

Análisis cualitativo de las parafinas cloradas con datos de alta resolución

Dr. Óscar Mendo Díaz

Laboratorios Suizos para la Ciencia de los Materiales y Tecnología (Empa)

Localización: Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI)

Fechas: 26 y 27 de Noviembre, 2025

Agenda del seminario – Jueves 27 (día práctico)



Hora (UCT-3)	Contenido	Ponente
08:30 – 09:00	Registro en la recepción	
09:00 – 10:30	Extracción de datos originales y su evaluación con CP-Hunter	Óscar Mendo Díaz
10:30 – 11:00	Pausa de café y networking	
11:00 – 12:00	Análisis cualitativo de grupos congéneres	Óscar Mendo Díaz
12:00 – 13:00	Método de Fingerprint, informe y ejercicios adicionales	Óscar Mendo Díaz
13:00 – 14:00	Pausa para almorzar	
14:00 – 15:00	Detección y cuantificación de PCs por monitoreo de iones seleccionados (GC-MS)	Yago Guida
15:00 – 15:50	Cuantificación de PCs (LC-MS/MS)	Yago Guida
15:50 – 16:00	Notas finales del seminario	Óscar Mendo Díaz
16:00	Fin del seminario y visita a los laboratorios INTI	

Índice – Análisis cualitativo



- Resumen del día anterior (opcional)
- Introducción a los ejercicios básicos de datos de alta resolución
 1. Objetivos del ejercicio
 2. Material disponible
 3. Demostración previa
 4. Posterior trabajo en equipo (5 o 6 personas)
- Ejercicios básicos (++) y ejercicios adicionales (+)
 1. (++) Extracción de datos y su evaluación con CP-Hunter
 2. (++) Análisis cualitativo de grupos congéneres
 3. (++) Método de *Fingerprint* e informe
 4. (+) Más soluciones estándar
 5. (+) Plásticos
 6. (+) Lodos de depuradora

Clasificación de las parafinas cloradas (PCs)



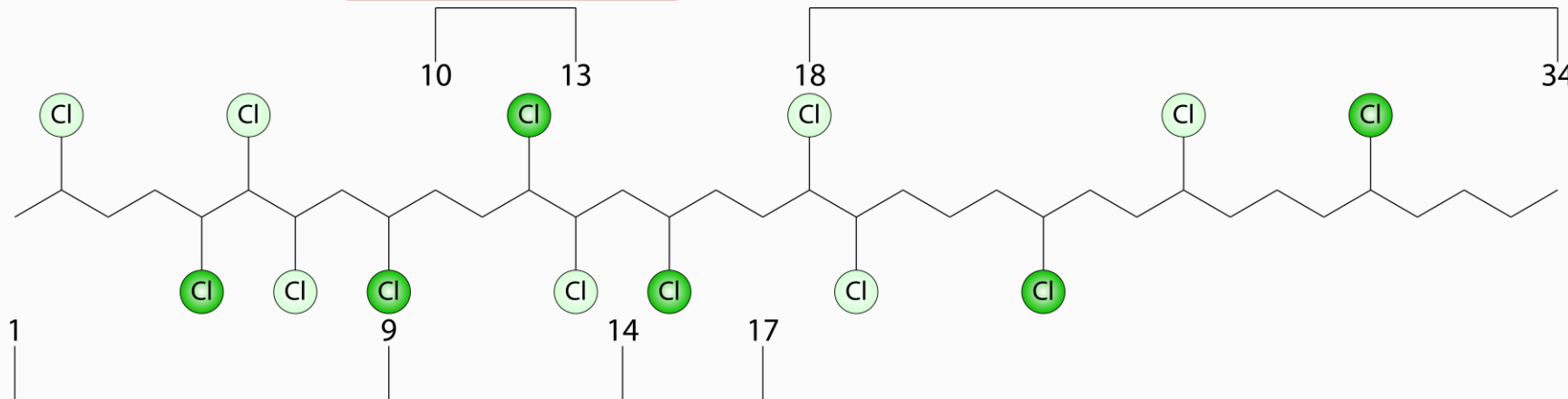
COPs:
2017



Stockholm Convention
on persistent organic
pollutants (POPs)

PCs de cadena corta

PCs de cadena larga



PCs de cadena muy corta

PCs de cadena media



Stockholm Convention
on persistent organic
pollutants (POPs)

