

**PÓLVORAS Y EXPLOSIVOS. MÉTODO GENERAL DE DETERMINACIÓN  
DE COMPONENTES POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS  
DE ALTAS PRESIONES**

**N M**  
P-2398 EMAG (1.ª R)

## 1 OBJETO

Describir la **técnica** a seguir en la **determinación** de componentes de **pólvoras** de base **nitrocelulósica** y explosivos, por medio de la cromatografía de líquidos de altas prestaciones.

Esta es **una técnica** especialmente cualificada para el **análisis** cuantitativo, **pero** utilizable con **relativo éxito** en la **identificación** de sustancias (**análisis** cualitativo).

La metodología descrita en esta Norma esth **pensada** para poderla **utilizar** en los **aparatos** comerciales **más** simples, al margen de que se pueda **emplear** con los **mismos** resultados en **instrumentos** **más** sofisticados.

## 2 CAMPO DE APLICACIÓN

El campo de **aplicación** de esta Norma se extiende **al** anhlisis de los explosivos y los componentes de **pólvoras**, de **naturaleza orgánica** y **extraíbles** con diclorometano, siendo **preferible** el **método** de **disolución** con **acetona/agua** **des-**  
**crita** en la Norma NM P-2778 EMA.

## 3 DEFINICIONES

**Cromatografía de líquidos de altas prestaciones:** Método físico de **separación** en el que los componentes de la muestra se **distribuyen** entre dos **fases**, una de **ellas** (fase estacionaria) es un lecho estacionario de **gran área** superficial, consistente en un **sólido** absorbente o en un líquido que recubra a un **soporte sólido**, el cual no **desempeña** ningún **papel** en la **separación** propiamente dicha, y la otra es una fase **móvil** **líquida** formada por un disolvente o mezcla de disolventes que se **mueve** por **percolación** a **través** del lecho estacionario (fase estacionaria) y **forma parte** de la fase **móvil**.

- **Fase móvil:** Formada por el líquido **portador** y la **difusión** de los componentes de la muestra en el **mismo**.
- **Efluente:** Líquido que abandona la columna donde se encuentra la fase estacionaria; **está** constituido por **líquido portador** y muestra.
- **Eluente:** **Fracción** del efluente que **procede** del líquido portador.
- **Eluato:** **Fracción** del efluente que **procede** de la muestra.
- **Sistema cromatográfico:** Conjunto de elementos que **intervienen** en la **separación** cromatogrífica: **Columna**, bombas, detector, etc.
- **Cromatograma:** Es la **representación**, en **papel** de registro, de la respuesta del detector en **función** del tiempo.
- **Columna:** Recipiente que contiene la fase estacionaria.
- **Inyección:** Es la **introducción** de la muestra a **analizar** en el sistema cromatogrífico. Se **realiza** por medio de **una** jeringuilla de cromatografía o inyector automhctico.
- **Línea de base:** Es la **porción** del cromatograma **registrada** cuando por la columna **solamente** sale eluente (líquido portador); disolvente o mezcla de disolventes que el detector no **acusa**.
- **Pico:** Es la **porción** del cromatograma que registra el detector cuando por la columna sale un componente de la muestra (**eluato**).
- **Área del pico:** Es la **superficie** comprendida entre el **pico** y la **línea** de base, en un cromatograma.
- **Tiempo de retención de una sustancia:** Es el tiempo **transcurrido** entre la **inyección** de la muestra y la **aparición** del mximo del pico, correspondiente a esa sustancia componente de la muestra.

## 4 GENERALIDADES (Condiciones generales)

El proceso **cromatográfico** tiene **lugar** como resultado de repetidas **adsorciones** y **desorciones** durante el movimiento de los componentes de la muestra a lo largo del lecho estacionario, **alcanzándose** la **separación** **gracias** a las **diferencias** en los coeficientes de **distribución** de los distintos componentes de la muestra.

La **interacción** de la muestra con la fase estacionaria se traduce en una **retención**. Para un sistema **cromatográfico** dado, el grado de **retención** de un compuesto es característico para ese compuesto, dado que depende de su **solubilidad**, **absorción**, caractersticas y **grado** de **ionización** en el entorno específico del sistema **cromatográfico** empleado. Este **retardo** en eluir una muestra de la columna se **expresa** cuantitativamente como un tiempo *de retención*.

