

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES



OBTENCION Y CARACTERIZACION DE  
OCTADECILSILICE PARA CROMATOGRFIA

## TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO ACADEMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS,  
CON ESPECIALIDAD EN QUIMICA ANALITICA

POR

ISABEL DEL CARMEN SAENZ TAVERA

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1991

TM

QD79

.C4

S2

c.1



1080074498

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES



QUANTITATIVA Y CARACTERIZACION DE  
OCTADECILSILICE PARA CROMATOGRAFIA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO ACADEMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS,  
CON ESPECIALIDAD EN QUIMICA ANALITICA

POR

ISABEL DEL CARMEN SAENZ TAVERA

MONTREUSE, N. L.

DE DICIEMBRE DE 1981

TM  
QD 79  
-CH  
S2



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

Q.I. ANDRES CERDA ONOFRE  
Director de la Facultad de  
Ciencias Químicas.  
P r e s e n t e.-

Mediante este conducto hacemos de su conocimiento que la  
TESIS elaborada por L.Q.I. ISABEL DEL CARMEN SAENZ TAVERA,  
titulada:

"OBTENCION Y CARACTERIZACION DE OCTADECILSILICE PARA  
CROMATOGRAFIA"

ha sido aceptada como requisito parcial para obtener el grado  
académico de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
ESPECIALIDAD QUIMICA ANALITICA

en virtud de haber cumplido integralmente con el reglamento de  
tesis vigente.

ATENTAMENTE  
EL COMITE DICTAMINADOR

  
M.C. HUMBERTO GARZA ULLOA  
Asesor

  
DR. PORFIRIO CABALLERO MATA  
Sinodal

  
M.C. PERLA ELIZONDO DE COTA  
Sinodal

Vo.Bo.

  
M.C. BLANCA NAJERA DE QUILANTAN  
COORDINADORA DEL POSGRADO EN CIENCIAS

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**OBTENCION Y CARACTERIZACION DE  
OCTADECILSILICE PARA CROMATOGRAFIA**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO ACADEMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS,  
CON ESPECIALIDAD EN QUIMICA ANALITICA**

**POR**

**ISABEL DEL CARMEN SAENZ TAVERA**

**MONTERREY, N. L.; DICIEMBRE DE 1991**

Esta tesis es parte del proyecto "Obtención de Empaques para Columnas Cromatográficas", que ha recibido apoyo financiero de la Secretaría de Educación Pública a través de los convenios C 88-01-0137-136-05 y C90-01-0210-571-01.

Existe interés por parte de la Facultad en comercializar los productos obtenidos en el citado proyecto. Por tal motivo, no es posible reportar en esta tesis toda la información generada.



**El trabajo experimental de esta tesis fue realizado en el Laboratorio de Investigación de la Carrera de Licenciado en Química Industrial, de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en diversas instituciones públicas y privadas bajo la acertada dirección de:**

**M.C. Humberto Garza Ulloa  
Catedrático de la División de Estudios Superiores  
de la Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L.**

**Esta tesis la dedico a tí:**

**ANTONIO**

**Porque sin tu estímulo cariñoso y  
constante nunca la habría  
realizado;**

**y a nuestros hijos:**

**Isabel Adriana**

**y**

**José Antonio**

**Por quienes tratamos siempre de  
superarnos.**

**A mis padres:**

**Arturo y Carmen, los primeros maestros  
de mi vida.**

**A mis hermanos:**

**Arturo, Joaquín, Elena y  
Sandra, con cariño.**

## AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda, siempre desinteresada, de colegas e instituciones que nos abrieron sus puertas para realizar experimentos y análisis que no era posible efectuar en la Facultad.

Quiero manifestar mi agradecimiento a:

- Ing. Sabás Medina, de John Deere.
- L.Q.I. Gaspar Juan Aguirre Delgado, de Zinc Nacional
- L.Q.I. Herminio García e Ing. Arturo Romo de Derivados Metalorgánicos, S.A.
- M.C. Carmina Menchaca, del Instituto de Investigaciones Eléctricas.
- Q.F.B. Héctor Tijerina de Instrumentación Analítica, S.A.
- L.Q.I. Jorge Omar Escobedo, de Esencias y Concentrados, S.A. de C.V.
- M.C. Karim Acuña, de la Facultad de Medicina, de la U.A.N.L.
- M.C. Ernesto Elizalde, del Centro de Investigación en Química Aplicada.
- L.Q.I. Gerardo Cuellar, Q.I. Juanita Cerón y Q.I.

Ma. del Refugio Saucedo de Pigmentos y Oxidos, S.A.

- M.C. Sergio Fernández Delgadillo de Cervecería  
Cuauhtémoc, S.A.

- Sr. Noé Tejeda de Cristalería, S.A.

A la Sra. María del Carmen Flores de Melchor y a mi hermano Ing. José Joaquín Sáenz Tavera, les agradezco que hayan intentado tan afanosamente que yo aprendiera a usar un procesador de palabras.

A nuestra eficiente secretaria Srita. Ma. de los Angeles Reynosa Martínez, muchas gracias por hacer maravillas de mi burdo manuscrito.

Vaya mi gratitud a los auxiliares del Laboratorio de Investigación de la carrera de Licenciado en Química Industrial por ceder parte de su valiosa juventud a la experimentación.

Quiero expresar mi agradecimiento a mis compañeros de los Departamentos de Servicios Profesionales, Microbiología y Análisis Clínicos, al Lic. Heriberto Castro Sandoval, a la Q.F.B. María del Rosario González de Páez y a la M.C. Coralia Martínez Hinojosa por su colaboración en diferentes etapas de la tesis.

Agradezco profundamente al Dr. Porfirio Caballero Mata, a la M.C. Blanca Nájera de Quilantán y a la M. C. Perla Elizondo de Cota el que hayan hecho un espacio entre sus múltiples ocupaciones para revisar mi tesis y orientarme para enriquecerla.

También deseo dar las gracias al Director de la Facultad de Ciencias Químicas, Q.I. Andrés Cerda Onofre y al actual Jefe de la Carrera de Licenciado en Química Industrial, L. Q. I. Celso Rodríguez Flores por la amable atención que siempre brindaron a este trabajo y que se tradujo en solución a los problemas que se fueron presentando.

Agradezco de manera muy especial el impulso recibido de mi maestra Q.I. Yolanda Margarita García de Romero para la realización de este trabajo.

Agradezco la colaboración brindada en todo momento de la M.C. Cruz Imelda Páez Garza, quien ha sabido ser una gran colega y una excelente amiga a lo largo de los años.

De todo corazón agradezco a los adorables abuelitos y tíos de mis hijos, que tantas veces cuidaron con amor de ellos para que yo pudiera dedicarme a la química.

**Y finalmente, le doy gracias a Dios, mi Señor, por todos los beneficios que de él he recibido.**

## RESUMEN

El trabajo de esta tesis consistió en la obtención y caracterización de octadecilsílice para cromatografía mediante una reacción de silanización de gel de sílice con organoclorosilanos.

Se partió de gel de sílice nacional (producto de la tesis Síntesis y Caracterización de Gel de Sílice para Cromatografía) y se hizo reaccionar con octadeciltriclorosilano. Se le dio un proceso de acabado con trimetilclorosilano. La caracterización del producto se realizó principalmente por su espectro de infrarrojo y por su contenido de carbón.

El octadecilsílice se probó en cromatografía en columna en el análisis de colorantes de alimentos y en el de aflatoxinas en maíz.

Se logró obtener octadecilsílice con un contenido de carbón entre 15 y 25%. Su espectro de infrarrojo muestra las diferencias características con respecto a las materias primas. Se obtuvieron excelentes resultados en las pruebas cromatográficas.



## ABREVIATURAS UTILIZADAS

H = Horas.

ODS = Octadecilsílice.

ODTCS = Octadeciltriclorosilano.

TMCS = Trimetilclorosilano.

$\nu$  as = Estiramiento asimétrico.

$\nu$  s = Estiramiento simétrico.

$\delta$  as = Flexión asimétrica.

$\delta$  s = Flexión simétrica.

$\rho$  = Oscilación.

# I N D I C E

	PAGINA
I.- INTRODUCCION.	
A) ANTECEDENTES.	1
B) SINTESIS DE OCTADECILSILICE.	4
C) CARACTERIZACION DE OCTADECILSILICE.	14
D) OBJETIVOS DE LA TESIS.	27
II.- PARTE EXPERIMENTAL.	
A) MATERIALES.	28
B) EQUIPO.	29
C) SINTESIS.	30
D) CARACTERIZACION.	31
E) EVALUACION.	34
III.- RESULTADOS	
A) SINTESIS Y CARACTERIZACION.	35
B) EVALUACION.	50
IV.- DISCUSION DE RESULTADOS	54
V.- CONCLUSIONES	57
VI.- BIBLIOGRAFIA	59

## **VII.- APENDICES**

	<b>PAGINA</b>
<b>A) AISLAMIENTO DE COLORANTES DE ALIMENTOS EN COLUMNAS DE ODS.</b>	<b>66</b>
<b>B) METODO DE DOS COLUMNAS PARA LA EXTRACCION DE AFLATOXINAS POR FASE SOLIDA INVERSA EN MUESTRAS DE MAIZ.</b>	<b>67</b>
<b>C) DETERMINACION DE AREA SUPERFICIAL.</b>	<b>77</b>
<b>D) PLAN COMERCIAL PROPUESTO.</b>	<b>89</b>

## I N D I C E   D E   T A B L A S

	PAGINA
I.-      Resumen de los Métodos de Síntesis para Fases Unidas.	6
II.-     Resumen de los Métodos de Caracterización de Fases Unidas.	16
III.-    Reproducibilidad del Proceso.	36
IV.-    Absorciones Características de los Organosilanos.	43
V.-     Absorciones Características de Grupos OH.	44
VI.-    Determinación de Area Superficial.	46
VII.-   Cálculo de Rendimiento.	49

## I N D I C E   D E   F I G U R A S

	PAGINA
1.- Rutas de Síntesis para Fases Unidas.	5
2.- Reacción entre halo o alcoxisilanos y gel de sílice en un solvente seco.	9
3.- Reacción entre halo o alcoxisilanos polifuncionales y gel de sílice en un solvente con impurezas próticas.	10
4.- Aparato para la determinación de área superficial específica de polvos por adsorción de nitrógeno.	23
5.- Evaluación del tamaño de partícula por comparación con células rojas de la sangre bajo un microscopio.	24
6.- Espectro de infrarrojo de gel de sílice.	38
7.- Espectro de infrarrojo de ODTCS.	39
8.- Espectro de infrarrojo de TMCS.	40
9.- Espectro de infrarrojo de ODS sin recapear.	41
10.- Espectro de infrarrojo de ODS recapeado.	42

11.- Fotografías tomadas en microscopio óptico: A) Gel de Sílice, B) ODS (400 aumentos).	45
12.- Retención de aflatoxinas en ODS.	53

## I.-INTRODUCCION.

### A).- ANTECEDENTES.

En los últimos 20 años, las fases estacionarias químicamente unidas han aumentado tremendamente la versatilidad de las separaciones cromatográficas. Aunque fueron primeramente empleadas en cromatografía de gases, el crecimiento explosivo en la utilización de las fases unidas va de la mano con el desarrollo de la cromatografía de líquidos de alta resolución.

Las fases estacionarias químicamente unidas resuelven varios problemas en la selección de fases estacionarias cromatográficas. Los adsorbentes convencionales están restringidos en la versatilidad de aplicaciones. En cromatografía de partición, es difícil encontrar pares de líquidos que posean inmiscibilidad entre sí y propiedades solventes para los componentes de la muestra.

Además, es tedioso mantener una película delgada e inmóvil de líquido sobre un soporte sólido inerte. Estas fases recubiertas físicamente sangran a altas temperaturas, cambian las características de la columna y

restringen o imposibilitan el uso de ciertos detectores sensibles, como el espectrómetro de masas.

En principio, estos problemas se eliminan si la fase estacionaria consiste de partículas de diámetro pequeño, cuya superficie esté cubierta con moléculas orgánicas, preferentemente largas, químicamente unidas a ellas. Estas fases estacionarias deben ser mecánicamente, térmicamente y solvolíticamente estables, insolubles en las fases móviles convencionales y, por su naturaleza, equivalentes a las películas líquidas sobre soportes inertes (19).

El uso de columnas de fase unida evita la necesidad de presaturar la fase móvil con fase estacionaria. Se elimina el sangrado de la fase estacionaria orgánica. Como un resultado de estas ventajas operacionales, los empaques de fase unida, particularmente aquéllos unidos a grupos silano, han adoptado un papel importante en separaciones por cromatografía de líquidos (14).

Las fases hidrocarbonadas químicamente unidas han demostrado especial utilidad en separaciones en fase reversa de diversos compuestos orgánicos (23 y 25).

Existen en el mercado, desde hace muchos años



empaques con capa unida octadecil monomérica y polimérica (14). El octadecilsílice es el empaque de fase reversa de mayor aplicación en cromatografía de líquidos (11). Con base en esta información y dado que actualmente no se fabrica en el país el octadecilsílice y que tiene una gran demanda, se eligió su síntesis y caracterización como tema de esta tesis.

## B). SINTESIS DE OCTADECILSILICE.

La mayoría de los soportes cromatográficos son materiales silícicos, aunque también se han reportado fases unidas sobre alúmina (2). Se aprovecha la reactividad de los grupos hidroxilo superficiales para preparar las fases estacionarias unidas.

Existen tres rutas de síntesis para preparar fases unidas; silanización, esterificación y alquilación (Figura No. 1).

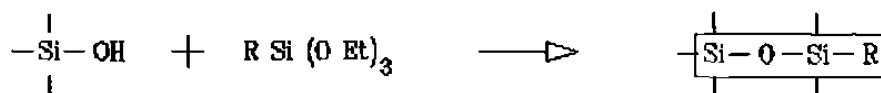
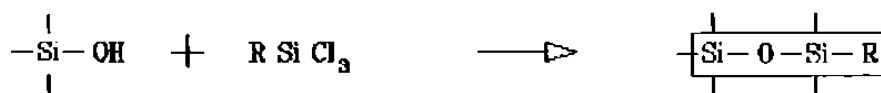
En la tabla I se presenta un resumen de los métodos de síntesis mencionados y que a continuación se describen:

### Silanización.

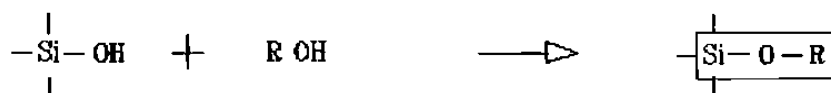
La silanización consiste en la reacción de organosilanos con gel de sílice. Las fases obtenidas así son las más inmunes a la hidrólisis debido a la formación de enlaces Si-O-Si-R (10). Por este motivo se decidió utilizar esta ruta de síntesis en este trabajo.

El proceso de silanización ha sido y sigue siendo el más ampliamente utilizado (2, 5, 6, 9, 10, 12, 14, 18, 21, 22, 23, 26, 29 y 34).

### Silanización



### Esterificación



### Alquilación

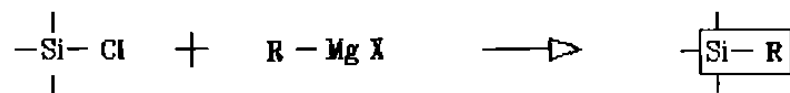
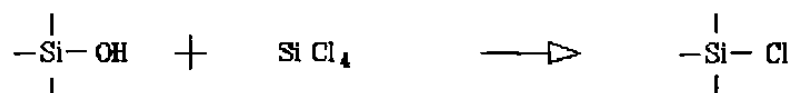


Figura 1. Rutas de Síntesis para Fases unidas

TABLA I

Resumen de los Métodos de Síntesis para Fases Unidas

Método	Reactivo Derivatizante	Condiciones de Reacción	Observaciones
Silanización <sup>a</sup>	Clorosilanos <sup>b</sup>	.Reflujo <sup>c</sup> .Reflujo en atmósfera inerte (14) .Rotavapor (21) .Evaporar el reactivo bajo una columna de sílice (30)	Forma enlaces Si-O-Si-R, que son los más resistentes a la hidrólisis. Se pueden preparar fases mono, oligo y poliméricas.
	Alcoxisilanos <sup>d</sup>	.Agitación (12) .Calentamiento o reposo (6).	
	Silil enolato de acetilacetona (2).	Radiación gamma (2).	
Esterificación <sup>e</sup>	Alcoholes <sup>e</sup>	.Reflujo (6) .Calentamiento a presión (6).	Forma enlaces Si-O-R, susceptibles de hidrólisis.
Alquilación <sup>f</sup>	SiCl <sub>4</sub> y organometálicos (19)	Reflujo (19)	Forma enlaces Si-C, que son muy estables. La Síntesis es compleja.

a= Referencias 2, 5, 6, 9, 10, 12, 14, 18, 21, 22, 23, 26, 30 y 34.

b= Referencias 5, 6, 9, 10, 12, 14, 22 y 34.

c= Referencias 6, 10, 12, 18, 22 y 26.

d= Referencias 6, 10, 12, 23, y 26.

e= Referencias 6, 10, 19, y 30.

f= Referencias 6, 10, 11, 18 y 19.

Como reactivos silanizantes se pueden usar clorosilanos (5, 6, 9, 10, 12, 14, 23 y 34), alcoxisilanos (6, 10, 12, 23 y 26) o bien, un silil enolato de acetilacetona (2). En este proyecto se usaron clorosilanos por ser de los más recomendados en bibliografía y los más accesibles.

Las condiciones de reacción son muy variadas. La mayoría de los investigadores realizan la silanización refluendo el gel de sílice seco con el reactivo silanizante en un solvente seco también (6, 10, 12, 18, 22 y 26). Kirkland utiliza reflujo en atmósfera inerte (14). Majors y Hopper efectúan la reacción en rotavapor (21). Sorrell y Rousan reportan que es posible hacer la silanización evaporando el reactivo silanizante bajo una columna de sílice (29). Cuando se usan alcoxisilanos, Cox reporta que es posible llevar a cabo la reacción por simple calentamiento o aún dejando la mezcla en reposo (6) y Jones y sus colaboradores afirman que con sólo agitar la mezcla de reacción se obtiene la fase unida (12). Bien-Vogelsang utiliza radiación gamma para silanizar con silil enolatos de acetilacetona (2). En esta tesis se probaron varias formas de llevar a cabo la

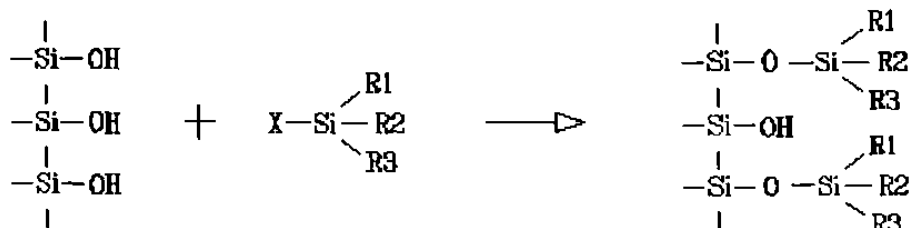
reacción.

El tipo de fase unida que se obtiene depende de la funcionalidad del reactivo silanizante y de la presencia de impurezas prácticas en el medio de reacción. En la Figura No. 2 se muestran las reacciones que tienen lugar entre mono-, di- y tricloro o alcoxisilanos y gel de sílice en un solvente seco; y en la Figura No. 3 se presenta el tipo de producto que se obtiene si hay impurezas prácticas en el medio de reacción.

