

Bol. inst. quim. univ. nal. autón. Méx., XVII, págs. 207-224 (1965).

DESARROLLO DE UN METODO PARA CALCULAR EL TIEMPO DE RETENCION Y EL ANCHO DE LOS PICOS CON COLUMNAS COMBINADAS EN LA CROMATOGRAFIA EN FASE VAPOR

M. J. Molina H. y A. Manjarrez*

Contribución No. 210 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido, octubre 5 de 1965.

En la cromatografía de partición en fase vapor, las separaciones se efectúan aprovechando diferencias en puntos de ebullición y en polaridades de los componentes de la mezcla por separar, por lo que es necesario seleccionar en cada caso el líquido de partición adecuado. Si existen diferencias químicas importantes, es poco probable que se encuentre un líquido de partición satisfactorio para separarlos a todos. El problema se ha resuelto combinando dos o más líquidos de partición mediante columnas dispuestas en serie o con empaques mezclados (1-6).

Desde hace varios años se han publicado métodos para la utilización de columnas combinadas (7-11) y algunas conclusiones son contradictorias. El objeto de este trabajo consiste en el desarrollo de un método para calcular el tiempo de retención y el ancho de los picos en este tipo de columnas.

La manera más adecuada para calcular el comportamiento de

* Tomado en parte de una tesis que presentó M. J. Molina H. a la Facultad de Química, para obtener el título de Ingeniero Químico.

los distintos tipos de columnas combinadas, de cualquier longitud, consiste en establecer un sistema de ecuaciones que relacione los tiempos de retención y el ancho de los picos con aquellos que se obtienen con columnas simples.

Tiempos de retención

Para efectuar el cálculo del tiempo de retención en las columnas combinadas es necesario tomar en consideración los siguientes factores:

1) El tiempo de retención en la columna combinada es igual a la suma de los tiempos de retención de las secciones que la forman,

$$t_{rc} = t_{r1} + t_{r2} \quad [1]$$

2) El tiempo de retención para una columna simple es inversamente proporcional a la velocidad media del gas eluyente, que se deduce a partir de la ecuación fundamental de la cromatografía (12),

$$t_r = \frac{L}{\bar{U}} (1 + K) \quad [2]$$

donde t_r está medido desde el principio del cromatograma; \bar{U} , es la velocidad media del gas eluyente; L , la longitud de la columna y K , el coeficiente de partición.

La presión total, dentro de los valores límites, no afecta al coeficiente de partición ni a la constante de proporcionalidad $L(1 + K)$.

3) La velocidad media está relacionada con la velocidad a la salida de la columna por la siguiente expresión (9).

$$\bar{U} = U_o \frac{3[(P_i/P_o)^2 - 1]}{2[(P_i/P_o)^3 - 1]} = U_o \cdot j \quad [3]$$

donde U_o , es la velocidad a la salida; P_i , la presión de entrada; P_o , la presión de salida y j , un factor de corrección por compresibilidad.

4) El tiempo de retención es directamente proporcional a la longitud, si la velocidad media permanece constante ($\bar{U} = \bar{U}'$). Esto se deduce de la ecuación [2] y aplicándola sucesivamente a dos columnas de longitud L y L' se obtiene,

$$t'_R = t_R \frac{L'}{L} \quad [4]$$

donde t_R y t'_R son los tiempos de retención en las columnas de longitudes L y L' .

5) La presión de una columna varía a lo largo de su longitud, de acuerdo con la siguiente ecuación (9),

$$P = \sqrt{P_o^2 + \frac{P_1^2 - P_o^2}{L} d} \quad [5]$$

en donde P , es la presión a la distancia d .

6) Si el flujo permanece constante, la velocidad media es inversamente proporcional a la presión media,

$$\bar{U} = \frac{RWT}{\rho A_s \bar{P}} \quad [6]$$

donde R , es la constante de los gases; ρ , la densidad; A_s , el área de la sección transversal; T , la temperatura absoluta y \bar{P} , la presión media.

A su vez, la presión media está relacionada con la presión de salida mediante la ecuación, [7] (9).

$$\bar{P} = \frac{P_o}{j} \quad [7]$$

Eliminando U de [2] y [6] se tiene,

$$t_R = \frac{L(1 + K)}{RWT} \bar{P} = C\bar{P} \quad [8]$$

$$\frac{A_s}{A_s}$$

Combinando [1], [4] y [8], queda,

$$t_{rc} = \frac{L'_A}{L_A} C_A \bar{P}_A + \frac{L'_B}{L_B} C_B \bar{P}_B \quad [9]$$

donde L'_A y L'_B son las longitudes de los tramos A y B de la columna combinada; L_A y L_B , las longitudes de las columnas individuales A y B, con las cuales se determinaron C_A y C_B , y \bar{P}_A y \bar{P}_B las presiones medias de los tramos A y B de la columna combinada.