El tiempo de **retención** de una sustancia **determinada**, si bien puede considerarse **característico** de la **misma**, en **igualdad** de condiciones cromatogríficas, puede coincidir coo el de otras sustancias eluidas en esas mismas condiciones.

(Continúa)

Por esta razón se puede considerar inviable resolver el análisis de un problema totalmente desconocido, utilizando exclusivamente la cromatografía de líquidos.

En la práctica se definen dos tipos de cromatografía según sea la polaridad de la fase estacionaria:

- **Cromatografía en fase normal:** La fase estacionaria es de naturaleza polar (p. ej., sílice) y la fase móvil es apolar (p. ej., n-hexano o tetrahidrofurano), quedando los compuestos tanto más retenidos cuanto mayor es su polaridad.
- **Cromatografía en fase reversa:** La fase estacionaria es de naturaleza apolar (p. ej., grupos fenilo, octilo, octadecilo, etc., unidos a la sílice) y la fase móvil es polar (p. ej., metanol, acetonitrilo, agua, etc.), quedando los compuestos tanto más retenidos cuanto menor es su polaridad. Este es el tipo de cromatografía más empleada en el análisis de estabilizantes y explosivos.
- En cromatografía líquida podemos usar una única sustancia como fase móvil durante el análisis o una mezcla de dos o más sustancias, ajustando adecuadamente las características de la fase. También es posible mantener constante la composición de la fase móvil durante el análisis, o bien cambiarla. El primer método se llama *operación isocrática*, mientras que el segundo se conoce como *elución por gradiente*.

## 5 ENSAYOS

### 5.1 Aparatos y reactivos

**5.1.1 Aparatos.**— Los componentes básicos de un equipo de cromatografía líquida son:

- Sistema de bombeo capaz de trabajar en **operación** continua, con bomba de doble cabeza, de **acción recíproca**, ya sea por pistón o diafragma, con sistema **amortiguador** de pulsos del líquido bombeado y aparato controlador del flujo.
- Para columnas de 2-5 mm (d.i.) suele utilizarse un caudal de 1-2 ml/min.
- Todos los sistemas de bombeo en cromatografía líquida **presentan** un límite superior en cuanto a la **presión** que pueden **desarrollar**.
- **Inyector:** Puede ser del tipo **válvula Rheodyne** o similar, o bien un inyector **automático**.
- **Horno:** Es aconsejable, pues aumenta la solubilidad de la muestra en la fase **móvil** y disminuye la viscosidad de la fase **móvil** y logra así presiones menores.
- **Detector:** Será un detector ultravioleta de longitud de onda variable **entre** 190-600 nm; hoy **día está** muy extendido el uso de detectores UV de red de diodos, ya que nos **permite obtener** el **espectro** ultravioleta del compuesto detectado, siendo una **herramienta** muy **útil** para la **identificación** de los compuestos, **así** como para calcular su **índice de pureza**.
- **Integrador y Registrador**, si bien **actualmente** se **emplea** un sistema informático que incluye programas de adquisición y tratamiento de datos, así como **generación** de informes.

### 5.1.2 Reactivos

#### 5.1.2.1 Disolventes para las muestras

- Diclorometano, calidad HPLC (método de **extracción** según **norma NM-P-2766 EMA**).
- Acetona calidad HPLC y agua desionizada (método de **disolución**, **norma NM-P-2778 EMA**).
- Acetonitrilo, calidad HPLC (para muestras de **explosivos**).

#### 5.1.2.2 Disolventes **utilizados** como **líquidos** portadores (fase **móvil**)

- Metanol, acetonitrilo y agua ( para trabajar en cromatografía en fase reversa).
- n-Hexano, tetrahidrofurano (para trabajar en cromatografía en fase normal).