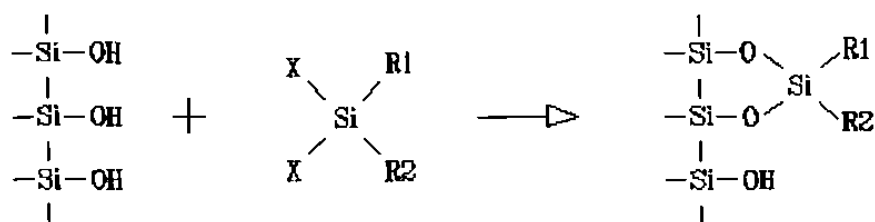
Sander (27), Grushka (10) y Glajch (9) afirman que la utilización de reactivos polifuncionales y de humedad en el medio de reacción conduce a la obtención de fases unidas poliméricas. Por razones estéricas, sólo dos de los tres cloros o grupos alcoxi pueden reaccionar con los silanoles superficiales. Los grupos que quedan sin reaccionar en el organosilano pueden ser fácilmente hidrolizados a hidroxilos que luego son capaces de unirse a moléculas de reactivo en exceso para formar el recubrimiento polimérico.

Las fases unidas poliméricas son más resistentes a la hidrólisis que las fases monoméricas, aunque tienen el

a) Monofuncional



b) Bifuncional



c) Trifuncional

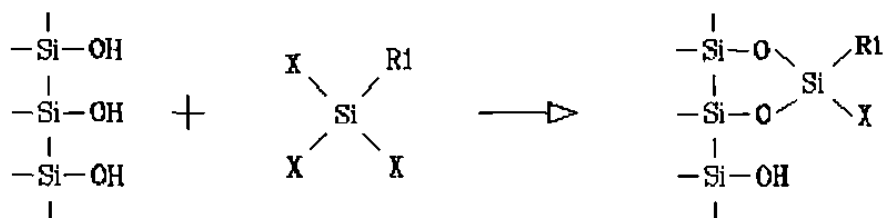


Figura 2. Reacción entre Halo o Alcoxisilanos y Gel de Silice en un solvente seco

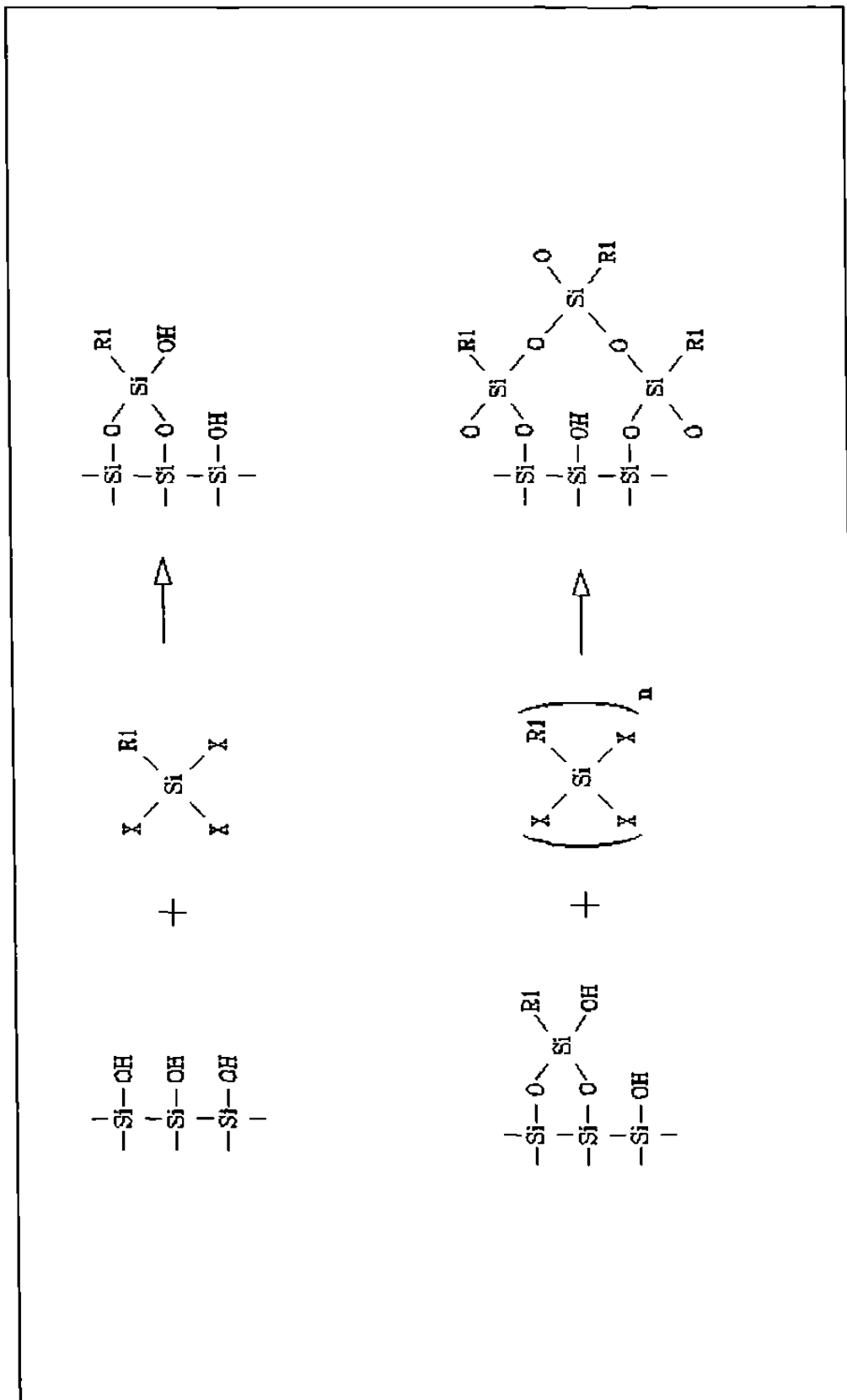


Figura 3. Reacción entre Halo o Alcoxisilanos polifuncionales y Gel de Sílice en un solvente con impurezas Prólicas



inconveniente de no ser tan reproducibles como las últimas (9 y 32). Su alta estabilidad permite utilizarlas con buenos resultados, en separaciones que requieren valores extremos de pH. Además, la síntesis de fases poliméricas requiere condiciones menos rigurosas que la de fases monoméricas. Con base en esta información se decidió sintetizar ODS polimérico en esta tesis. Como reactivo silanizante se utilizó el octadeciltriclorosilano (ODTCS).

Como se aprecia en las Figuras 2 y 3 quedan sin reaccionar algunos sitios -OH por ser poco accesibles para el ODTCS. Estos hidroxilos libres pueden interferir con la separación cromatográfica debido a mecanismos de retención mixtos (10). La interferencia polar de estos grupos silanol conduce a características indeseables en las fases poliméricas, como el coleo y la baja eficiencia (32). El problema se resuelve haciendo otra reacción de silanización, pero esta vez con un reactivo de menor tamaño. A este proceso se le llama "acabado" o "recapeado". Se utilizó en este trabajo el trimetilclorosilano (TMCS), tal como lo recomiendan Pryde (25), Cheng (8) y Verzele (32).

### Esterificación

En la esterificación se hace reaccionar gel de sílice con alcoholes y se obtiene una fase unida monomérica o tipo "cepillo" con enlaces Si-O-R, siendo R el radical unido. Estas fases son susceptibles de hidrólisis y no pueden emplearse con fases móviles acuosas (6, 10, 19 y 29). Tienen usos muy limitados. La mayoría de los autores actualmente, ni siquiera mencionan esta ruta de síntesis para fases unidas.

### Alquilación.

La reacción fundamental es entre un reactivo de Grignard y gel de sílice clorinado para dar el enlace directo Si-C. Estos enlaces son particularmente estables a la temperatura y a la hidrólisis (19 y 23).

Si la capa orgánica primaria unida al gel de sílice es reactiva, se pueden introducir sobre ella otros sustituyentes de cualquier funcionalidad y/o longitud de cadena y así tener fases estacionarias de diferentes selectividades (19). Matlin y colaboradores consideran que las fases unidas obtenidas por alquilación son de carácter monomérico (23), y reportan que el cubrimiento

superficial que se obtiene es menor que el obtenido por silanización, ya que los reactivos de Grignard se solvatan de manera importante y atacan menos sitios reactivos del soporte.

En términos generales, la síntesis de fases unidas por alquilación involucra los siguientes pasos (19):

- Síntesis de  $\text{SiCl}_4$ .
- Reacción del  $\text{SiCl}_4$  con el gel de sílice en un solvente seco.
- Preparación del reactivo de Grignard.
- Reacción del Grignard con el gel de sílice clorinado.
- Aislamiento, lavado y secado del producto.
- Reacción posterior si se desea introducir otra funcionalidad u otra longitud de cadena en la fase unida.

En vista de que esta ruta de síntesis tiene cierta complejidad y de que no se encontró reportada en la literatura la síntesis de ODS por alquilación, no se consideró ésta como una alternativa prometedora para este proyecto y no se probó.

### C) CARACTERIZACION DE OCTADECILSILICE.

Todos los investigadores coinciden en caracterizar las fases unidas por la cantidad de material orgánico unido y por su desempeño cromatográfico. Así, Sander (27), Grushka (10) y otros (21, 23, y 32) recomiendan caracterizar la fase unida con radical alquilo por su cubrimiento superficial. Bien-Vogelsang (2) lo reporta sencillamente como el contenido de carbón. Locke (19) utiliza el término "contenido orgánico para indicar cuánto radical orgánico se unió al gel de sílice. Verzele (31) afirma que puede determinarse por termogravimetría, pero él sugiere un método simplificado de calentar y pesar reportando los resultados como % de material perdido al calentar.

Crowther (7) y Verzele (31) consideran que es importante determinar la composición exacta de la fase unida y concuerdan con Bien-Vogelsang (2) en que debe analizarse la concentración de silanoles residuales.

Las propiedades cromatográficas de las fases químicamente unidas pueden verse muy influenciadas por las propiedades físicas y químicas del soporte de gel de

sílice (7). Algunos investigadores hacen hincapié en caracterizar exhaustivamente al gel de sílice de partida y analizar en la fase unida los mismos parámetros que se usaron para el gel de sílice, además de los antes mencionados. Kölher (16) determina a las fases unidas el análisis elemental, el área superficial, y realiza análisis para determinar la estructura del radical orgánico unido. Y Verzele (31) caracteriza las fases unidas por el tamaño de partícula y su distribución, el área superficial, el diámetro de poro promedio, impurezas, cantidad y naturaleza de fase unida y desactivación de sitios activos. Rehák (26) también utiliza el análisis elemental y el área superficial, además de la distribución del tamaño de poro para caracterizar fases unidas.

Más adelante se presenta una descripción de los métodos que se utilizan para analizar los parámetros que se han mencionado. La información resumida se muestra en la Tabla II. En este trabajo se caracterizó el producto mediante su espectro de infrarrojo, su % de cubrimiento utilizando la fórmula de Majors (21), el % de carbón se determinó por gravimetría y por horno de inducción, el diámetro de poro promedio según Verzele (31), la forma de

TABLA II

Resumen de los Métodos de Caracterización de Fases Unidas

Parámetro	Forma de Reporte	Método
Cantidad de fase unida	Contenido de C (2)	Análisis elemental
		Densidad diferencial (8)
		Horno de inducción
	Contenido orgánico (19. y 31).	Calcinación
	Cubrimiento superficial (10, 21, 23, 27 y 32).	Calcinación y aplicación de una fórmula.
Naturaleza del radical unido (7, 21, 25 y 33)	Identificación del radical	Espectroscopía de Infrarrojo (7, 21 y 25)
		Hidrólisis ácida y cromatografía de gases capilar (7).
		Cromatografía de gases, espectrometría de masas (33).
Forma de las partículas	Descripción de la forma.	Microscopía óptica.
Concentración de silanos residuales (2 y 31)	Positiva o negativa	Reacción al rojo de metilo (31).
		Reacción del borano (2)
Área superficial (16, 26 y 31).	m <sup>2</sup> /g	Desorción térmica (26).
		BET (16 y 31)
Tamaño de partícula y distribución (31).	Micras	Coulter Counter (31).
		Comparación con células rojas (31).
Diámetro de poro promedio (31).	nm	A partir de área superficial y volumen de poro total.

la partícula por microscopía y el área por el método BET.

#### Cantidad de Fase Unida.

Se puede reportar en varias formas:

##### \* % de Carbón.

Se reporta el %p de carbón como resultado de un análisis elemental, que puede ser por gravimetría, por horno de inducción, o bien por un método reportado por Cheng y que se basa en mediciones de densidad (8).

En esta tesis se determinó el % de carbón por método gravimétrico y por horno de inducción.

##### \* Contenido Orgánico.

La fase unida se lava en un embudo Buchner con hexano, éter y cloroformo y se seca por aspiración. Se anota el peso antes y después de calentar en un mechero Meker en un crisol de porcelana, y el contenido orgánico se expresa como % del peso seco del producto (19).

##### \* Cubrimiento Superficial.

Se puede reportar en términos de peso de fase unida por unidad de área superficial del soporte, o también como

moles de fase unida por área superficial (10, 16, y 32).  
Específicamente, Wickramanayake (35) utiliza esta fórmula  
para el cálculo

$$\alpha_{\text{exp}} = \frac{\% \text{ org} \times 10^6}{PM_{\text{org}} \times S \times (100 - \% \text{ org})}$$

donde  $\alpha_{\text{exp}}$  es la cantidad de micromoles de reactivo unido  
por metro cuadrado de soporte,  $PM_{\text{org}}$  es el peso molecular  
gramo de la porción silil del reactivo ( $C_{18}H_{37}Si-$ ), % org  
es el porcentaje de materia orgánica calculado del % de C  
y S es el área superficial del soporte por el método BET  
en  $m^2/g$ .

El cubrimiento superficial también puede ser  
reportado en términos del porcentaje de grupos silanol  
superficiales reemplazados por la fase unida (10). Para  
esto deben hacerse varias suposiciones. La primera es que  
hay cuatro grupos OH por  $nm^2$  disponibles para la reacción.  
La segunda suposición es que de los grupos OH disponibles,  
cuando mucho el 80% reaccionará realmente con el  
organosilano. Si se usa un silano trifuncional, se asume  
que cada molécula interacciona sólo con dos hidroxilos  
superficiales y que no hay polimerización.



Se plantea el cálculo de la siguiente manera:

# de OH's superficiales accesibles = (área  $m^2/g$ )(g)(4 OH/nm<sup>2</sup>)  $10^{18}$  nm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>

# de moles de grupos OH accesibles =  $\frac{\text{# de OH's superficiales accesibles}}{6.023 \times 10^{23}}$

# de moles de organosilano unidos =  $\frac{(\% C) (g \text{ soporte})}{(100) (12) (\# \text{ de C en el silano})}$

% de OH involucrados en la reacción =  $\frac{\text{moles de organosilano unidos} (2) (100)}{\text{moles de grupos OH accesibles}}$

% de cubrimiento =  $\frac{\% \text{ de OH involucrados}}{\% \text{ de OH disponibles}} = \frac{\% \text{ de OH invol.}}{75}$

Majors (21) recomienda reportar el % de cubrimiento en una forma más simple y libre de suposiciones.

% de cubrimiento (en peso) =  $\frac{W_b \times 100}{W_b + W_s}$

donde  $W_b$  es el peso de la fase unida en gramos y  $W_s$  es el peso del gel de sílice.

En esta tesis se prefirió reportar % de cubrimiento

de acuerdo a la fórmula de Majors.

**\* Calentar y Pesar.**

Se calientan 100 mg de muestra por 2 horas a 110°C para eliminar agua u otros solventes presentes. Las muestras secas se calientan a 600°C por 1 hora en un crisol para perder todo el material orgánico unido al gel de sílice. Pesando antes y después del calentamiento se obtiene la cantidad de fase unida (31).

Naturaleza del Radical Unido.

Majors (21) Pryde (25) y Crowther (7) reportan la utilización de espectroscopía de infrarrojo para caracterizar el radical unido al gel de sílice. Se preparan pastillas de la muestra con KBr en una prensa hidráulica elevando la presión a 24000 libras en un período de 2 minutos. Luego se deja el dado sometido a presión durante 10 ó 15 minutos.

Posteriormente, se reduce la presión lentamente hasta la atmosférica y se saca la pastilla cuidadosamente del dado.

Verzele (33) propuso en 1980 cromatografía de gases

acoplado a espectrometría de masas para determinar la naturaleza del radical unido.

Crowther (7) reporta el análisis de los productos de hidrólisis ácida de las fases unidas usando cromatografía de gases capilar. El método no es aplicable a este proyecto porque se desarrolló para el análisis de ligandos unidos monofuncionales únicamente, ya que los di- ó trifuncionales darían productos de hidrólisis múltiples.

En esta tesis se utilizó solamente espectroscopía de infrarrojo para determinar la naturaleza del radical unido por ser la única técnica accesible.

#### Concentración de Silanoles Residuales.

El método recomendado por Verzele (31) es el de Shapiro y Kolthoff. Consiste en agitar una pequeña cantidad de fase unida (30-100mg) con 5 mL de una solución de rojo de metilo en xileno o benceno (0.8 g/L). La solución de rojo de metilo es amarillo-café y el sobrenadante debe permanecer coloreado si la fase no tiene silanoles residuales. Con fases muy activas (alta concentración de silanoles) la muestra se vuelve roja y el sobrenadante se decolora. En realidad esta prueba es en

primer término para acidez residual y luego para silanoles libres. Se considera aplicable al producto de esta tesis ya que el gel de sílice de partida se lava perfectamente antes de la derivatización y no trae acidez residual.

Bien-Vogelsang (2) utiliza un método basado en la reacción del borano.

#### Area Superficial.

Rehák la determina por el método de la desorción térmica (26).

Tanto Kölher (16) como Verzele (31) utilizan aparatos cuyo principio se basa en el método BET, pero el último describe uno que ha sido construido en los laboratorios de su universidad y que es más simple que los instrumentos comerciales (Figura No. 4).

En el apéndice C se explica el fundamento del método BET, que fue el que se utilizó para las determinaciones de área del ODS.

#### Tamaño de Partícula.

Para determinar el tamaño y la distribución de tamaño de partícula lo más recomendable es el Coulter Counter.

