromatografía (12).

4. CONCLUSIONES PROVISIONALES

a) Perspectivas futuras.

Dentro de la separación de enantiómeros por HPLC destacan como campos de futura extensión los siguientes:

Preparación y desarrollo de nuevas fases estacionarias quirales, de mayor campo de aplicación.

Estudios del mecanismo de interacción selectiva, que por lo tanto, permitirán el diseño de nuevas fases.

Separación preparativa de enantiómeros.

b) Consideraciones síntesis enantioselectiva-separación de racematos.

La demanda de isómeros ópticos puros se ha incrementado de modo espectacular tanto en la industria como en laboratorios de investigación en los últimos años. Si un enantiómero o un diastereoisómero no puede ser aislado puro de un medio biológico eficiente y económicamente, las alternativas son o sintetizar el isómero puro directamente o la resolución del racémico. Un gran número de factores científicos y económicos han de ser tomados en cuenta, ya que una mala elección puede significar pérdidas de tiempo, de dinero y en muchos casos del proyecto. La industria farmacéutica en particular se enfrenta a un número cada día creciente de estas decisiones, debido a la gran cantidad de drogas que presentan isometría óptica, de las que un porcentaje significativo se comercializan como racémicos. Entre ellas hay numerosos ejemplos donde sólo un isómero es el activo, y el otro en el mejor de los casos es inocuo, aunque puede ser perjudicial o poseer una actividad terapéutica diferente, lo que hace que en un futuro próximo sea concebible la salida al mercado de diferentes isómeros ópticos de la misma estructura con distintas aplicaciones terapéuticas.

Debemos ser prudentes para no ver la síntesis enantioselectiva y la separación de racémico como dos estrategias mutuamente exclusivas, y toda exclusión *a priori* de cualquiera de las dos en el planteamiento de un problema debe ser evitado. La síntesis y la resolución son a menudo complementarias y algunas veces relacionadas. Cada compuesto quiral tiene un carácter propio único, así como su preparación y sus problemas de separación. En algunos casos puede estar clara la ventaja de usar una u otra estrategia; en otros cuando la síntesis no aporta muestras 100% puras, ambas técnicas son necesarias. El seguimiento de reacciones y aplicaciones al control de pureza son etapas inexcusables de toda preparación.

En algunos casos, prácticamente todos los abordados en las industrias farmacéuticas, la decisión de preparar o separar pueden cambiar a lo largo del tiempo de desarrollo. Consideremos por ejemplo una nueva droga quiral, en que uno de los dos enantiómeros puede tener efectos terapéuticos o adversos. Sería beneficioso aislar cada uno de ellos de una mezcla en cantidad suficiente para determinar su perfil farmacológico y si un isómero es el responsable de la actividad, planificar la síntesis a escala industrial, quedando la separación para operaciones de seguimiento y control. Muchos más escenarios podrían ser considerados pero un punto es claro "ambas estrategias, la separación y la síntesis enantioselectivas son útiles" y por lo tanto áreas estimulantes de investigación futuras.

NOTAS

1. R.E. Boehm, D.E. Martire, D.W. Armstrong; *Anal. Chem.*, **60**, 522 (1988).
2. a) D.W. Armstrong, W. de Mona; *J. Chrom. Sci.*, **22**, 411 (1984); b) C.M. Fisher; *Chromatog. Int.*, **8** (1985).
3. W.H. Pirkle, D.W. House, J.M. Finn; *J. Chromatog.* **192**, 143 (1980).
4. W.H. Pirkle, J.M. Finn, J.L. Schreiner, B.C. Hamper; *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 3964 (1981).
5. N. Oi, H. Kitahara; *J. Chromatog.*, **265**, 117 (1983) y trabajos anteriores de la serie.
6. Y. Okamoto, S. Honda, I. Okamoto, H. Yuki; *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6971 (1981).
7. Y. Okamoto, I. Okamoto, H. Yuki; *Chem. Lett.*, 835 (1981).
8. F. Mikes, G. Boshart; *Chem. Comm.*, 173 (1978).
9. S. Allenmark, et als.; *J. Chromatog.*, **269**, 63 (1983).
10. J. Hermansson; *J. Chromatog.*, **269**, 71 (1983).
11. W. Lindner, I. Hirschbock; *J. Chromatog.* **122**, 205 (1976).
12. a) P.E. Hare, D. Gil-Av; *Science*, **204**, 1226 (1979); b) J. Lapage, W. Lindner, G. Davis, B. Karger; *Anal. Chem.*, **51**, 433 (1979).

REVISIONES

- D.W. Amstrong; *J. Lig. Chrom.*, **7**, 353 (1984).
D. Jones; *Intern. Lab.*, 66 (1987).
D.W. Amstrong; *Anal. Chem.*, **59**, 84A (1987).
W.H. Pirkle, T.C. Pochapsky; *Chem. Rev.*, **89**, 347 (1989).

* * *

Análisis de fosfolípidos por HPLC

Manuel Pascual Marcos

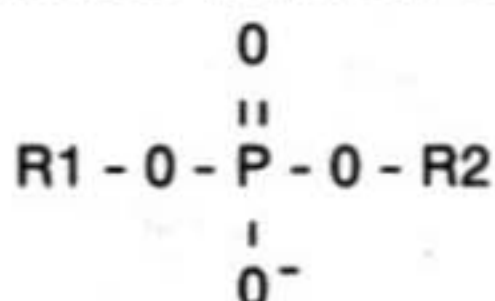
Instituto de Química Orgánica General (CSIC). Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid.

RESUMEN

En este artículo se pretende dar una idea general del análisis de fosfolípidos por HPLC. En primer lugar se considera la separación en clases para continuar con la separación de las especies moleculares y, por último, se presenta brevemente la problemática relacionada con la detección de estos compuestos.

INTRODUCCION

Entre los compuestos lipídicos de mayor interés en los procesos biológicos, se encuentra una serie de derivados del ácido fosfórico de estructura básica:



y que reciben el nombre genérico de fosfolípidos. El tipo de sustitución en R1 distingue dos familias en estos compuestos: los fosfoglicéridos, en los que el ácido está esterificado en R1 con la glicerina, y los esfingolípidos, en los que el alcohol sustituyente es la esfingosina.

La presencia en R2 de distintas bases nitrogenadas da lugar a las fosfatidilcolinas o lecitinas (PC), fosfatidiletanolaminas (PE) y fosfatidilserinas (PS). R2 también puede ser un azúcar, como en el caso de los fosfoinosítidos (PI), o una nueva molécula de glicerol, como en los fosfatidilgliceroles (PG). En este caso, el ácido fosfatídico (PA) puede esterificar dos hidroxilos de la glicerina, dando lugar al difosfatidilglicerol o cardiolipina (CL).

Los hidroxilos libres de la glicerina suelen encontrarse esterificados en C1 con ácidos grasos saturados (C-16 a C-18) y en C2 con insaturados de uno a seis dobles enlaces (C-16 a C-22), aunque existen excepciones. La eliminación del ácido graso en la posición 1 ó 2 da lugar a la formación de las formas liso.

En el caso de los esfingolípidos naturales, se encuentran presentes los derivados de la cadena esfingoide C-16 a C-20, aunque las basadas en C-18 son las más abundantes.

El término ceramida se usa para designar a los N-acil derivados de la esfingosina. Las esfingomielinas (Sph) son los derivados de fosforilcolina de las ceramidas y constituyen uno de los grupos principales de los fosfolípidos, siendo similares geoméricamente a las fosfatidilcolinas.

Los fosfolípidos a pH fisiológico son iones dipolares. Los grupos iónicos constituyen una región altamente polar e hidrofílica en la molécula, y los dos grupos acilo regiones fuertemente hidrofóbicas. Su importancia biológica deriva de estas propiedades, siendo estos compuestos los principales componentes lipídicos de las membranas biológicas.

En los últimos años existe un interés creciente en el estudio de la funcionalidad plaquetaria (principalmente de los fenómenos relacionados con la agregación) y su relación con la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos

constituyentes de sus membranas (1),(2),(3). La determinación de los fosfolípidos también resulta de gran interés para evaluar la madurez funcional pulmonar en el feto, y así se ha aceptado como método definitivo el análisis de los fosfolípidos en el fluido amniótico (4).

La determinación analítica de los fosfolípidos presenta diversos niveles. Dentro de sus dos grandes familias, existen varias clases (PC, PE, PI, PG, PS, CL, Sph), cada una de ellas formada por numerosos compuestos que se distinguen según su contenido en ácidos grasos.

SEPARACION DE LOS FOSFOLIPIDOS EN CLASES

La separación de los fosfolípidos en sus clases principales se ha venido realizando tradicionalmente por cromatografía en capa fina (TLC), habiéndose propuesto un gran número de sistemas de elución diferentes (5),(6),(7),(8).

Sin embargo, esta técnica cuenta con una serie de inconvenientes, entre los que se pueden citar la dificultad para conseguir una reproducibilidad adecuada, la laboriosidad y el consecuente consumo de tiempo que implica, y la posibilidad de que se produzca una alteración en la muestra, sobre todo si se tiene en cuenta la susceptibilidad de los ácidos grasos insaturados frente a la oxidación.

La utilización de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la separación de los fosfolípidos ha supuesto una serie de ventajas, como son la mayor rapidez y facilidad de cuantificación, y una disminución notable del riesgo de alteración de la muestra. Así, muestras de fosfolípidos que fueron reinyectadas varias veces en una columna de sílice en HPLC no mostraron ninguna alteración después de repetidas exposiciones a la columna, pero las mismas muestras al ser analizadas por TLC mostraron alteraciones significativas cuando se cromatografiaron por HPLC (9).

Los sistemas eluyentes usados normalmente en TLC no son utilizables para eluir los fosfolípidos en HPLC, ya que algunos de los disolventes utilizados, como el cloroformo, presentan grandes problemas en la detección U.V.

Por lo tanto, se han venido utilizando diferentes mezclas de elución en fase normal, compuestas por disolventes que permiten la detección en torno a 205 nm., todos ellos basados en dos sistemas fundamentales: hexano-isopropanol-agua y acetonitrilo-metanol-agua, en columnas de gel de sílice.

Así, con una columna Lichrosorb SI-60 y un gradiente de hexano-isopropanol-agua desde 6:8:0.75 hasta 6:8:1.4 (v/v) se ha conseguido separar colesterol, ácido fosfatídico, PE, liso-PE, PI, PS, una mezcla de PC y Sph, Sph, y liso-PC en un extracto lipídico total de membranas de eritrocitos humanos (10). La esfingomielina aparece en dos picos distintos debido a un fraccionamiento por longitud de cadena de los ácidos grasos constituyentes.

Este mismo sistema de elución ha sido utilizado para la separación de las principales clases de fosfolípidos en raíz de trigo (11).

Posteriormente se ha estudiado el papel del agua y del isopropanol en la elución, a la vez que se han desarrollado sistemas de elución en los que se ha realizado una supresión iónica (12). Así, se ha comprobado que al incrementar la proporción de isopropanol y disminuir la del agua no se obtienen resultados positivos. También se ha constatado que disminuyendo la velocidad del gradiente no se consigue mejorar la resolución, debido a que el ensanchamiento de los picos es considerable. Con el fin de estrechar los picos con un gradiente más lento, se ha añadido cloruro amónico como contraión, comprobándose que el ión amonio también puede ser aportado por el sulfato amónico, evitando así el efecto corrosivo del ión cloruro (12).

También se ha observado que para un contenido en agua constante, los fosfolípidos eluyen más rápidamente y como picos más estrechos a medida que la relación isopropanol/hexano es menor, siendo este efecto menos marcado para PG y PI, que son los que poseen menos grupos ionizables. Estos hechos sugieren que el isopropanol puede actuar reforzando la interacción de los grupos ionizables con la superficie de la sílice.

La adición de pequeñas cantidades de ácido sulfúrico no sólo mejora la separación debido a la supresión iónica, sino que, una vez conseguida ésta, aún puede aumentar la resolución.

Se ha comprobado una gran influencia de la proporción de agua sobre la retención de los fosfolípidos que contienen grupos amino, cuya resolución e incluso el orden de elución dependen de la proporción entre isopropanol y agua. Así, con una elevada proporción de isopropanol frente a agua, PI eluye entre PS y PE, pero con proporciones más altas de agua, PS eluye después de PI (12).

Como inconvenientes de estos sistemas de elución, cabe destacar el hecho de que parte de la cardiolipina no es retenida por la columna y se eluye con el frente del disolvente. Además, al emplear un medio ácido, los plasmalógenos sufren una degradación del enlace vinil-éter que se manifiesta por el incremento de las formas liso.

También se han obtenido buenas separaciones consiguiendo la supresión iónica por otros medios. Así, utilizando hexano-isopropanol-tampón acetato se ha logrado una perfecta separación de ácido fosfatídico, PE, PI, liso-PE, PS, PC, Sph y liso-PC (13) (Tabla 1. a).

Como se indicó antes, el uso de sistemas ácidos origina la hidrólisis de los plasmalógenos, por lo que se han propuesto diferentes sistemas de elución conteniendo hexano, isopropanol y agua, que en ocasiones pueden resultar muy útiles con fines preparativos (9). Así, se ha conseguido la separación de los componentes lipídicos en lípidos neutros, glicolípidos y fosfolípidos en sólo 17 minutos.

Al estudiar el efecto de añadir cloruros de metales alcalinos y alcalinotérreos al sistema hexano-isopropanol-agua (36:48:6, v/v), sobre la retención de PC, que es el fosfolípido más retenido en estas condiciones, se ha observado que su factor de capacidad disminuye al incrementar la concentración de dichas sales. En particular, esos efectos son más marcados para los cloruros de metales bivalentes (calcio y magnesio).

Los demás fosfolípidos muestran una tendencia similar, aunque el efecto es menos intenso (14).

Estos hechos sugieren, por tanto, que los fosfolípidos que existen como aniones o como iones anfóteros pueden formar pares iónicos con los iones de carga opuesta que haya en el sistema de elución, como magnesio, calcio o iones cloruro. Por ello, la adsorción debida a interacciones iónicas con los grupos silanol de la sílice puede debilitarse lo suficiente como para causar la aceleración en la elución.

En concreto, el efecto de los cloruros metálicos es más marcado en la elución de los fosfolípidos que contienen colina, por lo que puede suponerse que la elución acelerada de los fosfolípidos se debe a la formación de pares iónicos de residuos de colina cargados positivamente, con iones cloruro, y también de los grupos fosfato cargados negativamente con iones calcio o magnesio.

Como ya se ha indicado, el empleo de diferentes ácidos en los sistemas de elución, ha supuesto mejoras en las separaciones obtenidas. Por ello, se ha estudiado el papel de un ácido en la mezcla de elución, llegándose a la conclusión de que existe una adsorción inicial de los fosfolípidos sobre la sílice, y después se va produciendo un desplazamiento progresivo que es favorecido por la presencia de un ácido, y que va originando la elución de los diferentes compuestos en la columna (15). En este sentido, el ácido fosfórico parece ser el más eficiente como ácido desplazante.

El otro sistema de elución fundamental es el propuesto por Chen y Kou: acetonitrilo-metanol-ácido fosfórico 85% (130:5:1.5, v/v) (16). Así, se pueden separar en 30 minutos PI, PS, PE, liso-PE, PC, liso-PC y Sph.

Los problemas fundamentales de esta separación estriban en que la cardiolipina eluye con el frente del disolvente, y el ácido fosfatídico y el fosfatidilglicerol eluyen conjuntamente con la PC.

Cabe resaltar la influencia que ejerce el tiempo de equilibrio de la columna con el sistema de elución, antes de la inyección de las muestras. Así, con sólo 1.5 horas de equilibrio no pueden resolverse PI y PS, y únicamente con 5 horas de equilibrio se logra la separación mencionada anteriormente (16).

Se han propuesto varios sistemas de elución basados en este último. De esta forma, Kawasaki y col. utilizando acetonitrilo-metanol-ácido fosfórico 85% (130:5:1.3 v/v) han separado PI, PS, PE y PC, aunque PI eluyó muy cerca del frente del disolvente (17).

Con el fin de poder separar el ácido fosfatídico, se ha disminuido la proporción de ácido fosfórico en el sistema (130:5:0.006), y además PI se separa claramente del frente del disolvente (17).

También se han utilizado eluciones en gradiente en las que el sistema inicial estaba constituido por acetonitrilo-ácido fosfórico 85% (99:1) y el sistema final era acetonitrilo-metanol-ácido fosfórico 85% (97:2:1) (18), comprobándose que los tiempos de retención de los fosfolípidos se incrementan a medida que se aumenta el tiempo de equilibrio entre una inyección y otra. Así, el PG se separa mejor del frente del disolvente equilibrando la columna con 300-500 ml. de acetonitrilo-ácido fosfórico (99:1) entre cada cromatograma, pero los tiempos de retención de los otros fosfolípidos también se incrementan, con lo que el método se hace muy lento.

Además, se ha comprobado que los tiempos de retención se hacen más reproducibles normalizando el período de equilibrio de la columna entre inyecciones, lo que también origina una mejor reproducibilidad de las áreas obtenidas.

Por último, PG puede separarse del frente del disolvente disminuyendo el contenido en ácido de la fase móvil, pero los tiempos de retención de los otros fosfolípidos se incrementan notablemente, por lo que no se pueden usar fases móviles con una concentración de ácido fosfórico inferior al 1%.

En otros casos se ha sustituido el ácido fosfórico por el ácido sulfúrico, lo que posibilita la determinación de fósforo en las distintas fracciones usando alguno de los procedimientos que implican una mineralización de la muestra.

Así, se ha logrado la resolución de PI, PS, PE, liso-PE, PC y Sph en 30 minutos, usando un sistema isocrático compuesto por acetonitrilo-metanol-ácido sulfúrico (100:3:0.05 v/v) (19). (Tabla 1. b).

También se han conseguido separaciones satisfactorias empleando acetonitrilo y agua únicamente. Así, se ha descrito la separación de PI, PG, CL, PS, PE, PC, Sph, liso-PE y liso-PC utilizando un gradiente lineal que supone una variación de agua desde un 2.5% a un 15% (20).

Además de columnas de gel de sílice se han comenzado a utilizar, en los últimos años, dos tipos de fases estacionarias polares unidas químicamente: aminopropil y diol.

Así, utilizando una columna aminopropil se ha obtenido la separación de los principales fosfolípidos usando como fase móvil acetonitrilo-metanol-fosfato diácido de amonio 10 mM (61.2:28.9:10 v/v), siendo el pH de la solución fosfato 4.76 (21) (Tabla 1. c). Los problemas encontrados son que PG coincide con Sph, y además el tiempo de retención de la cardiolipina es tan grande que resulta difícil detectar una pequeña cantidad.

Hay que tener en cuenta que las características de la separación por HPLC con fases ligadas dependen del contenido de la fase ligada y de los grupos silanol residuales, por lo que es posible que haya que modificar la fase móvil cuando se utilice otra columna, aunque contenga el mismo tipo de fase estacionaria.

En el sistema citado anteriormente, hay que considerar que las retenciones pueden cambiar mucho variando el pH de la solución fosfato en la fase móvil. Así, simplemente modificando el pH de 4.76 a 5.8, la retención de la cardiolipina varía de 115 a 35 minutos. (Tabla 1. d) (21).

En cuanto a las separaciones conseguidas utilizando columnas con fase estacionaria diol, cabe destacar la separación de PC, Sph, PG, PI y PE en fluido amniótico, utilizando como fase móvil acetonitrilo y agua en un gradiente con múltiples etapas en las que la proporción de agua va aumentando (22).

Tabla 1.-Comparación de tiempos de retención (en minutos) de fosfolípidos utilizando diferentes sistemas cromatográficos.

Clases separadas	a (13)	b (19)	c (21)	d (21)
PA	6.0	—	45.4	23.8
PE	12.5	9.1	18.8	8.8
PI	18.0	6.0	50.1	12.6
liso-PE	31.5	11.1	—	—
PS	40.0	8.0	59.4	18.8
PC	58.5	11.0	7.8	7.5
Sph	64.0	40.1	10.6	11.3
liso-PC	81.8	—	12.6	13.8

(Los números entre paréntesis corresponden a referencias bibliográficas).

SEPARACION DE LOS FOSFOLIPIDOS EN ESPECIES MOLECULARES

Ultimamente se ha desarrollado un interés creciente por disponer de métodos que permitan la separación de los fosfolípidos en sus diferentes especies moleculares, una vez que hayan sido separados en las distintas clases. Para ello se han ideado diferentes sistemas de HPLC en fase inversa.

Así, se ha conseguido la separación de las especies moleculares de esfingomielina de cerebro bovino y de eritrocitos de cerdo utilizando una columna Nucleosil-5-C-18, y un sistema de elución isocrático compuesto por metanol-tampón fosfato 5 mM, pH = 7.4, 9:1 (v/v) (23), comprobándose que la retención de las especies moleculares de esfingomielina se incrementa progresivamente al aumentar el número de átomos de carbono en las cadenas hidrofóbicas.

Por lo tanto, el análisis por HPLC en fase inversa revela que la separación se consigue de acuerdo con el número de átomos de carbono, pero también según el número y tipo de dobles enlaces en las cadenas hidrofóbicas. De esta forma, la presencia de uno o más dobles enlaces bien en el ácido graso, bien en el resto esfingoide, reduce la retención de las especies de esfingomielina. También se observa que la introducción de un segundo doble enlace en el ácido graso no reduce la retención en la misma medida que el primero. Además, la variación en los tiempos de retención es diferente si el doble enlace está en la cadena esfingoide o en el ácido graso (23).

Estas diferencias en las interacciones hidrofóbicas entre los lípidos y el ligando alquilo C-18 de la fase estacionaria pueden deberse a la naturaleza de los dobles enlaces en dos tipos diferentes de cadenas laterales, ya que se sabe que el doble enlace en el resto esfingoide es trans, mientras que en la mayoría de los ácidos grasos es cis, y es conocido el hecho de que en fase inversa los ácidos grasos trans tienen retenciones mayores que los correspondientes cis, debido a sus diferencias conformacionales.

Por lo tanto, se puede afirmar que la elución de las especies moleculares de esfingomielina en una columna de fase inversa depende de interacciones hidrofóbicas entre el soluto y el ligando de la fase estacionaria. La magnitud de estas interacciones depende del área de contacto entre el ligando y el soluto, que viene determinado por la estructura molecular y conformación del ligando y el soluto.

Patton y col. (24) describen, en primer lugar, un método isocrático de HPLC para separar las principales clases de fosfolípidos en una columna de sílice para, posteriormente, cromatografiar las clases aisladas (PC, PE, PI y PS) en una columna C-18 de fase inversa, consiguiendo aislar las especies moleculares, de forma que cada fosfolípido procedente de hígado de rata puede separarse en 25-30 especies moleculares diferentes.

La elución de las especies de PC, PE y PI se ha logrado con clorhidrato de colina 20 mM en metanol-agua-acetonitrilo (90.5:7:2.5), en tanto que las de PS ha requerido clorhidrato de colina 30 mM en metanol-fosfato potásico 25 mM-acetonitrilo-acético (90.5:7:2.5:0.8). En la tabla 2 se muestran las especies moleculares separadas con estos sistemas de elución.

A partir de los resultados obtenidos se comprueba que todos los fosfolípidos estudiados contienen las mismas especies moleculares, aunque su distribución de especies es claramente diferente en cada clase.

Con este sistema de elución, la separación entre las especies se produce incluso en base a la posición de los dobles enlaces y así, por ejemplo, se ha conseguido separar dos especies cuyos ácidos grasos constituyentes son 16:0-22:5 (n-3) y 16:0-22:5 (n-6).

Además, se comprueba que dentro de cada clase de fosfolípidos el orden de elución de las especies moleculares es constante y depende únicamente de la composición en ácidos grasos. Esto es, el tiempo de retención relativo de cualquier especie molecular es el mismo en todas las clases estudiadas.

Tabla 2.-Especies moleculares de fosfolípidos separadas por HPLC. (24).

Picos ^a	Especies moleculares ^b	Picos	Especies moleculares
1	14:0-22:6	15	16:0-20:3 (n-6)
2	18:2-18:3; 14:0-20:4	16	17:0-18:2; 16:0-20:3 (n-9)
3	16:1-18:2	17	16:0-18:1
4	18:2-22:6; 15:0-22:6	18	18:1-18:1
5	16:0-20:5; 18:2-20:4	19	18:0-22:6
6	18:2-18:2	20	18:0-20:4
7	16:0-16:1	21	18:0-18:2
8	16:1-18:1	22	18:0-17:1; 17:0-18:1
9	16:0-22:6	23	18:0-22:5 (n-3)
10	16:0-20:4	24	18:0-22:5 (n-6)
11	16:0-18:2	25	18:0-20:3 (n-6)
12	18:1-18:2	26	18:0-18:1
13	16:0-22:5 (n-3)	27	20:0-22:6
14	16:0-22:5 (n-6); 18:0-20:5	28	20:0-20:4

^aLos números de los picos corresponden a la secuencia de elución obtenida.

^bLas especies moleculares se representan como: ácido graso en posición 1-ácido graso en posición 2.

También se han realizado separaciones de las especies moleculares por HPLC en fase inversa, pero formando previamente algún derivado que permita una detección menos problemática en la región ultravioleta.

Así, H. Takamura y col. (25) han obtenido los derivados dinitrobenzoilo de las fosfatidilcolinas de corazón de rata y de plaquetas humanas, lo que permite la detección a 254 nm. La columna utilizada es una Ultrasphere ODS, y los sistemas de elución empleados: acetonitrilo-isopropanol (80:20 v/v) o metanol-isopropanol (95:5 v/v).

Aunque el primer sistema es capaz de resolver la mezcla en muchos más picos que el segundo sistema, este último puede ser de gran ayuda en la resolución de ciertos componentes. Así, se ha observado que mientras que las especies que tienen un ácido graso común y 16:0 o 18:2 como segundo ácido no pueden ser resueltas con acetonitrilo-isopropanol, sí se separan si se recoge la fracción correspondiente y se recromatografía con metanol-isopropanol.

SISTEMAS DE DETECCION

Como ya se ha indicado anteriormente, la detección espectrofotométrica en la región ultravioleta es la más ampliamente utilizada en el análisis de fosfolípidos por HPLC. Este sistema permite realizar eluciones en gradiente y es relativamente insensible a cambios en la temperatura o en la velocidad de flujo.

Los fosfolípidos presentan una débil absorción en el rango de 200 a 210 nm., debido predominantemente a la presencia de dobles enlaces aislados, aunque otros grupos funcionales, como carboxilo, fosfato y amino también tienen algún efecto.

Existen una serie de desventajas al usar la detección UV a esas longitudes de onda, ya que muchos de los disolventes de gran importancia en la cromatografía de los fosfolípidos (el cloroformo especialmente) absorben fuertemente entre 200 y 210 nm. y por ello no pueden utilizarse. Además, los disolventes que son transparentes en esta región, como hexano, isopropanol, acetonitrilo, metanol y agua, deben ser de una pureza muy elevada, ya que trazas de sustancias extrañas con altos coeficientes de extinción, como antioxidantes o plastificantes, podrían distorsionar gravemente la línea base. Otras impurezas, como lípidos peroxidados, pueden dar lugar a picos de gran tamaño, interfiriendo con los compuestos de interés.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que la cuantificación utilizando la detección UV es problemática ya que el área de los picos refleja el número de dobles enlaces y no el número de moléculas. Para poder realizar una cuantificación directa, habría que determinar el coeficiente de extinción para cada componente, y para ello habría que disponer de patrones de esos componentes, pero siendo necesario que tuvieran una composición en ácidos grasos idéntica.

Pero como este sistema de detección no es destructivo, permite recoger las fracciones correspondientes a los distintos picos y cuantificarlas determinando el fósforo. Los métodos más comúnmente empleados para determinar fósforo están basados en el propuesto por Bartlett (26) e implican, en primer lugar, una digestión ácida para liberar el fósforo de los fosfolípidos; posteriormente se consigue la formación de ácido fosfomolibdico que después se reduce para formar un compuesto azul que se determina espectrofotométricamente.

Por lo tanto, en los sistemas de elución que contienen ácido fosfórico habrá que utilizar otros métodos (27), (28).

También se ha recurrido, en ocasiones, a la formación de derivados de los fosfolípidos que permitan una más fácil detección y cuantificación en el UV, principalmente por la introducción de agrupamientos aromáticos. Así, se han obtenido los derivados bifenilcarbonil de los fosfolípidos que contienen grupos amino primarios (PE, liso-PE, PS y liso-PS) (29).

En algunos casos, cuando se ha acometido la separación de los fosfolípidos en especies moleculares, se ha recurrido a la formación de derivados obtenidos por la eliminación del resto de ácido fosfórico (para ello se requiere fosfolipasa C) y la introducción en su lugar de grupos que permitan la detección a 254 nm., como dinitrobenzoil (30), benzoil (31) y p-nitrobenzoil (32).

Una alternativa a la detección UV es el empleo de detectores de fluorescencia, para lo cual hay que conseguir, en primer lugar, derivados fluorescentes de los fosfolípidos. Así, se han propuesto varios derivados de los fosfolípidos que contienen grupos amino primarios: dansil derivados (33), naftilderivados (34) y nitrobenzodiazol derivados (35). En estos casos, la intensidad de la fluorescencia guarda una relación lineal frente a la concentración.

También se ha propuesto la utilización de detección radioactiva, teniendo en cuenta que la sensibilidad de los métodos para detectar radioisótopos es, en general, mucho mayor que la mayoría de los procedimientos químicos y físicos. De este modo, los fosfolípidos han sido a veces convertidos en derivados marcados isotópicamente como paso previo a su separación por HPLC (12).

Los detectores de índice de refracción son, en teoría, universales y pueden ser usados con cualquier tipo de soluto siempre que su índice de refracción sea diferente del de la fase móvil, ya que funcionan controlando continuamente la diferencia en el índice de refracción entre la muestra eluida junto con la fase móvil y la fase móvil pura. Por su naturaleza, sólo pueden emplearse bajo condiciones de elución isocráticas; de hecho, es mejor evitar el uso de disolventes volátiles para minimizar cambios en la composición del sistema de elución durante el análisis. Además, estos detectores son muy sensibles a cambios en la temperatura, en el flujo del disolvente y a las pulsaciones de la bomba. Por todo ello, han sido muy poco utilizados para el análisis de fosfolípidos.

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica que puede suministrar datos cualitativos y cuantitativos no fácilmente obtenidos por otros medios.

En principio, resultó difícil el acoplamiento HPLC-MS debido a los problemas en la eliminación del disolvente antes de la ionización. Sin embargo, muchos de esos problemas han sido superados y existen diferentes interfases que resultan eficaces.

Se ha descrito la utilización de la vaporización térmica (thermospray) para la determinación de fosfolípidos (36), aunque parece que el sistema que presenta unas mejores posibilidades es el que utiliza una cinta móvil en la cual la muestra se deposita y el disolvente se evapora antes de que la muestra alcance la fuente de ionización. Con esta técnica se pueden obtener espectros por impacto electrónico y por ionización química.