#### 5.1.2.3 Patrones de **todas las** sustancias a **analizar**

## 5.2 Materiales

**5.2.1** Centrifugadora de al menos 15.000 x G ( método de **disolución** con **acetona/agua**).

**5.2.2** Balanza analítica, preferentemente electrónica, de al menos 0,1 mg de precisión.

**5.2.3** Pesa-sustancias.

**5.2.4** Matraces de 100 ml.

**5.2.5** Probetas de 50 ml

**5.2.6** Filtros de teflón o nailon, de 0,5 mm de luz, como máximo.

(Continúa)

5.2.7 Jeringa cromatográfica para inyección manual.

5.2.8 Viales de 2 ml, para inyector automático

5.2.9 Extractor Soxhlet de 250 ml (para el método de extracción con diclorometano)

### 5.3 Procedimiento operatorio

**5.3.1 Operaciones instrumentales previas.**— A continuación se describen las operaciones generales previas para poner en funcionamiento un sistema cromatográfico.

- a) Puesta en marcha del equipo y comprobación del correcto funcionamiento de sus módulos.
- b) Desgasificación de los recipientes de disolventes por medio del paso de helio a través suyo (aproximadamente 5 min.), y presurización de aquéllos a la presión recomendada.
- c) Purga de los conductos de distribución de los disolventes con objeto de eliminar las burbujas de aire presentes.
- d) Configuración del método analítico correspondiente por el que se fijan las condiciones del ensayo (composición de la fase móvil, temperatura del horno, tiempo de análisis, longitud de onda de detección, parámetros de integración, etc.), según la composición que se vaya a analizar.
- e) Arranque de la etapa de equilibrio hasta que se alcancen unos valores de presión y línea base constantes. En esta etapa no se adquieren datos.

Para más información, véase el manual del sistema cromatográfico utilizado.

**5.3.2 Preparación de la muestra.**— Se dispondrá de una cantidad de pólvora (entre 500 mg y 2 g, pesada con una precisión de 0,1 mg, dependiendo de la concentración prevista del componente o componentes a analizar), y se la somete a una disolución según el procedimiento descrito en la Norma NM-P-2778 EMA, o bien a un proceso de extracción con diclorometano según el procedimiento descrito en la Norma NM-P-2766 EMA. En el caso de tratarse de explosivos se procederá como se describe en la norma NM-E-2426 EMAG (1.ª R).

**5.3.3 Análisis cualitativo previo.**— En el análisis cualitativo previo se asignarán los picos cromatográficos a compuestos concretos, siguiendo habitualmente dos criterios:

- a) Comparación de los tiempos de retención de los distintos componentes con los tiempos de retención de los patrones, habiéndose adquirido éstos en las mismas condiciones cromatográficas.
- b) Comparación de los espectros ultravioleta de los componentes con los espectros ultravioleta de los patrones, habiéndose adquirido éstos, previamente, en el mismo sistema cromatográfico.

Este último criterio viene condicionado por la existencia de un detector de red de diodos en el sistema cromatográfico, detector que permite la adquisición instantánea del espectro ultravioleta completo de los componentes que atraviesan, en un momento dado, la célula de detección.

En el caso de que la asignación no fuera satisfactoria tras seguirse estos criterios, se procedería a los siguientes:

- c) MÉTODO DE ADICIONES: Se añade a la muestra, de forma consecutiva, cada uno de los compuestos de los que se sospecha que forma parte de ella y se procede a comprobar que el pico correspondiente ha aumentado y que no ha aparecido un pico nuevo.
- d) MÉTODO DE DESPLAZAMIENTO: Se modifica la fase móvil y/o la fase estacionaria, y se vuelve a calificar la muestra de acuerdo con los nuevos tiempos de retención.

### 5.3.4 Análisis cuantitativo

**5.3.4.1 Rectas de calibrado.**— El primer paso del análisis cuantitativo consiste en obtener la recta de calibrado de cada componente con objeto de determinar el intervalo lineal de la sensibilidad de cada uno de ellos. Para esto se obtendrán datos de absorción ultravioleta frente a concentración y se realizarán las correspondientes representaciones gráficas, viniendo reflejada la absorción UV por los datos de integración que el cromatógrafo presenta al final de cada ensayo.