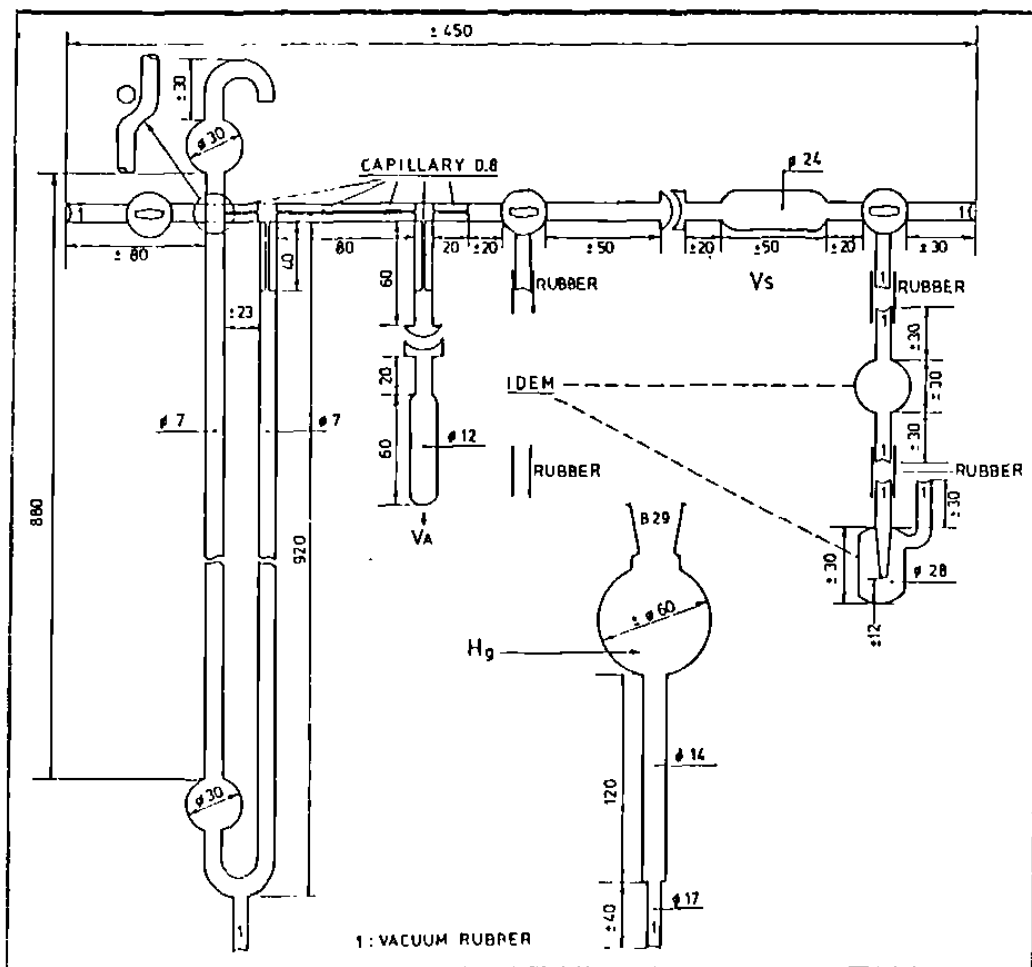
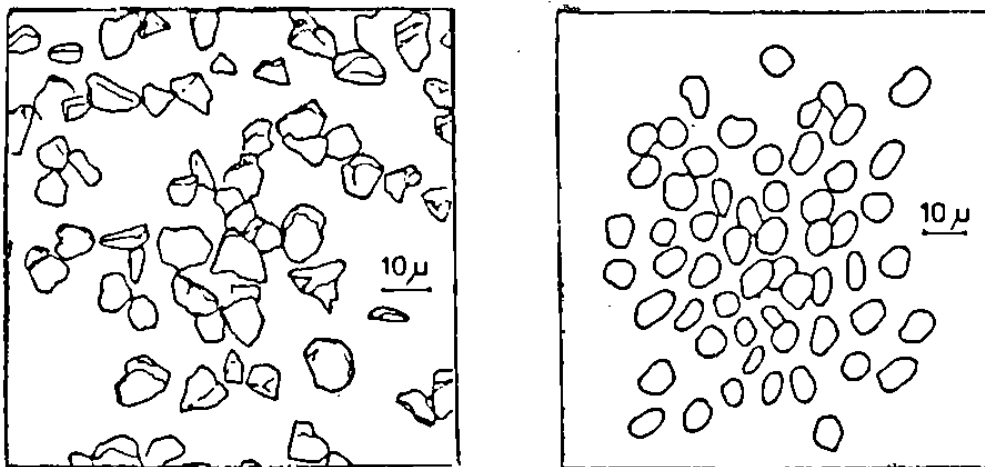


Figura 4

Aparato para la determinación de área superficial específica de polvos por adsorción de nitrógeno.



**Figura 5**

**Evaluación del tamaño de partícula por comparación con células rojas de la sangre bajo un microscopio.**

Sin embargo, este instrumento no está disponible en cualquier laboratorio. Verzele (31) sugiere, para partículas cuyo tamaño está alrededor de 10  $\mu\text{m}$ , compararlas con las células rojas de la sangre bajo un microscopio óptico. Así se puede estimar su tamaño y su distribución de tamaños (Figura No. 5).

#### Diámetro de Poro Promedio.

Según Verzele (31) se determina de acuerdo a la ecuación de Halpaap:

$$d = \frac{4 \text{ TPV}}{S} \times 10^3$$

donde S es el área superficial en  $\text{m}^2/\text{g}$ , TPV es el volumen de poro total en  $\text{mL/g}$  y d es el diámetro de poro promedio en nm.

Una buena aproximación del TPV se puede obtener de la titulación directa con un solvente de fase unida seca. El punto final es justo cuando se moja la muestra y se empieza a aglomerar.

Este método no se considera muy confiable porque el punto final es muy subjetivo y, dependiendo del solvente que se utilice, hay mayor o menor riesgo de evaporación,

dando diferentes valores en diferentes solventes.

### Forma.

Se consideró de importancia este parámetro porque define la uniformidad del empacado en la columna. La forma de las partículas se determina por observación en microscopio óptico.



## **D) OBJETIVOS DE LA TESIS.**

- 1.- Adaptar la tecnología existente para sintetizar octadecilsílice para cromatografía utilizando gel de sílice nacional.**
- 2.- Obtener el ODS polimérico, con un % de cubrimiento igual o mayor a 15.**
- 3.- Caracterizar el octadecilsílice mediante su espectro de infrarrojo y su % de cubrimiento.**
- 4.- Optimizar el procedimiento de síntesis.**
- 5.- Encontrar la presentación del producto más adecuada que permita utilizarlo para purificar y concentrar muestras.**
- 6.- Poner a disposición de la Facultad de Ciencias Químicas el mejor procedimiento encontrado.**

## II.- PARTE EXPERIMENTAL

### A).- MATERIALES.

El octadeciltriclorosilano y el trimetilclorosilano se obtuvieron de Aldrich Chemical Co. (No. de Cat. 10,481-7 y C7,285-4 respectivamente). El gel de sílice utilizado fue fabricado en la Facultad de Ciencias Químicas, producto de la tesis "Síntesis y Caracterización de gel de sílice para Cromatografía" (24) y con las siguientes características: área superficial específica mayor a  $300 \text{ m}^2/\text{g}$ , tamaño de partícula mayor a 50 micras, volumen de poro de  $0.9 \text{ mL/g}$  y humedad menor a 0.2%. El benceno, tolueno, tetracloruro de carbono y metanol se adquirieron de Productos Químicos Monterrey, grado reactivo.

## **B).- EQUIPO.**

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Beckman 4210 y en un Bio-Rad.

Las determinaciones de área superficial fueron realizadas en un Flowsorb II 2300 y en un Quantasorb Surface Area Analyzer.

Se utilizó un microscopio óptico Micapsa modelo Collegiate 400 para observar la forma de las partículas.

### C).- SINTESIS.

Todos los experimentos de síntesis se llevaron a cabo por un proceso de silanización. El reactivo silanizante fue el octadeciltriclorosilano (ODTCS) y para eliminar silanoles residuales se utilizó el trimetilclorosilano (TMCS).

Se hicieron reaccionar en diferentes condiciones el gel de sílice y el ODTCS. Se siguió el progreso de la reacción por el contenido de carbón y se determinaron las condiciones óptimas. Se aisló el producto lavando por decantación con el mismo solvente que se usó como medio de reacción y luego por filtración a vacío con metanol anhidro, se secó. Sobre este producto se repite el proceso de silanización, pero esta vez con TMCS.

## D).- CARACTERIZACION.

La caracterización se realizó de acuerdo a los parámetros recomendados en la bibliografía.

### 1.- Cantidad de Fase Unida.

Se calculó el % de superficie cubierta a partir del contenido de carbón. Este se determinó por dos métodos: horno de inducción Leco y por calcinación. Para el último método se pesan 0.5 g de muestra secada a vacío a 82°C y se calcinan a 950°C hasta peso constante. Se atribuye la pérdida en peso a C e H unidos al gel de sílice.

Si sólo se ha unido el radical octadecilsilil  
( $\overset{18}{\text{C}} \overset{37}{\text{H}} \overset{\text{Si}}{\text{---}}$ ) la relación de C:H es de 18:37. El peso fórmula de 18 átomos de C es de 216 y de 37 átomos de H es de 37. La proporción en peso H/C es 0.17. Es decir, la pérdida en peso de la muestra equivale a 1.17 veces el peso del carbón. Por lo tanto;

$$\% \text{ C} = \frac{\text{g pérdida} \times 100}{\text{g muestra} \times 1.17}$$

Por un razonamiento semejante se concluye que si el producto ha sido silanizado también con TMCS, entonces;

$$\% \text{ C} = \frac{\text{g pérdida} \times 100}{\text{g muestra} \times 1.18}$$

Los primeros análisis de % de C se realizaron en la compañía John Deere en el horno de inducción. Las mismas muestras fueron analizadas por el método de calcinación en nuestro laboratorio. Los resultados coincidieron y se decidió utilizar solamente el método de calcinación para las muestras posteriores.

## 2.- Naturaleza del Radical Unido.

Se confirmó que se unió el octadecilsilil y el trimetilsilil al gel de sílice por espectroscopía de infrarrojo. Se obtuvieron los espectros de infrarrojo del gel de sílice y del ODS por la técnica de pastilla con KBr en espectrofotómetro dispersivo. Los espectros del ODTCS y del TMCS se obtuvieron del líquido sin diluir.

## 3.- Forma de la Partícula.

Se observó a través de un microscopio óptico.

## 4.- Area Superficial Específica.

Se determinó el área superficial específica en dos instrumentos cuyo principio de operación se basa en el método BET: Flowsorb II 2300 y Quantasorb Surface Area Analyzer.

## 5.- Diámetro de Poro Promedio.

Se determinó el diámetro de poro promedio de acuerdo al método recomendado por Verzele (31), titulando 0.5 g de muestra con tolueno seco hasta que el sólido se empieza a aglomerar. De esta titulación se obtiene el volumen total de poro (TPV), que luego se utiliza en la ecuación de Halpaap para calcular diámetro de poro promedio (d).

## **E).- EVALUACION.**

Una evaluación cromatográfica del ODS se realizó en los laboratorios de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. (1). El ODS se utilizó para eliminar grasa de muestras de maíz y para concentrar aflatoxinas por extracción en fase sólida en un método denominado: dos columnas. Se emplearon columnas pequeñas rellenas de esta fase y tanto por arriba como por debajo de ella se colocó fibra de vidrio, lo mínimo necesario para formar una capa delgada de 2 mm de ancho. El procedimiento detallado del método se describe en el Apéndice B.

También se probó el ODS en los laboratorios de la empresa Esencias y Concentrados, S.A. de C.V. para concentrar colorantes de alimentos y luego inyectarlos en un cromatógrafo de líquidos para su análisis. El procedimiento es el reportado por Lawrence (17) y se describe en el apéndice A.



### III.- RESULTADOS

#### A).- SINTESIS Y CARACTERIZACION.

La evaluación de los experimentos se hizo con base en el espectro de infrarrojo, el contenido de carbón y/o el % de cubrimiento. Se consideró el gel de sílice como blanco y un ODS comercial como testigo.

Se probaron diferentes relaciones molares entre los silanos y el gel de sílice. Para todas las proporciones estudiadas se obtuvo un contenido de carbón aceptable. Se considera aceptable desde aproximadamente 16 % C en adelante, según Horvath (11). Se estableció que el % de carbón aumenta ligeramente al aumentar la proporción de silanos.

Para investigar la reproducibilidad del proceso se realizaron 5 experimentos en condiciones idénticas, con los siguientes resultados 19.54, 20.81, 19.49, 20.69 y 20.54 % C. Se evaluó la desviación estándar S con base en el contenido de carbón, obteniéndose:

$$\% C = 20.21 \pm 0.65 \text{ (ver Tabla III)}$$

El espectro de infrarrojo del ODS muestra varias

TABLA III

Reproducibilidad del Proceso

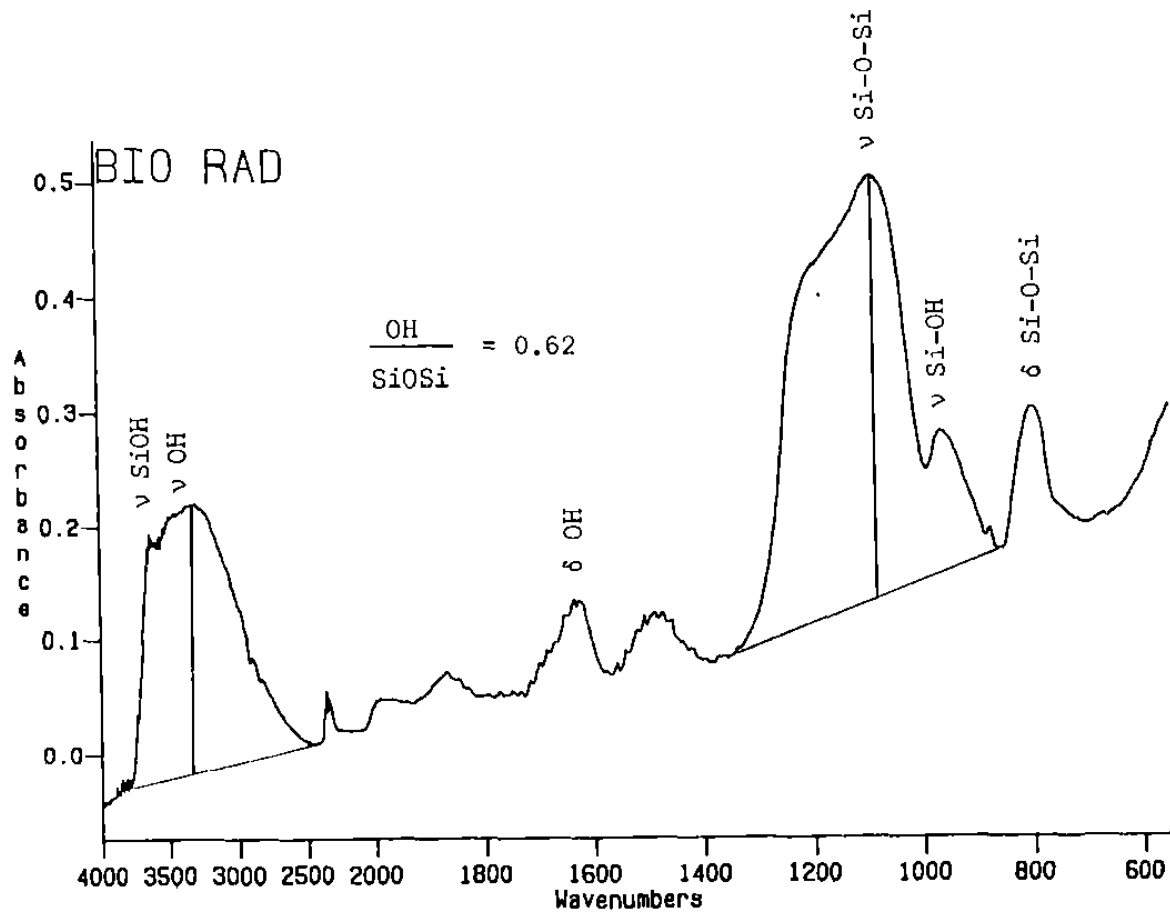
Experimento	% C	D	D <sup>2</sup>	Desviación Estándar
2S	19.54	0.67	0.4489	$S = \sqrt{\sum \bar{D}^2 / n-1}$ $S = \sqrt{0.41665}$ $S = 0.65$
2T	20.81	0.60	0.3600	
2U	19.49	0.72	0.5184	
2V	20.69	0.48	0.2304	
2W	20.54	0.33	0.1089	
Promedio	20.21	0.56		

diferencias con respecto al del gel de sílice (Figura 6). Aparecen en el del ODS (Figuras 9 y 10) picos angostos cerca de los 2820 y 2920  $\text{cm}^{-1}$  y un pico de menor intensidad cerca de los 1460  $\text{cm}^{-1}$ , todos ellos atribuibles a la presencia de enlaces C-H de los radicales orgánicos unidos al producto y que se observan en los silanos (Figuras 7 y 8). Además se observa que en el ODS terminado disminuye la intensidad del pico ancho característico de los grupos OH y que se localiza entre los 3500 y 3000  $\text{cm}^{-1}$ .

En la Tabla IV se incluyen las absorciones características de los organosilanos y en la Tabla V las de grupos OH.

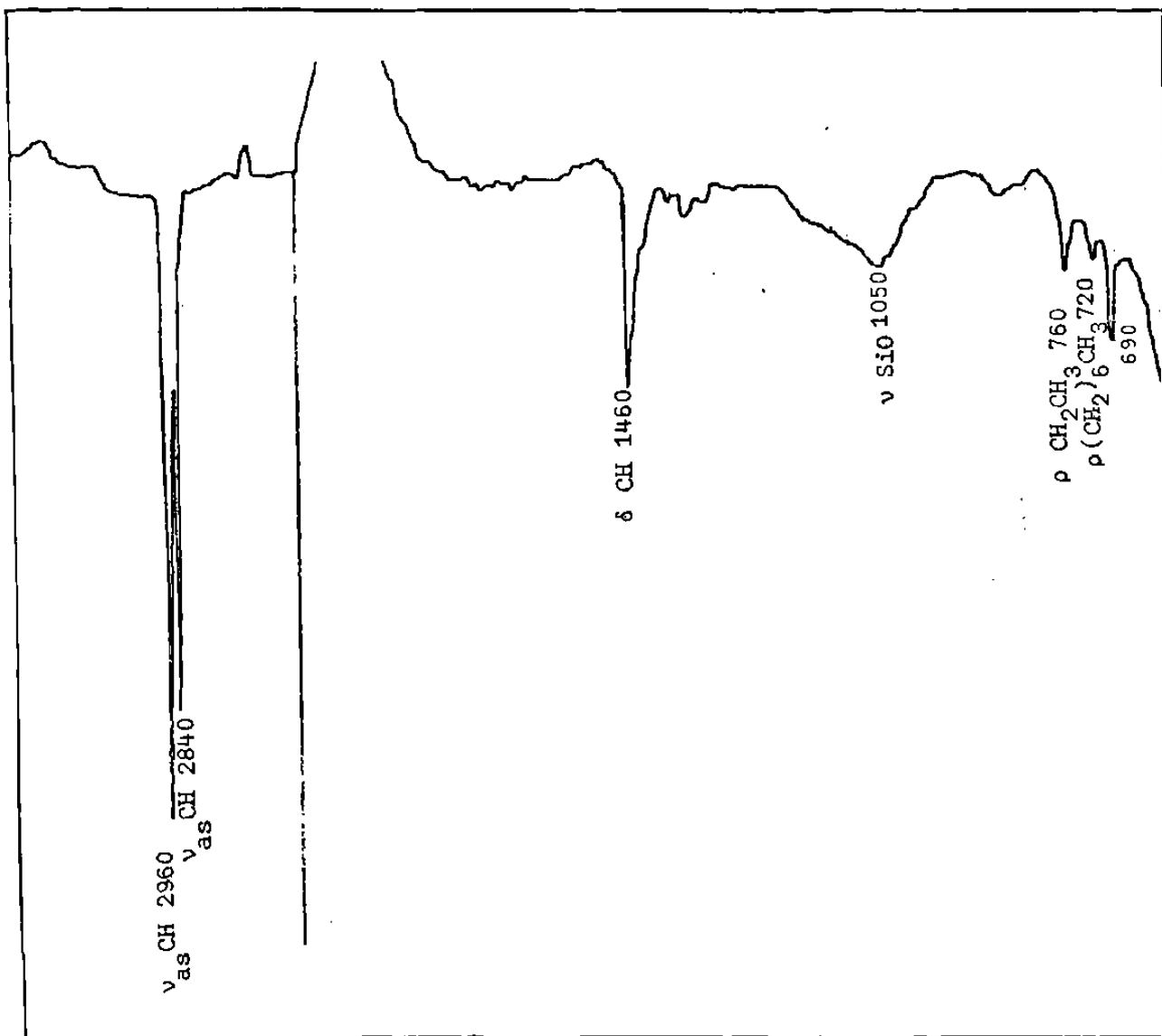
La forma de la partícula del producto resultó igual a la forma de la partícula de gel de sílice empleada como materia prima. En ambos casos se observa forma irregular. Se incluyen fotografías en la Figura 11.

