

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS QUÍMICAS**

“Identificación y determinación de tensoactivos
en solución y en muestras de látex por
CLAR-UV / dispersión de luz y por CL-EM”

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

Q. María Cristina Fonseca Corona

TUTOR: Dra. Luz Elena Vera Ávila

Enero, 2007

M. 100552



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Para mis maestros de la vida:

Cristina y Francisco

INTEGRANTES DEL JURADO

<i>Presidente</i>	Dr. Roberto Martínez
<i>Vocal</i>	Dr. José Luis Gallegos Pérez
<i>Secretario</i>	Dra. Josefina de Gyves Marciniak
<i>Primer suplente</i>	Dr. Francisco Rojo Callejas
<i>Segundo suplente</i>	Dra. María del Pilar Cañizares Macías

El trabajo se realizó en el laboratorio 115 del Departamento de
Química Analítica, División de Estudios de Posgrado,
Facultad de Química, Edificio B, UNAM.



Tutor

Dra. Luz Elena Vera Ávila



Sustentante

Q. María Cristina Fonseca Corona

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio 115 del Departamento de Química Analítica, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, Edificio B, UNAM; bajo la asesoría de la Dra. Luz Elena Vera Ávila.

Parte de los resultados obtenidos en este proyecto se presentaron en los siguientes trabajos:

- *“Desarrollo de métodos de separación para tensoactivos comerciales por CLAR”*. **XI Congreso Latinoamericano de Cromatografía (COLACRO)**. Mérida, Yucatán. Del 28 al 30 de junio del 2006.
- *“Separación de tensoactivos comerciales por CLAR de acuerdo a su funcionalidad”*. **XX Congreso Nacional de Química Analítica**. Ixtapan de la Sal, Edo. de México. Del 21 al 23 de junio del 2006.

Agradecimientos

Expreso mi sincero agradecimiento a las personas e instituciones que hicieron posible la realización de este trabajo:

- **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**

Por la beca otorgada y por el apoyo económico proporcionado a través del Fondo Sectorial para la Educación (proyecto 46558).

- **Facultad de Química, UNAM**

Dra. Luz Elena Vera Ávila, M. en C. Rosario Covarrubias Herrera, M. en C. Margarita Romero Ávila, Dra. Pilar Cañizares Macías, M. en C. Thania Susana Jiménez Martínez.

- **Instituto de Química, UNAM**

M. en C. Carmen Márquez Alonso, M. en C. Jorge Cárdenas Pérez.

- **Centro de Investigación en Polímeros (CIP)**

Q. Adela Reyes Rodríguez, Dr. Eduardo Nahmad Achar, I.Q. Manuel Briceño Terán, M. en C. María del Carmen Pérez Vázquez, T.Q.I. Gisela Contreras Rodríguez, M. en C. Lucero Mayra Ríos Ruiz.

- **Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN)**

Dr. José Luis Gallegos Pérez.

Tabla de Abreviaturas

Abreviatura	Significado
ALE	Alcohol Láurico Etoxilado
APCI	Ionización química a presión atmosférica (del inglés Atmospheric Pressure Chemical Ionization)
CG	Cromatografía de Gases
CG-EM	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
CL-EM	Cromatografía de Líquidos Acoplada a Espectrometría de Masas
CMC	Concentración Micelar Crítica
EM-EM	Espectrometría de masas en secuencia
ELSD	Detector evaporativo de dispersión de luz (del inglés Evaporative Light Scattering Detector)
ESI	Ionización por electrospray o electronebulización (del inglés Electrospray Ionization)
MeOH	Metanol

Tabla de Abreviaturas (Continuación)

Abreviatura	Significado
MSI	Ionización por microspray (del inglés Microspray Ionization)
n	Número de unidades de óxido de etileno
NFE	Nonil Fenol Etoxilado
NFES	Nonil Fenol Etoxilado Sulfatado
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño (del inglés Size Exclusion Chromatography)
SIM	Monitoreo de iones selectos (del inglés Selected Ion Monitoring)
T	Temperatura
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano
TIC	Corriente total de iones (del inglés Total Ion Current)
TOF	Analizador de tiempo de vuelo (del inglés Time Of Flight)
tr	Tiempo de retención

Índice

Resumen.....	1
1. Introducción.....	4
2. Objetivos.....	6
2.1. Objetivo general.....	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
3. Antecedentes.....	7
3.1. Tensoactivos.....	7
3.1.1. Clasificación.....	7
3.1.2. Propiedades fisicoquímicas.....	8
3.1.3. Alcoholes y alquilfenoles etoxilados.....	9
3.1.4. Alquilfenoles etoxilados sulfatados.....	10
3.2. Separación de tensoactivos por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR).....	10
3.2.1. Métodos de separación.....	11
3.2.1.1. Tensoactivos aniónicos.....	11
3.2.1.2. Tensoactivos no iónicos.....	12
3.2.2. Detección.....	15
3.2.3. Ejemplos específicos.....	18
3.2.3.1. Análisis de sulfatos de alquilfenoléter.....	18
3.2.3.2. Análisis de alcoholes etoxilados.....	19
3.2.3.3. Análisis de alquilfenoles etoxilados.....	20
3.3. Separación de tensoactivos por otras técnicas.....	21
3.4. Acoplamiento CL-EM.....	26
3.4.1. Fuentes de ionización de importancia para CL-EM.....	26
3.4.2. Analizadores de masas.....	30
3.4.3. Análisis de tensoactivos por CL-EM.....	38
4. Desarrollo experimental.....	41
4.1. Muestras y reactivos.....	41
4.2. Equipo.....	43
4.3. Método.....	45

4.3.1. Separación de las muestras de tensoactivos comerciales por CLAR.....	45
4.3.1.1. Separaciones con base en las cadenas alquílicas.....	46
4.3.1.2. Determinación de NFE en la muestra M2.....	48
4.3.1.3. Separaciones con base en las cadenas etoxiladas.....	48
4.3.2. Identificación de los componentes de los tensoactivos comerciales por CL-EM.....	50
4.3.2.1. Identificación de las cadenas alquílicas.....	50
4.3.2.2. Identificación de las cadenas etoxiladas.....	51
4.3.3. Separación de los tensoactivos comerciales en mezclas por CLAR.....	53
4.3.3.1. Separación de la mezcla SI.....	53
4.3.3.2. Separación de la mezcla SII.....	53
4.3.4. Determinación de tensoactivos en muestras de látex por CL-EM.....	54
4.3.4.1. Separación de tensoactivos en las muestras de látex	54
4.3.4.2. Determinación de tensoactivos en el látex LII.....	56
4.3.4.3. Determinación de tensoactivos en el látex LI.....	58
5. Resultados y Discusión.....	60
5.1. Separación de las muestras de tensoactivos comerciales por CLAR.....	60
5.1.1. Separaciones con base en las cadenas alquílicas.....	60
5.1.2. Determinación de NFE en la muestra M2.....	62
5.1.3. Separaciones con base en las cadenas etoxiladas.....	64
5.2. Identificación de los componentes de los tensoactivos comerciales por CL-EM.....	67
5.2.1. Identificación de las cadenas alquílicas.....	67
5.2.2. Identificación de las cadenas etoxiladas.....	72
5.3. Separación de los tensoactivos comerciales en mezclas por CLAR.....	77

5.3.1. Separación de la mezcla SI.....	77
5.3.2. Separación de la mezcla SII.....	80
5.4. Determinación de tensoactivos en muestras de látex por CL-EM.....	84
5.4.1. Determinación de tensoactivos en el látex LII.....	84
5.4.2. Determinación de tensoactivos en el látex LI.....	89
6. Conclusiones.....	91
7. Perspectivas.....	93
8. Bibliografía.....	96
9. Apéndices.....	101

Resumen

Debido a su importancia en la industria y a su impacto ambiental, la separación, caracterización y determinación de tensoactivos es actualmente, un tema de crucial importancia en química analítica. Aunque se han utilizado diversas técnicas para su análisis, la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) es la técnica preferida para la separación, caracterización y cuantificación de tensoactivos en mezclas y en matrices complejas.

El presente trabajo trata sobre el desarrollo de metodologías para la separación, identificación y determinación de tensoactivos comerciales en solución y en muestras de látex sintéticos por CLAR con detectores UV y de dispersión de luz (ELSD), así como también por CL-EM.

Se analizaron 4 muestras de tensoactivos comerciales, denominadas M1, M2, M3 y M4. Los componentes mayoritarios en estas muestras son: nonil fenol etoxilado (NFE) en M1, nonil fenol etoxilado sulfatado (NFES) en M2 y M3, y alcohol láurico etoxilado (ALE) en M4. Por otro lado, se analizaron 2 muestras de látex sintético denominados LI y LII. LI contiene una mezcla de los tensoactivos M1 y M2, en tanto que LII contiene una mezcla de M3 y M4.

En primera instancia, se montaron métodos para la separación de las muestras de tensoactivos comerciales por CLAR. En el caso de la muestra M4 se usó el detector ELSD y para el resto de las muestras, el detector UV. Se efectuaron dos tipos de separación: una con respecto a la cadena alquílica y otra con respecto a la cadena etoxilada. En la primera, cada muestra se separó en sus distintos componentes, y en la segunda, se obtuvo la distribución de los oligómeros etoxilados del componente principal. En la separación de cadenas alquílicas de la muestra M2 se observó la presencia de una cantidad importante de NFE, por lo que se llevó a cabo su cuantificación, en la cual se determinó un contenido de NFE del 12% en peso.

Una vez que se montaron los métodos de separación, se procedió a la identificación de componentes por CL-EM. En las separaciones con respecto a las cadenas alquílicas, se corroboró la identidad del componente principal y se identificó la presencia de otros componentes: NFE en la muestra M2 y alcohol mirístico etoxilado, en la muestra M4. En las separaciones con respecto a las cadenas etoxiladas, se identificaron los oligómeros etoxilados de las muestras M1 y M4.

Posteriormente, se prepararon mezclas de los tensoactivos comerciales en solución para su separación por CLAR: SI (mezcla de M1 + M2), y SII (mezcla de M3 + M4). En el caso de la mezcla SI se usó el detector UV, y para la mezcla SII, se empleó el detector ELSD. Preparando soluciones de distintas concentraciones, se construyeron curvas de calibración con las que se verificó la linealidad del método, así como los límites de detección y cuantificación. Algunos puntos de cada curva se inyectaron por triplicado en un solo día y en tres días consecutivos, con el fin de obtener información sobre la repetibilidad inter e intradía.

Finalmente, se procedió a la determinación de tensoactivos en las muestras de látex por CL-EM. Se prepararon soluciones de resina dopadas con los tensoactivos a determinar, y se inyectaron en un sistema de cromatografía de exclusión (SEC) para separarlos del látex (cabe mencionar que, debido a que el látex LI es insoluble en tetrahidrofurano, se sometió a un proceso de extracción previo, y con el extracto obtenido se llevó a cabo la separación por SEC). Las fracciones correspondientes a los tensoactivos se colectaron, se evaporaron y se redisolviéron para inyectarse en CL-EM. En el análisis por CL-EM, se monitorearon los iones característicos de cada uno de los tensoactivos. En el caso del látex LI, las gráficas de corriente de iones obtenidas mostraron señales muy pobres, por lo cual no fue posible llevar a cabo la determinación. En el caso de las muestras del látex LII, con base en el área de los picos observados en las gráficas de corriente de iones, se construyeron curvas con las cuales se calculó el contenido de los tensoactivos presentes. El contenido de M4 se determinó con éxito (valor calculado: 1.22%, valor esperado: 1.52%), sin embargo, el contenido

calculado de M3 fue mayor que el esperado (valor calculado: 1.45%, valor esperado: 0.83%).

Cabe mencionar que los métodos de separación y determinación aquí desarrollados son aplicables al análisis rutinario de tensoactivos comerciales y látex sintéticos, con fines de control de calidad.

1. Introducción

Los tensoactivos son ampliamente utilizados en la formulación de productos de limpieza, pesticidas, fármacos y cosméticos, en la manufactura de artículos de piel y plásticos, así como en la industria textil, metalúrgica, petrolera, etc. [1-13].

Debido a su importancia en la industria y a sus efectos nocivos en el medio ambiente, la separación y determinación de tensoactivos comerciales o en matrices complejas es de crucial importancia. En química analítica, la separación e identificación de tensoactivos es un reto, debido a que existe una amplia variedad de tensoactivos comerciales de composición química diversa, y a que las matrices donde éstos se encuentran son, comúnmente, de naturaleza compleja [7].

La separación de tensoactivos por diversas técnicas analíticas como precipitación [4], cromatografía en placa fina [4], etc. suele hacerse sólo con fines de identificación. La separación y cuantificación de tensoactivos por cromatografía de gases requiere derivación química, debido a que su baja volatilidad e inestabilidad térmica no permiten un análisis directo [4, 6, 8, 11, 13-16]. Por otro lado, en la determinación de tensoactivos por métodos de vía húmeda, potenciométricos y espectrofotométricos [4] se cuantifica la concentración total de los tensoactivos, no de los componentes individuales, además de que presentan baja sensibilidad e interferencias cuando se trabaja con analitos en matrices complejas [4, 6, 16]. Inclusive, técnicas analíticas más sofisticadas como espectroscopia de infrarrojo y resonancia magnética nuclear (RMN) pueden resultar limitadas debido a efectos de matriz [16].