Con esta expresión ya es posible predecir los tiempos de retención para cualquier arreglo en serie a partir de datos obtenidos con columnas individuales.

En la ecuación [9] se encuentran las relaciones de cada tramo de columna respecto a la longitud total de cada una de ellas. Esta expresión se puede escribir también en función de la relación de los pesos de los empaques,

$$t_{rc} = \frac{W'_A}{W_A} C_A \bar{P}_A + \frac{W'_B}{W_B} C_B \bar{P}_B \quad [10]$$

en la que W_A y W_B son los pesos de los empaques en las columnas A y B y W'_A y W'_B los pesos de los empaques en los tramos de la columna combinada. En el caso de las columnas empacadas con mezclas mecánicas y con líquidos de partición mezclados previamente, no se puede hablar de longitudes de tramo sino de la proporción de cada empaque en la mezcla y es lógico suponer que sea aplicable la misma ecuación [10].

Anchos de los picos.

La eficiencia de una columna aumenta en sentido inverso al ancho de los picos, y se calcula determinando el número de platos teóricos.

$$N = 16 \left(\frac{t_r}{\mu} \right)^2 \quad [11]$$

donde N, es el número de platos teóricos y μ el ancho del pico.

Para una primera aproximación se considerará que la caída de presión a lo largo de la columna no tiene ningún efecto; en este caso la altura equivalente a un plato teórico es constante,

$$\text{HETP} = \frac{L}{N} = \frac{L'}{N'} \quad [12]$$

donde HETP, es la altura equivalente a un plato teórico (high equivalent theoretical plate).

Combinando las ecuaciones [4], [11] y [12], se obtiene la siguiente relación,

$$\mu' = \mu \sqrt{\frac{N'}{N}} = \mu \sqrt{\frac{L'}{L}} \quad [13]$$

donde μ y μ' , son los anchos de los picos en columnas de longitudes L y L' para tiempos de retención t_R y t'_R y con N y N' platos teóricos.

Si se tiene una columna homogénea de largo ESQ, se puede considerar que el tramo ES equivale a N platos teóricos y que el tramo SQ a M platos teóricos. Por lo tanto, el total es $N + M$. Sustituyendo en la ecuación [13], en donde N' es $N + M$, se obtiene,

$$\mu_{N+M} = \mu_N \sqrt{1 + \frac{M}{N}} \quad [14]$$

donde μ_{N+M} es el ancho del pico con el tramo EQ y μ_N el ancho del pico con el tramo ES.

Si se considera ahora una columna formada por dos tramos distintos y en serie, con el tramo ES se obtendrá un ancho de pico μ_A y con el tramo SQ, uno de ancho μ_B . El número total de platos teóricos de estos tramos se puede calcular a partir de las ecuaciones

$$\frac{N_A}{E} \quad \frac{N_B}{S} \quad Q$$

[11] y [4] y al sustituir en [14] se obtiene la ecuación para los anchos de los picos,

$$\mu_c = \mu_A \sqrt{1 + \left(\frac{\mu_B}{\mu_A}\right)^2} \quad [15]$$

donde μ_c , es el ancho de los picos con la columna combinada y μ_A y μ_B los anchos de los picos con las columnas individuales A y B.

Combinando las expresiones [13] y [15] se tiene,

$$\mu_c = \sqrt{\frac{L'_A}{L_A} \mu_A^2 + \frac{L'_B}{L_B} \mu_B^2} \quad [16]$$

Esta ecuación sólo es válida si se cumple la teoría de los platos ideales; en los casos en que se obtengan picos muy asimétricos, probablemente sea de poca exactitud.

Para considerar el efecto de la caída de presión a lo largo de la columna, es conveniente partir de la ecuación de Van Deemeter (9), que establece la relación entre eficiencia y velocidad,

$$\text{HETP} = \frac{L}{N} = A + \frac{B}{U} + C_1 \bar{U} \quad [17]$$

donde A, B y C_1 son las constantes dependientes de la columna, temperatura, etc.

Tomando en consideración las gráficas de flujo contra eficiencia y el hecho de que normalmente se trabaja en la zona de flujo óptimo, se puede considerar que en la ecuación anterior la influencia de la velocidad en el segundo término no tiene importancia y se puede descartar.

