

# RESOLUCIÓN DE PICOS SOLAPADOS EN CROMATOGRFÍA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

Raimundo Gargallo

Departament de Química Analítica, Universitat de Barcelona

## ¿QUÉ ES LA QUIMIOMETRÍA?

En los últimos años la Informática se ha incorporado masivamente a todos los niveles de la industria química. Los ordenadores se utilizan para labores básicas, como son el tratamiento de textos, el cálculo numérico o como simples agendas, y también como interfases entre la instrumentación y el usuario. En planta, los ordenadores se usan como paneles de control para el seguimiento de los diversos procesos industriales. En el laboratorio de análisis, los ordenadores forman ya una parte inseparable de la moderna instrumentación analítica como es, por ejemplo, un cromatógrafo de líquidos con detector de fila de diodos (HPLC-DAD). Una consecuencia importante de esta incorporación de la Informática a la industria es la posibilidad de seguir prácticamente cualquier proceso en planta o en el laboratorio mediante la lectura de diversos parámetros (temperatura, presión, longitud de onda, etc.) simultáneamente y con tiempos de medida cortos, lo que conduce directamente a la posibilidad de adquirir y almacenar una gran cantidad de datos (números) a un coste relativamente bajo.

Con el seguimiento de un proceso químico mediante la instrumentación se pretende conocer, en todo momento, el estado del mismo o, dicho de otro modo, se pretende, a partir de los datos instrumentales, obtener información reducida pero útil y que nos permita adoptar decisiones. Así, en el caso de una reac-

ción, el interés radica en disponer de información a partir de los datos instrumentales que nos permita decidir si la reacción se ha de detener o bien si se ha de modificar alguno de sus parámetros. Ante la abundancia de datos obtenidos a partir de la instrumentación moderna, se pueden adoptar dos estrategias fundamentales. En la primera se prescinde de la mayor parte de los datos obtenidos en el seguimiento del proceso y se analizan uno o unos pocos parámetros críticos, es decir, aquéllos que se conoce proporcionan la mayor parte de la información de interés respecto al proceso seguido. La segunda estrategia plantea el análisis de todos o, al menos, de la mayor parte de los datos obtenidos en el seguimiento del proceso. Ambas estrategias presentan ventajas e inconvenientes, según el caso concreto. Sin embargo, y en general, si se consigue reducir el tiempo necesario para el análisis de todos los datos (segunda estrategia), ésta ha de resultar mejor que la primera, pues implica hacer muchas más medidas de un mismo sistema, con lo que se gana tanto en exactitud como en precisión.

La incorporación de los ordenadores no sólo ha favorecido la adquisición y almacenamiento de datos, sino que también ha facilitado el análisis de los mismos. Así, y en el caso concreto de la Química, en los años 70 y 80 comenzaron a aparecer los denominados métodos quimiométricos. La Quimiometría (del inglés chemometrics) es una rama de la Química que utiliza mé-

todos estadísticos y matemáticos para el análisis de datos procedentes de medidas de sistemas químicos. El objetivo final de la misma es disponer de información útil, elaborada a partir del análisis de los datos instrumentales, que permita la toma de decisiones. La Quimiometría se aplica a los diferentes campos de la Química en los que sea necesario el tratamiento de datos y su posterior interpretación, desde estudios teóricos hasta el diseño de experimentos en síntesis orgánica o la detección de impurezas en cromatografía de líquidos.

## LOS MÉTODOS SMCR

La Quimiometría engloba una gran variedad de métodos. Algunos, como son los relacionados con la calibración univariante y la multivariante (por ejemplo, Partial Least Squares) son bastante conocidos y frecuentemente aplicados en el campo industrial. Una de las ramas de la Quimiometría agrupa los denominados métodos de resolución de curvas o SMCR (del inglés self-modelling curve resolution). Estos métodos se utilizan para el análisis de los datos obtenidos al seguir un proceso mediante técnicas instrumentales que proporcionen lecturas de varias variables para cada paso del proceso. Así, por ejemplo, imaginemos un proceso industrial en un reactor, que es seguido mediante una sonda óptica que mide en la zona del infrarrojo y que registra un espectro completo de transmitancia cada cierto tiempo (ver Figura 1).

