

Técnicas de análisis cromatográfico

Fundamentos generales de la cromatografía. Tipos de cromatografía: Cromatografía en placa fina, Cromatografía de gases, Cromatografía líquida de alta resolución. Sistemas de detección en su caso. Métodos de identificación y de cuantificación. Aplicaciones en el ámbito alimentario y de seguridad industrial.

Ejercicio 1 · Esquema del tema 38 · Actualizado el 27 de julio de 2026

01 INTRODUCCIÓN

02 FUNDAMENTOS GENERALES DE LA CROMATOGRAFÍA

03 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

04 CROMATOGRAFÍA DE GASES

05 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

06 CONCLUSIÓN

01 INTRODUCCIÓN

Una parte importante de las labores del Servicio de Inspección SOIVRE se realiza en la **Red de Laboratorios del SOIVRE**, integrada en la Subdirección General de Inspección, Certificación y Asistencia Técnica de Comercio Exterior de la Secretaría de Estado de Comercio. Consta de 16 laboratorios de ensayo en la red periférica, algunos acreditados, y un Laboratorio Central en Madrid, también acreditado. Los acredita la **ENAC** según la norma **UNE-EN ISO/IEC 17025:2017**. La acreditación nació de la necesidad de ofrecer un servicio de calidad a los exportadores.

- **UNE-EN ISO/IEC 17025:2017**: regula la implantación de un sistema de gestión de la calidad en laboratorios de ensayo y calibración y establece los requisitos para demostrar la competencia en los ensayos
- **ENAC**: asociación sin ánimo de lucro, único organismo con potestad pública para acreditar según el **Real Decreto 1715/2010** y el **Reglamento (CE) 765/2008**
- **Marca ENAC**: garantiza la aceptación internacional gracias a los Acuerdos Multilaterales de Reconocimiento, suscritos por más de 120 países y gestionados por EA y por Global ACI, resultante desde el 1 de enero de 2026 de la fusión de ILAC e IAF

El **Laboratorio Central** (Centro Analítico de Inspección y Control de la Calidad del Comercio Exterior, creado en 1989) coordina y armoniza la red periférica. Planifica adquisiciones de instrumental, pone a punto nuevas metodologías, da soporte analítico, organiza ejercicios de intercomparación, hace el seguimiento de la acreditación, asesora en reactivos, calibración y seguridad, y coordina y realiza actividades formativas.

Control de calidad. Conjunto de medidas necesarias para observar y conservar la fiabilidad de un método analítico, con el fin de producir datos de alta calidad mediante un control planificado y documentado. Puede ser de dos tipos:

- **Interno o intralaboratorio**: evalúa a diario la fiabilidad de las determinaciones rutinarias y tiene tres fases
 - Preanalítica: toma de muestras y tratamiento previo
 - Analítica: validación de métodos, muestras de control y gráficos de control
 - Postanalítica: procesamiento estadístico y archivo de resultados
- **Externo o interlaboratorio**: participación en pruebas de intercomparación entre laboratorios

El tema describe de cada técnica cromatográfica su fundamento, detección, identificación, cuantificación y

aplicaciones alimentarias y de seguridad industrial.

02 FUNDAMENTOS GENERALES DE LA CROMATOGRAFÍA

Cromatografía. Conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los componentes de una mezcla, identificar su naturaleza si se desconoce y determinar su cantidad. Su nombre viene de la primera experiencia, a comienzos del siglo XX, que separó sobre una columna de carbonato cálcico los pigmentos vegetales de un extracto de hojas.

En todas las técnicas un fluido, la **fase móvil** (gas o líquido), arrastra la muestra a través de una **fase estacionaria** (sólida o líquida). Los componentes interaccionan de distinta forma con ambas fases, atraviesan la estacionaria a velocidades distintas y se separan. Tras la separación pasan por un detector que genera una señal que puede depender de la concentración y del tipo de compuesto.

Las técnicas se clasifican de tres maneras. Según la fase estacionaria sólida:

- **Adsorción**: el sólido adsorbe al componente de la fase móvil mediante fuerzas de Van der Waals
- **Cambio iónico**: el sólido es un cambiador de iones y la separación se produce por fuerzas electrostáticas
- **Exclusión o de geles**: el sólido es un gel de polímeros no iónicos porosos que retienen las moléculas según su tamaño
- **Afinidad**: tipo especial de adsorción, usado en bioquímica, en que el sólido lleva enlazado un ligando como un inhibidor enzimático o un anticuerpo

Si la fase estacionaria es un líquido soportado en un sólido inerte, se trata de **cromatografía de partición**, en la que el soluto se reparte entre ambas fases.