Combinando la ecuación [17] simplificada, con la [8], se tiene,

$$\frac{1}{N} = \frac{A}{L} + \frac{\text{RWTC}_1}{L A_s} \frac{1}{P} = \alpha + \beta \frac{1}{\bar{P}} \quad [18]$$

De acuerdo con esta expresión se puede suponer que dos columnas con el mismo empaque, pero de distintas longitudes, tendrán la misma eficiencia si la relación de sus presiones medias y flujos son semejantes. Por lo tanto, si en la ecuación [13] así como en la [16] se toma la presión media para calcular el ancho de los picos, se obtendrán datos que concuerdan mejor con los obtenidos experimentalmente.

Con las ecuaciones [16] y [18] se puede calcular el ancho de los picos que se obtienen con dos columnas diferentes para una secuencia dada, tomando en cuenta la presión media y el tiempo de retención. Las constantes de la ecuación [11] se determinan experimentalmente y si se cuenta con los valores de la ecuación de Van Deemeter (9), se pueden obtener valores aún más exactos en las ecuaciones [16] y [17].

Para la experimentación se escogieron dos pares de compuestos muy diferentes entre sí, como son los hidrocarburos hexano y heptano respecto a los alcoholes metanol y etanol. Como líquidos de partición se usaron Apiezon L, que es una mezcla de hidrocarburos de alto peso molecular que resuelve satisfactoriamente el primer par de compuestos y Carbowax 400, que es un polietilenglicol que resuelve eficazmente el segundo par (12). Además, para poder comprobar todas las ecuaciones, las columnas se construyeron de manera que la caída de presión fuera apreciable.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos. Se usó un cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo 820* con detectores de conductividad térmica y un registrador Leeds and Northrup, modelo Speedomax H (escala 0.1 mv). La velocidad del papel registrador fue 1.25 cm/min. Se utilizó helio como gas eluyente determinando el flujo y las presiones bajo las siguientes condiciones.

a) Manteniendo un flujo constante a la salida de la columna, que se medía por el método de la burbuja, aumentando la presión

* Donado por The Perkin-Elmer Corporation.

de entrada y de salida mediante una válvula colocada entre los detectores y el medidor de burbuja.

b) Variando la presión de entrada y midiendo el flujo a la salida de la columna a presión atmosférica.

Las siguientes condiciones se mantuvieron constantes: corriente en los filamentos de los detectores, 200 ma; temperatura de la columna 52°, de los detectores 154° y del inyector, 85°.

Se inyectó 1 μ l de una mezcla de hexano, heptano, metanol y etanol (4:4:5:5 en volumen) con una jeringa Beckman, modelo 25400 con aguja de 3 cm. Los valores reportados son promedios de varias determinaciones.

Columnas. Se usó tubo de cobre de 4.75 mm de diámetro (3/16") y se prepararon los siguientes empaques por el método de Blanco y Manjarrez (13): a) Apiezon L al 30% (en peso) en Chromosorb W 60/80, b) Carbowax 400 en igual proporción en el mismo soporte, c) La mezcla mecánica de los empaques (a) y (b) en relación 1 a 3 y d) Apiezon L y Carbowax 400, en relación 1 a 3 disueltos en cloroformo y depositados en el mismo soporte inerte al 30%.

Los tubos de cobre se llenaron con un vibrador y vacío (13) insertando lana de vidrio en los extremos. Se prepararon las siguientes columnas con 3.175 g de empaque por metro: Columna A, 2 m con empaque (a); B, 2 m con empaque (b); C, 0.5 m con empaque (a) y 1.5 m con empaque (b); D, 2 m con empaque (c) y E, 2 m con empaque (d).

La presión de entrada (P_i) en las columnas A, B, C_{ab}, C_{ba}, D y E fue de 27 lb/pulgada² y la de las columnas AB y BA de 42 lb/pulgada².

Los tiempos de retención (t_r), se midieron desde el momento de la inyección de la muestra y los anchos de los picos mediante la distancia incluida por las tangentes de inflexión al proyectarlas en la línea base; ambos están reportados en mm (1 mm equivale a 4.8 seg.).

El primer conjunto de experimentos se hizo con objeto de comprobar la ecuación [8] para distintas presiones medias y los resultados aparecen en la fig. 1.

