

LA CROMATOGRFÍA DE GASES Y LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS: IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CAUSANTES DE MAL OLOR

M.C. Gutiérrez*, M. Droguet**

0.1. Resumen

Se describe la cromatografía de gases y su acoplamiento con la espectrometría de masas, técnicas que constituyen una herramienta potente para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas.

Se aplican estas técnicas a la identificación de los compuestos que producen mal olor en un tejido. Para ello, se emplea también la extracción de espacio en cabeza. De los resultados del análisis GC-MS se desprende que la principal causa del mal olor es la presencia de sulfuros orgánicos en el tejido.

Palabras clave: Cromatografía de gases, GC, espectrometría de masas, MS, cromatografía de gases-espectrometría de masas, GC-MS, espacio en cabeza, head-space, compuestos orgánicos volátiles, mal olor, sulfuros orgánicos, dimetil disulfuro, dimetil trisulfuro

0.2. Summary: GAS CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY: IDENTIFICATION OF OFF-ODOURS COMPOUNDS

Gas chromatography and mass spectrometry are described. The coupling of these techniques constitutes a potent tool to separate, identify and quantify the volatile and semi-volatile components of complex mixtures.

These techniques are applied to the identification of compounds which produce off-odours on a fabric. In this case the head-space extraction is also used. The analysis results show that the main cause of these odours is the presence of organic sulfides on the fabric.

Key words: Gas chromatography, GC, mass spectrometry, MS, gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS, head-space, volatile organic compounds, bad smell, organic sulphurs, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide

0.3. Résumé: LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE ET LA SPECTROMÉTRIE DE MASSES: IDENTIFICATION DES COMPOSÉS QUI PRODUISENT UNE MAUVAISE ODEUR

La chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masses sont décrites. Le couplement de ces deux techniques constitue un outil important pour séparer, identifier et quantifier les composés volatiles et semi volatiles de mélanges complexes.

Ces techniques sont appliquées à l'identification des composés qui produisent une mauvaise odeur sur un tissu. Dans ce cas, la technique d'extraction "head-space" est aussi employée. D'après les résultats de l'analyse, la principale cause de la mauvaise odeur est attribuée à la présence de sulphurs organiques sur le tissu.

Mots clés: Chromatographie en phase gazeuse, GC, spectrométrie de masses, MS, chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masses, GC-MS, head-space, composés organiques volatiles, mauvaise odeur, sulphurs organiques, dimethyl disulphur, dimethyl trisulphur

1. INTRODUCCIÓN

El primer trabajo en el que se hace pasar una fase móvil gaseosa a través de una columna data de 1951, dando lugar a la técnica conocida como cromatografía de gases. Esta técnica, descrita por Martin y James en 1952, es en la actualidad en método usado ampliamente para la separación de los componentes volátiles y semivolátiles de una muestra. La combinación de altas resoluciones, sensibilidad y tiempos de análisis cortos la ha convertido una técnica de rutina usada en la mayoría de los laboratorios químicos.

Respecto a la cromatografía líquida, la cromatografía de gases tiene la ventaja de disponer de detectores mucho más universales (por ejemplo, el de ionización de llama). Además, para numerosas aplicaciones, los métodos son más simples, más rápidos y más sensibles que los correspondientes a la cromatografía líquida de alta resolución. La instrumentación requerida para cromatografía de gases también es mucho más sencilla y económica que la empleada en HPLC.

Sin embargo, en cromatografía de gases, la influencia de la temperatura sobre la distribución del equilibrio es considerable, a diferencia de la

* M. Carmen Gutiérrez Bouzán, Dra. en Química, Investigadora de la Universidad Politécnica de Catalunya, en el Laboratorio de Control de la Contaminación Ambiental

** Marta Droguet, Ing. Industrial, Lasem

cromatografía líquida. Por ello, la cromatografía de gases presenta limitaciones en tres casos:

- compuestos poco volátiles, generalmente los de peso molecular superior a 300 u.m.a.,
- compuestos sensibles a una elevación de la temperatura incluso moderada (determinados compuestos de interés biológico),
- compuestos que se encuentran en forma iónica (puesto que son en general poco volátiles).

