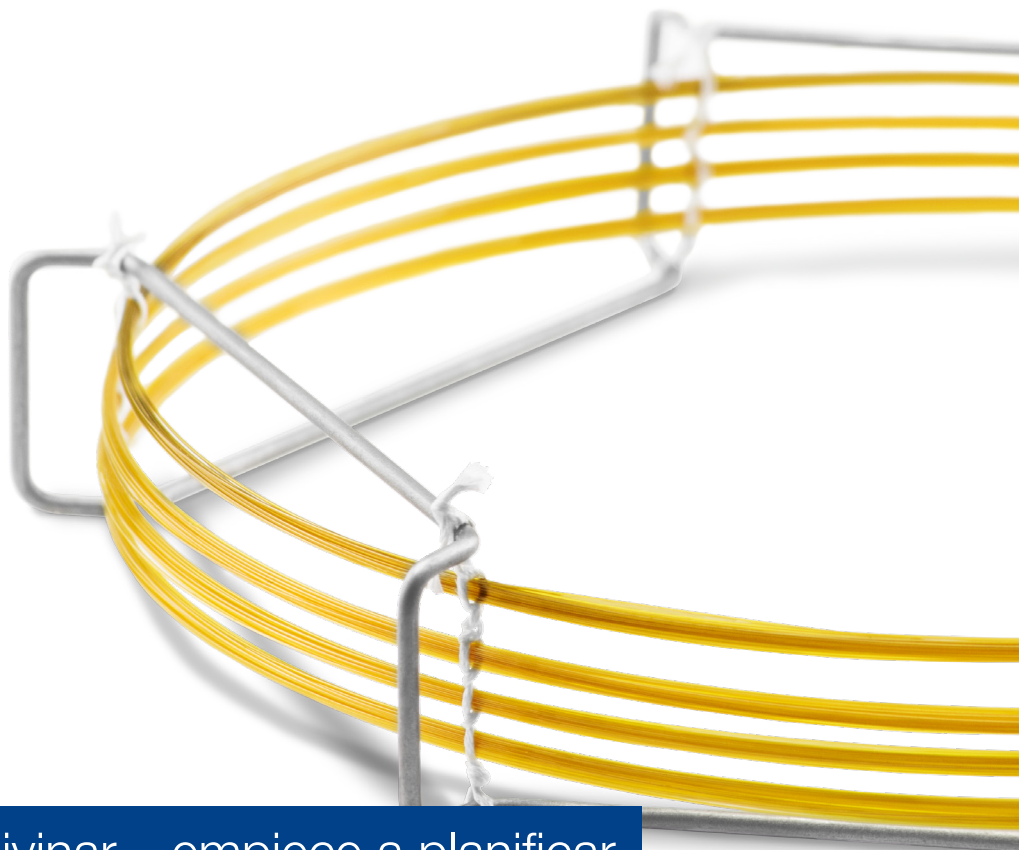


MACHEREY-NAGEL

# Cromatografía de gases quirales

Cromatografía



Deje de adivinar – empiece a planificar

- Fases de ciclodextrina LIPODEX® e HYDRODEX® para un alto reconocimiento enantiomérico

**MACHEREY-NAGEL**

[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)



### MACHEREY-NAGEL – pionero en cromatografía de gases quiral

La cromatografía quiral ocupa un lugar cada vez más importante en la química analítica moderna. Mientras que los productos farmacéuticos se separan principalmente mediante HPLC quiral, los aromas y otros compuestos volátiles se analizan mediante cromatografía de gases enantiomérica. En la década de 1960, fue el profesor E. Gil-Av quien logró por primera vez separar los ésteres de aminoácidos L y D utilizando fases estacionarias quirales.

En 1977, H. Frank, G. Nicholson y E. Bayer desarrollaron Chirasil-VAL, la primera fase estacionaria quiral unida a polisiloxano. Este avance en cuanto a la estabilidad térmica (más de 200 °C) y a la selectividad enantiomérica hizo posible las primeras separaciones enantioméricas en cromatografía de gases. Hasta entonces, solo se podían separar principalmente aminoácidos, ya que las fases estacionarias de las columnas quirales solo presentaban una estabilidad térmica inferior a 110 °C.