COPs:
2025

Grupos congéneres y porcentaje de cloro

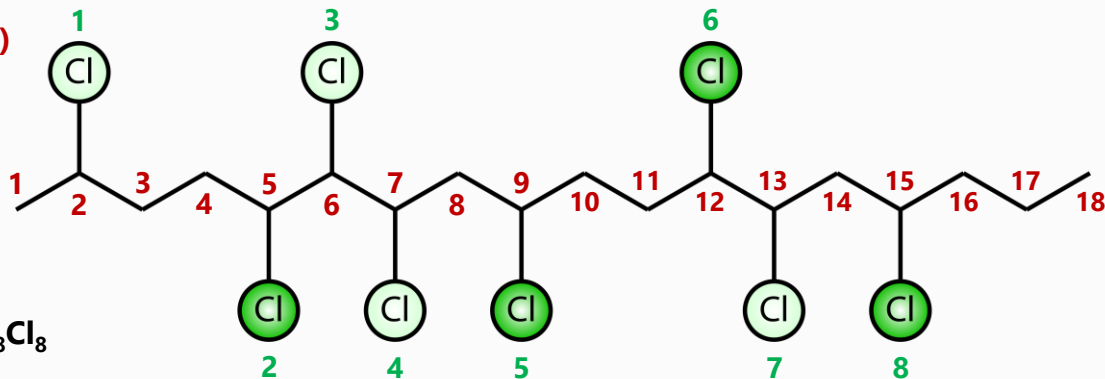


- Longitud de la cadena o **número de carbonos (n)**

- Grado de cloración o **número de cloros (x)**

- Grupos congéneres ($C_nH_{2n+2-x}Cl_x$): $C_{18}H_{30}Cl_8 \rightarrow C_{18}Cl_8$

- Porcentaje de cloro en masa (**% Cl m/m**): proporción de cloros dentro de la molécula



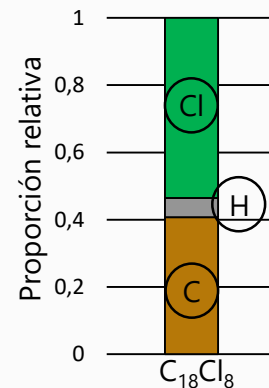
Elemento	Masa (u)
Carbono (C)	12.0
Hidrógeno (H)	1.0
Cloro (Cl)	35.5

- 18 Carbonos x 12.0 = 216 u

- 30 Hidrógenos x 1.0 = 30 u

- 8 Cloros x 35.5 = 284 u

$$\% \text{ Cl m/m} = \frac{284}{216+30+284} \times 100 = 53.6\%$$



Cromatogramas de las PCs

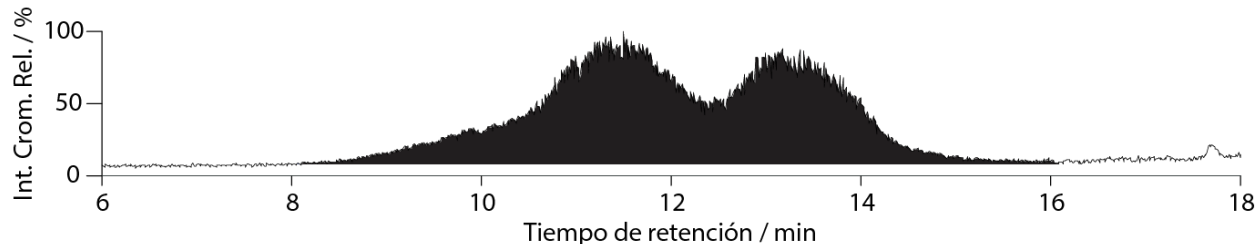


▪ Fase móvil:

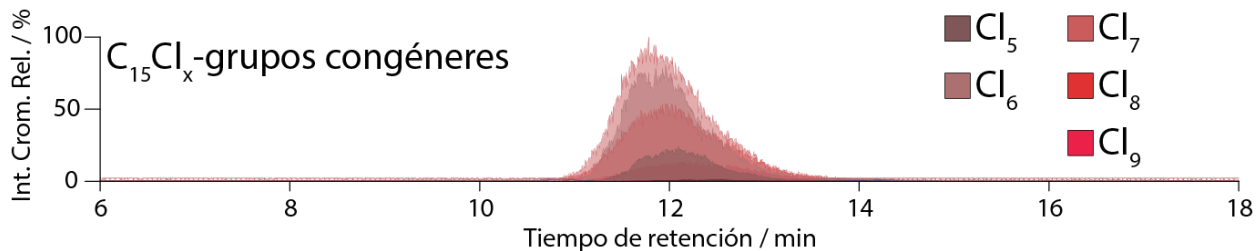
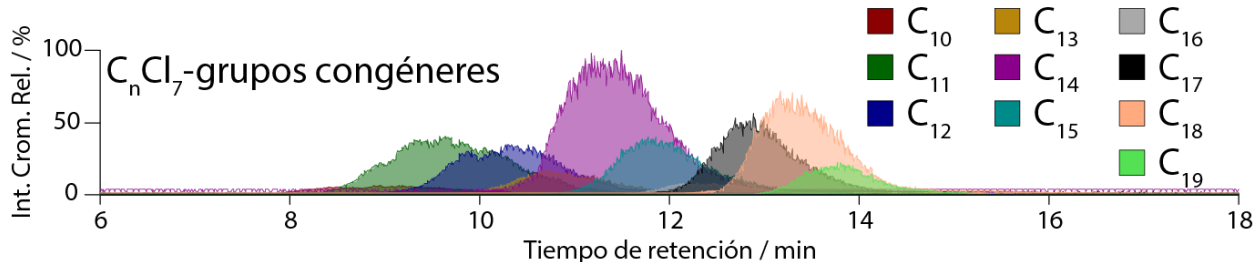
- Eluyente A: H₂O
- Eluyente B: MeOH/CH₂Cl₂

Tiempo minutos	Eluyente B %
0	60
1	60
16	98
23	98
24	60
25	60

Crom. Total Iones



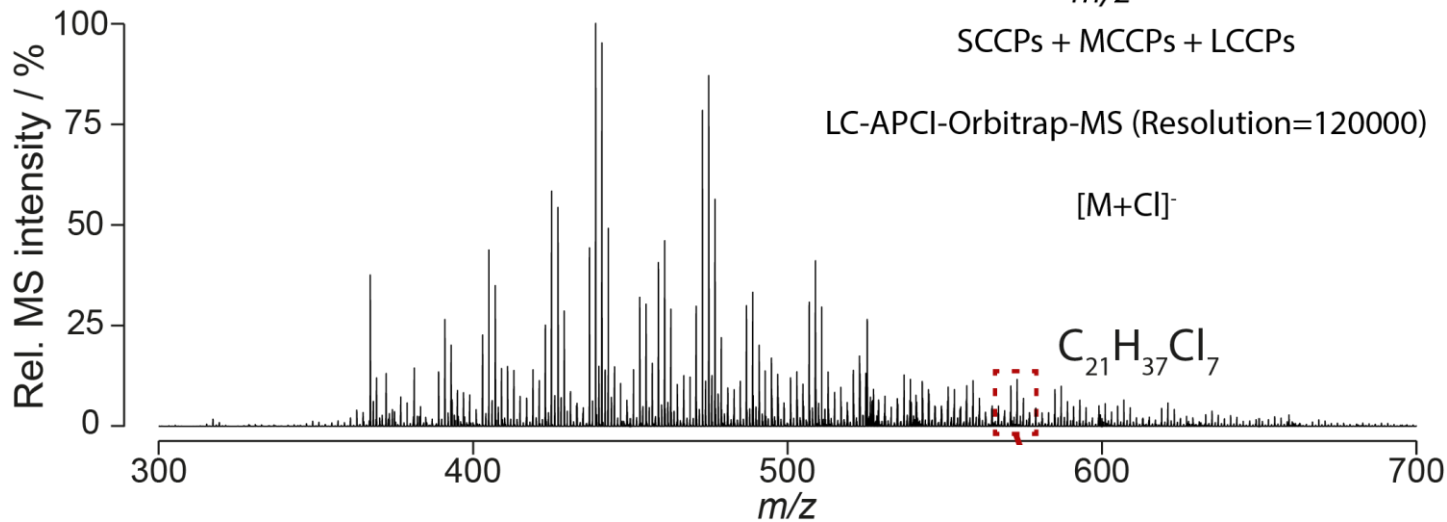
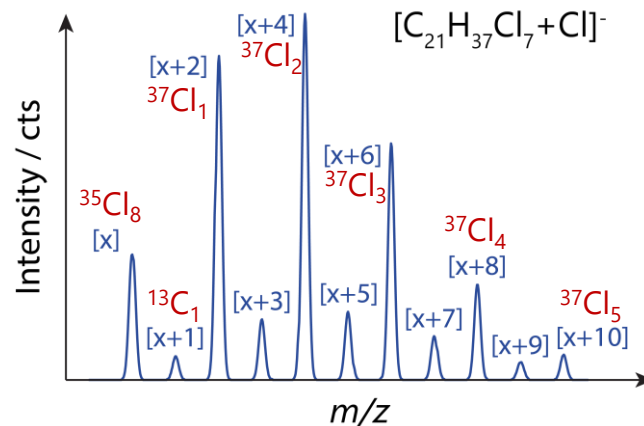
Crom. Iones Extraído (LC-MS)