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) es la técnica de análisis preferida para la separación y caracterización de tensoactivos. Con CLAR, es posible separar a los componentes de los tensoactivos comerciales de acuerdo a su naturaleza química, además de que permite cuantificar tensoactivos individuales en mezclas complejas [18].

La detección por absorción UV o fluorescencia es aplicable al análisis de alquilfenoles, sin embargo, en el caso de alcoholes etoxilados es necesario preparar derivados [4, 5, 7, 14, 16-18]. El detector de índice de refracción es poco sensible, y no es compatible con eluciones en gradiente [4, 7, 14, 18, 19]. El detector evaporativo de dispersión de luz (ELSD, por sus siglas en inglés) ha demostrado ser aplicable a la determinación de varios tipos de tensoactivos [5, 7, 9, 14, 17, 18-21]. Por otro lado, el acoplamiento cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM) se ha usado ampliamente en el análisis de tensoactivos, ofreciendo una gran sensibilidad y sobre todo selectividad, además de que permite la obtención de pesos moleculares y en algunos casos, información estructural [4, 12, 13, 16, 22-25].

Este trabajo se enfoca a la separación, cuantificación e identificación de tensoactivos comerciales aniónicos y no iónicos por CLAR, usando los detectores UV y ELSD, así como un acoplamiento CL-EM.

Los tensoactivos estudiados fueron muestras comerciales de alcohol etoxilado, alquilfenol etoxilado y alquilfenol etoxilado sulfatado, ya que éstos resultan de especial interés para la síntesis de polímeros en emulsión [1].

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Establecer metodologías para la separación, identificación y determinación de tensoactivos comerciales en solución y en muestras de látex por CLAR-UV/ELSD y CL-EM.

2.2. Objetivos específicos

- Separar e identificar a los componentes de 4 muestras de tensoactivos comerciales (alcohol etoxilado, nonil fenol etoxilado y dos nonil fenoles etoxilados sulfatados) por CLAR-UV/ELSD y CL-EM.
- Desarrollar un método para la separación y determinación de dichos tensoactivos en mezclas por CLAR-UV/ELSD.
- Desarrollar un método para la determinación de tensoactivos en muestras de látex sintéticos por CL-EM.

3. Antecedentes

3. 1.Tensoactivos

3.1.1. Clasificación [1, 2]

Los tensoactivos son compuestos orgánicos cuyas moléculas poseen, al menos, dos grupos funcionales de diferente polaridad: una cadena hidrofóbica (alquil- o alquilaril-) y un grupo hidrofílico iónico o no iónico.

La porción hidrofóbica de una molécula de tensoactivo puede ser lineal o ramificada, y posee entre 8 y 20 átomos de carbono. El grupo hidrofílico suele situarse en uno de los extremos de la cadena hidrofóbica, por esta razón, la estructura de los tensoactivos suele esquematizarse por un modelo cabeza-cola, en el cual la cabeza representa al grupo hidrofílico y la cadena hidrofóbica es representada como la cola (Fig. 3.1).



Fig. 3.1. Esquematación de la estructura de un tensoactivo

Los tensoactivos se clasifican de acuerdo a la naturaleza de su(s) grupo(s) hidrofílico(s) en: aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfotéricos:

A) Aniónicos.- Poseen grupos con carga negativa tales como: $-\text{COO}^-$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{OSO}_3^-$ y $-\text{OPO}_3^{2-}$, los cuales se encuentran acompañados por un contraión como: Na^+ , K^+ o NH_4^+ . Ejemplos de este tipo de tensoactivos son los jabones, los alquilbencén sulfonatos, los alquil sulfatos y los alquil fosfatos.

B) Catiónicos.- Contienen grupos con carga positiva tales como: $-\text{NR}_4^+$, $-\text{PR}_3^+$ y $-\text{SR}_2^+$, acompañados por un contraión como: Cl^- , OSO_3^- o CH_3COO^- . Las sales

de tetraalquil amonio y de aminas grasas (aminas obtenidas a partir de ácidos grasos) son ejemplos de tensoactivos catiónicos.

C) No iónicos.- Su parte hidrofílica es un grupo polar como polietilenglicol o poliglucósidos. Ejemplos de estos tensoactivos son los alquil y alquilfenil ésteres de polietilenglicol, así como los alquilpoliglucósidos.

D) Anfotéricos.- Poseen grupos iónicos positivos y negativos, usualmente $-NR_4^+$ y $-COO^-$. Los tensoactivos anfotéricos más comunes son derivados N-alquílicos de aminoácidos: betaínas, amidobetaínas, imidazolininas, etc.

Cabe señalar que existen tensoactivos cuya porción hidrofílica esta constituida por un grupo no iónico y un grupo aniónico, por ejemplo, los alquilsulfatos etoxilados. Estos tensoactivos se consideran de tipo aniónico.

3.1.2. Propiedades fisicoquímicas [1, 2]

La característica principal de los tensoactivos es su capacidad para adsorberse en superficies y en interfases, reduciendo la tensión superficial o interfacial (es decir, la cantidad de trabajo por unidad de área requerida para expandir una superficie o interfase).

Otra propiedad importante de los tensoactivos es que cuando se encuentran en solución, sus moléculas tienden a formar agregados llamados "micelas". En la figura 3.2 se presenta el esquema de una micela. La concentración de tensoactivo a la cual las moléculas comienzan a formar este tipo de agregados, es llamada concentración micelar crítica (CMC).

Como consecuencia de las propiedades anteriormente mencionadas, los tensoactivos suelen usarse para "disolver" moléculas hidrofóbicas en agua. Otras propiedades que presentan los tensoactivos en solución son: detergencia, humectación, emulsificación, dispersión y formación de espuma.

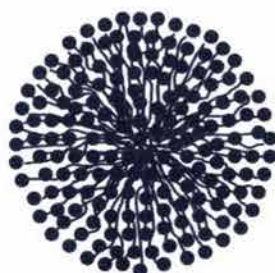


Fig. 3.2. Esquema de una micela

3.1.3. Alcoholes y alquilfenoles etoxilados

Son los tensoactivos no iónicos más importantes, se utilizan en detergentes líquidos y en polvo, así como en una gran cantidad de aplicaciones industriales, particularmente son útiles como emulsificantes [1].

Se sintetizan industrialmente por la adición de óxido de etileno a los alcoholes y alquilfenoles correspondientes, mediante catálisis básica (Fig. 3.3). El producto final de la reacción no es una sustancia pura, sino una distribución de cadenas etoxiladas con diferente número de unidades de óxido de etileno (n), llamados oligómeros. Cabe mencionar que una cantidad importante de la materia prima queda sin reaccionar [1-3, 5, 6, 9, 11].

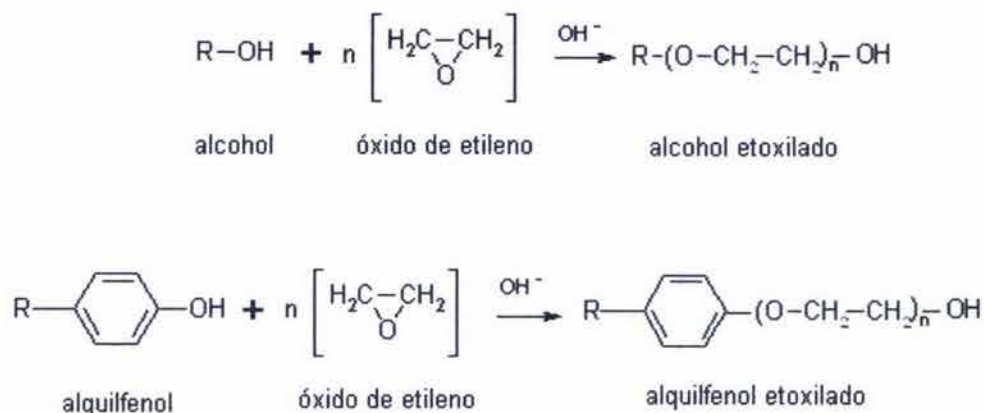


Fig. 3.3. Esquema de síntesis de alcoholes y alquilfenoles etoxilados

Las propiedades fisicoquímicas de los tensoactivos e inclusive su toxicidad, dependen fuertemente de la proporción de la sección hidrofóbica de la molécula con respecto a su parte hidrofílica [6, 8]. En el caso de los tensoactivos etoxilados, aquellos que tienen una distribución de oligómeros relativamente amplia exhiben, frecuentemente, mayor detergencia y propiedades emulsificantes que aquellos que presentan una distribución más estrecha. Con el incremento en grado de etoxilación, la solubilidad en agua, densidad y punto de fusión aumentan; en tanto que la solubilidad en disolventes orgánicos, el efecto de tensión superficial en el agua y el índice de refracción, disminuyen [2, 3].

3.1.4. Alquilfenoles etoxilados sulfatados

Se utilizan en la formulación de productos de limpieza, en procesos textiles y en la síntesis de polímeros en emulsión [1].

Se producen por sulfatación de los etoxilatos correspondientes con ácido amidosulfónico (Fig. 3.4). En esta reacción, siempre queda una cantidad de alquilfenol etoxilado no convertido. Además, se forman sales inorgánicas como subproducto [3, 13].

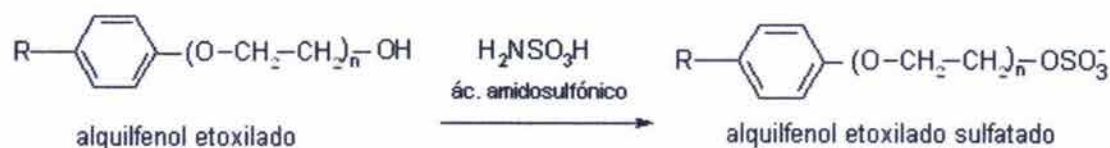


Fig. 3.4. Esquema de síntesis de alquilfenoles etoxilados sulfatados

3.2. Separación de tensoactivos por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) se puede usar para identificar tensoactivos de acuerdo a su composición química, así como también para

la determinación cuantitativa de tensoactivos individuales en mezclas o en presencia de otros compuestos.

Aunque en CLAR no se tiene tan buena resolución como en cromatografía de gases (CG), en CLAR los tensoactivos pueden determinarse directamente (es decir, sin derivación química).

En el análisis de tensoactivos por CLAR, los métodos de separación a utilizar se eligen de acuerdo con la naturaleza química de los compuestos (iónicos o no iónicos) y, en el caso particular de tensoactivos etoxilados, puede efectuarse con base en las cadenas alquílicas o con base en las cadenas etoxiladas. En cuanto a la detección, el sistema a elegir depende de las propiedades físicas (principalmente ópticas) de los analitos.

A continuación se describen de manera general los métodos de separación que se utilizan en el análisis de tensoactivos iónicos y no iónicos, así como los sistemas de detección para ambos tipos de tensoactivos.

Finalmente, se hablará de los métodos de separación para tres tipos específicos de tensoactivos: sulfatos de alquilfenol éter, alcoholes etoxilados y alquilfenoles etoxilados.

3.2.1. Métodos de separación

3.2.1.1. Tensoactivos aniónicos

A) Cromatografía en fase reversa

En el caso de tensoactivos aniónicos, la mayoría de las determinaciones se lleva a cabo por cromatografía en fase reversa, haciendo uso de agentes de formación de pares de iones (contraiones), o bien, por supresión de la ionización. En estos métodos, las especies aniónicas se separan en orden creciente de hidrofobicidad (es decir, de acuerdo a su longitud de cadena alquílica) [4].

Cuando se adiciona una sal orgánica a la fase móvil, ocurre una asociación iónica entre el tensoactivo aniónico y el catión de la sal. El par iónico formado se retiene más en la fase estacionaria no polar que el tensoactivo solo. El pH debe ajustarse a un valor tal que el tensoactivo se encuentre en su forma aniónica. Debido a que en fase reversa la retención es gobernada por la hidrofobicidad del par iónico, los tiempos de retención serán mayores cuanto más alto sea el peso molecular de los miembros del par [4].

Otro método de separación de tensoactivos aniónicos en fase reversa es la cromatografía de supresión de ionización. En este caso, el mecanismo para suprimir la ionización es el ajuste de pH, ya que a bajos valores de pH, los tensoactivos aniónicos se encuentran menos ionizados y son menos polares, de modo que los tiempos de retención en fase reversa aumentan [4].

B) Cromatografía de adsorción

El uso de cromatografía de adsorción no es muy común para trabajar con tensoactivos aniónicos, sin embargo, ésta puede ser útil para la separación de diferentes tipos de tensoactivos aniónicos entre sí. En este modo de separación, la elución ocurre en orden decreciente de hidrofobicidad [4].

C) Cromatografía de intercambio iónico

Los tensoactivos aniónicos pueden determinarse por cromatografía de intercambio iónico convencional, particularmente si se trata de un solo componente aniónico o de una mezcla simple. Sin embargo, la mayoría de las separaciones requiere del uso de un par iónico, como se había mencionado anteriormente [4].

3.2.1.2. Tensoactivos no iónicos

Las separaciones de tensoactivos no iónicos por CLAR se efectúan con base en las cadenas alquílicas o en las cadenas etoxiladas. Dichos modos de separación no son mutuamente excluyentes y bajo ciertas condiciones¹, también son aplicables al análisis de tensoactivos aniónicos etoxilados [4].