Otro hito fue la introducción de fases basadas en ciclodextrina, como las desarrolladas a finales de la década de 1980 por el profesor W. A. König en colaboración con MACHEREY-NAGEL. Las ciclodextrinas modernas, utilizadas como fases estacionarias quirales, permitieron por primera vez la separación de una amplia gama de compuestos ópticamente activos. MACHEREY-NAGEL, con más de 50 años de experiencia en cromatografía, lanzó al mercado las primeras columnas capilares recubiertas con ciclodextrinas en 1987.

Gracias a décadas de experiencia y a una variedad sin igual de doce fases de GC quirales propias, MACHEREY-NAGEL está capacitado para ofrecer soluciones a sus necesidades de separación de enantiómeros y le garantiza la mejor asistencia y el mejor servicio posibles.



## Columnas de ciclodextrina MN – consejos y observaciones sobre la cromatografía de gases quiral

¿Cómo abordar una tarea de separación en GC enantiomérica? A veces, separar con éxito los enantiómeros en la GC puede resultar bastante complicado, ya que es muy difícil predecir cómo interactuará una molécula con una ciclodextrina concreta. En la mayoría de los casos, será inevitable evaluar la aptitud de las columnas preseleccionadas para la muestra en cuestión, aunque se pueden encontrar algunos consejos útiles para una separación satisfactoria en la bibliografía o en bases de datos en línea como [www.mn-net.com/apps](http://www.mn-net.com/apps). Se puede realizar una clasificación básica de las columnas basadas en CD distinguiendo los diferentes tamaños de anillo de la ciclodextrina.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos formados por seis ( $\alpha$ -ciclodextrina), siete ( $\beta$ -ciclodextrina) u ocho ( $\gamma$ -ciclodextrina) unidades de glucosa unidas mediante enlaces  $\alpha$ -1,4. Las ciclodextrinas MN se utilizan bien como fases lipófilas puras sin diluir (LIPODEX®), bien como fases hidrófilas diluidas en polisiloxano (HYDRODEX). La columna capilar FS resultante es una fase sin unión química. Por lo tanto, queda terminantemente prohibido el uso de agua en todas las columnas LIPODEX® y HYDRODEX GC.

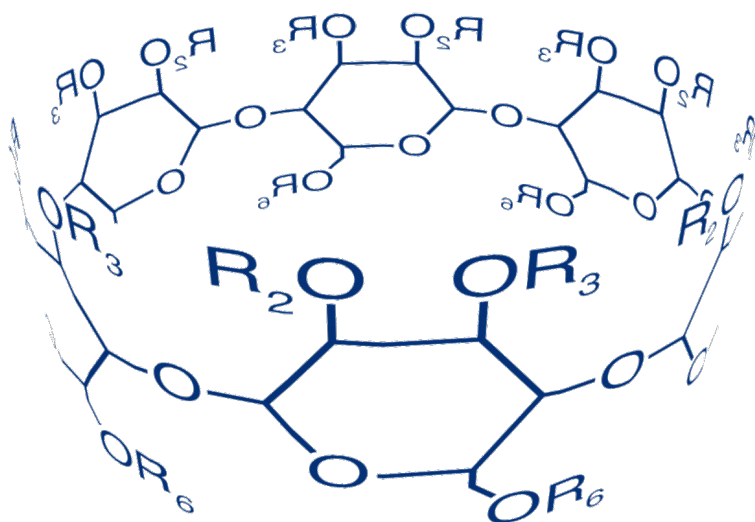


Fig. 1: Esquema de la  $\alpha$ -ciclodextrina

Aparte del número de unidades de glucosa y del tamaño resultante de los anillos, todas las ciclodextrinas tienen, como se muestra en el cuadro siguiente, ligandos unidos covalentemente en las posiciones 2, 3 y 6 de cada molécula. Su funcionalidad y polaridad también influyen en la capacidad de separación de la fase estacionaria quiral.