En las figs. 2 y 3 aparecen, en el lado derecho los t_r que se obtienen con cada una de las columnas de 2 m de largo. Uniendo

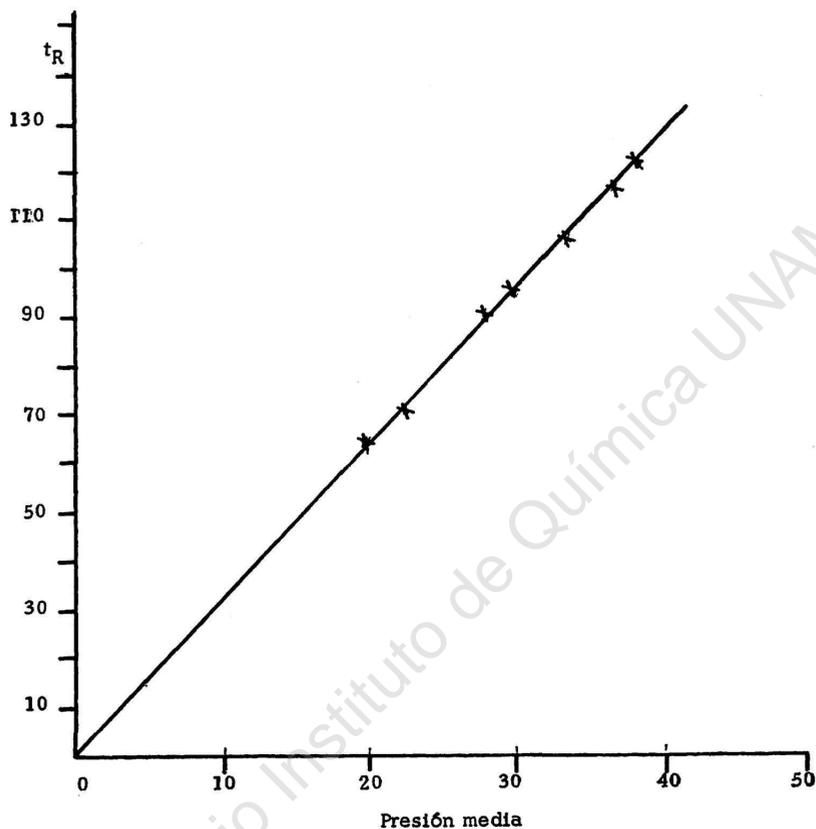


Fig. 1.—Tiempos de retención del hexano en la columna A, manteniendo el flujo constante y variando la presión media.

cada uno de estos puntos con el tiempo 0, se tienen líneas que deberían de dar el t_R de cada uno de los componentes de la mezcla en distintas longitudes de la columna. Sin embargo, si se calcula el t_R para cada fracción de columna por medio de la ecuación [9], se ve que no siguen la línea recta y esto se explica fácilmente considerando que la presión media varía para cada fracción de columna.

En la gráfica 4 se han unido los t_R de cada uno de los componentes de la mezcla colocando a la izquierda los de la columna B

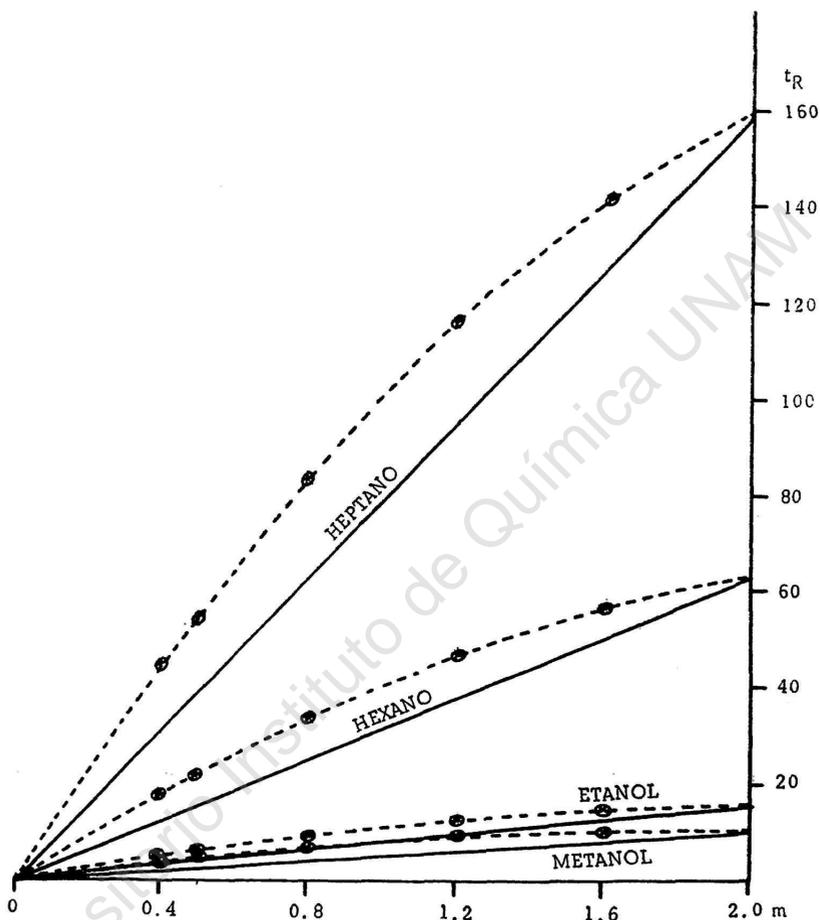


Fig. 2.—Tiempos de retención en la columna A. Los t_R calculados para los distintos tramos (líneas punteadas) no coinciden con las líneas rectas.