A) Separación con base en la cadena hidrofóbica

Mediante cromatografía en fase reversa convencional es posible efectuar la resolución de la mayoría de los tensoactivos no iónicos con base en la longitud de la cadena alquílica. Usualmente, cada pico representa una sola cadena alquílica que contiene la distribución completa de cadenas etoxiladas de diferente longitud, lo cual ocasiona un ensanchamiento de picos no deseable [4].

Con una separación en fase reversa es posible distinguir isómeros con grupos alquil o alquilaril ramificados [20].

Por otro lado, cuando se desea determinar un tensoactivo no iónico específico en una matriz compleja o en una mezcla de tensoactivos, es recomendable usar un sistema en el cual la longitud de las cadenas etoxiladas no tenga ningún efecto sobre el tiempo de retención. Las condiciones cromatográficas bajo las cuales ocurre este fenómeno suelen denominarse "condiciones críticas". En la tabla 3.1 se presentan algunas condiciones críticas reportadas para separaciones de tensoactivos y otros compuestos etoxilados [18, 20].

¹ Formación de pares iónicos o supresión de la ionización

Tabla 3.1. Condiciones críticas informadas para la separación de tensoactivos y otros compuestos etoxilados² [4].

Composición de fase móvil	Proporciones reportadas como condiciones críticas
MeOH/agua	80:20 a 90:10
acetonitrilo/agua	42:48, 45:55, 46:54
THF/agua	13:87
isopropanol/agua	20:80
acetona/agua	80:20 a 90:10

B) Separación con base en la cadena hidrofílica

La cromatografía en fase normal (en sílica gel, o fases amino, nitrilo o diol) se ha utilizado para separar tensoactivos no iónicos de acuerdo a la distribución de cadena etoxilada [11, 18, 23]. En este caso, puede ocurrir además una ligera separación o desdoblamiento en cada pico debido a la variación de la longitud de cadenas alquílicas, o bien, a la presencia de isómeros de los grupos alquilo [20]. Este método de separación no es recomendable para la determinación de tensoactivos en matrices complejas, ya que los oligómeros del compuesto etoxilado se separan a lo largo de todo el cromatograma, de modo que los picos de otros componentes pueden coeluir con algún oligómero [4]. Además, se ha observado que en estos sistemas la resolución de oligómeros no siempre es aceptable, independientemente de la naturaleza de los disolventes utilizados [23].

Mediante cromatografía en fase reversa es posible resolver oligómeros, inclusive de altos grados de etoxilación. Entre todos los disolventes orgánicos, el acetonitrilo, el THF y la acetona son los que presentan mejor selectividad; en lo que se refiere a columnas, se ha observado que las C18 y C8 dan mayores eficiencias que las C6, C4 ó C2 [18, 23]. Dependiendo de la composición de la fase móvil, el orden de elución puede ser en orden de grado de etoxilación creciente o decreciente

² Condiciones utilizadas en columnas de fase reversa típicas, en intervalos de temperatura usuales.

(en proporciones de solvente inferiores a las condiciones críticas, la elución va conforme al orden de grado de etoxilación creciente; en proporciones de solvente mayores a las críticas, el orden de elución es inverso al grado de etoxilación) [4].

Por otro lado, con el uso de columnas de grafito (fase reversa) y de alúmina (fase normal) ha sido posible efectuar separaciones de tensoactivos no iónicos de acuerdo a la longitud de sus cadenas hidrofóbica e hidrofílica, de manera simultánea [10, 28].

Recientemente se ha reportado el uso de una fase estacionaria no polar con grupos polares embebidos. De acuerdo con las condiciones cromatográficas utilizadas, con esta fase estacionaria es posible separar tensoactivos solos o en mezclas, con base en sus cadenas hidrofóbicas o hidrofílicas. Para algunos tensoactivos, ambas separaciones se llevan a cabo simultáneamente [18].

3.2.2. Detección

A) Absorbancia UV

Los tensoactivos que poseen grupos aromáticos, tales como los alquilfenoles etoxilados o como los alquilarilsulfatos, pueden ser fácilmente determinados con un detector de absorbancia UV, debido a la presencia del anillo aromático. Los tensoactivos alifáticos son más difíciles de detectar por este medio, ya que, aunque presentan valores de absorbancia entre 190 y 210 nm, la proporción señal a ruido es muy pobre, debido a que la mayoría de los disolventes e impurezas también absorben en esta región [4].

En el caso de los tensoactivos aniónicos que no presentan absorbancia en UV, puede usarse detección fotométrica indirecta, mediante columnas de intercambio iónico con fases móviles que contengan cationes que absorben en el UV. También es posible derivar químicamente a los tensoactivos con un reactivo que les proporcione un grupo cromóforo terminal (por ejemplo, fenil isocianato, naftilisocianato y cloruros

de benzoilo sustituidos). Cabe mencionar que, para separar los compuestos derivados, es importante contemplar que la polaridad es distinta a la de los compuestos originales, por lo que los tiempos de retención se ven afectados [4, 7, 18, 20].

B) Detector evaporativo de dispersión de luz (ELSD)

El detector evaporativo de dispersión de luz (ELSD, del inglés Evaporative Light Scattering Detector) ha demostrado ser aplicable en el análisis de diversos tensoactivos, incluyendo no cromóforos. No requiere derivatización, por lo que presenta menos interferencias de matriz y consume menos tiempo de análisis. Además, es compatible con cromatografía de elución en gradiente y puede usarse con disolventes que presentan una alta absorbancia en UV. Sin embargo, puede presentar algunas interferencias por compuestos no volátiles de los eluyentes o de la matriz y tiene una tolerancia limitada a las sales que usualmente se añaden a la fase móvil en el análisis de tensoactivos iónicos [7, 10, 14, 19, 27].

La respuesta del ELSD en el análisis de tensoactivos etoxilados no siempre es lineal, y no sólo depende de la concentración del analito: varía con el peso molecular y con la composición de la fase móvil, por lo que es necesario el uso de oligómeros individuales para calibrar [5, 18, 19].

En los cromatogramas obtenidos en separaciones de cadenas etoxiladas se ha observado que, compuestos con altos grados de etoxilación ($n > 30$) presentan una mayor respuesta en ELSD que en UV, mientras que los oligómeros de alto peso molecular ($n < 7$) presentan mayor respuesta en UV que en ELSD. De hecho, el componente no etoxilado y el oligómero $n=1$ suelen no detectarse [18, 19, 21].

C) Espectrometría de masas

En cromatografía, la espectrometría de masas es un método de detección que proporciona información adicional a la respuesta y tiempo de retención de los

analitos, de modo que permite distinguir a dos o más compuestos con el mismo tiempo de retención [29].

Gracias al desarrollo del acoplamiento Cromatógrafo de Líquidos-Espectrómetro de Masas (CL-EM), la detección por espectrometría de masas es aplicable a la gran mayoría de los tensoactivos sin que éstos tengan que derivarse químicamente (como ocurre en el análisis por CG-EM). Las fuentes de ionización de CL-EM permiten que el efluente de la columna cromatográfica se introduzca al espectrómetro de masas directamente. En dichas fuentes, la volatilización y ionización de las moléculas ocurre de manera simultánea, sin que sea necesario someter a la muestra a altas temperaturas [4].

Debido a que el análisis de tensoactivos por CL-EM es un tema de relevancia para el presente trabajo, se tratará posteriormente, en la sección 3.3.

B) Otros detectores

El detector de índice de refracción puede usarse en el análisis de tensoactivos, pero es poco sensible y no es compatible con cromatografía de elución en gradiente. Da mejores resultados en la caracterización de tensoactivos puros que en la determinación de tensoactivos a bajas concentraciones y es muy sensible a pequeños cambios de temperatura [4, 7, 14, 18, 19].

Por otro lado, los tensoactivos que poseen grupos aromáticos pueden ser determinados directamente por fluorescencia. Este método de detección es más selectivo y sensible que la detección por absorción UV y ELSD. Para analizar tensoactivos alifáticos, es necesario tratarlos químicamente con iones detectables por fluorescencia, por ejemplo, 1-naftil isocianato y cloruros de 1- o 2-antranoilo, sin embargo, el uso de derivados no es muy viable para fines cuantitativos [5, 18, 21].

En el caso particular de tensoactivos iónicos, éstos pueden determinarse por medio de detección conductimétrica, inclusive por conductividad indirecta, usando un eluyente altamente conductivo [4].

Cabe mencionar que algunos electrodos experimentales selectivos se han utilizado para la detección electroquímica de ciertos tensoactivos iónicos, sin embargo, no se recomienda su uso rutinario debido a que sufren un deterioro gradual y por lo tanto, pierden sensibilidad [4].

En el caso de tensoactivos no iónicos, la detección por métodos electroquímicos sólo es posible con la preparación de derivados [4, 14].

3.2.3. Ejemplos específicos

3.2.3.1. Análisis de sulfatos de alquilfenoléter

A) Fase normal

Los sulfatos de alquilfenol éter usualmente se encuentran contaminados con los compuestos no-sulfatados correspondientes. Al igual que los etoxilatos originales, los etoxilatos sulfatados pueden separarse de acuerdo a su grado de etoxilación por CLAR. En sistemas de fase normal, los picos que corresponden a la distribución de los etoxilatos sulfatados se observan después de los picos de los oligómeros no-sulfatados, ya que la porción no-iónica eluye fácilmente, en tanto que los sulfatos son fuertemente retenidos (sólo pueden eluirse con solventes polares como el 2-metoxietanol) [15]. Cabe mencionar que la elución puede controlarse mejor con la adición de una sal o de un agente formador de pares iónicos (contraión) [4].

B) Fase reversa

La cromatografía en fase reversa, usando columnas cortas (2.5 cm de longitud) y un detector ELSD, permite una rápida determinación del sulfato de alquiléter y el compuesto no-sulfatado correspondiente, dando un pico cromatográfico para cada uno [5].

Con las columnas comúnmente utilizadas (15 o 25 cm de longitud), el etoxilato no-sulfatado presenta un tiempo de retención mucho más largo que el tensoactivo

sulfatado. En estos casos se suele trabajar en el sentido normal del flujo para obtener el pico del componente sulfatado y posteriormente, se invierte el flujo para obtener el pico del tensoactivo no sulfatado [26].

El orden de retención en fase reversa puede ser alterado por la adición de contraiones de cadena larga (como el bromuro de cetiltrimetilamonio), los cuales causan que los sulfatos de éster se retengan más que los no-iónicos correspondientes. Sin embargo, este efecto sólo ocurre por debajo de una concentración de 0.2 M. A una concentración mayor, la retención de los sulfatos disminuye, pues se alcanza la CMC del contraión y las micelas mantienen al tensoactivo en la fase móvil [4].

3.2.3.2. Análisis de alcoholes etoxilados

Usualmente, el análisis de alcoholes etoxilados se realiza en dos etapas: la distribución de cadenas alquílicas se determina por cromatografía en fase reversa, mientras que la distribución de cadenas de óxido de etileno se determina por cromatografía en fase normal [4].

En ciertos casos, la separación simultánea de distribuciones de cadenas alquílicas y oligómeros etoxilados puede llevarse a cabo bajo condiciones de fase reversa [17, 20]. Sin embargo se ha observado que en este tipo de separaciones, aún con eluciones en gradiente no es posible resolver distribuciones de oligómeros adyacentes [20].

A) Fase normal

Con el uso de elución por gradiente en fase normal, es posible resolver completamente oligómeros con más de 25 moles de óxido de etileno. La detección se lleva a cabo mediante la formación de derivados que absorben en UV. Si se emplea elución isocrática, es posible estudiar la distribución de alcoholes etoxilados no derivatizados mediante absorción UV a bajas longitudes de onda, o por índice de refracción [4].

La detección por ELSD puede efectuarse con elución en gradiente sin la necesidad de formar derivados, sin embargo, los aductos de bajos grados de etoxilación (1 y 2 moles de óxido de etileno) pueden no ser detectados [21].

B) Fase reversa

Usando fase reversa es posible separar alcoholes etoxilados en orden creciente de longitud de cadena alquílica. El uso de gradientes no suele ser necesario, pero el sistema debe optimizarse para que la separación por longitud de cadenas etoxiladas no ocurra simultáneamente. En el caso de alcoholes lineales, es posible obtener buena resolución, pero cuando se trata de alcoholes ramificados puede haber traslape de picos. Para un mismo peso molecular, los alcoholes ramificados eluyen primero que los lineales. La resolución de una mezcla compleja es más completa cuando se usa espectrometría de masas como detección, usando monitoreo de iones selectos (SIM, por sus siglas en inglés) [4].

En algunos casos, resulta útil llevar a cabo separaciones mixtas, es decir, separaciones simultáneas de hidrófobo e hidrófilo [17].

3.2.3.3. Análisis de alquilfenoles etoxilados

Los alquilfenoles etoxilados son fácilmente analizables por CLAR debido a su detectabilidad en UV y a la monodispersidad de su componente hidrofóbico. La separación suele llevarse a cabo de acuerdo con la longitud de cadena alquílica en fase reversa, o bien, con base en la longitud de cadena etoxilada en fase normal [4].

A) Fase normal

Para la resolución de compuestos con cadenas cortas de óxido de etileno (10 unidades o menos), generalmente se usan columnas de sílice. Para grados mayores de etoxilación, se utilizan fases NH_2^- o CN^- , ya que cadenas grandes de óxido de etileno pueden retenerse fuertemente en sílice [4].