Se realizó la determinación de área superficial en el Flow Sorb II 2300 en la empresa Zinc Nacional y en el Quantasorb Surface Area Analyzer de Derivados Metalorgánicos. Su funcionamiento se basa en la adsorción



U.A.N.L. FAC. DE CIENCIAS QUIMICAS DIV. ESTUDIOS SUPERIORES=

Figura 6  
Espectro de Infrarrojo de Gel de Sílice



**Figura 7**  
**Espectro de Infrarrojo de ODTCS**

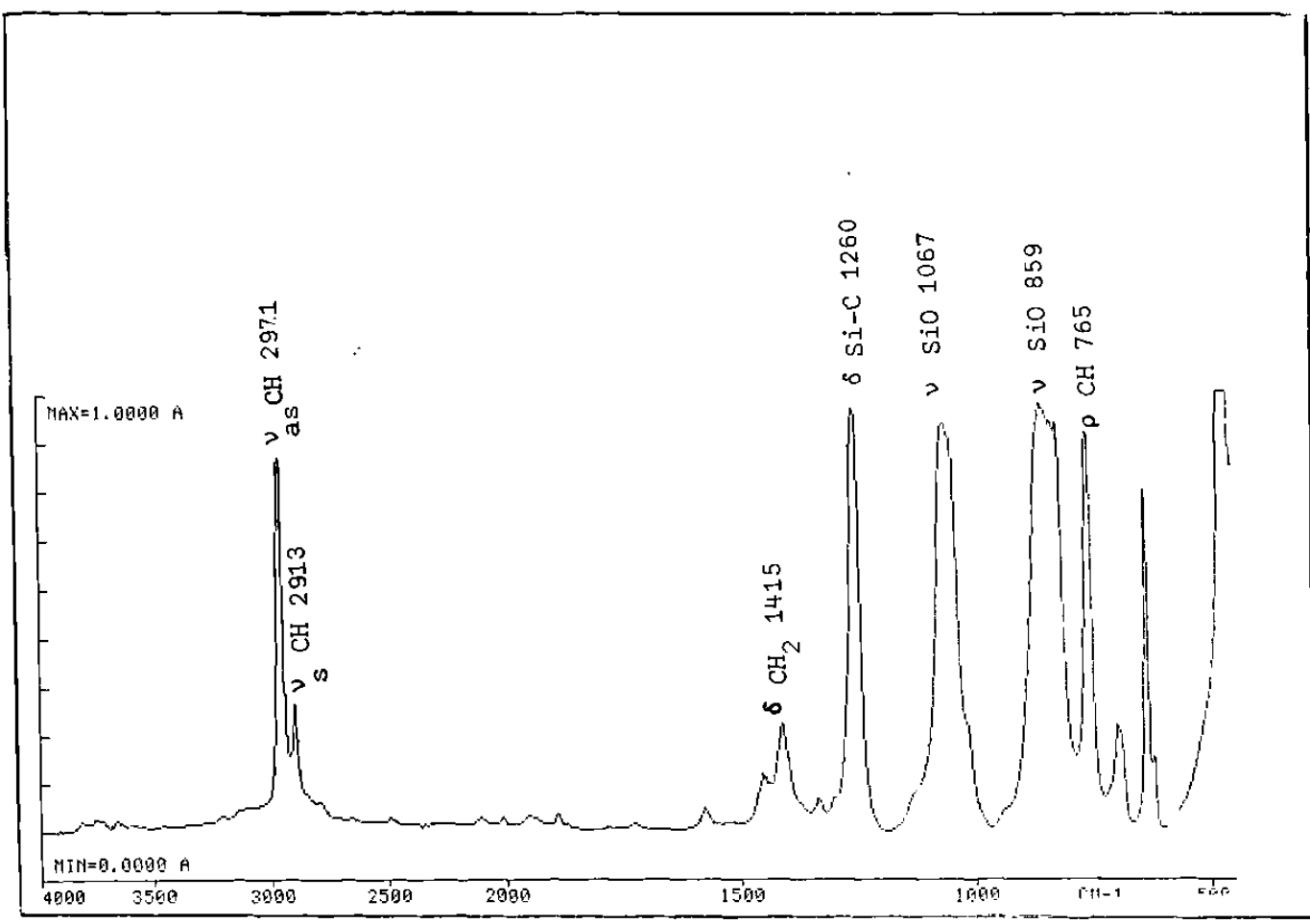


Figura 8  
Espectro de Infrarrojo TMCS

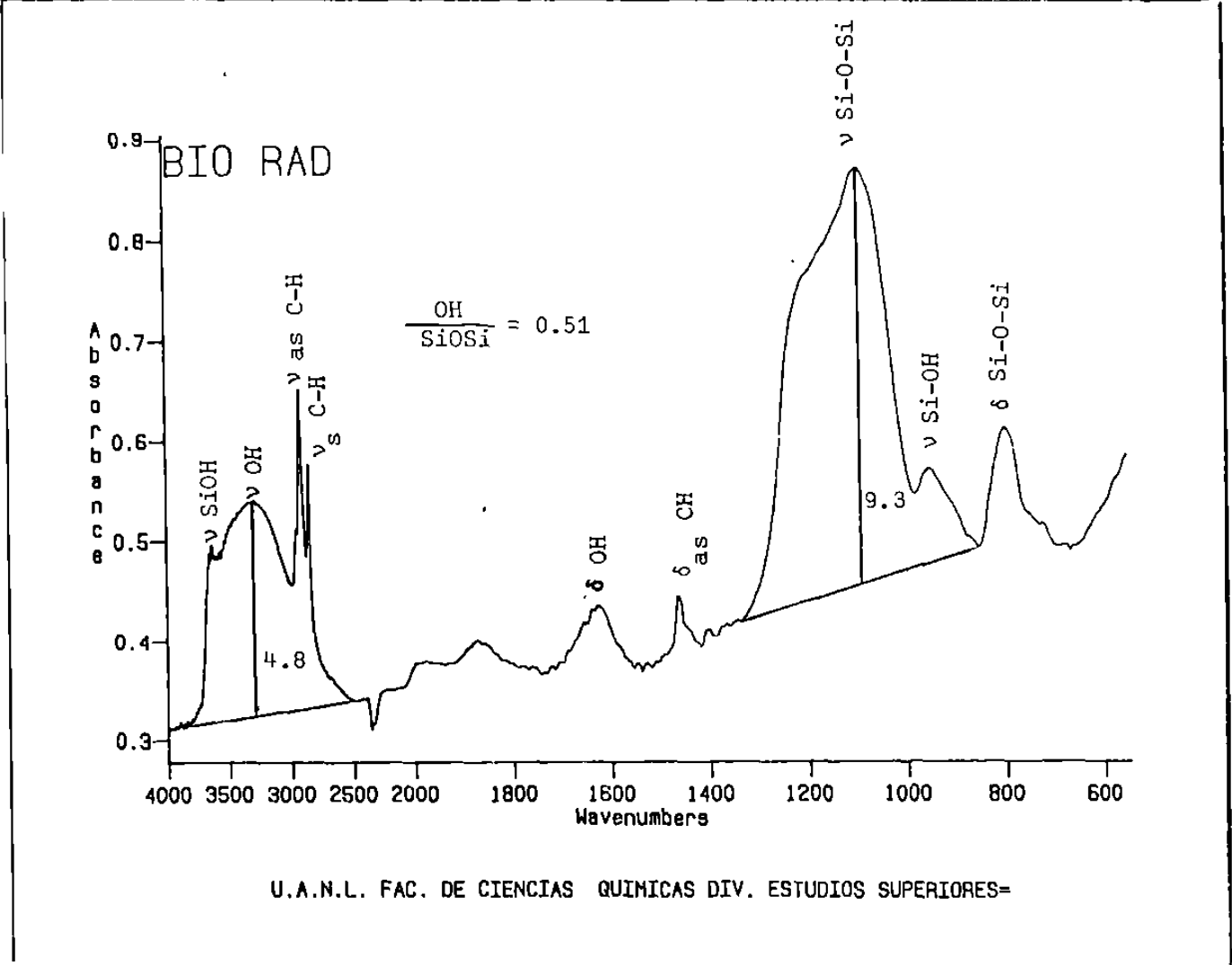


Figura 9  
Espectro de Infrarrojo de ODS sin Recapear

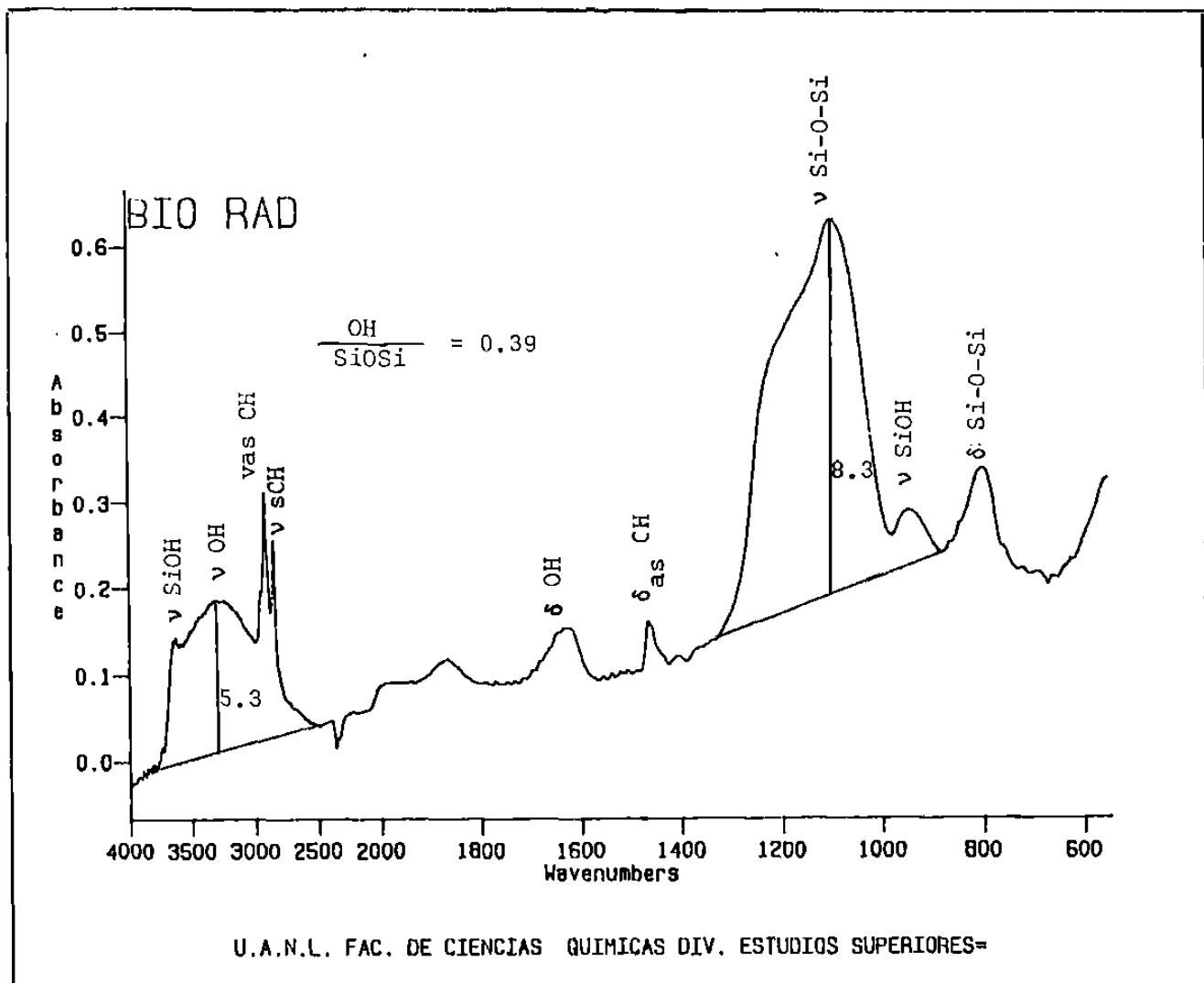


Figura 10  
Espectro de Infrarrojo de ODS Recapeado



TABLA IV

Absorciones Características de los Organosilanos (29)

Vibración	Número de Onda (cm <sup>-1</sup> )
$\nu_{as}$ CH <sub>3</sub>	2972 - 2952 intensa
$\nu_s$ CH <sub>3</sub>	2882 - 2862 menor que $\nu_{as}$
$\delta_{as}$ CH <sub>3</sub>	1475 - 1450 media
$\delta_s$ CH <sub>3</sub>	1383 - 1377 media
$\nu_{as}$ CH <sub>2</sub>	2936 - 2916 intensa
$\nu_s$ CH <sub>2</sub>	2863 - 2843 menor que $\nu_{as}$
$\delta$ CH <sub>2</sub>	1475 - 1450 media
$\rho$ (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CH <sub>3</sub>	724 - 722 débil
$\rho$ CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	785 - 770 débil
$\nu$ OH libre	3650 - 3584 intensa
$\nu$ OH puente de H inter	3550 - 3200 intensa
$\nu$ OH puente de H intra	3600 - 3436 intensa
$\nu$ CO	1260 - 1000 intensa
$\nu$ Si-O-R	1110 - 1000 intensa
$\nu$ Si-O-Si	1110 - 1000 intensa
$\nu$ Si-OH	910 - 830 intensa
$\nu$ Si-OH	3700 - 3200 intensa
$\delta$ Si-CH <sub>3</sub>	1250 - 1290 intensa
$\delta$ OSiO	800
$\delta$ Si-O	460
$\delta$ OH	1630

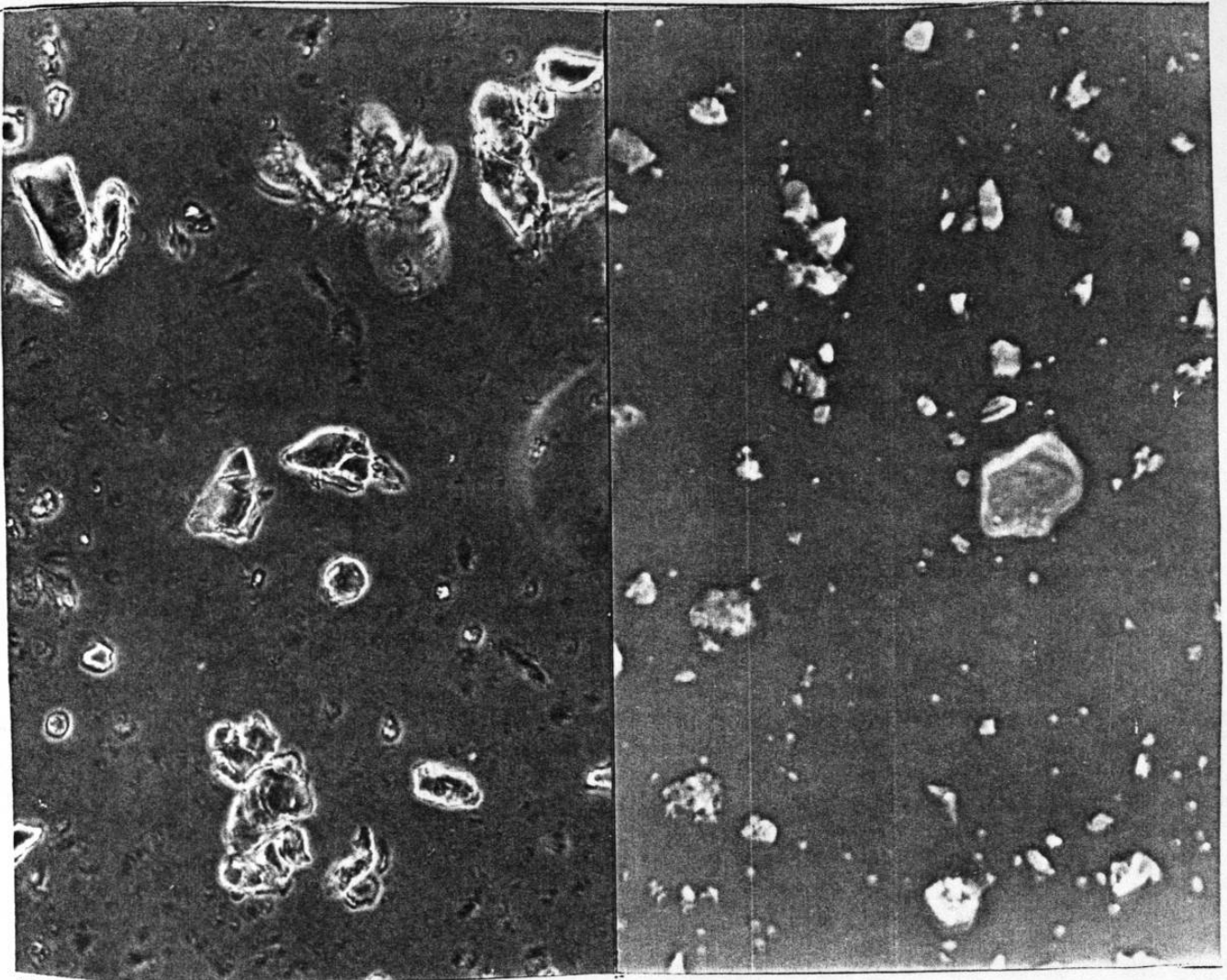
TABLA V

Absorciones Características de Grupos OH (24)

Tipo de Grupo OH	Número de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ )
OH superficial aislado	3745 - 3750
OH's internos unidos por puente de hidrógeno	3650 - 3660
OH's superficiales unidos por puente de hidrógeno	3540 - 3550
H <sub>2</sub> O molecular	3400 - 3500 1627

TABLA VI

Determinación de Área Superficial



a)

b)

Figura 11

Fotografías tomadas en microscopio óptico:

a) Gel de Sílice, b) ODS, (400 aumentos)

**TABLA VI**

**Determinación de Area Superficial**

Muestra	Area en Zinc Nacional	Area en DEMOSA
Gel de Sílice 5I	237.96 m <sup>2</sup> /g	238.22
ODS 2-0	105.91	122.37
Gel de sílice UNAM	215.94	234.57

de gases (apéndice C). Los resultados de estos análisis se presentan en la Tabla VI, donde se aprecia una reducción notable en el área al hacer la derivatización.

El volumen de poro total del ODS resultó ser de 0.65 mL/g y el diámetro de poro promedio de 21 nm. El gel de sílice utilizado como materia prima tenía 0.9 mL/g y 15 nm respectivamente. Como se puede observar, al hacer la derivatización el volumen de poro total disminuye y el diámetro de poro promedio aumenta.

Se hizo una estimación del rendimiento de la reacción de la siguiente manera:

Primero se calculan los gramos que se pierden al calcinar 1 g de producto ( $g_{pc}$ ).

$$g_{pc} = \frac{\%C \times 1.18}{100}$$

Con esto se calculan luego los gramos que se perderían al calcinar todo el producto ( $g_{pt}$ ).

$$g_{pt} = g_{pc} \times \text{Rendimiento bruto},$$

donde el rendimiento bruto son los gramos de ODS que se obtuvieron por cada gramo de gel de sílice. Luego  $g_{pt}$  se

resta al rendimiento bruto para obtener los gramos de gel de sílice al final de la reacción ( $g_f$ ).

$$g_f = \text{Rendimiento bruto} - g_{pt},$$

y finalmente el rendimiento neto se calculó

$$\% \text{ Rendimiento neto} = \frac{g_f}{g_i} \times 100$$

donde  $g_i$  son los gramos de gel de sílice que se cargaron al empezar.

