

24.3



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán



**RECOPIACION BIBLIOGRAFICA SOBRE
COLUMNAS CAPILARES EN CROMA-
TOGRAFIA DE GASES**

T E S I S

Que para obtener el título de:

Q U I M I C O

P r e s e n t a :

Miguel Gallegos Montoya



V N A M

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	pag.
1.-Objetivo -----	1
2.-Introducción -----	2
3.-Breve reseña histórica -----	3
4.-Diferentes tipos de columnas -----	5
5.-Preparación de columnas capilares de vi- drio(WCOT) -----	8
5.1.-Desactivación superficial -----	20
5.2.-Modificación por enlace químico -----	25
5.3.-Recubrimiento de columnas -----	27
5.4.-Inmovilización -----	31
5.5.-Resililación -----	33
6.-Evaluación de columnas capilares de vi- drio(WCOT) -----	35
7.-Aplicaciones de columnas capilares de vi- drio(WCOT) -----	41
8.-Conclusión -----	52

Bibliografía.

OBJETIVO

El objetivo de éste trabajo es el de hacer una recopilación bibliográfica sobre los más sobresalientes desarrollos en cromatografía gaseosa de alta resolución en columnas capilares de vidrio tipo WCOT (tubo abierto con pared recubierta con fase estacionaria).

INTRODUCCION (1)

El esfuerzo de llevar a cabo tratamientos cuidadosos y extensos sobre columnas capilares se justifica por el estudio de mezclas complejas tales como los compuestos nitrogenados básicos provenientes del petróleo(2)(3), del humo de tabaco (4,5), del carbón refinado(6), que presentan numerosos isómeros a separar. Tales compuestos tienen propiedades indeseables como: a) causan inestabilidad en los combustibles líquidos durante su almacenamiento debido a la formación de alquitrans(7)(8). b) son peligrosos para la salud y el medio ambiente a causa de su actividad cancerígena y mutágena en animales(9). Además tienen un uso potencial en la fabricación de herbicidas, tinturas y drogas.

BREVE RESEÑA HISTORICA

A principios de los años cincuenta, fructificó el trabajo de los pioneros en cromatografía de gases (CG), para producir columnas empacadas de alta eficiencia (Ray Scott (10)) en algo que pareció increíble en aquel tiempo, 30 000 platos con una columna de 2.2 mm de diámetro interno (DI) y 15m de longitud, teniendo una altura equivalente de plato teórico (NPT) de solo 0.4 mm, Scott separó las parafinas hidrocarbonadas de los C_7 y C_8 .

Martín (11) y Golay (12) habían mencionado la posibilidad de obtener columnas capilares en 1956 y 1957. En 1958 se --- llevó a cabo en Amsterdam un importante simposio sobre cromatografía de gases, en él Golay mostró siguiendo la representación de sus tratamientos matemáticos de columnas de pequeño calibre de tubo abierto, un par de ensayos cromatográficos obtenidos por su discípulo Condon, el cuál tuvo enorme impacto, por primera vez fué posible una columna con 50 000 platos y con eficiencia de separación tan real como la separación de meta y para Xileno, usando una fase estacionaria no específica.

Las columnas capilares y los detectores altamente sensitivos de ionización (Mc Williams (13)) aparecieron simultáneamente. Los capilares en CG no podrían ser bien desarrollados -- sin los detectores de ionización, que proporcionarían sensibilidad compatible con el tamaño de muestra y el volumen interno de la celda del detector.

Desty (14) resolvió el problema inicial de inyección de la muestra, utilizando un simple divisor que fraccionó la muestra inyectada, entre el capilar y una válvula de escape.

La optimización de la columna, la inyección de la muestra y el uso del detector de ionización de flama en el laborato-

rio de Desty resultó en cromatogramas con un impresionante número de sustancias separadas, obtenidas de fracciones de petróleo. Por primera vez fueron separados cientos de componentes revelando la complejidad real de dichas muestras.

Otras experiencias interesantes incluyen la separación de hidrocarburos en capilares de Nylon por Scott y Hazedean(15) y el famoso capilar de una milla de longitud de Zlatkis y Kaufmann(16). Los ésteres de ácidos grasos separados por Lipsky(17) indicaron cierta posibilidad de aplicación de capilares en CG fuera del campo de los hidrocarburos.

Menos conocidos pero igualmente impresionantes, son los trabajos de los años sesentas en el área de la cromatografía gas/sólido. Trabajando a temperaturas de nitrógeno líquido y usando neón como gas acarreador, Mohnke y Saffert(18) demostraron la factibilidad de separar(resolver) isótopos de H_2 y sus isómeros de spin nuclear. En éste trabajo se utilizó, un capilar de vidrio con una película de sílica generada en la columna por la acción del NH_4OH .

La separación de varias especies isotópicas con columnas capilares, fué desarrollada por investigadores italianos(19) (20), que lograron, por ejemplo, la separación de benceno normal y deuterado.

Muchos avances actuales de capilares en CG tienen sus raíces en el trabajo pionero de Golay, Desty y otros investigadores, de finales de los años cincuenta y principios de los años sesentas. Los avances incluyen el desarrollo de columnas capilares estables, eficientes e inertes(21,22), técnicas de análisis de trazas(23,24) e incremento de sensibilidad de combinar las técnicas de cromatografía de gases y espectrometría de masas. Todo por la necesidad de conocer la composición de mezclas complejas, de trazas de compuestos orgánicos abajo de niveles de partes por billón.

DIFERENTES TIPOS DE COLUMNAS

La primera columna utilizada en cromatografía de gases fué ideada por Martín(25) en 1952 y fué una columna de relleno. Posteriormente Golay(26) introdujo la columna capilar, innovación que puede considerarse de gran importancia en cromatografía en fase gaseosa.

Según Malasz(27) el criterio de clasificación de los diferentes tipos de columnas debe basarse en sus propiedades fundamentales como son: la relación de fase y la permeabilidad. Se puede considerar la siguiente clasificación:

a) Columnas clásicas de relleno.-Están constituidas por un tubo de vidrio o metal cuyo interior se encuentra relleno con un soporte granular, cuya superficie está a su vez recubierta con una película de fase estacionaria. Su longitud oscila entre 1 y 10 m y su diámetro interior mide entre 2 y 4 mm.

El tamaño del grano de relleno suele ser 10 veces menor que el diámetro del tubo.

Posee una gran cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud, su capacidad de carga(cantidad de muestra inyectable) es grande. El volumen de huecos por unidad de longitud es muy pequeño y, como la cantidad de fase estacionaria es grande, la relación de fase es pequeña. Por ésta razón la permeabilidad es muy pequeña, lo que limita su longitud y capacidad de resolución.

b) Columnas capilares rellenas.-Difieren de las columnas clásicas de relleno en el diámetro interior del tubo que no excede a 1 mm, sin embargo hay otras diferencias como son la relación entre el diámetro del tubo y el tamaño de la partícula de relleno, que es del orden de 3 a 5 .

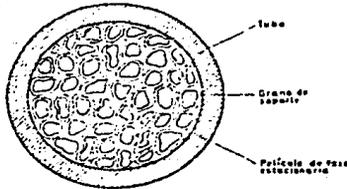
Esto hace el relleno más irregular y una permeabilidad diez veces superior. La relación de fases aumenta y la capacidad de carga disminuye. Al ser la permeabilidad mayor se pueden construir columnas más largas, de entre 10 y 50 m.

c) Columnas capilares de capa porosa.-En éste tipo de columnas, el soporte se deposita sobre la pared interior del tubo capilar, y éste a su vez se recubre con la fase estacionaria. La parte central del capilar permanece vacía. El tamaño del grano del soporte puede oscilar entre el de un soporte clásico y la fina partícula de carbón producida por pirólisis de una sustancia orgánica.

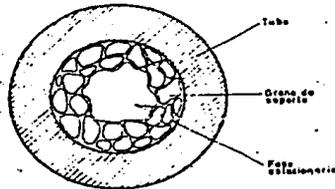
El diámetro interior del tubo capilar puede ser de 0.1 a 0.5 mm. La permeabilidad de éste tipo de columnas es del mismo orden de los capilares abiertos, su longitud oscila entre 25 y 200m. Posee dos ventajas fundamentales sobre las columnas capilares abiertas 1) El soporte presenta mejores propiedades de mojabilidad que la pared del tubo y será más fácil obtener un mejor recubrimiento por la fase estacionaria; 2) La superficie por unidad de longitud será mayor admitiendo más cantidad de fase estacionaria con el mismo espesor de película, lo que proporciona mayor capacidad de carga, que es importante si el sistema de detección no es muy sensible.

d) Columnas capilares abiertas.-Son capilares de 0.1 a 0.5 mm de diámetro interno. La fase estacionaria se deposita sobre la pared interior del tubo, que actúa a su vez de soporte. Posee los valores más altos de permeabilidad, por lo que su longitud puede llegar a los 200 m. Su capacidad de carga es muy pequeña debido a la cantidad de fase estacionaria por --

unidad de longitud, su utilización requiere de sistemas de -
detección muy sensibles. Su relación de fase es muy alta.

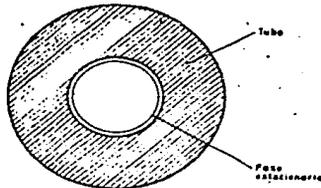


(28) Corte transversal de una columna clásica de relleno.



Corte transversal de una columna capilar de capa porosa.

(28)



Corte transversal de una columna capilar abierta.

(28)

PREPARACION DE COLUMNAS CAPILARES DE VIDRIO (WCOT)

Composición interna del vidrio.

El vidrio comercial para la fabricación de capilares contiene en mayor proporción SiO_2 , pero hay controversia sobre la composición exacta de éste.

Warren sugirió que el Si en el vidrio contiene el arreglo tetrahédrico, y está encadenado con ángulos ligeramente distorsionados para dar un polímero tridimensional(29).

El silicio y el oxígeno forman anillos irregulares de seis miembros, los cuales son relativamente estables porque el engulo Si-O-Si es deformado fácilmente.

En diferentes formas alotrópicas se forman los ángulos de enlace entre cuarzo(150°) y β cristolita(180°)(30).

El cuarzo es altamente entrecruzado en su estructura tridimensional y tiene un alto punto de fusión, bajo coeficiente de expansión térmica y alta resistencia al ataque químico.

Se adicionan varios óxidos metálicos al silicio durante el proceso de manufactura, para modificar algunas de sus propiedades físicas y químicas(31). El Na_2O ablanda el vidrio por rompimiento del enlace O-Si-O como lo ejemplifica la fig.A, además, baja la viscosidad e incrementa la expansión térmica, aumenta la solubilidad en medio acuoso y disminuye su resistencia al ataque químico.

Los óxidos de calcio y magnesio se adicionan al vidrio para disminuir su solubilidad y hacerlo durable químicamente.

El óxido de boro penetra las cadenas silicio/oxígeno, éste átomo(boro) es circundado por solo tres átomos de oxígeno, en coordinación trigonal, ésta estructura plana cuando se inserta en la cadena silílica, manifiesta fuerzas débiles en cierta dirección y como consecuencia ablanda el vidrio. La adición de óxido de boro incrementa la expansión térmica del

vidrio tanto o mas que el álcali.

La adición de alumina (Al_2O_3) a vidrios de silicato alcalino, incrementa su viscosidad, aumenta su resistencia a la desvitrificación y fortalece su durabilidad química, porque toma un arreglo tetrahédrico reformando el enlace Si-O, que se daña severamente con la adición de álcali, fig. E

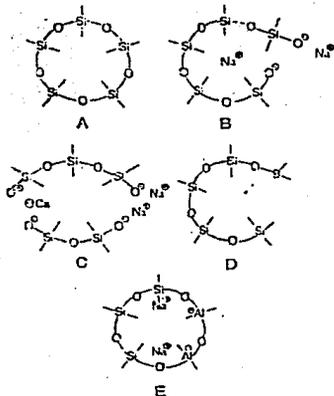
Por un tiempo el vidrio se consideró una estructura simple homogénea, sin embargo el vidrio consiste de dos o más fases en equilibrio. Esto puede ejemplificarse con el sistema boro silicato, durante el tratamiento térmico del vidrio, se separó en dos fases distintas pero continuas B_2O_3 y SiO_2 , que -- se observan como una turbidez que puede variar de clara a -- completamente lechosa dependiendo de las condiciones térmicas.