La separación isocrática se lleva a cabo exitosamente en un rango limitado de oligómeros, en tanto que el uso de gradientes binarios o ternarios permite la separación de un amplio rango [11]. El uso de altas temperaturas que reducen la viscosidad de la fase móvil, incrementan la eficiencia para la resolución de oligómeros mayores [4].

B) Fase reversa

En el caso de alquilfenoles etoxilados, las separaciones en fase reversa se usan principalmente para la cuantificación de alquilfenol etoxilado total en mezclas o en matrices complejas, ya que la supresión de la separación de oligómeros simplifica el cromatograma [4].

La determinación de la distribución de cadena alquílica no es común, debido a que los alquilfenoles etoxilados comerciales son monodispersos. Sin embargo, con este método es posible separar el isómero *orto* del isómero *para* predominante [4].

Debido a que los etoxilatos mayores son más polares que los etoxilatos menores, bajo condiciones de fase reversa los alquilfenoles etoxilados eluyen en orden decreciente de grado de etoxilación [4]. Sin embargo, si la separación de oligómeros se efectúa en una columna C1, el orden de elución es creciente con respecto al grado de etoxilación [6, 14].

3.3. Separación de tensoactivos por otras técnicas [4]

A) Precipitación

Existen diversos reactivos que pueden precipitar a ciertos tipos de tensoactivos. Por ejemplo, varios tensoactivos aniónicos pueden ser parcialmente precipitados como sales de cationes divalentes tales como: Ca^{2+} y Ba^{2+} . Los tensoactivos no iónicos pueden precipitarse con ácido molibdofosfórico en presencia de cationes divalentes.

Por otro lado, es posible modificar la solubilidad de los tensoactivos variando el pH y la temperatura, o bien, adicionando disolventes.

B) Intercambio iónico

Las resinas de intercambio iónico han sido ampliamente utilizadas para separar tensoactivos. Los tensoactivos aniónicos son reversiblemente adsorbidos en resinas de intercambio aniónico. Lo mismo ocurre con tensoactivos catiónicos en resinas de intercambio catiónico. La combinación de resinas catiónicas y aniónicas en series de columnas ha sido utilizada para separar tensoactivos no iónicos de tensoactivos iónicos (los iónicos se quedan adsorbidos, en tanto que los no iónicos se recuperan del efluente).

C) Adsorción y extracción en fase sólida

Todos los tensoactivos en general, pueden ser adsorbidos en carbón activado cuando se encuentran en una solución acuosa. La adsorción de tensoactivos iónicos es favorecida por la adición de sales inorgánicas a la solución.

También es posible aislar tensoactivos de un medio acuoso por extracción en fase sólida con cartuchos de fase estacionaria C_8 o C_{18} . Este método es particularmente efectivo para tensoactivos no iónicos.

Finalmente, cabe mencionar que en el mercado existen resinas sintéticas macroreticulares específicas para la separación de tensoactivos iónicos y no iónicos. Con éstas, es posible variar la temperatura, pH y fuerza iónica para favorecer la adsorción de los tensoactivos.

D) Cromatografía en capa fina (TLC)

La cromatografía en placa fina (TLC, del inglés Thin Layer Chromatography) suele usarse principalmente como método cualitativo, para la identificación de tensoactivos individuales o en mezclas. También es usada frecuentemente para

remover tensoactivos de matrices complejas de manera previa a su determinación por técnicas instrumentales. El método de TLC bidimensional es muy recurrido para analizar tensoactivos en mezclas.

Después de la separación, las bandas son removidas con un solvente polar y posteriormente son identificadas por espectroscopia IR o por espectrometría de masas. Inclusive, es posible analizar las bandas de manera directa (es decir, sin removerse de la fase estacionaria), por espectroscopia IR de reflectancia difusa o por ionización láser asistida por matriz, acoplada a espectrometría de masas (MALDI³-EM).

E) Cromatografía de permeación en gel (SEC)

Para analizar tensoactivos iónicos por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC, del inglés Size Exclusion Chromatography), deben emplearse columnas de alta resolución de tipo copolímero de alcohol vinílico, diseñadas para solventes acuosos. Si se tiene una fase móvil rica en agua con una pequeña proporción de acetonitrilo, los tensoactivos iónicos se separan de acuerdo con su longitud de cadena. Con una fase móvil rica en metanol que contiene una pequeña proporción de agua, se obtiene un solo pico que corresponde a una distribución de pesos moleculares. En este caso, se debe añadir una sal para lograr una separación.

Para la caracterización de tensoactivos no iónicos, de acuerdo con la solubilidad de los tensoactivos en cuestión, se puede recurrir a fases móviles acuosas y columnas de alcohol polivinílico o bien, a solventes como THF o DMF y columnas de divinilbenceno. Sin embargo, para el análisis de tensoactivos con bajos grados de etoxilación ($n= 10$ a 20), CLAR en fase reversa da mejores resultados que SEC.

³ Del inglés Matrix Assisted Laser Desorption Ionization.

F) Cromatografía de fluidos supercríticos (CFS)

La cromatografía de fluidos supercríticos (CFS) es una técnica poderosa para el análisis de polímeros de bajo peso molecular, tales como los tensoactivos no iónicos.

Debido a los altos coeficientes de difusión que se logran en los estados supercríticos, así como la alta fuerza de solvente que poseen algunas fases supercríticas, en muchos casos, la CFS da mejor resolución y es más rápida que un análisis por CLAR [8]. La CFS no requiere que los compuestos sean volátiles y es compatible con el detector de ionización de flama. Sin embargo, suele recurrirse a CLAR debido a la simplicidad y fácil manejo de columna y fase móvil.

En el análisis de alcoholes etoxilados, CFS se utiliza para determinar la cantidad de alcohol no etoxilado y para obtener la distribución de pesos moleculares. También se aplica para la resolución de alcoholes lineales y ramificados, así como para la resolución de isómeros orto, meta y para en alquilfenoles etoxilados.

Aunque se ha utilizado para la separación de oligómeros en alquilfenoles etoxilados usando programas de presión y temperatura [8], la separación por CFS no es común para el análisis de tensoactivos iónicos, ya que éstos presentan poca solubilidad en dióxido de carbono (fase móvil), y deben tratarse químicamente de manera previa al análisis.

G) Electroforesis capilar (EC) [17]

La electroforesis capilar es un método ampliamente usado en el análisis de tensoactivos iónicos. Diversos parámetros, tales como el pH, la fuerza iónica y el contenido de disolvente orgánico tienen influencia sobre la migración de los analitos, por lo que puede jugarse con dichos parámetros con el fin de mejorar la resolución de los picos.

Los tensoactivos no iónicos no poseen movilidad electroforética, por lo que el análisis directo por EC no es viable, a menos que se deriven químicamente (por ejemplo con anhídrido ftálico). Otra opción es la cromatografía micelar electrocinética capilar, en la cual agentes de formación de micelas (como el dodecilsulfato de sodio), permiten la interacción de los analitos neutros con el buffer electroforético.

H) Cromatografía de gases

La gran desventaja del análisis de tensoactivos por cromatografía de gases con respecto al análisis por CLAR, es que en todos los casos, se requiere un tratamiento químico previo para obtener derivados volátiles.

En el caso de los tensoactivos aniónicos, es necesario derivar químicamente para obtener cloruros de sulfonilo o ésteres de alquilo. También es posible llevar a cabo una desulfonación con ácido fosfórico para obtener el hidrocarburo correspondiente. Una vez derivados o desulfonados, los tensoactivos aniónicos se separan de acuerdo a su longitud de cadena (a mayor longitud de cadena, mayor tiempo de retención).

En el caso de tensoactivos etoxilados, las reacciones de derivación consisten en la protección de los grupos polares -OH con grupos alquilo (por ejemplo, ésteres de trimetilsilil o ésteres de acetato). Pero inclusive con una buena derivación y altas temperaturas, los oligómeros con más de 20 unidades de óxido de etileno, no eluyen (la determinación de oligómeros mayores sólo es posible por medio de inyecciones on-column). La separación de tensoactivos etoxilados se lleva a cabo tanto por la longitud de la cadena hidrocarbonada, como por la longitud de la cadena etoxilada: esto hace que los cromatogramas sean muy complejos, además de que pueden ocurrir traslapes de picos de altos pesos moleculares.

3.4. Acoplamiento CL-EM

Los espectrómetros de masas consisten de una fuente de ionización, un analizador de masas y un sistema de detección. Después de la fuente de ionización, todos los componentes se encuentran al alto vacío, el cual es generado por un sistema externo [30].

Los iones producidos en la fuente de ionización son transferidos por una óptica iónica hacia el analizador, donde son separados de acuerdo a su relación masa/carga (m/z). La polaridad de los potenciales aplicados a la fuente de ionización y a la óptica iónica, determina si los iones con carga positiva o negativa serán transferidos al analizador. Los iones que salen del analizador llegan al sistema de detección, donde producen una señal que es amplificada para dar lugar al espectro de masas correspondiente. Todos los componentes del detector son controlados por la electrónica del sistema, la cual a su vez es controlada por una computadora. En esta computadora además, se lleva a cabo el procesamiento de datos, así como el control del sistema de introducción de muestras (LC o inyección directa) y del automuestreador (si lo hay) [30]. En la figura 3.5 se muestra con un diagrama de bloques, la configuración de un acoplamiento CL-EM.

Debido a que existe una amplia variedad de fuentes de ionización y analizadores, y debido a que éstos son los componentes que les confieren características especiales a los equipos CL-EM, a continuación se presenta una breve descripción de algunas fuentes de ionización y analizadores.

3.4.1. Fuentes de ionización de importancia en CL-EM

El desarrollo de sistemas de ionización para CL-EM ha ampliado de manera importante el análisis de compuestos no volátiles y/o térmicamente inestables por espectrometría de masas [24, 29].

Desde hace 30 años, han pasado por el mercado diversos diseños, basados en diferentes métodos de ionización: cinta móvil (moving belt), haz de partículas

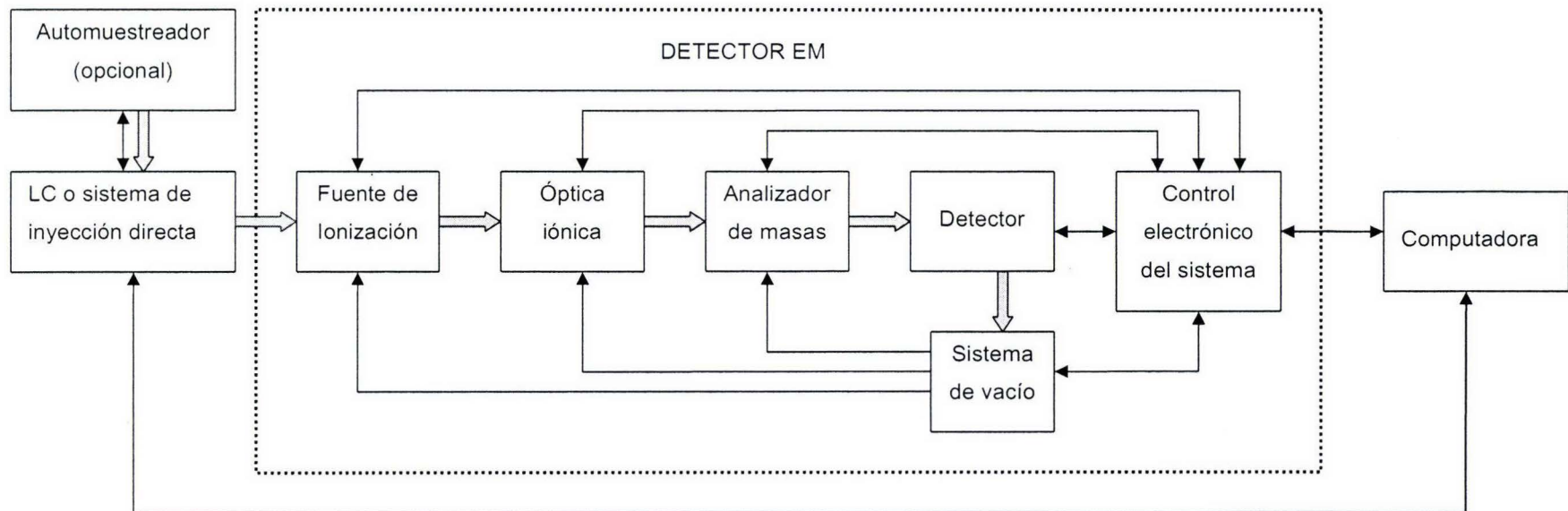


Fig. 3.5. Diagrama de bloques del sistema CL/EM. Las flechas anchas representan el flujo de las moléculas de analito a través del equipo. Las flechas angostas representan conexiones físicas o eléctricas [31]

(particle beam), termospray, entre otros. En la actualidad, las fuentes de ionización comúnmente usadas son las que se basan en la ionización a presión atmosférica (API, por sus siglas en inglés): ionización por electrospray (ESI, por sus siglas en inglés) y ionización química a presión atmosférica (APCI, por sus siglas en inglés) [22, 25].

A) Fuente de Ionización por Electrospray o Electronebulización (ESI)

La fuente de ionización por electrospray o electronebulización (ESI) es actualmente, la más utilizada actualmente en CL-EM. A diferencia de otras fuentes de ionización, la respuesta de los iones generados por ESI es directamente proporcional a la concentración del analito, independientemente de la velocidad de flujo a la cual éste se introduce a la fuente. La ionización por ESI es muy efectiva cuando se utilizan disolventes polares, y presenta buena sensibilidad con analitos polares e iónicos; además, es ampliamente aplicable a analitos termolábiles [31, 32].