Fase	CD	Ligando		
		R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>6</sub>
LIPODEX® A	alfa	Pentilo	Pentilo	Pentilo
LIPODEX® B	alfa	Pentilo	Acetilo	Pentilo
LIPODEX® C	beta	Pentilo	Pentilo	Pentilo
LIPODEX® D	beta	Pentilo	Acetilo	Pentilo
LIPODEX® E	gamma	Pentilo	Butirilo	Pentilo
LIPODEX® G	gamma	Pentilo	Pentilo	Metilo
HYDRODEX $\beta$ -PM	beta	Metilo	Metilo	Metilo
HYDRODEX $\beta$ -3P	beta	Metilo	Pentilo	Metilo
HYDRODEX $\beta$ -6TBDM	beta	Metilo	Metilo	TBDMS
HYDRODEX $\beta$ -TBDAC	beta	Acetilo	Acetilo	TBDMS
HYDRODEX $\gamma$ -TBDAC	gamma	Acetilo	Acetilo	TBDMS
HYDRODEX $\gamma$ -DiMOM	gamma	Metoximetilo	Metoximetilo	TBDMS

Tabla 1: Resumen de las fases de ciclodextrina MN

## Cromatografía de gases quiral

Los siguientes parámetros, que también pueden influir en la selectividad de la columna en lo que respecta a la interacción entre el analito y la ciclodextrina, son:

- Inclusión (tamaño de la molécula)
- Interacciones dipolo-dipolo (grupos funcionales)
- Interacciones hidrófobas (contenido de carbono)
- Enlaces de hidrógeno (grupos funcionales)
- Interacciones estéricas

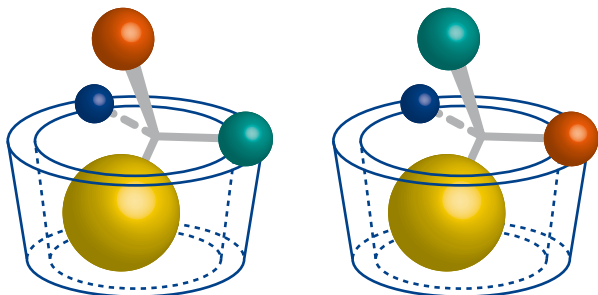


Fig. 2: Separación esquemática de enantiómeros

Para lograr una separación satisfactoria, es conveniente que intervengan varias de estas interacciones. Huelga decir que las moléculas que contienen grupos funcionales con influencia intensa en estas interacciones, como los alcoholes o las aminas, tienden a separarse con menos facilidad que otras.

Para evitar la interferencia de los grupos polares activos, la conversión en derivados del analito puede ser la clave. La conversión en derivados ofrece diversos métodos, como la alquilación, la acilación o la silylación, que pueden contribuir a separar los enantiómeros al reducir o eliminar las interacciones entre, p. ej., alcoholes y aminas. Otra ventaja es la reducción de la temperatura de elución, lo que se traduce en una mayor resolución. Encontrará más información sobre los reactivos de derivatización en nuestra base de datos [www.mn-net.com/apps](http://www.mn-net.com/apps) o solicite una muestra gratuita directamente en [www.mn-net.com/Derivatization](http://www.mn-net.com/Derivatization).

# Cromatografía de gases quiral

Aunque es casi imposible predecir de antemano el resultado real de una separación de enantiómeros, hay algunos parámetros que influyen considerablemente en la calidad de la separación.

## Peso molecular

Una larga serie de ensayos empíricos ha demostrado que parece existir una tendencia según la cual, a medida que aumenta el peso, las ciclodextrinas de mayor tamaño ofrecen mejores resultados.