y a la derecha los de la A. Se ha demostrado que los t_R no siguen una línea recta, y haciendo los cálculos respectivos para la secuencia ab se obtienen las líneas punteadas. De ellas se ve que las longitudes aproximadas de cada una de las columnas que se requerirían para obtener la mejor separación, están entre 20 y 30% de A

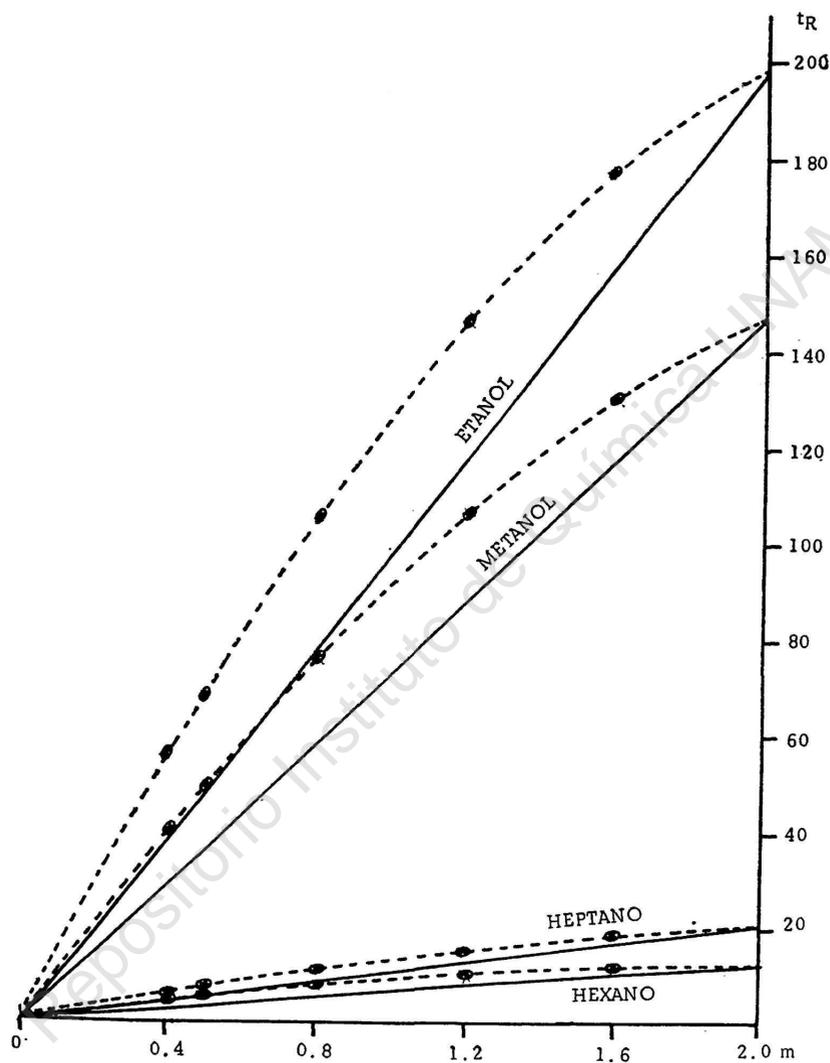


Fig. 3.—Tiempos de retención en la columna B.

y el complemento de B. Al emplear la columna C_{ab} con 50 cm de a y 1.50 m de b se obtienen los valores que aparecen en la Tabla I,