En esta técnica de ionización, el efluente cromatográfico pasa a través de un capilar estrecho de acero que se encuentra a 1-3 cm de un contraelectrodo. Aplicando una diferencia de potencial de 2-3 kV entre el extremo del capilar y el electrodo, el líquido es rociado en pequeñas gotas cargadas que se dirigen al contraelectrodo. Debido a que el solvente se evapora por calentamiento, las gotas se fisionan sucesivamente hasta desintegrarse formando iones, los cuales se dirigen hacia el analizador de masas. El mecanismo de ionización por ESI se ilustra en la figura 3.6 (en este caso, la interfase está operando en modo de ionización positiva) [25, 30].

El electrospray ofrece la gran ventaja de que los iones se producen con cantidades relativamente bajas de energía, haciendo posible el análisis de moléculas grandes y poco volátiles. La desventaja principal de esta interfase es que no permite el uso de altas concentraciones de sales [16, 25].

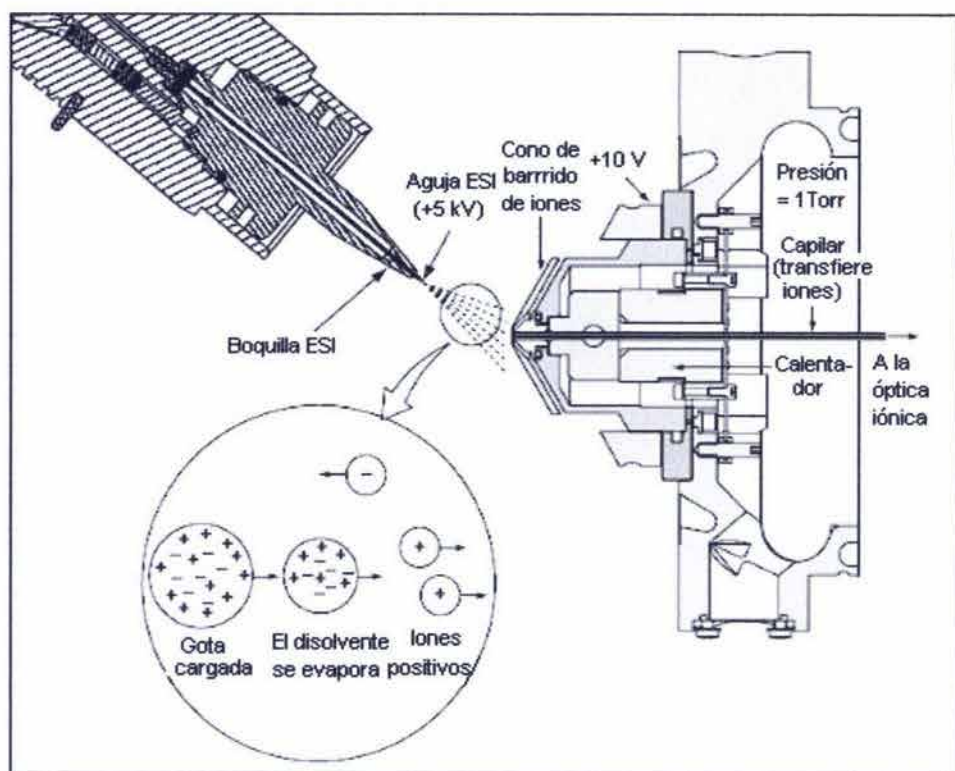


Fig. 3.6. Mecanismo de ionización por ESI en modo de ionización positiva [30].

Cuando es asistido neumáticamente, térmicamente o de alguna otra manera, la fuente ESI puede soportar flujos relativamente altos (ver tabla 3.2) [25, 31]. Sin ser asistido, no soporta flujos mayores a 10 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Tabla 3.2. Variaciones de ESI y velocidades de flujo [31]

Modalidad	Velocidades de flujo
Ionspray (IS)	<1.0 mL/min
Ultraspray (US)	<0.5 mL/min
Turbospray (TS)	>0.1 mL/min
Microspray (MS)	$\mu\text{L}/\text{min}$
Nanospray (NS)	nL/min

Otra característica de la fuente ESI es que puede generar iones multicargados, de modo que permite analizar compuestos de pesos moleculares altos aún cuando se cuente con un analizador de masas de rango limitado [25, 30, 31].

Cabe mencionar que, dado que la ionización por ESI es una técnica de ionización suave, no proporciona información estructural debido a la ausencia de fragmentación. Genera iones $[M + nH]^{n+}$ en modo de ionización positiva o $[M - nH]^{-n}$ en modo de ionización negativa. Con frecuencia, en los espectros de analitos no básicos se observan intensas señales correspondientes a la formación de aductos $[M + nNa^+]^{n+}$, $[M + nK^+]^{n+}$ y $[M + nNH_4^+]^{n+}$, ya que éstos cationes suelen adicionarse o estar presentes como impurezas en los solventes de la fase móvil [16, 22].

B) Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI)

La ionización APCI es muy efectiva en el análisis de compuestos no polares o de polaridad media. Para ser ionizados por esta técnica, los analitos requieren ser semivolátiles, y no deben ser termolábiles [22, 29, 31].

En este método de ionización, el efluente cromatográfico se vaporiza a presión atmosférica en una cámara caliente (tubo de acero inoxidable o de cuarzo) a 350-500 °C, con la ayuda de un gas acarreador caliente (aire o N₂), produciéndose una mezcla de vapor de analito y de disolvente. El vapor formado es ionizado por la descarga de un electrodo corona a 3-6 kV. Debido a que se ionizan las moléculas de analito, de disolvente y de gas, los iones de gas y de disolvente pueden ionizar químicamente a las moléculas de analito que no alcanzaron a ionizarse. Posteriormente, los iones formados son acarreados al alto vacío del espectrómetro de masas para su análisis. La interfase APCI se ilustra en la figura 3.7. En este caso, la interfase se encuentra en modo de ionización positiva [25, 30].

A diferencia de la ionización por ESI, en APCI los procesos de evaporación del disolvente y de formación de iones se llevan a cabo por separado, lo que permite el uso de disolventes no aptos para formar iones (es decir, disolventes apolares). Por otro lado, en APCI es posible el manejo de altas velocidades de flujo (1 mL/min o mayores) [29].

Al igual que ESI, APCI es una técnica de ionización suave, por lo que no genera fragmentación. En modo de ionización positiva, se forman iones $[M + nH]^{n+}$ o

aductos del mismo tipo que los que se generan en ESI. En modo de ionización negativa, se forman iones $[M - nH]^{-n}$, combinaciones con aniones o con electrones [29].

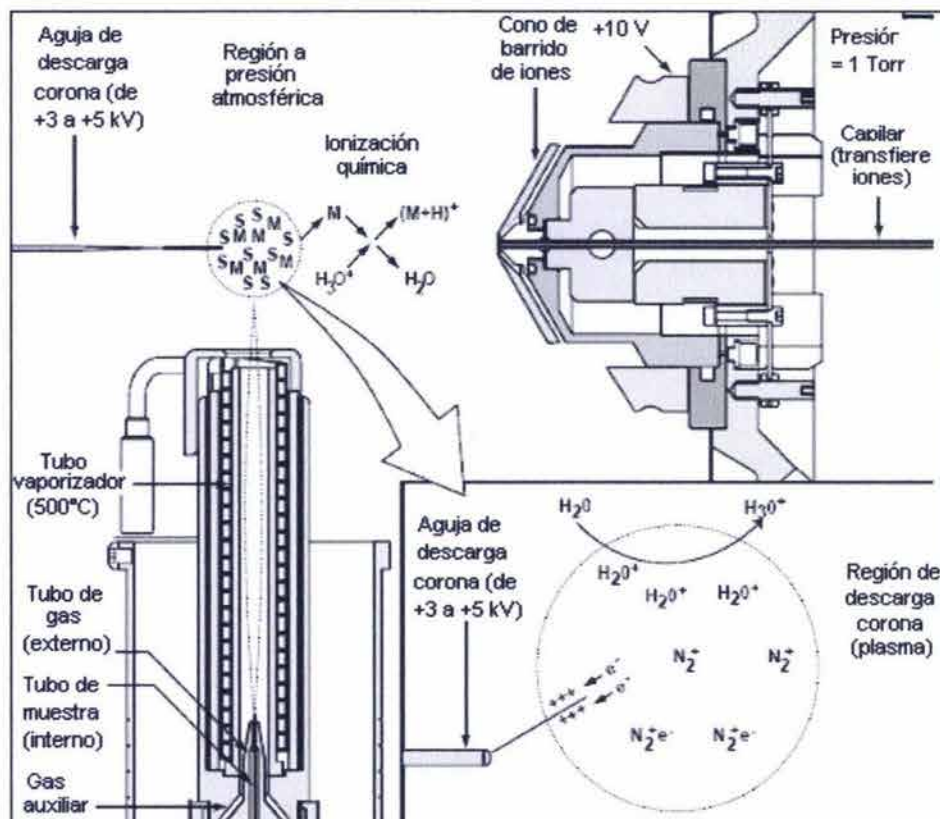


Fig. 3.7. Interfase APCI operando en modo de ionización positiva [30]

3.4.2. Analizadores de masas

Las fuentes de ionización anteriormente mencionadas se han acoplado a una extensa variedad de analizadores de masas, por ejemplo, cuadrupolos sencillos y triples, analizadores de tiempo de vuelo (TOF, del inglés Time Of Flight), de sectores y trampas de iones [22], algunos de los cuales se describirán a continuación.

A) Cuadrupolo

El analizador cuadrupolar consiste de cuatro barras cilíndricas paralelas, colocadas en un arreglo cuadrangular (ver fig. 3.8). Las barras opuestas se encuentran conectadas entre sí. Cuando se aplican potenciales de corriente directa (CD) y radiofrecuencia (RF) a los pares de barras de manera alterna, se genera un campo electromagnético que atrae a los iones. La relación masa/carga (m/z) de cada ión que atraviesa este campo, es directamente proporcional al voltaje aplicado a las barras, de modo que controlando el voltaje aplicado es posible "filtrar" a los iones según su masa [25, 31].

Este analizador es uno de los más comerciales debido a su simplicidad y costo relativamente bajo, sin embargo, los límites de detección no son tan buenos como en otros sistemas, el tiempo de adquisición espectral es relativamente largo y el rango de masas que mide es limitado, comparado con otros analizadores [25, 31].

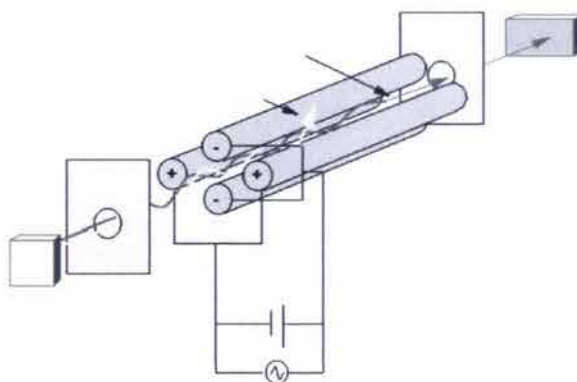


Fig. 3.8. Esquema del cuadrupolo [32]

B) Trampa de iones tridimensional

La trampa de iones esférica o tridimensional consiste de dos electrodos que tapan por arriba y por debajo a un electrodo en forma de anillo. Los electrodos superior e inferior se encuentran perforados para permitir la entrada y la salida de los iones (ver fig. 3.9). Las trampas de iones emplean solamente voltaje de radiofrecuencia para separar a los iones. Los iones de diferente masa entran juntos y

se almacenan en la trampa, oscilando con cierta frecuencia que es proporcional a su relación m/z . Cuando se aplica cierto voltaje al electrodo en forma de anillo, y dicho voltaje tiene la misma frecuencia que la oscilación de un ión, éste se excita generando un movimiento oscilatorio que lo conduce a la salida, para ser detectado [25, 32].

Las trampas de iones son comúnmente utilizadas para efectuar análisis EM-EM (o EM^n), ya que en éstas es posible inducir colisiones con He_2 , para fragmentar ciertos iones⁴ [31].

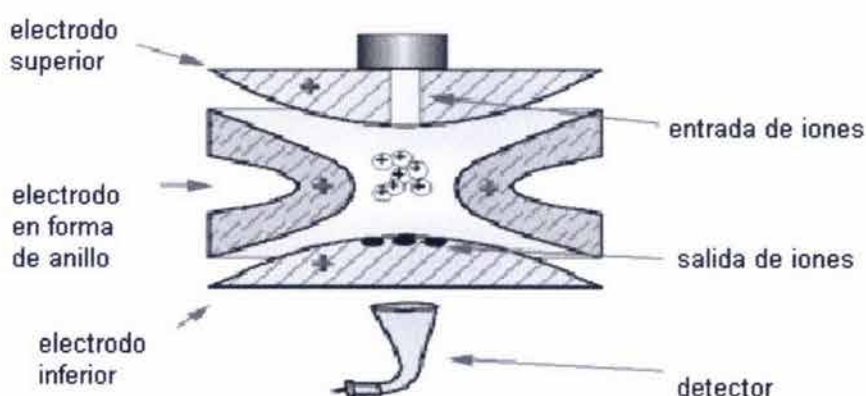
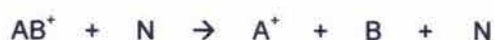


Fig. 3.9. Trampa de iones tridimensional [32]

Junto con el cuadrupolo, las trampas de iones son los analizadores más comerciales por su simplicidad y bajo costo. Los límites de detección de las trampas de iones son mejores que los que se obtienen con cuadrupolos, pero también presentan un rango de masas limitado y tiempos de adquisición espectral relativamente largos [25, 32].