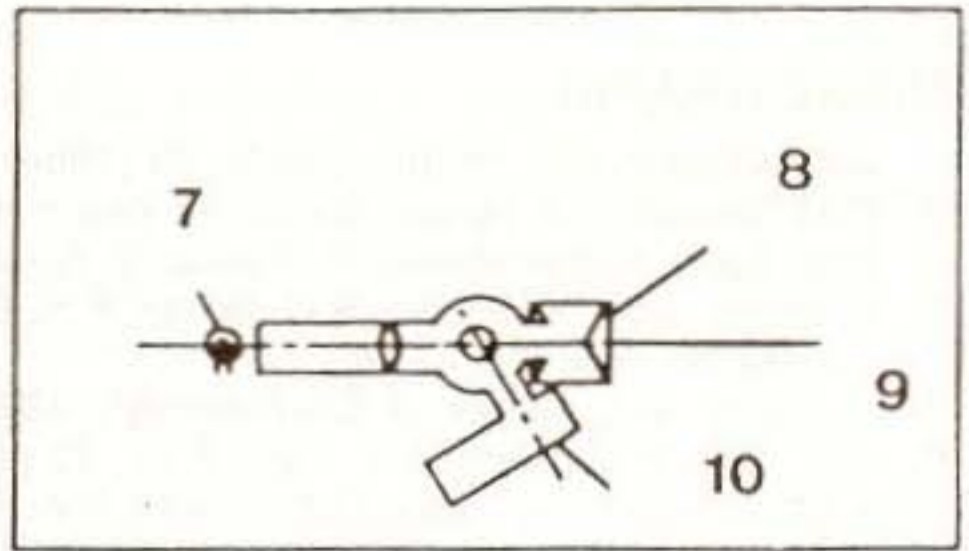
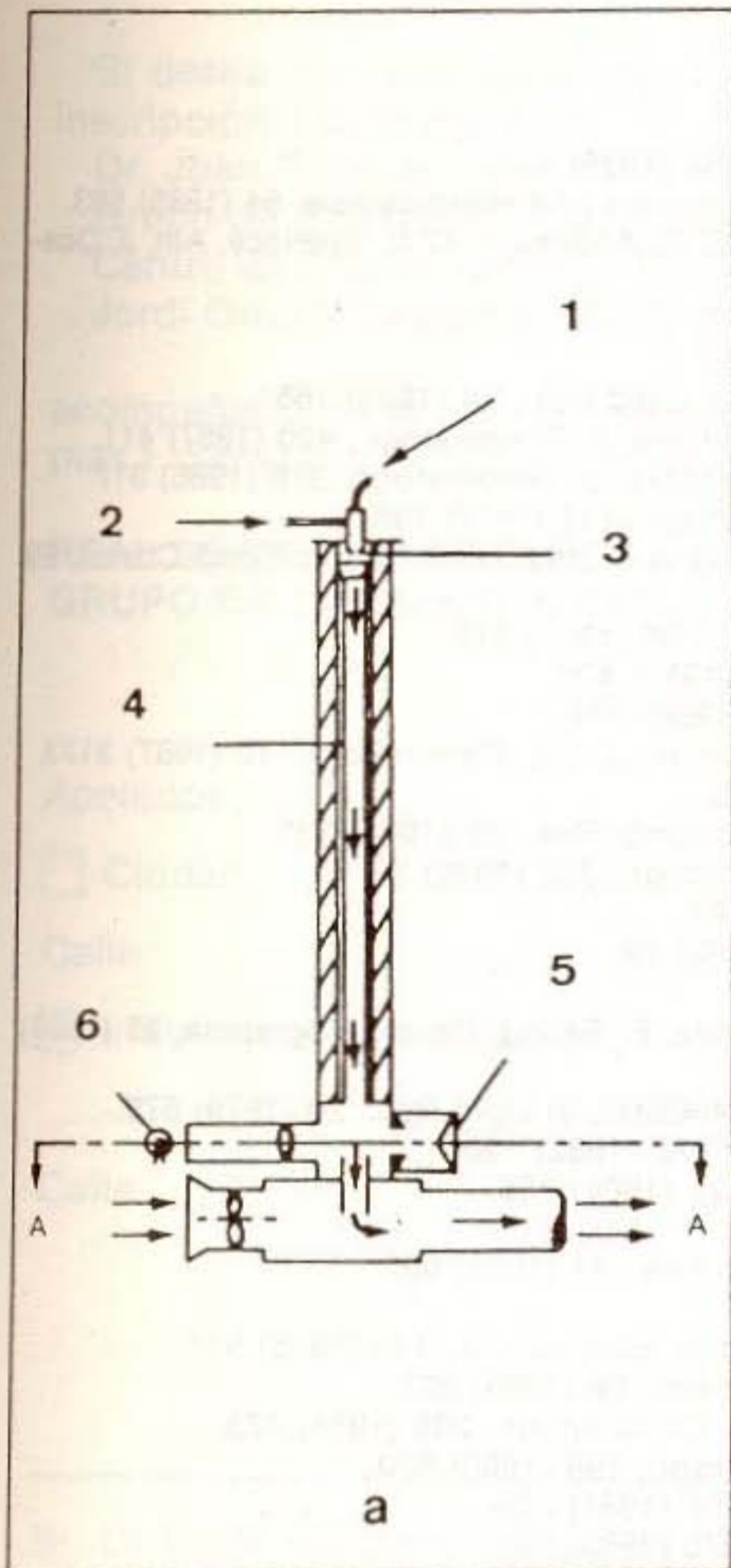
Una de las ventajas que presenta este tipo de detección es que pueden utilizarse casi cualquier tipo de fases móviles, sin importar su transparencia o no en la región ultravioleta.

Así, se ha descrito la separación de PC, PE, PS, PI, PG y Sph utilizando una elución en gradiente en la que intervienen diclorometano, metanol, agua e hidróxido amónico, y empleando como interfase una cinta móvil se consiguen los espectros de masas por ionización química de los fosfolípidos citados anteriormente, utilizando amoníaco o metano como gases reactivos (37).

Cada clase de fosfolípidos presenta unos iones característicos, lo que permite su identificación. Pero, además, a partir de la intensidad relativa de los iones relacionados con los diglicéridos, se puede calcular la composición porcentual de las especies moleculares presentes en cada clase. De este modo, al estudiar la composición relativa de las principales especies moleculares a partir de la intensidad relativa de tres iones diferentes, se han obtenido resultados que son muy similares entre sí y concordantes con los obtenidos al determinar el total de ácidos grasos por cromatografía de gases.

Existe un nuevo sistema de detección óptica que está llamado a adquirir cada vez más importancia: es el denominado detector de masa o analizador evaporativo (light-scattering) (figura 1). Con este instrumento, el disolvente que emerge de la columna se evapora, en presencia de una corriente de aire o nitrógeno, en una cámara caliente; el soluto no se evapora, sino que se nebuliza y pasa en forma de diminutas gotas a través de un haz de luz. La cantidad de luz dispersada por estas partículas se detecta mediante un fotomultiplicador situado en un ángulo de 120° respecto al haz de luz incidente y es proporcional a la cantidad de sustancia eluida.

No existen requerimientos especiales en cuanto a la longitud de onda de la fuente de luz. Se ha descrito un detector experimental que es quizá ligeramente más sensible y utiliza una fuente de luz láser (38), (39).



b

Figura 1. a) Esquema del detector de masa. 1. Flujo de disolvente; 2. Corriente de gas; 3. Nebulizador; 4. Evaporador; 5. Trampa; 6. Fuente de luz; b) Sección transversal A-A; 7. Fuente de luz; 8. Trampa; 9. Sección A-A; 10. Fotomultiplicador.

Este detector puede considerarse universal en su aplicabilidad, ya que responde a cualquier soluto que no se evapore antes de pasar a través del haz de luz.

Con él se obtienen buenos resultados utilizando elución en gradiente. Su sensibilidad es comparable a la del detector de índice de refracción, pero no se ve afectado por cambios en la temperatura ambiente o por pequeñas variaciones en el flujo.

Pero también tiene una serie de inconvenientes ya que se requiere una fuente de gas capaz de proporcionar 5 l./min., por lo que es recomendable emplear un compresor de aire.

Existen ciertas limitaciones en el rango de disolventes que pueden utilizarse, ya que deben ser suficientemente volátiles para evaporarse en la cámara caliente. Se ha empleado isopropanol conteniendo 25% de agua sin ninguna dificultad, pero el ácido acético en un nivel de un 1% ha causado problemas en la línea base (40). Por otra parte, en los sistemas de elución se pueden incorporar pequeñas pero significantes cantidades de sales sin afectar a la estabilidad de la línea base.

BIBLIOGRAFIA

1. A.A. Ahmed, B.J. Holub, *Lipids*, 19 (1984) 617.
2. C.M. Skeaff, B.J. Holub, *Biochim. Biophys. Acta*, 834 (1985) 164.
3. M.K. Salo, E. Vartiainen, P. Puska, T. Nikkari, *Thrombosis and Haemostasis*, 54 (1985) 563.
4. L. Gluck, M.V. Kulovich, R.C. Borer, P.H. Brenner, G.G. Anderson, W.N. Spellacy, *Am. J. Obstet. Gynec.*, 109 (1971) 440.
5. K. Korte, M.L. Casey, *J. Chromatogr.*, 232 (1982) 47.
6. J.B. Fine, H. Sprecher, *J. Lipid Res.*, 23 (1982) 660.
7. A.M. Gilfillan, A.J. Chu, D.A. Smart, S.A. Rooney, *J. Lipid Res.*, 24 (1983) 1651.
8. C. Leray, X. Pelletier, S. Hemmendinger, J.-P. Cazenave, *J. Chromatogr.*, 420 (1987) 411.
9. L.L. Dugan, P. Demediuk, C.E. Pendley II, L.A. Horrocks, *J. Chromatogr.*, 378 (1986) 317.
10. W.M.A. Hax, W.S.M. Geurts Van Kessel, *J. Chromatogr.*, 142 (1977) 735.
11. E.N. Ashworth, J.B. St. John, M.N. Christiansen, G.W. Patterson, *J. Agric. Food Chem.*, 29 (1981) 879.
12. J.R. Yandrasitz, G. Berry, S. Segal, *J. Chromatogr.*, 225 (1981) 319.
13. M. Guichardant, M. Lagarde, *J. Chromatogr.*, 275 (1983) 400.
14. M. Ikeda, M. Hattori, U. Matsumoto, *Anal. Sci.*, 2 (1986) 379.
15. R.M. Sheeley, W.J. Hurst, D.M. Sheeley, R.A. Martin Jr., *J. Liq. Chromatogr.*, 10 (1987) 3173.
16. S.S. Chen, A.Y. Kou, *J. Chromatogr.*, 227 (1982) 25.
17. T. Kawasaki, J. Kambayashi, T. Mori, G. Kosaki, *Thromb. Res.*, 36 (1984) 335.
18. L.A. Dethloff, L.B. Gilmore, G.E.R. Hook, *J. Chromatogr.*, 382 (1986) 79.
19. K. Hundrieser, R.M. Clark, *J. Dairy Sci.*, 71 (1988) 61.
20. H.P. Nissen, H.W. Kreysel, *J. Chromatogr.*, 276 (1983) 29.
21. K. Shimbo, *Agric. Biol. Chem.*, 50 (1986) 2643.
22. T. Heinze, G. Kynast, J.W. Dudenhausen, C. Schmitz, E. Saling, *Chromatographia*, 25 (1988) 497.
23. F.B. Jungalwala, V. Hayssen, J.M. Pasquini, R.H. McCluer, *J. Lipid Res.*, 20 (1979) 579.
24. G.M. Patton, J.M. Fasulo, S.J. Robins, *J. Lipid Res.*, 23 (1982) 190.
25. H. Takamura, H. Narita, R. Urade, M. Kito, *Lipids*, 21 (1986) 356.
26. G.R. Bartlett, *J. Biol. Chem.*, 234 (1959) 466.
27. R.K. Raheja, C. Kaur, A. Singh, I.S. Bhatia, *J. Lipid Res.*, 14 (1973) 695.
28. J.C.M. Stewart, *Anal. Biochem.*, 104 (1980) 10.
29. F.B. Jungalwala, R.J. Turel, J.E. Evans, R.H. McCluer, *Biochem. J.*, 145 (1975) 517.
30. M. Kito, H. Takamura, H. Narita, R. Urade, *J. Biochem.*, 98 (1985) 327.
31. M.L. Blank, M. Robinson, V. Fitzgerald, F. Snyder, *J. Chromatogr.*, 298 (1984) 473.
32. M. Batley, N.H. Packer, J.W. Redmond, *J. Chromatogr.*, 198 (1980) 520.
33. S.S. Chen, A.Y. Kou, H.Y. Chen, *J. Chromatogr.*, 208 (1981) 339.
34. S.S. Chen, A.Y. Kou, H.Y. Chen, *J. Chromatogr.*, 276 (1983) 37.
35. T. Kaneko, Y. Ohta, Y. Machida, *Agric. Biol. Chem.*, 51 (1987) 2023.
36. H. Him, N. Salem, Jr., *Anal. Chem.*, 59 (1987) 722.
37. F.B. Jungalwala, J.E. Evans, R.H. McCluer, *J. Lipid Res.*, 25 (1984) 738.
38. A. Stolyhwo, H. Colin, G. Guiochon, *J. Chromatogr.*, 265 (1983) 1.
39. A. Stolyhwo, H. Colin, M. Martin, G. Guiochon, *J. Chromatogr.*, 288 (1984) 253.
40. W.W. Christie, *J. Lipid Res.*, 26 (1985) 507.

* * *

Si desea hacerse socio del GCTA rellene y envíe el siguiente boletín de inscripción a la secretaria:

Dr. Joan Grimalt
Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines
Centro de Investigación y Desarrollo (CSIC)
Jordi Girona Salgado, 18-26 - 08034 Barcelona

acompañado de la correspondiente autorización bancaria. Precio 1989: 1.500 ptas.). Señale la dirección en la que desea recibir la correspondencia.

**REAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUIMICA
GRUPO DE CROMATOGRAFIA Y TECNICAS AFINES**

HOJA DE INSCRIPCION

Apellidos Nombre.....

Ciudad (CP)

Calle núm.....

Industria u organización

..... Ciudad (CP)

Calle núm.

Firma,

Sr. Director del Banco/Caja de Ahorros

Sucursal

Dirección Ciudad

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 Real Sociedad Española de Química.

Atentamente le saluda,

Firma

EL INTEGRADOR QUE ESTABA ESPERANDO...



5 años de garantía

...YA ESTA AQUI

OPCIONES

- Ampliación de memoria a 512 K.
- Ampliación a respuesta control.
- Base.

Spectra-Physics

lasing, s.a.

88991.43

Alfonso Ricardos, 12-13
08017 BARCELONA

Madrid de Pinar Viejo, 64
Tfno. 266 26 43/46 79 - FAX 407 26 24
28017 MADRID

IsoChrom LA BOMBA ISOCRÁTICA PARA HPLC



SI ESTÁ PENSANDO EN MEJORAR SU SISTEMA CROMATOGRAFICO O EMPEZAR A CREARLO, EN ESTE MOMENTO PUEDE HACERLO POR 450.000 Ptas. EL PRECIO DE ESTA BOMBA

CONSULENOS PARA SISTEMAS COMPLETOS

- Bombas de gradiente
- Detectores
- Integradores
- Sistemas de tratamiento de datos Cromatográficos

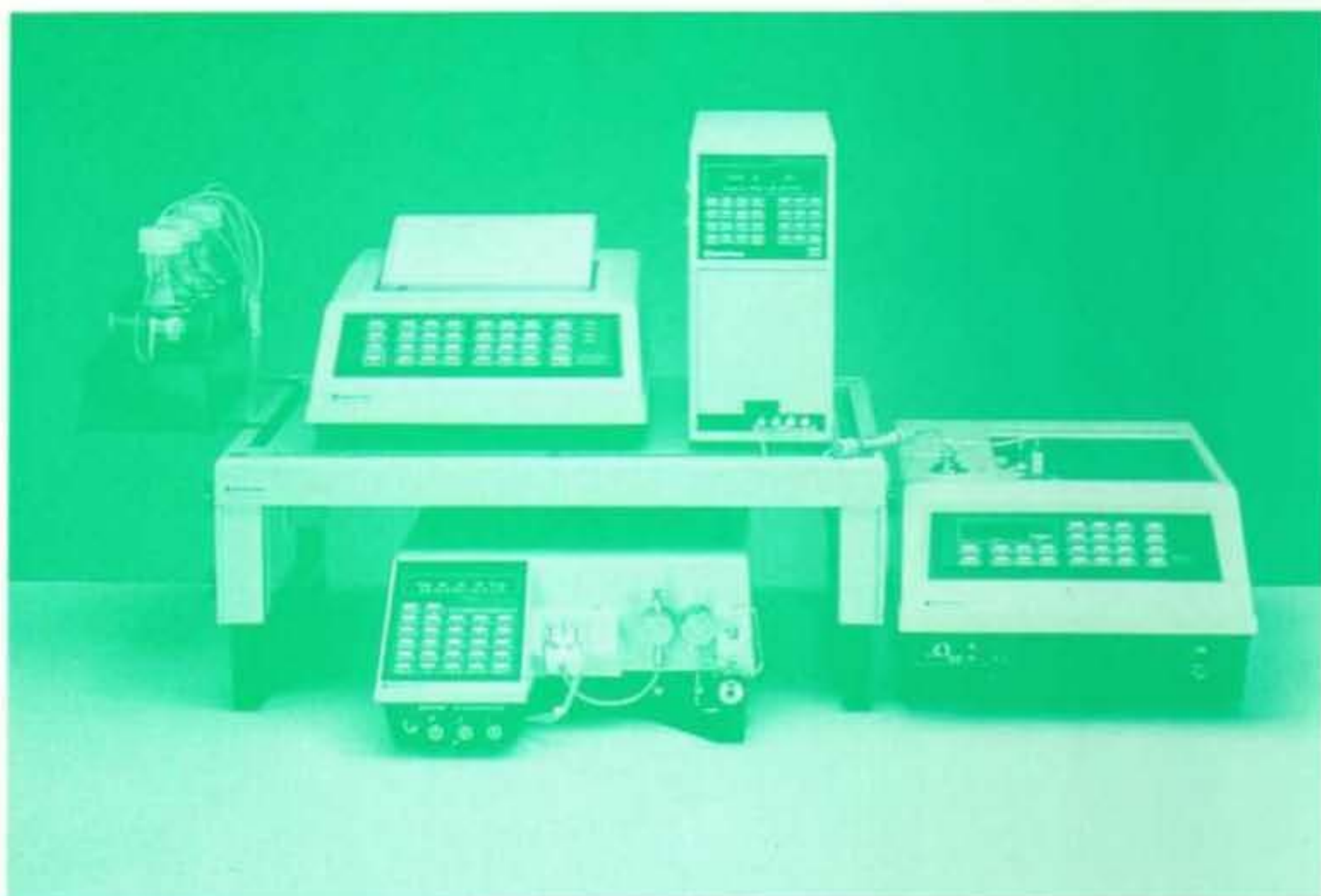
Spectra-Physics

lasing, s.a.

Alfonso Ricardos, 12-13
Tfno. 266 26 43/46 79 - FAX 407 26 24
08017 BARCELONA

Madrid de Pinar Viejo, 64
Tfno. 266 26 43/46 79 - FAX 407 26 24
28017 MADRID

Ofrecemos nuestros sistemas
de HPLC con la mayor garantía:
cuestión de confianza



 **Spectra-Physics**

lasing, s.a.

Marqués de Pico Velasco, 64
Tfno. 268 36 43/08 79 - FAX 407 06 24
28027 MADRID

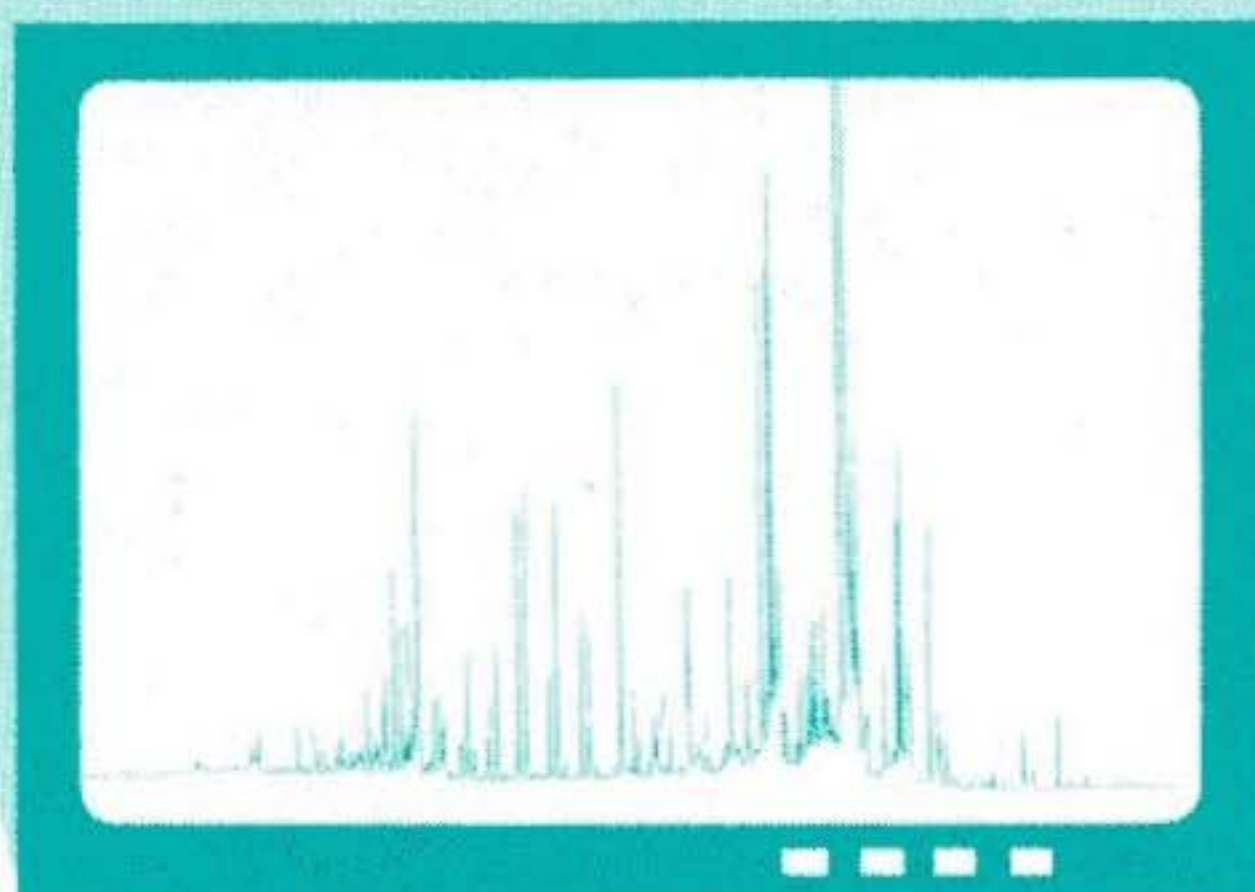
Antonio Ricardos, 12-14
Tfno. 352 69 33 - FAX 352 23 08
08027 BARCELONA

GCTA

RSEQ

XVIII Reunión Científica del Grupo de Cromatografía y Técnicas afines

Reus-Salou, 22-24 noviembre 1989



AVANCE DE PROGRAMA

**CURSO ESPECIALIZADO DE CROMATOGRAFIA
DE GASES CON COLUMNA CAPILAR**

Reus-Salou • noviembre 21-1989

PALAU DE FIRES I CONGRESSOS

Avg. S. Jordi, s/n. Tel. (977) 31 72 15 - 43201 Reus

Estereoisómeros en alimentos. Análisis cromatográfico

T. Herráiz y G.P. Blanch

Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)

1.-INTRODUCCION

La mayoría de las interacciones bioquímicas son de naturaleza estereoespecífica y están normalmente reguladas por enzimas. La resolución de enantiómeros es importante en numerosos campos y también en tecnología de alimentos, debido a que los receptores del gusto y aroma distinguen entre sustratos de distinta estereoquímica. Mosandl y Heussinger (1) señalan que en una gran variedad de frutas necesarias para la alimentación humana hay numerosos compuestos (olefinas, ésteres, γ y δ lactonas, heterociclos, etc.) que determinan su aroma y que son de estereoquímica desconocida, siendo por ello, la investigación sobre la relación estructura-actividad cada vez más importante y han de esperarse avances en este campo en tecnología de alimentos.

El aroma y el gusto de los estereoisómeros, no sólo difieren cualitativamente sino también de modo cuantitativo, produciéndose diferencias en los umbrales de percepción (2). Se ha demostrado la importancia de la quiralidad en la percepción del olor (3-5) y por ello recientemente ha aumentado el interés hacia la evaluación de la quiralidad de numerosos enantiómeros volátiles naturales (6-11).

La separación de estereoisómeros se utiliza en la determinación de la pureza óptica de las transformaciones microbianas (6,12), en síntesis asimétrica con excesos enantiómeros altos, en la diferenciación entre aromas sintéticos y aromas naturales y entre aromas naturales e "idénticos a naturales" pero adicionados, todo ello conociendo la pureza óptica del compuesto quiral en el alimento en cuestión. En todo caso la separación de los enantiómeros permite investigar en múltiples campos las distintas funcionalidades de los compuestos dependiendo de su estereoquímica.

SEPARACION CROMATOGRAFICA DE ESTEREOISOMEROS

De las dos clases de estereoisómeros existentes, la separación de los diastereómeros no presenta excesivas dificultades debido a que tienen propiedades químicas y físicas distintas; sin embargo, la separación de enantiómeros es difícil ya que presentan propiedades físicas idénticas en cualquier medio isotrópico aquiral. Para separar los enantiómeros de un compuesto disponemos de dos procedimientos (13):

a) Separación de enantiómeros por formación química previa de los diastereómeros y utilizando fases aquirales.

b) Separación de los enantiómeros utilizando fases quirales.

a) Separación por formación de diastereómeros

La separación de los enantiómeros puede conseguirse si se convierten en diastereómeros al reaccionar con un reactivo quiral y posteriormente se separan utilizando fases convencionales aquirales. Es necesario que la pureza química y óptica del reactivo quiral sea conocida, que la reacción sea rápida y

cuantitativa y que se formen diastereómeros de volatilidad aceptable para su análisis por CG. Evidentemente, la retención cromatográfica del reactivo utilizado debe permitir su separación de los diastereómeros formados (13).

La formación de derivados diastereoméricos para su posterior separación sobre fases no quirales ha sido llevada a cabo con un gran número de agentes (6, 13-15). Como ejemplo, Tressl y Engel (6) utilizan el R (+)- α -metoxi- α -trifluorometilfenilacético (R (+)-MTPA) para separar por cromatografía de gases derivados de alcoholes secundarios, ésteres de 2, 3, y 4-hidroxiácidos y γ -lactonas. Estos investigadores separan así los enantiómeros de la γ -valerolactona, γ -hexalactona y γ -octalactona y el método puede ser aplicado al control de la pureza óptica de los procesos microbiológicos en la producción de estos compuestos.

En todo caso, la separación de los derivados diastereoméricos de los compuestos racémicos es menos adecuada que la separación directa puesto que la reacción de cada enantiómero con el grupo reactivo necesario para formar los diastereoisómeros puede transcurrir en distinto grado. Sin embargo, a pesar de las indudables ventajas que ofrece la resolución directa, no es posible en muchas ocasiones debido a las débiles interacciones existentes entre el enantiómero y la fase quiral.

b) Separación cromatográfica en fase quiral

La otra alternativa es la resolución de los enantiómeros por CG mediante su interacción con un entorno ópticamente activo, representado por la fase líquida estacionaria quiral. Esta técnica tiene la ventaja de que requiere pequeña cantidad de muestra lo cual es de gran interés en estudios bioquímicos y metabólicos.

Algunos autores han revisado las fases utilizadas en la separación cromatográfica directa de enantiómeros (12,13). Entre las más importantes se pueden citar:

— Fases con aminoácidos del tipo N-trifluoro acetil (TFA)-L-valil-L-valina ciclohexil ester (16). Se han utilizado para la separación de L y D aminoácidos.

— Fases sintetizadas a partir de derivados de aminoácidos: N-dodecanoil-L-valina-tertbutilamida (17). Se han aplicado para la separación de aminoácidos y aminoalcoholes.

— Fases estacionarias de bajo peso molecular como N-dodecanoil-S- α -(1-naftil) etilamina (18). Se han recomendado para la separación de enantiómeros de aminoácidos, aminas, ácidos carboxílicos ramificados y amidas. La fase N-(S)- α -hidroxi-n-octanoil-(S)- α -feniletilamina (12), se han empleado en la separación de α -hidroxiácidos y la fase N-(1R,3R)-trans-crisantemoil-(R)- α -(1-naftil)-etilamina (19), en la resolución de aminoácidos, aminas, amidas y algunos alcoholes quirales y nitrilos.

— Fases quirales poliméricas. Fueron desarrolladas por Frank y col. (20,21) a partir de polisiloxanos y L-valina-tertbutilamida unida químicamente. A este grupo pertenece la fase denominada Chirasil-Val que posee una estabilidad térmica muy superior a la de las fases anteriormente mencionadas y permite la separación de aminas quirales, aminoalcoholes, amidas de α -hidroxiácidos y algunos glicoles siendo posible efectuar la elución cromatográfica a temperaturas de hasta 220^o C. Posteriormente otros investigadores han utilizado estructuras de polisiloxano modificado para obtener una fase quiral. Así, Saeed y col. (22) modifican OV-225 mediante reacción con L-valina- tertbutilamida, König y

col. (23) utilizan el polisiloxano XE-60 para la preparación de distintas fases quirales, hidrolizan los grupos nitrilo e introducen L-valina-(S)- α -feniletilamida. Con esta nueva fase estacionaria logran la separación por primera vez de enantiómeros de carbohidratos trifluoroacetilados y de glicosidos (24,25). Más recientemente Frank (26), obtiene aun mayor selectividad y estabilidad de los polisiloxanos como fases estacionarias y demuestra que ambas dependen de la pureza y composición de la matriz, sus grupos funcionales, el grupo quiral y el pretratamiento de la superficie interna del capilar.

— **Ciclodextrinas.** Aunque las fases anteriores son utilizadas de manera rutinaria en la resolución de un gran número de enantiómeros, no todos los problemas pueden resolverse con ellas. Las ciclodextrinas se han utilizado en la separación de estereoisómeros principalmente en HPLC (27,28) y sólo se han utilizado ocasionalmente en cromatografía de gases (29,30). König y col. (31,32) demuestran que las ciclodextrinas presentan alta enantioselectividad después de la introducción de residuos hidrofóbicos en la estructura macrocíclica y logran la separación de numerosos compuestos con grupos hidroxilo como carbohidratos, dioles, trioles, polioles, aminoalcoholes después de la acetilación. Según estos autores es posible optimizar la adecuación de la ciclodextrina al problema de separación específico mediante la introducción de los sustituyentes apropiados en las posiciones más adecuadas para conseguir finalmente potenciar la interacción molecular enantioselectiva. De este modo fue posible separar por primera vez una serie de lactonas utilizando una ciclodextrina como fase estacionaria quiral. Como resultado de estos trabajos es posible en la actualidad lograr la separación sin derivatización de las lactonas existentes como constituyentes naturales del flavor y como feromonas en la comunicación química de los insectos.

Como se ha mencionado anteriormente, la separación de enantiómeros por CG exige la formación de derivados volátiles. En el caso de que se pretendan resolver enantiómeros sobre una fase quiral, es necesario evitar que se produzca racemización durante la reacción de derivatización y se debe lograr la introducción de grupos que incrementen la volatilidad y potencien además la interacción enantioselectiva con objeto de conseguir una mayor separación de los enantiómeros (12,33).

Para formar derivados volátiles se utilizan habitualmente procedimientos como la acilación o la introducción de residuos de trifluoroacetilo (TFA), pentafluoropropionilo o heptafluorobutirilo en grupos amino o hidroxilo. Es un buen procedimiento para aminoácidos, aminas, aminoalcoholes, dioles, carbohidratos y en algunas ocasiones hidroxilácidos. Sin embargo, el empleo de isocianatos como agentes derivatizantes proporciona mejores resultados (12,34). Concretamente, el más utilizado es el isopropilisocianato que da lugar a uretanos con alcoholes quirales e hidroxilácidos, a carbamatos con compuestos amino y a amidas con grupos carboxílicos. En todas estas reacciones se forman uniones CO-NH que son importantes pues posibilitan la formación de puentes de hidrógeno favorables para la separación enantioselectiva. Otro agente con un amplio espectro de posibilidades es el fosgeno (33) aunque menos utilizado.

Interacción enantioselectiva

Las primeras separaciones de enantiómeros con fases quirales se deben a Gil-Av y col. (35-37), que asignan la enantioselectividad a la formación de puentes de hidrógeno entre grupos carbonilo y amida, correspondientes a la fase estacionaria quiral y los compuestos enantioméricos. Este es el meca-

nismo más habitual de separación (13,33), pero no es el único tipo de interacción que puede contribuir a la resolución de enantiómeros (38,39) puesto se han separado algunos sobre fases en las que no pueden existir puentes de hidrógeno. Así, se han resuelto el ester isopropílico de la N-TFA-DL-prolina sobre la fase líquida N-TFA-L-propil-L-prolina ciclohexilester (38). Las interacciones polares, dipolo-dipolo y estéricas también generan fuerzas de unión que contribuyen al reconocimiento quiral. Recientemente se ha comprobado que las interacciones existentes entre las ciclodextrinas y los solutos a separar, depende en gran medida de los sustituyentes existentes en las distintas posiciones del carbohidrato por lo que se han investigado las aplicaciones de ciclodextrinas metiladas, propiladas, butiladas y pentiladas, en las que las interacciones hidrofóbicas contribuyen sustancialmente al reconocimiento quiral que se produce por fuerzas hidrofóbicas.