Por esta razón, la cromatografía de gases se emplea cuando los componentes de la mezcla problema son volátiles o semivolátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400°C. En cambio, cuando los compuestos a analizar son poco volátiles y/o termolábiles, la técnica separativa adecuada suele ser la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

A menudo la cromatografía de gases se emplea para confirmar de la presencia o ausencia de un compuesto en una muestra determinada. Esto se lleva a cabo por comparación del cromatograma de la sustancia pura con el de la muestra, siempre que las condiciones para la obtención de ambos sean idénticas. Una de las dificultades de esta comparación es que puede haber diferentes compuestos que presenten el mismo comportamiento cromatográfico bajo condiciones idénticas, lo que llevaría a identificaciones erróneas. En consecuencia, las mejores técnicas de análisis cualitativo son aquellas que combinan la capacidad de separación de la cromatografía con la capacidad de la identificación de técnicas como la espectroscopía de masas (técnicas acopladas).

Por otra parte, también se utiliza la cromatografía de gases para establecer la cantidad de componentes individuales presentes en una muestra, empleando curvas de calibración de los correspondientes patrones. A tal efecto, se pueden emplear diferentes detectores basados generalmente en la medida de una determinada propiedad física de los componentes a analizar. Algunos de ellos son universales, mientras que otros resultan más selectivos y responden únicamente a algunos de los componentes de una mezcla. En este sentido, la espectrometría de masas acoplada a la cromatografía de gases puede resultar un detector universal para la cuantificación de sustancias orgánicas si se registran el total de los iones generados (modo TIC) o bien un detector más específico cuando se seleccionan unos iones de masa determinada (modo SIR).

1.1. La cromatografía de gases

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares.

La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados.

Existen tres técnicas básicas de inyección de muestras (líquidas o gaseosas) en columnas capilares: split, split-less y on column. Las dos primeras consisten en inyectar y vaporizar la muestra en una cámara de vaporización. El sistema split desvía la mayor parte de la muestra fuera del sistema cromatográfico y envía sólo una pequeña fracción a la columna. El método split-less dirige toda la muestra a la columna, por lo que resulta más adecuado para el análisis de trazas o de componentes muy volátiles. La inyección on-column se lleva a cabo en frío, eliminando la etapa de vaporización que podría producir la descomposición de los compuestos termolábiles.

En ocasiones, por ejemplo en el caso de muestras de tejidos, se desean analizar los componentes volátiles contenidos en muestras sólidas. En tal caso, es necesario efectuar una extracción previa con un disolvente adecuado e inyectar el extracto en la columna. La extracción de espacio en cabeza (HS: "head-space") es una alternativa más rápida a la extracción en Soxhlet, que además evita la pérdida de los componentes más volátiles. En este método, la muestra sólida se coloca en un vial sellado con un septum y se calienta durante un tiempo determinado a la temperatura fijada. Durante esta operación, la mayor parte de los compuestos volátiles se transfieren al aire del vial, denominado espacio de cabeza. Se calienta el tiempo suficiente para que se alcance el equilibrio. Seguidamente, con una jeringa se toma una alícuota del aire del vial y se inyecta en el cromatógrafo. La aguja de la jeringa debe calentarse a la misma temperatura que la muestra para evitar condensaciones sobre la misma.

1.2. La espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Recientemente, esta técnica se utiliza no sólo en investigación, sino también en análisis de rutina de los procesos industriales, en control de calidad, etc.

Sus principales cualidades son:

- Capacidad de identificación de forma prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.
- Cuantitativa: permite medir la concentración de las sustancias.
- Gran sensibilidad: habitualmente se detectan concentraciones del orden de ppm o ppb y en casos específicos se puede llegar hasta ppt e incluso ppq.
- Universal y específica.
- Proporciona información estructural sobre la molécula analizada.
- Suministra información isotópica.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en décimas de segundo, por lo que puede monitorizarse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla de gases.

Dentro del espectrómetro de masas, se procede a la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuente es el de impacto electrónico que bombardea las moléculas con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de las moléculas y así ionizarlas.