⁴ La energía translacional del ión precursor (AB^+) se convierte a energía interna debido a colisiones inelásticas ($\sim 10^{-15}$ s) con moléculas neutras (N), lo que produce una disociación [43, 44]:



C) Trampa de iones lineal

La trampa lineal o bidimensional, consiste en un arreglo semejante al del cuadrupolo, pero funciona con el principio de una trampa de iones [32].

En este analizador, los iones son confinados radialmente por un campo de radiofrecuencia bidimensional, y axialmente por diferencias de potencial intermitentes aplicados a un arreglo de electrodos terminales [45]. En la figura 3.10 se presenta un esquema de la trampa de iones lineal.

En comparación con la trampa tridimensional, la trampa lineal presenta mayor sensibilidad y capacidad de almacenamiento de iones [32].

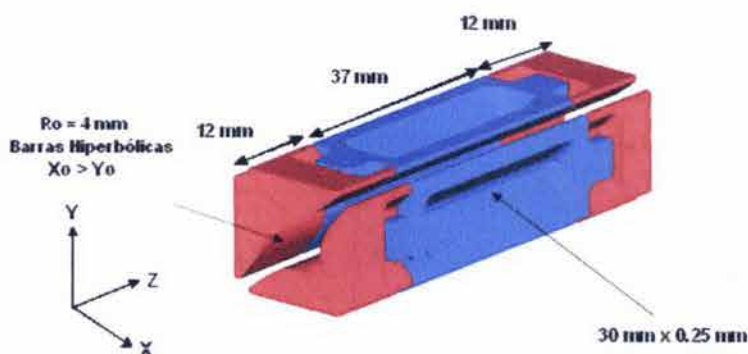


Fig. 3.10. Trampa de iones lineal [45]

D) Analizadores de tiempo de vuelo (TOF)

Un analizador de tiempo de vuelo consiste de una fuente, un tubo de vuelo y un detector. Los iones generados por una fuente de ionización externa (como ESI o APCI), son introducidos a la fuente del TOF, donde son repelidos por un voltaje aplicado y son expulsados hacia el tubo de vuelo. La relación m/z de un ión es proporcional al tiempo que este ión tarda en recorrer el tubo de vuelo (es decir, los iones más ligeros atraviesan más rápido el tubo que los iones pesados) [31]. El analizador TOF se esquematiza en la figura 3.11.

Los analizadores TOF se caracterizan por su alta selectividad y sensibilidad [22]. Además, analizan un rango de masas más alto y, entre todos los analizadores

de masas, son los que presentan más rápida adquisición espectral. Sin embargo, son más costosos que los cuadrupolos y las trampas de iones [32].

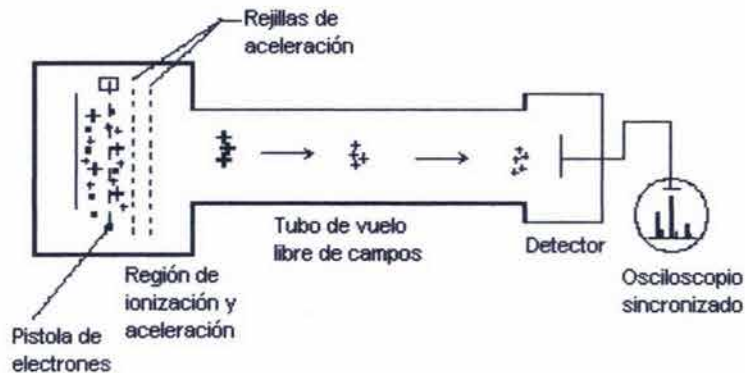


Fig.3.11. Esquema de un analizador TOF [33]

E) Analizadores de sector [32]

Existen analizadores de sector magnético, eléctrico o combinados.

El analizador de sector magnético consiste básicamente en un magneto. En éste, el campo magnético ejerce una fuerza perpendicular a la trayectoria del ion para deflectar a los iones de acuerdo a su momento (ver fig.3.12).

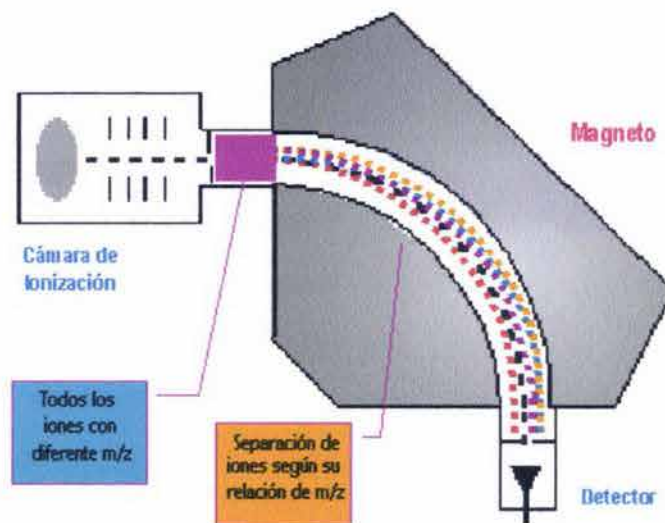


Fig. 3.12. Analizador de sector magnético [32]

En el analizador de sector eléctrico, el campo eléctrico (que se genera aplicando una diferencia de potencial en dos placas paralelas), defleca a los iones de acuerdo a su energía cinética.

En los analizadores de doble sector, el sector eléctrico puede anteceder al magnético (geometría de Nier-Johnson) o viceversa (geometría inversa, fig. 3.13).

De manera general, los analizadores de sector ofrecen una excelente exactitud y resolución de masa. Sin embargo, su sensibilidad es pobre, su tiempo de adquisición espectral es largo y su costo es elevado.

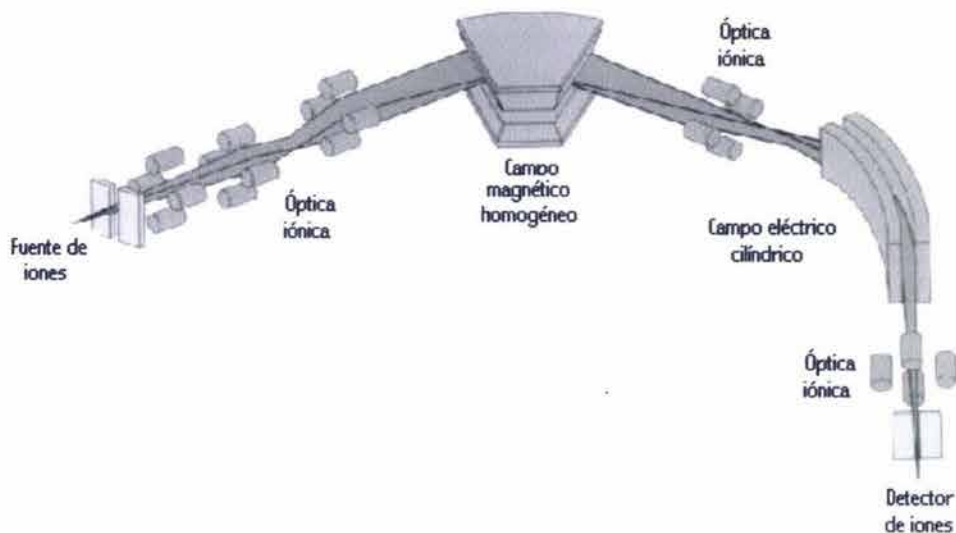


Fig. 3.13. Analizador de doble sector (geometría inversa) [32]

F) Analizador de masas de resonancia de ión ciclotrón-transformada de Fourier (ICR-TF-MS)

El Analizador de masas de resonancia de ión ciclotrón-transformada de Fourier (ICR-TF-MS, por sus siglas en inglés), consiste en una trampa cúbica en cuyo interior se aplica un campo magnético que induce a los iones a girar en órbita circular, con una frecuencia (ω) que depende de la relación m/z de cada ión, de acuerdo con la ecuación 3.1 [37]:

$$\omega = \sqrt{\frac{k}{m/z}} \quad \text{(Ecuación 3.1)}$$

Para efectuar el análisis de masas, se aplican pulsos de radiofrecuencia al interior de la trampa, ocasionando que los iones giren con órbitas de radios más amplios. Cuando el pulso de RF termina, los iones continúan girando en una órbita de radio constante. La frecuencia con la que giran los iones es detectada como una suma de frecuencias que, mediante una transformada de Fourier, son convertidas en un espectro de masas [31, 32].

Debido a que la frecuencia puede medirse con más exactitud que cualquier otra propiedad física, este analizador es de ultra alta resolución másica. La detección con ICR-TF-MS también ofrece la ventaja de ser un método no destructivo. En este analizador es posible efectuar experimentos EM-EM. La principal desventaja de los analizadores ICR-TF-MS es su alto costo de adquisición y mantenimiento [25].

El analizador ICR-TF-MS, su principio de operación, y el proceso que se lleva a cabo durante el análisis de masas, se ilustran en las figuras 3.14, 3.15 y 3.16.

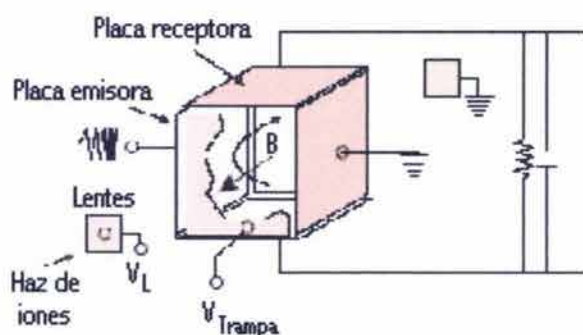


Fig. 3.14. Analizador ICR-TF- MS [35]

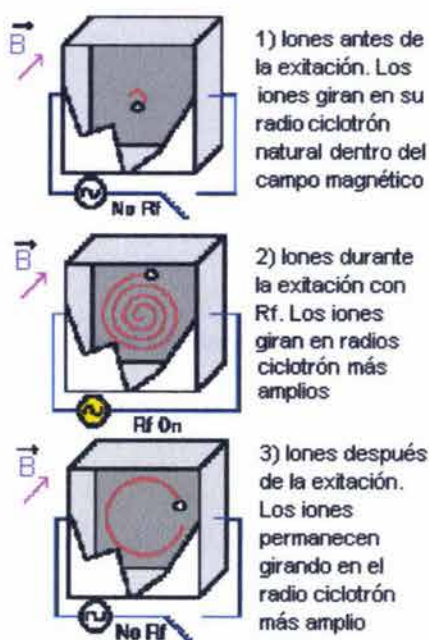


Fig. 3.15. Principio de operación del analizador ICR-TF-MS [32]

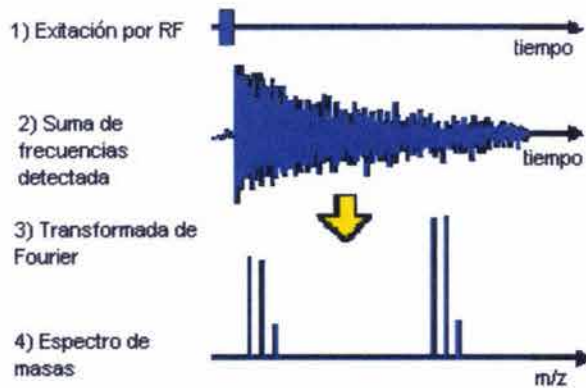


Fig. 3.15. Análisis de masas por ICR-FT-MS [32]

G) Orbitrap-FT-MS [34]

El Orbitrap-FT-MS es un analizador de alta resolución, en el cual los iones son acelerados incrementando el voltaje de un electrodo interno. Los iones atrapados generan trayectorias circulares alrededor del electrodo y oscilaciones axiales a lo largo del mismo. Una vez que el voltaje se estabiliza, los iones oscilantes producen una señal en los electrodos externos, en los cuales la señal se amplifica y se convierte a un espectro de frecuencia que posteriormente, se convierte a un espectro de masas aplicando una transformada de Fourier. En la figura 3.17 se muestra un esquema del Orbitrap FT-MS.

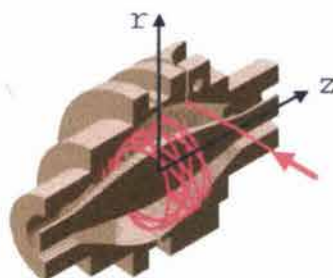


Fig. 3.17. Esquema del Orbitrap FT-MS [34]

H) Sistemas híbridos

Es importante mencionar que también existen analizadores híbridos, es decir, combinaciones de 2 analizadores en tándem.

Por ejemplo, la combinación de una trampa de iones con un cuadrupolo, se conoce como Q-trap. Es más sensible y selectivo que cada uno de los analizadores por separado [31].

La combinación de un TOF con un cuadrupolo al frente, se conoce como Q-TOF, y se utiliza en experimentos de EM-EM (comúnmente llamados experimentos de masas-masas). Con dicho acoplamiento, es posible determinar masas con excelente precisión y alta sensibilidad, usando energías de colisión relativamente bajas [22].