APLICACIONES DE LA SEPARACION DE ENANTIOMEROS EN EL CAMPO DE LOS ALIMENTOS

En la introducción ya se recogen algunas de las más interesantes aplicaciones de la separación enantiomérica en tecnología de alimentos. Aquí señalamos algunos ejemplos más particulares de tales aplicaciones. Bricout (40) utiliza una fase estacionaria quiral para la separación de enantiómeros de algunos constituyentes del aroma. Demuestra que la γ -decalactona y la γ -dodecalactona se presentan en frutas como un solo enantiómero. La γ -decalactona se encuentra en la fresa principalmente en la configuración R como un enantiómero puro como ya habían señalado previamente Tressl y Albrecht (7). Por su parte Tressl y Engel (6) aplican el método de la formación de diastereómeros de los enantiómeros correspondientes para controlar la formación de compuestos ópticamente activos durante los procesos microbiológicos así como para determinar la composición enantiomérica de los constituyentes del aroma quiral en sistemas naturales.

König (12) logra la separación de enantiómeros de alcoholes, de hidroxiacidos, ácidos carboxílicos ramificados en posición α , aminas, N-metilaminoácidos y cetonas quirales sobre una fase quiral después de haber derivatizado con isopropilisocianato. Este amplio abanico de compuestos separados abre la posibilidad de utilizar este método para la separación de muchos de los compuestos más abundantes del aroma en muestras de alimentos.

Un ejemplo ilustrativo de la importancia de la quiralidad es el caso del mentol: de los 8 estereoisómeros sólo el levorrotatorio (1R, 3R, 4S) presenta el olor a menta característico. Se han conseguido separar los enantiómeros del mentol, después de la reacción con el isopropilisocianato, por cromatografía en fase quiral (XE-60-L-Val-S- α -pea) (33). Sin embargo, debido a la imposibilidad de la separación de los 8 estereoisómeros en un solo cromatograma, previamente se recurre a la cromatografía de gases multidimensional (CGMD). De esta forma Schomburg y col. (41) separan los 4 diastereómeros en una precolumna no quiral (OV-1701) y los componentes se transfieren individualmente o en parejas a una segunda fase quiral (XE-60-L-val-S- α -pea), consiguiéndose la separación de los enantiómeros.

La enantiodiferenciación de alcoholes secundarios quirales, de 4 (5) γ -lactonas alquil sustituidas, de alcanos-1,3-dioles y de 1,3-monotioglicoles quirales, mediante esteres diastereómeros del (S)-o-acetil lactico supone un método muy conveniente para evaluar la quiralidad de los compuestos citados por cromatografía de gases sobre una fase aquiral (DB-210-30W) (42), Gessner y col. (43) estudian la

pureza óptica del 1-octen-3-ol en setas y de la de algunos esteres quirales presentes en plantas y discuten la importancia de la quiralidad en estos compuestos.

La producción de compuestos quirales de alta pureza enantioselectiva con reacciones microbiológicas o enzimáticas (biotransformaciones) es de gran interés. Las enzimas convierten los sustratos proquirales en quirales (44-46). La reducción de las metilcetonas por *S. cerevisiae* conduce exclusivamente al correspondiente S(+) 2-alcohol. Otro método de obtener alcoholes ópticamente puros es la hidrólisis estereoespecífica enzimática de acetatos racémicos por microorganismos (47). Pero al contrario que la reducción de metilcetonas, la hidrólisis citada conduce a los R(-) 2-alcoholes (6). Los mismos autores identifican el 3-hidroxibutirato de etilo como constituyente del mango de la pasión por formación del derivado con R(+)-MTPA-Cl y establecen su composición enantiomérica (82% de S(+) y 18% R(-)).

CONSIDERACIONES FINALES

Los recientes avances experimentados en tecnología de columnas capilares y el desarrollo de fases estacionarias enantioselectivas, y termoestables junto con el desarrollo de procedimientos de derivatización adecuados para aumentar la volatilidad de la muestra así como las investigaciones realizadas sobre el reconocimiento quiral, está permitiendo un avance sustancial en la separación de enantiómeros por CG. Con ello disponemos de métodos para conocer la pureza enantiomérica de gran número de compuestos de interés biológico, como feromonas, compuestos del aroma y otros compuestos naturales, y permite augurar un futuro brillante al conocimiento de los mecanismos de reconocimiento quiral en las interacciones de estereoquímica definida. En aquellos casos en los que no sea posible la resolución directa de los enantiómeros, es posible recurrir a la formación de diastereómeros ya que actualmente se están ensayando numerosos reactivos con buenos resultados.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Mosandl, A.; Heussinger, G. Analysis of volatiles, Ed. P. Schreier W. d. Gruyter, Berlín, New York (1984) 343.
- (2) Acre, T.H.; Nishida, R.; Fukami, H.; J. Agric. Food Chem. 33 (1985) 425.
- (3) Ohloff, C.; Experientia 42 (1986) 471.
- (4) Russel, G.F.; Hills, J.I; Science (Washington, D.C.) 172 (1971) 1043.
- (5) Friedman, C.; Miller, J.G; Science (Washington, D.C.) 172 (1971) 1044.
- (6) Tressl, R.; Engel, K.H. in "Analysis of Volatiles", Ed. P. Schreier, W. d. Gruyter, Berlín, New York (1984) 323.
- (7) Tressl, R.; Albrecht, W.; In "Biogenesis of aromas" Parliment T. and Croteau R. Eds.; ACS Symposium Series 317 Washington DC (1986) 114.
- (8) Günther, C.; Noganal, A; Mosandl A; Z. Lebensrm. Unters. Forsch, 185 (1987).
- (9) Engel, K.H. in "Bioflavour'87"; Ed. P. Schreier. De Gruyter, Berlín, New York (1988) 75.
- (10) Krammer, G.; Fröhlich, O.; Schreier, P. in "Bioflavour'87". Ed. P. Schreier, De Gruyter, Berlín, New York (1988) 89.
- (11) Mosandl, A.; Gessner, M.; Günther, L.; Deger, W.; Singer, G.; HRC & CC 10 (1987) 67.
- (12) König; W.A.; HRC & CC 5 (1982) 588.
- (13) Shouter, W.R. Chromatographic separations of stereoisomers CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida (1985).
- (14) Gil Av, E.; Nurok, D. in "Advances in Chromatography", Vol. 10. Giddings, J.C. and Keller, R.A. Eds. Marcel Dekker, New York (1974) 99.
- (15) Halpern, B. Handbook of derivatives for chromatography, Blau, K. and King, C.S. Eds. Heyden & sons, London, Chap. 13 (1977).
- (16) Gil-Av, E.; Feibush, B.; Tetrahedron Lett (1967) 3345.
- (17) Feibush, B.; J. Chem. Soc. Chem. Commun. (1971) 544.

- (18) Weinstein, S.; Feibush, B.; Gil-Av, E.; J. Chromatogr. 126 (1981) 97.
- (19) Oi, N.; Doi, T.; Kitahara, H.; Inada, Y.; J. of Chromatogr. 208 (1981) 404.
- (20) Frank, H.; Nicholson, G.J.; Bayer, E.; J. Chromatographic Sci. 15 (1977) 174.
- (21) Frank, H.; Nicholson, G.J.; Bayer, E.; Angew Chem. Intern. Ed. 17 (1978) 363.
- (22) Saeed, T.; Sandra, P.; Verzele, M.; J. Chromatogr. 186 (1979) 611.
- (23) König, W.; Francke, W.; Benecke, I.; J. Chromatogr. 239 (1982) 227.
- (24) König, W.; Benecke, I.; Sievers, S.; J. Chromatogr. 217 (1981) 71.
- (25) Benecke, I.; Schmidt, E.; König, W.A.; HRC & CC 4 (1981) 553.
- (26) Frank, H.; HRC & CC 11 (1988) 787.
- (27) Armstrong, D.W.; Denond, W.J. Chromatographic Sci. 22 (1984) 411.
- (28) Armstrong, D.W.; Ward, T.J.; Armstrong, R.D.; Beestey, T.E. Science 232 (1986) 1132.
- (29) Koscielski, T.; Sybilska, D.; Belniak, S. Jurczak; J. Chromatographia 21 (1986) 413.
- (30) Juvancz, Z.; Alexander, G.; Szejtli, J.; HRC & CC 10 (1987) 105.
- (31) König, W.A.; Lutz, S.; Wenz, G.; Von der Bey, E.; HRC & CC 11 (1988) 506.
- (32) König, W.A.; Lutz, S.; Colberg, C.; Schmidt, W.; Wenz, G.; Von der Bey, E.; Mosandl, A.; Günther, C.; Kusterman, A.; HRC & CC 11 (1988) 621.
- (33) König, W.A. in "Chromatographic Methods", Hüthig Verlag, Heidelberg, Basel New York (1987).
- (34) Benecke, I.; König, W.A.; Angew Chem. 94 (1982) 709.
- (35) Gil-Av, E.; Feibush, B.; Charles-Siegler, R.; Tetrahedron Lett 10 (1966) 1009.
- (36) Gil-Av, E.; Feibush, B.; Charles-Siegler, R. in A.B. Littewood (Editor) "Gas chromatography 1966". Institute of Petroleum, London (1966) 227.
- (37) Feibush, B.; Gil-Av, E.; Tetrahedron 26 (1970) 1361.
- (38) Stölting, K.; König, W.A.; Chromatographia 9 (1976) 331.
- (39) König, W.A.; Sievers, S.; J. Chromatogr. 200 (1980) 189.
- (40) Bricout, J. en: "Flavour Science and Technology" M. Martens; G. A. Dalen; H. Russwurn. Ed. John Wiley and sons. (1987) 187-194.
- (41) Schomburg, A.; Hussman, H.; Hübinger, E.; König, W.A. HRC & CC 7 (1984) 404.
- (42) Deger, W.; Gessner, M.; Günther, C.; Singer, C.; Mosandl, A.J. Agric. Food Chem. 36 (1988) 1260.
- (43) Gessner, M.; Deger, W.; Mosandl, A.; Z. Lebensm. Unters. Forsch. 186 (1988) 417.
- (44) Kieslich, K. in "Microbial transformations" G. Thieme Stuttgart (1976).
- (45) Sih, C.S.; Chen, C.S.; Angew. Chem. 96 (1984) 556; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 23 (1984) 570.
- (46) Simon, H.; Bader, Günther, H.; Neuman, S.; Tharios, J.; Angew. Chem. 97 (1985) 541; Angew. Chem. Int. Ed. Ed. Engl. 24 (1985) 539.
- (47) Ohta, H.; Tetsukawa, H.; Agric. Biol. Chem. 44 (1980) 863.

* * *

C-R6A

Procesador de datos fiable y económico

Almacenamiento de cromatogramas y reprocesamiento.

Programación en BASIC.

Interface standard para cassette.

Interface externa para cromatógrafo o computador externo.

C-R5A

Procesador de Datos con capacidad para 2 canales

Almacenamiento de cromatogramas y reprocesamiento.

Tarjeta IC (RAM) para

archivo de datos, programas o parámetros.

Puede procesar con precisión picos tan pequeños como 0,04 seg. (anchura a media altura).

C-R4A

Procesador de Datos de altas prestaciones

Con pantalla, discos floppy y capacidad de doble canal simultáneo en tiempo real.

Programación vía menú a través de la pantalla.

Gran potencia cuantitativa.

COMPATIBLES CON CUALQUIER CROMATOGRFO DE GASES O DE LIQUIDOS



PROCESADORES DE DATOS PARA CROMATOGRAFIA

SHIMADZU

Ahora le ofrecemos una amplia gama:



IZASA, S. A.

C/. Aragoneses, 13
Pol. Ind. Alcobendas
28100 MADRID

C/. Calabria, 174
08015 BARCELONA

CONSULTENOS EN DELEGACIONES DE:

Barcelona: 425 01 00; **Bilbao:** 476 13 50; **Gijón:** 35 67 46; **Granada:** 28 07 50;
Las Palmas: 24 21 49; **Madrid:** 653 71 99; **Murcia:** 29 87 11; **La Laguna:** 65 01 12;
Santiago de Compostela: 58 28 00; **Sevilla:** 36 41 66; **Valencia:** 347 66 65;
Zaragoza: 77 17 14

Cromatografía de fluidos supercríticos: la técnica del año

J. Solé Ribalta
Ces Analítica, S.A.

INTRODUCCION

La Cromatografía de Gases (CG) y la Cromatografía Líquida (LC) son las técnicas separativas más usadas en el campo de la Química Analítica.

A pesar de ello, estas técnicas presentan algunas limitaciones en la separación de aquellas moléculas que debido a su baja volatilidad e insuficiente termoestabilidad, no permiten ser analizados mediante sistemas gas-cromatográficos, mientras que la falta de un sistema de detección sensible y universal así como la dificultad de obtener una adecuada separación, limita el uso de la Cromatografía Líquida.

Para estas sustancias, la Cromatografía de Fluidos Supercríticos (SFC) combina las ventajas de la Cromatografía de Gases y la Cromatografía Líquida por cuanto ofrece una eficacia de separación similar a la Cromatografía de Gases, además puede emplear un sistema de detección universal como es el Detector de Ionización de llama (FID) y la ventaja de disponer de una fase móvil con poder de solvatación similar a la Cromatografía Líquida.

Los Fluidos Supercríticos (gases sometidos a presiones y temperaturas superiores a su punto crítico) tienen en realidad una viscosidad similar a la de los líquidos y una difusibilidad media entre gas y líquido.

La fase móvil más comúnmente empleada en SFC es el anhídrido carbónico (CO₂) debido a su baja temperatura crítica (32°) y gracias a su compatibilidad con el Detector de ionización de llama, entre otras razones.

Las aplicaciones de la SFC encuentran su máxima utilidad en la separación de sustancias termolábiles de peso molecular relativamente alto (500-1.000 u.a.m.) por esto, sus campos de aplicación son:

- Productos farmacéuticos.
- Productos naturales.
- Polímeros.
- Pesticidas.
- Productos petrolíferos.
- Moléculas biológicas.
- Drogas sintéticas y de abuso.
- Triglicéridos.

La SFC puede considerarse un puente entre la CG y la LC, considerando que cada una de estas técnicas conserva una gran gama de peculiares aplicaciones.

Las primeras separaciones conocidas de SFC son del año 1962. Al principio se trabajó con columnas de relleno, siendo en el año 1981 cuando se utilizaron por primera vez las columnas capilares; debido a la baja caída de presión a lo largo de la columna permite utilizar mayor longitud, logrando con ello superior eficacia. Además, debido al bajo flujo en que operan, se pueden acoplar los detectores de CG y LC.

INSTRUMENTACION

Hasta que en 1986 no fue presentado el primer cromatógrafo de fluidos supercríticos, se venía utilizando la técnica de SFC mediante la modificación de una bomba de HPLC combinándolo con un cromatógrafo de gases.

La instrumentación actual de los equipos de SFC presenta los siguientes componentes básicos:

- 1.-Fluido para fase móvil.
- 2.-Bomba de jeringa de alta presión.
- 3.-Horno Gas-Cromatográfico de alta temperatura, equipado con inyector, columna y detector.
- 4.-Sistema de control a través de Microprocesador.

1.-Fluidos supercríticos

Las características necesarias para los fluidos supercríticos utilizados en SFC, deben ser:

- Baja temperatura.
- Baja presión crítica.
- Buen poder solvatante.
- No tóxico.
- No inflamable.
- Compatible con el FID.
- Bajo coste económico.

En la tabla número 1 se muestra la tabla de fluidos supercríticos propuestos con sus características.

De todos ellos, el dióxido de carbono es el más utilizado debido a sus propiedades físico-químicas. El amoníaco es otro fluido excelente aunque presenta incompatibilidades instrumentales al ser gas corrosivo, inflamable y tóxico.

Hoy en día, la investigación se decanta hacia la búsqueda de nuevas fases móviles con mayor poder solvatante y con la incorporación de modificadores orgánicos.

Tabla 1.—Algunas propiedades de fluidos supercríticos

	T _{CR} (°C)	P _{CR} (atm)	Poder de solvatación	FID	Tóxico	Inflamable	Corrosivo	Barato
Dióxido de carbono	31	74	Bastante pobre	si	no	no	no	sí
Amoníaco	132	111	Muy bueno	si	si	sí	si	si
Agua	374	218	Muy bueno	si	no	no	si	sí
Pentano	196	33	Bastante pobre	no	si	sí	no	sí
Metanol	240	80	Aceptable	no	si	sí	no	sí
Hexafluoruro de azufre	45	37	Bastante pobre	si	si	no	no	sí

2.-Bomba de jeringa

En SFC, el flujo de la fase móvil es muy pequeño (del orden de $1 \mu\text{l}/\text{min}$), por esta razón se utiliza una bomba de jeringa controlada por microprocesador. La bomba debe ser capaz de llegar a presiones de 50 MPa, controlando de forma eficaz y reproducible; además ha de poder programarse la variación de la densidad y de la presión durante el análisis cromatográfico.

3.-Horno cromatográfico

El horno cromatográfico donde se instalará la columna para efectuar la separación, debe poder alcanzar altas temperaturas y poseer una buena estabilidad térmica. Este factor es extremadamente importante porque un pequeño cambio en la temperatura de la columna puede afectar la densidad del fluido de la fase móvil y se transformaría en indeseables gradientes de densidad a lo largo de la columna.

La inyección de la muestra se efectúa a través de una válvula de alta presión que introduce la muestra en la fase móvil. La inyección se realiza con muestra líquida o en condiciones supercríticas para sustancias insolubles en disolventes orgánicos.

La SFC puede trabajar con columnas rellenas y capilares. En ellas juega un papel importante la longitud de la columna, su diámetro y el espesor de la película.

Las fases estacionarias utilizadas en SFC deben estar muy bien reticuladas debido a que el fluido supercrítico que posee un gran poder solvatante podría proceder a su extracción.

El diámetro de las columnas capilares empleadas en SFC se mueve en un rango de entre 50 a $100 \mu\text{m}$.

Por lo que respecta al sistema de detección, en SFC se pueden acoplar los detectores convencionales de llama de CG así como los de LC (tabla 2), debido al bajo flujo con que se opera con las columnas capilares.

Tabla 2.-Técnicas de detección en SFC

Detectores de llama:	FID TID FPD
Detectores on-column:	UV-VIS Fluorescencia Electroquímico
Sistemas acoplados:	MS FTIR

Los únicos cambios o modificaciones que se deben efectuar en los detectores de LC es reducir las cubetas de detección, cuando se trabaja con columnas capilares o hacerlas resistentes cuando se utilizan columnas de relleno.

Los detectores de llama, han de ir acompañados de un sistema de descompresión antes de la detección.

En el detector fotométrico de llama hay que tener presente que el CO₂ y el óxido nitroso emiten a 365 nm interfiriendo a los compuestos azufrados.

Otros sistemas de detectores empleados son el SFC/MS y el SFC/FTIR. El primero puede proporcionar un gran potencial a la detección en SFC debido a la sensibilidad y selectividad. El segundo sistema (SFC/FTIR) presenta actualmente problemas de acoplamiento con columnas de diámetro pequeño, además de presentar baja sensibilidad y a la no total transparencia del CO₂ al infrarrojo.

COMPARACION DE LA SFC CON LA CG Y LA LC

La SFC combina alguna de las características de la CG y LC y tiene algunas ventajas sobre ambas. Una de las principales ventajas es la de poder utilizar los detectores de CG y LC, así como poderse acoplar a MS y FTIR.

SFC vs. CG

La SFC no está limitada a compuestos volátiles como es el caso de la CG. Compuestos de alto peso molecular que no pueden ser analizados por CG tales como los polímeros han sido analizados por SFC.

En CG, frecuentemente se ha de derivatizar las muestras para incrementar su volatilidad. Drogas como el tetrahydrocannabinol ha sido analizado con SFC sin derivatización.

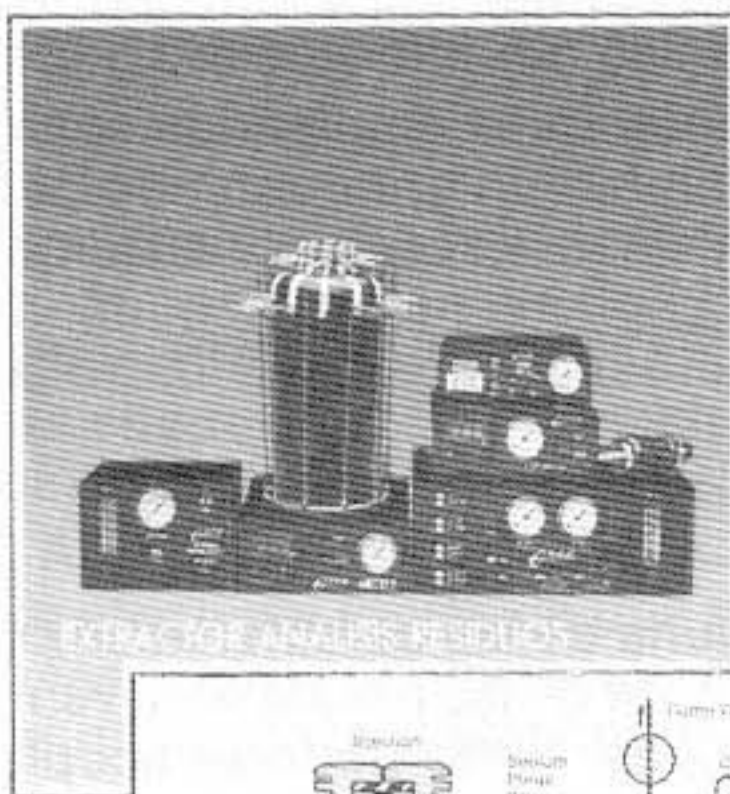
SFC vs. LC

La ventaja de la SFC sobre la LC es el corto tiempo requerido para pasar a través de la columna cromatográfica. Esto es debido a la baja viscosidad y alta difusión de los fluidos supercríticos. Algunos informes indican un incremento del poder de resolución de la SFC hasta 5 veces el de la HPLC. Las columnas capilares de la SFC consumen menos fase móvil cuando se compara con columnas convencionales o microbore de HPLC.

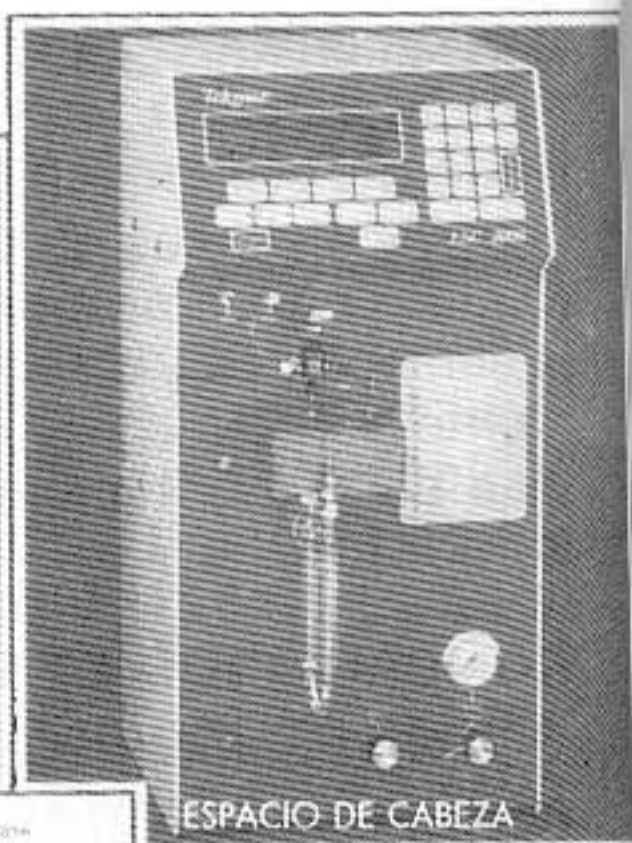
* * *

CROMATOGRAFIA
ESPECTROSCOPIA

la
ingeniería
en
analítica
instrumental



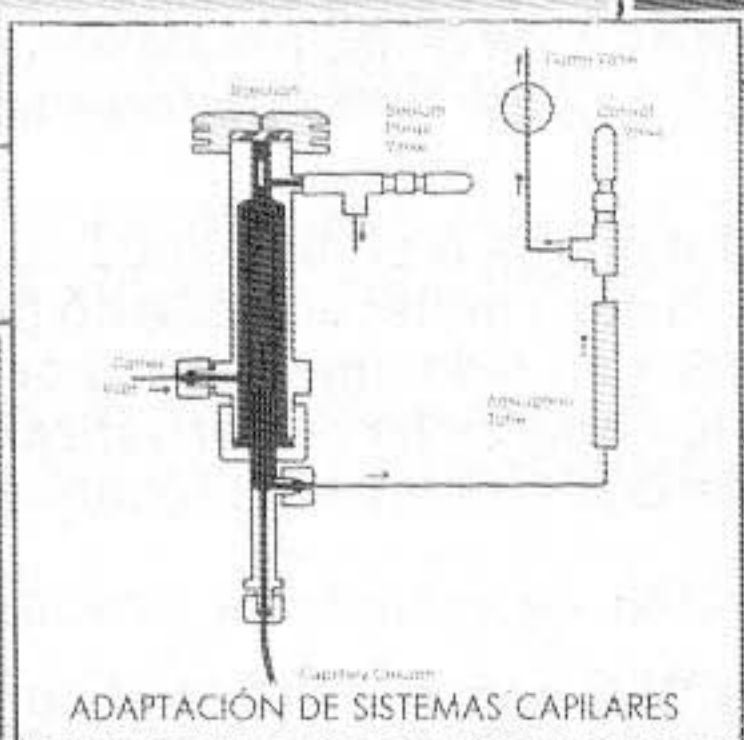
EXTRACCIÓN ANALISIS RESIDUOS



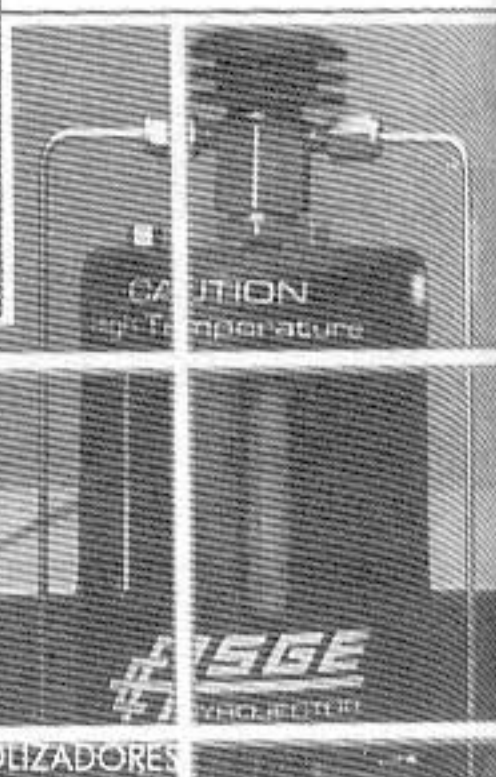
ESPACIO DE CABEZA



ACCESORIOS ANALÍTICA INSTRUMENTAL



ADAPTACIÓN DE SISTEMAS CAPILARES



PIROLIZADORES



INYECTORES AUTOMÁTICOS

- Investigamos, desarrollamos, fabricamos y comercializamos.
- Consulta Científico-Técnica.
- Estudiamos y resolvemos problemas. Contrato llaves en mano.
- Consúltenos. Le interesa conocernos.

un
nuevo
concepto

KROMXPEK

ESPECIALISTAS EN CROMATOGRAFIA Y ESPECTROSCOPIA
CONSUMIBLES Y ACCESORIOS PARA ANALISIS Y CONTROL

KROMXPEK ANALITICA, S. A.

Ctra. Cerdanyola, 65-67 • 08190 Sant Cugat del Vallés
Barcelona (ESPAÑA) • Tel. (93) 675 02 44 • Fax (93) 675 05 16
Télex 59.199 • Apdo. 282.

Rosario Pino, 18 • 28020 Madrid • Tel. (91) 571 67 84 •
Fax (91) 571 67 85.

Detectores electroquímicos en HPLC hoy. Ventajas de los detectores coulométricos frente a los amperométricos

Adrián García de Marina
Kontron Instruments, S.A.

Existen dos alternativas en la detección electroquímica en HPLC: Detectores amperométricos y detectores coulométricos. Las ventajas de estos últimos frente a los primeros ha constituido, en términos de sensibilidad, estabilidad y selectividad, la clave de su éxito.

La señal producida por un detector electroquímico amperométrico clásico es una medida de la intensidad proporcional a la concentración de soluto eluido mientras se aplica un potencial que ocasiona la oxidación o reducción espontánea de este soluto. La célula de medida, donde tiene lugar este proceso consta de tres electrodos: uno de trabajo, donde la sustancia analizada experimenta electrolisis; otro auxiliar, donde ocurre una reacción electrolítica complementaria y un electrodo de referencia que proporciona un potencial estable al electrodo de trabajo. Puesto que el electrodo de trabajo se mantiene a potencial constante durante la medida, es esencial optimizar la selección de los parámetros que condicionarán la sensibilidad y la estabilidad de dicha medida. De este planteamiento surgió un nuevo tipo de detector electroquímico: el detector coulométrico, que describiremos brevemente, comparándolo con el amperométrico.

Los procesos de oxidación —reducción que un soluto sufre en los electrodos se rigen por una cinética de transformación y, por tanto:

$$\frac{C_t}{C_0} = e^{-kt}$$

donde la concentración de sustancia transformada (C_t) a partir de la inicial (C_0) en un tiempo dado (t) depende de una constante k , que en un detector electroquímico puede expresarse como:

$$k = \frac{A}{V} \frac{D}{\delta}$$

es decir, proporcional al área del electrodo (A), al volumen de la célula (V), al coeficiente de difusión (D) y a la anchura del medio susceptible de causar difusión cromatográfica (δ). Puesto que D es constante en una operación dada y V también, al quedar condicionada por el volumen usual en HPLC, la expresión se reduce a:

$$k = \text{cte.} \frac{A}{\delta}$$

La primera gran diferencia entre un detector coulométrico y otro amperométrico reside en δ , que toma valores muy pequeños en condiciones de flujo turbulento y, en cambio, toma valores muy elevados en condiciones de flujo laminar.

El detector coulométrico trabaja con flujo turbulento y el amperométrico con flujo laminar. Para conseguir que el flujo sea turbulento el electrodo dispone de un sistema poroso de elevada área superficial. Las consecuencias resultan evidentes:

	δ (μm)	A (cm^2) k	
Detector coulométrico	0.3	5	170
Detector electroquímico	30	0.1	0.003

En el gráfico se representa la reactividad del componente analizado frente al tiempo. Considerando un tiempo de 0.3 seg., en el que un flujo de 1 ml/min llenaría una célula de 3 μl , se puede concluir que un detector coulométrico trabaja (oxidando o reduciendo) casi con el 100% de moléculas a analizar, mientras que un detector coulométrico convencional lo hace con no más del 3 ó 5%. En consecuencia, un detector coulométrico con una célula envejecida en un 95 ó 97% dará una señal equivalente a la de un detector amperométrico recién estrenado.

Otro efecto que presentan los detectores amperométricos es su dependencia respecto a un electrodo de referencia (normalmente plata-cloruro de plata). El potencial, y en consecuencia la señal final, depende de las concentraciones de los iones plata y cloruro, que son susceptibles de variación con el tiempo. Ahora bien, en el caso del detector coulométrico el electrodo de referencia es del tipo hidrógeno-ión hidrógeno (de potencial constante e igual a cero) al conformarlo mediante la colocación en la célula de medida de viruta de paladio que absorbe H_2 y O_2 ; como la fase móvil debe ir tamponada, la concentración de hidrógeno es constante (igual que la del gas hidrógeno, que lo es por definición), de lo que se deduce que la respuesta del detector coulométrico resultará extraordinariamente estable.

En definitiva, comparando ambos electrodos electroquímicos, veremos que el coulométrico presenta las siguientes ventajas frente al amperométrico:

1. Elimina la larga deriva y tiempo de estabilización habitual, por lo que su puesta en marcha resulta hasta 50 veces más rápida.
2. No tiene pérdidas de señal o derivas a causa de contaminaciones.
3. Permite analizar muestras de pureza no conocida.
4. Puede trabajar en oxidación y/o en reducción, pues transforma el 100% de las moléculas a analizar.

Finalmente, es necesario comentar que el detector coulométrico se instala habitualmente con una célula de acondicionamiento y una analítica doble con dos posiciones de medida, una para la fase móvil y otra para los compuestos a detectar. En cada una de las tres se puede seleccionar un potencial (positivo o negativo, de oxidación o de reducción, indistintamente) independientemente de las otras dos. Este hecho resulta de fundamental importancia: Si se efectúan medidas (cromatogramas) en oxidación, para tener la certeza de que todas las moléculas llegan reducidas a la célula de medida, podemos seleccionar un potencial de reducción tan alto como se desee en la célula de preacondicionamiento. En un detector amperométrico, esto no es posible. Más aún: en la primera zona de medida de la célula analítica podemos usar un potencial menor pero de igual signo que el aplicado sobre la zona de medida de la muestra que, si trabajamos en reducción, reducirá las sustancias indeseables del fondo. La posibilidad de reducir el 100% de las moléculas eliminando, además, la influencia del fondo, es sencillamente formidable como herramienta analítica.