Además de moléculas ionizadas o iones moleculares (M^+) también se forman iones fragmento debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía. El tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. Una vez ionizadas las moléculas, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos. La velocidad alcanzada por cada ión será dependiente de su masa. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce el espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación prácticamente inequívoca del compuesto analizado. El espectro de masas puede almacenarse en la memoria del ordenador para compararse con los espectros de una colección de espectros (o librería) y proceder a su identificación o puede estudiarse para averiguar la naturaleza de la molécula que le dio origen, etc.

1.3 Acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar.

Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente.

Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, GC ("Gas Chromatography") y MS ("Mass Spectrometry") da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas.

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una muy pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatográfica sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío. Actualmente, el acoplamiento directo resulta fácil cuando se utiliza la cromatografía de gases capilar, que es el caso más habitual.

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas.

En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma o "TIC" (total ion current). En efecto, la corriente iónica generada por todos los iones da lugar a un pico gaussiano de área proporcional a la concentración del compuesto detectado.

En el caso de mezclas complejas, el cromatograma obtenido puede presentar muchos picos, algunos de ellos muy próximos, resultando difícil la identificación rápida y fiable de algún compuesto de interés. Cuando se desea explícitamente localizar la presencia de uno o varios compuestos determinados, de espectro conocido, con la mayor rapidez o con la máxima sensibilidad posible se recurre a la técnica de detección SIR ("selected ion recording"). En esta modalidad de trabajo se detectan solamente algunas masas de interés, en lugar de trabajar con el total de los iones (TIC). De esta forma, se aumenta la selectividad del método, reduciéndose las interferencias.

2. EXPERIMENTAL

- Muestra a analizar: compuestos volátiles contenidos en una prenda de poliéster/algodón teñida y confeccionada que presenta un olor desagradable. Se encuentra plegada sobre un cartón y almacenada en una bolsa.
- Tratamiento previo de la muestra (head-space): El tejido a analizar (1g) se corta en trozos

pequeños y se mantiene a 150°C durante 1 h en un vial sellado. Se inyecta 1ml del espacio de cabeza (aire).

- Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS): Se emplea un equipo FISIONS MD-800 con una columna DB-5MS. La programación de temperatura es la siguiente: 40°C (inicial), 120°C (final), gradiente: 3°C/min. La inyección se efectúa en split 1/75 a 200°C. El modo de adquisición es Full Scan (35-450 u.m.a.).
- Identificación de los compuestos volátiles: a partir de su espectro de masas; librería NIST; programa MASSLAB.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar la causa del olor en la prenda confeccionada, se analizaron cualitativamente por GC-MS los compuestos volátiles emitidos por la muestra. La figura 1 representa el cromatograma obtenido.