El vidrio más comunmente utilizado para construir columnas capilares es el blando (soda) o tipo borosilicato (pyrex).

El vidrio borosilicato es termicamente más durable, tiene una temperatura de ablandamiento de alrededor de $125^{\circ}C$ más alta que los vidrios blandos. Las columnas capilares (CC) --- estiradas de vidrios borosilicato tienden a ser menos frágiles que las geoméricamente similares de vidrio blando, además, el vidrio blando tiende a ser alcalino por su alto contenido de Na_2O , mientras que los vidrios borosilicic son ácidos por la fase B_2O_3 . La siguiente tabla muestra la composición de algunos vidrios utilizados para elaborar columnas -- capilares (32).

Componentes	tipo de vidro							
	AR	RO	B44	Unihost	PN	R6	PMH	7740
SiO ₂	70	70.2	68.6	67	67.7	71.4	71	71
Na ₂ O	15	17.0	12.6	17.8	13.5	15.6	15.0	14
CaO	7	8.8	6	3.5	6.5	5.7	4.8	0.5
ZnO	7	0.5						
Al ₂ O ₃	2.5	2.3	4.2	3.9	3.7	2.5	2.7	2.0
B ₂ O ₃			1.0		2.0			13
H ₂ O			1.5	2.9		3.9		
SO ₂					2.0	0.8	0.8	
MnO		0.5						
K ₂ O				1.3		0.6	1.7	
Other elem.							0.2	

Simbolos: AR=A.R. glass, Schott-Puhrglas, Werhein, G.F.R. RO=Rön-
tgen glas 05, Philips, Eindhoven, The netherlands. L44=Verre sodé
calciq 44, Choisy-le-Roi, France. Unihost=soda lime soft glas
Jablonec Glass Works, Czechoslovakia. PN=Soda lime soft glass,
Jablonec Glass Works, Czechoslovakia. R6=R6 Flint, soda lime so-
ft glass, Kimble Glass Works, Toledo, OH, U.S.A. PMH=Soda-glass
Chance, Smethwick, Great Britain. 7740=Pyrex 7740 Glass Corning
Glass Works, Corning, NY, U.S.A.



Química de la superficie del vidrio

La composición y estructura superficial del vidrio es de mayor importancia que la composición interna en cromatografía capilar gaseosa.

Las nuevas técnicas de Espectrometría Electrónica Auger (EEA), Espectrometría de Masas Iónica Secundaria (EMIS), Espectrometría de Pantalla Iónica (EPI) y Espectrometría Fotoelectrónica de Rayos X (EPRX), permiten conocer la composición interna, las variables como el ambiente, la fabricación la historia térmica, afectan la formación y estabilidad de la superficie.

Las determinaciones de EEA sobre la composición de la superficie de columnas capilares recién estiradas sin tratar, comparada a su composición interior, se muestra en la siguiente tabla(33).

Composición de capilares de vidrio Pyrex 7740

Elemento	Interior %	Superficie %
Si -----	25.5	24
O -----	64.0	69
Na -----	2.5	--
Ca -----	0.2	--
B -----	7.0	7
Al -----	0.8	--

El vidrio es considerado una sustancia químicamente inerte, sin embargo, considerando su capacidad adsorptiva y actividad catalítica en aplicación en columnas capilares, esta es de tomarse en consideración. La actividad es particularmente evidente cuando se analizan compuestos polares, reflejándose en la forma de los picos y por adsorción completa(irreversible)(34).

Las interacciones entre el soluto y la pared de la columna son particularmente notables en columnas con película de fase estacionaria muy delgada, la actividad superficial es considerable cuando pequeñas concentraciones (picogramos) de soluto están siendo separados. En un estudio Versele y Sandra(35) recalcaron que la actividad de la pared de la columna es uno de los problemas a vencer en la preparación de columnas capilares.

La actividad de la pared de la columna puede ser atribuida al silicio superficial y a impurezas en la película superficial de la matriz del vidrio. Los óxidos metálicos, adicionados durante la manufactura del vidrio, presentes sobre o cerca de la superficie de éste, pueden actuar como ácidos de Lewis(36,37,38). Estos sitios son considerados como catiónicos donde la carga positiva es concentrada en un catión de pequeño radio y la carga negativa es distribuida sobre los enlaces internos del silicio tetrahédrico(39). La función de los sitios ácidos de Lewis es de adsorción de moléculas donadoras de pares electrónicos, tales como aminas y cetonas. La fuerza de adsorción depende no solo de las propiedades del donador sino también de la fuerza del ácido acceptor de Lewis (40).

Los iones sodio y potasio son ácidos debiles de Lewis, tanto como magnesio, calcio y aluminio. Las moléculas que contienen enlaces π tales como los compuestos aromáticos y olefinas, interactuan con los sitios ácidos de Lewis(41,42).

La superficie del vidrio y la adsorción sobre la superficie son objeto de muchas investigaciones. La espectroscopía infraroja de la superficie del vidrio, ha llevado a un conocimiento razonable de su superficie, desafortunadamente la sílice superficial no se ha investigado a fondo. Se supone que la sílice superficial del vidrio es similar a otros ti--

pos de sílice.

La estructura individual más importante de la sílice superficial son los grupos hidroxilo unidos al átomo de silicio. Estos átomos de silicio presumiblemente tienen coordinación tetrahédrica para tres átomos de oxígeno a la masa interior. De esto se infiere que a bajas temperaturas los átomos de sílice superficial prefieren completar sus coordinaciones -- con hidroxilos, puentes siloxano o especies cargadas(40).

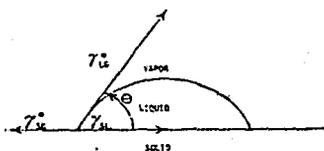
Existe controversia sobre el número y naturaleza de los -- grupos hidroxilos superficiales, algunos estudios(43,44) indican que alrededor del 50% de los grupos hidroxilos superficiales, están unidos con enlace de hidrógeno unos a otros.

Si suponemos que un átomo de silicio sobre la superficie -- del cuarzo debe completar su coordinación tetrahédrica con -- un grupo hidroxilo, el número de éstos se puede calcular con suposiciones geométricas(45,46). Suponiendo un grupo hidroxilo por átomo superficial de silicio, hay aproximadamente 8 -- grupos por 100 \AA^2 . Determinaciones indican que a temperatura ambiente la concentración de hidroxilos superficiales, corresponde a 5 grupos por 100 \AA^2 (47,48).

Humectabilidad de la superficie del vidrio

Para obtener una alta eficiencia de separación con una columna capilar de vidrio, debe aplicarse una película uniforme y homogénea de fase estacionaria en la pared interior del tubo capilar. Esta delgada película deberá mantener su integridad y no fluctuar, para que no se formen gotas al variar la temperatura.

Cuando una gota de líquido es puesta sobre una superficie sólida, ésta puede extenderse para cubrir la superficie ó puede permanecer como gota estable. El ángulo entre la tangente a la gota y la superficie sólida está definido como el ángulo de contacto θ fig., cuando θ es cero, el líquido cubre libremente la superficie; cuando se incrementa θ la tendencia a extenderse del líquido disminuye. Por tanto el ángulo de contacto es una medida inversa de la humectabilidad y $\cos \theta$ es una medida directa.



La correlación de fuerzas que actúan entre las superficies líquida y sólida, se describe con la ecuación de Young(49).

$$\gamma_{sv} - \gamma_{sl} = \gamma_{lv} \cos \theta$$

Tres tensiones superficiales γ_{sv} , γ_{sl} , γ_{lv} existen en el límite de fase de una gota de líquido en reposo sobre una superficie sólida.

La humectabilidad es una función termodinámica del equili-

brío entre las fuerzas de cohesión dentro del líquido y la energía de la superficie del sólido. Las fuerzas de cohesión dentro del líquido están caracterizadas por la tensión superficial y la energía de superficie del sólido por la energía libre superficial.

El ángulo de contacto depende de la energía libre superficial específica del sólido y del líquido. La humectación ocurre generalmente cuando la energía libre específica superficial del líquido es menor que la del sólido. La composición de ambas superficies es de primera importancia cuando los átomos superficiales de ambas superficies se atraen uno a otro por fuerzas de London(49).

La mayoría de los átomos que están a pocos \AA de la superficie, tienen poca o ninguna influencia sobre el fenómeno de humectación, pero los iones o cargas no compensados influyen mucho.

Ziman(50) definió la tensión superficial crítica(t_{sc})(γ_c) como el valor de la tensión superficial del líquido, en el cuál el líquido muestra un ángulo de contacto finito sobre una superficie dada. El valor de t_{sc} se obtiene de un diagrama de $\cos \theta$ de las tensiones superficiales de una serie de líquidos homólogos, éste diagrama tiene forma de recta y el punto en el cuál la misma cruza la intersección $\cos \theta = 1$ es la tensión superficial crítica; para todo líquido que tenga una tensión superficial menor que la tensión superficial crítica del sólido, el líquido humectará por completo la superficie sólida.

El vidrio es descrito comunmente como una superficie de alta energía(51,52) y se supone que tiene una energía libre de cientos a pocos miles de erg/seg. (53).

La mayoría de los líquidos orgánicos exhiben grandes ángulos de contacto sobre el vidrio y no forman películas unifor

mes, sino gotas(54).

Usando la tensión superficial crítica como una medida de humectación, se ha visto que ésta para vidrios lisos y limpios es de ≈ 30 dinas/cm, y las tensiones superficiales de fases estacionarias típicas son del orden de 30 a 50 dinas/cm(55,56,57,58) por definición, éstos valores conducen a no humectar la superficie del vidrio. Afortunadamente se pueden hacer modificaciones para aumentar la tensión superficial crítica del vidrio. En alguna instancia la tensión superficial crítica de la fase estacionaria es bajada por adición de surfactantes.

La humectación también es afectada por líquidos que son incapaces de extenderse como una película monomolecular, fenómeno conocido como autofobicidad(59).

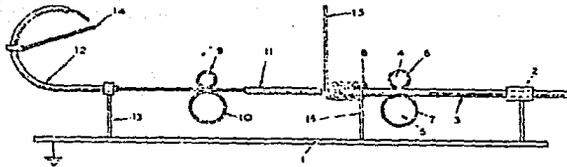
También influyen factores como la formación de películas monomoleculares orientadas y la presencia de impurezas.

Tratamiento previo al estiramiento de capilares de vidrio

Durante el proceso de enfriamiento en la manufactura de -- tubos de vidrio, el producto se expone a aceites y grasas -- durante el proceso de fabricación, además de que los vapores orgánicos se pueden adsorber en la superficie del vidrio durante su almacenamiento. Se han usado diferentes soluciones y disolventes para limpiar la pared interna de los tubos de vidrio antes de estirarlo, éstos incluyen ácidos y bases diluidos, disolventes orgánicos como acetona, éter etílico, -- metanol y cloruro de metileno(33). En ciertos casos el tubo de vidrio pyrex fué llenado con una mezcla crómica y dejado a temperatura ambiente por 48 hr., la superficie resultante después del estiramiento fué parcialmente afectada con pequeños hoyos(60).

En otro caso, los tubos de vidrio pyrex fueron llenados -- con ácido fluorhídrico al 10% y dejados a temperatura ambiente por 48 hr., después se llenaron con ácido nítrico concentrado y dejados a temperatura ambiente por 1 hr., se lavaron con ácido fluorhídrico y agua desionizada, la superficie resultante después del estirado tenía una apariencia sintérica con numerosos hoyos. Esta superficie parece ser mejor desactivada que la tratada con mezcla crómica(60).