Asimismo, podemos invertir todos los potenciales en cada una de las tres zonas (una de acondicionamiento y dos de medida). Si el proceso es reversible, los resultados deberían, en principio, ser equivalentes, pero con una sutil salvedad: El ruido debido al fondo (fase móvil, contaminantes) podría así, de modo inverso, resultar mucho menor, con lo cual la sensibilidad aumentaría.

El único fabricante de detectores de tipo coulométrico es la empresa americana ESA (Bedford, Mass., USA), distribuida en exclusiva por Kontron Instruments, S.A.

* * *

CHEMiCONTROL

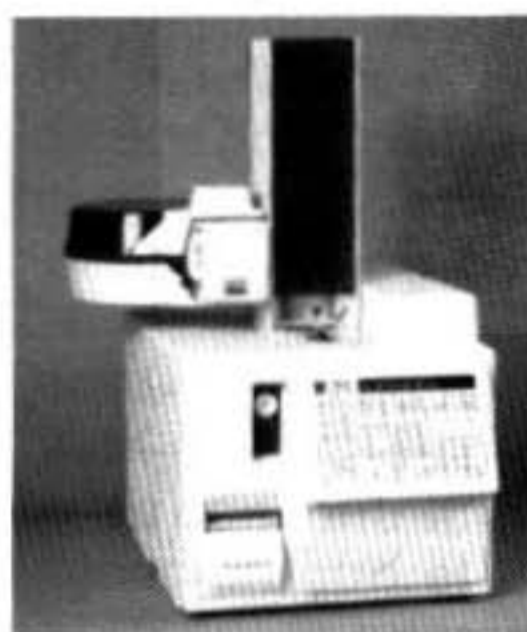
varian 

varian GC

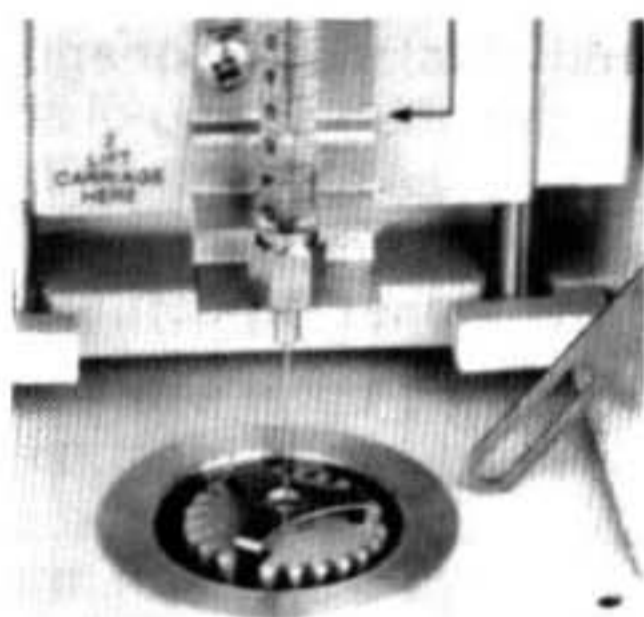
UNA RESPUESTA PARA CADA PROBLEMA ANALITICO



3300: Rutina



3400: Automatismo



3410: Alta temperatura



3500: Capilar



3600: Desarrollo de métodos

En España con la garantía **CHEMiCONTROL**
Avda. de Filipinas, 46 - 28003 MADRID - Tel. 91 - 254 66 77/78

DELEGACION NORTE: OVIEDO - Tel. 985/25 12 91

DELEGACION LEVANTE: VALENCIA - Tel. 96/372 78 33

SFC/IR-FT: Cromatografía de fluidos en estado supercrítico con detección infrarroja por transformada de Fourier

Dick Wieboldt, Greg Adams y J.M. Bruna

(Dick Wieboldt y Greg Adams son ingenieros de aplicaciones de Nicolet Corporation y José M. Bruna es product manager de cromatografía y espectrometría de Izasa, S.A.)

La cromatografía de fluidos en estado supercrítico es una técnica separativa relativamente nueva que se está haciendo popular rápidamente para análisis de muestras que son difíciles de analizar por cromatografía de gases o cromatografía líquida. Como con cualquier tipo de técnica separativa, es ventajoso obtener tanta información como sea posible de los componentes que eluyen de una columna cromatográfica. Igual que ocurre en cromatografía de gases, la posibilidad de utilizar detectores espectroscópicos como IR o ME es muy interesante como ayuda en la identificación de componentes de la muestra.

¿Qué es exactamente la cromatografía de fluidos en estado supercrítico (SFC) y cuándo es útil? ¿Cuál es la ventaja de SFC/IR sobre otras técnicas existentes tales como GC/IR sobre otras técnicas existentes tales como GC/IR? Estas son algunas de las preguntas que contestaremos en este artículo.

Cromatografía de fluidos supercríticos (SFC)

Hasta hace muy poco tiempo, los cromatografistas han tenido que confiar en la cromatografía de gases o en la cromatografía de líquidos para la separación de mezclas. Con la introducción de la cromatografía de fluidos supercríticos, aparece una tercera alternativa disponible. Los fluidos supercríticos poseen propiedades físicas favorables, que son intermedias entre las de estado gaseoso y el estado líquido.

SFC recibe su nombre del hecho de que la fase móvil se mantiene por encima de su punto crítico. El punto crítico es una propiedad químico-física de una sustancia definida como la temperatura y la presión a las cuales pueden coexistir a su fase líquida y fase vapor. Por encima de este punto, es decir, a mayor temperatura o presión, la sustancia no se puede condensar a fase líquida, sea cual sea la presión que esté soportando. Así pues, la sustancia (o fluido) es un gas muy denso. La figura 1 es un diagrama de fases para CO₂ mostrando la relación de los tres estados físicos: sólido, líquido y vapor. Para el CO₂ el punto crítico es 31,05 C y 72,9 atm. La región supercrítica está por encima y a la derecha del punto crítico.

El dióxido de carbono (CO₂) se emplea muy a menudo como fase móvil para SFC porque el punto crítico tiene lugar a temperatura y presión fácilmente alcanzables. Hay muchos otros fluidos disponibles, como óxido nitroso, amoníaco y pentano. Cada uno de ellos tienen un punto crítico diferente y propiedades de solvatación que les hace útiles para aplicaciones específicas.

En el estado supercrítico, el fluido toma algunas propiedades químicas interesantes y ventajosas. Según aumenta la presión, la densidad del fluido se aproxima la del líquido. Debido a que la solubilidad de una sustancia en la fase

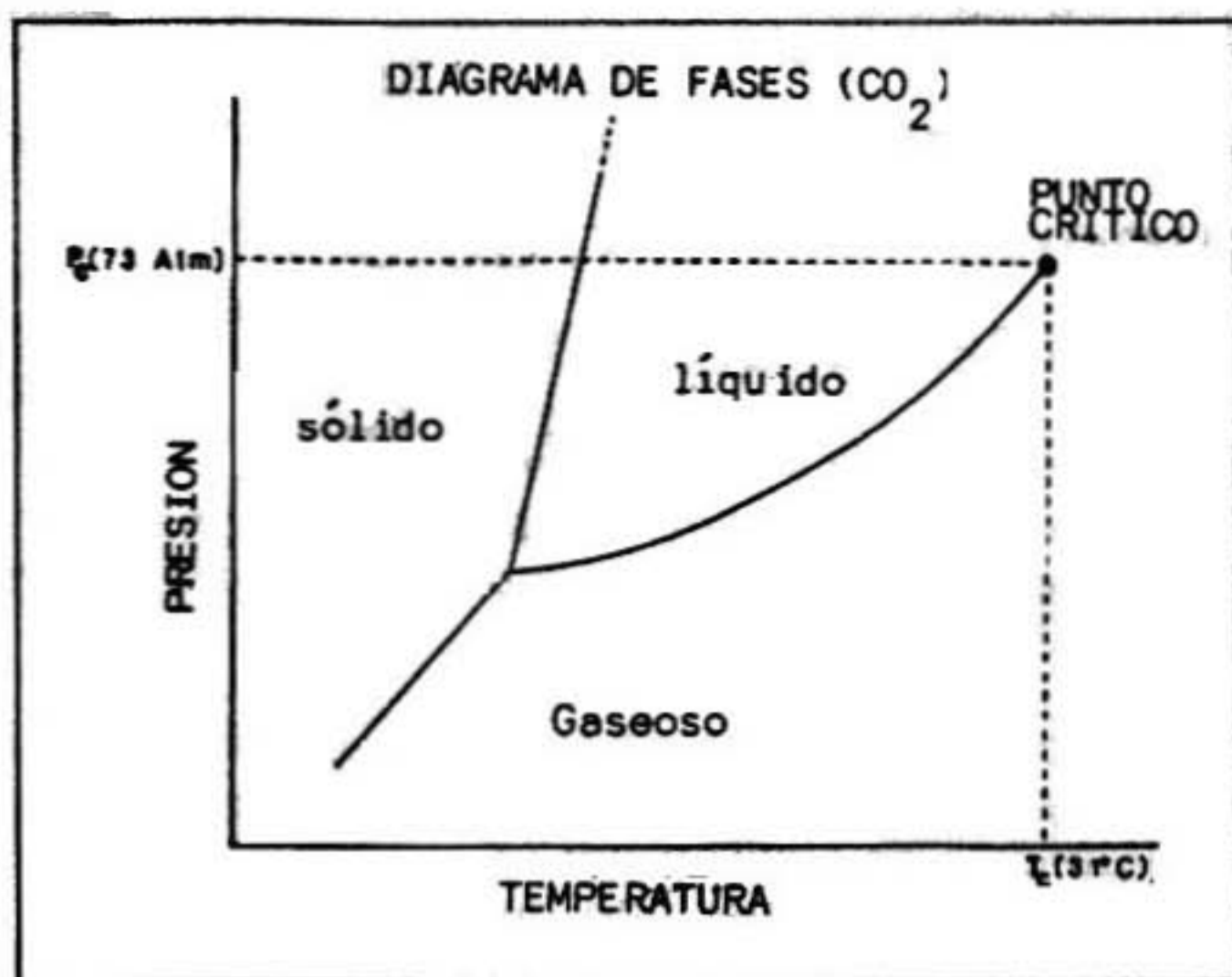


Fig. 1

móvil está íntimamente relacionada a la densidad, la fuerza de solvatación del fluido asume características tipo líquido. Por tanto, cualquier sustancia dada tiene solubilidad incrementada en un fluido supercrítico respecto a la fase gaseosa. Esto permite la utilización de menores temperaturas de análisis que las requeridas en GC y es particularmente ventajoso para compuestos térmicamente lábiles que son susceptibles de descomponerse a temperaturas utilizadas en GC.

Las propiedades de difusividad y viscosidad de un fluido supercrítico, sin embargo, permanecen más tipo gas. Los coeficientes de difusión de las sustancias son mayores en el estado supercrítico que en el estado líquido. Esto proporciona eficiencias cromatográficas más altas y, por lo tanto, tiempos de análisis más rápidos que los obtenidos por HPLC.

Estas propiedades físicas y químicas de los fluidos supercríticos, poder de solvatación, difusión y viscosidad, son función de la densidad. Cambiando la densidad del fluido es posible variar las propiedades de tipo gas a tipo líquido y viceversa. Como consecuencia de esto, la posibilidad de programar cambios de densidad durante un experimento es ventajoso para optimizar una separación SFC. Esto es análogo a la programación de temperatura en GC o de gradientes en HPLC.

Otra ventaja de SFC sobre HPLC es la posibilidad de utilizar detección de ionización de llama (PID). Su carencia ha limitado la aplicación de HPLC en algunas áreas. Los detectores de HPLC tales como UV o fluorescencia requieren un cromóforo en la molécula y si no está presente, hay que recurrir a derivatización precolumna o postcolumna para añadir uno o utilizar un detector menos sensible tal como índice de refracción.

A causa de estas características, SFC es especialmente adecuada para análisis de sustancias orgánicas que no son volátiles, que son térmicamente lábiles, de peso molecular alto o polares. Así, pues, SFC es de gran interés en aplicaciones de hidrocarburos y derivados del petróleo, polímeros, sabores y fragancias, pesticidas y productos farmacéuticos.

SFC/IR-FT

El fluido supercrítico más comúnmente utilizado como fase móvil para SFC es dióxido de carbono. Esto es particularmente afortunado porque el espectro infrarrojo del CO₂ es transparente en la mayor parte de la región del infrarrojo medio. La figura 2 es un espectro de CO₂ supercrítico. Las únicas regiones donde la absorción del CO₂ no permite trabajar son de 2.500 a 2.200 cm⁻¹ y de 3.800 a 3.500 cm⁻¹. La primera de estas regiones es de poco interés dado que pocos compuestos orgánicos adsorben en esta región. La segunda región es de importancia sólo para observar bandas O-H y N-H en alcoholes, ácidos carboílicos, aminas y amidas.

Otra característica del espectro del CO₂ supercrítico es la absorbancia debida a resonancia Permi que ocurre entre 1.475 y 1.225 cm⁻¹. Afortunadamente, estas bandas Permi no son suficientemente intensas como para blanquear esta importante región del espectro IR. Como consecuencia, una sustracción espectral puede eliminar fácilmente las bandas Permi y mostrar cualquier banda de absorbancia debida a la muestra.

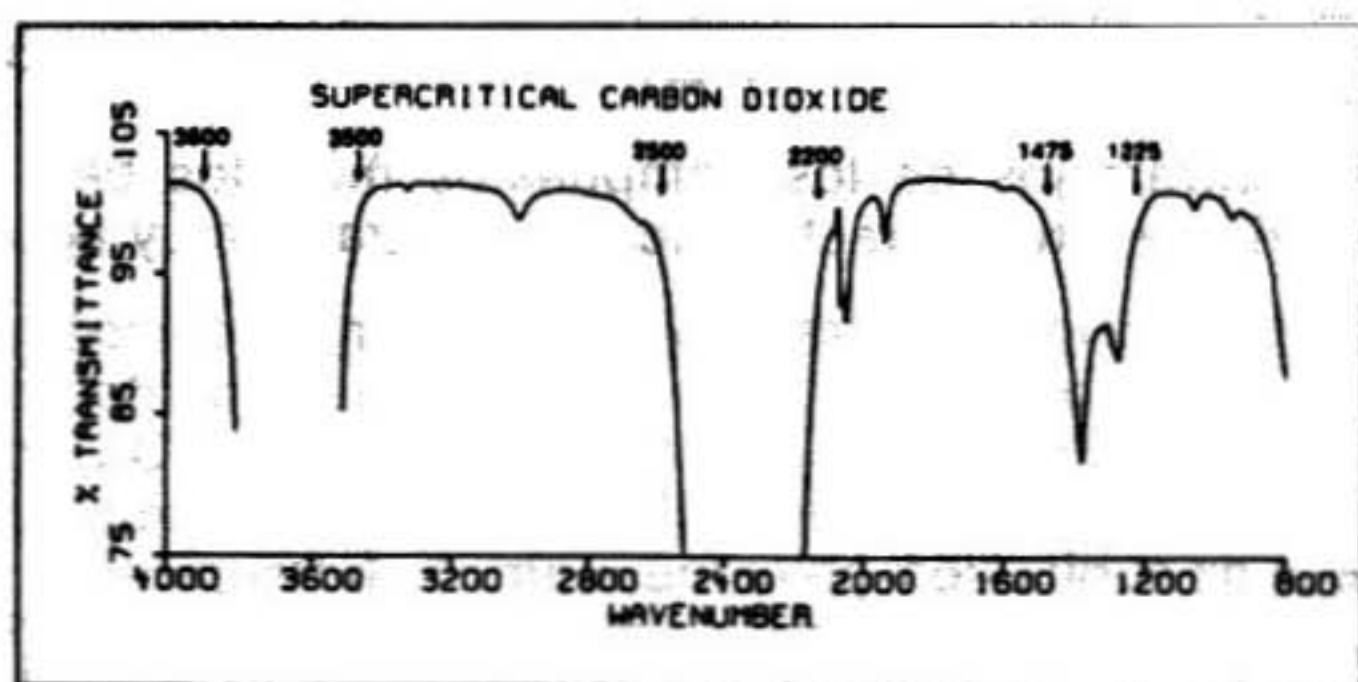


Fig. 2

Cuando se opera en SPC a densidad constante (a presión constante) las características espectrales de la fase móvil, CO₂ supercrítico, no varían. Mientras que las condiciones de densidad constante pueden ser aceptable para algunas aplicaciones, es usualmente ventajoso programar la densidad en muchas separaciones SPC. Evidentemente, si se cambia la densidad de la fase móvil CO₂ supercrítico, la intensidad de las bandas cambiara. Morin (1) ha publicado recientemente un informe detallado sobre los efectos de la presión y la temperatura del CO₂ supercrítico en detección infrarroja. El efecto principal es un incremento en las intensidades de la banda de absorción de Permi cuando se aumenta la presión. Aquí es donde la sustracción espectral se hace indispensable para eliminar absorbancias no deseadas debido al cambio del CO₂ de fondo.

Al diseñar una celda de flujo continuo para detección infrarroja para trabajar con CO₂ supercrítico como fase móvil es importante considerar las absorbancias incrementadas Permi a mayor presión. En general, se desea una celda con

longitud de camino óptico tan largo como sea posible y tener todavía suficiente energía disponible en la región de la banda Permi para detectar los componentes de la muestra. Una celda con una longitud de camino óptico optimizado a presión relativamente baja no trabajará bien en los límites de presión superiores. Según aumenta la presión, la absorbancia en la región de la banda Permi se hará tan intensa que esta región dejará de ser útil.

Análisis de datos SPC/IR-PT

Los espectros infrarrojos se colectan utilizando una celda de detección de flujo continuo colocada entre el extremo de salida de la columna y el restrictor. El restrictor hace que la presión del sistema baje de condición supercrítica a presión atmosférica. La cantidad de restricción determina la velocidad lineal del fluido y por tanto, la eficiencia de la separación cromatográfica.

La figura 3A es un cromatograma reconstruido del espectro infrarrojo colectado durante una separación SPC/IR-PT con densidad programada. El inicio del análisis se mantiene a densidad constante durante 6 minutos y después se hace una programación de densidad en rampa hasta la densidad más alta final. El cromatograma reconstruido claramente muestra el efecto de un gradiente de densidad. La figura 3B es un cromatograma reconstruido del mismo juego de datos después de compensar el efecto del gradiente de densidad (2). Este ejemplo demuestra la importancia de compensar los gradientes de presión para detectar adecuadamente la elución de los picos cromatográficos con SPC/IR PT.

Los espectros infrarrojos de los compuestos medidos bajo condiciones supercríticas tienden a tener características espectrales muy agudas.

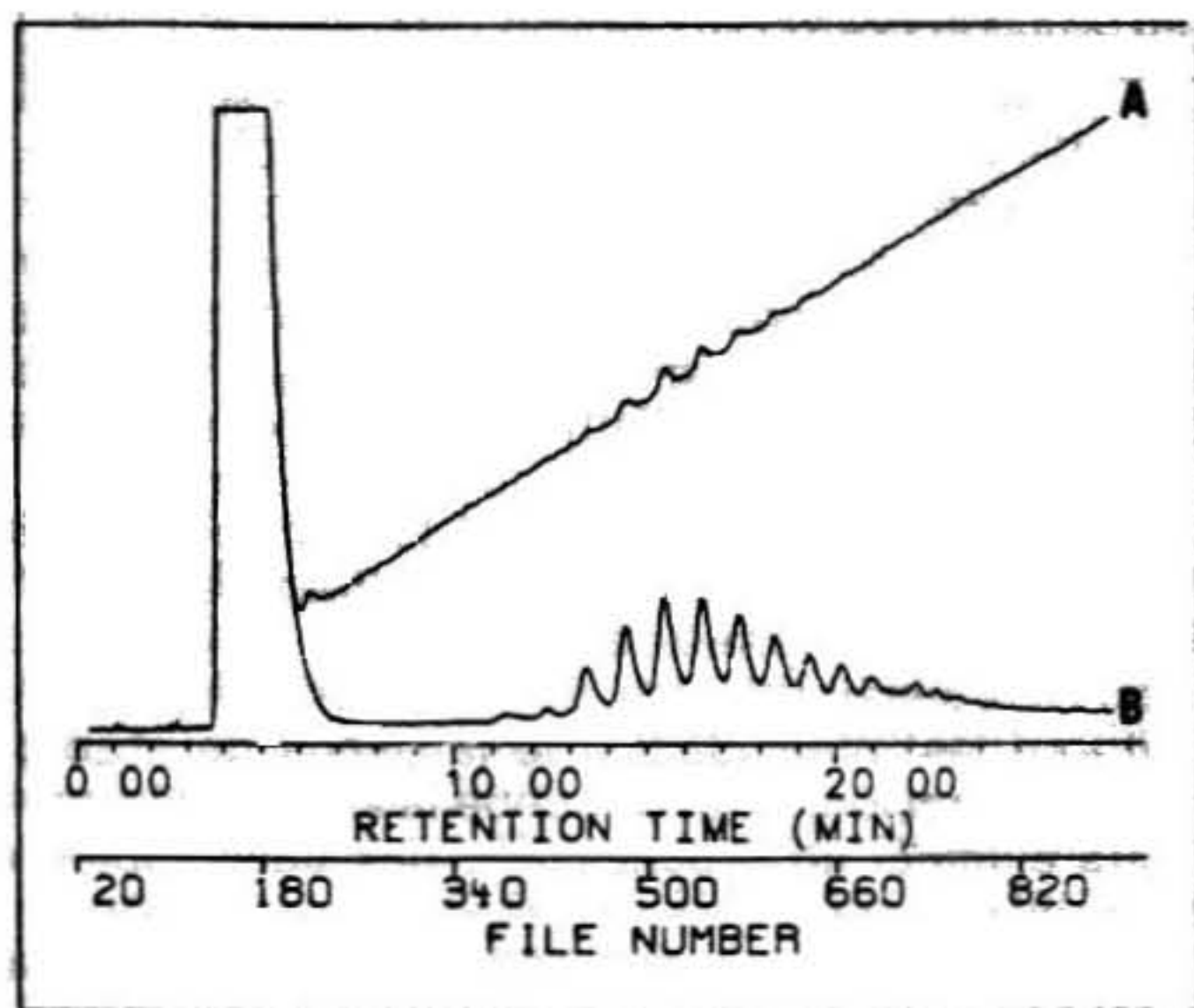


Fig. 3

La figura 4 es un espectro SPC/IR-PT de pyrethrum 1, un insecticida natural aislado de flores pyrethrum. Aunque el espectro se ha obtenido con una resolución de 8 cm^{-1} las características espectrales están extremadamente bien resueltas. Por ejemplo, la banda aguda a 912 cm^{-1} es indicativa de alqueno monosustituido. Esta es la única característica molecular que distingue pyrethrin 1 de especies similares existentes en el mismo extracto.

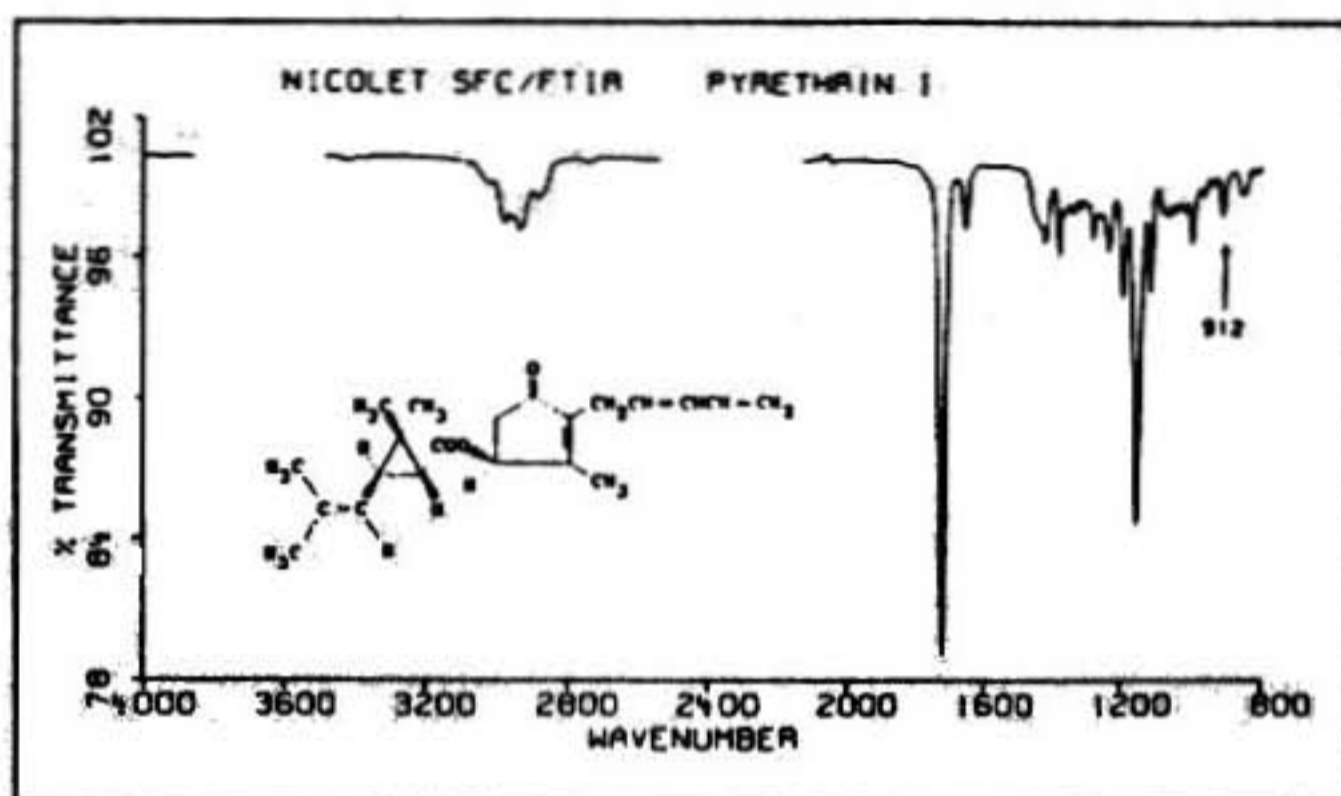


Fig. 4

Conclusión

SPC es una técnica cromatográfica que está emergiendo rápidamente y que posee un gran potencial para el análisis de muestras que son difíciles de analizar por GC o HPLC. Detección IR-PT de eluyentes SPC no es sólo posible sino que tiene un futuro prometedor por la posibilidad que ofrece de suministrar identificación estructural de componentes desconocidos en separaciones con CO_2 supercrítico.

Bibliografía

- (1) Morin, P.; Caude, M.; Richard, H.; Rosset, R.: "Carbon Dioxide Supercritical Fluid Chromatography-Fourier Transform Infrared Spectroscopy". *Chromatographia* 1986, 21, 523-530.
- (2) Wieboldt, R.C.; Hanna, D.A.: "Removing Artifacts in Supercritical Fluid and Gas Chromatograms Generated from Fourier Transform Infrared Data". *Anal. Chem.* 1987, 59.

* * *

Noticias del GCTA

IX REUNION CIENTIFICA DEL GRUPO DE CROMATOGRAFIA Y TECNICAS AFINES

Reus-Salou, noviembre 22-24, 1989

La reunión pretende ser punto de confluencia de los expertos en cromatografía y técnicas afines que trabajan en distintas áreas de aplicación: medio ambiente, industria farmacéutica, análisis clínicos, industria alimentaria, bioquímica, plásticos, etc., y en la que se fomente el intercambio de ideas y un amplio debate sobre el estado de esta técnica.

Programa científico

El programa científico consistirá en conferencias sobre temas de interés actual, presentaciones orales, sesiones de carteles y demostraciones de casas comerciales. La mayor parte de las contribuciones lo serán en forma de carteles para facilitar el intercambio de información entre los participantes. Las presentaciones orales se ajustarán a los temas generales de las sesiones científicas.

Sede de la reunión

La reunión se celebrará en la Fira de Reus, del 22 al 24 de noviembre de 1989. Reus es una ciudad muy próxima a Tarragona, centro de un área de gran actividad económica, comercial, industrial y agrícola. Además, está sólo a 7 kilómetros de Salou, uno de los centros turísticos de mayor tradición e importancia de la Costa Dorada.

Curso de cromatografía de gases con columnas capilares (GC-CC)

Se ha organizado un curso de cromatografía de gases con columnas capilares orientado a temas de trabajo práctico como inyección, análisis cuantitativo, identificación de picos, etc. Tendrá lugar en la misma sede de la reunión el 21 de noviembre y constará de sesiones teóricas y prácticas.

Avance de programa

Conferencias:

- **F.M. Everaerts.** Eindhoven University, Holanda. Fronteras de la cromatografía: Electroforesis capilar.
- **J. Sabater.** Real Academia de Farmacia, Barcelona. Incidencia de las normas GLP en el laboratorio cromatográfico.
- **R. McDowall.** Wellcome, Inglaterra. Automatización en el tratamiento de muestras para cromatografía.
- **M. Valcárcel.** Universidad de Córdoba. Posibilidades de la automatización en cromatografía.
- **A. Cano,** CSIC, y **J.M. Riera,** IQS Barcelona. Evaluación crítica de sistemas de tratamiento de señales cromatográficas. De los datos a la información.
- **U. Ehmcke.** Software cromatográfico para GPC.

— **M. Luquin.** Hospital de San Pablo, Barcelona. Interés de la CG-EM en la Taxonomía y el diagnóstico de las enfermedades producidas por microbacterias.

— Sesión de discusión sobre **espectrómetros de masas diseñados específicamente como detectores en cromatografía de gases.** Participantes: Finnigan, Nermag, Shimadzu y V.G. Moderadores: E. Gelpí y J. Grimalt.

— Sesión de trabajo sobre **cromatografía iónica. Evaluación de los distintos sistemas.** Participantes: Dionex, Waters y Metrohm. Moderador: M.T. Galcerán.

— Se organizarán sesiones de comunicaciones orales, de carteles y demostraciones de las casas comerciales.

Inscripción

El boletín de inscripción deberá remitirse **antes del 16 de octubre al secretario del GCTA.**

Becas

El GCTA conjuntamente con algunas empresas de instrumentación ofrecerá **becas de asistencia.** Los requisitos para solicitarlas son: Ser miembro de GCTA. Presentar alguna comunicación. Justificar que no se percibe ningún tipo de remuneración estable mediante carta del director de la tesis o centro de trabajo.

Las solicitudes deberán dirigirse al secretario del GCTA, Dr. Joan Grimalt y deberán recibirse **antes del 15 de setiembre.**

Exposición comercial

Con la finalidad de presentar las últimas novedades instrumentales y de accesorios se ha organizado una exposición comercial a la que tienen prevista su asistencia las siguientes casas comerciales: CES Analítica, Chromlab, Hucoa-Erloss, Kontron Instruments, Lasing, S.A., Sociedad Española de Carburos Metálicos, Sociedad Española del Oxígeno, Konik, Kromxpek, Microbean, Teknokroma, Sugelabor y otras a confirmar. Asimismo se cuenta con la colaboración de Hewlett-Packard, Millipore-Waters y Perkin-Elmer.

Secretaría de la Reunión

Para más información dirigirse al secretario del GCTA, Dr. Joan Grimalt, Departamento de Química Ambiental (CID-CSIC), Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona. Tel. 204 06 00, ext. 245, fax 204 59 04 y télex 97977.

BOLETIN DE INSCRIPCION

Nombre _____

Institución _____

Calle _____

Ciudad _____

Teléfono _____ ext. _____ Fax _____

Télex _____

Antes del 15 de setiembre de 1989:

Inscripción a la sesión: socios GCTA 15.000,— ptas. _____

Inscripción a la sesión: no socios 20.000,— ptas. _____

Inscripción al curso de CG-CC 10.000,— ptas. _____

Inscripción acompañantes 3.000,— ptas. _____

TOTAL _____

Después del 15 de setiembre de 1989:

Inscripción a la sesión: socios GCTA 20.000,— ptas. _____

Inscripción a la sesión: no socios 25.000,— ptas. _____

Inscripción al curso de CG-CC 13.000,— ptas. _____

Inscripción acompañantes 5.000,— ptas. _____

TOTAL _____

La inscripción incluye la documentación de la reunión, el libro de resúmenes y la cena de clausura (Calçotada).