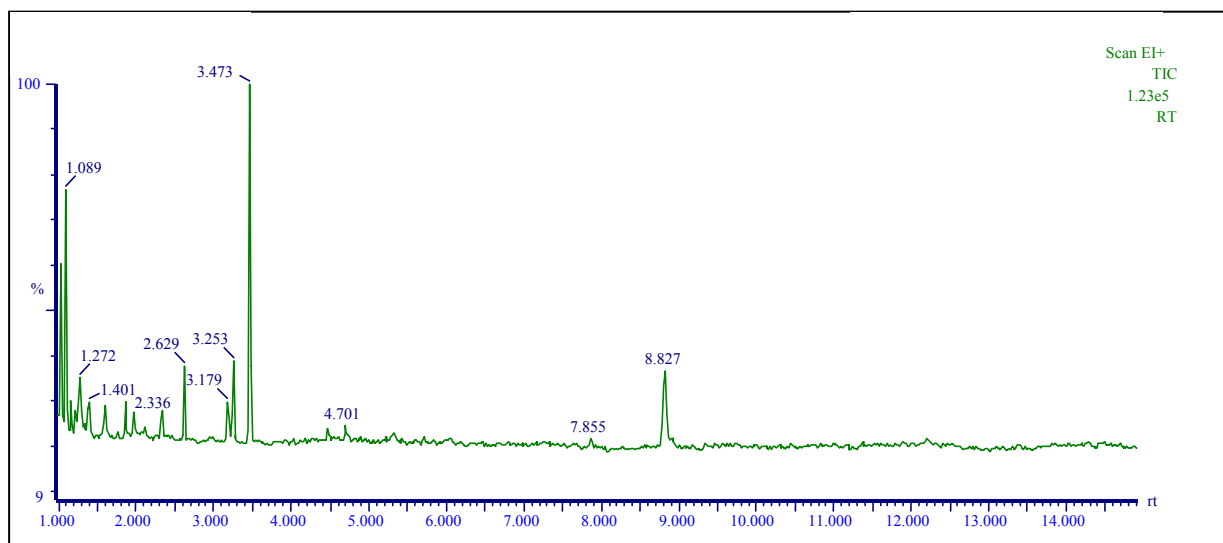


FIGURA 1: Cromatograma (TIC) obtenido a partir del tejido

En la tabla 1 se recopila la información relativa a dicho cromatograma: los compuestos volátiles detectados, sus tiempos de retención y los factores de identificación correspondientes a cada uno de ellos. Se observa que estos compuestos volátiles identificados son, en general, hidrocarburos aromáticos y disolventes clorados. Sin embargo, también se identifican dos

tipos de sulfuros orgánicos (dimetil disulfuro y dimetil trisulfuro), compuestos a los cuales se atribuye principalmente el mal olor de la muestra. Su presencia se confirma por comparación de los espectros de masas (obtenidos a los tiempos de retención correspondientes a dichos sulfuros) con los espectros de estos compuestos almacenados en la librería (figuras 2 y 3).

TABLA 1

Compuestos volátiles identificados a partir del cromatograma del tejido y de los espectros de masas correspondientes

Tiempo de retención (min)	Compuesto identificado	Factor de identificación (%)
1,01	Isobutano	90
1,08	Metil ester ác. acético	97
1,09	Cloruro de metileno	93
1,2	2-pentanona	96
1,3	Pentano	92
1,4	Cloroformo	98
1,6	Ciclohexano	94
1,8	Tricloroetileno	97
2,3	Dimetil disulfuro	91
2,6	Tolueno	91
3,2	Hexanal	90
3,3	Tetracloroetileno	98
4,4	Etilbenceno	89
4,7	1,3-dimetilbenceno	81
7,9	Dimetil trisulfuro	95
8,8	1-etil-4-metil benceno	89