I) LTQ-Orbitrap [34]

El LTQ-Orbitrap es un analizador híbrido, que consiste de una trampa lineal (LTQ) y un analizador Orbitrap-FT-MS. Por resultar de especial interés para este proyecto, su principio de operación se describe a continuación.

Los iones generados por la fuente de ionización son atrapados en una trampa lineal (LTQ), que consiste de 2 electrodos concéntricos, entre los cuales los iones son atrapados aplicando un potencial electrostático. En esta región, se llevan a cabo los experimentos de masas de baja resolución y de EM-EM.

Posteriormente, los iones son expulsados axialmente del LTQ y son almacenados en una trampa en forma de C (C-trap), en la cual los iones se aíslan y se relajan antes de ser enviados al Orbitrap.

En el Orbitrap se lleva a cabo el proceso anteriormente descrito en el inciso G. En ésta región se efectúan los experimentos de alta resolución.

3.4.3. Análisis de tensoactivos por CL-EM

El acoplamiento CL-EM presenta una gran sensibilidad para el análisis de un amplio espectro de tensoactivos a nivel de trazas en matrices complejas, por lo que se han utilizado ampliamente en la determinación de tensoactivos en muestras ambientales (aguas residuales y suelos) [12, 13, 16, 22-25].

Cabe mencionar que en la literatura existe una gran cantidad de información sobre análisis de polímeros por CL/MS, en particular, por CL-ESI-TOF y CL-MALDI-TOF, así como también sobre análisis directo por MALDI-TOF y ESI-TOF [37-40]. Sin embargo, no se ha encontrado información sobre el análisis de tensoactivos en matrices poliméricas.

Debido a que para cada compuesto se producen aductos de iones $[M+/-X]^{+/-}$ durante el proceso de ionización, una separación cromatográfica acoplada a un análisis de espectrometría de masas para cada pico es suficiente para caracterizar varias mezclas de tensoactivos, especialmente cuando se usa un analizador EM-EM [13, 22]. Por otro lado, la diversidad de aductos $[M+/-X]^{+/-}$ generados en el proceso de ionización puede ser muy compleja y puede dificultar la interpretación de los espectros [13, 22, 24].

La formación de los diferentes aductos depende de diversos parámetros, tales como la naturaleza química del analito, el tipo de interfase utilizada, la composición de la fase móvil y los iones que en ésta se encuentren presentes, así como del modo de detección utilizado (positivo o negativo) y la concentración del analito [16, 22-24, 31].

Cabe mencionar que el uso de un analizador de masas tándem (EM-EM) acoplado a una interfase CL-EM permite la obtención de mayor información estructural para la identificación de compuestos. Por ejemplo, puede distinguir isómeros de posición que coeluyen y que, por tener la misma masa molecular, son indistintos en espectrometría de masas convencional. Sin embargo, el uso de EM-EM en el análisis de tensoactivos también ha presentado problemas de interferencia de

matriz y no siempre proporciona la información necesaria para la identificación y cuantificación [12].

A) Análisis de tensoactivos no iónicos (alcoholes etoxilados y alquilfenoles etoxilados)

Los espectros de tensoactivos etoxilados presentan patrones con señales espaciadas por diferencias de masa de 44 Da, correspondiente a una unidad de óxido de etileno, con lo que es posible obtener un estimado de la distribución de oligómeros [23]. Los tensoactivos no iónicos suelen detectarse en modo positivo. En ESI, se obtienen aductos $[M + H]^+$, $[M + Na]^+$ o $[M + NH_4]^+$, mientras que en APCI se detectan principalmente los iones $[M + H]^+$ [4, 23, 24].

B) Análisis de tensoactivos iónicos (alquil fenoles etoxilados sulfatados)

En la separación de tensoactivos iónicos en fase reversa, la adición de un agente de formación de pares iónicos a la fase móvil es incompatible con la mayoría de las fuentes de ionización usadas en CL-EM. Sin embargo, este problema puede solucionarse usando sales volátiles como agentes de formación de pares iónicos, por ejemplo, acetato de amonio [12, 16].

De acuerdo con la literatura, para el análisis de tensoactivos iónicos por ESI, se obtiene mayor selectividad y sensibilidad en modo de detección de iones negativos, en la que se observa el ión molecular, $[R-(OCH_2CH_2)_nOSO_3]^-$. En detección positiva se observan los iones $[R-(OCH_2CH_2)_nOH + Na]^+$ y $[R-(OCH_2CH_2)_nOSO_3Na + Na]^+$ [4].

Cuando se utiliza una interfase APCI, en modo de iones positivos se obtiene mayor sensibilidad, pero en el modo de iones negativos hay menos interferencia por parte de tensoactivos no iónicos. En detección positiva se obtienen predominantemente iones $[R-(OCH_2CH_2)_nOH + H]^+$. En detección negativa se observan los iones $[R-(OCH_2CH_2)_nOSO_3]^-$ [16].

4. Desarrollo experimental

4.1. Muestras y reactivos

Las muestras estudiadas fueron 4 tensoactivos comerciales denominados M1, M2, M3, y M4. Por otro lado, se trabajó con 2 muestras de látex sintético, denominadas LI y LII, las cuales contienen una mezcla de los tensoactivos anteriormente mencionados en cantidades conocidas. La descripción y composición de cada una de las muestras se presenta en la tabla 4.1.

Cabe señalar que todas las soluciones de tensoactivos se prepararon tomando en cuenta el contenido de sólidos de cada una de las muestras.

Los disolventes utilizados para la preparación de soluciones y extractos, así como para las separaciones cromatográficas fueron: agua desionizada, metanol (MeOH), acetonitrilo y tetrahidrofurano (THF) grado CLAR.

Para operar el detector ELSD y para efectuar la evaporación de algunas muestras, se utilizó nitrógeno gaseoso de alta pureza.

Los reactivos que se usaron como agentes de formación de pares iónicos o como promotores de la ionización para microspray (MSI), fueron: acetato de amonio, ácido acético e hidróxido de amonio grado reactivo.

Cabe señalar que para estudiar las condiciones óptimas de formación de iones negativos en MSI, se utilizó dodecil sulfato de sodio marca Fluka ® como estándar.

Tabla 4.1. Descripción de las muestras estudiadas

Muestra	Descripción ¹	Composición (% en peso)
M1	Tensoactivo comercial. Componente mayoritario: nonil fenol etoxilado (NFE)	Contenido de sólidos: 98.97%
M2	Tensoactivo comercial. Componente mayoritario: nonil fenol etoxilado sulfatado (NFES)	Contenido de sólidos: 36.60%
M3	Tensoactivo comercial. Componente mayoritario: nonil fenol etoxilado sulfatado (NFES)	Contenido de sólidos: 31.50%
M4	Tensoactivo comercial. Componente mayoritario: alcohol láurico etoxilado (ALE)	Contenido de sólidos: 99.17%
LI	Látex sintético. Contiene una mezcla de M1 + M2	Contenido de sólidos: 48.62% Contenido de M1: 2.57% Contenido de M2: 0.13%
LII	Látex sintético. Contiene una mezcla de M3 + M4	Contenido de sólidos: 53.98% Contenido de M3: 0.83% Contenido de M4: 1.52%

¹ Los componentes presentes en las muestras de tensoactivos comerciales se reportan de acuerdo a la información proporcionada por el proveedor.

4.2. Equipo

A) Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR)

El cromatógrafo de líquidos de alta resolución utilizado consiste de: un inyector Rheodyne® de 6 puertos con un rizo de 20 μL , 2 bombas Gilson® 305 y 306, un módulo manométrico Gilson® 805, un detector de absorbancia UV Shimadzu® SPD-10AVVP, un detector evaporativo de dispersión de luz PL-ELSD 1000 de Polymer Laboratories® y un integrador HP3396 Series II de Hewlett Packard®. El equipo descrito se ilustra en la figura 4.1.

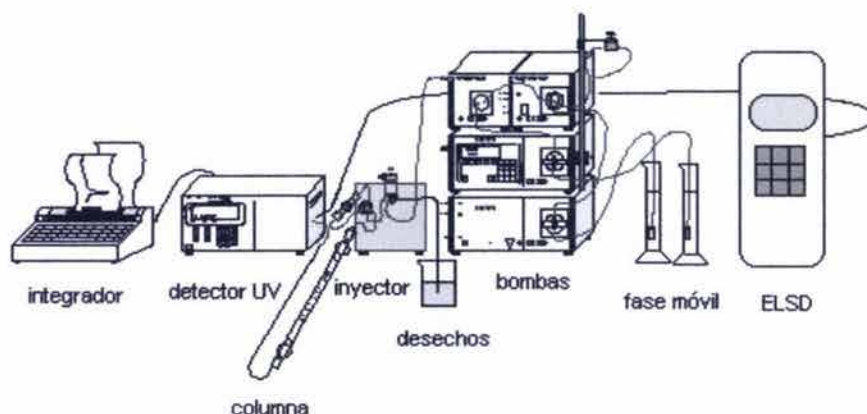


Fig. 4.1. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución

B) Espectrómetro de masas (acoplamiento CL-EM)

Durante el desarrollo de este trabajo se utilizaron dos diferentes espectrómetros de masas.

El espectrómetro de masas en que se realizó la mayoría de los experimentos de CL-EM, fue el LTQ-Orbitrap® marca Thermo® (Palo Alto, CA.), que se encuentra en el Laboratorio de Espectrometría de Masas del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN). En dicho espectrómetro, la introducción de muestras puede llevarse a cabo vía cromatografía de líquidos o por inyección directa (infusión), y la ionización puede efectuarse por nanospray (NSI), microspray (MSI) o por electrospray (ESI).

El LTQ-Orbitrap posee un analizador de masas híbrido, cuyo funcionamiento se describió en la sección 3.4.2.

El control del equipo y el procesamiento de datos se llevan a cabo mediante el software Xcalibur® 2.0 de Thermo®. En la figura 4.2 se presenta una fotografía del equipo descrito.

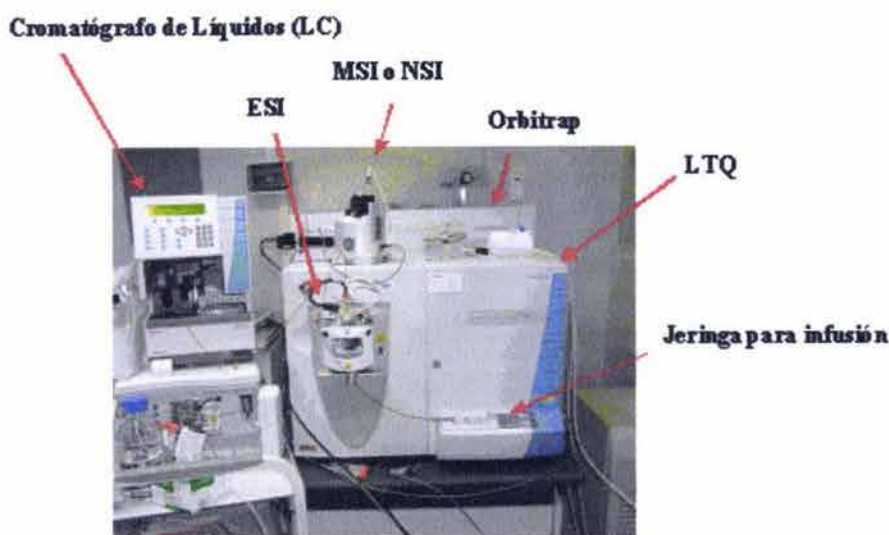


Fig. 4.2. Espectrómetro de masas LTQ-Orbitrap
(cortesía del Laboratorio de Espectrometría de Masas INMEGEN)

Debido a que en el momento en que se realizó el proyecto, no se contaba con el acoplamiento a un cromatógrafo de líquidos en el equipo anteriormente descrito, ciertos experimentos se llevaron a cabo en un equipo CL-EM modular constituido por un cromatógrafo de líquidos Waters® 1525 y un espectrómetro de masas Esquire 600 de Bruker®, el cual se encuentra en el Laboratorio de Cromatografía del Instituto de Química, UNAM. La introducción de muestras al espectrómetro puede efectuarse de manera directa o vía cromatográfica, y la ionización puede llevarse a cabo por ESI o por APCI. El analizador del espectrómetro es una trampa de iones tridimensional. El cromatógrafo se opera mediante el software Enpower Pro®, de Bruker® mientras que el control del espectrómetro de masas y el procesamiento de datos se lleva a cabo mediante el software Esquire Control®.

C) Cromatógrafo para separaciones por SEC

Para efectuar las separaciones por cromatografía de exclusión, se utilizó un cromatógrafo modular marca Waters® que consiste de: un muestreador automático modelo 717, una bomba isocrática modelo 510, un horno para columnas modelo 010731 y un detector de índice de refracción modelo 410. El control del equipo se realizó con el software Millenium® 3.1 de Waters®.

La colección de fracciones se llevó a cabo mediante un colector de fracciones automático Waters® modelo II.

D) Otros

Para llevar a cabo la extracción de tensoactivos del Látex I, se utilizaron: una ultracentrífuga Beckman® L-80, un sonicador digital Branson® 450 (con sonda de titanio de 0.5 plg.) y un rotavapor Buchi® R-114.