Se tomaron los datos de 5 experimentos tipo para calcular el % Rendimiento neto y dio 90.3 (ver Tabla VII).

El costo para producir 1g de ODS es de \$2,906.00, mientras que el de importación cuesta aproximadamente \$5,200.00.

TABLA VII

Cálculo de Rendimiento

Experimento	% C	Rto. Bruto	$\xi_{pc}$	$\xi_{pt}$	$\xi_f$	% Rto. Neto
2V	20.69	1.17	0.244	0.285	0.885	88.5
2W	20.54	1.21	0.242	0.293	0.917	91.7
2X	18.28	1.19	0.216	0.257	0.932	93.2
8A	18.84	1.17	0.222	0.260	0.91	91.0
8B	19.49	1.13	0.230	0.26	0.87	87.0
Promedio						90.3

## **B).- EVALUACION.**

Los resultados de la evaluación realizada en la empresa Esencias y Concentrados, S.A. de C.V. Se reportan en las siguientes dos hojas.

La evaluación del ODS realizada en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. dió los siguientes resultados: retuvo los compuestos grasos en la primera columna; y las aflatoxinas fueron concentradas en la segunda, para luego ser eluidas y analizadas por HPLC. La información detallada se presenta en el apéndice B. La eficiencia de la retención de aflatoxinas se demuestra en la Figura 12.





# Esencias y Concentrados, S.A. de C.V.

PARA: L.Q.I. ISABEL DEL CARMEN SAENZ T.  
DE: L.Q.I. JORGE O. ESCOBEDO C.  
ASUNTO: RESULTADOS DEL USO DEL EMPAQUE ODS C<sub>18</sub>.

El empaque octadecilsilíce (ODS) C<sub>18</sub> proporcionado por la Facultad de Ciencias Químicas fue utilizado para concentrar colorantes provenientes de refrescos embotellados. Este último colocando el empaque en una columna preparativa, que es un tratamiento previo que se le dá a la muestra para ser inyectada en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución.

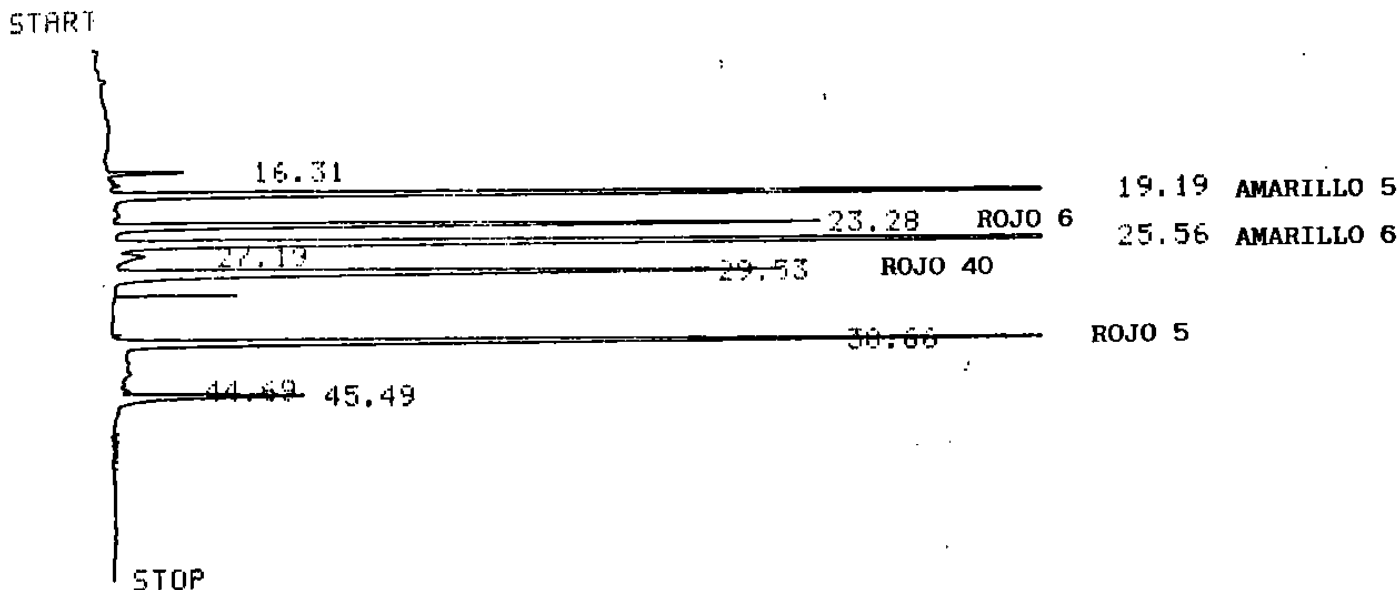
Los resultados obtenidos fueron muy favorables, ya que los colorantes fueron retenidos en la fase y posteriormente eluidos con gran facilidad.

Anexo te presento el cromatograma obtenido.

  
L.Q.I. ~~JORGE O.~~ ESCOBEDO C.

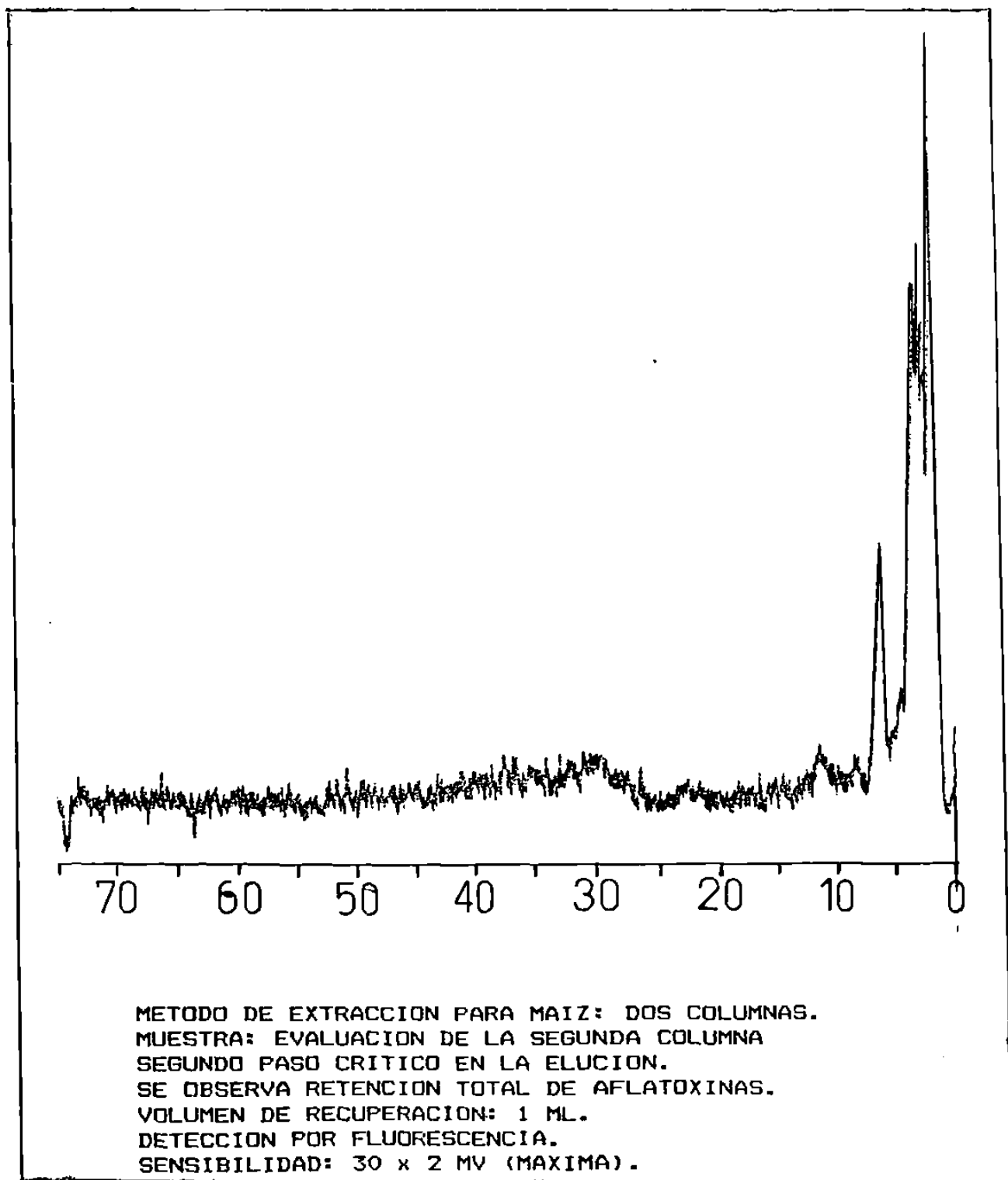


# Esencias y Concentrados, S.A. de C.V.



C-R1A  
 SMPL # 00  
 FILE # 1  
 REPT # 46  
 METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		16.31	0.7513		1510
0		19.19	25.0112		50266
0		23.28	11.4905		23093
0		25.56	26.3937		53045
0		27.19	0.711	V	1429
0		29.53	15.3111	V	30771
0		38.66	16.8533		33871
0		44.69	0.1233		247
0		45.49	3.3542	V	6741
	TOTAL		100		200977



**Figura 12**  
**Retención de aflatoxinas en ODS**

#### IV.- DISCUSION DE RESULTADOS.

La reacción que se está llevando a cabo se representa en la Figura 3.

Como no se ha excluido totalmente el agua del medio, la fase que se forma es polimérica.

Aunque Majors (20) afirma que la fase monomérica tiene mayor eficiencia, experimentos realizados por Sander en 1984 (27) muestran que las fases poliméricas son capaces de dar mejores separaciones cromatográficas y que su proceso de síntesis requiere controles menos rigurosos que la fase monomérica.

Como se mencionó anteriormente, las fases poliméricas se obtienen utilizando reactivos polifuncionales. Por motivos estéricos solo reaccionan 2 de los 3 cloros del reactivo; el tercero se sustituye por OH que toma del agua presente en el medio (3 y 28).

Marshall (22), Pryde (25) y Cheng (8) establecen la necesidad de un proceso de acabado para hacer reaccionar esos hidroxilos libres y dejar en su lugar radicales no polares. Esto se logra introduciendo un reactivo

silanizante de pequeño volumen, por ejemplo: el trimetilclorosilano.

Se confirmó mediante espectroscopía infrarroja que se unió el radical orgánico a la sílice. Como puede apreciarse en las figuras 6-10, hay diferencias entre los espectros de sílice, ODTCS, TMCS y ODS. Los picos localizados en los 2920, 2820 y 1460  $\text{cm}^{-1}$  que aparecen en el espectro del ODS se atribuyen a la presencia del radical orgánico que se unió químicamente. El pico ancho que aparece en la región de 3500-3000  $\text{cm}^{-1}$  y que corresponde al estiramiento O-H disminuye de intensidad al formar el derivado con el ODTCS y disminuye aún más al darle el proceso de acabado con el TMCS, que se utiliza precisamente para reaccionar con los grupos OH que fueron inaccesibles para el ODTCS. El pico intenso y ancho que se presenta entre los 1200-1000  $\text{cm}^{-1}$  en los espectros del gel de sílice y del ODS sin recapear y terminado es debido a los enlaces Si-O-Si y es muy semejante en los tres espectros.

Majors (21) asegura que puede utilizarse espectroscopía de IR para medir el avance de reacción. En este trabajo se encontró que es sumamente difícil por las

deficiencias de esta técnica para estudios cuantitativos en el equipo que se tenía disponible. Es más recomendable y práctico obtener esta información mediante determinaciones de % de C.

Se determinó el procedimiento óptimo evaluando las diferentes condiciones de reacción probadas.

La determinación de la forma de las partículas confirmó lo establecido por Horvath (11), la derivatización no cambia el aspecto del gel de sílice.

El área superficial sufre una disminución notable, ya que el radical unido es de gran tamaño y bloquea buena parte de los poros del gel de sílice. Esto coincide con lo reportado por Grushka (10), y Kirkland (15).

La presencia del radical orgánico, bloqueando poros del gel de sílice provoca una disminución en el volumen total de poro y un aumento en el diámetro de poro promedio, ya que los poros más pequeños son los que se bloquean.

## V.- CONCLUSIONES

Es posible utilizar gel de sílice nacional en la obtención de ODS, produciéndolo con buena calidad (% de cubrimiento superior a 20).

Es necesario importar los reactivos silanizantes debido a que no se fabrican en el país.

La tecnología para la obtención y caracterización del ODS es adaptable a un laboratorio de investigación a nivel universitario con el siguiente equipo: material de vidrio con uniones esmeriladas, estufa de vacío, bomba de vacío, parrilla de calentamiento, espectrofotómetro de infrarrojo, prensa pastilladora, mufla, balanza granataria y analítica.

Es posible empacar el producto en el cuerpo de una jeringa o en minicolumna de vidrio. Para lograr esto se tiene que controlar el tamaño de partícula para evitar que atraviese el material que lo sostiene.

El producto mostró una excelente capacidad para retener aflatoxinas y colorantes de alimentos.

Producir un gramo de ODS cuesta \$2,906.00.

**RECOMENDACIONES:**

Continuar con esta línea de investigación en las siguientes áreas:

- \* Aplicar un método de optimización en la síntesis del ODS como el de Khuri y Cornell (13).
- \* Obtención de ODTC y TMCS a partir de compuestos de silicio más sencillos disponibles en el país.
- \* Investigar la metodología para empacar columnas para HPLC y probar este producto en esa técnica.



## VI.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- K. Acuña. "Aflatoxinas en alimentos: su detección y cuantificación por métodos físicoquímicos". Tesis de maestría en Ciencias. Facultad de Medicina, U.A.N.L (1991).
- 2.- V. Bien-Vogelsang; A. Deege; H. Figge, J. Köhler, G. Shomburg. "Syntheses of Stationary Phases for Reversed-Phase LC using Silanization and Polymer Coating". *Chromatographia*. 19, 170-179 (1984).
- 3.- D. D. Blevins. "Sample Preparation Involving Multimodal Bonded Phase Extraction". *Memorias del tercer Simposium Internacional Anual*, mayo 5-6, (1986) Sheraton Poste Inn, Cherry Hill, N. J. 229-327.
- 4.- G. E. P. Box, W. G. Hunter, J. S. Hunter. "Statistics for Experimenters". John Wiley & Sons. U. S. A. (1978).
- 5.- N. H. C. Cooke y K. Olsen. "Some Modern Concepts in Reversed-Phase Liquid Chromatography". *J. Chromatogr. Sci.* 17, 574-579 (1979).
- 6.- G. B. Cox. "Practical Aspects of Bonded Phase

- Chromatography". J. Chromatogr. Sci. 15, 385-391 (1977).
- 7.- J. B. Crowther, S. D. Fazio, R. Schiksnis, S. Marcus y R. A. Hartwick. "Analysis of the acid hydrolysis products of monofunctional chemically bonded stationary phases for high performance Liquid Chromatography using capillary gas chromatography". J. Chromatogr., 289; 367-375 (1984).
- 8.- W. Cheng. "Differential Density Method for Determination of Carbon Load on Chromatographic Packings". Anal. Chem. 57, 2409-2412 (1985).
- 9.- J. L. Glajch y J. J. Kirkland. "Stable, Sterically Protected, Monofunctional-Silane Bonded-Phase Columns for High Performance Liquid Chromatography". LC-GC. 8, 2, 140-150 (1990).
- 10.- E. Grushka y E. J. Kikta, Jr. "Chemically Bonded Stationary Phases in Chromatography". Anal. Chem. 49, 1004A-1014A (1977).
- 11.- G. Horvath y W. Melander. "Liquid Chromatography with Hydrocarbonaceous Bonded Phases; Theory and Practice of Reversed Phase Chromatography". J. Chromatogr. Sci.

- 15, 393-404 (1977).
- 12.- A. D. Jones, I. W. Burns, E. C. Smith y P. J. Richardson. "Preparation of Stationary Phases for Food Chemistry Separations", Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. December, 356 (1979).
- 13.- A. I. Khuri, J. A. Cornell. "Response Surfaces, Designs and Analyses". Statistics: Textbook and monographs, Vol. 81. Marcel Dekker, Inc. U. S. A. (1987).
- 14.- J. J. Kirkland. "Microparticles with Bonded Hydrocarbon Phases for High-Performance Reverse-Phase Liquid Chromatography". Chromatographia 8, 661-668 (1975).
- 15.- J. J. Kirkland y J. J. DeStefano. "Controlled Surface Porosity Support with Chemically-Bonded Organic Stationary Phases for Gas and Liquid Chromatography". J. Chromatogr. Sci. 8, 309-314 (1970).
- 16.- J. Köhler, D. B. Chase, R. D. Farlee, A. J. Vega y J. J. Kirkland. "Comprehensive Characterization of some Silica-based Stationary phases for high-performance Liquid Chromatography. J. Chromatogr., 352, 275-305

(1986).

- 17.- J. F. Lawrence, F. E. Lancaster y B. S. Conacher, "Separation and detection of synthetic food colors by ion-pair high-performance Liquid Chromatography". J. Chromatogr. 210, 168-173 (1981).
- 18.- D. C. Locke. "Chemically Bonded Stationary Phases for Liquid Chromatography". J. Chromatogr. Sci. 11, 120-128 (1973).
- 19.- D. C. Locke, J. T. Schmermund y B. Banner. "Bonded Stationary Phases for Chromatography". Anal. Chem. 44, 90-92 (1972).
- 20.- R. E. Majors. "Recent Advances in High Performance Liquid Chromatography Packings and Columns". J. Chromatogr. Sci. 15, 334-351 (1977).
- 21.- R. E. Majors y M. J. Hopper. "Properties of Siloxane Phases Bonded to Silica Gel for use in High Performance Liquid Chromatography". J. Chromatogr. Sci. 12, 767-778 (1974).
- 22.- D. B. Marshall y K. A. Stutler. "Synthesis of L. C. Reversed Phases of Higher Efficiency by Initial

- Partial Deactivation of the Silica Surface". J. Chromatogr. Sci. 22, 217-220 (1984).
- 23.- S. A. Matlin, J. S. Tinker, A. Tito-Lloret, W. J. Lough, L. Chan y D. Bryan. "Synthesis and Applications of New, Chemically Bonded Stationary Phases for HPLC". Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. December, 354-356 (1979).
- 24.- G. I. Páez. "Síntesis y Caracterización de Gel de Sílice para Cromatografía". Tesis Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias Químicas, U. A. N. L. (1991).
- 25.- A. Pryde. "Chemically Bonded Stationary Phases Preparation and Application to High Speed Liquid Chromatography". J. Chromatogr. Sci. 12, 486-498 (1974).
- 26.- V. Reháček y E. Smolková. "Comparison of Linear and Branched non-polar Chemically Bonded Stationary phases in high-performance Liquid Chromatography". J. Chromatogr. 191, 71-79 (1980).
- 27.- L. G. Sander y S. A. Wise. "Synthesis and characterization of Polymeric C18 Stationary Phases

for Liquid Chromatography". Anal. Chem. 56, 504-510 (1984).