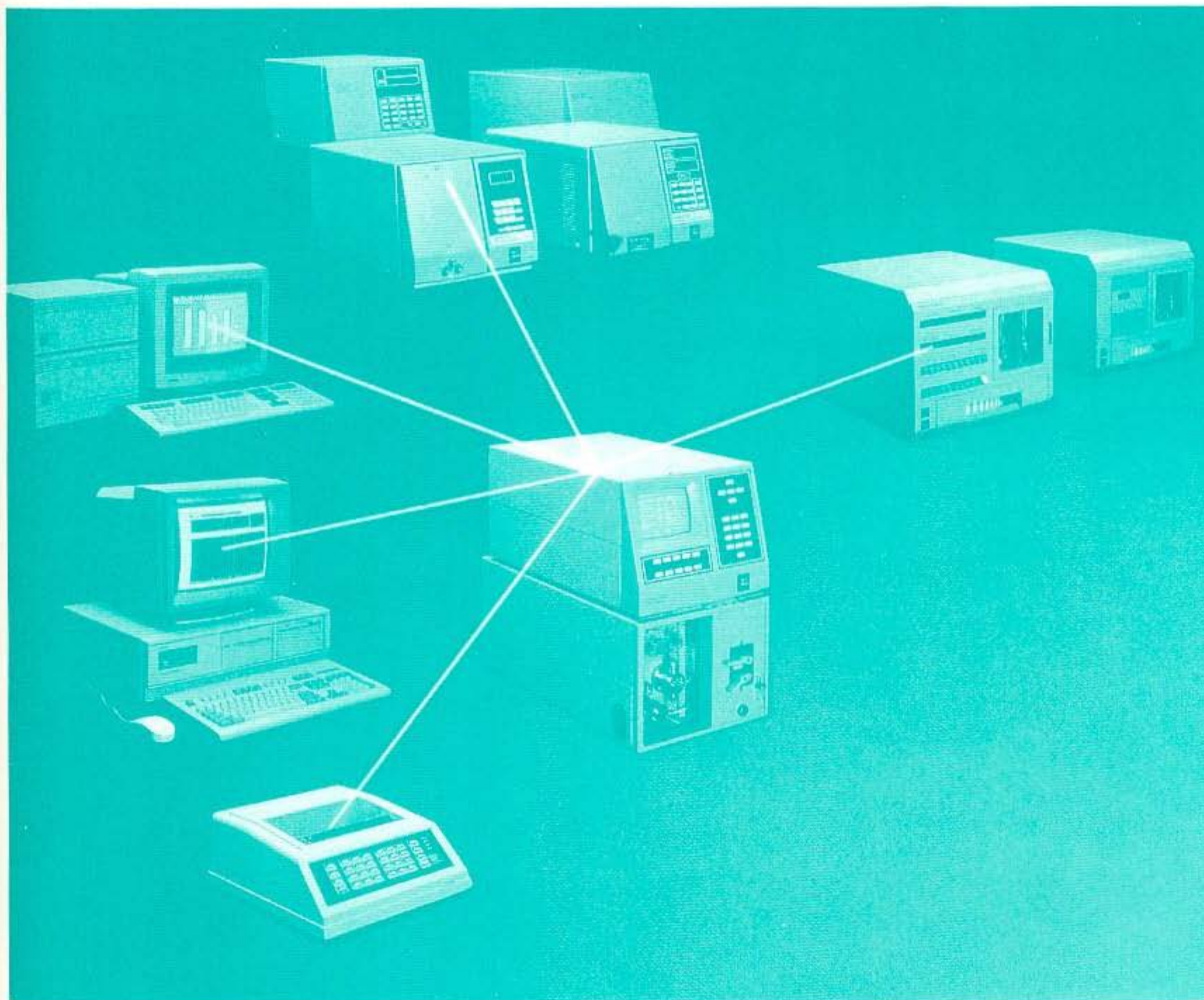
Adjunto talón nominativo a GCTA.

Transferencia bancaria a la cuenta número 11.270, Oficina 7061, Banco de Bilbao-Vizcaya, Valencia, 50, 08015 - Barcelona.

INSCRIPCION HOTELERA

Para reserva de hotel dirigirse a Fira de Reus, apartado 501, 43280 Reus (Tarragona).

El poder de la Comunicación en HPLC



Sistema Powerline Waters Intercomunicación de módulos cromatográficos

El sistema Powerline de Waters es un nuevo concepto de control y comunicación para cromatografía líquida, que se aplica a sistemas modulares o compactos Waters.

Los sistemas cromatográficos Powerline permiten el control de la programación de gradientes, inyección y parámetros de detección desde un sólo teclado, ya sea el del propio programador de gradientes, Waters 600E, u ordenador personal.

La interconexión entre los distintos módulos del sistema cromatográfico facilita la documentación e impresión de las condiciones de trabajo en el informe analítico.

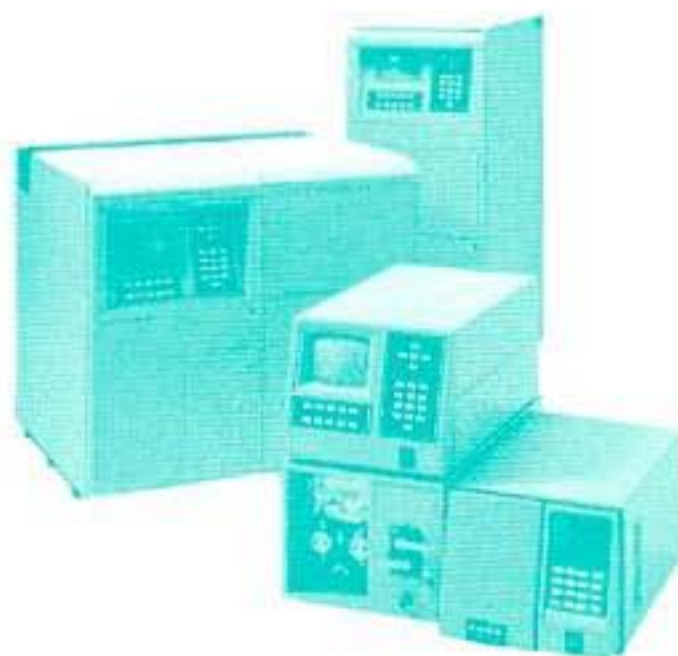
Entre los detectores conectables al sistema Powerline se incluyen el de fotodiodos, los UV-VIS

programables multicanal o de un sólo canal y el de índice de refracción. El sistema Powerline puede incluir también muestreadores automáticos WISP y sistemas de tratamiento de Datos.

Para ampliar información, o asistir a una demostración, pongase en contacto con la División de Cromatografía Waters de Millipore Ibérica, S.A. en:

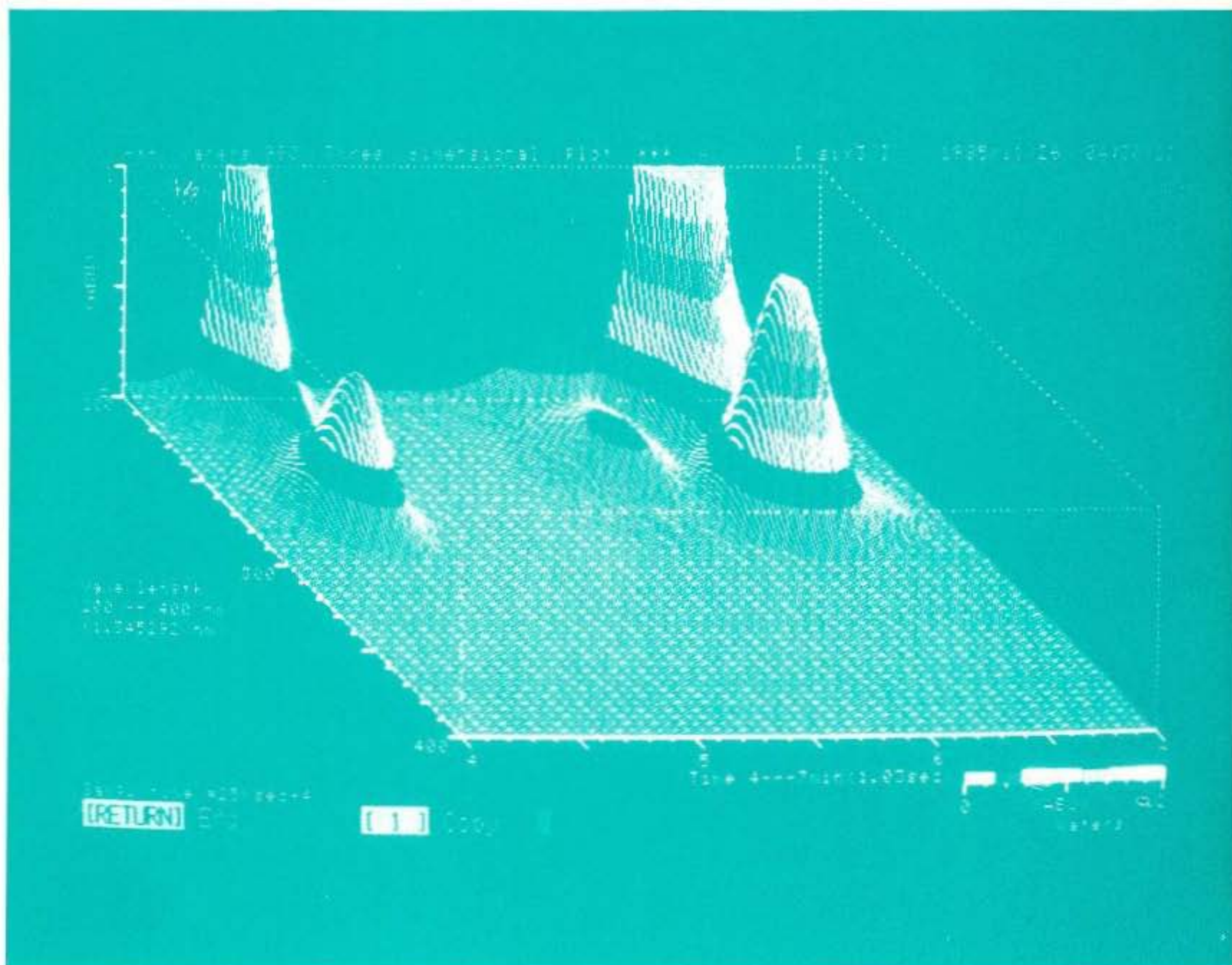
Entenza, 28 Entlo.
08015 BARCELONA
Tel. (93) 325 96 16

Avda. del Llano Castellano, 13
28034 MADRID
Tel. (91) 729 03 00



Waters
Division of MILLIPORE

Analice sus muestras con una nueva luz.



Detector UV-Vis por fotodiodos para Cromatografía Líquida Waters 990.

Oblenga información espectral completa (190-600 nm) a lo largo de su cromatografía con el nuevo detector por fotodiodos Waters 990. El análisis y comparación de espectros le facilitarán la identificación de los picos cromatográficos, confirmándole, además, su homogeneidad y pureza. Podrá obtener gráficos tridimensionales, cromatogramas con representación topográfica, superposición de espectros, análisis de cromatogramas, e integración de hasta 6 canales simultáneos. Todo ello con facilidad, rapidez y alta resolución.

Para ampliar información, o asistir a una demostración, póngase en



contacto con la División de Cromatografía Waters de Millipore Ibérica, s.a. en:

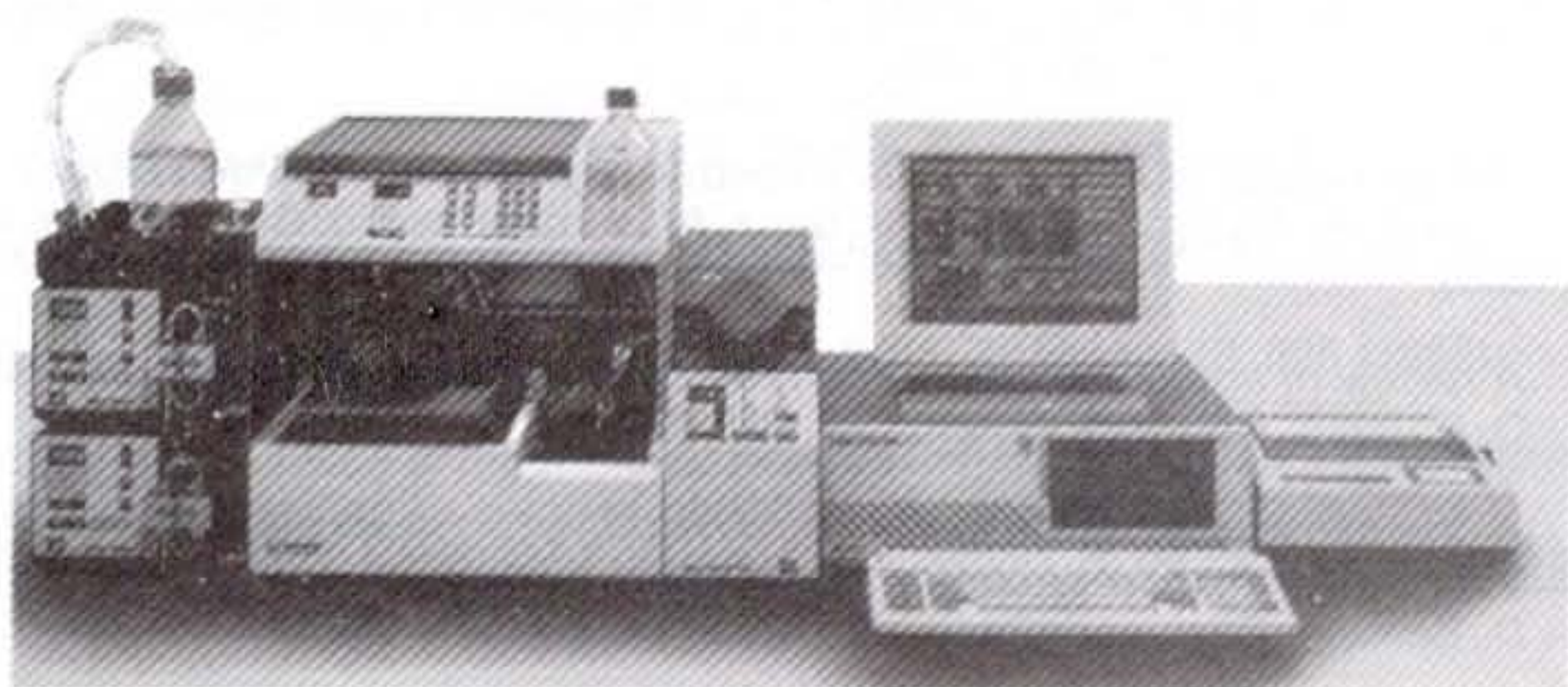
Enteza, 28 Entlo.
08015 BARCELONA.
Tel.: (93) 325 96 16

Avda. del Llano Castellano, 13.
28034 MADRID.
Tel.: (91) 729 03 00

Waters
Division of MILLIPORE

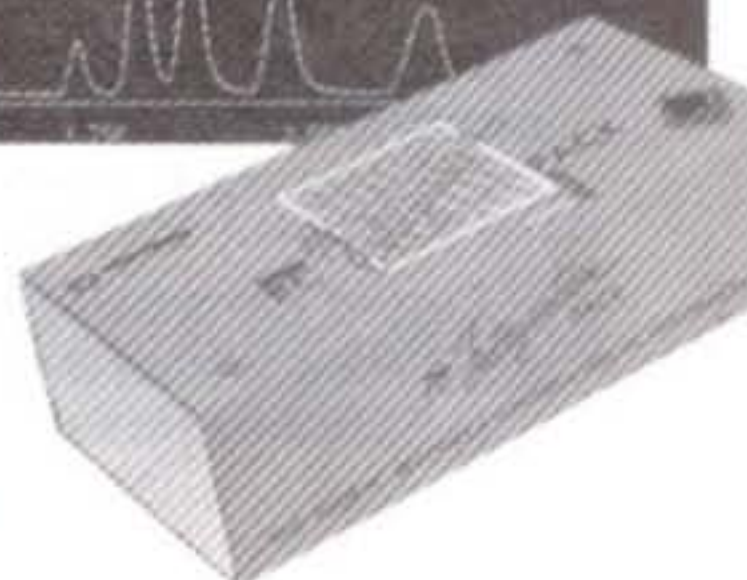
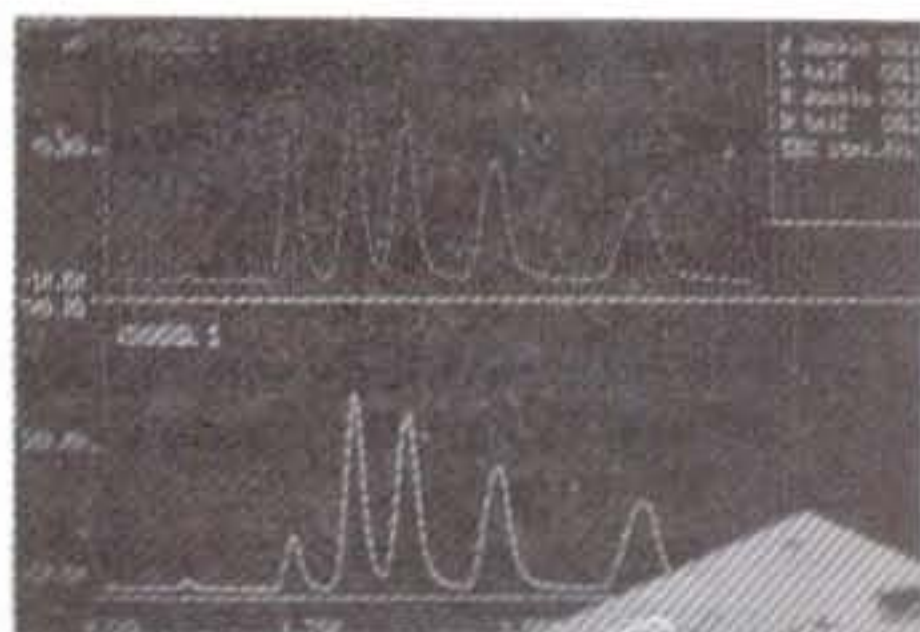
La línea de HPLC KONTRON serie 400 puede ofrecer una solución instrumental adecuada para cada análisis cromatográfico, gracias a la modularidad de su diseño.

Desde el detector espectral 430, el más rápido del mundo (captura espectros con velocidad de barrido de 60.000 nm/min.) hasta los versátiles autoinyectores 460 y 360, KONTRON serie 400 ofrece sistemas analíticos, microbore y preparativos, en titanio o en acero inoxidable, con formación de gradientes en alta o baja presión. Con una completa gama de detectores: espectrofotométricos UV, UV-VIS, espectrales, espectrofluorimétricos, electroquímicos, conductimétricos, refractométricos y espectrómetros de masas.



Una de las principales ventajas de nuestros sistemas reside en los softwares de control del equipo e integración. Controlando hasta 12 módulos e integrando de 2 a 6 canales simultáneos independientes, los softwares Datapack 450 multitarea e Integration Pack, ponen a su alcance una nueva dimensión en HPLC.

KONTRON HPLC: UNA PERFECTA SOLUCION A SU MEDIDA



 **KONTRON**
INSTRUMENTS

Algunas publicaciones de miembros del GCTA

La mayor parte de las publicaciones que figuran a continuación se han obtenido a partir de los índices del Chemical Abstracts; otras muchas han sido remitidas por sus autores, a los que agradecemos calurosamente su colaboración. En números sucesivos se utilizarán otras bases de datos, con el fin de conseguir mayor actualidad en las fechas y ampliar la cobertura. Así pues, a partir de ahora, sería interesante que aquellos socios cuyas publicaciones no aparezcan recogidas en esta sección, nos lo hagan saber, con objeto de mejorar el sistema de búsqueda.

Effect of sample matrix and HPLC eluent composition on the thermospray respons for polar compounds.

E. Gelpí, J. Abián, F. Artigas, Rapid Commun. Mass Spectrum. 2, 223 (1988).

Fast atom bombardment mass spectrometry of protected peptide segments.

A. Grandas, E. Pedroso, A. Figueras, J. Rivera, E. Giralt, Biomed. Environm. Mass. Spectrom. 15, 681 (1988).

GC behaviour of carbohydrate trimethyl silyl ethers. II. Aldohexoses.

I. Martínez Castro, M.I. Páez, J. Sanz, A. García Raso, J. Chromatogr. 462, 49 (1989).

A review of liquid chromatography in environmental pesticide analysis.

D. Barceló, Chromatographia 25, 928 (1988).

A comparison between positive and negative ion modes in thermospray LC-MS for determination of chlorophenols and herbicides.

D. Barceló, Chromatographia 25, 295 (1988).

Cuantitation of total versus selected polychlorinated biphenyl congeners in marine biota samples.

C. Porta, D. Barceló, J. Albaigés, J. Chromatogr. 442, 384 (1988).

Treatment and determination of organophosphorous pesticides in waste water by using continuous flow methodologies coupled on line with HPLC".

A. Farrán, E. Figuerola, J. de Pablo, S. Hernández, Int. J. Environm. Anal. Chem. 33, 245 (1988).

Effect of lindane at repeated low doses.

J.M. Tusell, C. Suñol, E. Gelpí, E. Rodríguez-Farré, Toxicology 49, 375 (1988).

Liquid chromatographic method for the determination of cyanazine in the presence of some unusual soil constituents.

F. Sánchez Rasero, G.C. Dion, J. Chromatogr. 447, 426 (1988).

Liquid chromatographic method for determination of chloridazon in technical concentrates and formulated products: comparison with CIPAC method.

F. Sánchez Rasero, A. Peña Heras, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 1064 (1988).

Solution properties of polyelectrolytes. I. Exclusion chromatography of sodium polystyrene sulphonates in salt-free water as eluent.

C. Abad, L. Braco, V. Soria, R. García, A. Campos, Br. Polym. J., 19, 489 (1987).

Solution properties of electrolytes. II. Comparison of the effects of both polymer and eluent salt concentrations on the calibrations in aqueous exclusion chromatography.

C. Abad, L. Braco, V. Soria, R. García, A. Campos, Br. Polym. J., 19, 501 (1987).

Solution properties of polyelectrolytes. III. Effect of sodium poly(styrene sulphonate) concentration on viscometric and size exclusion chromatographic behaviour at different ionic strengths.

V. Soria, R. García, A. Campos, L. Braco, C. Abad, Br. Polym. J., 20, 115 (1988).

Preferential and total sorption in the system PMMA toluene n-butyl chloride.

I.A. Katime, M.D. Huglin, P.M. Sazia, Eur. Polym. J., 24, 561 (1988).

Anomalous behaviour of PMMA in the methyl isobutyl ketone.

I.A. Katime, F.J. Juanes García, P.M. Samia, Eur. Polym. J., 24, 557 (1988).

Voltammetric determination of pentachlorophenol at a glassy carbon electrode.

E. Chico, P. Yáñez, J.M. Pingarrón, L.M. Polo, Analyst, 113, 625 (1988).

Voltage-dependence of nitrendipine provides direct evidence for dihydropyridine receptor coupling to calcium channels in intact cat adrenals.

C.R. Artalejo, M.G. López, M.A. Moro, C.F. Castillo, R. de Pascual, A.G. García, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153, 912 (1988).

The comparative stability of different types of penicillin and cephalosporin N-pyril derivatives.

M.J. Arín, M.T. Díez, F. Salto, Pharmazie 43, 18 (1988).

Determination of penicillins and cephalosporin N-pyrrolyl derivatives by HPLC.

M.J. Arín, M.T. Díez, M.T. Alemany, J. Liquid Chromatogr., 11, 927 (1988).

Spanish toxic oil syndrom studies.

A. Cárdenas, J. Abián, O. Balbuena, J. Roselló, E. Gelpí, J. Chromatogr., 426, 83 (1988).

Determinacion de piroxicam en plasma por HPLC.

A. Díaz Marot, L. Comellas Riera, M. Gassiot, Afinidad, 45, 212 (1988).

Efecto de la temperatura de solidificación sobre el punto de fusión de excipientes para supositorios.

J. Fernández Rojano, P. Frutos, C. Sainz, F. Vázquez, Cienc. Ind. Farm., 7, 30 (1988).

Terpenoides de Pulicaria paludosa Linn.

A. San Feliciano, M. Medarde, M. Gordaliza, E. del Olmo, J.M. Miguel del Corral, Anal. Quim. Ser C, 83, 283 (1987).

Activated nitriles in heterocyclic synthesis"

M. Martín, C. Pascual, C. Seoane, J.L. Soto, Heterocycles 26, 2811 (1987).

Fluorometric determination of anionic surfactants by extraction as Safranin-T ion-pairs.

S. Rubio, V. Rodríguez Gamonal, L.M. Polo, Anal. Chim. Acta, 206, 351 (1988).

Fractionation of coal derived liquids by extrography. S. Rodríguez Moinelo, R.M. Menéndez, J. Bermejo, Fuel 67, 602 (1988).

Hydrodesulfurization of a Spanish lignite.

A.B. García Suárez, H.H. Salobert, Prep. Pap. Am. Chem. Soc. Div. Fuel Chem., 33, 241B (1988).

Epiphytic lichens inhibit the appearance of leaves in Q. pirenaica.

M.E. Legaz, E. Pérez Urria, A. Avalos, C. Vicente, Biochem. Syst. Ecol. 16, 233 (1988).

Voltammetric determination of indole in micellar and emulzified media.

J.M. Pingarrón, A.J. Reviejo, L.M. Polo, J. Electroanal. Interfacial Electrochem., 234, 175 (1987).

Flavones isolated from Thymus carnosus Boise.

E. Marhuenda, C. Alarcón de la Lastra, M.D. Grcía, A. Cert, Ann. Pharm. Fr. 45, 467 (1987).

Simultaneous distillation-extraction (SDE) method in the qualitative and quantitative analysis of cheese volatile components.

M. de Frutos, J. Sanz, I. Martínez Castro, Chromatographia 25, 861 (1987).

Application of several statistical classification techniques to the differentiation of whisky brands.

P.J. Martín Alvarez, M.D. Cabezudo, J. Sanz, A. Herranz, P. de la Serna, C. Barro, J. Sci. Food Agric. 45, 347 (1988).

Changes in the carbohydrate fraction of milk during heating processes.

A. Olano, M.M. Calvo, N. Corzo, Food Chem. 31, 259 (1989).

Effect of thermal treatments on the determination of bovine milk added to ovin or caprine milk.

M.M. Calvo, L. Amigo, A. Olano, P.J. Martín, M. Ramos, Food Chem. 32, 99 (1989).

Análisis por GC y GC/MS de plastificantes y otros aditivos presentes en plásticos utilizados como envolturas en alimentos.

A. López de Sa, I. Martínez, J. Sanz, CICC, 4, 8 (1989).

High performance size exclusion chromatography of polar compounds in heated and non-heated fats.

M.C. Dobarganes, M.C. Pérez Camino, G. Márquez, *Fat Sci. Technol.* 90, 308 (1988).

Cambios de acidez y pH en yogures comerciales.

R. Jordano, P. Martínez, M.D. Garrido, M. Jodrai, *Alimentaria* 25, 61 (1988).

Aspectos toxicológicos de la presencia de nitratos y nitritos en verduras hervidas y sus aguas de cocción.

R. García Olmedo, N. Bosch, *Alimentaria* 25, 71 (1988).

GC analysis of free carboxylic acids in foods using a micropacked column.

T. Herráiz, G. Reglero, M. Herráiz, *Food Chem.* 29, 177 (1988).

Comparación entre las técnicas de extracción con disolventes y la concentración en polímeros porosos aplicadas al estudio de la fracción volátil de los vinos.

L. Comellas, M. Gassiot, M. Quintana, R. Sulla, *Afinidad*, 45, 705 (1988).

Determination of the triglyceride composition of grapes by HPLC.

L.R.J. Barrón, M.V. Celán, G. Santamaría, N. Corzo, *Chromatographia*, 25, 609 (1988).

Fatty acid composition: a useful tool for the determination of alteration level in heated fats.

M.C. Dobarganes, M.C. Pérez Camino, *Rev. Fse. Corps GRan* 35, 47 (1988).

Características de vinos jóvenes elaborados sin dióxido de azufre.

T. Herráiz, P.J. Martín Alvarez, G. Reglero, M. Herráiz, M.D. Cabezudo, *Tec. Lab.* 11, 210 (1988).

*Essential oils *Salvia lavandulefolia* Vahl.*

M.E. Marcos, M.C. García Vallejo, F. Muñoz, L.M. Polo, *Dev. Food Sci.* 18, 147 (1988).

*Digithapsinas y otros componentes de *Digitaria thapsi*.*

A. San Feliciano, J.M. Miguel, P. Puebla, M. Medarde, A.F. Barrero, *An. Quim. Ser. C* 84, 31 (1980).

Analysis of flavonols in wine by HPLC.

E. Revilla, E. Alonso, M.I. Estrella, *Dev. Food Sci.* 17, 711 (1988).

Polysaccharidea from olives. Part X. A Xyloglucan from olive pulp.

A. Gil Serrano, P. Tejero, *Carbohydr. Res.* 191, 270 (1988).

*The essential oil of needles from Spanish *Pinus pinaster* Ait.*

M. Domínguez, D. García Martín, M.C. García Vallejo, *Dev. Food Sci.* 18, 211 (1988).

Time course of changes in serotonin and noradrenalin in rat brain after predictable or unpredictable shock.

A. Adell, R. Trullas, E. Gelpí, *Brain Res.* 459, 54 (1988).

Synthesis and reactions of novel substituted 3-hydroxy-5-imino alkanonic esters.

B. Alcaide, R. Alajarín, J. Plumet, J. Rodríguez, *Synthesis* 440 (1988).

Allosteric cooperativity and transport: studies in a circulating system.

F. Gaviña, S.V. Luis, A.M. Costero, M.I. Bruguete, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* 110, 7140 (1988).

Metalation of phenols. Synthesis of benzoquinones by the oxidative degradation approach.

J.M. Saa, A. Llobera, A. García Raso, A. Costa, P.M. Deyd, *J. Org. Chem.* 53, 4263 (1988).

Polyhydroxy carboxylic acids as inhibitors of calcium oxalate crystal growth; relation between inhibitory capacity and chemical structure.

F. Grases, A. Millán, A. García Raso, *J. Cryst. Growth* 89, 496 (1988).

Identification of addition present in commercial dyes by FAB.

F. Ventura, A. Figueras, J. Caixach, J. Rivera, D. Fraisse, *Org. Mass Spectrom.* 23, 558 (1988).

GC/MS study of α -phyllocladans.

O. Alexander, I. Hazari, J. Grimalt, J. Albaigés, *J. Chromatogr.* 446, 87 (1988).

Assesment of mutagenic activity of coastal sediments of Barcelona.

M. Grifoll, A.M. Solanas, R. Parés, V. Centellas, J.M. Bayona, J. Albaigés, *Toxic Asses.* 3, 315 (1988).

Characterization of polar polycyclic aromatic compounds in a heavy duty diesel exhaust particulate by capillary column GC and high-resolution MS.

J.M. Bayona, K.E. Markides, M.L. Lee, *Environ. Sci. Technol.* 22, 1440 (1988).

Continuous-flow extraction of organophosphorous pesticides coupled on-line with HPLC.

A. Farrán, J. de Pablo, S. Hernández, *Anal. Chim. Acta* 212, 123 (1988).

Liquid chromatographic method for determination of chloridaron in technical concentrates and formulated products: comparison with CIPAC method.

F. Sánchez Rasero, A. Peña Heras, *J. Assoc. Off. Anal. Chemists* 71, 1064 (1980).

Liquid chromatographic method for the determination of cyanazine in the presence of some normal soil constituents.

F. Sánchez Rasero, G.C. Dios, *J. Chromatogr.* 447, 426 (1988).

Nuevos socios del G.C.T.A.