Cronin(61) preparó una columna capilar abierta de capa porosa(PLOT), como primer recubrimiento, depositó en la pared interior del tubo de vidrio una mezcla de polvo de vidrio -- con cefta antes del estirado. El polvo de vidrio sirve como unidor para asegurar la celita permanentemente a la pared -- del vidrio. Torline y colaboradores(62,63) cubrieron el tubo de vidrio pyrex con 5 μ m de polvo de cuarzo antes del estirado, y la superficie interior del capilar resultante mostró -- una distribución consistente de partículas de cuarzo unidas a la pared del capilar.



Aparato para estirar capilares. 1=base; 2=sopORTE;
3=tubo de vidrio; 4,5=rodillos alimentadores; 6,7=
forros de hule; 8=horno; 9,10=rodillos estiradores;
11=tubo de porcelana; 12=tubo enrollador; 13=sopOR
te y conección a tierra; 14=conección a transformador
de bajo voltaje; 15=conección a transformador de ba-
jo voltaje; 16=sopORTE de horno y conección a tierra.

estiramiento de capilares de vidrio

La primera máquina estiradora fué diseñada y construida --- por Desty (64) ésta se muestra esquemáticamente en la fig., - en ella, dos pares de rodillos, uno antes y otro despues de un horno eléctrico, controlan la velocidad de estirado, la - temperatura y con ello la longitud y diámetro de la columna. Cuando el capilar sale del segundo par de rodillos, es for-- zado a pasar por un tubo caliente en forma de semicirculo -- para que la columna tome forma de espiral.

En 1975, Desty modificó su máquina estiradora original para obtener la temperatura de estirado necesaria para cuarzo, por medio de un horno oxígeno/propano. La imposibilidad de - construir tubos en forma de espiral fué la limitante para el uso de éste tipo de máquina. El descubrimiento de Dandeneau y Zerenner (32), de columnas capilares de pared delgada de -- alta flexibilidad, que se podían estirar en forma recta y -- posteriormente hacerla espiral por ablandamiento, incrementó enormemente el interés en el uso de capilares de cuarzo. La máquina de estirado utilizada por Dandeneau y Zerenner está basada en tecnología de fibras ópticas.

El pequeño diámetro interior y las paredes delgadas de los capilares de cuarzo, permiten un alto grado de flexibilidad, aunada a la resistencia a la tensión de la superficie de la sílica. Aunque la resistencia es enormemente reducida por -- imperfecciones superficiales, microfracturas o pequeños rayo-- nes causados por polvo o impresiones dactilares. Para obte-- ner durabilidad mecánica y estabilidad térmica se aplica a -- la superficie del capilar poliamida, inmediatamente después del estirado (65). Este recubrimiento proporciona protección mecánica y flexibilidad bajo condiciones de máxima sensibi-- lidad en columnas a temperaturas de aproximadamente 300°C.

DESACTIVACION DE LA SUPERFICIE INTERNA DE LOS CAPILARES DE VIDRIO

La superficie del vidrio tiene diferentes tipos de sitios activos provenientes de los ingredientes de éste o de la estructura del mismo sílice. Las diferentes técnicas de modificación superficial se realizan para proporcionar mejor humectabilidad de la superficie del vidrio por la fase estacionaria, también proporcionan cierta desactivación superficial.

El primer camino involucra recubrimiento físico de la mayoría de los sitios activos. Por ejemplo la cristalización in situ de NaCl sobre la pared interna del capilar de vidrio, resulta en el cubrimiento de los sitios activos(66). El efecto neto es una superficie menos activa además de una mejor humectabilidad de la superficie. La fase estacionaria en si proporciona un cierto grado de desactivación, especialmente cuando se cubre en películas delgadas.

Otro procedimiento de desactivación es con carbonato de bario, ésta técnica se desarrolló originalmente para arrugar la superficie del vidrio(67,68) por formación de una capa delgada y lisa de cristales de $BaCO_3$ que cubren la superficie formando un depósito relativamente inerte y durable.

También se puede utilizar una solución muy diluida de $Ba(OH)_2$ (67). Una desventaja de éste tipo de depósitos es que retienen los ácidos con pKa menores a 6 como los ácidos grasos(69).

La estabilidad térmica de fases estacionarias depositadas sobre la pared interna de las columnas capilares después de varios pretratamientos han sido estudiadas por Schomburg y colaboradores(70,71), quienes observaron sangrado prematuro de fase estacionaria cuando fué depositada sobre $BaCO_3$. Los análisis de la superficie después del tratamiento con $BaCO_3$

por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (EPFX) y espectroscopía auger electrónica (EAE) (33), mostraron que la superficie no es cubierta totalmente con $BaCO_3$, llegando a la conclusión de que el procedimiento del carbonato de bario es principalmente una técnica de arrugamiento superficial, y -- por tanto es impropio referirse a ésta como una técnica de -- desactivación.

Otro tipo de desactivante superficial son los surfactantes éstos se adhieren a la pared interna del tubo capilar formando una película monomolecular orientada. Esta película puede proteger la superficie y proporcionar un método simple y versátil de desactivación (33).

Los surfactantes se pueden aplicar con la fase estacionaria o aplicarlos separadamente mediante recubrimientos a la pared interna, antes del cubrimiento con la fase estacionaria. Ciertos investigadores (56,72,73) reportaron el uso de agentes surfactantes como aditivos en la fase líquida, para proporcionar propiedades a las columnas de acero inoxidable, -- estos materiales comunmente tienen una función polar que se adsorbe en la pared del capilar, lo que desactiva los sitios activos, el resto de la molécula presenta una superficie que abate la tensión superficial de la fase líquida.

Metcalf y Matin (74) propusieron el uso de un compuesto de amonio cuaternario: trioctadecil metil amonio con bromuro -- como catión (Gas-Quat L), como modificador de superficie para uso en recubrimientos de columnas capilares con varias fases.

Otros investigadores usaron cloruro de benziltrifenilfosfonio (CBTF) (75,76,77,78,79) y tetrafenilborato de sodio (Kalignost) (80) que están realmente adheridos a la superficie del vidrio porque reaccionan con él; proveen desactivación para grupos silanol y sitios activos (ácidos de Lewis). El Kalignost es un agente aniónico, el Gas-Quat L y el CBTF son cationicos.

Reportes recientes indican el uso, como modificadores de superficie, de cloruro de diisobutilfenocetocetildimetilbenzilamonio(77), tictanolamina(77) y triisopropanolamina (81).

También se utilizan para interactuar con los sitios activos de la superficie, sales básicas como K_2CO_3 , Na_3PO_4 (82,83) y KF(83) para producir columnas menos activas. Estos procedimientos se utilizan especialmente para preparación de columnas polares en el análisis de bases orgánicas como las aminas.

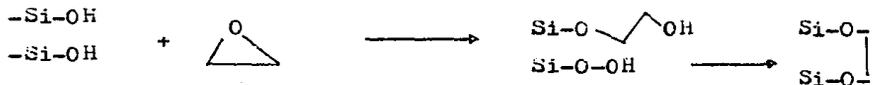
Recubrimiento con polímeros orgánicos

Aue(84) encontró que cuando el carbowax 20K se utilizó para cubrir un soporte de tierras diatomáceas a $280^\circ C$, se obtiene un empaquetamiento bien desactivado con muy bajo san grado y alta eficiencia. El sugirió que las cadenas de poli-etilén glicol permanecen unidas en una película monomolecular cercana a la superficie, por medio de enlaces de hidrógeno y de Van der waals.

Cronin(85) aplicó un carbowax no extractable para columnas por el método dinámico(102) con 2%(w/v) de solución en cloruro de metileno, sellando los extremos después del depósito y dejando a $280^\circ C$ por 16 hr..

Blomberg y wannan(86) demostraron que la superficie tratada de ésta manera(85) es compatible con fases apolares tales como SP-2100 y OV-101. Sugieren que un efecto similar ocurre cuando se encuentra una película delgada de octadecanol sobre diatomite(tierras diatomáceas) en el cuál los grupos hidroxílos son orientados hacia el soporte superficial y la película exhibe caracter no polar(87).

No se conoce el mecanismo de enlace de carbowax a la superficie del vidrio. En algunos trabajos (34,84,69,85) se sugiere que enlaces de hidrógeno y Van der Waals están involucrados, además de que la pirólisis del carbowax(88) produce especies orgánicas, como oxirano, el cuál es unido químicamente al vidrio por reacción con los grupos silanol superficiales.



También se utilizan para desactivar otros polímeros orgánicos, éstos incluyen carbowax 100(68), carbowax 400(89), Emulphor C(69), escualeno(90), ethoxicarboxil polifenileno y alquilpolisiloxano(91), poli-N-β-hidroxietyl aziridina(77), - los dos últimos no son poliméricos.

Lixiviación de la matriz del vidrio

La lixiviación se refiere a la remoción de componentes solubles de una matriz heterogénea comúnmente en solución acuosa. El vidrio contiene cationes metálicos, los cuales funcionan como ácidos de Lewis y dan al vidrio una indeseable actividad química.

La lixiviación ácida controlada puede remover esos sitios activos de la pared del vidrio y formar una superficie rica en sílica, que conviene por su estabilidad térmica(33).

La reacción general puede ser comprendida en términos de ataque electrofílico y nucleofílico sobre los puentes siloxano.

Este tipo de proceso se desarrolla a través de difusión controlada y es proporcional a la cantidad de álcali extraí-

do y a la raíz cuadrada del tiempo(92,93). La lixiviación -- incrementa la densidad de grupos hidroxilo en la superficie, que pueden ser adecuadamente desactivados por sililación.

Durante la lixiviación los álcalis y óxidos metálicos son removidos para proporcionar una película superficial rica en sílica.

Estudios recientes revelan que los iones sodio y calcio son removidos de la superficie en aproximadamente la misma -- proporción uno de otro en la masa del vidrio(94,95).

Abajo de $\text{pH}=7$, la superficie original del vidrio Si-O-Si no es afectada, en cambio las soluciones alcalinas (OH) rompen el enlace Si-O-Si y forman Si-OH además de Si-O-Na.

El tipo de lixiviación descrito por Grob(67) es estático y en él la columna se llena casi completamente con una solución de HCl al 20%, se sellan los extremos de la columna y -- ésta se calienta a 150°C durante 12 hr.. La temperatura depende del tipo de vidrio; el tipo pyrex requiere de altas -- temperaturas. Enseguida se lava la columna con una cuarta -- parte del volumen de la columna con agua destilada y luego -- con metanol.

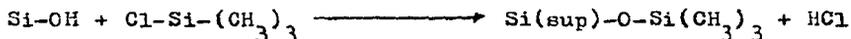
Lee y colaboradores(33)(96,97)prefieren el lixiviado dinámico, en éste, la solución de HCl al 20% se pasa a través de la columna lentamente y a aproximadamente 110°C , la superficie no se arruga mucho y se pueden aplicar prolongados períodos de lixiviado para desalojar cationes muy difundidos en -- la matriz del vidrio.

MODIFICACION SUPERFICIAL POR ENLACE QUIMICO DE CAPILARES DE VIDRIO TIPO WCOT

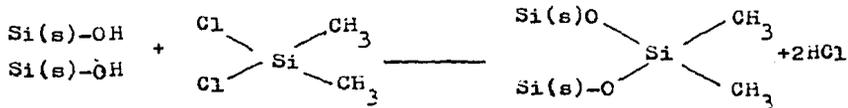
Uno de los métodos más prácticos para la eliminación de -- la actividad indeseable de los grupos hidroxilo superficia-- les es el reemplazo químico de ellos por grupos inertes. La humectabilidad de la superficie del vidrio se puede incre--- mentar por cambio de los grupos modificadores que son compa-- tibles con la fase estacionaria deseada. Las semejanzas quí-- micas entre la pared de la columna y la fase estacionaria -- nos conducen a una humectación eficiente.

Uno de los métodos más populares de modificación química - superficial en preparaciones de columnas capilares de vidrio es la sililación o silanización, los términos son similares, en ésta reacción los grupos hidroxilo superficiales son reem-- plazados con grupos silil-éter.