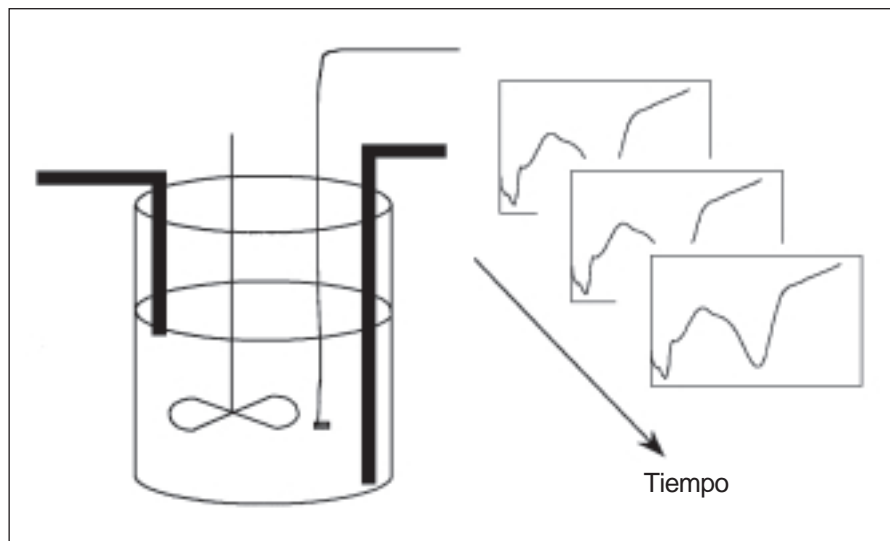


Figura 1

En este caso, los datos instrumentales consistirán en un conjunto de espectros de infrarrojo obtenidos para cada una de las medidas. Para este tipo de datos, los métodos SMCR son capaces de detectar la presencia de intermedios en las reacciones, calcular el espectro de todas las especies presentes en la reacción (es decir, de reactivos, intermedios y productos) y determinar el perfil de concentraciones para cada una de las mismas en función del tiempo de reacción. Por supuesto que hay dificultades para llevar a cabo esta resolución pero, en general, los métodos SMCR cumplen su objetivo de forma bastante satisfactoria.

### APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS SMCR A LA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

Otra aplicación de los métodos SMCR es el análisis de los datos obtenidos en HPLC-DAD. La cromatografía HPLC es una técnica analítica que se utiliza frecuentemente en los laboratorios de síntesis y de análisis, debido a su capacidad de separar y cuantificar analitos en mezclas complejas. La cromatografía HPLC proporciona una importante información analítica que puede ser aumentada considerablemente

con la utilización, en la detección, de técnicas instrumentales que también proporcionen una gran cantidad de datos. La llegada de sistemas de detección multicanal y la facilidad de acceso a los ordenadores han provocado un desarrollo de procedimientos experimentales nuevos para la caracterización de picos no resueltos. En este sentido, se ha de destacar los acoplamientos de la cromatografía HPLC con los detectores de fila de diodos (HPLC-DAD). El acoplamiento HPLC-DAD ha ganado gran popularidad debido a su bajo coste relativo, su buena sensibilidad, su razonable selectividad y por la información espectral obtenida. En el análisis de muestras complejas, el acoplamiento HPLC-DAD proporciona un método de mejorar la selectividad del sistema mediante el cambio de las longitudes de onda de medida, evitando así o minimizando las interferencias. Es posible, además, la confirmación de la identidad del pico por medio de la normalización de datos y posterior suavizado, o mediante el uso de las derivadas primera o segunda para la identificación de los diferentes máximos de absorbancia.

Sin embargo, algunos problemas necesitan todavía ser resueltos; por ejemplo, la determinación de la pureza de pico en picos totalmente superpuestos o la resolu-

ción y cuantificación de picos superpuestos de componentes desconocidos. A veces, resulta difícil decidir si un pico tiene una forma oblicua debido a la presencia de un segundo componente o simplemente por la presencia de la cola del pico. Este problema puede ser abordado de diversas formas, como podrían ser cambiar la composición del eluyente, añadir modificadores, aumentar la longitud de la columna o cambiar ésta; o bien mediante la aplicación de algún método quimiométrico.

Un ejemplo típico de la aplicación de métodos SMCR es la resolución de cromatogramas en los que se observa la presencia de picos solapados o superpuestos. En el caso de la industria de la química fina y de la farmacéutica esto es importante, pues en muchas ocasiones se pretende detectar la presencia de impurezas en una concentración muy baja respecto al analito principal.

En la Figura 2 se muestra un ejemplo de aplicación de un método SMCR a la resolución de un cromatograma obtenido mediante el acoplamiento HPLC-DAD. En este caso concreto, se trataba de una mezcla de hidrocortisona (analito) y prednisona (impureza). Para cada tiempo de medida se ha registrado un espectro de la solución que pasa por la celda. Como se puede apreciar, es difícil detectar la existencia de dos componentes en la mezcla. El tratamiento matemático consistió en analizar conjuntamente los datos experimentales **D** y otro conjunto de datos correspondiente a una inyección del analito puro (hidrocortisona). El resultado final del análisis también se muestra en la figura: es el perfil de eluciones **C** para el analito y para la impureza, y los espectros puros para el analito y para la impureza **S**. Como se puede apreciar en la figura, la resolución matemática de los picos es bastante buena a pesar de la poca resolución cromatográfica. La cuantificación de la impureza no fue posible