D. Enrique Terrer Molero
Derivados del Etilo, S.A.
Apartado 9
VILLARICOS (Almería)

D. José Luis Acosta Luque
Instituto Ciencia y Tecnología
de Polímeros
Juan de la Cierva, 3
28006 MADRID

D. Enrique Morales Bergas
Instituto Ciencia y Tecnología de
Polímeros
Juan de la Cierva, 3
28006 MADRID

Dña. María Teresa Azcona Llaneza
Centro Nacional de Farmacobiología
Ctra. Majadahonda-Pozuelo, Km. 2
28220 MAJADAHONDA (Madrid)

Dña. Ana María Martín-González
Hernán
Centro Nal. de Farmacobiología
Ctra. Majadahonda-Pozuelo, Km. 2
28220 MAJADAHONDA (Madrid)

Dña. María José Zafra Barranco
D.G.F.
(Destilaciones García de la Fuente)
Apartado 69
18080 GRANADA

D. Francisco Javier Sáez Granero
CIEMAT - Edificio 3 - Div. Química
Avda. Complutense, 22
28040 MADRID

Dña. María Dolores Bóveda Fontán
Feáns, 3C, 4º A
15706 SANTIAGO DE COMPOSTELA
(La Coruña)

D. Francesc Cabré Vacas
Laboratorios Menarini, S.A.
Alfonso XII, 587
08912 BADALONA (Barcelona)

Dña. Rosa María Pérez Pastor
CIEMAT-PRYMA
Avda. Complutense, 22
28040 MADRID

D. Carlos Piera Peña
CETIR
Londres, 6
08032 BARCELONA

D. Amadeo Oliveras Riera
La Seda de Barcelona, S.A.
Mayor, 47
08820 PRAT DE LLOBREGAT
(Barcelona)

D. Allan K. Smith Costa
Institut Municipal d'Investigació
Médica
Paseo Marítimo, 25-29
08023 BARCELONA

D. José Vicente Calomarde Burgaleta
Perfumería Gal, S.A.
Ctra. Nal. II, Km. 29,500
28800 ALCALA DE HENARES
(Madrid)

D. Matías Llobet Vallvé
Caspe, 158, entlo. 1º
08013 BARCELONA

D. Julián Vela Simón
Rhone-Pulenc Farma, S.A.E.
Ctra. Leganés, Km. 1,800
Apartado 196
28925 ALCORCON (Madrid)

D. Joaquín Sanchís Rodríguez
Laboratorio Químico Central de
Armamento
La Marañososa
Ctra. San Martín de la Vega a Madrid,
s/n
28330 SAN MARTIN DE LA VEGA
(Madrid)

D. Jordi Vinaixa Serra
Hucoa-Erloss, S.A.
Av. Virgen de Montserrat, 150
08026 BARCELONA

D. Francesc R. Subirada Curcó, 672
Instituto Químico de Sarriá
Sección de Cromatografía
c/Instituto Químico de Sarriá
08017 BARCELONA

D. Pau Comes Bordás
Centro de Investigación y Desarrollo
(CSIC)
Jorge Girona Salgado, 18-26
08034 BARCELONA

D. Antoni Rosell i Melé
Centro de Investigación y Desarrollo
(CSIC)
Departamento de Química Ambiental
Jorge Girona Salgado, 18-28
08034 BARCELONA

Dña. Rosa María Alonso Díez
Centro de Investigación y Desarrollo
(CSIC)
Jorge Girona Salgado, 18-26
08034 BARCELONA

Dña. María Pilar Fernández Ramón
Concepción Arenal, 59, 3º
08027 BARCELONA

D. Benito Oliver Rodés
Laboratorio de Análisis del Dr. Oliver
Consejo de Ciento, 306
08007 BARCELONA

Dña. María José Lucas Zabala
Transformados Pealsa
La Herrera, s/n
48800 BALMASEDA (Vizcaya)

* * *

NECROLOGICA

Gojko Kremenec

El pasado 13 de abril y como consecuencia de un inesperado fallo cardíaco, falleció en Madrid nuestro compañero Gojko Kremenec Orlandini.

Nacido en Split (Croacia, Yugoslavia) y nacionalizado español, cursó sus estudios de Ciencias Químicas en la Universidad Complutense de Madrid, donde obtuvo la licenciatura en 1953 y el doctorado en 1956.

Ingresó en el CISC como becario predoctoral en 1954 y en esta institución transcurrió su vida de trabajo. Desde 1973 y hasta su reciente jubilación fue director del Instituto de Catálisis y Petroleoquímica.

Era socio del GCTA desde su fundación en 1973. Fue también miembro fundador de la Sociedad Iberoamericana de Catálisis y pertenecía a la American Society for Testing and Materials (ASTM).

Desde estas líneas queremos expresar nuestra condolencia a su familia y amigos. Descanse en paz.

Informaciones

2nd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON APPLIED MASS SPECTROMETRY IN THE HEALTH SCIENCES

Tendrá lugar en Barcelona, del 17 al 20 de abril de 1990, con la colaboración del G.C.T.A.

Programa científico

Constará de conferencias, sesiones de discusión y presentación de carteles, abarcando todos aquellos temas de la espectrometría de masas relacionados con la salud. Entre ellos se incluyen:

- Nuevos desarrollos en instrumentación y nuevas técnicas (CZE-MS, FTICR, movilidad de iones, etc.).
- Últimas tendencias y perspectivas en técnicas cromatográficas combinadas con masas (LC-MS, SFC-MS, MS-MS).
- Estudios fundamentales y mecanismos de fragmentación de biomoléculas.
- Aplicaciones en biología molecular y biotecnología, toxicología y control de drogas, farmacología, estudios clínicos, metabólicos y bioquímicos, química ambiental y alimentaria.

Los trabajos enviados serán revisados por un comité científico internacional. La fecha tope para el envío de resúmenes es el 15 de noviembre de 1989. Los detalles pueden solicitarse a: Prof. Emilio Gelpí, Palau de Congressos, Dept. de Convencions, Av. Reina M. Cristina, s/n, 08004 Barcelona.

III CONGRESO LATINO-AMERICANO DE CROMATOLOGRAFIA (COLACRO III)

Tendrá lugar en Aguas de Lindoia (Sao Paulo), del 14 al 16 de marzo de 1990. Entre sus objetivos figura el intercambio de información entre los cromatografistas de Hispanoamérica y los de otros continentes sobre los últimos avances en instrumentación, metodología, aplicaciones y perspectivas de las distintas modalidades cromatográficas.

Cursos

Antes de la apertura del congreso, y en el mismo local, durante los días 12-13 de marzo, tendrán lugar los siguientes cursos:

- Cromatografía de gases de alta resolución (HRGC).
- Cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC).
- Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/MS).
- Cromatografía de líquidos preparativa (PLC).
- Cromatografía de fluidos supercríticos (SFC).

Programa científico

Cubrirá aspectos tanto fundamentales como prácticos de la cromatografía, incluyendo modalidades clásicas como GC, HPLC, PC..., más modernas como la cromatografía en plano de alta presión (HPPLC), electroforesis capilar (CZE) y técnicas acopladas (GC/MS, SFC/MS, LC/GC, etc.). Entre las aplicaciones se incluirán petroquímica, biotecnología, farmacología, alimentación, geoquímica, polímeros, productos naturales y medio ambiente.

Las actividades científicas incluirán conferencias plenarias, sesiones de carteles, workshops, comunicaciones orales, seminarios técnicos y sesiones de discusión.

Exposición

Paralelamente a las sesiones científicas se celebrará una exposición de equipamiento, accesorios y bibliografía cromatográfica.

Envío de comunicaciones

Los interesados en presentar algún trabajo deberán solicitar las normas a la mayor brevedad, ya que la fecha límite para presentar resúmenes es el 1 de octubre de 1989. Los trabajos se publicarán en un número especial de la revista *Journal of High Resolution Chromatography*.

Información

Para solicitar cualquier tipo de información o pedir la segunda circular, escribir a:

Dr. Fernando M. Lancas, Universidade de Sao Paulo, Instituto de Física e Química de Sao Carlos, 13560-Sao Carlos-SP, BRASIL.

3^{er} CONGRESO DE GEOQUIMICA DE ESPAÑA

Tendrá lugar en Soria, del 17 al 22 de setiembre de 1989. Incluirá las siguientes secciones científicas:

1. Geoquímica de los materiales y procesos geológicos.
2. Métodos matemáticos en geoquímica.
3. Prospección geoquímica.
4. Geoquímica isotópica.
5. Cosmoquímica (planetología).
6. Hidrogeoquímica.
7. Teledetección.
8. Métodos de análisis en geoquímica.
9. Geoquímica ambiental.
10. Geoquímica orgánica.

Para más información, escribir a la secretaría del Congreso, Consejo Superior de Colegios de Ingenieros de Minas, Ríos Rosas, 19 bis, 28003 Madrid.

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DETECTION IN LIQUID CHROMATOGRAPHY AND FLOW INJECTION ANALYSIS (HPLC/FIA)

Tendrá lugar en Córdoba, del 20 al 22 de setiembre de 1989. Su objetivo principal, además de presentar los avances más recientes en HPLC y FIA, consiste en relacionar a los especialistas de ambos campos, especialmente en el tema de la detección, en que los problemas son muy parecidos. Las contribuciones presentadas al Symposium serán recogidas en el Journal of Chromatography y en Analytica Chimica Acta.

Presentación de contribuciones: El título y un resumen de unas 200 palabras deberá enviarse al profesor M. Valcárcel (Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, 14004 Córdoba) antes del 31 de julio.

Inscripción: 22.000 pesetas. Escribir a M.D. Luque de Castro, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, 14004 Córdoba, antes del 1 de setiembre.

Programa científico: **A. Apfell**, *Particle Beam; a novel LC-MS interface.*

U.A. Th. Brinkmann, *HPLC coupled on-line with GC-type detectors.*

R.F. Browner, *A novel interface for LC-infrared spectroscopy.*

G.A. Christian, *Unique approaches for multicomponent defection.*

H. Engelhardt, *State of the art in postcolumn reactor development.*

A. Feli, *Detection via diode array systems.*

L. Goojer, *Novel luminiscence detection approaches for LC-FIA.*

J.F.K. Huber, *Reaction detectors in FIA and HPLC: a critical comparison.*

L. Huber and T. Dorr, *Sensitivity and long term stability of electrochemical detection in HPLC.*

G. de Jong, *Chemiluminescence detection in dynamic systems.*

U. Jürgens, *Pre-and post-column fluorescence labelling.*

I. Krull, *Polymeric reagents for on and off-line derivatisation in chromatography.*

J.L.F.C. Lima, *Potentiometric detection in FIA.*

G. Marko-Varga, *Analysis of sugars with post-column immobilized enzyme reactors.*

On-line electrochemical detection and fast scanning ECA in flowing streams.

P. Neidhart, (West Germany) *Solid phase reactors in continuous detection systems.*

J. de Pablo, *FIA as a tool for sample treatment and detection.*

H. Poppe, *Experiences with ultra miniaturized detection in flowing systems.*

J. Ruzicka, *Flow injection spectroscopy at chemically inactive surfaces.*

A. Sanz-Medel, *Enhancing the photoluminescent detection of metals by resorting to membrane mimetic agents.*

C. Thommen, *Industrial applications of FIA, photometric detection and data processing.*

K. Toth, *Potentiometric detection in continuous flow systems.*

J. Tyson, *The atomic spectrometric detector for FIA.*

W.E. van der Linden, *Characterization of flow through detectors; an experimental approach.*

N. Velthorst, *Lasers for detection in HPLC and FIA.*

J. Wang, *Modified electrodes for electrochemical detection in flowing streams.*

D. Westerlund, *Indirect photometric detection techniques in HPLC.*

A. Wiese, *Design and application of fluorescence detectors in HPLC.*

18th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHROMATOGRAPHY

Tendrá lugar en Amsterdam del 23 al 28 de setiembre de 1990. Como los anteriores, incluirá aspectos fundamentales, desarrollo instrumental y aplicaciones de las diversas técnicas cromatográficas: HPLC, GC, cromatografía de fluidos supercríticos y de capa fina, así como técnicas afines: FIA y electroforesis en columna.

Programa científico: Incluirá comunicaciones orales, carteles y sesiones de discusión sobre temas de interés actual. También habrá conferencias plenarias a cargo de especialistas de prestigio sobre tendencias y futuros desarrollos de la cromatografía.

Exposición: Simultáneamente tendrá lugar una exposición de instrumentos y accesorios cromatográficos.

Segunda circular: Para recibir la segunda circular, escribir a la Secretaría del Symposium, 18th International Symposium on Chromatography.

RAI Organizatie Bureau Amsterdam bv, Europaplein 12, 1078 GZ Amsterdam, Holanda. Tel.: (31) 20 549 12 12. Télex: 13499 raico nl. Fax: (31) 20 46 44 69.

ANATECH 90

Segundo simposio internacional sobre aplicación de las técnicas analíticas al control de procesos industriales

Tendrá lugar en Noordwijkerhout, Holanda, del 3 al 5 de abril de 1990. Incluirá comunicaciones orales y carteles, así como mesas redondas. Se consideran temas de especial interés los relativos a problemas de muestreo, preparación de muestras, medidas on line o in-line y control remoto, tanto desde el punto de vista de los químicos analíticos como desde el de los ingenieros de procesos y sistemas.

Conferencias plenarias: Entre ellas se incluirán, *Sampling systems for on-line analysis of difficult to handle material*, por K. Carr Brion.

Statistical aspects on process control/process analysis, por K. Doerffel.

Teaching of Process Analytical Chemistry, por J. Inzedy.

Flow Injection Analysis in process control and optimization, por E.D. Yalvac.

Progress and perspectives in on-line process gas and liquid chromatography, por C.L. Guillemin.

State-of-the-Art in NIR process hardware, por D.E. Honigs.

Trends and perspectives in process analyzers from the instrumentation point of view, por H. van den Hauten.

Contribuciones: La presentación de resúmenes (en inglés, 250 palabras) podrá hacerse hasta el 15 de octubre de 1989 y deberá enviarse a:

Professor Willem E. van der Linden, Laboratory for Chemical Analysis-CT, University of Twente, P.O. Box 217, NL-7500 AE Enschede, Holanda. Tel.: (31) 53 89 26 29. Télex: 44200. Fax: (31) 53 35 60 24.

V CONGRESO MEDITERRANEO DE INGENIERIA QUIMICA

En el marco de la próxima edición de EXPOQUIMIA, y del 5 al 7 de noviembre de 1990, se celebrará el 5º Congreso Mediterráneo de Ingeniería Química, organizado por la Sociedad Española de Química Industrial y EXPOQUIMIA.

El Congreso constará de conferencias magistrales, comunicaciones en forma de cartel y mesas redondas. Las conferencias magistrales serán pronunciadas por expertos especialmente invitados por el comité científico.

Las comunicaciones tendrán relación con los siguientes temas:

— **Fundamentos de ingeniería química**

Incluirá aspectos de estimación de propiedades, fenómenos de transporte, cinética y catálisis.

— **Operaciones unitarias y reactores químicos**

Comprenderá ingeniería de fluidos y calor, procesos de separación y reactores químicos y bioquímicos.

— **Diseño de proceso**

Incluyendo aspectos de optimización, modelado y simulación, diseño ayudado por ordenador, sistemas expertos, dinámica y control y análisis de riesgo.

— **Temas especiales**

Tales como seguridad, nuevos materiales, procesos de separación con membranas, tratamiento de residuos industriales, procesos biotecnológicos y mejora e innovación en procesos químicos.

Los autores que deseen presentar una comunicación sobre uno de los temas propuestos han quedado invitados a enviar un resumen de 150/200 palabras en tres ejemplares, antes del 1 de diciembre de 1989, pudiendo remitirse el texto definitivo antes de junio de 1990.

Las comunicaciones al Congreso serán seleccionadas por el comité científico y los autores aceptados serán informados antes del 1 de marzo de 1990.

Los idiomas oficiales del Congreso serán castellano, catalán e inglés, estando asegurada la traducción simultánea. Los *proceedings* del Congreso serán publicados en inglés.

NUEVAS REVISTAS

The Journal of Microcolumn Separation

Esta revista, editada por Aster Publishing Corporation, P.O. Box 10460, Eugene OR 97440 (USA), ha aparecido en enero de 1989. Pretende ser un foro internacional para la publicación de los trabajos actuales de investigación sobre:

- cromatografía de líquidos en microcolumna
- cromatografía de fluidos suoper-críticos en microcolumna
- electroforesis capilar
- cromatografía de gases capilar.

Las contribuciones incluirán artículos sobre trabajos de investigación, artículos de revisión y comunicaciones breves. Todos ellos serán revisados antes de su publicación.

El editor es Milton L. Lee, de la Universidad Brigham Young (Utah) y como editores asociados figuran M.V. Novotny, de la Universidad de Indiana, B.O. Josefsson, de la Universidad de Estocolmo, J.W. Jorgenson, de la Universidad de Carolina del Norte, y K. Jinno, de la Universidad Tecnológica de Toyohashi.

Para solicitar información sobre normas de publicación, escribir a:

Dr. M.L. Lee, Chemistry Department, Brigham Young University, Provo, UT 84602. Tel. (801) 378-2800.

Biomedical Chromatography

Esta revista, editada por Heyden & Son Ltd., Spectrum House, Hillview Gardens, London NW4 2JQ (Reino Unido), es bimestral y se dedica a la publicación de artículos originales sobre las aplicaciones de la cromatografía y técnicas afines en bioquímica, biotecnología, biología molecular, química clínica, farmacología, etc., incluyendo análisis de fluidos biológicos, células y tejidos, purificación de productos de interés biológico, farmacocinética y técnicas de secuenciación. Los editores son: E.F. Hounsell y C.K. Lim, Medical Research Council, Clinical Research Centre, Watford Road, Harrow, Middlesex HA1 3UJ.

Cursos

CROMATOGRAFIA DE GASES CON COLUMNAS CAPILARES

Tendrá lugar en Reus, el 21 de noviembre de 1989, antes del comienzo de la Reunión Anual del GCTA. Constará de sesiones teóricas y prácticas. Estará a cargo de **J.I. Gómez Belinchón, Dpto. de Química Ambiental, CID-CSIC (Barcelona)**. Comprenderá:

Parte teórica: Fundamentos de GC. El cromatógrafo de gases. La columna cromatográfica. Condiciones analíticas. Control de presión y flujo. Elección de gas portador. Gas supletorio. Temperaturas de inyector y detector. Análisis cuantitativo y cualitativo. Técnicas de inyección. Sistemas de detección: FID, ECD, NPD, FPD. Identificación y resolución de problemas cromatográficos.

Prácticas: Instalación de la columna. Puesta en marcha del equipo. Reacondicionamiento de columnas. Casos prácticos comparados: inyección con división, sin división, en columna. Diagnóstico de errores.

Para más información, escribir a: Joan Grimalt, Dpto. de Química Ambiental, CID-CSIC, Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona.

DETECCION IN HPLC AND FIA

Tendrá lugar en Córdoba los días 18 y 19 de setiembre de 1989, antes del simposio del mismo nombre. El idioma del curso será el inglés.

Expondrá los últimos avances en sistemas analíticos de flujo continuo, incluyendo tantos detectores espectroscópicos como electroquímicos (potenciométricos y amperométricos) así como técnicas acopladas. Las demostraciones instrumentales y aplicaciones correrán a cargo de empresas: Hewlett-Packard en HPLC y Scharlau Science en FIA.

Para más información, dirigirse a: M.D. Luque de Castro, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, 14004 Córdoba.

Reseña de libros

HPLC and lipids, por W.W. Christie. Pergamon Press, Oxford (1987). 272 págs., 916 ref.

El libro está dividido en 10 capítulos. Tras el de introducción, el segundo, dedicado a consideraciones teóricas y equipo en HPLC, es muy escaso en cuanto a teoría, pero es una buena guía de consejos prácticos. El tercero, que trata de la extracción, conservación y fraccionamiento preliminar de lípidos, resulta, como el anterior, útil por sus recomendaciones de trabajo; en conjunto, ambos capítulos están mejor desarrollados en otras obras. El quinto, sobre procedimientos de separación, resulta un poco reiterativo y podría haberse repartido entre los capítulos siguientes, que se refieren a fosfolípidos, ácidos grasos, especies moleculares de glicerolípidos, esfingolípidos y miscelánea. Esta es la parte que presenta realmente interés para el cromatografista que trabaja en separaciones de lípidos. La información está bien resumida y es bastante amplia, con bibliografía actual y un buen índice temático.

Advances in Chromatography. Volumen 28 (1989). Marcel Dekker Inc. Nueva York, Basilea.

El primer capítulo, *Theoretic aspects of quantitative affinity chromatography: an overview*, por A. James y C. Vidal-Madjar, tiene un intenso tratamiento teórico que cubre los métodos cromatográficos básicos (elución frontal y zonal), medidas de equilibrio con distintos tipos de solutos monoméricos, determinación de constantes de equilibrio y medidas cinéticas (análisis de momentos, de forma de pico, isothermas lineales y de Langmuir).

El segundo, *Column switching in GC*, por D.E. Willis, comienza por la terminología, describe los sistemas comerciales de control de flujo, y termina con aplicaciones, especialmente petroquímicas, incluyendo combinaciones de columnas rellena/rellena, rellena/capilar y capilar/capilar. (136 ref.).

El tercero, *The use and properties of mixed stationary phases in GC*, por G.J. Price, comienza describiendo sus propiedades (retención) y describe algunos sistemas concretos que han sido estudiados a fondo; explica su utilización (diagrama de ventanas) y termina con aplicaciones analíticas y termodinámicas.

El cuarto, *On-line small-bore chromatography for neurochemical analysis*, por W.H. Church y J.B. Justice; el sexto, *GC analysis of plasma lipids*, por A. Kuksis y J.J. Myher; y el séptimo, *HPLC of penicilin antibiotics*, describen con diverso acierto los correspondientes temas, que son de interés para los respectivos especialistas.

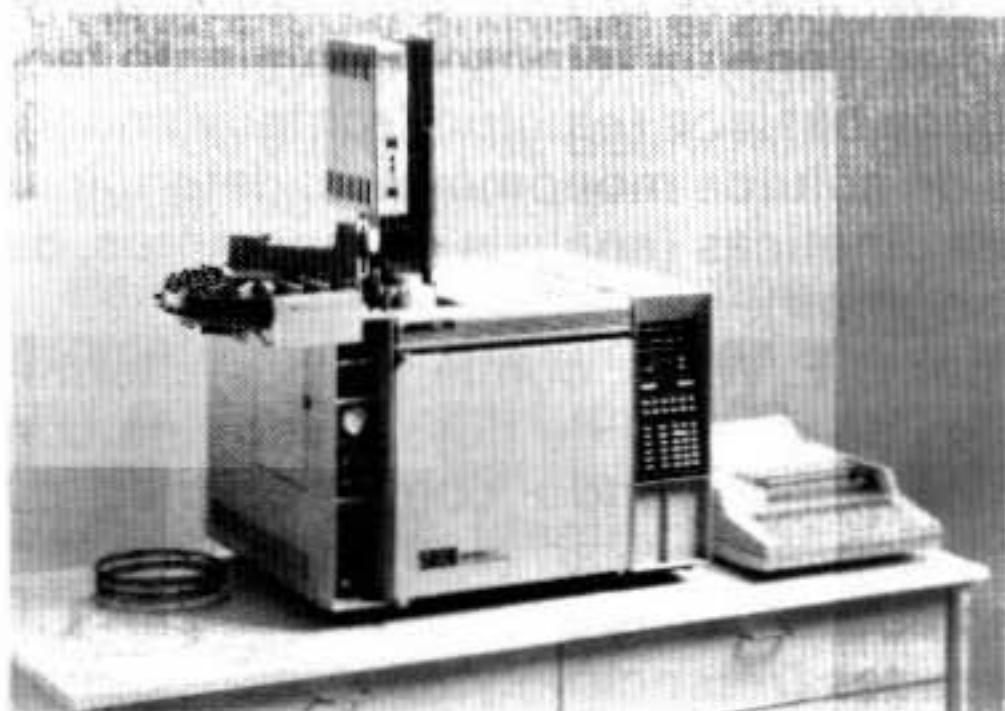
El quinto, *The use of dynamically modified silica in HPLC as an alternative to chemically bonded materials*, por P. Helboe, S.H. Hansen y M. Thomson, se inicia con los procesos de modificación dinámica (selección del modificador orgánico, influencia del pH y los tampones, etc.) y prosigue, paso a paso, con los componentes del sistema cromatográfico (columnas, eluyentes, resto de la instrumentación), propiedades y comportamiento de la sílice; termina con varias aplicaciones.

Novedades técnicas



HEWLETT-PACKARD PRESENTA EL GC HP 5890 SERIE II, CON MAYOR RESOLUCION PARA OPERACION CON CAPILARES

Hewlett-Packard acaba de presentar el Cromatógrafo de Gases HP 5890A serie II. Entre las diversas novedades presentadas por este GC podemos señalar un más amplio rango de temperaturas de operación, mayores posibilidades en cuanto a control y una opción que permite incorporar un inyector capilar "on column" de presión programable.



Al ampliar el rango de temperatura del horno de 400 a 450 grados centígrados y al añadir el inyector "on column" es posible realizar análisis de compuestos de elevados puntos de ebullición, tales como ceras hasta C120 así como esteroides y triglicéridos en muestras de biociencia. Puede ser útil también en aplicaciones de petroquímica donde se necesita operar con temperaturas más altas para obtener una caracterización exacta de fracciones pesadas.

El nuevo diseño del inyector capilar "on column" le hace compatible con el inyector automático HP 7673A y con el muestreador automático HP. Esto proporciona a los cromatografistas la posibilidad de desarrollar metodologías automáticas incorporadas por las inyecciones capilares "on column". Hasta ahora, los usuarios tenían que comprometer la facilidad de uso y la automatización si querían beneficiarse de las ventajas de la cromatografía capilar "on column".

El inyector "on column", de presión controlada electrónicamente, permite introducir a través del teclado la presión en cabeza de columna, para una mejor reproducibilidad del tiempo de retención. La programación de la presión de la cabeza de columna permite analizar los compuestos a más bajas temperaturas lo que trae consigo una degradación técnica menor y unos resultados más exactos.

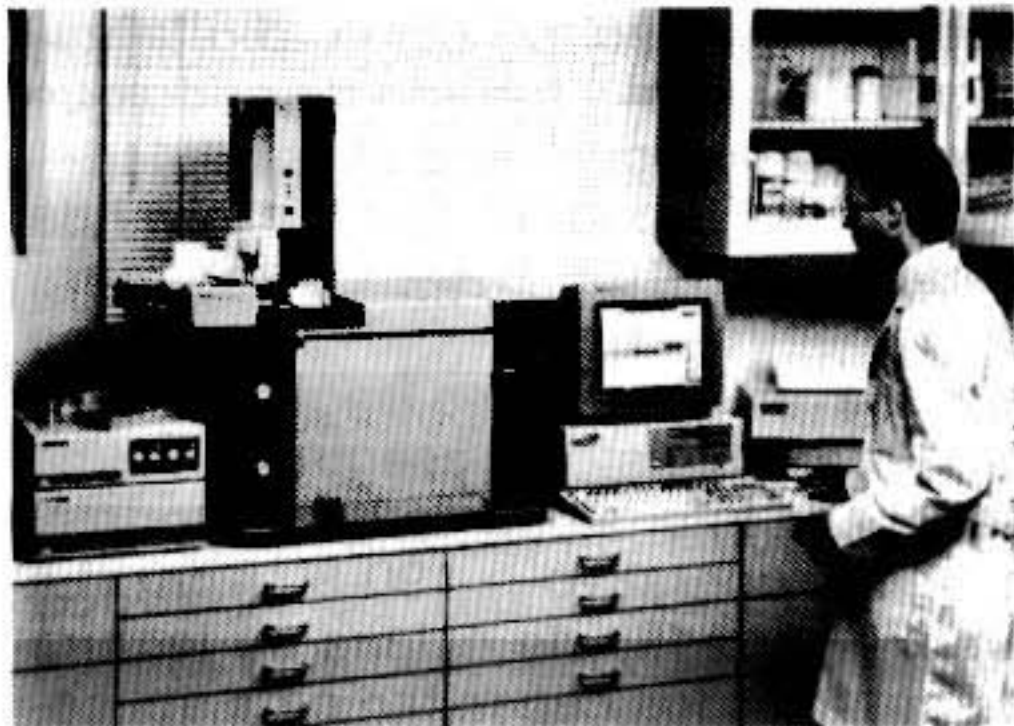
En combinación con el control de la temperatura del inyector, la programación de la presión del inyector "on column" aumenta la velocidad del análisis y la capacidad de separar mezclas complejas. El enfriamiento criogénico minimiza el tiempo entre análisis. Estas prestaciones aumentan el rendimiento cromatográfico así como la productividad del laboratorio. La adición de dos canales de válvulas duplican la capacidad del HP 5890A Serie II y reduce el costo de las configuraciones de válvulas. Las zonas calentadas adicionales ofrecen mayor flexibilidad en la configuración y el almacenamiento de los parámetros del GC hacen que el equipo sea más fácil de utilizar en operaciones por separado. Un programador de eventos dentro del GC ofrece la posibilidad de programar en el tiempo para la sensibilidad del detector de conductividad

técnica, conmutación de señales del detector y eventos multi-válvula para aumentar la automatización.

El HP 5890 Serie II mejora el rendimiento cromatográfico sin comprometer los métodos y procesos existentes. Los usuarios del HP 5890 tienen la posibilidad de ampliar sus cromatografos para que incluyan prestaciones de este nuevo GC.

HP PRESENTA LA ESTACION DE DATOS PARA CROMATOGRAFIA MS (R) —DOS

Hewlett-Packard acaba de presentar la Estación de Datos HP 3365A para uso en cromatografía de gases y de líquidos. Esta Estación de Datos combina un software de analítica, con unos algoritmos de reducción de datos que permiten la obtención de datos cuantitativos precisos, con el PC HP Vectra o con cualquier PC compatible IBM. Si se utiliza con un PC HP Vectra, se convierte en el único sistema de su naturaleza vendido por un solo suministrador.



La nueva estación de Datos HP es compatible con cromatógrafos de gases y de líquidos de cualquier marca y puede ser utilizada para controlar uno o varios instrumentos. Utiliza el sistema Windows MS-DOS de Microsoft (R) que ofrece la posibilidad de realizar multi-tareas, utilizar multi-

ples "ventanas" y cuenta con una interfase gráfica con el usuario. El entrenamiento necesario es mínimo.

La combinación de la presentación Windows/PC hace que el manejo de datos, a través del ratón, sea mucho más fácil. Gracias a la amplia gama de configuraciones posibles, la Estación de Datos HP es compatible con las interfases estándares de la industria: Los PC pueden ser conectados entre si y compartir periféricos; un almacenamiento de datos común da como resultado ganar espacio y unos gastos operacionales menores.

La estación de Datos HP 3365A puede ser conectada a otros sistemas de datos de laboratorio, incluyedo los minicomputadores de las Serie HP 1000 y 3000 y los de IBM y Digital.

Además, la Estación de Datos HP 3365A puede ser conectada a los sistemas de tratamiento de información de laboratorio HP LABSAM o de otras marcas.

En dos versiones para uno o múltiples instrumentos

La versión de un solo instrumento puede soportar la conexión directa con el GC HP 5890 Serie II o a una interfase de doble canal HP 35900C. Los usuarios pueden manejar varios instrumentos a través de una Estación de Datos HP multi-instrumentos. Ambas versiones pueden completar dos o más tareas simultáneamente, aumentando de forma efectiva la productividad del operador. La combinación de un cromatógrafo de Gases HP 5890A y de una Estación de Datos HP 3365A hace posible el control del instrumento y la adquisición de datos.

Estación de Datos HP 3365A hace posible el control del instrumento y la adquisición de datos.

Otros instrumentos cromatográficos pueden ser fácilmente conectados a través de la interfase general de doble canal HP 35900C para adquisi-

ción de datos de señales analógicas, incluyendo los módulos de HPLC HP 1050.

Fácil consolidación de los datos

La información procedente de múltiples instrumentos puede ser reducida a un solo documento. El sistema operativo ofrece la posibilidad de consolidar los resultados con otro software de automatización de oficinas, como, por ejemplo, las aplicaciones de procesamiento de texto y "spreadsheet". Muchas de estas tareas pueden ser realizadas simultáneamente gracias al MS-Windows.

La interfase gráfica simplifica la operación

Todas las aplicaciones Microsoft Window presentan una potente interfase con el usuario que hace que el aprendizaje de nuevas aplicaciones sea muy fácil. La interfase gráfica simplifica la operación a través de unos menús encadenados, iconos y "cajas" con diálogo. El "ratón" proporciona control sobre el cursor y sobre la ejecución de los comandos.

"Ventanas" múltiples para comparaciones visuales

La posibilidad de visualizar múltiples "ventanas" del cromatograma hace que la comparación de los diferentes datos resulte sencilla y directa. Para una flexibilidad aún mayor, las "ventanas" pueden superponerse, agrandarse o reducirse.

Oferta de lanzamiento

Hasta el 31 de Octubre de 1989 el comprador de una Estación de Datos con software multi-instrumentos recibirá totalmente gratis una impresora HP Laserjet II.

KONIK INSTRUMENTS, S.A.
Especialistas en cromatografía y técnicas afines
Specialists in chromatography and ancillary techniques

CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS

En HPLC, nuestro producto estrella, el KNK-500 G formador de gradientes cuaternarios con sistemas de impulsión libre de pulsos que está teniendo una gran acogida en el mercado Internacional, con varios cientos de unidades vendidas en todo el mundo; amplía su gama de aplicaciones con:

— Nueva versión Biocompatible, basada en nuevas tecnologías en polímeros plásticos (PEEK). En esta versión todas las partes del sistema en contacto con la fase móvil y la muestra están construidas en PEEK y materiales inertes, proveyendo un entorno óptimo para fases móviles agresivas y cromatografía de biomoléculas.