Aunada a las fuerzas del enlace Si-O-Si, las modificacio-- nes producidas de ésta manera son extremadamente estables, - la polaridad y característica química de la película modifi-- cada que se forma por sililación, se puede controlar por el - cambio de sustituyentes del reactivo de sililación. La sili-- lación de capilares de vidrio fué reportada primero por Kise-- lev(98) y Kiselev Shcherlokova(99) quién usó trimetilclorosilano (Cl-Si-(CH₃)₃) TMCS. Este reacciona con los grupos hidro-- xilo superficiales de acuerdo a la siguiente reacción:

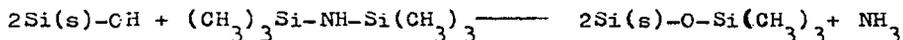


Con diclorodimetil silano se esperaría la siguiente reac-- ción:



En ésta ecuación se supondría una cinética de segundo orden, pero en realidad es de 1.6(100). Se puede justificar un orden de 1.6 suponiendo que 60% de los hidroxilos reaccionan bifuncionalmente y que 40% reaccionan monofuncionalmente. Esto indica que 60% de los grupos silanol están suficientemente juntos para que puedan reaccionar bifuncionalmente, pero suficientemente apartados para no formar enlaces de hidrógeno(100).

Con hexametildisilazano(HMDS) la reacción que tiene lugar en la superficie es:



La vibración del grupo hidróxilo es monoenergética, es -- decir, la reactividad de todos los hidroxilos es la misma, -- ésto significa que esos grupos reaccionan al azar.

Se ha determinado que la reacción de HMDS con la superficie de sílice sigue una cinética de reacción de segundo orden(100), en otras palabras, cuando una molécula de HMDS --- reacciona con la superficie, se remueven dos grupos hidróxilo.

Schomburg(71) describió un procedimiento de desactivación en el cuál se deposita una película no extractable de polimetilsiloxano sobre la superficie del vidrio con técnica dinámica, donde la fase polimetilsiloxano puede ser OV-101. Una vez depositada la película, se llena el capilar con N_2 y se sellan sus extremos, enseguida se calienta a 400°C por 2 hr. Durante el calentamiento el polimetilsiloxano se descompone parcialmente con probable enlazamiento entre los productos -- de descomposición y los grupos silanol superficiales. Se supone(71) que ésta sililación in situ es similar a la oligomerización de fases estacionarias unidas químicamente.

Después del calentamiento, la columna se lava con disolvente para remover la fase estacionaria no enlazada, enseguida se cubre la columna con la misma fase estacionaria hasta --- producir una película de grosor y polaridad definidos.

RECUBRIMIENTO DE COLUMNAS CAPILARES DE VIDRIO (WCOT)

El objetivo es el recubrimiento de columnas capilares con fase estacionaria, es obtener una película uniforme de 0.1 a 1.5 μm de espesor en toda la longitud de la columna, espesor necesario para obtener la eficiencia de separación más alta posible.

Método dinámico

El método dinámico fué descrito primero por Dijkstra y De Goey(102) y en forma general consiste en llenar de 2 a 15 -- espiras de la columna con solución de fase estacionaria al -- 5% en cloruro de metileno, se hace avanzar éste volumen a -- través de la columna, a una velocidad de 1 a 2 cm/seg con -- helio a presión. El procedimiento deja una capa delgada de -- la solución sobre la pared de la columna, es importante el -- purgado continuo con helio para evaporar el disolvente y dejar una capa uniforme de fase estacionaria.

Inconvenientes del método:

- 1) La solución de recubrimiento es descargada al final de la columna, la velocidad de recubrimiento se incrementa primero y es lenta al final, lo cuál resulta en una capa más -- gruesa al final de la columna. Para remediarlo se une una columna amortiguadora al final de la columna principal.
- 2) El consumo de las soluciones de recubrimiento durante el -- proceso resulta en una mayor velocidad lineal del volumen

de solución y por tanto un incremento del grosor de la película conforme se avanza a lo largo de la columna.

- 3) Cuando una cantidad excesiva de solución se deposita sobre la pared de la columna, el líquido puede escurrir y colectarse en la parte inferior de las espiras. La colocación horizontal de la columna puede ayudar a reducir éste efecto.
- 4) La evaporación del disolvente involucra transporte de fase estacionaria hacia el final de la columna, resultando una película progresivamente más gruesa(103,104).
- 5) Las pequeñas diferencias de temperatura o fluctuaciones a lo largo de la columna causan que el disolvente destile en las partes calientes y condensa en las frías. Esto puede provocar la formación de burbujas y películas no uniformes.
- 6) La formación y crecimiento de ondas perturbadoras ha sido tratada teóricamente(105,106) y además se ha observado en capilares cubiertos dinámicamente(107,103). Tales ondas -- provocadas por perturbaciones axiales en el interior del tubo capilar, poseen una longitud de onda que es independiente de la tensión superficial y viscosidad, y se puede evaluar mediante $(2\sqrt{r})/0.7$ donde r es el radio del tubo. Lo cuál significa que en una columna de 0.2 mm de diámetro la longitud de onda será de 0.9 mm (108).

Las predicciones de grosor de la película(df) en recubrimiento dinámico de columnas capilares se hizo usando varias relaciones matemáticas. Kaiser(109) relacionó df a la concentración de la fase estacionaria c, el radio del capilar r y la velocidad de recubrimiento de la columna u, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$df = \frac{c}{200r} (0.265 u + 0.25) \quad \text{ec. 5.3.1}$$

Novotny(107,110) encontró que df depende directamente de r y $u^{1/2}$ en concordancia con la ecuación de Fairbrother-Stubbs (59)

$$df = \frac{rc}{200} \left(\frac{u\eta}{\gamma} \right)^{1/2} \quad \text{ec. 5.3.2}$$

Donde η y γ son la viscosidad y tensión superficial de la solución respectivamente. Tasarik y Necasova(111) confirmaron la dependencia de df sobre r y η . Guiochon(112) sugirió la ecuación:

$$df = \frac{1.34rc}{100} \left(\frac{u\eta}{\gamma} \right)^{2/3} \quad \text{ec. 5.3.3}$$

Bartle(113) evaluó y comparó esas ecuaciones resultando -- que la ec.5.3.2 es la más útil, excepto para el caso de --- $u\eta/\gamma < 10^{-3}$ (películas delgadas o viscosidades de solución bajas), en éste caso el uso de la ec. 5.3.3 es necesario(114, 103).

Método estático

Los métodos de recubrimiento estáticos fueron desarrollados primero por Golay(115) y más tarde descritos para columnas capilares por Bouche y Verzele(116). El procedimiento -- general involucra el llenado del capilar con solución del 5 a 10% de fase estacionaria, sellando el capilar en un extremo y evaporación del disolvente por el otro extremo con vacío. El resultado es una película delgada de fase estacionaria cuyo espesor puede calcularse fácilmente con la ecuación:

$$df = \frac{r}{2\phi} \quad \text{ec.5.3.4}$$

Donde r es el radio del capilar y ϕ es el promedio de fase. Una ventaja importante del método estático es que la fase --

promedio es conocida y por tanto el espesor de la película puede calcularse. Para calcular el promedio de fase es necesario conocer primeramente la densidad de la fase. Rutten y Rijks(117) tabularon las densidades de las principales fases estacionarias:

PESES ESPECIFICOS DE FASES ESTACIONARIAS

Fase estacionaria	Peso específico	F.e.	P.e.
AN-600	1.03	OV-101	0.96
DC-200	0.97	OV-105	0.99
DC-510	1.0	OV-210	1.32
DC-550	1.07	OV-225	1.09
DC-710	1.10	OV-275	1.16
DEGS	1.26	PEG 400	1.13
OS-124	1.21	QF-1	1.32
OV-1	0.98	SE-30	0.95
OV-3	1.0	SE-54	0.98
OV-7	1.02	SF-96	0.97
OV-11	1.06	Silar 5 CP	1.13
OV-17	1.09	Silar 10 C	1.12
OV-22	1.13	SP-2401	1.30
OV-25	1.15	Escualeno	0.83
OV-61	1.09	XE-60	1.08

El método de recubrimiento estático es considerado como superior al dinámico(118,119), produce columnas más eficientes, sin embargo, algunas fases estacionarias no pueden recubrirse por éste método(120). Las fases líquidas de baja viscosidad se acumulan en las porciones inferiores del capilar ocasionando un efecto de concentración en el frente de evaporación, lo cuál causa obstrucción en la columna.

Mistryukov y Jennings(121,122) revisaron el método para capilares de vidrio, introdujeron el extremo abierto de la columna en un horno a alta temperatura y rotaron la columna, de esta forma los disolventes se evaporan y escapan por el extremo abierto, dejando la fase estacionaria depositada sobre la pared del capilar.

INMOVILIZACION DE LA FASE ESTACIONARIA SOBRE LA PARED INTERIOR DE CAPILARES DE VIDRIO TIPO WCOF

La inmovilización de fases estacionarias ha generado intereses y se espera ofrezca nuevas posibilidades como la estabilización del recubrimiento, en casos donde la afinidad de un soporte superficial por un líquido dado, no es suficiente para asegurar la estabilidad de la película y por otra parte - la no extractabilidad del recubrimiento inmovilizado.

La reticulación es el proceso que produce cadenas covalentes entre las moléculas de la fase estacionaria. Injerto es el término correspondiente para la formación de cadenas entre la fase estacionaria y la superficie soporte.

Es evidente que la reticulación puede producir un recubrimiento insoluble y consecuentemente no extractable(123). En el caso de un recubrimiento ordinario para cromatografía de gases, de un espesor de 1000 diámetros de una cadena polisiloxano, se puede esperar que sólo una pequeña fracción de -- las moléculas del polímero pudiesen ser enlazadas a la superficie del soporte, por lo tanto, la masa de la fase estacionaria puede permanecer extractable. La fracción enlazada está directamente relacionada a la longitud de la cadena del polímero. Se consigue un alto grado de inmovilización con moléculas muy largas que tienen un gran contacto con la superficie soporte. Los recubrimientos no extractables producidos por el método de Grob(123,124) están probablemente basados - en efectos combinados de reticulación e injerto. Donde las - contribuciones relativas de los efectos individuales pueden ser difícilmente discriminados. Quizá sea preferible referirse a los dos términos combinados como inmovilización, ya que probablemente el mismo mecanismo de reacción es responsable de la reticulación e injerto(124).

Según Grob(123) el efecto de inmovilización es esencial pa

ra entender las columnas capilares polares de alta calidad, como consistente de un soporte inerte cubierto de un recubrimiento polar inmovilizado. Aunque dichas columnas están confinadas a fases estacionarias con estructuras que permitan la reticulación o injerto. El primer factor limitante de la inmovilización es la disponibilidad de fases estacionarias adecuadas. Siguiendo la recomendación de Grob(124) la fase moderadamente polar OV-1701 fué sintetizada recientemente, OV-1701 es la fase más polar que puede ser razonablemente inmovilizada (las fases fluoradas de silicón(125) son una excepción), con 7% de fenilos, 7% de cianopropilos y 86% de metilos, OV-1701 se encuentra en la sección apolar del espectro de fases.

El procedimiento consiste en preparar columnas de entre 15 y 20 m de tubo capilar no tratado(126) y sin desactivar de material de cuarzo(0.31 mm D.I. Hewlett Packard Co.). Las soluciones de recubrimiento se preparan por disolución de 3.2 mg/ml en cloruro de metileno purificado(para un espesor de 0.25 μ m). El benzilperóxido(Dried, Fischer Scientific Pittsburgh, PA) o dicloro benzóilperóxido(127) se disuelve en las soluciones recubridoras treinta minutos antes de su uso. La concentración de peróxido varía entre 3 y 10% dependiendo del polímero. Después de depositar la solución recubridora, la columna se purga con N_2 , se sellan sus extremos a la flama y se cura a 125°C(para el caso de diclobenzóil peróxido) y 150°C(en el caso de benzóilperóxido), programando desde 40°C a 4°C/min.. Después del curado las columnas se lavan con cloruro de metileno por un período aproximado de 30 min. Enseguida del lavado se acondicionan por 8 hr. a 260°C por programación desde 40°C a 0.5°C/min.. Algunas columnas fueron acondicionadas y probadas antes del lavado para que la pérdida de fase estacionaria por el lavado pudiera ser eva-

luada.