Según la fase móvil:

- **Cromatografía líquida**: líquido-líquido o líquido-sólido, según la fase estacionaria
- **Cromatografía de gases**: gas-líquido o gas-sólido

Por último, según el soporte, se distingue la cromatografía de **columna** y la de **placa**.

03 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

3.1 Descripción

La cromatografía de capa fina es de tipo plano y es la más simple de las técnicas cromatográficas. La fase estacionaria es un sólido adsorbente dispuesto en una capa fina denominada

placa, y la fase móvil es un líquido. Los adsorbentes más corrientes son la alúmina activa y el gel de sílice.

Fundamento. La muestra se aplica en mancha o banda cerca de la base de la placa. Evaporado el disolvente, la placa se introduce verticalmente en un recipiente con la fase móvil o eluyente, que asciende por capilaridad y arrastra los compuestos. Cuanto más polar es un analito, mayor atracción siente por la fase estacionaria y menor recorrido hace. La placa se saca cuando la fase móvil está próxima al extremo superior.

Revelado. Los solutos suelen ser incoloros, por lo que tras evaporar el eluyente se localizan de dos formas:

- Bajo luz UV, si el adsorbente lleva un indicador fluorescente
- Pulverizando reactivos que originen productos coloreados o fluorescentes, como el ácido sulfúrico o el yodo

Identificación. Se calcula el cociente entre la distancia recorrida por el compuesto y la recorrida por la fase móvil, denominado **Rf** o **Factor de Retención**. Es típico de cada compuesto en las mismas condiciones cromatográficas, de modo que, comparado con un patrón, permite la determinación cualitativa.

Cuantificación. Es posible si se desarrollan en la placa cantidades conocidas de patrones, por tres procedimientos:

- Comparación del tamaño de la mancha, pues el área es proporcional a la cantidad de sustancia
- Método fotodensitométrico, que mide la luz reflejada, ya que la luz absorbida es proporcional a la cantidad fijada en la placa
- Método de elución, que raspa la parte del adsorbente de la fracción, la disuelve y la valora por un método espectroscópico

3.2 Aplicaciones en el ámbito alimentario

Se usa para determinar colorantes alimenticios, ácido ascórbico, fosfolípidos y tocoferoles, vitamina D (con revelado por espectrofotometría UV), quinina en agua tónica, cafeína en café y teobromina en cacao y té (con revelado por espectrofotometría de emisión o de reflexión).

04 CROMATOGRAFÍA DE GASES

4.1 Descripción

Técnica analítica en auge desde los años 50 y empleada hoy como técnica de rutina y control. Se llama así porque los componentes se volatilizan para ser detectados en fase gaseosa, aunque la muestra sea originariamente gaseosa, líquida o sólida.

Metodología. La muestra entra por el inyector, donde se volatiliza por calentamiento, y es arrastrada por el gas portador hasta la columna. La fase estacionaria retarda el flujo de cada componente según su composición o polaridad, y los componentes salen separados en el tiempo hacia el detector.

Gas portador. A diferencia de otras cromatografías, no debe interactuar con el analito: solo lo transporta. Se eligen gases inertes como nitrógeno, helio o hidrógeno.

Inyección. Vale cualquier muestra cuyos componentes sean volátiles a la temperatura de trabajo. La cámara de inyección está a temperatura suficiente para volatilizar todo sin descomposición térmica.

- Líquidas: las más empleadas, con jeringas de inyección

- Gaseosas: se prefieren válvulas rotatorias, más reproducibles y automatizables
- Sólidas: se disuelven en un disolvente adecuado y se inyectan como las líquidas

Columna. Va enrollada para ocupar menos espacio y su temperatura se regula, siendo un factor clave en la separación. Puede ser empaquetada o rellena, o abierta o capilar, más común hoy por su rapidez y eficiencia. La capilar tiene un diámetro mucho menor y admite menos muestra, por lo que usa inyectores **split/splitless**: con división, la mayor parte del flujo va al desecho y la menor entra en la columna.

Fase estacionaria. Puede ser sólida (gas-sólido o adsorción, con carbón activo, gel de sílice o alúmina activada) o un líquido inmovilizado (gas-líquido o partición), la más usada. La fase líquida debe tener estructura química similar a la de la muestra: los compuestos polares se separan mejor en fases polares, como los polietilenglicoles (Carbowax), y los no polares, como los hidrocarburos, en fases parafínicas como el escualeno.

Separación. Se debe a las diferencias de volatilidad y a la solubilidad de los solutos en la fase estacionaria, que los retiene más o menos tiempo. Al salir, atraviesan el detector junto con el gas portador y generan una señal que se envía a un microprocesador.