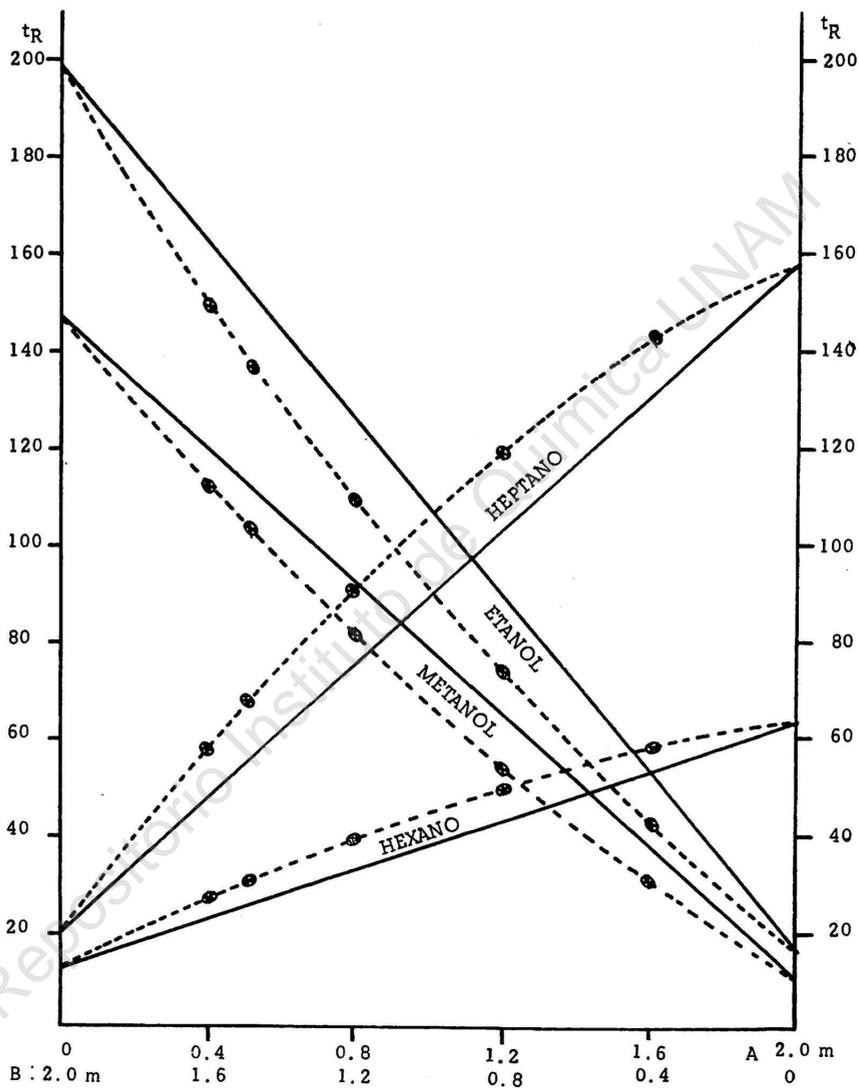


Fig. 4.—Tiempos de retención para una columna combinada C_{ab} . Calculando los t_r parciales y sumándolos se obtienen las líneas punteadas.

TABLA I

Tiempos de retención para la columna C_{ab}.

	t_R 25% A (50 cm)	t_R 75% B (1.50 m)	t_R total	t_R encontrado
Hexano	21.2	8.3	29.5	30.0
Heptano	53.0	13.2	66.2	68.5
Metanol	3.4	102.2	105.6	103.5
Etanol	5.0	138.2	143.2	140.0

y para la columna C_{ba}, los que aparecen en la Tabla II.

TABLA II

Tiempos de retención para la columna C_{ba}.

	t_R 75% B (1.50 m)	t_R 25% A (50 cm)	t_R total	t_R encontrado
Hexano	12.0	14.6	26.6	26.5
Heptano	19.1	36.5	55.6	54.0
Metanol	148.0	2.3	150.3	142.0
Etanol	200.2	3.5	203.7	192.5

Con las columnas de empaques mezclados D y E, se debería esperar t_R equivalentes al valor que se obtiene de las rectas de la fig. 4, y los resultados obtenidos concuerdan bastante bien para la columna D, pero en la columna E, los valores encontrados para los alcoholes difieren un poco de los calculados (Tabla III).

TABLA III

Tiempos de retención de columnas con empaques mezclados.

	Calculado de la fig. 4	Encontrado columna D	Encontrado columna E
Hexano	24	24.8	25.3
Heptano	55	55	55.5
Metanol	113	112	104.5
Etanol	153	153.3	138.5

Finalmente, era interesante ver el comportamiento de las columnas A y B cuando se unieran, considerando que se trata entonces de una columna de 4 m de longitud.

Los t_r de la columna que queda al final deben coincidir con los valores obtenidos para esa columna, pero los de la primera van a variar porque la presión media es considerablemente más alta (Tablas IV y V).