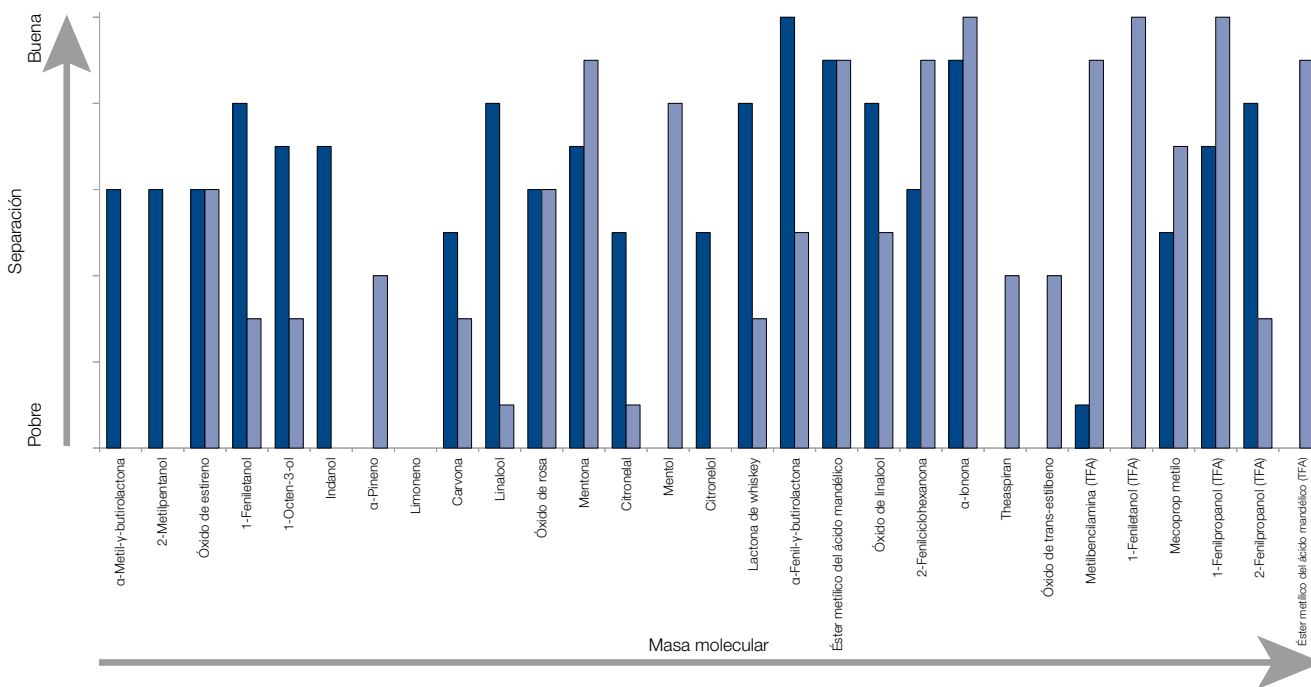


Fig. 3: Comparación del reconocimiento quiral (■ β-TBDAC, ■ γ-TBDAC)

Además, parece que las ciclodextrinas HYDRODEX presentan una amplia selectividad con siete unidades de glucosa (β) en el anillo, mientras que las ciclodextrinas LIPODEX® alcanzan una amplia selectividad con ocho unidades de glucosa (γ). Una posible explicación podría ser que las ciclodextrinas LIPODEX® parezcan, en realidad, más pequeñas para el analito, debido a sus ligandos pentílicos, que son bastante voluminosos.