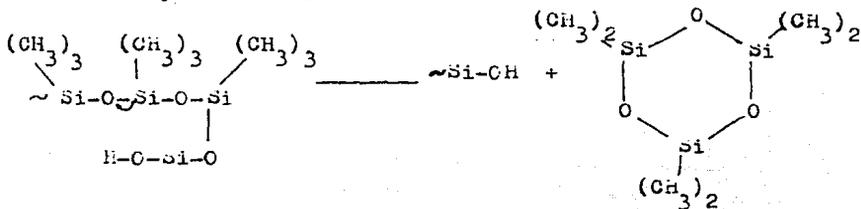
Se utilizó un cromatógrafo de gases Carlo Erba 4160 Fracto vap equipado con un inyector sobre la columna y un detector de ionización de flama. Se utilizó hidrógeno como gas acarreador a una velocidad lineal de entre 50 y 100 cm/seg. El horno se programó desde 40°C ± 4°C/min. hasta la temperatura máxima después de un período isotérmico de dos minutos a 40°C enseguida de la inyección.

RESILILACION DE COLUMNAS CAPILARES DE VIDRIO(WCOT)

El rejuvenecimiento rutinario de columnas usadas, por inyección de agentes silanizantes, es un método tradicional para el cuál existen productos específicos comerciales. Su importancia ha decrecido en los últimos años debido a la indisponibilidad de soportes más inertes(128).

La continua degradación de los polisiloxanos ocurre a elevadas temperaturas(129) y ha sido discutida brevemente por Schomburg(130), el mecanismo ha sido estudiado por Grassie y Mc Farlane(129). Hay información adicional sobre sangrado por Arkles(131).

La reacción más eficiente de degradación térmica de los polisiloxanos, es causada por el ataque de un grupo terminal silanol sobre un átomo de silicio vecino, resultando un anillo polisiloxano de varios tamaños dependiendo de cuál átomo de silicio haya sido atacado.

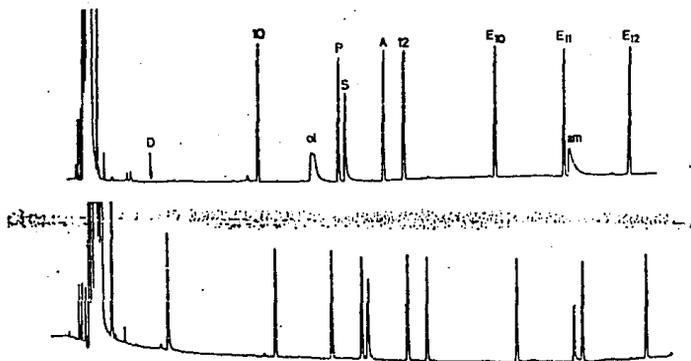


La conclusión que muestra éste mecanismo es que consiste -- de sustancias relativamente volátiles y bien definidas, lo anterior está de acuerdo con la experiencia de espectrometría de masas(132).

Los mejores resultados se obtuvieron con(128) difeniltetra metildisilazano(DPTMDS). Comparado al HMDS, su volatilidad es suficientemente baja para resistir las etapas de lavado (evaporación del solvente)(128).

Las observaciones de Grob(128), concernientes a la influencia de la resiliación sobre la calidad integral de la columna no son tan optimistas, el cambio es relativamente ligero comparado con los niveles de calidad original. Esto significa que la resiliación no es una fórmula mágica para transformar una columna preparada modestamente en una columna excelente.

Como se muestra en la fig., la resiliación en columnas usadas puede presentar dos efectos: fuerte reducción en el sangrado y proporcionar gran calidad a la columna(inercia).



EVALUACION DE COLUMNAS CAPILARES DE VIDRIO

Una columna capilar de vidrio, de alta calidad, se considera que debe poseer alta eficiencia de separación, buena desactivación y estabilidad a las temperaturas de trabajo(91, 133).

Por lo tanto, al probar las columnas, la simetría de los picos de los compuestos de prueba contenidos en la llamada mezcla de polaridad, pueden dar información concerniente a la eficiencia de separación y desactivación de la columna. Además experimentos con mezclas seguidos por pruebas de simetría de picos pueden dar información concerniente a la estabilidad térmica de la película. La dificultad en la evaluación de las propiedades de la columna consisten en el cambio de compuestos de prueba y condiciones cromatográficas. Grob(134) listó el siguiente criterio para una evaluación adecuada:

- 1) La prueba deberá contener todos los compuestos necesarios para dar toda la información básica requerida.
- 2) La prueba deberá consistir de una corrida cromatográfica simple
- 3) La misma prueba deberá aplicarse a todas las fases líquidas.
- 4) Se deben incluir aspectos cuantitativos.
- 5) Las condiciones deberán ser normalizadas para que la prueba resulte reproducible.

La polaridad de las mezclas ha sido sugerida por Grob(135), (134), Schomburg(34,91), Alexander(118), Hastigan y Ettre(136), Sanera y Versele(77,137). Esas mezclas contienen compuestos con una variedad de grupos funcionales como: hidrocarburos saturados, alcoholes, compuestos aromáticos, aldehídos, fenoles y aminas que han sido de uso común, la fig.6.1

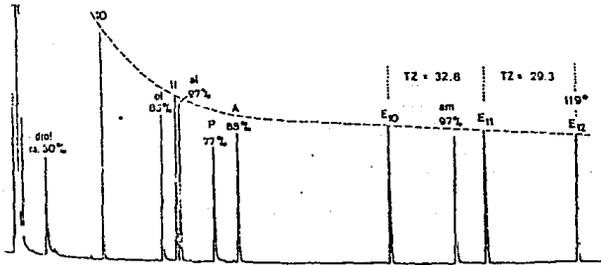


Figura 6.1 Cromatograma de prueba obtenido con SE 52 que ilustra la mezcla de polaridad propuesta por Grob.

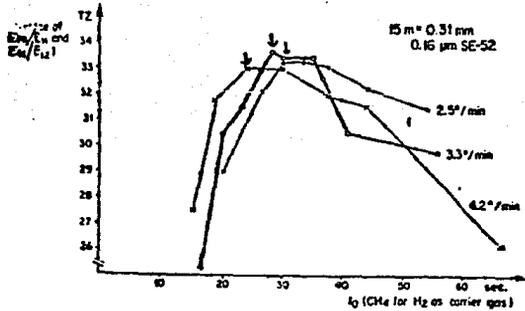


Figura 6.2 Valores de TZ medidos a diferentes porcentajes de flujo de gas acarreador (determinado por el tiempo programado) y diferentes intervalos de temperatura para encontrar las condiciones óptimas para la eficiencia de separación.

muestra un cromatograma de una mezcla de prueba.

Enseguida se propone el uso de pruebas cromatográficas -- para evaluación de columnas. El tratamiento se divide en tres categorías, eficiencia de separación, desactivación y estabilidad térmica.

Eficiencia de separación.- El desempeño de columnas capilares ha sido revisado en detalle por Ettre(138), Ettre y Purcell(139). La eficiencia se ha descrito en varios términos -- como se muestra enseguida:

1.-Por el número de platos teóricos n

$$n=16\left(\frac{tr}{Wb}\right)^2 \quad \text{ec. 6.1}$$

El valor de tr está determinado por el tiempo de retención del compuesto de interés y Wb es el ancho del pico en su base. Frecuentemente el ancho de la mitad de la altura, Wh se usa en lugar de Wb lo que requiere una constante igual a -- $8 \ln(5.545)$ en lugar de 16.

$$n=5.545\left(\frac{tr}{Wh}\right)^2 \quad \text{ec. 6.2}$$

2.-Por el número de platos teóricos efectivos Nef propuesto por Desty(140)

$$Nef=5.545\left(\frac{tr'}{Wh}\right)^2 \quad \text{ec.6.3}$$

El término tr' es el tiempo de retención ajustado y se calcula de $tr'=tr-tm$, donde tm es el tiempo de salida del gas, -- o el tiempo de elución de un compuesto no retenido. El número efectivo de plato se puede calcular de n por medio de la siguiente ecuación(141):

$$Nef=\left(\frac{K}{K+1}\right)^2 n \quad \text{ec. 6.4}$$

Donde el intervalo de capacidad K se determina de :

$$K = \frac{tr'}{tm} \quad \text{ec. 6.5}$$

Es indispensable enfatizar que n y N son muy dependientes del valor K del pico evaluado(142,143), y que la presión de burbuja requerida para el óptimo intervalo de flujo del gas acarreador tiene influencia sobre la eficiencia de separación por metro lineal.

3.-Por el número de plato teórico real N_{real} propuesto por Kaiser(144) y Said(145).

$$N_{\text{real}} = 5.545 \left(\frac{tr'}{Wh} \right)^2 \quad \text{ec. 6.6}$$

Donde Wh'se calcula de:

$$Wh' = Wh - W_{mh} \quad \text{ec. 6.7}$$

W_{mh} es el ancho de la mitad de la altura del pico de retención.

4.-Por el significado físico de n y N propuesto por Golay(146).

5.-Por el número de plato teórico reducido propuesto por Giddings(147) y por Horne(148).

6.-Por el significado de numero de plato específico N_{ms} propuesto por Brown(149).

$$N_{ms} = \frac{rg \left(1 + \left(\frac{K}{1+K} \right)^2 \right)}{L} n \quad \text{ec.6.8}$$

Donde L es la longitud de columna y rg es el radio de paso del gas y está dado por:

$$rg = (r - df) \quad \text{ec. 6.9}$$

Donde r es el radio interno de la columna capilar y df es el promedio del grosor de la fase líquida. El significado de

plato teórico específico tiene la ventaja de sus parámetros y que tiene solo una pequeña dependencia sobre el promedio de partición y el diámetro de la columna.

La altura de plato teórico, h teórico, es convenientemente representada por la ecuación simplificada Golay-Giddings (115,150).

$$h \text{ teórico} = r \sqrt{\frac{11K^2 + 6K + 1}{3(1+K)}} \quad \text{ec. 6.10}$$

El término, h exp., o HETP experimental está definido como la longitud de la columna, L , dividida por el número de platos teóricos, n .

Cramers(151) recientemente discutió un tratamiento general de la eficiencia de recubrimiento el cuál toma en cuenta el efecto de resistencia a la transferencia de masas en la fase líquida y la presión de burbuja. Propone que los coeficientes de difusión del soluto en la fase estacionaria y el gas acarreador se pueden conocer por una determinación adecuada de la eficiencia de recubrimiento. El concepto de valor de separación, su significado y relaciones en términos de eficiencia de la columna y parámetros cromatográficos, -- han sido discutidos con detalle por Ettre(152). La trennzahl o número de separación, TZ , descrita por Kaiser(80)(153), se calcula de:

$$TZ = \frac{(tr)_2 - (tr)_1}{(wh)_2 - (wh)_1} - 1 \quad \text{ec.6.11}$$

Donde los sufijos 1 y 2 se refieren a dos componentes específicos en un cromatograma normal de una serie homóloga, -- tales como los n -alcanos.

Grob(134) reportó el uso de metil ésteres de ácidos grasos (C_{10}, C_{11}, C_{12}) como sustancias normalizadas, debido a sus coeficientes de reparto similares y mayor similitud en retención y capacidad, en diferentes clases de fases estacionarias.

Un parámetro que se observa comunmente en evaluación de -
columnas capilares y que afecta la eficiencia, es la capaci-
dad de carga. Un pico sobrecargado aparece coleado en la di-
rección del borde y reduce la eficiencia. Keulemans(154) y -
Klinkenger(155) definieron el tamaño máximo de muestra per-
misible, como la cantidad de muestra que puede ser inyectada
en la columna perdiendo no más del 10% de eficiencia.

Grob y Grob(156) definieron ésto cuando la plumilla del --
registrador toma más de dos veces el tiempo para ascender de
la línea de base al máximo del pico que su retorno a la lí-
nea de base.