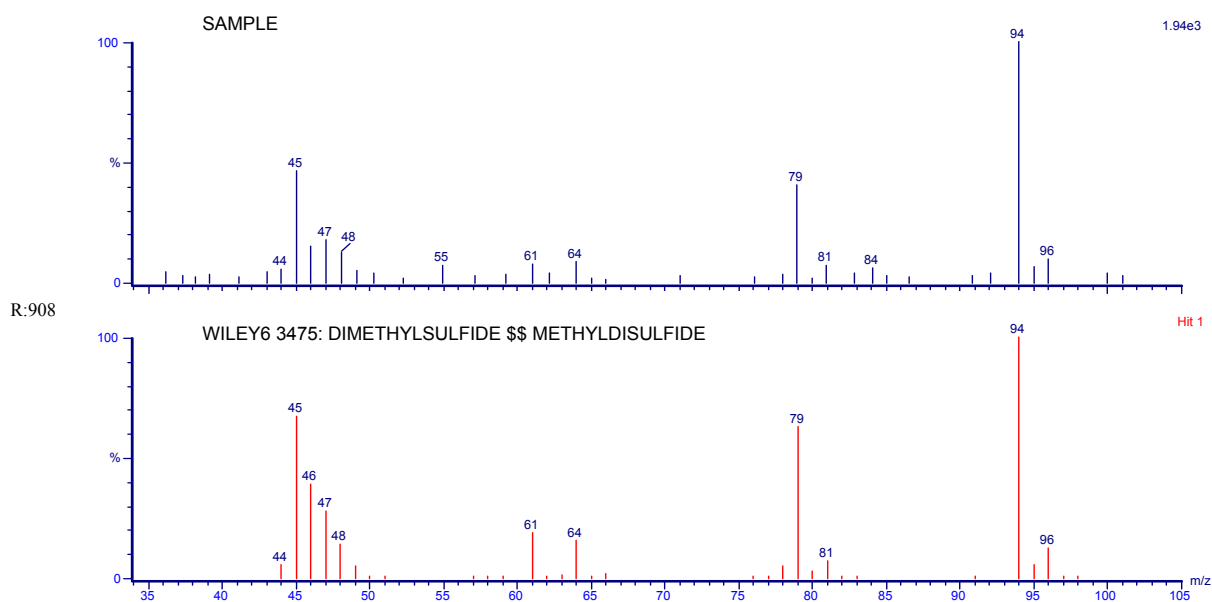


FIGURA 2: Identificación del dimetil disulfuro a partir de su espectro de masas

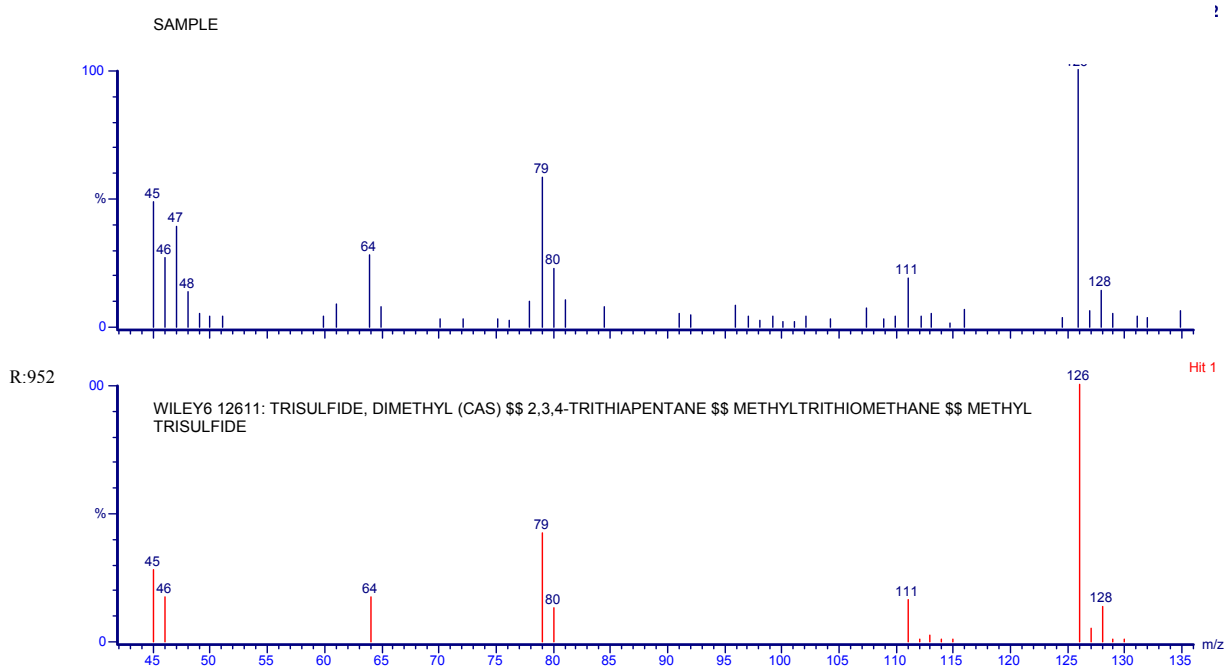


FIGURA 3: Identificación del dimetil trisulfuro a partir de su espectro de masas

Por otra parte, también se pueden confirmar visualizando el cromatograma correspondiente a los iones más característicos estos compuestos (figura 4):

- A un tiempo de retención de 2,3 minutos se obtiene un pico importante de masa 94 u.m.a correspondiente al dimetil disulfuro.
- A un tiempo de retención de 7,9 minutos se obtiene un pico importante de masa 126 u.m.a. correspondiente al dimetil trisulfuro.
- A tiempos de retención de 2,3 minutos y 7,9 minutos se obtienen dos picos importantes de masa 79 u.m.a., fragmentación común al dimetil disulfuro y dimetil trisulfuro.