- 28.- R. P. W. Scott y G. F. Simpson. "Solute, Solvent Interactions on the Surface of Reversed Phases. I. Stationary Phase Interactions and their Dependence on Bonding Characteristics". J. Chromatogr. 197, 11-20 (1980).
- 29.- R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. G. Morrill. "Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos". Editorial Diana, México (1980).
- 30.- J. B. Sorrell y R. Rousan, Jr. "Nitrogen Adsorption on Chemically Modified Silica Gels". Anal. Chem. 42, 1712-1715 (1970).
- 31.- M. Verzele, J. Lammens y M. Van Roelenbosch. "Simplified High-Performance Liquid Chromatography phase characterization: Particle size, surface area, mean pore diameter, amount of bonded phase and activity". J. Chromatogr., 186, 435-441 (1979).
- 32.- M. Verzele, y P. Mussche. "Monomeric and Polymeric derivatization in reversed phase high-performance Liquid Chromatographic materials". J. Chromatogr. 254,

117-122 (1983).

- 33.- M. Verzele, P. Mussche y P. Sandra. "Characterization of High-Performance Liquid Chromatographic Stationary Phases; the Nature of Silica Gel Bonded Material" J. Chromatogr. 190, 331-337 (1980).
- 34.- W. Werner e I. Halassz. "Pore Structure of Chemically Modified Silica Gels Determined by Exclusion Chromatography". J. Chromatogr. Sci. 18, 277-283 (1980).
- 35.- P. P. Wickramanayake y W. A. Aue. "Empirical Correlation of Layer Thickness and Support Pore Size in "Chemically Bonded" Phases". J. Chromatogr. 195, 25-34 (1980).

## VII - APENDICES.

### A).- AISLAMIENTO DE COLORANTES DE ALIMENTOS EN COLUMNA DE ODS (17).

Se preparan soluciones stock de los colorantes al 0.01-0.02% en agua que contiene 0.005M de fosfato de tetra-n-butilamonio. Este último se prepara por adición de 52 mL de solución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.11 M a 25 mL de solución de hidróxido de tetra-n-butilamonio 1.54 M, lo cual produce una solución de fosfato de tetra-n-butilamonio con pH 7.2. La solución se prepara y almacena en un recipiente oscuro.

La fase móvil consiste en mezclas metanol: agua (45:55 ó 60:40) conteniendo fosfato de tetra-n-butilamonio 0.005 M. La preparación de la muestra se hizo como sigue. Un volumen de 100 mL de refresco se hizo 0.005 M en fosfato de tetra-n-butilamonio, luego 20 mL de esta solución se pasan por una columna empacada con ODS. Los colorantes se retienen en la columna. La columna se lava con agua, los colorantes se eluyen con mezclas metanol: agua o metanol solo dependiendo del colorante. El eluato se inyecta en el cromatógrafo de líquidos y se efectúa la separación.



**B).- METODO DE DOS COLUMNAS PARA LA EXTRACCION DE AFLATOXINAS POR FASE SOLIDA INVERSA EN MUESTRAS DE MAIZ (1).**

El ODS preparado en esta tesis se evaluó en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. como fase sólida inversa para retener aflatoxinas por el método llamado de dos columnas y que se describe a continuación.

**PROCEDIMIENTO:**

A partir de 1 Kg de maíz de malla número 20 se tomaron 10 g y se introdujeron en un vaso de licuadora de 250 mL. Posteriormente se adicionaron 20 mL de una mezcla de MeOH + H<sub>2</sub>O (80+20) y se agitó por cinco minutos. Aproximadamente 8 mL del homogenato previamente filtrado por poro ancho, se transfirieron a la primera columna, la cual se acondicionó de la siguiente manera.

**ACONDICIONAMIENTO DE LA PRIMER COLUMNA.**

Se pesaron 600 mg de fase inversa C-18 y se depositaron dentro de una columna. Posteriormente se adicionaron 6 mL de metanol y se eluyeron mediante bomba de succión pero sin dejar secar la fase; después se adicionaron 6 mL de MeOH + H<sub>2</sub>O (80+20) y se eluyeron. La

fase no se dejó secar en ningún paso de la elución. Posteriormente se adicionó el homogenato. Se eluyó la solución y se tomaron 4 mL del eluido, los cuales se diluyeron mediante aforación a 10 mL con agua destilada (no se usó agua desionizada debido al contenido de residuos orgánicos). Estos 10 mL se filtraron con membrana de 0.45 micras y se pasaron por una segunda columna sometida a diferente acondicionamiento.

#### ACONDICIONAMIENTO DE LA SEGUNDA COLUMNA.

Se adicionaron 6 mL de metanol y se eluyeron; posteriormente se agregaron 6 mL de agua y se eluyeron también. Después se pasaron los 10 mL obtenidos, en porciones de 3 en 3 mL.

Posterior a la elución de los 10 mL, se adicionaron 6 mL de agua. Después se agregaron 2 mL de hexano sin dejar secar la columna y se eluyeron. La fase se secó por 15 minutos mediante bomba de succión. Para evitar oxidación de las toxinas por el oxígeno del aire, una corriente de nitrógeno se mantuvo por la parte superior de la columna.

Al término de los 15 minutos se llevó a cabo la elución de las aflatoxinas; para ello se adicionaron 4 mL

de cloroformo repartidos en 3 alícuotas. La primera de ellas fue de 2 mL seguida por dos alícuotas de 1 mL cada una. La elución se conectó en un tubo de ensayo colocado dentro de un matraz kitasato. Posteriormente se transfirió la solución a un vaso de 30 mL en el cual, bajo corriente de nitrógeno se concentró la muestra a sequedad. Después de esto, se llevó a cabo el procedimiento de derivatización. La muestra ya derivatizada se filtró en membrana de 0.45 micras y se inyectó al cromatógrafo de líquidos.

#### RESULTADOS:

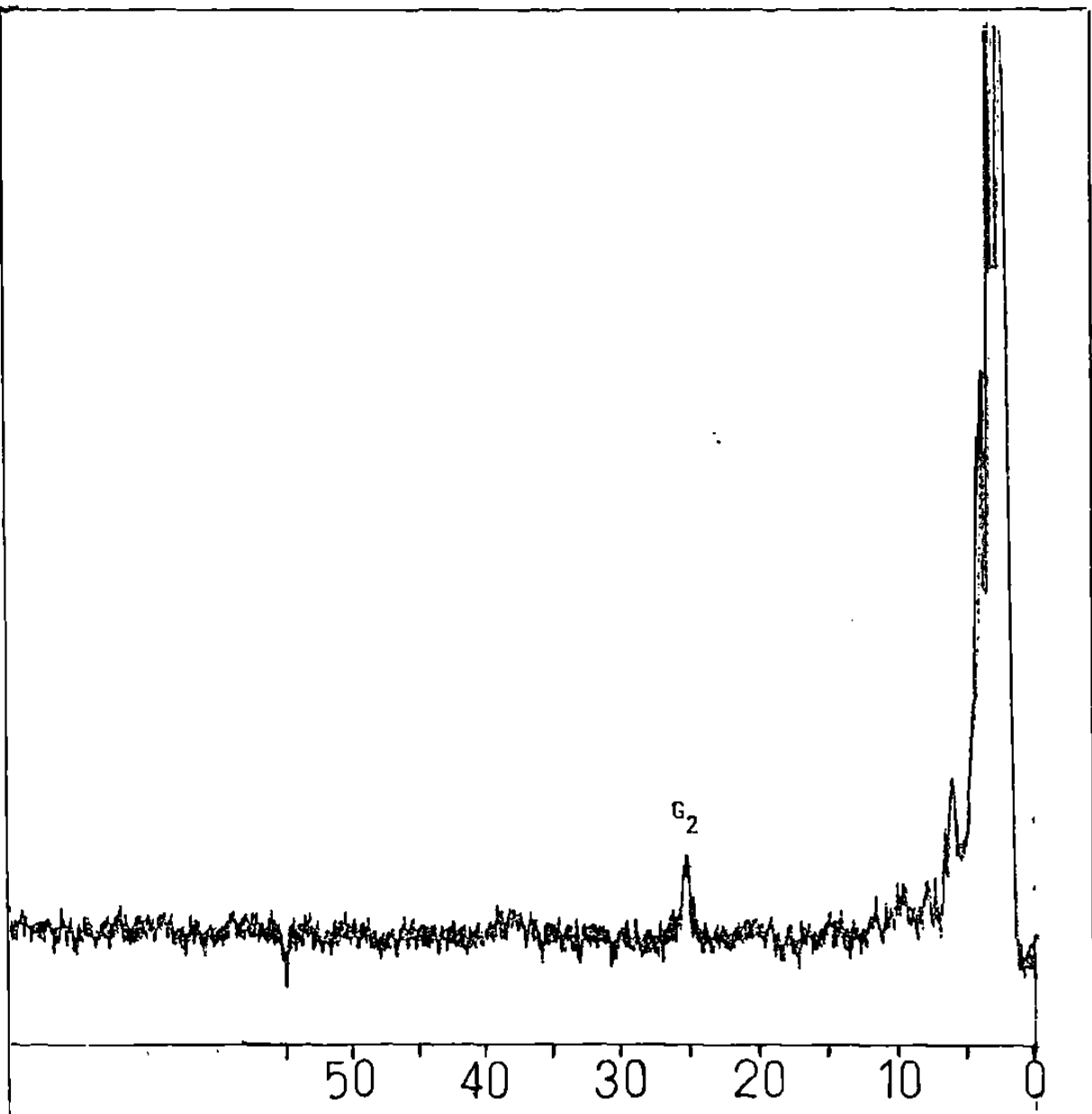
Para el procedimiento de extracción en fase sólida (SPE) se evaluaron las eluciones que se hicieron tanto en la primer columna como en la segunda. Al evaluar la primer columna se comprobó que la mayoría de los compuestos grasos quedaron retenidos. Al hacer un seguimiento de las etapas de elución de la segunda columna se encontraron dos pasos críticos. El primero de ellos ocurre al pasar la dilución de 10 mL a través de la columna previamente acondicionada. Este acondicionamiento permite la retención de las aflatoxinas y de otros compuestos de polaridad

ligeramente mayor. Un inadecuado acondicionamiento derivaría en la elución de las toxinas y en la consecuente pérdida de ellas. Los cromatogramas mostraron que en este paso en ocasiones se presenta una ligera pérdida de la aflatoxina G<sub>2</sub> (Fig. B.1). Para evitar tal pérdida existen varias opciones: entre ellas, aumentar la cantidad de fase sólida de la segunda columna o incrementar la polaridad de la dilución que se hace pasar a través de ella; para cualquier alternativa se sugiere hacer un seguimiento por HPLC. Sin embargo, otros cromatogramas mostraron que en ocasiones se observa retención de las toxinas (Fig. B.2).

El segundo paso crítico se presenta en la adición de 6 mL de agua a través de la columna. En este paso se podría presentar una indeseable elución de las toxinas porque la finalidad de esta etapa es la de eluir compuestos de polaridad ligeramente mayor; sin embargo, los cromatogramas no mostraron pérdida de alguna de ellas.

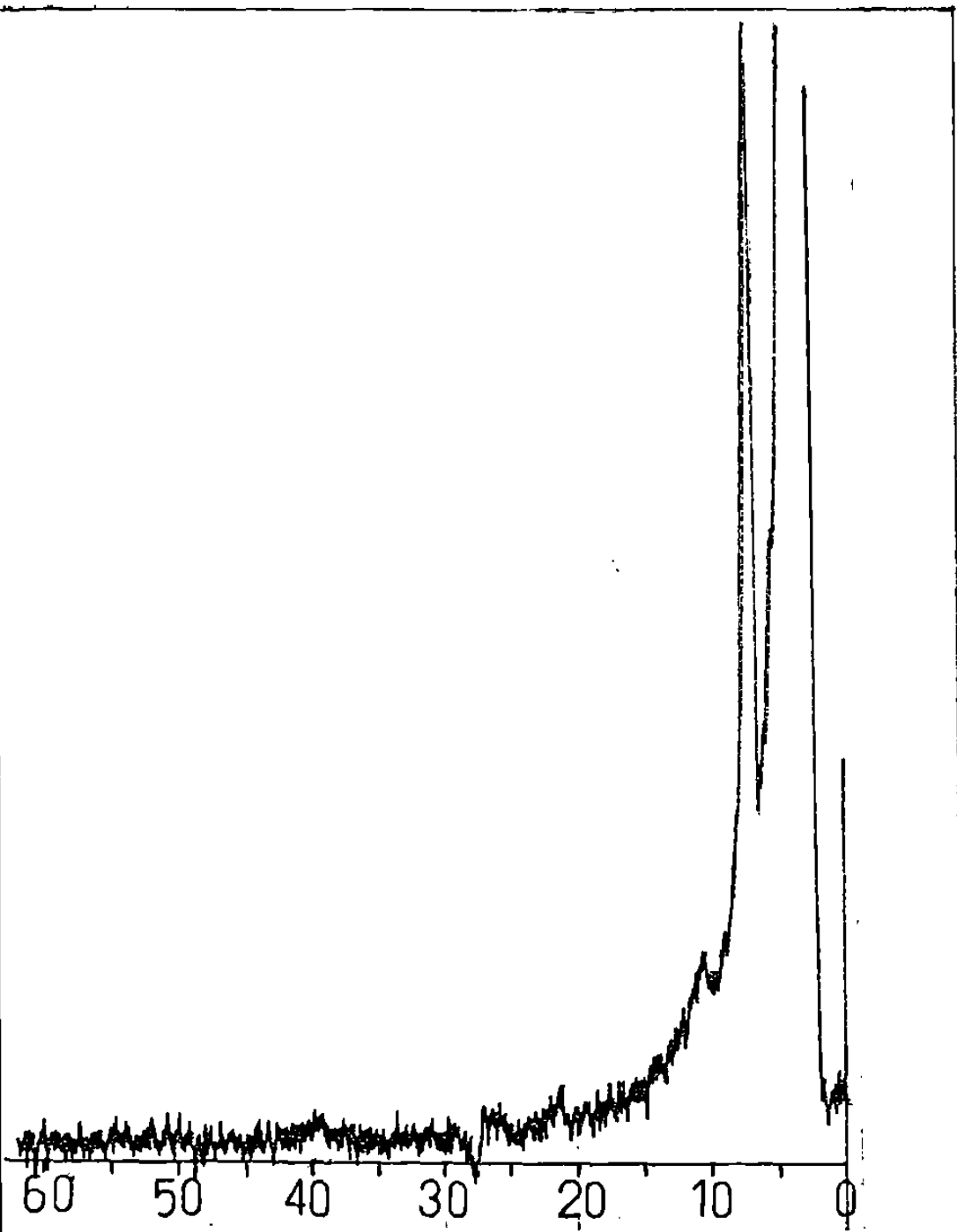
Al término del procedimiento SPE se hizo una evaluación para probar que la totalidad de las toxinas hubieran sido eluidas. Se repitió la percolación exclusivamente a base de solventes, pero los cromatogramas no mostraron pérdidas (Fig. B.3)

Posteriormente se evaluó la extracción y purificación de las aflatoxinas para el procedimiento SPE mediante el tratamiento de muestras libres de maíz. Los cromatogramas mostraron recuperaciones que van desde un 85% hasta un 92% (Figuras No. B.4 y B.5). Las recuperaciones que se hicieron después, mostraron que no sólo dependen de cada toxina sino también de la cantidad con la que se encuentran presentes en las muestras.



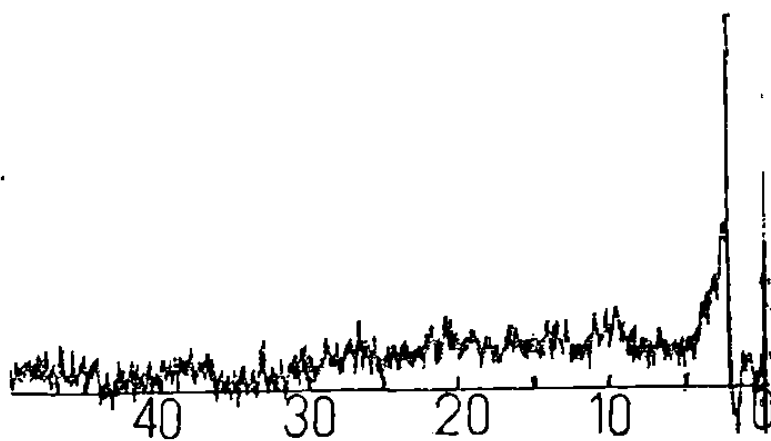
METODO DE EXTRACCION PARA MAIZ: DOS COLUMNAS.  
MUESTRA: EVALUACION DE LA SEGUNDA COLUMNA.  
PRIMER PASO CRITICO EN LA ELUCION.  
ESTE CROMATOGRAMA MUESTRA QUE EN OCASIONES HAY LIGERA  
PERDIDA DE LA AFLATOXINA G 2.  
VOLUMEN DE RECUPERACION: 1 ML.  
SENSIBILIDAD: 30 x 2 MV (MAXIMA).  
DETECCION POR FLUORESCENCIA.

Figura B.1



METODO DE EXTRACCION PARA MAIZ: DOS COLUMNAS.  
MUESTRA: EVALUACION DE LA SEGUNDA COLUMNA.  
PRIMER PASO CRITICO EN LA ELUCION  
ESTE CROMATOGRAMA MUESTRA QUE EN ESTE PASO DE ELUCION  
NO HAY PERDIDA DE LA AFLATOXINA G 2.  
VOLUMEN DE RECUPERACION: 1 ML.  
DETECCION POR FLUORESCENCIA.  
SENSIBILIDAD: 30 x 2 MV (MAXIMA).

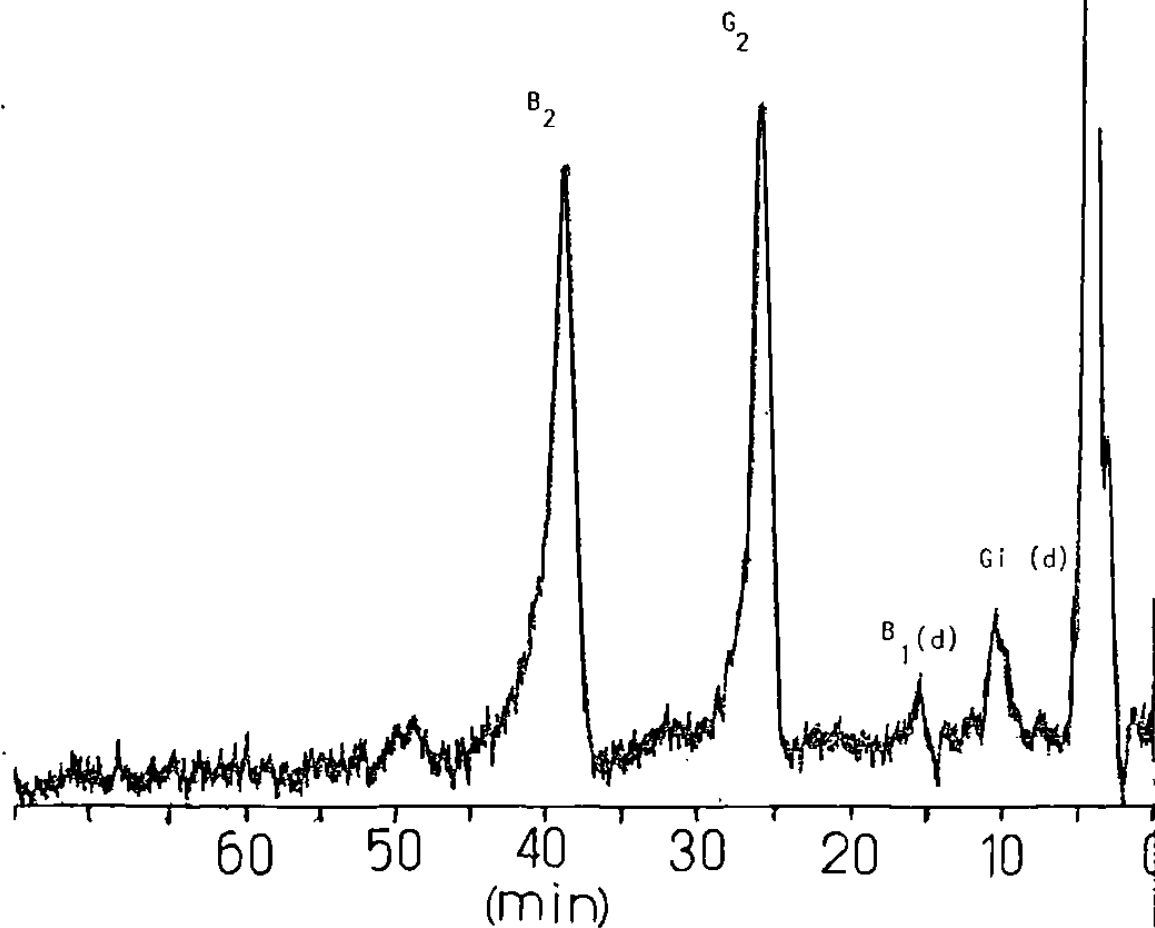
Figura B.2



METODO DE EXTRACCION: DOS COLUMNAS.  
MUESTRA: ESTE CROMATOGRAMA DEMUESTRA QUE DESPUES DE  
REALIZAR EL PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA MEDIANTE EL USO  
DE LA FASE SOLIDA NO QUEDAN RESIDUOS DE AFLATOXINAS EN  
ELLA CAPACES DE SER DETECTADOS.  
VOLUMEN DE RECUPERACION: 1 ML.  
DETECCION POR FLUORESCENCIA.  
SENSIBILIDAD: 30 x 2 MV.