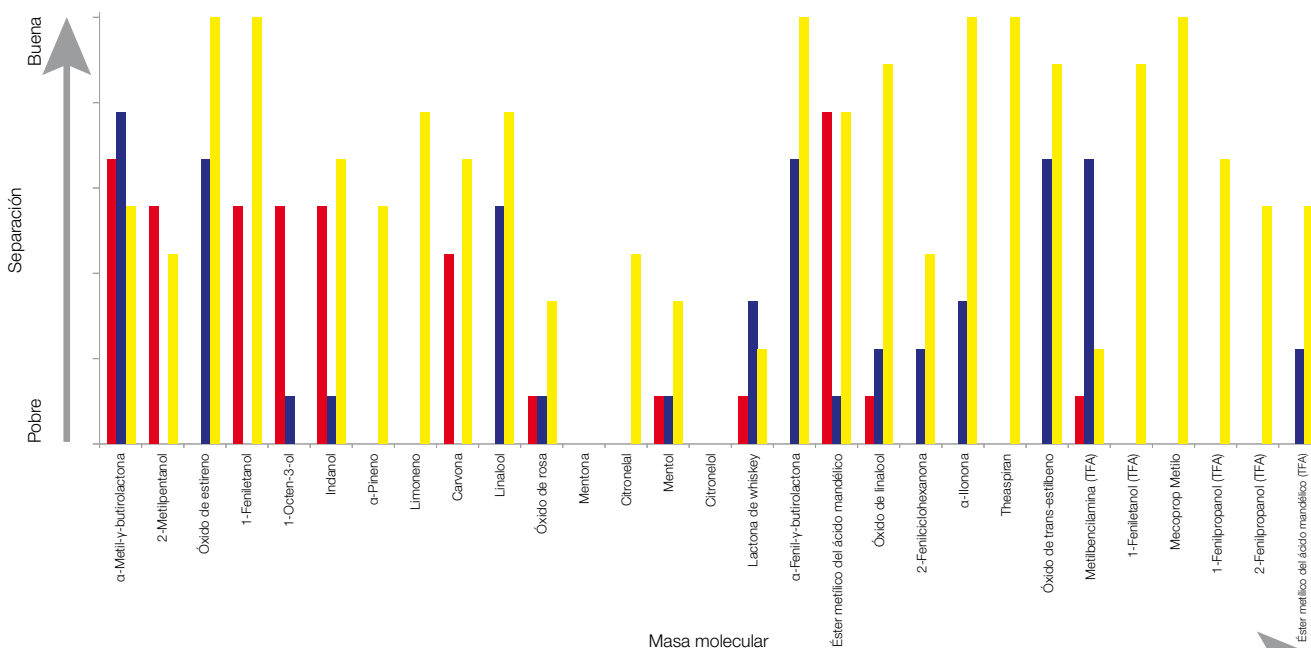


Fig. 4: Comparación del reconocimiento quiral (■ LIPODEX® A, ■ LIPODEX® C, ■ LIPODEX® E)

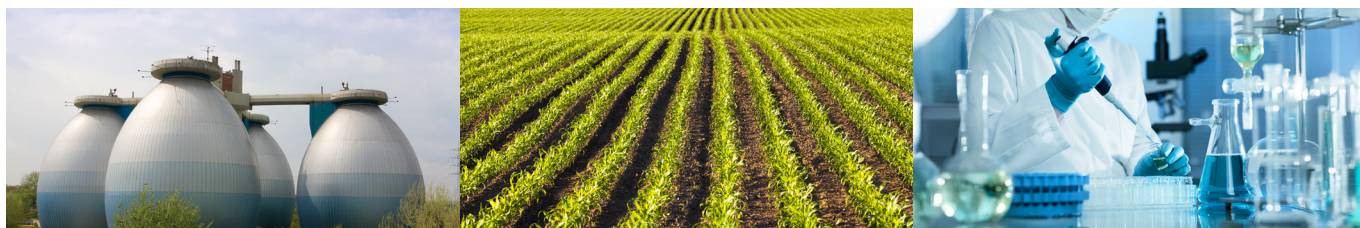
# Cromatografía de gases quirral

## MACHEREY-NAGEL

Su socio competente en química analítica

Tradición y modernidad – 100 años de experiencia

- Empresa alemana con presencia internacional (fundada en 1911)
- Filiales en Francia, Suiza y Estados Unidos
- Distribuidores en más de 150 países
- Una larga tradición en papeles de filtro
- Desarrollo, fabricación y comercialización de productos especiales para el análisis del agua, el medio ambiente y los alimentos, así como para la biotecnología, la industria química y farmacéutica y el diagnóstico médico



Calidad y diversidad – 5 gamas de productos con más de 25 000 artículos  
«Made in Germany»

### Filtración

- Papeles de filtro
- Membranas de filtro
- Cartuchos de extracción

### Pruebas rápidas

- Papeles y tiras reactivos
- Tiras reactivas de orina

### Análisis del agua

- Kits de análisis colorimétricos y titulométricos
- Análisis fotométrico del agua
- Microbiología

### Cromatografía

- Cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC)
- Cromatografía de gases (GC)
- Cromatografía en capa fina (TLC)
- Preparación de muestras (SPE)

### Bioanálisis

- Kits para la purificación de ácidos nucleicos
- Kits para la purificación de proteínas
- Membranas de transferencia