Sistemas de detección. Los detectores más utilizados son:

- **TCD (conductividad térmica):** mide la composición del gas por la velocidad a la que un cuerpo caliente pierde calor. Su desventaja principal es la baja sensibilidad
- **ECD (captura electrónica):** muy selectivo, mide el descenso de corriente entre dos electrodos causado por analitos que captan electrones. Es insensible a hidrocarburos, alcoholes y cetonas, y es el mejor para halogenados y para el análisis de pesticidas
- **FID (ionización de llama):** universal, responde a casi todas las sustancias. Una llama de hidrógeno ioniza las moléculas orgánicas, y las partículas cargadas originan un flujo de corriente
- **NPD (ionización de llama con sal sódica):** similar al FID, con un lecho de sal sódica que aumenta la conductividad de la llama de forma específica con compuestos de nitrógeno, fósforo o halógenos. Se usa mucho en pesticidas y muestras biológicas
- **MSD (espectrometría de masas):** de desarrollo reciente, ioniza el analito por impacto electrónico o ionización química y detecta los iones. Identifica el analito por su tiempo de retención y también por su espectro de masas, que es su huella digital

Cromatograma, identificación y cuantificación. La señal se amplifica y se registra como un gráfico de picos, uno por analito. La posición del pico da el **tiempo de retención**, que depende de la volatilidad y de la solubilidad en la fase estacionaria, y permite el análisis cualitativo. El área del pico da la concentración, es decir, el análisis cuantitativo. El ordenador necesita previamente los datos de los patrones.

4.2 Aplicaciones en el ámbito alimentario

Su desarrollo ha aumentado el número, la variedad y la calidad de los análisis, que son más específicos, reproducibles y selectivos, con límites de detección cada vez menores.

Residuos de plaguicidas. Es uno de los análisis más rutinarios del control de alimentos, sobre todo en frutas y hortalizas. Los LMR están sometidos a legislación (**Reglamento (CE)**)

396/2005, Reglamento (CE) 1107/2009 y Reglamento (CE) 178/2002). Su control no es sencillo por varias razones:

- Descomposición de los plaguicidas en la preparación de la muestra o, más a menudo, por las altas temperaturas de la separación
- Gran número de plaguicidas, con nuevas sustancias constantemente, lo que obliga a actualizar métodos y adquirir patrones
- Límites admisibles muy bajos, del orden de 0,001 ppm o menos, que exigen un límite de detección aún más bajo
- Características físico-químicas muy distintas, lo que requiere varios métodos, extracciones, detectores y columnas, y un laboratorio con varios cromatógrafos, detectores y personal cualificado

Lo habitual son los **métodos multirresiduos**, que analizan a la vez varios plaguicidas, aunque muchos requieren un método específico.

Otras aplicaciones:

- **Aceites y grasas:** cada uno tiene un perfil de ácidos grasos característico que permite identificarlo. Lo mismo ocurre con los esteroides, que sirven además para conocer el colesterol de un alimento
- **Bebidas alcohólicas:** contenido de alcoholes y graduación alcohólica. El metanol se detecta también en vinagres, junto con la acetona
- **Productos lácteos:** componentes, residuos, contaminantes, conservadores, antioxidantes y compuestos del aroma
- **Zumo de naranja:** volátiles hidrosolubles mayoritarios como metanol o acetaldehído
- **Otros:** azúcares, aminoácidos y compuestos nitrogenados en carnes, pescados y huevos, aditivos, aromas y vitaminas hidrosolubles y liposolubles

4.3 Aplicaciones en el ámbito de la seguridad industrial

Siempre con espectrómetro de masas:

- Biocidas como el DMF (dimetilfumarato) en muebles, textiles, calzado, bolsitas desecantes y parches antihumedad (**Reglamento (CE) 1907/2006**)
- Ftalatos en juguetes, calzado y prendas de vestir
- Pentaclorofenol (PCP) y sus sales en textiles (**UNE 59510:2007**) y calzado

05

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

5.1 Descripción

La **HPLC** (High Performance Liquid Chromatography) es la versión moderna de la cromatografía líquida en columna, valorada por su alta resolución, rapidez y capacidad de detectar cantidades muy pequeñas. Su fundamento es parecido al de la cromatografía de gases, pero la fase móvil es líquida e interacciona con los analitos. Por eso su naturaleza es el factor clave de la discriminación, y la presión y el caudal también son muy importantes.

Metodología. La muestra, disuelta en un disolvente adecuado (a veces directamente), se introduce con jeringa o inyector automático. La fase móvil la arrastra a la columna, donde los componentes se desplazan a distintas velocidades y se separan antes de llegar al detector. La fase móvil se impulsa con una

bomba de alta presión, pieza esencial de la que depende la separación.