Figura B.3





MUESTRA: BLANCO PARA EVALUAR LA EXTRACCION DE AFLATOXINAS SIN EMPLEAR MAIZ.

CONCENTRACION: SE SUFUSO UNA CONTAMINACION EQUIVALENTE A:

G 1: 7 NG/G

G 2: 80 NG/G

B 1: 4 NG/G

B 2: 60 NG/G

METODO DE EXTRACCION: DOS COLUMNAS.

VOLUMEN DE RECUPERACION: 2 ML.

DETECCION POR FLUORESCENCIA.

SENSIBILIDAD: 30 x 2 MV.

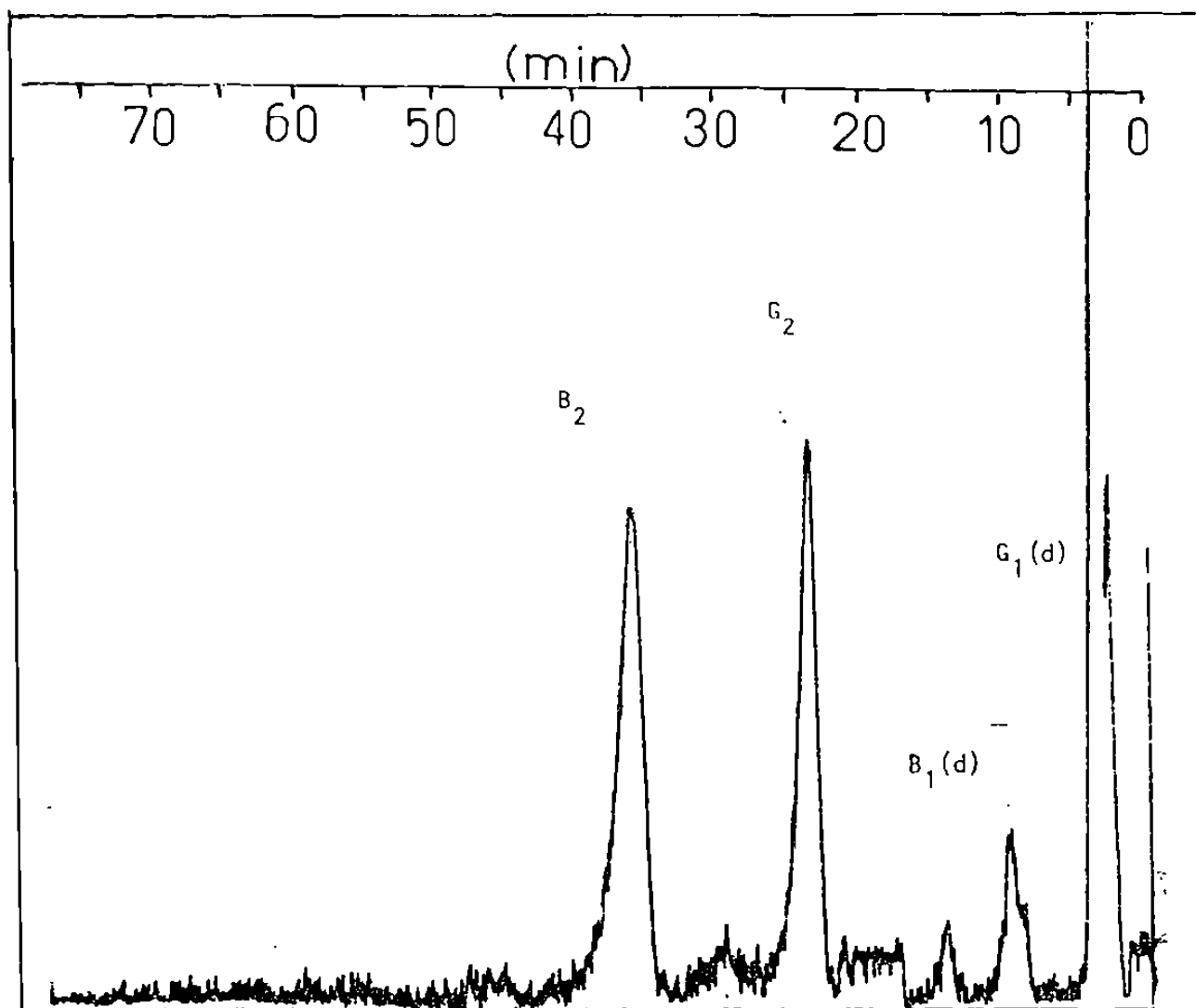
RECUPERACION: G 1: 89 %

G 2: 87 %

B 1: 86 %

B 2: 92 %

Figura B.4



MUESTRA: BLANCO PARA EVALUAR LA EXTRACCION DE AFLATOXINAS SIN EMPLEAR MAIZ.

CONCENTRACION: SE SUPUSO UNA CONTAMINACION EQUIVALENTE A:

G 1: 10 NG/G

G 2: 70 NG/G

B 1: 4 NG/G

B 2: 50 NG/G

METODO DE EXTRACCION: DOS COLUMNAS.

VOLUMEN DE RECUPERACION: 2 ML.

DETECCION POR FLUORESCENCIA.

SENSIBILIDAD: 30 x 2 MV.

RECUPERACION: G 1: 84 %

G 2: 88 %

B 1: 85 %

B 2: 92 %

Figura B.5

## C).- DETERMINACION DE AREA SUPERFICIAL.

### 1.- Teoría.

Una forma de la bien conocida ecuación de BET que describe la adsorción de un gas sobre una superficie sólida es:

$$\frac{P/P\alpha}{V(1-P/P\alpha)} = \frac{1}{V_m C} + \left( \frac{C-1}{V_m C} \right) \frac{P}{P\alpha} \quad (1)$$

donde V es el volumen (a temperatura y presión estándares) de gas adsorbido a la presión P; P $\alpha$  es la presión de saturación, la cual es la presión de vapor del gas licuado a la temperatura de adsorción; V $_m$  es el volumen molar del gas (CNPT) requerido para formar la capa monomolecular adsorbida; y C es una constante relacionada con la energía de adsorción.

El área superficial S de la muestra, conociendo el volumen de gas de la monocapa adsorbida V $_m$  (CNPT) se calcula con la siguiente ecuación:

$$S = V_m \frac{AN}{M} \quad (2)$$

donde A es el número de Avogadro, M es el volumen molar

del gas, y N es el área de cada molécula de gas adsorbida. La constante C de la ecuación (1) es típicamente grande, de donde dicha ecuación se reduce a

$$\frac{P/P\alpha}{V(1- P/P\alpha)} = \frac{1}{V_m} \left[ \frac{1}{C} + \frac{P}{P\alpha} \right] \quad (3)$$

Ahora, si  $\frac{P}{P\alpha} \gg \frac{1}{C}$ , la ecuación (3) se puede representar así

$$\frac{P/P\alpha}{V \left( 1 - \frac{P}{P\alpha} \right)} = \left[ \frac{1}{V_m} \right] \left[ \frac{P}{P\alpha} \right] \quad (4)$$

que reorganizando resulta ser

$$V_m = V(1- P/P\alpha) \quad (5)$$

Sustituyendo la ecuación (5) en la (2) obtenemos el área en función del volumen de gas adsorbido.

$$S = \frac{V AN}{M} (1- P/P\alpha) \quad (6)$$

donde S es el área en metros cuadrados.

## 2.- Principio de Operación.

El equipo Flowsorb 2300 está diseñado para medir el

área superficial a nivel molecular de materiales estables granulados y pulverizados. La determinación se realiza midiendo la cantidad de gas que se adsorbe como una capa monomolecular sobre la muestra. Dicha adsorción se realiza en o cerca del punto de ebullición del gas adsorbido. Bajo condiciones específicas, el área cubierta por cada molécula de gas se conoce dentro de límites relativamente estrechos. El área de la muestra es entonces calculable directamente del número de moléculas adsorbidas, que se deriva de la cantidad de gas en las condiciones prescritas, y del área ocupada por cada una.

Para una mezcla de nitrógeno y helio al 30% en volumen de nitrógeno, las condiciones más favorables para la formación de una monocapa de nitrógeno adsorbido se establecen a la presión atmosférica y a la temperatura del nitrógeno líquido. Para otras mezclas de gases las condiciones serían diferentes.

En general, el resultado de área superficial obtenido por el método de multipunto usando nitrógeno como adsorbato es más confiable que uno de punto único, y el nitrógeno gas es preferible a otros gases.

### **3.- Construcción Básica.**

Mecánicamente, los elementos esenciales del Flow Sorb 2300 son:

- a) Los componentes para encender y apagar el flujo de gas, regular y dirigir el flujo e indicar la velocidad de flujo;
- b) puntos de unión en los cuales el gas pasa a través de una trampa de enfriamiento para remover trazas de humedad que pudieran estar presentes en el gas, puntos en los cuales la muestra se expone al gas calentado para liberarla de gases y vapores extraños, y puntos en los cuales se desarrolla la prueba;
- c) Un septum por medio del cual se introduce una cantidad conocida de gas para calibración;
- d) un filtro para prevenir que el polvo sea arrastrado a partes críticas;
- e) celdas selladas de conductividad térmica operando a una temperatura fija de  $42 \pm 1^\circ \text{C}$  para la detección de la concentración del gas;
- f) un arreglo de válvulas por medio del cual se puede controlar la entrada de gas a una de las celdas; y
- g) un recipiente Dewar.

#### 4.- Portamuestras.

Es un tubo de vidrio en forma de V, que se conecta al sistema mediante dos uniones macho. La misma unidad se utiliza tanto para desgasificar la muestra como para hacer la determinación .

#### 5.- Manta de Calentamiento.

Se utiliza para desgasificar la muestra. Se instala sobre el portamuestras.

#### 6.- Recipiente Dewar.

Se requiere para contener el nitrógeno líquido.

#### 7.- Especificaciones.

- Area superficial mínima	0.1 m <sup>2</sup>
- Area superficial máxima	280 m <sup>2</sup>
- Area superficial específica mínima	0.01 m <sup>2</sup> /g aproximadamente.
- Area superficial específica máxima	Limitada por la exactitud al pasar la muestra más pequeña.
- Volumen de portamuestras	1 cm estándar, hay otros tamaños disponibles.
- Temperatura de desgasificación	35-400 °C
- Exactitud/reproducibilidad	
Bajas superficies específicas	Típicamente mejor que ±3% (en el método de punto único) y ±2% (en el método de multipunto), ambos dentro del ±0.5% de reproducibilidad.

- Moderadas y altas superficies específicas.	Típicamente mejor que $\pm 2\%$ (método de punto único) y $\pm 1.5\%$ (método de multipunto), ambos dentro de $\pm 0.5\%$ de reproducibilidad.
- Gas	Mezclas con helio, de nitrógeno, argón, criptón, dióxido de carbono, etano, n-butano, y otros gases no corrosivos. Se recomienda una mezcla de 30% N y 70% He para análisis de punto único, y para multipunto se sugieren mezclas de He y 5, 12, 18 y 24% N aproximadamente.
- Líquido de enfriamiento	Nitrógeno u oxígeno líquidos, baños de solventes, agua fría
- Materiales expuestos Portamuestras	Vidrio de borosilicato, útil hasta 400°C.
Componentes internos	Acero inoxidable tipo 316, cobre Buna-N
- Temperatura	Operación 15-32°C Almacenamiento y envío 0-50°C
- Humedad	20-80% relativa (no condensante).



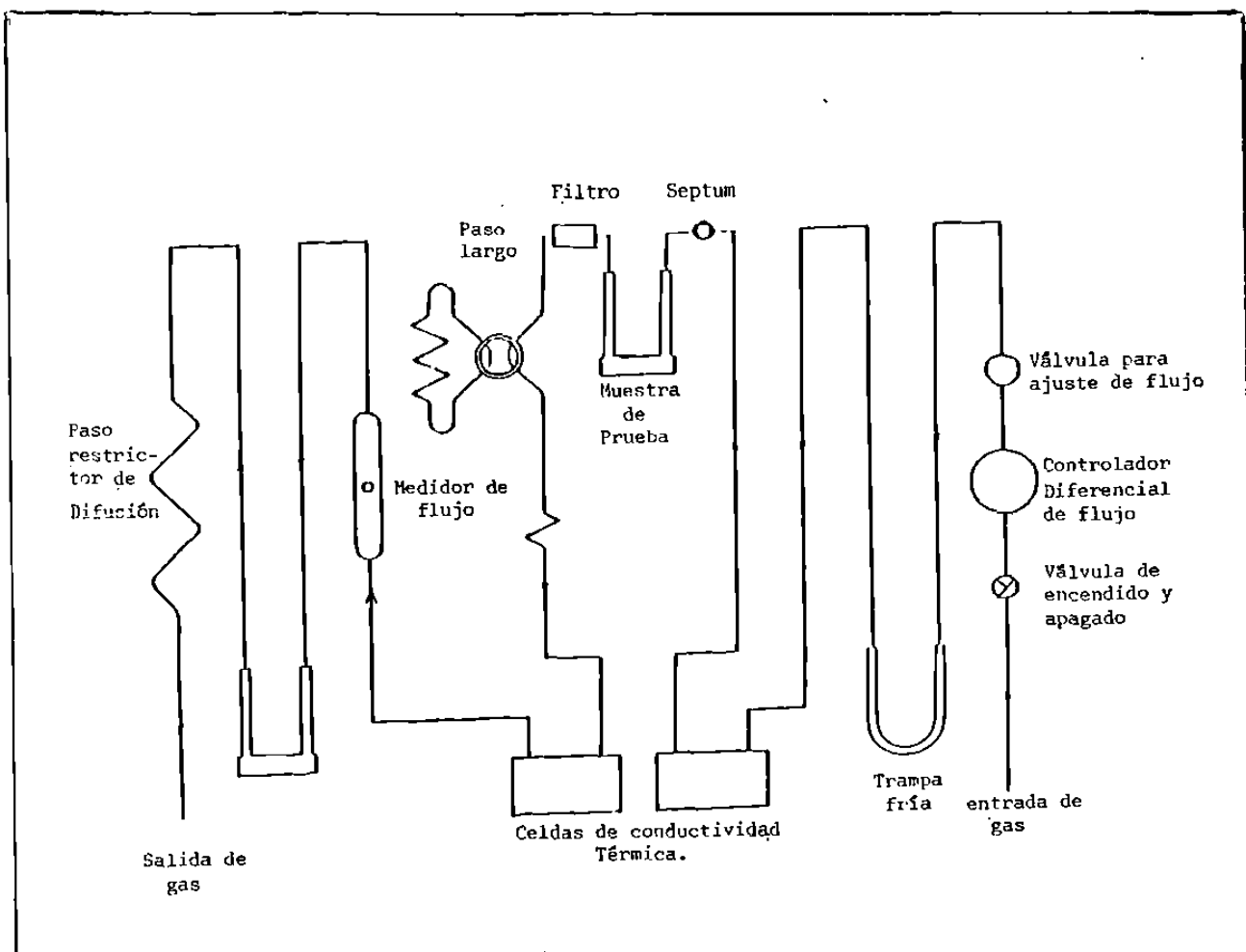
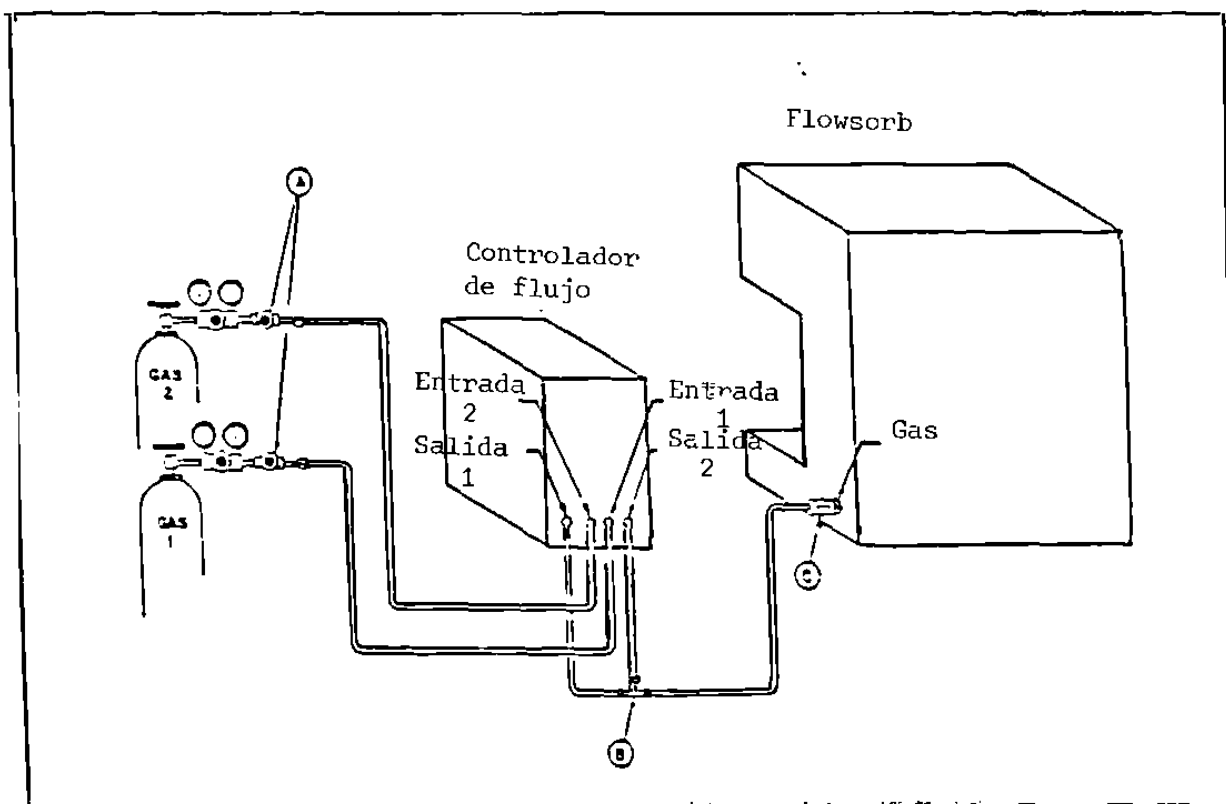
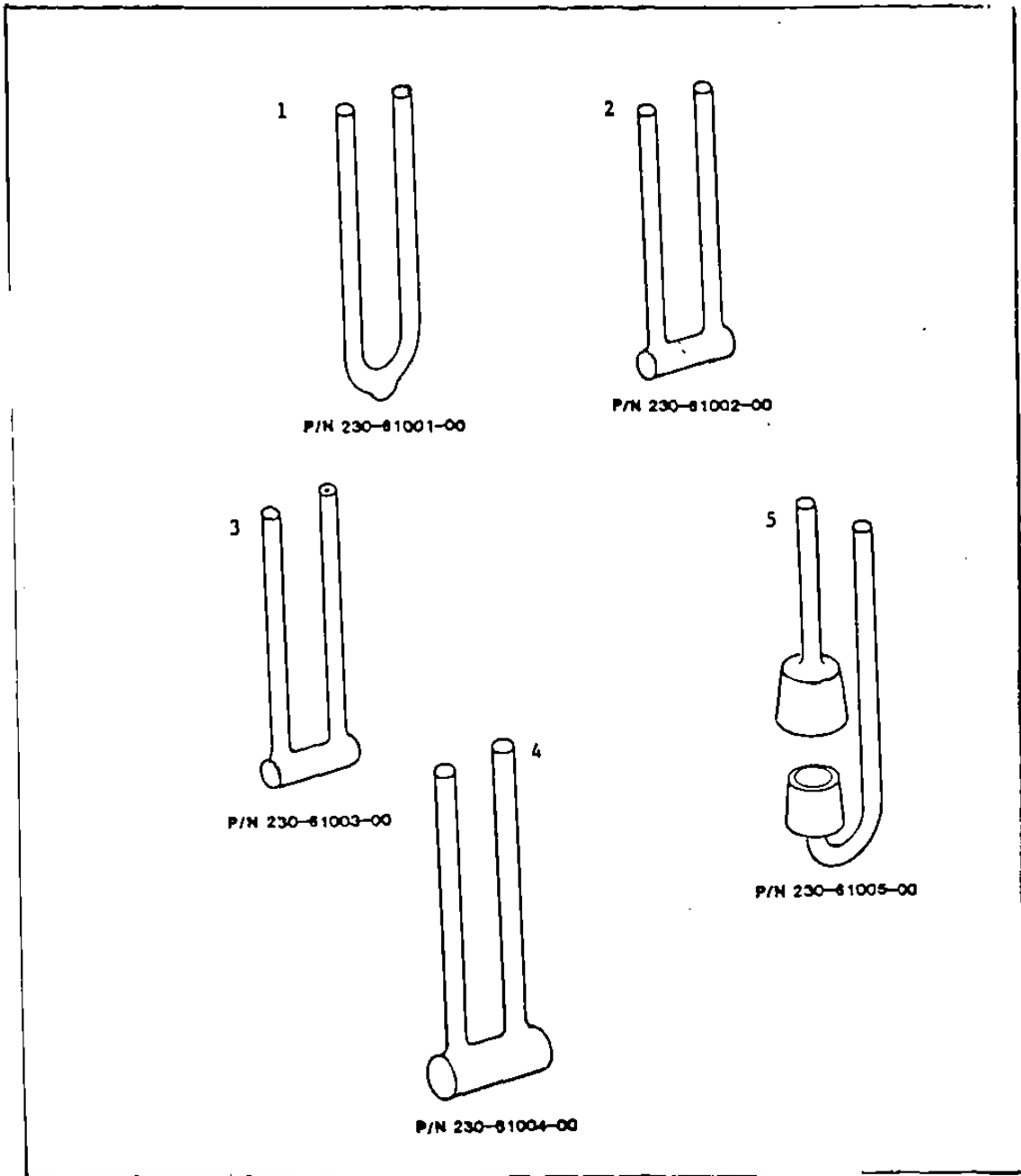