TABLA IV

Tiempos de retención para la columna AB.

	t_r columna A	t_r columna B	t_r columna AB	t_r encon- trado
Hexano	116	12	128	120
Heptano	293	20	313	294
Metanol	18	147	165	168
Etanol	28	198	226	227

TABLA V

Tiempos de retención para la columna BA.

	t_r columna B	t_r columna A	t_r columna BA	t_r encon- trado
Hexano	20	62	82	87
Heptano	32	157	189	207
Metanol	246	10	256	250
Etanol	327	15	342	334

Calculando los anchos de los picos con la ecuación [16] para las columnas combinadas de 2m C_{ab} y C_{ba} se obtienen los datos que aparecen en la Tabla VI.

TABLA VI

Ancho de los picos

	<i>Calculado</i>	<i>Columna C_{ab} encontrado</i>	<i>Columna C_{ba} encontrado</i>
Hexano	6.5	7.7	5.7
Heptano	13.0	14.8	10.7
Metanol	13.0	12.9	12.7
Etanol	16.2	15.2	16.3

y en las de empaques mezclados D y E y las combinadas en 4 metros AB y BA, las que aparecen en la Tabla VII.

TABLA VII

Ancho de los picos

	<i>Columna D</i>		<i>Columna E</i>		<i>Columna AB</i>		<i>Columna BA</i>	
	<i>Calc.</i>	<i>Enc.</i>	<i>Enc.</i>	<i>Calc.</i>	<i>Enc.</i>	<i>Calc.</i>	<i>Enc.</i>	
Hexano	6.5	6.0	5.2	13.5	17.5	12.4	14.0	
Heptano	13.0	11.2	9.5	31.7	36.0	25.8	30.5	
Metanol	13.0	12.5	13.7	16.5	20.3	16.5	20.6	
Etanol	16.2	15.2	16.5	20.8	21.5	20.8	27.0	

Combinando los tiempos de retención y los anchos de los picos, se obtienen las gráficas que aparecen en las figuras 5, 6, 7 y 8.

CONCLUSIONES

Conociendo los tiempos de retención y los anchos de los picos en dos columnas distintas, las presiones inicial y final y el flujo, es posible calcular la separación más razonable para una columna combinada, así como los tiempos de retención y el ancho de los picos

que se deben esperar con ella. De los mismos datos, se puede hacer una columna con empaques mezclados.

Para determinar la longitud de cada uno de los tramos con los que se obtendría una separación total en el tiempo mínimo, se propone el siguiente método de cálculo:

a) Por medio de columnas individuales de longitudes iguales se determinan los t_R de los distintos componentes por separar y los datos obtenidos se grafican como se muestra en la Fig. 4.

b) Por medio de las ecuaciones [9] ó [10] se calculan los t_R de todos los componentes para las distintas proporciones de columnas en una determinada secuencia y se escoge aquella proporción en la cual los t_R estén lo más alejados entre sí (fig. 4).

c) Por medio de la ecuación [16] se determinan los anchos de los picos y se comprueba la eficiencia de la separación por medio de la ecuación de Jones y Kieselbach (14).

Los resultados obtenidos prácticamente concuerdan con los datos calculados como se muestra en las figuras 5, 6, 7 y 8.

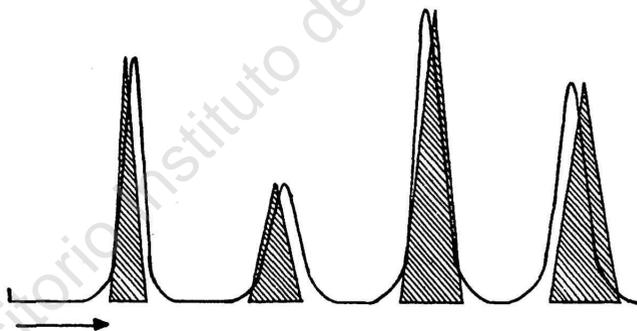


Fig. 5.—Tiempos de retención y anchos de los picos en la columna C_{n^h} (Apiezon a la entrada). Calculados (rayado) y encontrados (blanco). Secuencia, hexano, heptano, metanol y etanol.

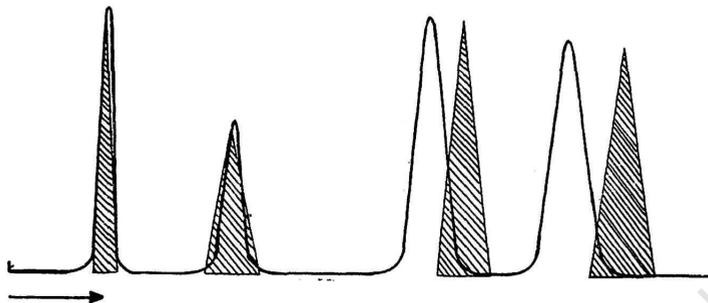


Fig. 6.—Tiempos de retención y anchos de los picos en la columna C_{ba} (Apiezoñ a la salida). Calculados (rayado) y encontrados (blanco). Secuencia, hexano, metanol y etanol.