APLICACIONES DE COLUMNAS CAPILARES DE VIDRIO EN CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía de gases continúa siendo un método de separación muy importante, es el mejor método disponible para la separación de mezclas volátiles, el método de análisis -- es razonablemente corto y proporciona muy buena resolución. Para la mayoría de las aplicaciones cromatográficas se han empleado columnas clásicas empacadas, y la experiencia ganada en éste tipo de columnas se ha utilizado para desarrollar columnas capilares de vidrio, las cuales tienen gran aceptación.

La cromatografía de gases en capilares de vidrio, posee -- grandes ventajas sobre la cromatografía de gases en columnas empacadas. La resolución es muy superior en los capilares de vidrio. Este alto grado de resolución permite al analista -- tener una separación muy superior en el tiempo requerido para el análisis de una columna empacada o bien una separación equivalente en menor tiempo.

La cantidad de un compuesto dado que entra al detector es mucho menor en columnas capilares de vidrio, el pico es muy agudo por la concentración en la unidad de tiempo, comúnmente alta por la gran sensibilidad de éste tipo de columnas.

Novotny(157) enfatizó la importancia de éste tipo de columnas en el análisis de mezclas tales como: los aromas de los alimentos, aire contaminado, humo de tabaco y fluidos fisiológicos.

Análisis de ácidos grasos

El análisis de ácidos grasos implica un intervalo de insaturaciones y de formas isoméricas muy amplio, lo que hace -- que sean particularmente adecuados para el análisis con co--

lumnas capilares.

Schoenburg y Husmann(158) estudiaron el efecto de varios parámetros sobre la separación de ácidos grasos de C_{10} hasta C_{18} y ésteres metílicos de ácidos grasos de C_{18} hasta C_{26} en columnas capilares de vidrio cubiertas con carbowax 20M y -- con DEGS.

Badings(159) mostró la separación de los ésteres metílicos de ácidos grasos de la grasa de leche. Jaeger(160) presentó la separación satisfactoria de ésteres metílicos fig.7.1 en el intervalo C_{10} a C_{24} de ácidos grasos.

Onuska y Comba(161) lograron la separación de mezclas complejas de ácidos grasos. Vleet y Quinn(162) exploraron la separación de mezclas isoméricas de metil éster del ácido graso, fraccionando primero con cromatografía líquida y las --- fracciones se analizaron en columnas capilares de vidrio recubiertas con el cianosilicon SP-2340.

Análisis de alimentos y bebidas.

Existe un gran interés en el sabor de la carne, que está -- encaminado al desarrollo de sabores artificiales.

En un estudio reciente Shibamoto y Russell(163) utilizaron un sistema compuesto de D-glucosa, H_2S y amoniaco, se calentó a $100^{\circ}C$ por 2 hr. y se destiló por arrastre de vapor, los productos de destilación se extrajeron con diclorometano y -- se sometieron a análisis en columnas capilares de vidrio(WC OT), utilizando las fases carbowax 20M y Se 30. La identificación se basó en un sistema integrado de cromatografía de -- gases/espectrometría de masas. Se aislaron sulfuros, tioles, tiofenos, tiazoles, pirazinas y derivados del furano. Algunos de éstos productos son parte de los aromas de la carne -- cocinada.

El sabor de las frutas también ha sido objeto de estudio, por ejemplo el durazno(164) y el higo(165).

análisis de aire, humo y HPA(hidrocarburos poliaromáticos)

Del análisis de carbón destilado proveniente de un manto - petrolero azufrado, resulto la identificación de 28 hidro--- carburos aromáticos policíclicos incluyendo 7 compuestos --- azufrados, con una columna WCOT de vidrio recubierta con --- SE-52(166). El análisis se repitió con una columna de acero inoxidable empacada, dónde, resultó que los compuestos azu--- frados no fueron muy claros.

Lee(173) usó una combinación de fracciones de cromatogra--- fía líquida para preparar extractos enriquecidos selectivos de tabaco y humos condensados de mariguana; se analizaron en columnas de vidrio por cromatografía de gases. Novotny(157) usó el polímero poroso Tenax para concentrar humo de dife--- rentes tipos de tabaco. Los concentrados se desorbieron y --- cromatografiaron en columnas de vidrio tipo WCOT fig.7.3. En otro estudio, 100 compuestos policíclicos, incluyendo trazas alquiladas, se separaron del aire contaminado. La resolución también se extendió a compuestos isoméricos que se diferen--- ciaban en la posición de un grupo alquilo(167).

Rapp(168) acopló una columna capilar de vidrio a un espec--- trómetro de masas para la identificación de componentes sepa--- rados de humo de tabaco condensado. Consiguió la separación de fenantreno, coroneno y los hidrocarburos C_{14,16,18,20,22, 24,28,32,34}. Además separó una mezcla de prueba consistente de limoneno, alcohol furfurfílico, nicotina y fenol.

Oniska y Comba usaron capilares de vidrio con superficie - interna "Wiskeraca"(filamentosa) sobre una mezcla de hidro--- carburos aromáticos policíclicos(161) fig.7.4 . Y Jenkins(169) optimizó condiciones sobre una columna de 15 m obtenien

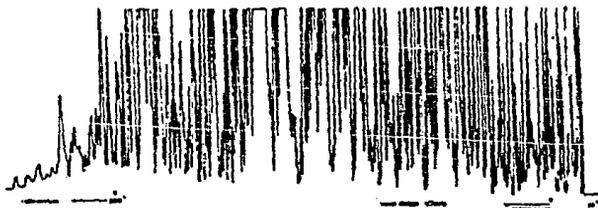


Figura 7.3 Cromatograma sobre columna capilar de vidrio de una fracción de humo de tabaco.

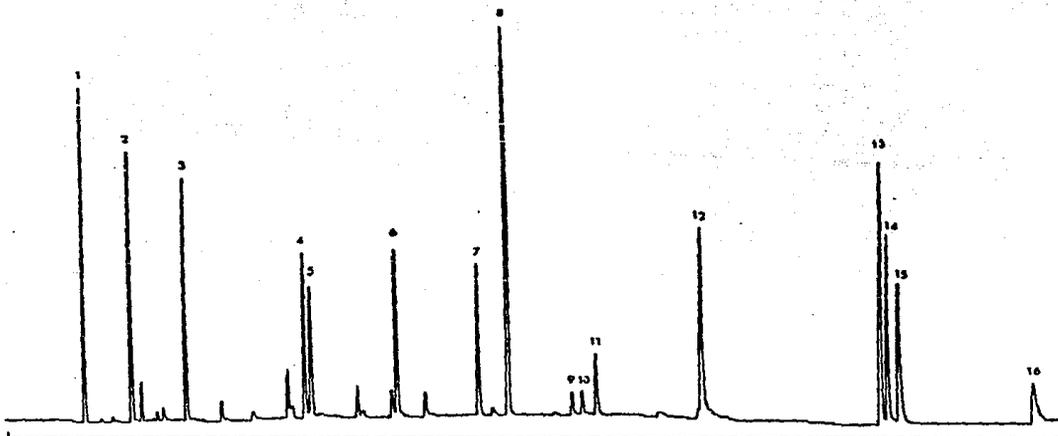


Figura 7.4 Hidrocarburos aromáticos polinucleares sobre una columna capilar de vidrio cubierta con OV 3. Programada de 60° a 230°C a 2°C/min. 1-bifenil, 2-acenafteno, 3-fluoreno, 4-fenantreno, 5-antraceno, 6-9-metilfenantreno, 7-fluoranteno, 8-pireno, 9-benzo (a) fluoreno, 10-benzo (b) fluoreno, 11-1-metilpireno, 12-trifenileno, 13-benzo (e) pireno, 14-benzo (a) pireno, 15-perileno, 16-dibenz (a, c) antraceno. En columna whiskerada.

do una excelente separación de una mezcla normalizada de hidrocarburos aromáticos policíclicos(161).

Roerade(170) usó columnas capilares de 0.2mm por 9.6m WCOT para humo de tabaco y Grob(171) consiguió una gran resolución de una fracción de humo de tabaco en una columna capilar WCOT de 0.32mm por 145m recubierta con Emulfor ON 870.

En un estudio de compuestos carbonílicos presentes en el humo del tabaco y de escape automotriz, Hoshika y Takata(172) prepararon 2,4-dinitrofenilhidrazonas las cuales fueron separadas por una columna de vidrio(capilar) de 0.25mm por 20m recubierta con SF 96. Excepto para los derivados de n-valeraldehído y isobutilmetilcetonona, que tienen picos sobrepuestos y derivados de orto y meta tolvaldehído, que son probablemente separados

Pesticidas

En la actualidad, por razones de contaminación y alteraciones biológicas, se ha hecho necesario el análisis de los elementos del medio ambiente para determinar la presencia de pesticidas.

Franken y Ratten(174) enfatizaron la necesidad de una desactivación más satisfactoria en columnas de vidrio WCOT para el análisis de pesticidas.

Shulte y Acker(175) depositaron un recubrimiento de BTPPC pasando una solución al 1% en diclorometano a través de una columna en un baño de agua a 50°C, el exceso de BTPPC se eliminó por lavado con disolvente a temperatura ambiente, dejando una película delgada de sal de fosfonio. Reportaron una muy buena separación de pesticidas tipo hidrocarburo clorado.

Holmstead(176) utilizó cromatografía de gases con columnas

capilares, para seguir los productos de degradación del insecticida Mirex (dodecacloropentaciclo(5.3.0,0²,6.0³,9.0⁴,8) decano).

Análisis de agua

En años recientes se ha puesto gran énfasis en la calidad del agua para consumo humano, existen varias cuestiones que es preciso resolver para atacar el problema de la contaminación del agua; éstas son: identificación de los materiales - contaminantes, cuál es su fuente, cuanto tiempo persisten en el agua, bajo que condiciones y cuales son sus productos de degradación.

Guiger y Schaffner(177) analizaron la película superficial de sedimento en un lago suizo y encontraron una cantidad impresionante de hidrocarburos aromáticos polinucleares fig. 7.5; los autores deducen que la fuente de esos contaminantes son las descargas del drenaje.

Drogas y fármacos

Los aceites esenciales han sido de gran importancia para el hombre, los primeros registros históricos ya hablan de ellos. Estos aceites y las sustancias aromáticas fueron de gran importancia comercial e incentivo en el establecimiento de las primeras rutas comerciales. La fig.7.6 muestra cromatogramas de aceite esencial de menta, el cuál sirve para ilustrar los adelantos en la cromatografía de gases en éste campo. Complican la separación grupos de monoterpenos hidrocarbonados y sesquiterpenos en el capilar de vidrio e indican la necesidad de prefraccionamientos. La fig.7.7 muestra el aceite esencial de hoja de enebro sobre tres fases líquidas

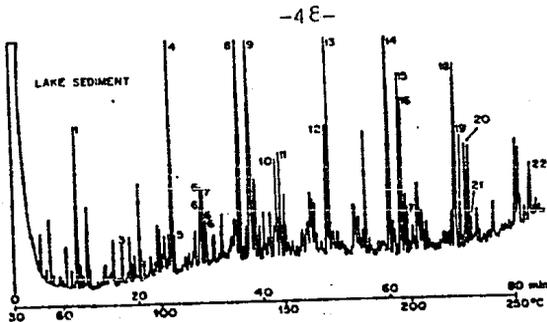


Figura 7.5-cromatograma de hidrocarburos aromáticos polinucleares aislados de la película superficial de sedimentos de un lago en Suiza, sobre una columna de 20m por 0.3mm cubierta con SE-52, de 60 a 250°C a 2°C/min.