## Información de pedido

Longitud	10 m	25 m	50 m
todas las columnas con diámetro externo de 0,4 mm	DI 0,10 mm	DI 0,25 mm	DI 0,25 mm
FS-LIPODEX® A		723360.25	723360.50
FS-LIPODEX® B		723362.25	723362.50
FS-LIPODEX® C		723364.25	723364.50
FS-LIPODEX® D		723366.25	723366.50
FS-LIPODEX® E	723382.10	723368.25	723368.50
FS-LIPODEX® G		723379.25	723379.50

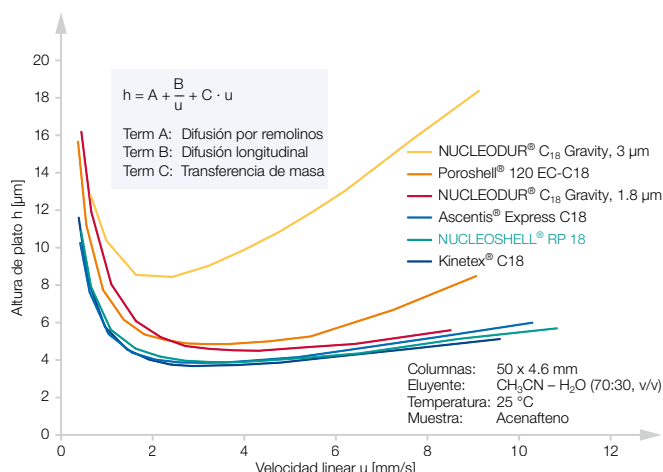
Longitud	10 m	25 m	50 m
todas las columnas con diámetro externo de 0,4 mm	DI 0,10 mm	DI 0,25 mm	DI 0,25 mm
FS-HYDRODEX β-PM		723370.25	723370.50
FS-HYDRODEX β-3P		723358.25	723358.50
FS-HYDRODEX β-6TBDM	723383.10	723381.25	723381.50
FS-HYDRODEX β-TBDAC		723384.25	723384.50
FS-HYDRODEX γ-TBDAC		723387.25	723387.50
FS-HYDRODEX γ-DIMOM		723388.25	723388.50

# Cromatografía de gases quiral

## Gas portador

En la cromatografía de gases se utilizan tres tipos de gases portadores: hidrógeno, helio y nitrógeno. Todos tienen sus ventajas y sus inconvenientes, ya sea el precio, la volatilidad o la facilidad de uso. En la cromatografía de gases quiral, es importante que el gas portador tenga una alta velocidad lineal en la columna, ya que la altura de un plato teórico se corresponde término a término con la velocidad del medio de transporte. Por lo tanto, aunque el hidrógeno sea el gas portador más caro (y no siempre fácil de manejar debido a la seguridad), sus ventajas frente al helio y al nitrógeno en cuanto a la eficiencia de separación son significativas. Por lo tanto, el hidrógeno sigue siendo la mejor opción para todas las separaciones de términos.

## Altura del plato y velocidad del gas



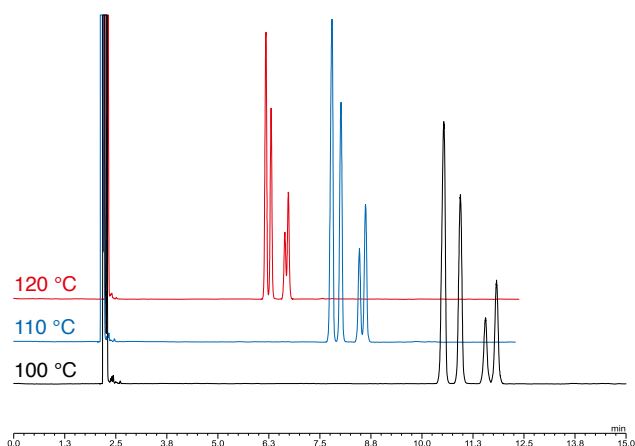
La ecuación de Van Deemter muestra cómo la altura del plato  $h$  depende de la velocidad de flujo « $u$ » debido a tres influencias distintas:

A: Difusión por remolinos; para columnas capilares WCOT,  $A = 0$

B: Difusión axial molecular; B es una función del coeficiente de difusión del componente en el gas portador correspondiente

C: Resistencia a la transferencia de masa

En la práctica, a menudo se optan por velocidades superiores a  $u_{opt.}$ , siempre que la eficiencia de separación sea suficiente, ya que unas velocidades de elución mayores se traducen en tiempos de retención más cortos.