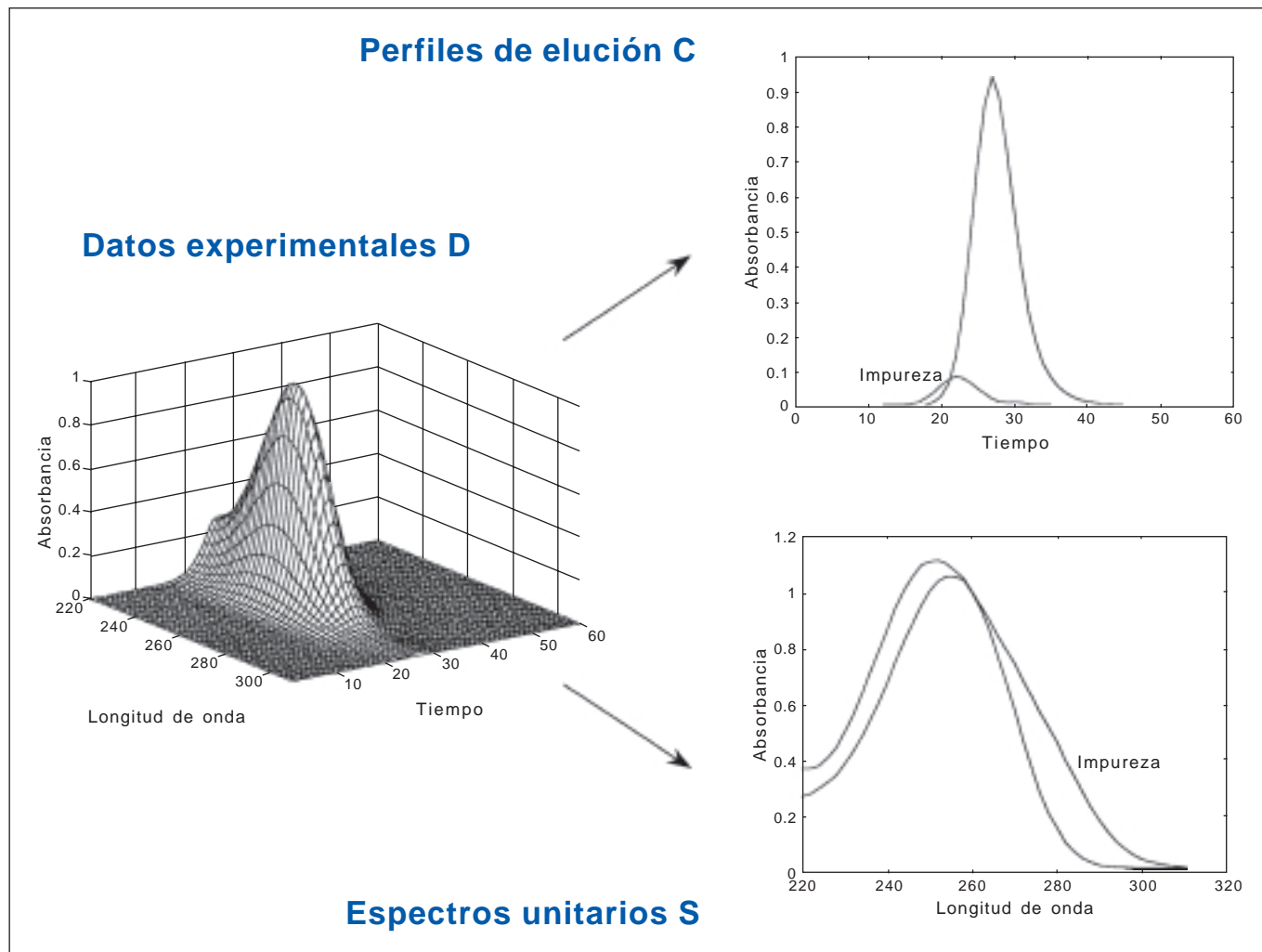


Figura 2

en este caso, porque no se disponía de un patrón para la misma.

En la bibliografía se pueden hallar múltiples ejemplos de la aplicación de la Quimiometría a la resolución de picos solapados tanto en HPLC-DAD como en técnicas similares (como la electroforesis capilar) y que van desde el análisis


de pesticidas hasta el de productos farmacéuticos en fluidos biológicos, etc.

### BIBLIOGRAFÍA

de Braekeller, K.; de Juan, A.; Massart, D. L. J. *Chromatog. A* **1999**, 832, 67 - 86.

Gargallo, R.; Tauler, R. *Química e Industria*, septiembre **1999**.

Keller, H. R.; Massart, D. L. De Beer, J. O. *Anal. Chem.* **1993**, 65, 471 - 475.

Li, S.; Gemperline, P. J.; Briley, K.; Kazmierczak, S. J. *Chromatog. B* **1994**, 655, 213 - 223. 



# NPQ és de tots!

**Col·labora  
amb els teus articles**