— Se renueva la gama de detectores espectrofotométricos UV-Vis con la serie de detectores KNK-029-200, con importantes innovaciones ópticas— utilización de tecnología de fibra óptica— y electrónicas— digitalización de la señal y filtrado de ruido que permiten una muy alta sensibilidad— 0,0005 UAFS con un mínimo nivel de ruido— $<1,5 \cdot 10^{-5}$ UA— La cobertura del espectro visible —400-800 nm— se efectúa mediante una segunda lámpara de Tungsteno asegurando una adecuada intensidad de luz en todo el aspecto operativo— 190-800 nm. La amplia variedad de celdas de lectura disponibles los capacitan para aplicaciones microbore— celda de $1 \mu\text{l}$ — biocompatible— celdas de KEL-F—, preparativa-celda de paso óptico variable y electroforesis capilar— detección in y on column.

— El detector más sofisticado de la presente serie es el KNK-029-206 que incorpora un sistema de barrido espectral ultrarrápido que permite la

monitorización de múltiples longitudes de onda así como la obtención de espectros de absorbancia en cualquier punto del cromatograma. El bajo nivel de ruido y las prestaciones de este detector— sensibilidad max =0,0005 UAES dejan prácticamente obsoletos a los populares Diode-Array a los que supera ampliamente. El tratamiento de datos y control de los parámetros de detección se efectúa mediante un soft. específico PC compatible. permitiendo el almacenamiento y reprocesado de cromatogramas, corrección de la línea base, archivo de espectros, cambio de las longitudes de onda monitorizadas.

CROMATOGRAFIA DE GASES

Completa vigencia de nuestro cromatógrafo de gases KNK-3000 HRGC al cual se han acoplado nuevos periféricos de trabajo:

— Cámara de desorción térmica programada, espacio de cabeza estático. De amplia utilidad en estudios de medio ambiente, análisis de monómero residual, control de residuos de polímeros, etc. Sistema totalmente automatizado y controlado desde el mismo microprocesador del cromatógrafo resultando una óptima precisión.

— Incorporación del módulo LSC-2000 de Tekmar, líder mundial en la instrumentación dedicada al análisis de volátiles por "purge and trap", Equipo homologado para varios métodos EAP; con capacidad de automatización en análisis multimuestras. Se convierte en una poderosa herramienta analítica cuando se conjunta con una trampa criogénica y columnas capilares.

— Presentación del nuevo pirolizador de Chemical Data Systems. Pyroprobe modelo 1000 que sustituye a la serie 120, aumentando las prestaciones de control de temperatura y repetición analítica. Sistema de introducción de muestras compatible con GC, GC/MS y FI-IR.

— Por parte de nuestro departamento de I+D se anuncia la puesta en marcha de una sección dedicada a la cromatografía de procesos en estrecha colaboración con varios departamentos de ingeniería química de distintas Universidades.

— Dentro del aparato de eficacia en el análisis, KONIK ostenta en el mercado español la representación de la firma JαW, auténtica líder mundial en la cromatografía capilar. La gama de diámetros va desde 0,53 mm. I.D., Widebore, a 0,18 mm. I.D., Minibore, en distintas longitudes y fases estacionarias convencionales. Se presentan además de una serie de columnas especiales (no disponibles por otras firmas) dedicadas a problemas específicos: DB-608, pesticidas y PCB's (EPA 608); DB-624, halocarbonados y aromáticos volátiles (EPA 501-503). El conjunto se culmina con la fase de polaridad media DB-1301 exclusiva de nuestra representación y cuya principal novedad es el ajuste de la selectividad por medio de la temperatura.

OTRAS NOTICIAS Y NOVEDADES DEL GRUPO KONIK-KONIXBERT-KROMXPEK

Aplicación del contrato con el grupo VG Instruments: El pasado mes de noviembre fue ratificado y ampliado el acuerdo con el grupo VG que incorpora además de España y Portugal, Chile y Argentina entre otros países Iberoamericanos. Paralelamente con la ampliación territorial hemos ampliado y reorganizado los Servicios Técnicos de Mantenimiento y el Departamento de Marketing, creando nuevas Jefaturas de Productos y Líneas.

Konik nombrado agente exclusivo de Edwards High Vacuum para Portugal: La ampliación de responsabilidades de marketing, ventas y servicios a nuestro vecino país a través de la filial que Konik tiene en Portugal nos per-

mitirá redondear nuestras capacidades, y por lo tanto nuestra oferta de productos y servicios de una manera análoga a España, manteniendo nuestro nivel de especialización extendido sobre una base territorial mucho más amplia.

Inauguración del nuevo centro de marketing, ventas y servicios de Konik para sudamérica, ubicado en Buenos Aires: El pasado mes de abril, con la asistencia de relevantes personalidades del Ministerio de Educación y Justicia de Argentina, Focoex, Eductrade, diversos Catedráticos de Universidades, Profesores de Investigación de diversas Instituciones y una nutrida representación de la Industria del país, así como de la Diplomacia Española, fueron inauguradas las nuevas instalaciones de KONIK en La Florida, (B. Aires), Incorporan Laboratorios de Aplicaciones, Servicio Técnico de Mantenimiento, Salas de Conferencias para la realización de Cursos de Entrenamiento, etc.

PERKIN-ELMER

NUEVO DETECTOR UV PROGRAMABLE PARA CROMATOLOGRAFIA LIQUIDA

Perkin-Elmer ha lanzado al mercado un nuevo detector de doble longitud de onda, programable, en tecnología de fotodiodos, denominado LC-135. Hermano pequeño del popular LC-235, prescinde de las posibilidades espectroscópicas de éste, para reducir muy sensiblemente su precio.

Utilizando un plotter GP-100, o con el integrador LCI-100 proporciona automáticamente el índice de pureza de cada pico, así como la longitud de onda de máxima absorbencia. Puede convertirse a LC-235.

Perkin-Elmer adquiere Nelson Analytical

Perkin-Elmer Corporation, de Norwalk, Connecticut, y Nelson Analytical, Inc., de Cupertino, California, han firmado un contrato en el cual Perkin-Elmer adquiere Nelson mediante una fusión de las dos compañías.

Nelson Analytical es una de las compañías más importantes en sistemas de tratamiento de datos para cromatografía.

La fusión proporcionará recursos financieros y una más amplia red de distribución a Nelson y aportará sus conocimientos en tratamiento de datos a Perkin-Elmer.

Espectrómetro ICP-Masas Elan

El Elan Sciex de Perkin-Elmer es un espectrómetro de plasma con acoplamiento inductivo-masas (ICP-MS) diseñado para la determinación rápida de varios elementos de especies elementales a bajas concentraciones. Las principales aplicaciones se encuentran en las áreas del medio ambiente, geoquímica y de fabricación de semiconductores. De los 75 elementos determinables por el Elan, por lo menos 65 presentan unos límites de detección de 1 microgramo/litro o menores. Una serie de 20 elementos puede ser determinada en un tiempo de uno a tres minutos, dependiendo de la precisión requerida. Los espectros obtenidos de las muestras son sencillos y fáciles de interpretar debido a que el ICP-MS diferencia los elementos de acuerdo con sus masas. Con relación a los iones negativos, el Elan está capacitado para la determinación directa del cloro, flúor y bromo a concentraciones convenientes.

La capacidad del instrumento para la medida de isótopos también permite la cuantificación por dilución isotópica, lo que determina que este método pueda considerarse como

uno de los más precisos de valoración disponibles. El Elan se controla por un microordenador por medio de una consola compuesta de una pantalla CTR en color y un teclado. Un paquete completo de software permite al analista aprovechar todas las ventajas del sistema ICP-MS.

Cuantificador de micromuestras de DNA

Perkin-Elmer Cetus ha introducido un nuevo sistema denominado DNA Quant que proporciona a los biotecnólogos un método simple de cuantificación de proteínas y fragmentos de DNA en muestras tan pequeñas como 50 ul.

El sistema consiste en un cartucho de software UV Biotech y una microcubeta de cuarzo diseñada para adaptarse al espectrofotómetro UV/VIS modelo Lambda 4B de Perkin-Elmer.

El conjunto de software y microcubeta permiten un rápido acceso a gran variedad de aplicaciones, que incluyen: relación de absorbancias $A(260)/A(280)$, concentraciones de fragmentos y portadores simples y dobles de DNA, RNA y oligómeros, concentración de proteína y ácido nucleico en mezclas simples...

El software UV Biotech es la última adición a la colección de cartuchos de software para aplicaciones específicas del Lambda 4B. La microcubeta de 50 ul de cuarzo se maneja como las cubetas normales y se limpia fácilmente al poderse abrir por la parte superior.

Sistema de amplificación de DNA

Con la revolucionaria técnica PCR (Polymerase Chain Reaction) es posible amplificar, in vitro, una secuencia de DNA hasta 100.000 veces y en un tiempo de horas en contraste con los días que se requieren con los métodos convencionales de amplificación. La técnica es válida tanto para la DNA genómico como para el clónico.

Perkin-Elmer Cetus se complace en presentar su sistema de amplificación de DNA con el que consigue optimizar la velocidad y eficiencia de la técnica.

BECKMAN

BECKMAN PRESENTO EL NUEVO SYSTEM GOLD PARA DESARROLLO DE METODOS, EN PITTSBURGH CONFERENCE 1989

Beckman Instruments, Inc ha presentado el Nuevo System Gold para Desarrollo de Métodos en la "Pittsburgh Conference" del presente año 1989. Este sistema de HPLC y PC integrados ofrece significativos nuevos avances dentro de las líneas System Gold y Cromatógrafos Personales Beckman. Se presentaron dos nuevos módulos de HPLC —Inyector automático totalmente programable y Detector de Fotodiodos en circuito integrado (Array Diode). Ambos están también conectados "on line" con el Software de Cromatografía Personal System Gold, como un solo punto de control.

Esta nueva configuración System Gold ha sido diseñada especialmente para aquellos técnicos analistas implicados en el desarrollo y optimización de métodos por HPLC. El sistema *ofrece nuevos niveles de eficacia analítica* e incrementa la productividad con la automatización de los procesos de selección de solventes, inyección, detección y análisis.

El nuevo módulo Inyector Automático 507 de Beckman, con capacidad para 96 viales de muestra, aporta opciones para la conmutación de flujos, refrigeración de muestras y control de temperatura de la columna. El nuevo sistema de detección por fotodiodos (Diode Array) 168, que ofrece 512 fotodiodos en circuito integrado, determinación de Pureza en Tiempo Real y una versión actualizada de

Software de Barrido Espectral System Gold de fácil acceso a datos de espectros.

El nuevo Software, desarrollado específicamente para el Detector de Fotodiodos Beckman, utiliza un algoritmo matemático extremadamente rápido, que analiza multivariaciones de datos, lecturas de barridos espectrales en tiempo real y analiza estos datos para determinar la pureza de los picos. Un símbolo gráfico señala en cada pico cuantas impurezas contiene mientras éste se obtiene.

El suministro de solventes es proporcionado por la Bomba Programable 126 System Gold con cabezales patentados μ Flow™, y válvulas selectoras de solventes de 4 vías, con mezclador dinámico de dos etapas para una superior reproductividad de los gradientes.

El sistema completo es controlado y operado vía la interfase intuitiva de usuario System Gold con gráficos avanzados y control desde un solo punto. Los Métodos Analíticos pueden crearse incluyendo todos los parámetros empleados en el análisis. Las condiciones de suministro de solventes, detección, inyección automática de muestras, adquisición e integración de datos y formato de la hoja de resultados, todo ello forma parte del método y es almacenado en disco para su posterior uso y transferencia sin errores de métodos. Los resultados cromatográficos pueden incluso guardarse con el método, para un registro completo del análisis.

Pida hoy información del System Gold

Si desea conocer la nueva serie de cromatógrafos personales System Gold y verlos por sí mismo, contacte con Beckman Instruments España, S.A.

Avda. del Llano Castellano, 15
Tel. (91) 729 16 66
28034 MADRID

Virgen de la Estrella, 13
Tel. (954) 45 58 19
41011 SEVILLA

Marqués de San Juan, 15-17
Tel. (96) 347 64 09
46015 VALENCIA

Sabino de Arana, 46-48
Tel. (93) 339 97 16
08028 BARCELONA

Francisco Rodríguez, 5
Tel. (981) 66 47 24
EL GRAJAL - LA CORUÑA

Avda. de Navarra, 49-51
Tel. (976) 34 48 58
50010 ZARAGOZA

CES analítica

Ces Analítica presenta la microcromatografía, la nueva orientación de la estrategia de Carlo Erba Instruments.

La microcromatografía incluye las mejores técnicas de separación basadas en columnas capilares y microempacadas, y en la utilización de fases móviles gaseosas, líquidas o de fluido supercrítico. Estas técnicas incluyen HRGC (cromatografía de gases de alta resolución), SFC (cromatografía de fluido supercrítico) y micro HPLC.

La microcromatografía ofrece mejoras sustanciales sobre los métodos cromatográficos convencionales en cuestiones como potencia, sensibilidad, posibilidad de utilizar variedad de detectores (universales y selectivos) de GC y LC, así como un fácil acoplamiento a otros sistemas de detección como MS y FTIR. El acoplamiento on-line de Micro HPLC a HRGC, que permite el análisis de compuestos traza en condiciones originales, es un magnífico ejemplo de las enormes posibilidades que ofrece la microcromatografía.

La microcromatografía no sólo necesita precisos sistemas de inyección, separación y bombeo, que son constituyentes vitales del sistema analítico; también exige una alta cualificación en las áreas de automuestreadores, tratamiento de datos y detección.

Carlo Erba ha desarrollado recientemente una línea de instrumentos dedicada exclusivamente a la microcromatografía:

— HT Mega HRGC (cromatografía gaseosa capilar de alta temperatura), para el análisis cuantitativo de mezclas de compuestos termoestables; desde compuestos muy volátiles hasta los de peso molecular elevado.

— SFC 3000 (cromatografía de fluido supercrítico), con detectores de cromatografía líquida o gaseosa para el análisis de compuestos termolábiles o de peso molecular relativamente alto. Utiliza fluidos supercríticos puros o mezclados.

— Sistema 20 Micro HPLC, con una bomba tipo jeringa de alta precisión, capaz de múltiples gradientes de elución a un flujo del orden de $\mu\text{l}/\text{min}$. (Phoenix 20) y un detector especial para determinaciones on-column (micro Uvis 20).

Estos sistemas establecen las bases para el desarrollo de nuevos métodos que serán capaces de aprovechar las ventajas de las técnicas microcromatográficas y abrirán camino a un uso más extendido de métodos de detección positivos como espectrometría de masas.

El acoplamiento de espectrómetros de masas a cromatografía de gases capilar, ha supuesto ya grandes ventajas analíticas y lo mismo puede esperarse del acoplamiento con otras técnicas como SFC o Micro HPLC.

Ces Analítica también quiere comunicar que el simulador de destilación de fracciones de petróleo, HT Sim Dist, de Carlo Erba Instruments ha

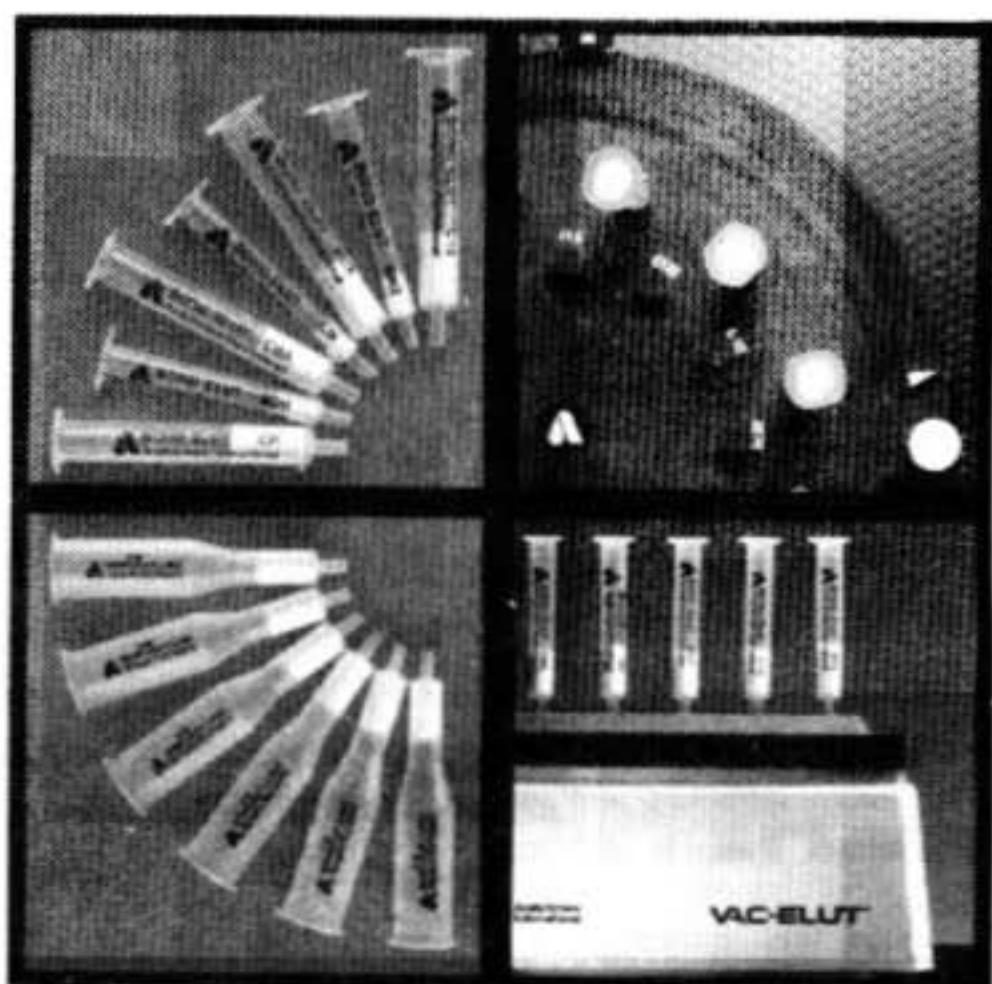
sido presentado a la ASTM con el apoyo de Exxon y Total, con el fin de convertirse en un método oficial. Otro tanto ocurre con el analizador de compuestos oxigenados O-FID, que ha sido propuesto como método oficial de la CEE para determinar este tipo de compuestos en las gasolinas.



ANALYTICHEM: NUEVOS CARTUCHOS BOND-ELUT CERTIFY TM

Analytichem International, empresa subsidiaria de Varian, líder mundial en sistemas de preparación de muestras, acaba de lanzar al mercado sus nuevos cartuchos Bond-Elut Certify, específicamente desarrollados para el análisis de drogas en el laboratorio. Los Bond-Elut Certify contienen una nueva fase estacionaria, única en el mercado, que permite la extracción selectiva de los distintos tipos de drogas —ácidas, básicas y neutras— de una forma rapidísima y totalmente fiable para su posterior análisis por GC o confirmación mediante GC/MS. El alto rendimiento de los nuevos Bond-Elut Certify, permite alcanzar, incluso los niveles mínimos especificados por el NIDA.

Con cada caja de Bond-Elut Certify se incluyen los métodos de preparación, con instrucciones precisas y



detalladas paso por paso, para el análisis de las drogas de abuso en orina más habituales, como son: THC y sus metabolitos, cocaína y benzoylecgonina, anfetamina y metafentamina, feniclidina, opiáceos y barbitúricos.

Los métodos de preparación han sido específicamente optimizados para cada tipo de droga, con objeto de lograr los mejores resultados de extracción. Adicionalmente, y para una mayor rapidez, en cada método se incluye también una guía detallada para la preparación de las distintas soluciones de reactivos.

Con Bond-Elut Certify, cada extracción se realiza solo en unos pocos minutos, con la ventaja de alcanzar unos rendimientos mucho más altos que con una extracción líquido/líquido convencional, que además de no producirse convulsiones y evitar el contacto con disolventes peligrosos.

Por otra parte, con la unidad de procesamiento de muestras Vac Elut SPS 24, se puede realizar la extracción simultánea de hasta 24 muestras.

Los Bond Elut Certify se pueden adquirir en dos configuraciones: el popular cartucho LRC con capacidad para 10 ml. de muestra o bien en el cartucho standard de 3 ml.

Para más información, dirigirse a:
CHEMICONTRON, S. L.
 División Técnicas Cromatográficas
 Avda. de Filipinas, 46
 Teléfonos: (91) 254 66 77/78
 28003 MADRID.

KROMXPEK ANALITICA, S. A.

Ctra. Cerdanyola, 65-67 • 08190 Sant Cugat del Vallés
 Barcelona (ESPAÑA) • Tel. (93) 675 02 44 • Fax (93) 675 05 16
 Télex 59.199 • Apdo. 282.

Rosario Pino, 18 • 28020 Madrid • Tel. (91) 571 67 84 •
 Fax (91) 571 67 85.

Desde nuestra constitución como Sociedad y del inicio de nuestras actividades han transcurrido 18 meses, habiendo conseguido una importante penetración en el mercado, siendo muchos los usuarios de Cromatografía y Espectroscopía que nos confían sus compras de consumibles y accesorios para análisis y control.

Perseveramos en nuestros objetivos: **CALIDAD INTEGRAL Y PRECIOS EUROPEOS**, desde los productos y accesorios de nuestras representadas hasta los de nuestra propia fabricación, ofreciendo servicios analíticos especializados en los que hemos integrado los múltiples aspectos relacionados con la aplicación de las técnicas cromatográficas.

Casi veinte años de experiencia en la utilización de estas técnicas analíticas nos avalan.

Representamos a empresas líderes cada una en su especialidad, como:

Alltech Associates.

Productos y accesorios para Cromatografía de Gases y Líquidos.

Phase Sep.

Pionera en el desarrollo de la partícula esférica para HPLC. Columnas SPHERISORB.

S.G.E.

Columnas capilares de sílice fundida con recubrimiento de aluminio, jeringas y accesorios específicos GC-MS, etc.

Rheodyne

Válvulas de inyección para HPLC, FIA, etc.

Restek

Empresa especializada en la fabricación de columnas capilares de altas especificaciones.

Valco

Válvulas para cromatografía analítica y de proceso.

Chem Service

La oferta más extensa en patrones de pesticidas, kits EPA, Hidrocarburos, Fenoles, etc.

Tokyo Kasei

Más de 30.000 productos químicos orgánicos, reactivos, patrones.

Wilmad

La más amplia oferta en accesorios para IR, UV-VIS, ALDRICH entre muchos otros. Todo para su laboratorio de cromatografía.

**LA INGENIERIA EN ANALITICA INSTRUMENTAL.
UN NUEVO CONCEPTO.**

Hemos creado una división que ofrece el servicio "contrato llaves en mano" en la solución de problemas analíticos. Suministramos el equipamiento más adecuado: Cromatógrafos de Gases, de Líquidos, UV-VIS, IR, etc., con los periféricos necesarios: Espacio de Cabeza, Inyectores Automáticos, Pirolizadores, Detectores Selectivos, Extractores y Concentradores para análisis de residuos, etc. También podemos reconvertir su Cromatógrafo de Gases para trabajar en columnas capilares y semicapilares.

En esta nueva faceta, y tan solo después de 6 meses, tenemos en nuestro haber 15 contratos todos ellos resueltos y funcionando, en campos tan distintos como sector farmacéutico, sector alimentario, industria química de base, industria energética, etc. solucionando problemas tan interesantes como: análisis de monóme-

ros residuales con cámara de desorción técnica, cuantificación de la glicerina por Cromatografía capilar, Acidos grasos dímeros por Cromatografía capilar, estudio de gustos y aromas en alcoholes, Disolventes residuales en película impresa, Organoclorados y organofosforados en aguas, etc. etc.

Consúltenos. Le interesa conocerlos.

**NUEVOS AUTOSAMPLERS HPLC
SHIMADZU Mod. SIL-6B y SIL-9A**

La firma Shimadzu Corporation, distribuida en España por IZASA S.A., acaba de alcanzar en Europa sus nuevos Autosamplers para HPLC. Con ellos es posible hacer pretratamiento de muestras antes de inyección. Esto implica la capacidad de efectuar dilución automática o la posibilidad de derivatizar muestras con hasta 4 reactivos diferentes. Hay disponibles dos tipos de racks de muestras para viales pequeños y grandes y la aguja de inyección es arbitrariamente programable en direcciones x-y-z. Ambos instrumentos ofrecen alta reproducibilidad de inyección (cv menor que 0,5%), un volumen máximo de inyección de 150 μ l. (en etapas de μ l.) y una presión de operación máxima de 350 bar.

El SIL-9A es un instrumento autónomo que puede almacenar 30 métodos definidos por el usuario para pretratamiento de muestras y que puede ser controlado externamente. El SIL-6B se controla desde el módulo controlador SCL-6B y puede ser integrado en un sistema totalmente automatizado. Para este modelo Shimadzu ofrece una opción de inyección a gran escala (hasta 2 μ l.).

Ambos instrumentos se pueden controlar fácilmente por programación en BASIC desde un integrador SHIMADZU.

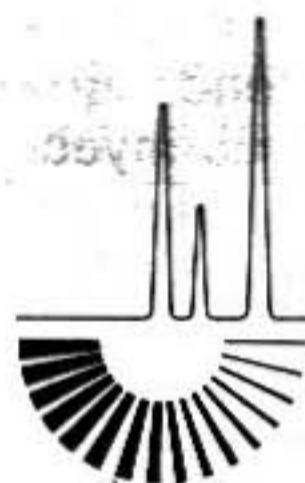
Si desea mayor información sobre estos modelos, solicítela a los teléfonos (91) 653 71 99 y (93) 425 01 00.

NUEVO AUTOSAMPLER PARA CROMATOGRAFO DE GASES SHIMADZU mod. GC14A

Asimismo, la firma Shimadzu Corporation, ha presentado recientemente el autosampler mod. AOC-14. La velocidad de inyección se puede programar (rápida o lenta) y la inyección rápida, junto con el modo flujo de disolvente, donde el disolvente se succiona antes de que la muestra líquida se succione en la jeringa, aporta mejores resultados para problemas de discriminación causados por el efecto de la destilación en la aguja de la jeringa.

Puede comunicarse con un ordenador personal opcionalmente a través de un interface RS232C.

Si desea mayor información sobre este modelo, solicítela a los teléfonos (91) 653 71 99 y (93) 425 01 00.



lasing, s.a.

DIVISION ANALITICA

NUEVO SISTEMA DE PURIFICACION DE PROTEINAS TOTALMENTE AUTOMATIZADO MultiLab

La compañía inglesa Oros, con la que hemos llegado recientemente a un acuerdo de distribución en exclu-

siva para España y Portugal de sus productos, ha desarrollado un sistema de purificación de proteínas, controlado por ordenador, que ayudará y ahorrará tiempo en su laboratorio, aumentando la productividad y calidad de su trabajo.

A continuación enumeramos algunas de sus más relevantes características técnicas y prestaciones.

Purificación de proteínas controlada

Consiga el control de la purificación de proteínas con MultiLab. Equipo diseñado para poner en sus manos todo lo que necesita para una purificación de proteínas controlada; las bombas, sensores, conducciones de fluidos y botellas, están incorporados en el módulo cromatográfico diseñado con: control y medida de ph, medida de conductividad, medida de absorbancia a 280 nm. y control del flujo y la presión de trabajo.

Pantalla táctil de fácil uso

MultiLab combina la pantalla táctil con un buen diseñado software, lo que simplifica el desarrollo de métodos y reduce significativamente el tiempo de manejo del usuario. Cuando MultiLab te lo indica, todo lo que has de hacer es introducir los datos bioquímicos en la pantalla táctil. El uso de ésta proporciona comodidad, limpieza y seguridad en los laboratorios bioquímicos.

Seguridad de funcionamiento

MultiLab ofrece una total seguridad de funcionamiento ya que una vez programado y puesto en marcha, el usuario no necesita estar presente. Un sistema de monitorización constante protege a la columna de burbujas de aire y una alarma avisa cuando las botellas de suministro se vacían.

Seguridad de funcionamiento

MultiLab ofrece una total seguridad de funcionamiento ya que una vez programado y puesto en marcha, el usuario no necesita estar presente. Un sistema de monitorización constante protege a la columna de burbujas de aire y una alarma avisa cuando las botellas de suministro se vacían.

Optimización de métodos a gran escala

MultiLab es un sistema de baja-media presión que permite que los métodos desarrollados en MultiLab puedan ser trasladados directamente a purificaciones a gran escala. Cambiar o rectificar un método; por ejemplo, añadir otro búffer de lavado emplea solamente 30 sg.

Para mayor información sobre estos productos, estamos a su disposición en:

Marqués de Pico Velasco, 64

28027 Madrid

Tel. 268 08 79/36 43/29 04

Fax 407 36 24

MERCK

SISTEMAS LICHROGRAPH: EL RESULTADO DE LA EXPERIENCIA

Merck ha estado relacionada con la cromatografía desde sus inicios. La HPLC se ha asociado al nombre de la compañía durante mucho tiempo. Merck es actualmente, líder europeo en el mercado de columnas y de fases estacionarias; como consecuencia de esto y de la constante investigación en estos campos, hemos desarrollado un conocimiento muy extenso en HPLC. Tomando principales objetivos la simplicidad, fiabilidad y rendimiento, Merck ha desarrollado el concepto LiChrograph en instrumentación.

Nuestras actividades en el campo farmacéutico y químico exigen el uso constante de técnicas cromatográfi-

cas; es por esto, que la posibilidad de ejercitar un diálogo sincero con usuarios de la compañía, ha conducido a una crítica constructiva y a una rápida optimización de estos productos. Conocemos perfectamente que requisitos son imprescindibles en cromatografía, a partir de nuestra experiencia como usuarios.

Merck ha estado comercializando el sistema de HPLC LiChrograph durante 5 años. Desde sus inicios, fue desarrollando como un concepto modular que incluía elución por gradientes, integración e inyección manual. Incluso aquellos primeros instrumentos, podrían hoy día, integrarse dentro de un sistema automático con el controlado por el HPLC-Manager.

El sistema de comunicaciones PAN fue el primer paso en el camino hacia la automatización. Todavía es utilizado en la actualidad, para la conexión inteligente de un inyector automático, bomba de gradientes e integrador.

Cada módulo incorpora los parámetros de trabajo propios del método analítico. El integrador es el elemento principal, siendo responsable de la emisión de informes, control del sistema, permitiendo operación sin atención directa del personal. Los datos cromatográficos se pueden almacenar en el propio integrador ó en un "floppy disk", para su posterior recálculo.

Actualmente el uso de un PC ha hecho que todas estas funciones sean más claras y simples. El PC muestra permanentemente el estado actual del sistema, elabora informes más completos y personalizados, al tiempo que no pone límites al almacenamiento de resultados.

Merck, presenta un software cromatográfico compatible con el modelo standard de PC, que puede controlar totalmente un sistema de HPLC y evaluar las señales procedentes de un detector bicanal: El HPLC-Manager.

D-6000 HPLC-Manager

La bomba inteligente L-6200 puede realizar eluciones insocráticas o de gradientes. Es posible elegir el método de mezcla para gradientes: binario en alta presión o ternario en baja.

El HPLC-Manager le confiere al trabajo con inyector automático, la posibilidad adicional de las series de inyecciones. Cada muestra puede procesarse en cualquier orden, con número variable de repeticiones y con volúmenes de inyección distintos. La calibración se hace más fácil y flexible.

El detector programable L-3000 posibilita el control de la longitud de onda, autocero, y barrido espectral. La recepción simultánea de señales a dos longitudes de onda, permite que el HPLC-Manager efectúe controles de pureza; sumas o diferencias entre cromatogramas.

Asimismo, otros módulos del sistema tales como: colectores de fracciones; inyectores automáticos o controladores de gradientes, que no pertenecen a la familia LiChrograph, pueden estar perfectamente integrados dentro del entorno HPLC-Manager.

Detectores de cualquier tipo tales como: UV/VISA; fluorímetros; conductímetros y los electroquímicos, pueden añadirse para evaluación. Cualquier señal comprendida entre 1 -1000 mV puede ser procesada.

Si desean una información más detallada o una demostración, no duden en ponerse en contacto con nuestras oficinas:

08100 Mollet del Vallés: Apdo. 47.
Tel. (93) 593 31 04.

08018 Barcelona: Buenaventura Muñoz, 10 bis. Tel. (93) 485 06 59.

28010 Madrid: Gral. Martínez Campos, 41. Tel. (91) 410 34 48.

Waters

Division of MILLIPORE

NUEVO SISTEMA DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA PARA BIOSEPARACIONES, WATERS 625



La División de Cromatografía Waters de Millipore Ibérica ha presentado recientemente un equipo de HPLC especialmente diseñado para el bioquímico.