- | | |
|----------------------------|----------------------------|
| 1.-bifenil | 12.-benzo(a)antraceno |
| 2.-acenafteno | 13.-criseno/trifenileno |
| 3.-fluoreno | 14.-benzofluorantenos |
| 4.-fenantreno | 15.-benzo(e)pireno |
| 5.-antraceno | 16.-benzo(a)pireno |
| 6.-metilfenantrenos | 17.-perileno |
| 7.-4,5-metileno fenantreno | 18.-cibenzantraceno |
| 8.-fluoranteno | 19.-indeno(1,2,3-cd)pireno |
| 9.-pireno | 20.-benzo(g,h,i)perileno |
| 10.-benzi(a)fluoreno | 21.-antraceno |
| 11.-benzo(b)fluoreno | 22.-coroneno. |

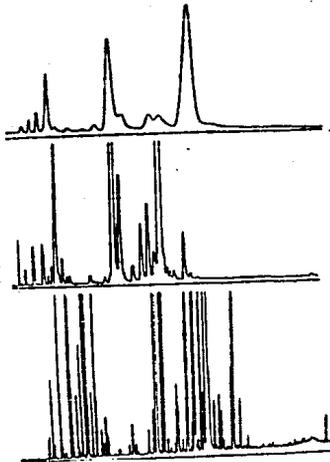


Figura 7.6-cromatograma de aceite de hoja de menta. Arriba sobre una columna empacada de 0.25pulg. por 6 pies. Enmedio sobre una columna de acero inoxidable de 0.03 pulg. por 500 pies. Y abajo sobre una columna de vidrio de 0.25mm.

das diferentes , ninguna de las tres consigue separar completamente la mezcla. Algunos de los sesquiterpenos hidrocarbonados (picos 56 a 88) se resuelven pobremente sobre carbowax 20M y el metil silicón proporciona una separación menos satisfactoria de los compuestos más volátiles. La fig. 7.8 ilustra una separación de aceite bulgaro de rosas, y en la fig. 7.9 un perfume comercial Rive Gauche.

Análisis de aminoácidos

La posibilidad de separar derivados de los aminoácidos por medio de cromatografía gaseosa en columnas capilares, fué -- explorada por Deyl (180) quién reportó la separación de los derivados de la feniltioindantoina. El también consiguió una separación razonable de los ésteres metílicos de los ácidos N-pivalilamino con columnas capilares de vidrio recubiertas con una mezcla de XA-60 y FFAP.

Eyem y Sjöquist (181) usaron una pequeña columna de vidrio/boro recubierta con una mezcla de OV-101 y OV-225 para conseguir la separación de los derivados metil silil tioindantoina de aminoácidos.

Covadore (182) utilizó una columna capilar de vidrio recubierta con FFAP para la separación de metilésteres de derivados benzoil y pivalil de aminoácidos. Schomburg y Husmann (179) demostraron la factibilidad de separar ésteres de ácido aminoracémico, preparados especialmente en fase líquida.

Abe (183) separó sobre una columna cubierta con una fase -- líquida ópticamente activa, varios esteres enantioméricos de TBA- α -aminoácidos.

La determinación cuantitativa de aminoácidos ha sido una de las determinaciones más difíciles en cromatografía de gases y una de las ventajas que tienen las columnas empacadas.

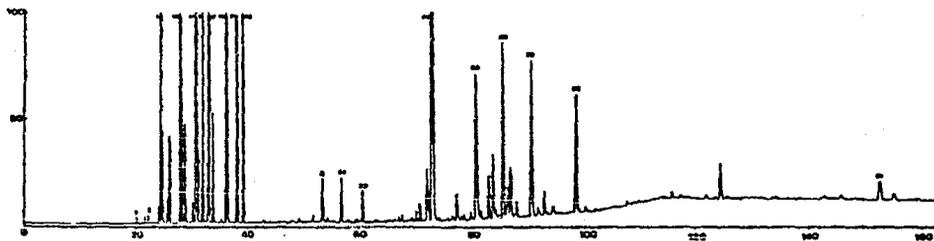


Figura 7.7 Aceite esencial de hoja de enebro.



Figura 7.8-Cromatograma sobre columna capilar de vidrio de volátiles(aromas)de dos variedades de rosas.

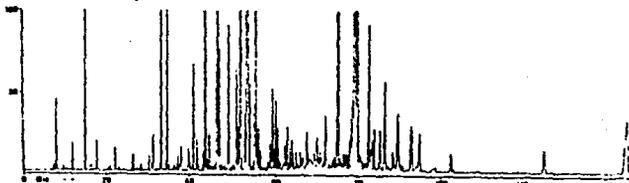


Figura 7.9

Análisis de sacáridos

La cromatografía de gases en capilares de vidrio se puede utilizar para determinar la distribución de los grupos hidróxilo en glucosa de almidón, por reacción con óxido de etileno. La muestra se hidróliza, silila y se separa de las formas anoméricas, seis monosustituídas y 12 disustituídas. Los derivados mayores pentasustituídos se separan en grupos para permitir la determinación cuantitativa del grado de sustitución con un alto grado de precisión(184). Szafranek(185) --- reportó la separación de mezclas de derivados monosacáridos sobre capilares de vidrio recubiertos con SE 30, administrado con dióxido de silicio ahumado(silanox 101).

CONCLUSION

Con éste trabajo se intenta mostrar un panorama sencillo - de la preparación de columnas capilares de vidrio(WCOT), señalando sus etapas, las cuales son: la composición química - del vidrio con que son manufacturadas, el estirado del tubo, la desactivación de la pared interior del capilar, el recubrimiento de la pared con la fase estacionaria, la inmovilización de la fase estacionaria, además de sus aplicaciones - en el campo de la química analítica.

Veintiocho años de cromatografía capilar de gases han sido de continuos avances en tecnología de columnas, técnicas de inyección y el desarrollo de herramientas de detección más - sensibles. En el presente son posibles alta eficiencia, inercia y estabilidad de recubrimientos en capilares de vidrio.

Desarrollar una columna capilar de vidrio tipo WCOT, es -- sumamente laborioso, debido a que los tratamientos para su - manufactura se deben hacer con extremo cuidado, ya que el - objetivo es producir una herramienta de análisis sumamente - sensible. Tal sensibilidad es capaz de separar mezclas cuyos componentes se encuentran presentes en concentraciones del - orden de picogramos.

La inyección directa de la muestra mejora la capacidad de análisis de trazas. La separación de mezclas complejas de naturaleza química variada, conteniendo cientos de componentes, son rutinarias en Europa y E.E.U.U., a través de la combinación cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas(CG-EM).

En nuestro país ya se trabaja con ésta herramienta analítica principalmente en dos instituciones de vanguardia en investigación como son la Facultad de Química y el Instituto - Mexicano del Petróleo. En éstas instituciones se han dado -

los primeros pasos para el desarrollo de una tecnología propia para la manufactura de columnas capilares, que cubran -- las necesidades de diversos campos de aplicación como son: el análisis de hidrocarburos, alimentos, pesticidas, aire contaminado, humo de tabaco, fluidos fisiológicos, etc.. Ya que es lógico pensar que en poco tiempo sea una herramienta de uso rutinario en hospitales, en control de calidad y de proceso en la industria nacional.

BIBLIOGRAFIA

Introducción

- (1) Cassir K.M., Preparación de columnas para el estudio de compuestos nitrogenados básicos, F.B.S.C., Edo. de México, 1982.
- (2) Schmitter, J.M., Advances en Organic Geochemistry 1979, Pergamon Press, 1980, 67.
- (3) Ignatiadis I., J.Chromatog., 246(1982)23.
- (4) Schmitter, J.M., J.Chromatog., 248(1982)203.
- (5) Dong, M., J. Anal. Toxicol., 2(1978)21.
- (6) Novotny, M., Anal. Chem., 52(1980)401.
- (7) Dinneen, G. U., Ind. Eng. Chem., 43(1951)1604.
- (8) Frankenheld, J. W., Prepar. Am. Chem. Soc. Div. Fuel. Chem., 23(1978) 205.
- (9) Ford, C. D., Holmes, S. A., Anal. Chem., 53(1981)831.

Breve reseña histórica

- (10) Scott, R. P. W., Desty, D., ed., Butterworth, London, 1958, p.197.
- (11) Martin, A. J. P., Desty, "Vapor Phase Chromatography" ed., Butterworth, London, 1957, p.2.
- (12) Golay, M. J. E., Coates, V. J. et al., "Gas chromatography", ed. - Academic Press, New York, P.1. (1958).
- (13) Mc. Williams, G., Desty, ed. Butterworth, London, 1958, p.142.
- (14) Desty, D. H., J. Inst. Pet., 45, 287 (1959).
- (15) Scott, R. P. W., Hazedean, G., ibid., p.144.
- (16) Zlatkis, A., Kaufman, H., Nature, 184, 2010 (1959).
- (17) Lipsky, J., Lovelock, J., J. Am. Chem. Soc., 81, 1010 (1959).
- (18) Mohnke, M., Saffert, W., in "Gas Chromatography" 1962, VanSwaay, ed., p. 216, Butterworth, Washinton D. C., 1962.
- (19) Bruner, G., Cartoni, G., Anal. Chem., 36, (1964)1522.
- (20) Liberty, A., in "Gas Chromatography" 1966, A. B. Littlewood, ed., p. 95, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1967.
- (21) Halasz, I., Adv. Chromatogr., 4, 207 (1967).
- (22) Tesarik, K., Novotny, M., in "Gas Chromatographie" 1968, Struppe ed., p. 575, Akademie-Verlong, Berlin, Germany, 1968.
- (23) Grob, K., Grob, G., J. Chromatogr. Scie., 7, 584 (1969).
- (24) Novotny, M., J. Chromatogr., 103(1975)1.

Diferentes tipos de columnas

- (25) James, A., Martin, A., Bioquem, J., 50(1952)679.
- (26) Golay, m., Gas Chromatography, Coates y col., ed., Academic -- press, New York (1958).
- (27) Halasz, I., Conferencia pronunciada en mayo de 1964 en I'--

École Polytechnique(Paris).

(28) Banuls, D., *Cromatografía de gases*, ed. Alhambra, 1971, p.87.

Preparación de columnas capilares de vidrio

- (29) Warren, B., *J. Appl. Phys.*, 8(1937)645.
(30) Boksanyi, O., *Advan. Colloid Interface Sci.*, 6(1976)95.
(31) Hutchins, J., Harrington, H., Kirk, Othmer ed. *Enciclopedia of Chemical Technology*, vol. 10, Wiley, New York, 2ed., 1966, p.533
(32) Dandeneau and Zerener, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 2(1979)351.
(33) Whright, B., Lee, S., *J. Chromatogr.*, 199(1980) .
(34) Schomburg, Husmann, H., *J. Chromatogr.*, 99(1974)63.
(35) Verzele, M., Sandra, J. *High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 2(1979)303.
(36) Hishta, Bonstein, J., *Advan. Chromatogr.*, 9(1970)220.
(37) Hair, M., Filbert, A., *Res. Dev.*, 20(11)(1969)34.
(38) Kiselev, A., *J. Phys. Chem.*, 38(1964)1501.
(39) Carman, P., *Trans. Faraday Soc.*, 36(1940)964.
(40) Filibert, A., Hair, M., *J. Gas Chromatogr.*, 6(1968)218.
(41) Filibert, A., Hair, M., *J. Gas Chromatogr.*, 6(1968)150.
(42) Lavydov, V., Kiselev, A., *Russ J. Phys. Chem.*, 38(1964)1108.
(43) Fripiat, J., *J. Phys. Chem.*, 66(1962)800.
(44) Iler, R., *The Colloid Chemistry of Silica and Silicates*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 1955, p.242.
(45) Stober, W., *Kolloid Z.*, 149(1956)39.
(46) Armistead, C., *J. Phys. Chem.*, 73(1967)3947.
(47) Zhuravlev, L., Kiselev, Russ. *J. Phys. Chem.*, 39(1965)236.
(48) Bikerman, J., *Physical Surfaces*, Academic Press, New York, 1970, p.73.
(49) Young, J., *Colloid Sci.*, 13(1958)67.
(50) Zisman, W., *Ind. Eng. Chem.*, 55(1963)79.
(51) Houwink, R., *Adhesion and Adhesives*, Elsevier, New York, 1965.
(52) Dan, J., *J. Colloid Interface Sci.*, 32(1970)302.
(53) Fox, H., Zisman, W., *J. Phys. Chem.*, 59(1955)335.
(54) Alexander, G., Rutten, G., *J. Chromatogr.*, 99(1974)81.
(55) Farre, F., Guiochon, G., *Nature (London)*, 196(1962)63.
(56) Shairin, B., Zisman, W., *J. Amer. Chem. Soc.*, (1967)478.
(57) Necasova, M., Tesarik, K., *J. Chromatogr.*, 79(1978)15.
(58) Fairbrother and Stubbs, *J. Chem. Soc.*, (1935)527.
(59) Gnuska, F., *J. Chromatogr.*, 158(1978)83.
(60) Tesarik, K., and Necasova, M., *J. Chromatogr.*, 65(1972)39.
(61) Cronin, D., *J. Chromatogr.*, 101(1974)271.
(62) Torline and Schnautz, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 1(1978)301.