Muestra: Óxido de rosa

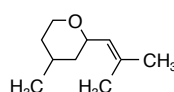
Columna: FS-HYDRODEX  $\gamma$ -TBDAC, DI 50 m x 0,25 mm, REF 723387.50, temperatura máx. 220/240 °C

Inyección: 1,0  $\mu$ L (1 % en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) con división de 50 mL / min

Gas portador: 120 kPa H<sub>2</sub> (1,7 mL / min)

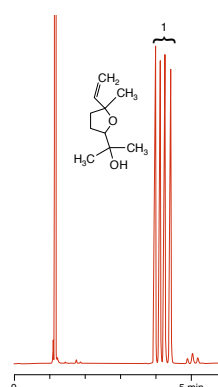
Detector: FID 250 °C

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>



## Aplicaciones

Una aplicación interesante es la del óxido de linalool en una HYDRODEX  $\beta$ -3P en comparación con la HYDRODEX  $\beta$ -PM. Aunque ambas fases son  $\beta$ -ciclodextrinas y la  $\beta$ -3P solo se diferencia de la  $\beta$ -PM en que presenta un ligando pentilo en lugar de uno metílico en la posición 2, la  $\beta$ -PM, en este caso, muestra una capacidad de separación quiral superior.



Análisis de enantiómeros del óxido de linalool  
N.º apl. MN 201950

Columna: HYDRODEX  $\beta$ -3P, DI 25 m x 0,25 mm, REF 723358.25, temperatura máx. 230/250 °C

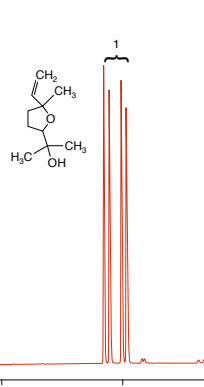
Inyección: 0,1  $\mu$ L (1 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) con división de 130 mL / min

Gas portador: 60 kPa H<sub>2</sub> (1,9 mL / min)

Temperatura: 124 °C

Detector: FID 250 °C

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>



Análisis de enantiómeros del óxido de linalool  
N.º apl. MN 201940

Columna: HYDRODEX  $\beta$ -PM, DI 50 m x 0,25 mm, REF 723370.50, temperatura máx. 230/250 °C

Inyección: 0,1  $\mu$ L (1 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) con división de 150 mL / min

Gas portador: 120 kPa H<sub>2</sub> (1,7 mL / min)

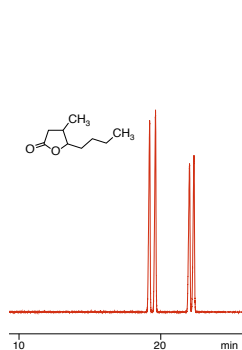
Temperatura: 120 °C

Detector: FID 250 °C

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>

# Cromatografía de gases quiral

No es imprescindible que los enantiómeros se separen únicamente en un tipo específico de columna de ciclodextrina. No se puede afirmar que una mezcla racémica concreta se separe únicamente en una  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$  ciclodextrina, ya que no está claro cuál de las interacciones mencionadas es la predominante. Los cromatogramas siguientes ilustran, p. ej., la separación satisfactoria de la 4-butil-3-metilbutirilactona (lactona del whisky) en tres columnas con anillos de distintos tamaños.



Análisis de enantiómeros de la 4-butil-3-metilbutirilactona (lactona del whisky)  
N.º de aplicación MN 202882

Columna: HYDRODEX  $\beta$ -PM, DI 50 m x 0,25 mm, REF 723370.50, temperatura máx. 230/250 °C

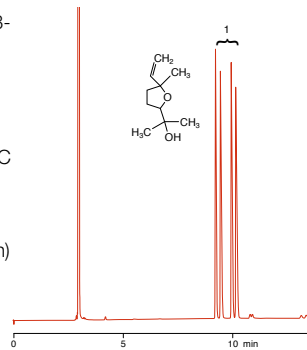
Inyección: 1,0  $\mu$ L (1 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) con división de 150 mL / min