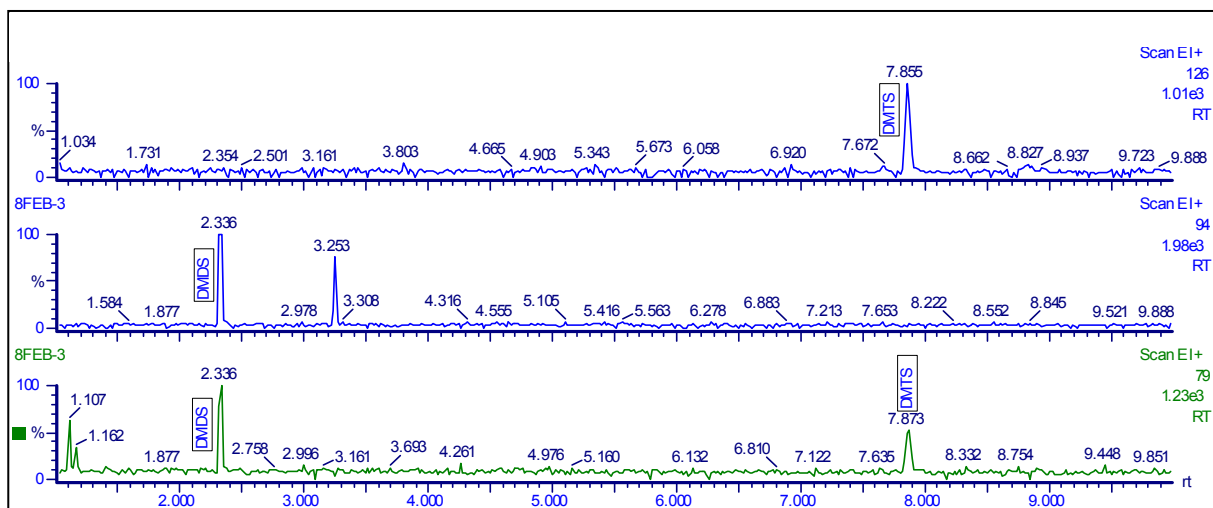


FIGURA 4: Cromatogramas correspondientes a los iones de masa 126, 94 y 79 u.m.a. obtenidos a partir del tejido

A pesar de haberse confirmado la presencia de sulfuros orgánicos como causantes del mal olor del tejido, no se dispone de datos suficientes para precisar su procedencia. Aunque no se puede descartar que se originen durante el propio procesamiento de la muestra, es más probable que provengan del cartón que está en contacto con ella

dentro de la bolsa. En efecto, las pastas de papel fabricadas por proceso Kraft y no sometidas a blanqueo pueden desprender sulfuros residuales. En concreto, el cartón que acompaña al tejido analizado tiene aspecto de haberse obtenido a partir de papel reciclado y no está blanqueado.

4. CONCLUSIONES

4.1. La cromatografía de gases es una técnica muy útil para de separación y determinación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles que sean térmicamente estables. Acoplada a la espectrometría de masas, permite una identificación inequívoca de los distintos componentes separados sin necesidad de disponer de patrones de los mismos. En caso de poder comparar con los correspondientes patrones, se puede llevar a cabo, además, el análisis cuantitativo de los compuestos identificados.

4.2. Estas dos técnicas acopladas (GC-MS) permiten la identificación de cualquier tipo de compuestos volátiles presentes sobre tejidos. Concretamente, se pueden aplicar a la determinación de los compuestos que causan malos olores. Existen muchos compuestos volátiles capaces de conferir un olor desagradable. En la prenda confeccionada analizada, la causa del mal olor se atribuye a la presencia de sulfuros

orgánicos, concretamente dimetil disulfuro y dimetil trisulfuro.

5 BIBLIOGRAFÍA

1. J.M.Casas, J.García, J.M:Guadayol, J.Olivé. *Anàlisi instrumental 2: Cromatografia i electroforesi*. Edicions UPC, Barcelona, 250p. (1994).
2. M. López-Mesas. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Terrassa (2002).
3. L. Esteban. *La Espectrometría de masas en imágenes*. ACK editores, Madrid, 261 p. (1993).
4. M.C.Gutiérrez, M. Crespi *Characterization of textile effluents treated by electrochemical techniques*. WEFTEC Annual Conference and Exposition, Anaheim (California) (2000).
5. M.Vilaseca, M.C.Gutiérrez, M.Raspall, M.Crespi. *Characterisation of dried sludge from textile treatment plants*. IFATCC 19th Congress, Paris (2002)