- (63) Torline, P., J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 2(1979)613.
- (64) Desty, D., Anal. Chem., 32(1960)302.
- (65) Dandeneau, R., Bente, P., Amer. Lab., 11(9)(1979)61.
- (66) watanabe, C., Tomita, H., J. Chromatogr. Sci., 13(1975)123.
- (67) Grob, K., Grob, G., J. Chromatogr., 125(1976)471.
- (68) Grob, K., Jr., Grob, K., J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 1(1978)149.
- (69) Grob, K., Grob, G., Chromatographia, 10(1977)181.
- (70) Schomburg, G., Dielmann, R., J. Chromatogr., 167(1978)337.
- (71) Schomburg, G., Musmann, H., Chromatographia, 12(1979)651.
- (72) Averill, W., Erenner, J., Weiss ed., Gas chromatography, Academic Press, New York, 1962, p.1.
- (73) Mason, J., Colloid Interface Sci., 1983, 95(1), 120(30).
- (74) Metcalfe, L., Martin, R., Anal. Chem., 39(1967)1204.
- (75) Franken, J., Trijbels, M., J. Chromatogr., 91(1974)425.
- (76) Badings, H., van der Pol, J., Chromatographia, 8(1975)440.
- (77) Sandra, P., HRC CC, High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 1986, 9(3)189-92.
- (78) Rutten, G., Luyten, J., J. Chromatogr., 74(1972)177.
- (79) Gramers, C., Vermer, E., Chromatographia, 10(1977)412.
- (80) Kaiser, R., Rieder, R., Chromatographia, 8(1975)491.
- (81) Sandra, P., Verzele, M., Chromatographia, 10(1977)419.
- (82) Mistryukov, R., J. Chromatogr., 148(1978)490.
- (83) Mistryukov, R., J. Chromatogr., 169(1979)391.
- (84) Aue, W., Hastings, C., J. Chromatogr., 77(1973)299.
- (85) Cook, C., D. Lab. Pract., 1985, 34(1)69-70, 73.
- (86) Blomberg, L., and, Wannaman, T., J. Chromatogr., 148(1978)379.
- (87) Waksmundzki, A., Rayss, J., J. Chromatogr., 119(1976)557.
- (88) Verzele, M., J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 2(1979)647.
- (89) Marshall, J., Parker, D., J. Chromatogr., 122(1976)425.
- (90) Kyba, W., Chromatographia, 9(1976)195.
- (91) Schomburg, G., Musmann, H., Chromatographia, 10(1977)580.
- (92) Douglas, R., Isard, J., J. Soc. Glass Technol., 33(1945)289.
- (93) El Shamy, R. Lewis, J., Glass Technol., 13(1972)81.
- (94) Gastev, Y., The Structure of Glass, Consultants Bureau, New York, 1958, p.144.
- (95) El Shamy, T., Morsi, S., J. Non Cryst. Solids, 19(1975)241.
- (96) Lee, M., Wright, B., Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy, Cleveland, Ohio, March 7th, 1979, Abstr. No. 494.
- (97) Lee, M., Vassilaros, D., Anal. Lett., 12(1979)191.

- (98) Rodriguez, J. *Chromatogr.* 1983, 264 (3) 393-404.
(99) Grob, K., *Helv. Chim. Acta*, 51 (1968) 718.
(100) Gluchman, *Chromatographia*, 1983, 17 (6) 303-9.
- (101) Wartmann, J., Deuel, H., *Chim. Acta*, 42 (1959) 1166.
(102) Wartmann, J., Deuel, H., *Chimica*, 12 (1958) 82.
(Unger, K., Schier, G., *Chromatographia*, 6 (1973) 456.
(104) Kiselev, A., van Swaay (ed), *Gas Chromatography*, 1962, Butterworths, London, 1962, p. 3
(105) Kiselev, A., Shcherbakova, K., *Gas Chromatographie*, 1962, Akademie Verlag, Berlin, 1962, p. 207 y 241.
(106) Hair, M., Hertl, W., *J. Phys. Chem.*, 73 (1969) 2372.
(107) Hertl, W., Hair, M., *J. Phys. Chem.*, 75 (1971) 2181.
(108) Dijkstra, G., Goey, J., *Gas Chromatography 1958*, Academic Press, New York, 1958, p. 56.
(109) Bartle, K., *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1831.
(110) Blomberg, L., *Chromatographia*, 8 (1975) 324.
(111) Goren, S., *J. Fluid Mech.*, 11 (1962) 309.
(112) Everett, D., Haynes, J., *J. Colloid Interface Sci.*, 38 (1972) 125.
(113) Novotny, M., Blomberg, L., *J. Chromatogr. Sci.*, 8 (1970) 390.
(114) Parker, D., Marshall, J., *Chromatographia*, 11 (1978) 526.
(115) Kaiser, R., *Gas Phase Chromatography*, Vol. 11, Butterworths, London, 1963, p. 45.
(116) Boogaerts, T., Verstappe, M., *J. Chromatogr. Sci.*, 10 (1972) 217.
(117) Jennings, W., Yabunoto, K., *J. Chromatogr. Sci.*, 12 (1974) 344.
(118) Jennings, W., *Chromatographia*, 8 (1975) 690.
(119) Bouche, J., Verzele, M., *J. Gas Chromatogr.*, 6 (1968) 501.
(120) Blomberg, L., *J. Chromatogr.*, 138 (1977) 7.
(121) Golay, K., *Gas Chromatography 1958*, Academic Press, New York, 1958, p. 36.
(122) como (119)
- (123) Grob, K., Grob, G., *HRC CC*, 1983, 6 (3) 153-5.
(124) Grob, K., Grob, G., *Chromatographia*, 1984, 18 (9) 517-19.
(125) Peaden, P., Wright, B., *Chromatographia*, 15, 6 (1982) 335.
(126) Farbroth, M., *HRC CC*, 1986, 9 (2) 117-19.
(127) Blomberg, L., K., Markides, *Chromatogr.*, 203 (1981) 217
- (128) Grob, K., Grob, G., *HRC CC*, 5 (1982) 349.
(129) Verkhotin, M., Rodé, V., *Vysokomolek. Soedin*, 39, (1967) 847.
(130) Shomburg, G., Biemann, R., *J. Chromatogr.*, 167 (1978) 337.
(131) Arkles, *Petrarch Systems, personal communication*.
(132) Etzweiler, F., *HRC CC*, 1985, 8 (2) 85-7.

- (133) Schulte, E., *Chromatographia*, 9(1976)315.
- (134) Grob, K., Jr., *Chromatogr.*, 1984, 30(1)1-9
- (135) Grob, K., Grob, G., *Chromatographia*, 4(171)422
- (136) Grob, K., Jr., *J. Chromatogr.*, 1985, 328, 55-61.
- (137) Aue, W., Daniewske, M., *J. Chromatogr.*, 151(1978)11
- (138) Ettre, S., *Open tubular columns in Gas Chromatography*, Plenum Press, New York, 1965
- (139) Ettre, L., Purcell, J., *Advan. Chromatogr.*, 10(1974)1.
- (140) Desty, D., Goldup, A., *weiss ed., Gas Chromatography*, Academic Press, New York, 1962, p.105.
- (141) Purnell, J., *J. Chem. Soc.*, (1960)1268.
- (142) Schomburg, G., Hussmann, H., *Chromatographia*, 8(1975)517.
- (143) Hartigan, J., Billeb, K., Ettre, *Chromatographia*, 10(1977)571
- (144) Kaiser, R., *Optimierung in der HPLC*, Huthig, Heidelberg, 1979
- (145) Said, A., *J. H. R. C. C. C.*, 2(1979)637.
- (146) Golay, M., *Anal. Chem.*, 29(1957)928.
- (147) Giddings, J., *J. Chromatogr.*, 13(1964)301.
- (148) Horne, D., J., Knox., *Separ. Sci.*, 1(1966)531.
- (149) como (148)
- (150) Brown, I., *Chromatographia*, 12(1979)265.
- (151) Giddings, J., *Anal. Chem.*, 36(1964)741.
- (152) Cramers, C., *Chromatographia*, 12(1979)643.
- (153) Ettre, L., *Chromatographia*, 8(1975)291 y 355.
- (154) Kaiser, R., *Z. Anal. Chem.*, 189(1962)1.
- (155) Keulemans, A., *Gas Chromatography*, Reinhold, New York, 2nd ed., 1959, p.124.
- (156) Klinkenberg, A., Scott(ed), *Gas Chromatography 1960*, Butterworths, London, 1960, p.182.
- (157) Grob, K., Jr., *HRC GC*, 1984, 7(6)319-26.

Aplicaciones de columnas capilares de vidrio(WCOT)

- (157) Novotny, M., Mc Connell, M., *J. Agric. Food Chem.*, 22, 765(1974)
- (158) Schomburg, G., Hussmann, H., *Chromatographia*, 8, 517(1975).
- (159) Badings, H., van der Pol, J., *Chromatographia*, 8(1975)440.
- (160) Jaeger, H., Klor, H., *J. Lipid Res.*, 17(1976)185.
- (161) Omuska, F., Comba, M., *J. Chromatogr.*, 126, 133(1976)
- (162) Van Vleet, E., Quinn, J., *J. Chromatogr.*, 151(1978)396.
- (163) Shibamoto, T., Russell, G., *J. Agric. Food Chem.*, 24(1976)843.
- (164) Jennings, W., Filsoof, M., *J. Agric. Food Chem.*, 25(1977)440
- (165) Jennings, N., *J. Food Chem.*, 2, 185(1977)
- (166) Lee, M., Hites, R., *Anal. Chem.*, 48(1976)1890.
- (167) Maestro, J., *Afinidad*, 1976, 43(40)160-2.
- (168) Rapp, U., Schröder, U., *Chromatographia*, 8(1975)474.
- (169) Jenkins, R., *Personal communication*(1979).
- (170) Roeraade, J., *Chromatographia*, 6, 511(1975)
- (171) Grob, K., *Chromatographia*, 8(1975)423.
- (172) Hosaka, Y., Takata, Y., *J. Chromatogr.*, 120(1976)379.
- (173) Novotny, M., Lee, M., *Anal. Chem.*, 48(1976)24

- (174) Franken, J., Rutten, G., "Gas Chromatography 1972" (Perry ed), p. 75, Appli. Sci., New York, 1973.
- (175) Shulte, B., Acker, L., Anal. Chem., 286(1974)260.
- (176) Holmstead, R., J. Agric. Food Chem., 24(1976)620.
- (177) Giger, W., Schaffner, C., Anal. Chem., 50(1978)243.
- (178) Rijks, K., Cramers, C., Chromatographia, 8(1975)482.
- (179) Schomburg, G., Busmann, H., Chromatographia, 8(1975)517.
- (180) Deyl, J. Chromatogr., 127(1976)91.
- (181) Nyem, J., Sjoquist, S., Anal. Biochem., 52, 255(1973)
- (182) Cavadore, J., Nota, J., Anal. Biochem., 60, (1974)608
- (183) Abe, I., Kohono, T., Chromatographia, 11(1978)393.
- (184) Neeser, J., Anal. Biochem., 1974, 142(1)58-67.
- (185) Szafranek, J., Pfaffenberger, C., J. Chromatogr., 88, (1974) 149.