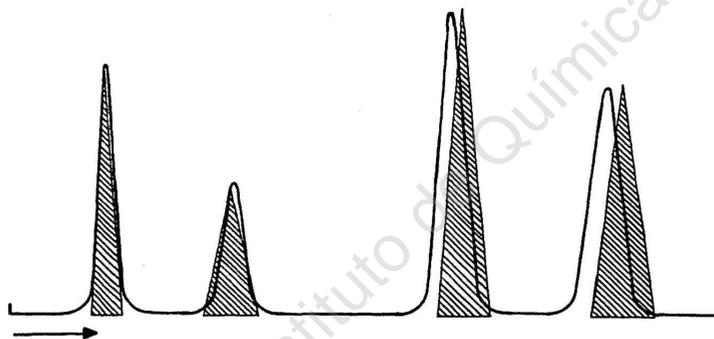


Fig. 7.—Tiempos de retención y anchos de los picos en la columna D. Calculados (rayado) y encontrados (blanco). Secuencia, hexano, heptano, metanol y etanol.

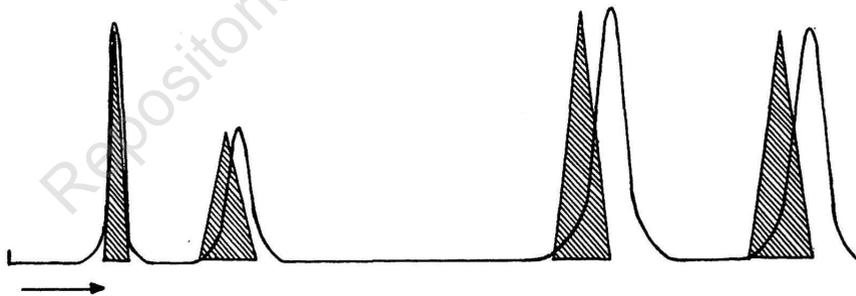


Fig. 8.—Tiempos de retención y anchos de los picos en la columna E. Calculados (rayado) y encontrados (blanco). Secuencia, hexano, heptano, metanol y etanol.

ABSTRACT

Two systems of vapor phase partition chromatography are compared; (a) two columns in series, one containing 30% Apiezon L on chromosorb W 60/80 and the other containing 30% Carbowax 400 in the same support and (b) one column containing an intimate mixture of both packings. The objective of this study is to establish a theoretical basis for predicting separation efficiencies. Equations are derived for calculation of the retention times and peak widths for the columns in series. In calculating retention times for the single column with a mixture of the packings, the most important factor to be considered apparently, is the proportions of the constituents. In calculating the peak widths for the components of a sample, if the carrier gas flow rate and average pressure are maintained at the same levels, the length of the column is without influence.

BIBLIOGRAFIA

1. E. M. Fredericks, F. R. Brooks. *Anal. Chem.*, **28**, 297 (1956).
2. W. H. McFadden. *Anal. Chem.*, **30**, 479 (1958).
3. J. A. Barnard, H. W. D. Hughes. *Nature*, **250**, 283 (1959).
4. M. Singliar, A. Bobak J. Brida, L. Lukacovic. *Z. Anal. Chem.*, **177**, 161 (1960).
5. E. Haahti, J. A. Van den Heuvel, E. C. Horning. *Anal Biochem.*, **2**, 344 (1961)
6. H. Purnell, *Gas Chromatography*, pág. 364. John Wiley and Sons, Inc. New York, (1962).
7. G. R. Primavesi, *Nature*, **184**, 2010 (1959).
8. L. Rohrschneider. *Z. Anal. Chem.*, **170**, 256 (1959).
9. S. Dal Nogare, R. S. Juvet. *Gas-liquid Chromatography*, págs. 25, 70, 75, 88 y 227. Interscience Publishers, Inc. New York, (1962).
10. A. Waksmundzki, E. Soczewinski, *Z. Suprynowicz. Czech. Chem. Commun.*, **27**, 2001 (1962).
11. M. S. Vigdergauz, K. A. Gol'bert. *Neftekhimya*, **2**, 852 (1962), *cf. C. A.*, **58**, 11933 c (1964).
12. T. R. Lynn. *Guide to stationary Phases for Gas Chromatography*, págs. 4 y 23. Analabs, Inc. Hamden Conn., (1963).
13. A. Blanco, A. Manjarrez. *Este Boletín XV*, 31 (1963).
14. W. L. Jones, R. Kieselbach. *Anal. Chem.*, **30**, 1950 (1958).