Figura C. 1  
 Diagrama Esquemático FlowSorb 2300



**Figura C. 2**  
**Conexión de Líneas de Gas**



**Figura G. 3**  
**Tubos de Muestra**

Date 2/ Sep 1971 Sample Silicon 5-I (4420) Total Weight 11.5250 gms.  
 Operator John Carmone Toriega Outgas Procedure 300°C X 3 hrs. -Tare 11.4604  
 Sample Weight (W) 0.0446 gms.

Point	Adsorbate Flow (F <sub>ad</sub> ) ml/min	Carrier (F <sub>c</sub> ) ml/min	F <sub>ad</sub> ·P <sub>t</sub> / F <sub>ad</sub> +F <sub>c</sub>	P/P <sub>0</sub>	P <sub>0</sub> /P	(P <sub>0</sub> /P)-1	Calibration Volume (V <sub>c</sub> ) cc	X <sub>c</sub> Grams	Signal Area (A)	Calibration Area (A) <sub>cal</sub>	X=(A)·X <sub>c</sub> / (A) <sub>cal</sub>	X[(P <sub>0</sub> /P)-1]	1 / X[(P <sub>0</sub> /P)-1]
I				0.294	3.4	2.4	3.5	4.0 × 10 <sup>-3</sup>	1120	1236	4.3 × 10 <sup>-3</sup>	1.04 × 10 <sup>-2</sup>	96.5360
II				0.126	5.1	4.1	3.0	3.4 × 10 <sup>-3</sup>	1310	1145	3.9 × 10 <sup>-3</sup>	1.6 × 10 <sup>-2</sup>	61.2462
III				0.098	10.2	9.2	2.75	3.2 × 10 <sup>-3</sup>	1111	1045	3.4 × 10 <sup>-3</sup>	3.12 × 10 <sup>-2</sup>	32.0429
IV													
V													
VI													
VII													
VIII													

Ambient Pressure, P<sub>a</sub> = 757 mmHg  
 Sample Pressure (above ambient), P<sub>s</sub> = ..... mmHg  
 Total Pressure, P<sub>t</sub> = P<sub>a</sub> + P<sub>s</sub> = ..... mmHg  
 Vapor Pressure (above ambient), P<sub>g</sub> = ..... mmHg  
 Saturated Vapor Pressure, P<sub>0</sub> = P<sub>g</sub> + P<sub>a</sub> = ..... mmHg  
 Ambient Temperature, T = 20°C = 293.15 °K  
 Molecular Weight of Adsorbate, M<sub>a</sub> = 28 g  
 Adsorbate Cross Sectional Area, A<sub>cs</sub> = ..... m<sup>2</sup>  
 Calibration Gas Weight, X<sub>c</sub> =  $\frac{P_a V_c}{P_a R T} = 1.92685 \times 10^{-2}$  Correlation = 0.992

PLOT  $\frac{1}{X[(P_0/P)-1]}$  vs P/P<sub>0</sub>  
 Slope, (S) = 329.0464  
 Intercept, (I) = 1.219066  
 $X_m = \frac{1}{S + I} = 0.003050$  g

Total Surface Area (S<sub>t</sub>) =  $\frac{X_m (6.02 \times 10^{23}) A_{cs}}{M_a}$   
 \*For N<sub>2</sub>, S<sub>t</sub> = X<sub>m</sub> (3.483 × 10<sup>3</sup>) m<sup>2</sup>  
 S<sub>t</sub> = 10.6245 m<sup>2</sup>  
 Specific Surface Area (S) =  $\frac{S_t}{W}$   
 S = 238.2167 m<sup>2</sup>/g

**QUANTACHROME CORPORATION**

5 Amel Way, Syosset, N.Y. 11791 - Phone 516 835-2240

**MULTIPOINT B.E.T. SURFACE AREA DATA SHEET**

Date 6-18-91 Sample MUESTRA #2 ORGANICA Total Weight 11.3145 gas.  
 Outgas Procedure 4 hours @ 50°C 9% -Tare 11.1585  
 Operator MARIO MARTINEZ MORA Sample Weight (W) 0.0360 gms.

Point	Adsorbate Flow (F <sub>ad</sub> ) ml/min	Carrier (F <sub>c</sub> ) ml/min	Pad = $\frac{F_{ad} \cdot P_t}{F_{ad} + F_c}$	P/P <sub>0</sub>	P <sub>0</sub> /P	(P <sub>0</sub> /P) <sup>-1</sup>	Calibration Volume (V <sub>c</sub> ) cc	X <sub>c</sub> Grams	Signal Area (A)	Calibration Area (A) <sub>cal</sub>	X = $\frac{(A) \cdot X_c}{(A)_{cal}}$	X <sup>2</sup> [(P <sub>0</sub> /P) <sup>-1</sup> ]	$\frac{1}{[(P_0/P)^{-1}]}$
I				0.234	3.4	2.4	2.125	2.9x10 <sup>-3</sup>	1475	1466	2.97x10 <sup>-3</sup>	5.93x10 <sup>-3</sup>	168.5375
II				0.196	5.1	4.1	1.8	2.0x10 <sup>-3</sup>	1261	1263	2.07x10 <sup>-3</sup>	8.51x10 <sup>-3</sup>	117.3713
III				0.098	10.2	9.2	1.25	1.47x10 <sup>-3</sup>	901	885	1.47x10 <sup>-3</sup>	1.35x10 <sup>-2</sup>	73.86701
IV													
V													
VI													
VII													
VIII													

Ambient Pressure, P<sub>a</sub> = 75.7 mmHg  
 Sample Pressure (above ambient), P<sub>s</sub> = ..... mmHg  
 Total Pressure, P<sub>t</sub> = P<sub>a</sub> + P<sub>s</sub> = ..... mmHg  
 Vapor Pressure (above ambient), P<sub>g</sub> = ..... mmHg  
 Saturated Vapor Pressure, P<sub>0</sub> = P<sub>g</sub> + P<sub>a</sub> = ..... mmHg  
 Ambient Temperature, T = 21.8333 = 294 °K  
 Molecular Weight of Adsorbate, M<sub>a</sub> = 26 g  
 Adsorbate Cross Sectional Area, A<sub>cs</sub> = ..... m<sup>2</sup>  
 Calibration Gas Weight, X<sub>c</sub> =  $\frac{P \cdot M \cdot V_c}{P_a \cdot T}$   
 $\frac{6.235 \times 10^{-4} T}{6.235 \times 10^{-4} T}$

PLOT  $\frac{1}{X [(P_0/P)^{-1}]}$  vs P/P<sub>0</sub>  
 Slope, (S) = 483.0229082  
 Intercept, (I) = 25.25344667  
 X<sub>m</sub> =  $\frac{1}{S + I}$  = 0.0167934  
 Correlación = .999

Total Surface Area (S<sub>t</sub>) =  $\frac{X_m (6.02 \times 10^{23}) A_{cs}}{M_a}$   
 \*For N<sub>2</sub>, S<sub>t</sub> = X<sub>m</sub> (3.483 x 10<sup>3</sup>) m<sup>2</sup>  
 S<sub>t</sub> = 6.8525 ..... m<sup>2</sup>  
 Specific Surface Area (S) =  $\frac{S_t}{W}$   
 S = 127.3636 ..... m<sup>2</sup>/g

1.87309 x 10<sup>7</sup>

**QUANTACHROME CORPORATION**  
5 Aerial Way, Syosset, N.Y. 11791 • Phone 516 336-2200

**MULTIPOINT B.E.T. SURFACE AREA DATA SHEET**

Date 2/24/91 Sample Silica UNAM (Ultra-3) Total Weight 11.4817 gms.  
 Operator Lucia Carrero Toranzo Outgas Procedure 300°C x 2 hrs Tare 11.4604  
 Sample Weight (W) 0.0213 gms.

Point	Adsorbate Flow (F <sub>ad</sub> ) ml/min	Carrier (F <sub>c</sub> ) ml/min	Pad = $\frac{F_{ad} \cdot P_t}{F_{ad} + F_c}$	P/P <sub>0</sub>	P <sub>0</sub> /P	(P <sub>0</sub> /P)-1	Calibration Volume (V <sub>c</sub> ) cc	X <sub>c</sub> Grams	Signal Area (A)	Calibration Area (A) <sub>cal</sub>	X = $\frac{(A) \cdot X_c}{(A)_{cal}}$	X [(P <sub>0</sub> /P)-1]	$\frac{1}{X [(P_0/P)-1]}$
I				0.277	3.4	2.4	1.7	1.9x10 <sup>-3</sup>	1269	1235	2.03x10 <sup>-3</sup>	4.16x10 <sup>-3</sup>	205.5869
II				0.196	5.1	4.1	1.55	1.8x10 <sup>-3</sup>	1193	1152	1.86x10 <sup>-3</sup>	7.6x10 <sup>-3</sup>	130.9624
III				0.098	10.2	9.2	1.35	1.6x10 <sup>-3</sup>	1002	990	1.6x10 <sup>-3</sup>	1.5x10 <sup>-2</sup>	68.5640
IV													
V													
VI													
VII													
VIII													

Ambient Pressure, P<sub>a</sub> = 757 mmHg  
 Sample Pressure (above ambient), P<sub>g</sub> = ..... mmHg  
 Total Pressure, P<sub>t</sub> = P<sub>a</sub> + P<sub>g</sub> = ..... mmHg  
 Vapor Pressure (above ambient), P<sub>g</sub> = ..... mmHg  
 Saturated Vapor Pressure, P<sub>0</sub> = P<sub>g</sub> + P<sub>a</sub> = ..... mmHg  
 Ambient Temperature, T = 20°C = 273.15 + 20 = 293.15 °K  
 Molecular Weight of Adsorbate, M<sub>a</sub> = 28 g  
 Adsorbate Cross Sectional Area, A<sub>cs</sub> = ..... m<sup>2</sup>  
 Calibration Gas Weight, X<sub>c</sub> =  $\frac{P_a M_a V_c}{P_a M_a V_c}$   
6.235x10<sup>-4</sup> T = 1.826858x10<sup>-3</sup>

PLOT  $\frac{1}{X [(P_0/P)-1]}$  vs P/P<sub>0</sub>  
 Slope, (S) = 4.22:0.964  
 Intercept, (I) = 1.91513  
 $X_m = \frac{1}{S + I} = \frac{1}{4.22 + 1.91513} = \frac{1}{6.13513} = 0.001434$  g  
 Correlation = 0.998

Total Surface Area (S<sub>t</sub>) =  $\frac{X_m (6.02 \times 10^{23}) A_{cs}}{M_a}$   
 \*For N<sub>2</sub>, S<sub>t</sub> = X<sub>m</sub> (3.483 x 10<sup>3</sup>) m<sup>2</sup>  
 S<sub>t</sub> = 4.9963 m<sup>2</sup>  
 Specific Surface Area (S) =  $\frac{S_t}{W}$   
 S = 234.5676 m<sup>2</sup>/g

## D.- PLAN COMERCIAL PROPUESTO.

### I.- Selección del mercado.

#### \* Aspectos generales.

El proyecto consiste en la fabricación y venta de fases estacionarias para cromatografía. Estos productos actualmente se importan y tienen un precio alto, por lo que su venta sería muy atractiva.

Se planea fabricarlos a partir de materias primas del país en su mayoría, por lo que nuestros productos serían más baratos que los de importación.

Las fases o empaques para columnas cromatográficas se emplean en los laboratorios de empresas e instituciones de las áreas de química, biología y medicina; y se utilizan para trabajos especiales de investigación y para análisis de rutina en control de proceso, de materia prima o de producto, para análisis clínicos, para estudios fitoquímicos, etc.

Como estos productos se emplean a nivel laboratorio el volumen de ventas mensual esperado es del orden de kilogramos y es posible su fabricación en los laboratorios de la facultad.

Pienso que el sistema no sería elástico porque aunque el precio varíe, la demanda no varía mucho ya que estos productos son necesarios de todas maneras para los fines antes mencionados.

El precio de los empaques para cromatografía se ha mantenido alto desde que empezaron a utilizarse, es decir, ha tenido una dinámica más o menos estable.

**\* Tipo de negocio y evolución.**

El negocio es justamente fabricar y vender empaques para cromatografía.

En la competencia existen ya varias marcas como:

DuPont	-	francesa
Waters	-	estadounidense
Supelco	-	estadounidense
Burdick y Jackson	-	estadounidense

Todas estas empresas tienen mucho reconocimiento en el mercado internacional. DuPont elabora productos químicos de muchos tipos, mientras Waters y Supelco trabajan específicamente en cromatografía. Estas últimas, además de empaques venden las columnas, solventes, cartuchos, accesorios para cromatógrafos y servicio



técnico.

Algunos clientes potenciales han probado ya nuestros productos y han quedado satisfechos con los resultados. Pero no esperamos ser mejores que Waters, Supelco y DuPont. Nuestro ingreso al mercado tendrá que ser por precio y por disponibilidad.

La Facultad de Ciencias Químicas dispone de un laboratorio que puede ser destinado a fabricar empaques para cromatografía y cuenta con una parte del material y equipo requeridos. Hace falta comprar materias primas, contratar personal y adquirir más equipo para poder satisfacer la demanda esperada.

★ Necesidades o hábitos a ser cubiertos.

Los empaques para cromatografía son indispensables en laboratorios químicos, biológicos y médicos. Se utilizan para separar los componentes de una muestra o simplemente para purificar algún material.

★ Cliente.

La Facultad le vendería toda su producción a un representante que solicitó ser exclusivo, y él la venderá

al consumidor final.

Estos productos tendrían que darse a conocer en el ambiente profesional, como en congresos, conferencias, seminarios, revistas, en el canal 53 de la U.A.N.L, o visitando a los posibles clientes para hablarles de las ventajas que obtendrían al adquirirlos.

Para motivar al cliente a comprarnos se le hará ver que el precio es bajo y que funciona igual a los de la competencia. Se le puede obsequiar una muestra pequeña para que lo pruebe y se convenza por sí mismo de su eficacia.

\* Entorno.

Actualmente los empaques para cromatografía pagan un impuesto alto al importarse y esto hace su precio alto. Dentro de poco tiempo las fronteras comerciales no van a existir y se abaratarán estos productos aún siendo extranjeros. Tenemos prisa por convencer al cliente de que nuestro producto es bueno y barato antes de que los de la competencia, que ya sabemos que son buenos, se vuelvan también baratos.

## II. Diseño de la Oferta.

### \* Producto.

El objetivo es vender empaques para cromatografía de líquidos.

Planeamos venderlos en cartuchos reutilizables de 1 g. Los manejaremos empacados en pequeños cartuchos que se pueden utilizar 5 ó 6 veces y luego se desechan. Esta presentación es la recomendada para purificar muestras o para concentrar el componente de interés.

Es necesario tener un stock de las materias primas que deben comprarse en el extranjero, para que en el momento en que el cliente nos solicite el producto, se lo podamos fabricar y surtir oportunamente.

## III. Colocación de la oferta.

### \* Fuerza de ventas.

No nos vamos a manejar a través de vendedores. Nuestra producción está comprada de antemano por el distribuidor.

**\* Publicidad.**

Se editarán folletos donde se informen las características de nuestro producto. Se montarán exposiciones en los congresos y seminarios del ambiente científico. Se pondrán anuncios en las revistas técnicas de circulación nacional y en el canal 53 y se harán visitas personales a las empresas que pudieran interesarse.

El servicio técnico lo ofrecerá el representante directamente al cliente.

