

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.

En este proceso la señal es proporcional a la concentración del analito de la muestra.

- **Cromatografía**

- Proceso previo a la espectroscopía en el que se separan los analitos.
- **Cromatografía de gases** para compuestos volátiles o semivolátiles, en la que solo reaccionan el analito y la fase estacionaria.
 - Inyector que volatiliza la muestra que contiene.
 - Split que diluye la muestra, por lo que se usa con muestras de gran volumen, ya que en relación al volumen de la muestra entra una pequeña porción de esta, por lo tanto una pequeña porción de analitos que generan una señal muy pequeña en relación con la cantidad de muestra utilizada.
 - Es poco sensible.
 - Splitless trabaja con toda la muestra, reconcentrándola todavía más al trabajar con una temperatura menor a la de ebullición del componente más volátil de la muestra y eliminando el disolvente
 - Es muy sensible.
 - LVI-PTV que trabaja con inyecciones múltiples.
 - Volumen del inyector es directamente proporcional a la señal, que varía entre 0,1 y 4 μ L.
 - Fase móvil: dependiendo de sus características se conseguirá una mejor o peor definición de los puntos.
 - Tiene que ser un gas inerte, como He, N₂ y H₂, de los cuales es mejor el hidrógeno ya que tiene una menor altura de plato (menor distancia entre interacciones) y por ello mayor número de platos teóricos (mayor número de interacciones).
 - Lo ideal es una baja velocidad (bajo flujo) para que se den más interacciones del analito con la FE, es decir, para que haya mayor tiempo de retención y así unos picos de la señal mejor definidos (más estrechos).
 - La columna ideal para que se den el mayor número de interacciones y con ello obtengamos una mayor separación temporal de los analitos, ya que aumenta se consigue el mayor tiempo de retención:

- lo más larga posible.
- un diámetro interior estrecho.
- Fase estacionaria capilar y gruesa.
- Horno.
 - Controlar la temperatura para regular la separación según la T^a de ebullición de cada analito.
 - Cuanto menor aumento de la T^a por minuto, mejor será la separación de los analitos porque empezaran a evaporarse con mayor tiempo de diferencia, entonces tendremos una mayor precisión.
- Detector de la señal.
 - FID: por llama que detecta moléculas con enlaces C-C o C-H, cuantificándolos a concentraciones de ppm.
 - ECD: captura electrónica de compuestos halogenados, cuantificándolos a concentraciones de ppm y ppb.
 - De masas cuantifica y cualifica a concentraciones de ppm y ppb y tiene un espectro de masas específico para cada analito.
 - Mediante SCAN: mide todas las masas y determina las más representativas, que suelen ser las más abundantes. (CUALIFICA hasta ppm).
 - Mediante SIM: es más sensible y da más detalles de cada analito. (CUANTIFICA hasta ppb).
 - Se utiliza siempre primero el SCAN para identificar nuestros analitos y después el SIM para cuantificarlos obteniendo una mayor sensibilidad.
- **Cromatografía de líquidos**, es decir, compuestos semi volátiles y no volátiles.
 - Reaccionan el analito, la fase estacionaria y la fase móvil entre ellos.
 - Fase móvil.
 - Fase normal: se usan dos disolventes miscibles y débiles introducidos mediante una bomba binaria (impulsor con dos recipientes que contienen cada uno un disolvente) para compuestos muy polares.
 - Un disolvente es débil cuando es de la polaridad contraria al analito pero de baja intensidad dentro de esa polaridad.

- Fase reversa: se usan varios disolventes sucesivos empezando por el más débil y acabando por el más fuerte, impulsados por una bomba cuaternaria (impulsor con cuatro disolventes) o binaria (dependiendo de cuantos disolventes usemos).
 - Un disolvente fuerte es aquel que es de misma polaridad que el analito y de mucha intensidad dentro de esa polaridad.
- Velocidad baja para aumentar las interacciones, y con ello la separación de los analitos y el tiempo de retención, provocando unos picos más finos en la señal. También para que no aumente el pKa.
- Isocrática, es decir, con la misma fase móvil, de forma que no nos separaría muy bien los diferentes analitos.
- Trabajar en gradiente, cambiando paulatinamente la FM de débil a medio fuerte para conseguir una mejor separación.
- $\text{pH} < \text{pK}_a$ para tener una única especie y que no convivan las dos del equilibrio $\text{R-OH} \rightleftharpoons \text{R-O} + \text{H}$, es decir, tener el analito en estado neutro.
- Para controlar la viscosidad se aumenta muy poco la T^a (hasta 25-31) y luego se mantiene constante.
- Fase estacionaria.
 - En la fase normal utilizamos una fase estacionaria polar y en la fase reversa utilizamos una fase estacionaria apolar.
 - Larga, con partículas pequeñas y poros finos para conseguir mayores interacciones, y así mejor separación de los analitos debido a un mayor tiempo de retención, desembocando en unos picos de la señal más finos.
- Mucho volúmen para una mayor señal, siendo así más sensible el proceso.
- Detector de masas más sensible que el resto.
 - Ionización ESI → polar.
 - Ionización APCI → no polar.
 - Ionización APPI → muy no polar.
- Detector espectroscópico de luz fluorescente: detecta los espectros de luz que se emiten por la muestra y los que son absorbidos, siendo un detector cualitativo y más sensible que el de ultravioleta-visible.
- Detector espectroscópico de espectro ultravioleta-visible: detecta los compuestos que absorben la luz y es un método cuantitativo.