Gas portador: 120 kPa  $\text{H}_2$  (1,7 mL / min)

Temperatura: 130 °C

Detector: FID 250 °C

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_2$



Análisis de enantiómeros de la 4-butil-3-metilbutirilactona (lactona del whisky)  
N.º de aplicación MN 202852

Columna: FS-LIPODEX® A, DI 25 m x 0,25 mm, REF 723360.25, temperatura máx. 200/220 °C

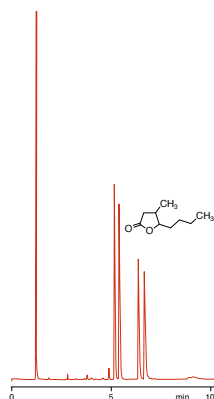
Inyección: 1,0  $\mu$ L (1 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) con división de 180 mL / min

Gas portador: 60 kPa  $\text{H}_2$  (1,8 mL / min)

Temperatura: 80 °C 1 °C/min  $\rightarrow$  120 °C

Detector: FID 250 °C

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_2$



Análisis de enantiómeros de la 4-butil-3-metilbutirilactona (lactona del whisky)  
N.º de aplicación MN 202862

Columna: FS-LIPODEX® E, DI 25 m x 0,25 mm, REF 723368.25, temperatura máx. 200/220 °C

Inyección: 0,1  $\mu$ L (1 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) con división de 95 mL/min

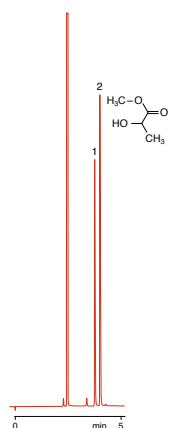
Gas portador: 60 kPa  $\text{H}_2$  (1,7 mL / min)

Temperatura: 145 °C

Detector: FID 250 °C

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_2$

Aunque la mayoría de las separaciones indican que el tamaño de la ciclodextrina parece tener una gran influencia en la capacidad de separación —en el sentido de que cuanto mayor, mejor—, no es el parámetro definitivo para determinar si un compuesto quiral se separará en una columna. En general, la capacidad de separación quiral es el resultado de la suma de todas las interacciones mencionadas anteriormente. Esto podría dar lugar a una separación totalmente diferente en dos columnas. Un buen ejemplo es el lactato de metilo en HYDRODEX  $\beta$ -PM en comparación con LIPODEX® A. El resultado es un orden inverso de picos, lo que implica que el mecanismo de separación es diferente, sin embargo, en ambos casos con separación inicial de los enantiómeros.



Separación de enantiómeros del lactato de metilo  
N.º apl. MN 202762

Columna: FS-LIPODEX® A, DI 50 m x 0,25 mm, REF 723360.50, temperatura máx. 200/220 °C

Inyección: 0,1  $\mu$ L (1 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) con división de 320 mL / min

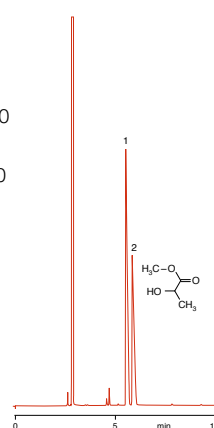
Gas portador: 120 kPa  $\text{H}_2$  (2,2 mL / min)

Temperatura: 80 °C

Detector: FID 250 °C

Picos: ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$ )

1. S-(-)  
2. R-(+)



Separación de enantiómeros del lactato de metilo  
N.º apl. MN 202772

Columna: FS-HYDRODEX b-PM, DI 50 m x 0,25 mm, REF 723370.50, temperatura máx. 230/250 °C

Inyección: 0,1  $\mu$ L (1 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) con división de 150 mL / min

Gas portador: 120 kPa  $\text{H}_2$  (1,7 mL / min)

Temperatura: 90 °C

Detector: FID 250 °C

Picos: ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$ )

1. R-(+)  
2. S-(-)

[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)

**MACHEREY-NAGEL**



Management System  
EN ISO 13485:2016  
ISO 9001:2015

[www.tuv.com](http://www.tuv.com)  
ID 0000056401



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Alemania

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com