**5.3.4.2 Cuantificación.**— Una vez determinados los componentes que forman parte de la muestra, se procede a la cuantificación de los mismos utilizando el método de "patrón interno", consistente en preparar primero una composición patrón con todos los componentes de la muestra, y en una concentración aproximada, y agregar luego una sustancia (patrón interno) tanto a la muestra como a la composición patrón con objeto de referir los valores de área de cada componente al valor de área del patrón interno y evitar así el error inherente a la falta de uniformidad en las inyecciones.

El patrón interno ha de cumplir los siguientes requisitos:

- No formar parte de la muestra que se ha de analizar.
- No interaccionar química ni físicamente con los componentes de la muestra que se ha de analizar.
- Proporcionar un pico bien resuelto en las condiciones cromatográficas empleadas; siendo el valor de la resolución de al menos 1,5.

(Continua)

- Salir aproximadamente en la zona central del cromatograma.
- Tener una concentración tal que su área estt comprendida entre la del componente más diluido y la del más concentrado.

Después de la adición del patrón interno a la muestra, se realiza un análisis semicuantitativo para comprobar la adecuación del patrón intemo elegido y de su concentración.

**5.3.4.3 Preparación de la composicidn patrón.**— La composición patrón se prepara disolviendo los correspondientes componentes identificados en el análisis cualitativo, junto con el patrón intemo, en una mezcla de acetona/agua 50/10, como se describe en la norma NM-P-2778 EMA.

Si la pólvora fue sometida a un proceso de extracción con diclorometano como se describe en la norma NM-P-2766 EMA, el patrón se prepara disolviendo los correspondientes componentes identificados en el análisis cualitativo, junto con el patrón intemo, en un volumen de diclorometano igual al de la muestra.

Para muestas de explosivos el patrón se prepara disolviendo los correspondientes componentes identificados en el análisis cualitativo, junto con el patrón intemo, en el mismo volumen y disolvente que la muestra, como se describe en la norma NM-E-2426 EMAG (1.ª R).

**5.3.4.4 Análisis cromatográfico cuantitativo.**— Una vez preparadas las disoluciones de muestra y patrón se procede a su inyección en las condiciones cromatográficas elegidas, obtenitndose los cromatogramas correspondientes a cada inyección.

Han de realizarse al menos tres inyecciones de patrón y tres inyecciones de muestra.

**5.4 Expresión de los resultados.**— La concentración de cada componente ( $x$ ), expresada en porcentaje, es el resultado de los cálculos siguientes:

$$C_x = \frac{A_{piP}}{A_n} \cdot \frac{A_{xM}}{A_{piM}} \cdot K ;$$

siendo:

$$K = \frac{W_{xP} \cdot W_{piM}}{W_{piP} \cdot M} \cdot 100 ;$$

fórmulas en las que:

- $A_{piP}$  = Área del patrón intemo en la disolución patrón.
- $A_{xP}$  = Área del componente  $x$  en la disolución patrón.
- $A_{xM}$  = Area del componente  $x$  en la muestra.
- $A_n$  = Área del patrón intemo en la muesua.
- $W_{xP}$  = Peso del componente  $x$  en la disolución patrón, en mg.
- $W_{piP}$  = Peso del patrón intemo en la disolución patrón, en mg.
- $W_{piM}$  = Peso del patrón intemo en la muestra, en mg.
- $M$  = Peso de la muestra, en mg.

## 6 DESIGNACIÓN DEL MATERIAL

Pólvoras y explosivos. Método general de determinación de componentes por cromatograffa de liquidos de altas pres-taciones. NM-P-2398 EMAG (1." R).

## 7 NORMAS PARA CONSULTA

- |                        |   |
|------------------------|---|
| NM-P-2778 EMA          | "Pólvoras de base nitrocelulósica. Disolución para análisis de componentes. Mttodo de acetona/agua".      |
| NM-P-2766 EMA          | "Pólvoras de base niuocelulbica. Extracción para análisis de componentes. Ex-tracción con diclorometano." |
| NM-E-2426 EMAG (1." R) | "Explosivos. Determinación en mezclas por cromatografia de liquidos en fase reversa".                     |

## 8 OFICINA ENCARGADA DE LA ELABORACIÓN DE LA PRESENTE NORMA

La número 15 del Servicio de Normalización del Ejército.