- Espectroscopía

- Exposición de las muestras a diferentes longitudes de onda para conseguir una señal.
 - Esto se usa cuando no hace falta espectroscopía, que es casi nunca, es decir, no va a entrar.
- Molecular: nos informa de como se organizan espacialmente los átomos.
 - Ultravioleta-Visible de muestras líquidas: mide la cantidad de radiación absorbida en función de la cantidad de analito en la muestra mediante un espectrofotómetro, por lo que es una medición cualitativa y cuantitativa.
 - Lámpara policromática que emite diferentes longitudes de onda, usando wolframio para la luz visible y deuterio para la ultravioleta, que produce una excitación de los electrones de valencia.
 - Monocromador para elegir la longitud de onda que necesitamos.
 - Cubeta con mi analito que puede ser de plástico o vidrio para emplear longitud de onda visible o de cuarzo para utilizar ultravioleta-visible, porque el plástico y el vidrio absorbe la luz ultravioleta.
 - Suelen ser de 1cm de grosor para obtener una señal de mayor sensibilidad.
 - El sistema óptico recibe la luz que no fue absorbida.
 - El detector es un fotodiodo que convierte la radiación en corriente eléctrica y, mediante el transductor de salida, determina la señal.
 - Se programa para emitir una longitud de onda determinada y hacer una comparación de la cantidad de luz recibida y emitida para determinar la absorvancia y con ella la concentración del analito.
 - Puede generar efecto matriz, es decir, que otras partículas de la muestra que son parte de la matriz absorban la misma longitud de onda que el analito.
 - Infrarrojos para muestras sólidas, líquidas o gaseosas.
 - Los compuestos a estudiar son grupos moleculares de algunas sustancias.

martes, 12 de noviembre de 2019

- Lámpara nerst que emite la luz que provoca una vibración en los enlaces de nuestras moléculas, de forma que absorben esa longitud de onda específica.
 - Monocromador que desvía hacia la muestra un único y estrecho espectro de luz, lo que convierte el análisis en cualitativo.
 - El espectrómetro refleja los datos de la absorbancia de las muestras, con la cual y mediante una recta de calibrado, determinaremos la concentración.
 - Es un método cuantitativo y cualitativo.
- Atómica.
- Espectroscopía de Absorción Atómica: la luz es absorbida por los átomos, de forma que sus electrones se excitan hasta un nivel orbital superior alcanzando el estado fundamental.
 - Lámpara de cátodo hueco, que es específica según el analito, emite la luz monocromática, intensa y estable que va a ser captada por los átomos de interés presentes en la llama.
 - Monocromadores: su función es seleccionar la línea de absorción, separándolas de las otras líneas de emisión emitidas por el cátodo hueco.
 - Nebulizador por el que pasa la muestra y se convierte en gotas pequeñas suspendidas en el aire, lo que facilita la atomización.
 - La muestra nebulizada pasa a la llama (de acetileno la mayoría de las veces) en la que se atomizan las moléculas para que los átomos de interés absorban la luz y generen una señal.
 - Detector: miden la intensidad de la longitud de onda absorbida antes y después de la absorción.
 - La señal será mayor según la concentración del elemento puesto en estudio, de forma que este método es cuantitativo y cualitativo.
 - Identifica metales y tiene un rango de medida desde ppm a ppb
 - Espectroscopía de Emisión Atómica: los átomos reflejan la luz a la que son expuestos, de forma que los electrones bajan a un nivel orbital inferior y así alcanzar el estado fundamental.
 - Nebulización de la muestra.
 - Llama de plasma/argón a unas temperaturas muy elevadas, a las cuales la muestra se atomiza y se ioniza.
 - La señal es captada por un detector que puede ser de dos tipos diferentes:

- Óptico que detecta la longitud de onda emitidas, siendo específicas para cada analito, para poder cuantificar y cualificar cada señal a concentraciones de ppm y ppb.
- De masas que concreta las masas del analito, que al ser específicas, se puede cuantificar y cualificar a concentraciones de ppm y ppt.

DIFERENCIAS ENTRE ESPECTROSCOPIAS.	
Atómica para metales porque son átomos	Molecular para orgánicos.
Emisión más sensible	Absorción con muchas lámparas, una para cada analito.
Aire - infrarrojo	UV/VIS-líquidas

- Algo importante de tratamiento de datos.

- Calibrado externo solo tiene en cuenta la señal y la concentración, es decir, nada importante.
- Calibrado con estándares internos tiene en cuenta las interferencias, es decir, minimiza las interferencias.
- Calibrado con adiciones estándar tiene en cuenta el efecto matriz, es decir, minimiza el efecto matriz.