Espectrometría de masas de alta resolución de las PCs



- Un C_nCl_x -grupo congénere $\approx 10 - 20$ MS señales
- Rango: $C_{10-34}Cl_{3-18}$





Ejercicios básicos

Ejercicio 1: Extracción de datos y su evaluación con CP-Hunter



- Objetivos
 1. Comprender los **datos** originales **cromatográficos** y de **espectrometría de masas** de alta resolución
 2. Exportar los **datos** en un formato universal **CSV** para su procesamiento e interpretación posterior
 3. Dominar el **procesamiento** de **datos** con software **CP-Hunter**
 4. Resolver ejercicios adicionales

- Material disponible (Carpeta: **Ejercicio_1_Introduccion_Software**)
 - Datos originales de muestra que contiene PCCCs (63% Cl m/m), PCCMs (57% Cl m/m) y PCCLs (49% Cl m/m)
 - **PCCC_PCCM_PCCL.raw**
 - Datos extraídos en formato CSV
 - **PCCC_PCCM_PCCL.csv**
 - Acceso directo a **CP-Hunter**

Ejercicio 1: Extracción de datos y su evaluación con CP-Hunter



▪ Tutorial guiado

1. Abre el archivo con *FreeStyle*: **PCCC_PCCM_PCCL.raw**
2. Clic izquierdo sobre los distintos tiempos de elución del **cromatograma total de iones** (TIC, arriba) para examinar los iones detectados en el espectro de masas (abajo)
3. Para integrar el TIC: clic derecho en el espectro de masas, selecciona "**Ranges**" e **integra** entre **7 y 21** minutos. Elimina **dos segmentos de señales de fondo (2 Ranges)**: **5-6** minutos y **22-23** minutos
4. Observa el espectro de masas promedio y haz zoom horizontal (clic izquierdo y arrastra **solo** horizontalmente) para **identificar señales características** de compuestos policlorados
5. Para obtener los **cromatogramas extraídos de iones** (EIC) de la molécula [**C₁₄H₂₃Cl₇+Cl**]⁻: Doble-clic izquierdo en los **números** que corresponden a los iones ³⁵Cl/³⁷Cl que aparecen en el espectro de masas:
6. Evalúa los EIC según su tiempo de retención, intensidad y forma de la señal
7. Extrae los EIC de las señales cercanas a **m/z: 478.9195** y compara la forma de las señales y los tiempos de retención. ¿Pertenece a la misma molécula?

Valores teóricos de
[**C₁₄H₂₃Cl₇+Cl**]⁻:

m/z [0]: 470.9313

m/z [+2]: 472.9289

m/z [+4]: 474.9254

m/z [+6]: 476.9225

m/z [+8]: 478.9195

Ejercicio 1: Extracción de datos y su evaluación con CP-Hunter



- Tutorial guiado (continuación)
 8. Para extraer el espectro de masas promedio: clic izquierdo sobre el espectro de masas (mantén el tiempo integrado 7-21) y en la pestaña **Workspace Options** → **Exports** → **Export selection as** → **CSV file** (**Cambiar formato a comas**)
 9. Guarda, abre el archivo **PCCC_PCCM_PCCL.csv** y observa las intensidades correspondientes a los escaneos del espectro de masas (**m/z [+4]: 474.9254**). Representa las señales que definen ese isótopo con un gráfico de puntos
 10. Abre **CP-Hunter** y arrastra el archivo **CSV** donde pone "Drop or paste a file" para cargar los datos
 11. Para observar qué señales han sido detectadas y evaluar la función centroide realizada sobre los datos de perfil, haz zoom horizontal en el **espectro de masas de arriba** y compara los datos de perfil (**azul**) con los datos centroides (**amarillo**). Para retirar el zoom, haz doble clic izquierdo sobre el espectro de masas
 12. Configuración del análisis y haz clic en analizar:
 - **C₉₋₃₄Cl₃₋₁₈**
 - **Rango de instauración: 0 (PCs)**
 - **Rango de m/z a analizar: 100 – 1200**
 - **Modo de ionización: Cl(-), certeza de 2 ppm y limite de 0.01% señales**
 13. Haz zoom en el **espectro de masas de abajo** y observa las señales reconstruidas de los compuestos detectados (**azules**)

Ejercicio 1: Extracción de datos y su evaluación con CP-Hunter



- Tutorial guiado (continuación)

- 14. Selecciona la segunda pestaña **Detailed information**

- (Arriba-izquierda): Datos experimentales en modo perfil (**azul**) y modo centroide (**amarillo**)
 - (Abajo-izquierda): Datos experimentales centroides (**amarillo**) y datos reconstruidos de especies detectadas (**azul**)
 - (Arriba-derecha): Datos experimentales no asignados (**azul**) y datos teóricos que no han sido encontrados (**rojo**)
 - (Arriba-izquierda): Datos experimentales centroides (**amarillo**) y datos reconstruidos de especies detectadas escogidas (**azul**)



Ejercicio 2: Análisis cualitativo de grupos congéneres

- Objetivos
 1. Identificar **grupos congéneres** encontrados con CP-Hunter y comprobar su **veracidad**
 2. Exportar los **datos** a la **plantilla** automatizada de Excel para visualizarlos
 3. Examinar los **rangos** de los **grupos congéneres** confirmados y elaborar las **distribuciones 2D y 3D**
 4. Resolver ejercicios adicionales

- Material disponible (Carpeta: ***Ejercicio_2_Evaluacion_Cualitativa***)
 - Datos originales de muestra que contiene PCCCs (63% Cl m/m), PCCMs (57% Cl m/m) y PCCLs (49% Cl m/m)
 - ***PCCC_PCCM_PCCL.raw***
 - Datos extraídos en formato CSV
 - ***PCCC_PCCM_PCCL.csv***
 - Acceso directo a ***CP-Hunter***
 - Plantilla para generar distribuciones de grupos congéneres y *Fingerprints*
 - ***PCCC_PCCM_PCCL.xlsx***
 - Recopilación de *m/z* de los grupos congéneres $C_{10-21}Cl_{3-14}$: ***Informacion_Suplementaria_A.xlsx***

Ejercicio 2: Análisis cualitativo de grupos congéneres



- Tutorial guiado

1. [Recordatorio] Selecciona la segunda pestaña **Detailed information**

- (Arriba-izquierda): Datos experimentales en modo perfil (**azul**) y modo centroide (**amarillo**)
- (Abajo-izquierda): Datos experimentales centroides (**amarillo**) y datos reconstruidos de especies detectadas (**azul**)
- (Arriba-derecha): Datos experimentales no asignados (**azul**) y datos teóricos que no han sido encontrados (**rojo**)
- (Arriba-izquierda): Datos experimentales centroides (**amarillo**) y datos reconstruidos de especies detectadas escogidas (**azul**)

2. Observa la lista de los **grupos congéneres encontrados** (C_nCl_x), sus **m/z** , y las **abundancias espectrométricas**

3. Haz doble clic izquierdo en el nombre de la molécula ($C_{14}H_{23}Cl_7$) para visualizar sus señales **teóricas** (**rojo**)

4. Para comprobar la **veracidad** del grupo congénere, compara las señales **teóricas** (**rojo**) con las señales **experimentales** (**azul**) en los **espectros de masa de la izquierda**. Test para identificar el falso positivo: $C_{14}H_{16}Cl_{14}$