Según la fase móvil:

- **Fase normal:** fase móvil y estacionaria polares
- **Fase invertida o reversa:** fase móvil polar y estacionaria no polar, la modalidad más empleada

Según su composición en el tiempo, la elución es **isocrática** si permanece constante y **por gradiente** si varía, cambiando la polaridad. El gradiente aumenta mucho la capacidad de separación y se usa con componentes de polaridades muy diferentes. Suele empezar con un único disolvente al que se añaden otros de forma lineal o no.

Columna. No tiene que estar termostaticada, porque la temperatura no es clave, aunque ayuda a reducir la viscosidad de la fase móvil y a aumentar la solubilidad de la muestra. Los principios de separación son:

- **Adsorción:** la fase estacionaria es un sólido activo polar, como gel de sílice o alúmina
- **Reparto o absorción:** la fase estacionaria es un líquido sobre un soporte sólido. Hoy las fases impregnadas se sustituyen por **fases enlazadas**, con el compuesto orgánico ligado químicamente al soporte, y la retención depende de la solubilidad en ella
- **Intercambio iónico y exclusión**

Sistemas de detección. Igual que en cromatografía de gases, el detector está a la salida de la columna y genera una señal eléctrica que, amplificada y registrada, forma el cromatograma de picos. La posición del pico (tiempo de retención) permite el análisis cualitativo y su área el cuantitativo. Los más empleados son los detectores ópticos, en que la corriente líquida atraviesa una microcubeta por la que pasa un rayo de luz, y los cambios de intensidad se registran como variaciones de voltaje:

- **Índice de refracción:** equilibra el sistema con fase móvil pura y mide el cambio de índice cuando aparece la muestra eluida. Da la máxima sensibilidad cuando es máxima la diferencia entre muestra y fase móvil
- **UV-visible:** los grupos funcionales absorben energía a su longitud de onda específica y disminuye la luz que llega a la fotocélula, de modo que la línea de base es la máxima transmitancia. Sirve para la mayoría de los compuestos orgánicos y es el más usado
- **Fluorescencia:** el tercero más utilizado, para compuestos con fluorescencia natural o que se vuelven fluorescentes por derivatización (modificación química que genera un derivado más fácil de analizar). Es selectivo y permite elegir las longitudes de onda de excitación y de emisión

5.2 Aplicaciones en el ámbito alimentario

- **Aditivos:** los colorantes absorben a longitudes de onda muy distintas del visible, así que fijando en el detector UV-VIS la de los compuestos amarillos solo se detectan estos, aun sin separación perfecta. También conservantes como el ácido sórbico y el benzoico. Muy usada en los laboratorios SOIVRE es la determinación de **tartracina**, colorante con el que se adultera el poder colorante del azafrán
- **Azúcares:** con detector de índice de refracción, de forma rápida y sencilla, como sacarosa, fructosa o glucosa en caramelos o refrescos. Sirve para establecer la composición o detectar adiciones no declaradas, como azúcar en un zumo
- **Aminas biogénicas en pescados:** aminas no volátiles como histamina, serotonina y tiramina, y en menor medida

putrescina, cadaverina, triptamina, espermina y espermidina. En pequeñas cantidades son normales, pero la histamina elevada se relaciona con intoxicaciones alimentarias. Se derivatizan para formar compuestos fluorescentes y se usa detector de fluorescencia. Es un análisis frecuente en Vigo, Bilbao y el Laboratorio Central

- **Residuos de plaguicidas:** la mayoría se analizan por cromatografía de gases, pero algunos van por HPLC, sobre todo porque se descomponen a las temperaturas muy altas de aquella. Es el caso de los plaguicidas bencimidazólicos, uno de los análisis principales de los laboratorios SOIVRE
- **Vitaminas:** aplicación de desarrollo creciente por los nuevos métodos y la mayor exigencia del consumidor, como en cereales de desayuno y lácteos, análisis que se hace en el Laboratorio Central

5.3 Aplicaciones en el ámbito de la seguridad industrial

Determinación de colorantes azoicos en textiles y calzado (UNE-EN ISO 14362-1:2017), con detector UV-visible.

06 CONCLUSIÓN

La cromatografía es probablemente el conjunto de técnicas analíticas más versátil de los laboratorios de la Red SOIVRE para separar, identificar y cuantificar los componentes de mezclas complejas. La capa fina sirve como cribado rápido y económico, y la cromatografía de gases y la HPLC, con detectores selectivos, forman el núcleo del control de residuos de plaguicidas, aditivos, contaminantes y aminas biogénicas.

La elección entre cromatografía de gases y HPLC depende de la naturaleza físico-química del analito, no de una jerarquía, y ambas son complementarias. En seguridad industrial, su combinación con la espectrometría de masas permite controlar sustancias restringidas en textiles, calzado y juguetes.