El Waters 625 incorpora en su diseño: materiales poliméricos, no metálicos, bajo dispersión para el trabajo con columna microbore, analítica o micropreparativa. El sistema ha sido optimizado para las separaciones por intercambio iónico, afinidad, interacción hidrofóbica, gel filtración y fase reversa. Puede acoplarse detección UV/Vis incluidos los detectores por fotodiodos.

El Waters 625 LC puede trabajar en el rango de flujos de 0,01-5,0 ml/min con una presión límite de trabajo de 4.000 psi.

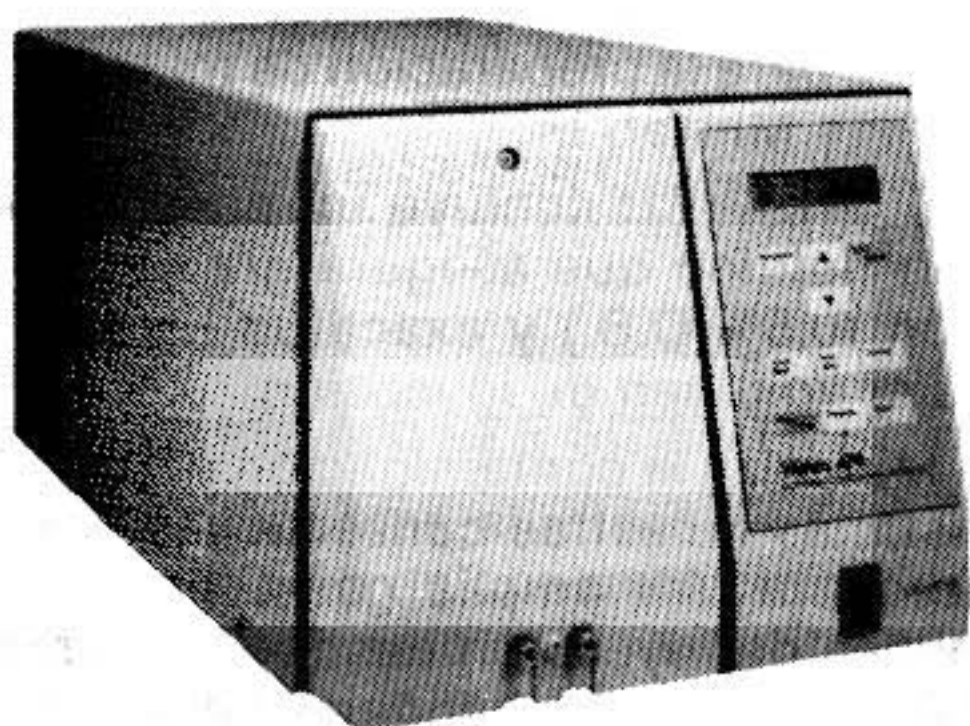
El cromatógrafo Waters 625 incorpora lavado automático de los émbolos de la bomba, mezclador de 4 tampones o eluyentes, tubuladuras fle-

xibles no metálicas, con tuercas o terminales atornillables a dedo, sin necesidad de herramientas.

Incorpora también la tecnología de intercomunicación de módulos cromatográficos **Powerline**, que desde un solo teclado controla todos los parámetros de gradiente, inyección, detección y eventos externos, ya sea con o sin la ayuda de un ordenador.

Para mayor información o una demostración sobre este sistema dirigirse a la oficina Waters más próxima.

DETECTOR PROGRAMABLE DE FLUORESCENCIA PARA HPLC WATERS 470



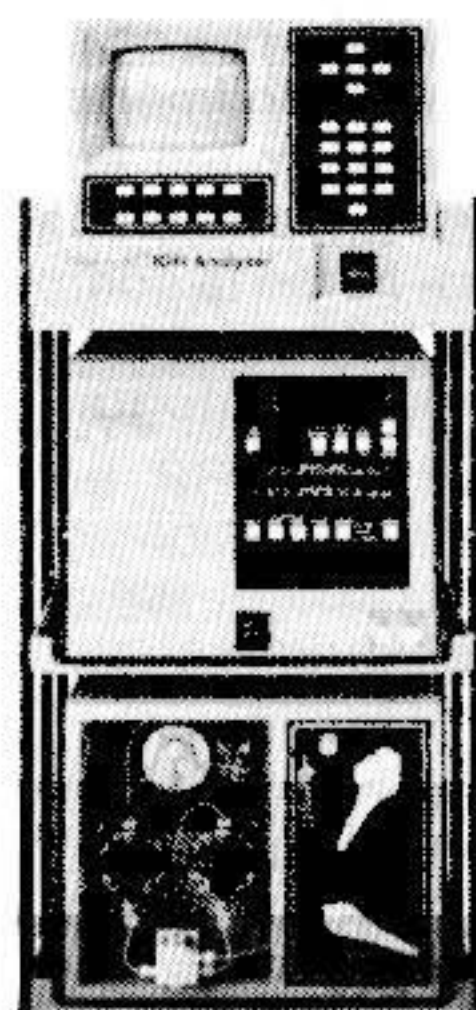
La División de Cromatografía Waters de Millipore Ibérica ha presentado recientemente un nuevo detector de fluorescencia para cromatografía líquida.

El modelo Waters 470 ofrece la posibilidad de efectuar espectros o barridos, tanto de emisión como de excitación, así como programar los parámetros de detección a lo largo del cromatograma. Esto facilita la determinación a alta sensibilidad, optimizando las condiciones de detección para cada componente de interés, tales como carbamatos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, vitaminas, aminoácidos, fármacos y polímeros.

El Waters 470 puede programar automáticamente las longitudes de onda en el rango 200-700 nm., ya sean de emisión o excitación, atenuación, funciones de ganancia y autocero.

Para mayor información o una demostración sobre este detector dirigirse a la oficina Waters más próxima.

NUEVO CROMATOGRÁFICO IÓNICO ANALIZADOR ACTION DE WATERS



La División de Cromatografía Waters (Millipore) ha presentado el nuevo cromatógrafo iónico inerte de alta presión y baja dispersión.

El nuevo analizador ACTION de Waters ha sido diseñado especialmente para aquellos laboratorios que requieren de un equipo inerte dedicado exclusivamente al análisis de aniones, cationes o metales de transición.

El sistema tiene un margen de flujos de 0,01-10,0 ml/min con una precisión del 1% y una presión máxima de trabajo de 4.000 psi con lavado automático de las juntas y émbolos de la bomba.

Este equipo incorpora, como parte fundamental, el Detector Conductimétrico Waters 431, con un diseño de la célula de 5 electrodos, autocontrol de temperatura, autocero y autorango.

El analizador ACTION de Waters incluye su propia pantalla CRT y control de todos los parámetros desde un sólo teclado. Esto incluye gradientes lineales o curvos, parámetros de detección, ya sea con o sin ordenador.

Una amplia gama de detectores es compatible con este cromatógrafo, incluyendo el detector de conductividad Waters 431, y detectores UV-Vis Waters 484 ó 490.

Los materiales poliméricos de que está fabricado permiten el uso continuado de tampones ácidos o alcalinos (ph=1-14), así como la compatibilidad con la mayoría de disolventes orgánicos usuales en cromatografía iónica y cromatografía líquida.

Para mayor información o una demostración sobre este cromatógrafo iónico dirigirse a la oficina Waters más próxima.

PROCESADOR AUTOMÁTICO DE MUESTRAS PARA HPLC WATERS ULTRA WISP 715



La División de Cromatografía Waters de Millipore Ibérica ha presentado recientemente el nuevo procesador/

inyector automático de muestras Ultra WISP 715.

El WISP 715 incluye las más altas prestaciones y el diseño más actualizado que debe reunir un procesador automático de muestras para HPLC. Como integrante de la familia WISP de Waters (conjuntamente con el inyector automático WISP 712 y el WISP 700 Satélite), el nuevo WISP 715 ofrece una completa y flexible capacidad de programación con menús y pantalla CRT.

El procesador WISP 715 incluye rutinas automatizadas para la adición de reactivos, patrones internos o derivatización. También puede utilizarse como sistema on-line para la preparación de muestras, siendo además compatible con las estaciones robotizadas para la preparación de muestras Waters Millilab IA.

El WISP 715 incluye un nuevo diseño fluídico que asegura gran precisión (0,5% D.S.) y exactitud en cualquier volumen de inyección.

Minimiza la contaminación entre las distintas muestras consecutivas. Proporciona una amplia gama de volúmenes de inyección desde 1 μ l hasta 2,0 ml. utilizando bandejas de 48 ó 96 viales de 4 ml o 1 ml respectivamente.

El nuevo WISP es compatible con el Sistema Powerline de intercomunicación de módulos cromatográficos, pudiéndose programar como módulo independiente, o controlado a través de un programador Waters.

Para mayor información o una demostración sobre este procesador automático dirigirse a la oficina Waters más próxima.

Millipore Ibérica, S.A.
Avda. Llano Castellano, 13, 3^a
28034 Madrid
Tel. (91) 729 03 00
Entenza, 28, entlo.
08015 Barcelona
Tel. (93) 325 96 16.

APORTACION DE LA BRIGHAM YOUNG UNIVERSITY A LA CROMATOLOGRAFIA CON FLUIDOS SUPERCRITICOS

El nombre de Lee Scientific y de la Brigham Young University ha quedado vinculado a este nuevo método analítico, a través de la patente U.S. núm. 4,479,380, que ha reivindicado la cromatografía capilar con fluidos en condiciones supercríticas. Una consecuencia práctica de este hecho estrictamente científico, ha sido la creación de Lee Scientific, que ha desarrollado una patente internacional para su "Porous Frit Restrictor" que, unido al trabajo con capilares, les da una posición predominante en esta técnica.

LA SERIE 600 LEE SCIENTIFIC

Las patentes aludidas se han desarrollado en un conjunto cromatográfico que merece ser descrito sumariamente.

1. El cromatógrafo Lee es un conjunto modular que incluye: bomba, estufa y unidades de control. Puede trabajar como un cromatógrafo para fluidos supercríticos (SFC), cromatógrafo de gas (GC), o independientemente como sistema alimentador (FDS) para SFC y/o extractor supercrítico (SFE).

2. La bomba tipo jeringa no pulsante, de 316 acero inoxidable y nitronics, está provista de una camisa refrigerada. Con un volumen de 150 ml, puede alcanzar 415 atmósferas a velocidades comprendidas entre 0,1 y 150 atm/min. Equipada con válvula selectora de línea, permite su llenado a partir de cualquier fuente de gas o líquido.

3. La estufa puede alojar columnas capilares o de relleno. Puede calentarse a velocidad de 1-50 °C/min y enfriar a más de 70 °C/min, con un límite en calefacción de 400 °C y una precisión de $\pm 0,25$ C.

4. La estufa incorpora en su parte superior alojamientos para detectores de todo tipo, y dispositivos de control neumáticos y de temperatura. También están previstas conexiones para U.V., FTIR y MS.

5. El sistema de inyección es activado neumáticamente (helio) con una válvula rotatoria que puede trabajar en menos de 20 msec en las modalidades "split", "timed-split" e inyección directa.

6. El módulo de control está constituido por un PC compatible, que incorpora un software secundario y que incluye la operación tanto en la modalidad SFC como GC, controla todos los parámetros deseados y recoge absolutamente toda la información, que puede ser representada a voluntad del operador. Puede almacenar hasta mil métodos de trabajo. Adicionalmente, el operador puede recuperar el control manual del sistema sin abortar el actualmente utilizado.

7. La seguridad de todo el sistema está cuidadosamente garantizada.

8. La serie Lee Scientific 600 obviamente puede trabajar como cromatógrafo capilar con fluidos supercríticos.

Laboratorio de Aplicación de Hucoa-Erlös, S.A.

EL ANALISIS DE LAS AGUAS MINERO-MEDICINALES

Aunque parezca extraño para un químico analista actual, el estudio de las aguas minero-medicinales ha tenido notable influencia en el desarrollo de las técnicas analíticas. Ya en 1784, L.B. Guyton de Morveau, en "Nouveaux Memoires de l'Academie de

Dijon", imponía la bureta para determinar el ácido mefítico (CO₂) en las aguas minerales. Nada menos que Berthollet, en 1789, publicaba los métodos para determinar volumétricamente los cloruros en las aguas.

Algo más tarde, aparece uno de los primeros trabajos sistemáticos de la química analítica "An essay on the analysis of mineral waters", escrito, no por un químico, sino por un abogado hidrólogo.

El interés suscitado en el siglo XVIII por el estudio de las aguas minerales, tiene en la actualidad extraordinario desarrollo, no sólo en la tipificación de las aguas minero-medicinales, sino en la calificación de un bien escaso como es el agua.

Limitando el problema a las aguas minero-medicinales, se hace necesario analizar una serie de aniones, normalmente, cloruro, sulfato, bicarbonato, fluoruro y nitrato, y de cationes, como sodio, potasio, calcio, magnesio y litio, mínimo indispensable para conocer las características del agua y deducir su posible utilización terapéutica.

Para valorar por métodos convencionales estos iones, se requieren técnicas diferentes, a veces tediosas. Será preciso el empleo de gravimetrías, volumetrías, quelatometrías, espectrofotometría, electrodos específicos y absorción atómica.

La necesaria conjunción de los resultados obtenidos por diferentes métodos analíticos, complica los análisis, ya que, cada método tiene su sensibilidad. Un sistema de análisis que utiliza un sólo método para todos los iones, haría más coherente y exacto el resultado.

Al mismo tiempo es conveniente hacer notar, que la ejecución de un análisis por los métodos convencionales, puede suponer unas 24 horas de trabajo.

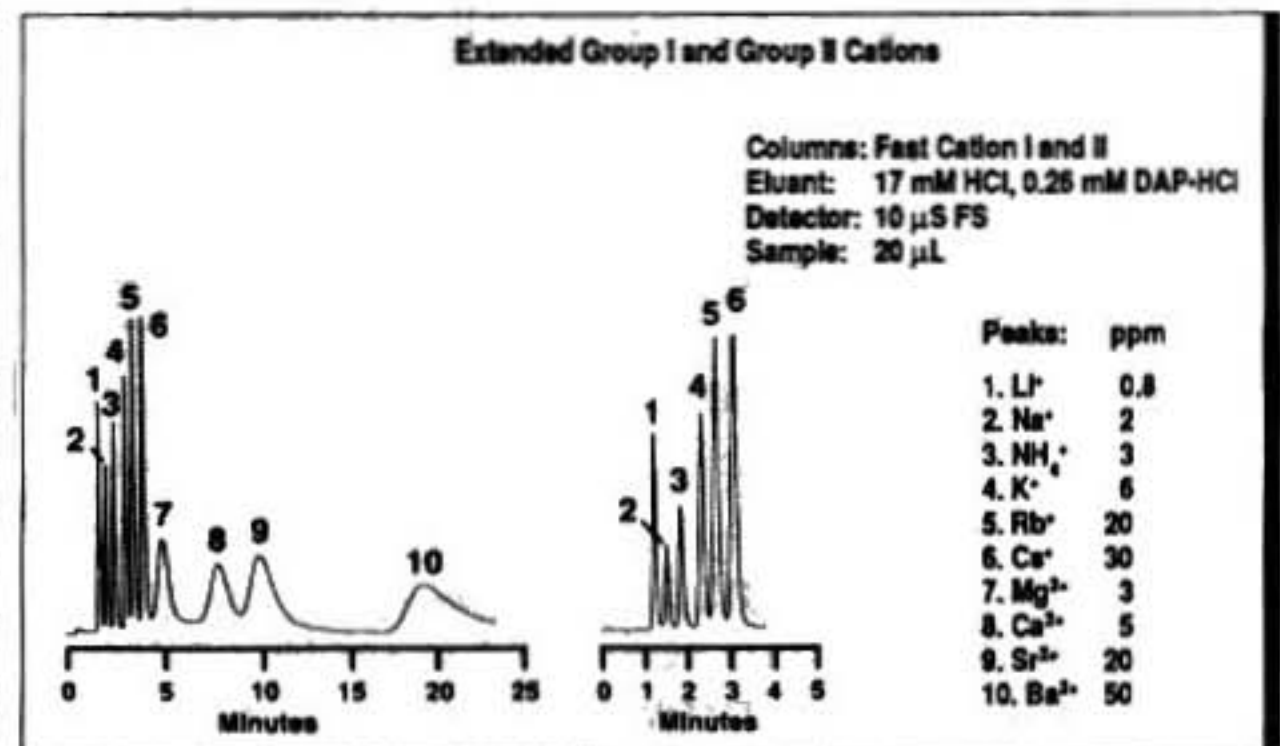
A tan laborioso proceso, la cromatografía iónica ha dado una respuesta no sólo elegante, sino de gran eficacia económica, al reducir el tiempo de análisis completo a minutos, sin práctica inversión en reactivos.

En un reciente trabajo presentado en el XXXI Congreso Internacional de Hidrología en Madrid, se ha demostrado la eficacia de la cromatografía iónica Dionex en el análisis de cinco aguas minero-medicinales:

- Font-Vella
- Fontenova
- Solan de Cabras
- Fontemilla
- Lanjarón

Un ejemplo de los cromatogramas y de la estricta equivalencia estequiométrica entre los aniones y los cationes se ofrece a continuación.

Tan cortos tiempos de análisis pueden mejorarse todavía con el uso de las columnas FAST de Dionex, que reducen un complicado análisis de diez cationes a menos de diez minutos.



(Resumen del trabajo presentado en el XXXI Congreso Internacional de Hidrología en Madrid, por el laboratorio de aplicaciones de Hucoa Erlöss, S.A.).

CHROMPACK



Avda. de América, 58
28028 Madrid
Tel. (91) 256 57 34

NUEVAS COLUMNAS DE CROMATOGRAFIA

Chrompack líder mundial en columnas cromatográficas, ha sacado sus nuevas columnas, que se unen a sus ya conocidas columnas Plot de alumina, tamiz molecular y de Poraplot.

Columna de sílice fundida resistentes a temperaturas de 450 °C

Esta columna, existente en las versiones capilar de 0,32 mm. y semicapilar de 0,53 mm. y de relleno polimérico, tiene como principal característica, el estar fabricada con un tubo de sílice fundida, que resiste altas temperaturas, por encima de los 325 °C a los que el recubrimiento de poliamida del tubo capilar convencional, se funde.

Esto es muy interesante, en el análisis de compuestos, que como las ceras y los aceites pesados, requieren altas temperaturas, para la separación de hidrocarburos de hasta 100 átomos de carbono, lo que significa hacer una destilación simulada tal como especifica la norma ASTM D-2887.

Columna capilar de 100 metros de Escalano

Por vez primera, se comercializa una columna capilar con escualano, conocida fase de polaridad cero que se usa para análisis de hidrocarburos.

En este caso la columna capilar de 0,25 mm. y 100 m., tiene una eficacia tal y una sensibilidad, que permite el análisis de más de 600 compuestos, con sus más de 280.000 platos garantizados. La lista con los índices de retención, de esos compuestos, se entrega con cada columna.

Análisis de adulteraciones de leche

Un tema de candente actualidad, es el de las adulteraciones de leche por lactosueros. Las proteínas del suero de leche están entre 14.000 y 1.000.000 daltons y son principalmente formadas por β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, etc. La adulteración se detecta por el análisis de glicomacropéptidos (GMP) con HPLC de filtración de gel, mediante nuestras columnas 450 CF de 25 × 9,4 mm. mientras que las proteínas de la leche se analizan con la columna Chrompack 8P 1000 de 500 × 4,6 mm.

Columnas de intercambio iónico para separaciones biomoleculares

Las nuevas columnas Hidrofase HP-PEI son de intercambio aniónico débil, análogas a las de la serie DEAE-PW de TSK, que también continúan en el catálogo. El polímero de las nuevas columnas, es un éster no saturado altamente hidrófilo y estable a pH de 2 a 12 pudiéndose usar cualquier tampón como solvente. Su eficacia es muy alta (30.000 platos/m) y su porosidad es de 500 angstroms que permite separar proteínas de hasta 500.000 daltons.



—Me dijeron que los cromatógrafos hacían muchos ruidos... en la línea de base.

Cromatografía y técnicas afines

(CTA), Boletín del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines de la Sociedad Española de Química, es un medio de comunicación entre los miembros del GCTA, los profesionales que trabajan en cromatografía y técnicas afines y las firmas de instrumentación del sector.

CTA consta de las siguientes secciones:

- Palabras del presidente del GCTA.
- Noticias del GCTA (actividades, publicaciones...).
- Novedades técnicas (sección de información de los nuevos productos de las empresas colaboradoras con el GCTA).
- Artículos científicos.
- Informaciones (congresos, reuniones, cursos y otros acontecimientos de interés).
- Libros.
- Correspondencia (preguntas y respuestas sobre problemas concretos de los lectores de CTA).

ARTICULOS CIENTIFICOS

Normas generales

CTA publica artículos relacionados con las técnicas de separación (cromatográficas, electroforéticas...), bien sobre investigación en las propias técnicas o de aplicación de las mismas.

Para publicar artículos en CTA **no** es imprescindible ser socio del GCTA.

El idioma de la revista es el castellano.

Los artículos pueden ser de los siguientes tipos:

- a) Trabajos originales de investigación.
- b) Revisiones bibliográficas.
- c) Artículos de divulgación.
- d) Series monográficas.

Los originales deberán enviarse por duplicado a uno de los editores de CTA. La extensión recomendada de los manuscritos es de 3 a 12 páginas, mecanografiadas a doble espacio, incluidas tablas, figuras y bibliografía. Los trabajos de investigación no deberán haberse publicado previamente.

Antes de supublicación todos los trabajos serán revisados por especialistas en el tema, quienes juzgarán la conveniencia de su publicación o propondrán a los autores las modificaciones oportunas.

Los artículos de los tipos b), c), d) tendrán formato libre. Los artículos del tipo a) se acogerán a las siguientes **normas**:

— Página primera. Título conciso que refleje el tema del trabajo. Nombre de los autores (inicial y apellido) con la dirección completa de cada uno de ellos. Resumen de 5 a 10 líneas.

— Páginas siguientes. El texto principal seguirá el formato tradicional: introducción, experimental, resultados y discusión, conclusiones y bibliografía.

— Nomenclatura. Los autores procurarán ajustarse a la nomenclatura recomendada por el GCTA, tal como ha sido publicada en boletines anteriores.

Referencias

Se citarán en el texto con números entre paréntesis. Las referencias completas se listarán, en el orden de aparición en el texto, en el apartado "bibliografía", según los siguientes ejemplos:

- (1) M.F. Mehran, W.J. Cooper, W. Jennings, HRC & CC 7 (1984) 215.
- (2) M.O. Andreae, "The Emission of Sulfur to the Remote Atmosphere: Background Paper" in The Biogeochemical Cycling of Sulfur and Nitrogen in the Remote Atmosphere (J.N. Galloway et al. Eds.) D. Reidel Publishing Co., Dordrecht, Holland (1985), p. 346.
- (3) D. Ambrose, "Gas Chromatography", Butterworks, London (1972), p. 234.

Tablas

Se enviarán en hojas separadas, con un breve encabezamiento y numeradas según el orden de aparición en el texto.

Figuras

Deberán poseer buena calidad para asegurar una correcta reproducción. Se enviarán en hojas separadas junto con un breve pie y numeradas por orden de aparición en el texto.

NOVEDADES TECNICAS

Las firmas colaboradoras con el GCTA disponen en cada número de un espacio gratuito para informar sobre las novedades de sus productos. La extensión máxima de los originales será de dos páginas mecanografiadas a doble espacio, incluidas gráficas y fotografías.

PUBLICIDAD

Cualquier firma puede publicar anuncios de sus productos, teniendo las empresas colaboradoras con el GCTA descuentos sobre las tarifas generales.

La adjudicación de los espacios destinados a publicidad se realizará, con validez de un año, por riguroso orden de petición

OTRAS SECCIONES

CTA agradecerá toda la información que reciba de sus lectores sobre asuntos de interés general en cromatografía y técnicas afines (cursos, conferencias, congresos, ofertas de trabajo, informes sobre el trabajo de grupos españoles y extranjeros, críticas de libros... o cualquier tipo de colaboración).

A su vez, CTA publicará, en la medida de lo posible, respuestas de especialistas a todas aquellas cuestiones concretas que formulen los lectores en relación con sus problemas en el laboratorio o con asuntos relacionados en general con la cromatografía y técnicas afines.

Para cualquier cuestión relacionada con CTA ponerse en contacto con:

— **Isabel Martínez Castro**

Instituto de Química Orgánica General, CSIC

Juan de la Cierva, 3 - 28006 Madrid. Tel. 262 29 00 (ext. 212)

— **Guillermo Reglero Rada**

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

Juan de la Cierva, 3 - 28006 Madrid. Tel. 262 29 00 (ext. 277).

K LA CROMATOGRAFIA

CONCENTRACION DE VOLATILES

- ESPACIO DE CABEZA
- DESORBCION TERMICA



ESPACIO DE CABEZA DINAMICO
ESPACIO DE CABEZA TERMICO
CONDENSADORES EN DISPOSITIVO SEPARADO
DESORBCION TERMICA

ORDENADORES KONIK®

TAMBIEN SOMOS COMPATIBLES...
...INCLUSO CON LA CROMATOGRAFIA!!

SOFTWARE ESPECIFICO PARA CROMATOGRAFIA



ARCHIVO DE CROMATOGRAMAS
REPRODUCIDO
COMPANION EN PANTALLA
EXPANSION
SUMA-RESTA

- MONOCANAL
- BICANAL
- MULTICANAL
- MODULARIDAD TOTAL
- MULTIPLES CONFIGURACIONES

KONIK KNK-500 HPLC UN NUEVO CONCEPTO DE MODULARIDAD

INTERFACIA
MANUAL
CABLES
MICROSOFT

SISTEMA DE
DISTRIBUCION

GRADIENTES
MILISEGUNDOS
TERMINADOS
CORRESPONDIDOS

COMPATIBILIDAD
DE SOLVENTES
TERMINADO



VERSIONES
— GRAN VOLUMEN
— PROGRAMADO CON SELECCION
DE PROGRAMAS
— GRADIENTES PROGRAMABLES

DETECTORES
— UV-VIS
— TIAO, SODIUM FLUORIDE
— UVIS PROGRAMABLES
— UNIDAD DE REFRACCION
— FLUORESCENCIA
— CONDUCTIVIDAD
— ELECTRODO IONICO
— FOTOMETRICO
— ESPECTROMETRIA DE MASA

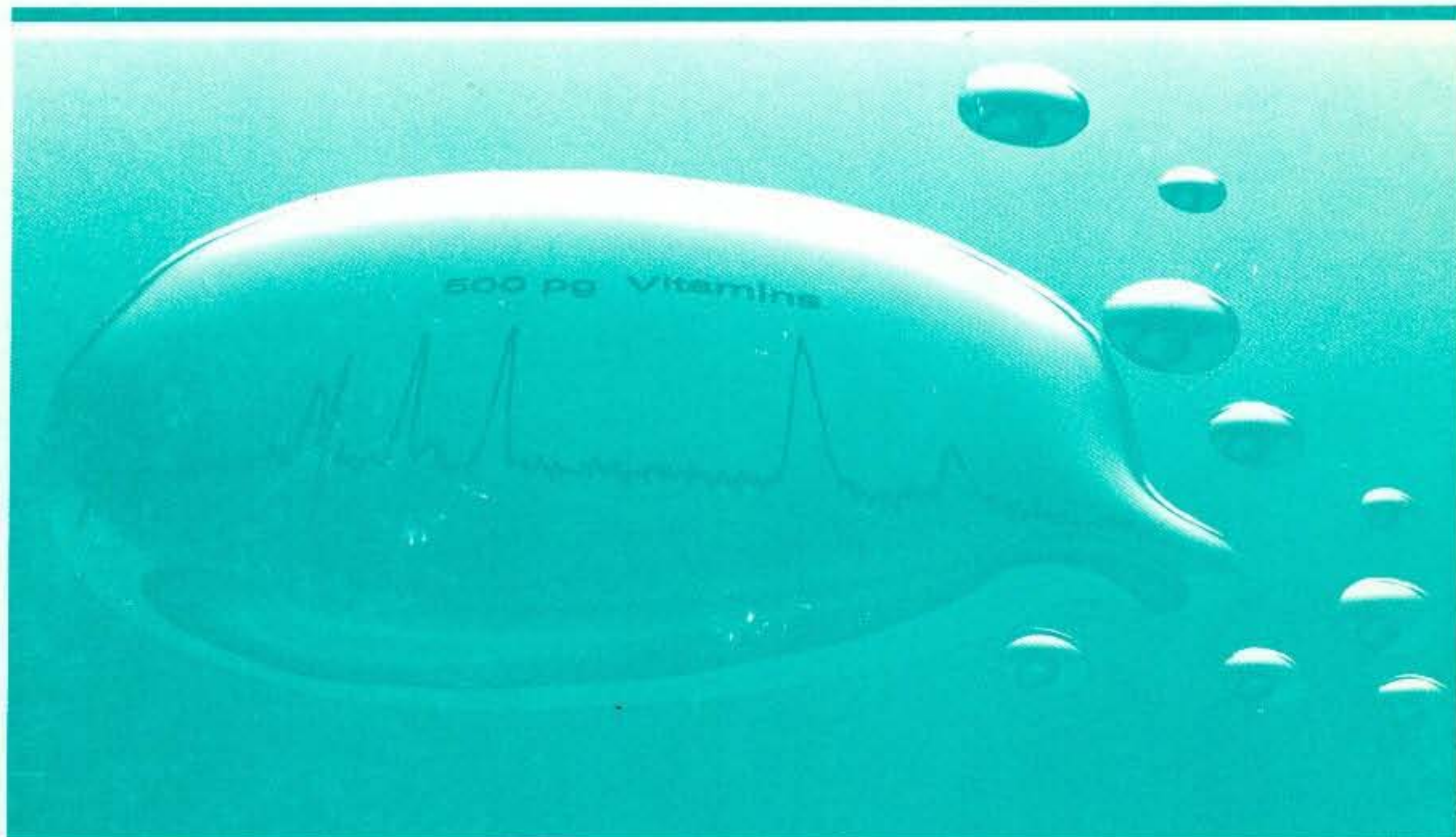
SOMOS
ESPECIALISTAS
¡¡¡CONSULTENOS!!

KONIK®
INSTRUMENTS, S.A.

28020 MADRID • Rosario Pino, 18
Tel. (91) 572 67 84 - Fax: 571 67 88

08190 SANT. CUGAT DEL VALLES (Barcelona)
Ctra. Cerdanyola, 65-67 • Tel. (93) 674 32 50
Télex: 59 199 • Apdo. 136 • Fax: 674 41 50

Nuevo Detector de Diodos de PERKIN-ELMER Modelo LC-235



Sensibilidad Excepcional
PERKIN-ELMER conjuga la sensibilidad de un ultravioleta de longitud de onda variable con las prestaciones de los de diodos. Sensibilidad cinco veces superior a la de cualquier otro detector de diodos existente.

De fácil manejo
El Modelo LC-235, no requiere ordenador como los otros detectores existentes. Sin necesidad de manejar códigos complejos. Se fija la longitud de onda, sensibilidad, información espectral solicitada y formato, todo lo demás se efectúa automáticamente. Las teclas y llamadas especiales, le hacen el detector de diodos de más fácil manejo existente hoy en día.

Prestaciones inmejorables
El LC-235 es el único detector que satisface todas sus necesidades y expectativas. Cromatogramas perfectamente señalizados, pureza automática para cada pico y espectros de alta calidad. Todo ello a niveles de trazas.

Rompiendo precios
El arte de la detección al alcance de cualquier presupuesto. Precio impactante, ni comparación con los detectores actuales. Por el precio de un buen detector de ultravioleta, ahora tiene las prestaciones del de diodos.

Por fin su técnica de detección unificada.

Estamos a su disposición para informarles.

Madrid. La Masó, 2
Tel.: (91) 734 04 00

Barcelona. General Vives, 25-27
Tel.: (93) 212 22 58

Sevilla. Avda. República Argentina, 39
Tel.: (954) 45 70 22

Bilbao. Avda. del Ejército, 11
Tel.: (94) 447 10 21

Valencia. Buen Orden, 11
Tel.: (96) 325 17 52

Zaragoza. Bolonia, 12
COMERCIAL RAFER, S.L.

Oviedo. Pedro Masaveu, 1
NEOQUIMIA

Santiago de Compostela, Fernando III el Santo, 12
HORTAS



PERKIN-ELMER