5. Haz zoom horizontal en los espectros de masa y **comprueba** que los valores **teóricos** (**rojo**) se ajustan a los valores **experimentales** (**azul** y **amarillo**), tanto en la **certeza** como en la **intensidad**

6. *Comprobación adicional:* anota los m/z de los iones $^{35}Cl/^{37}Cl$, **extrae los EIC**, y compara los **tiempos de retención** y las **formas** de las señales

Ejercicio 2: Análisis cualitativo de grupos congéneres



- Tutorial guiado (continuación)
 7. Para **reconstruir** las señales correspondientes a uno o varios grupos congéneres, selecciona la molécula $C_{14}H_{23}Cl_7$ en la lista y haz clic en "**Update from selected MFs**"
 8. Selecciona solo los grupos congéneres $C_{14}Cl_x$ y reconstruye las señales
 9. Selecciona solo los grupos congéneres C_nCl_6 y reconstruye las señales
 10. Selecciona solo los grupos congéneres $C_{10-17}Cl_x$ y reconstruye las señales
 11. Abrir el archivo **PCCC_PCCM_PCCL.xlsx**
 12. Para **extraer** los **datos** de CP-Hunter, selecciona **todos** los grupos congéneres detectados y haz clic en "**Export**"
 13. Haz clic izquierdo sobre la ventana que aparece y selecciona todo (**comando: ctrl+A**)
 14. Ve al archivo **PCCC_PCCM_PCCL.xlsx** y pega (**comando: ctrl+V**) sobre la celda en rojo en la pestaña **Datos_CP-Hunter**. (**cambiar formato a pestañas**)
 15. Para **organizar** los **datos** de la manera correcta, selecciona las columnas y ve a: **Datos** → **Clasifica** → **DBE/nC/nCl**
 16. En la pestaña **Distribucion_PCs**, comprueba que los datos se han exportado correctamente en la matriz de los C_nCl_x
 17. Elimina las señales **inferiores a 100 puntos** (automático) y los **falsos positivos** (manual)
 18. Evalúa las **distribuciones en 2D y 3D** de los grupos congéneres: **rangos** de C_nCl_x **detectados** y **distribuciones Gaussianas**

Ejercicio 3: Método de *Fingerprint* e informe



- Objetivos
 1. Obtener y evaluar los **parámetros** del método ***Fingerprint*** (comparación entre muestras y métodos analíticos)
 2. Preparar el **informe** de datos cualitativos
 3. Resolver ejercicios adicionales

- Material disponible (Carpeta: ***Ejercicio_3_Fingerprint_Informe***)
 - Datos originales de muestra que contiene PCCCs (63% Cl m/m), PCCMs (57% Cl m/m) y PCCLs (49% Cl m/m)
 - ***PCCC_PCCM_PCCL.raw***
 - Datos extraídos en formato CSV
 - ***PCCC_PCCM_PCCL.csv***
 - Acceso directo a ***CP-Hunter***
 - Plantilla **vacía** (***Plantilla.xlsx***) y **completa** (***PCCC_PCCM_PCCL.xlsx***) para generar distribuciones de grupos congéneres y *Fingerprints*
 - Informe completo de parafinas cloradas ***PCCC_PCCM_PCCL.docx***

Ejercicio 3: Método de *Fingerprint* e informe



- Tutorial guiado
 1. Abre el archivo **PCCC_PCCM_PCCL.xlsx**
 2. Ve a la pestaña *Fingerprint*
 3. Revisa los cálculos de los 4 *Fingerprints* y examina las figuras obtenidas
 - **Fingerprint 1** (cadena de carbono): %PCCCs, %PCCMs, %PCCLs
 - **Fingerprint 2** (distribución de grupos congéneres por grado de cloro): niveles bajos o altos de cloro, tendencias
 - **Fingerprint 3** (número de cloro m/m, n_C): niveles, promedio y tendencias
 - **Fingerprint 4** (número de carbono m/m, n_C): niveles, promedio y tendencias
 4. Evalúa el porcentaje de cloro de PCCCs, PCCMs, PCCLs y total de la muestra
 5. Ve a la pestaña Informe, revisa que todo esté bien
 6. Abre el archivo **Informe.docx** y adjunta la información necesaria



Gracias por su atención

¿Preguntas?