4.3. Método

4.3.1. Separación de las muestras de tensoactivos comerciales por CLAR

La separación de muestras de tensoactivos comerciales se efectuó por CLAR. Para el análisis de las soluciones que contenían a la muestra M4 (alcohol láurico etoxilado) se empleó el detector ELSD, mientras que para el resto de las soluciones se usó el detector UV a una longitud de onda de 235 nm.

Durante el desarrollo de los métodos de separación para los componentes de estas muestras, se observó que cambiando las condiciones cromatográficas (naturaleza de la fase estacionaria, naturaleza del eluyente, fuerza de elución y velocidad de flujo), era posible separar a las muestras de tensoactivo de acuerdo a sus cadenas alquílicas o de acuerdo a sus cadenas etoxiladas. Mediante la separación de cadenas alquílicas fue posible separar y aislar a los componentes de

cada una las muestras. Por otro lado, con la separación de cadenas etoxiladas se obtuvo un perfil de la distribución de oligómeros etoxilados del componente principal de cada muestra, así como un estimado de la composición molar porcentual de cada oligómero, con base en la normalización de áreas de los picos cromatográficos correspondientes¹.

4.3.1.1. Separaciones con base en las cadenas alquílicas

A) Muestra M1

Para efectuar las separaciones con base en las cadenas alquílicas, se prepararon soluciones de los tensoactivos comerciales M1, M2, M3 y M4 en agua/metanol 1:1, en concentración 1 mg/g.

En el caso de la muestra M1 (a base de NFE), la separación se efectuó optimizando los siguientes parámetros:

- Columna: ODS Hypersil® 150 mm x 4.6 mm x 5 µm
- Fuerzas de elución (1.0 mL/min): MeOH 70, 80, 85 y 90% (v/v)
- Velocidades de flujo (MeOH 80%): 1.0, 0.7 y 0.5 mL/min

B) Muestra M2

En la separación de cadenas alquílicas de la muestra M2 (a base de NFES), se observó que no hay retención cuando la fase móvil carece de un agente de formación de pares iónicos, por lo que en esta separación, además de modificar las condiciones anteriormente mencionadas, se estudió el efecto de 2 agentes de formación de pares iónicos: acetato de amonio y trietilamina (TEA) neutralizada con ácido perclórico (HClO₄). Una vez seleccionado el agente de formación de pares iónicos a utilizar, se ensayaron diferentes concentraciones del mismo en la fase móvil.

¹ Para las muestras M1 y M3

Así pues, las condiciones que se probaron para la separación de cadenas alquílicas de la muestra M2 fueron las siguientes:

- Columna: ODS Hypersil®
- Fuerzas de elución (acetato de amonio 0.1 M, 1.0 mL/min): MeOH 80, 85 y 90% (v/v)
- Velocidades de flujo (MeOH 80%, acetato de amonio 0.1 M): 1.0, 0.7 y 0.5 mL/min
- Agentes de formación de pares iónicos (MeOH 80%, 1.0 mL/min): acetato de amonio y TEA 0.1 M
- Concentración de agente de formación de pares iónicos (MeOH 80%, 1.0 mL/min): acetato de amonio 0.15, 0.1 y 0.05 M

C) Muestra M3

Debido a que las muestras M2 y M3 son de la misma naturaleza (a base de NFES), una vez establecidas las condiciones óptimas de separación para la muestra M2, la separación de la muestra M3 se llevó a cabo bajo las mismas condiciones (ver sección 5.1).

D) Muestra M4

Una vez que se optimizaron las condiciones de separación de cadenas alquílicas para la muestra M1, la separación de la muestra M4 (a base de ALE) se efectuó bajo las mismas condiciones (ver sección 5.1).

Como se mencionó anteriormente, para el análisis de esta muestra se utilizó el detector ELSD. En el caso de esta separación, el detector se operó con los siguientes parámetros:

- T nebulización: 40°C
- T evaporación: 70°C

- Flujo N₂: 0.5 slm²

4.3.1.2. Determinación de NFE en la muestra M2

Una vez que se llevó a cabo la separación de los componentes de las muestras de tensoactivos comerciales, se encontró que la muestra M2 contiene NFE, por lo que se procedió a su cuantificación por CLAR, usando a la muestra M1 como estándar.

Se preparó una solución stock de M1 en MeOH/agua 1:1, a una concentración de 0.5 mg/g. A partir de esta solución, se hicieron las diluciones correspondientes para preparar 6 soluciones en MeOH/agua 10:90, en un intervalo de concentraciones de 3.3×10^{-3} hasta 0.027 mg/g. Cada solución se inyectó por duplicado.

Por otro lado, se preparó una solución de M2 en MeOH/agua 10:90 a una concentración 0.1 mg/g. La solución se inyectó por triplicado.

Las condiciones cromatográficas que se usaron para esta determinación fueron:

- Columna: ODS Hypersil® (150 mm x 4.6 mm x 5 μm)
- Fase móvil: MeOH-acetato de amonio (0.05 M) 80:20 (v/v)
- Flujo: 1 mL/min

4.3.1.3. Separaciones con base en las cadenas etoxiladas

Para efectuar las separaciones con base en las cadenas etoxiladas, se prepararon soluciones de los tensoactivos comerciales M1, M2, M3 y M4 en agua/metanol 1:1, en concentración 1 mg/g.

² L/min en condiciones estándar (del inglés standard liter per minute) [40]

A) Muestra M1

En la separación de los oligómeros etoxilados, para la muestra M1 (a base de NFE), se ensayaron las siguientes condiciones:

- Columnas: Synergi Fusion® RP 150 mm x 4.6 mm x 5 µm; y ODS Hypersil®
- Fuerza de elución (1 mL/min): acetonitrilo 50 y 60% (v/v)
- Velocidades de flujo: 0.5, 0.3 y 0.1 mL/min

B) Muestra M2

Al igual que la separación de cadenas alquílicas, la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M2 se efectuó con la presencia de un agente de formación de pares iónicos en la fase móvil, en este caso, acetato de amonio 0.1 M. Se evaluaron dos fases estacionarias diferentes. Las condiciones ensayadas fueron las siguientes:

- Columnas: Synergi Fusion® y ODS Hypersil®
- Fuerzas de elución y velocidades de flujo (acetato de amonio 0.1 M):
Columna Synergi Fusion: acetonitrilo 70, 60, 50 y 45% (v/v); 0.5 y 0.3 mL/min
Columna ODS: MeOH 70, 60 y 50% (v/v); 0.3 mL/min

C) Muestra M3

De la misma manera que la separación de cadenas alquílicas, la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M3 se efectuó bajo las mismas condiciones cromatográficas que la muestra M2, una vez que se optimizaron dichas condiciones (ver sección 5.1).

D) Muestra M4

Al igual que la separación de cadenas alquílicas, la separación de oligómeros etoxilados de la muestra M4 se efectuó bajo las mismas condiciones que para la muestra M1 (ver sección 5.1).

En este caso, el detector ELSD se operó con los siguientes parámetros:

- T nebulización: 80°C
- T evaporación: 90°C
- Flujo N₂: 0.5 slm

4.3.2. Identificación de los componentes de los tensoactivos comerciales por CL-EM

4.3.2.1. Identificación de las cadenas alquílicas

En este punto es importante señalar que la separación e identificación de cadenas alquílicas de las muestras de tensoactivos comerciales por CL-EM, pretendía hacerse en línea, sin embargo, esto no fue posible debido a que el espectrómetro de masas del que se disponía en esta etapa experimental (LTQ-Orbitrap) no contaba con el acoplamiento a un sistema cromatográfico. Por esta razón, la separación e identificación de las cadenas alquílicas de las muestras de tensoactivos comerciales se realizó fuera de línea.

A partir de las muestras de tensoactivos comerciales, se prepararon soluciones de concentración 2 mg/g en agua/metanol 1:1, y se realizaron las separaciones cromatográficas correspondientes en el equipo de CLAR, colectando cada una de las fracciones separadas.

La separación de las muestras M1 y M4 se efectuó bajo las condiciones señaladas en la sección 5.1.1. Con el fin de facilitar la colección de fracciones, las

muestras M2 y M3 se separaron a bajo las condiciones indicadas en la misma sección a un flujo de 0.7 mL/min (ver cromatogramas en el apéndice A).

Las fracciones colectadas a partir de la separación de las muestras, se introdujeron por inyección directa en el espectrómetro LTQ-Orbitrap, usando MSI. Los parámetros de la fuente de ionización utilizados fueron:

- Velocidad de flujo: 2 μ L/min
- Voltaje de spray: 1.95 kV
- Voltaje de capilar: 49.07 V
- Temperatura de capilar: 199.92 °C
- Voltaje de aceleración: 160.05 V

Las fracciones correspondientes a NFES se detectaron en modo de ionización negativa y positiva. El resto de las fracciones se detectó solamente en modo de ionización positiva. El intervalo de masas barrido fue de $m/z=100$ a 2000. Los espectros se adquirieron en alta y baja resolución.

Cabe mencionar que en el caso de las fracciones correspondientes a NFES, fue necesario optimizar la ionización negativa, ya que al inyectar las fracciones, la señal generada por los iones negativos era muy pobre. Con este fin, las fracciones de las muestras M2 y M3 colectadas se evaporaron y se redisolviéron en una solución de acetonitrilo/agua 1:1 con ácido acético 1 mM, ya que de acuerdo con las investigaciones efectuadas por Wu, et al., éste sistema favorece la ionización negativa en ciertos casos [41].

4.3.2.2. Identificación de las cadenas etoxiladas

Debido a la dificultad que implicaría la separación e identificación de cadenas etoxiladas por CL-EM fuera de línea con los equipos de CLAR y LTQ-Orbitrap, se pidió al Laboratorio de Cromatografía del Instituto de Química el uso del equipo CL-EM

modular descrito en la sección 4.2, con el cual se llevaron a cabo los experimentos para la identificación de cadenas etoxiladas.

La identificación de cadenas etoxiladas sólo se llevó a cabo para las muestras de tensoactivos no iónicos (M1 y M4); ya que en el caso de los tensoactivos iónicos (M2 y M3), las condiciones cromatográficas utilizadas para la separación de oligómeros no son compatibles con el uso de las fuentes de ionización de CL-EM³.

Para efectuar la identificación de cadenas etoxiladas de las muestras M1 y M4, se prepararon soluciones de concentración 0.01 mg/g en agua/metanol 1:1, y se inyectaron vía cromatográfica en el acoplamiento CL-EM modular bajo las condiciones indicadas en la sección 4.3.1.3.

La ionización de las muestras se efectuó por ESI, bajo los siguientes parámetros:

- Polaridad: positiva
- Presión de nebulización: 40 psi
- Flujo de N₂ para secado: 9 L/min
- Temperatura de N₂: 365 °C
- Voltaje de capilar: 151.8 V
- Voltaje de aceleración: 40 V

La detección se llevó a cabo en un intervalo de m/z de 200 a 2000.

³ La concentración de acetato de amonio requerida para la separación de oligómeros etoxilados de las muestras M2 y M3 es 0.1M, lo que equivale aproximadamente a un 0.4%. La fuente de ionización ESI tolera un contenido de acetato de amonio del 0.2% como máximo.

4.3.3. Separación de los tensoactivos comerciales en mezclas por CLAR

A partir de las muestras de tensoactivos comerciales descritas en la sección 4.1, se formularon 2 mezclas, denominadas SI y SII. SI es la mezcla de M1 y M2 (NFE y NFES), mientras que SII contiene a M3 y M4 (NFES y ALE).

Se prepararon soluciones de SI y SII de distintas concentraciones, y se separaron por CLAR bajo las mismas condiciones cromatográficas que las que se usaron para la determinación de NFE en la muestra M2.

Con base en los cromatogramas obtenidos, se construyeron las curvas de calibración correspondientes, con las que se verificó la linealidad del método y se calcularon los límites de detección y cuantificación. Por otro lado, algunos puntos de las curvas se inyectaron por triplicado en un solo día y en tres días distintos, con el fin de obtener información sobre la repetibilidad inter e intradía.

4.3.3.1. Separación de la mezcla SI

Se preparó una solución stock de M1 y M2 en MeOH/agua 1:1, en concentraciones de 0.6 y 1.0 mg/g, respectivamente. A partir de dicha solución stock, se hicieron diluciones para preparar una curva de calibración de 6 puntos, en un intervalo de concentraciones de 6.6×10^{-3} a 0.07 mg/g para M1, y de 0.01 a 0.15 mg/g para M2. Con los puntos 1,3 y 5 de la curva se trabajó la repetibilidad.

4.3.3.2. Separación de la mezcla SII

Se preparó una solución acuosa de M3 y M4, en la cual ambos tensoactivos tenían una concentración aproximada de 4 mg/g. A partir de esta solución stock, se hicieron diluciones para preparar una curva de calibración de 6 puntos, de 0.02 a 1.0 mg/g. Los puntos 3 y 6 se eligieron para trabajar repetibilidad.

La separación de la mezcla SII se realizó bajo las mismas condiciones cromatográficas que para el sistema SI. Cabe mencionar que en este caso, se utilizó el detector ELSD bajo los siguientes parámetros:

- T nebulización: 40°C
- T evaporación: 70°C
- Flujo N₂: 0.5 slm

4.3.4. Determinación de tensoactivos en muestras de látex por CL-EM

4.3.4.1. Separación de tensoactivos en las muestras de látex

Antes de efectuar la determinación de tensoactivos en las muestras de látex, se evaluaron varios métodos para separar a los tensoactivos de la matriz.

Lo primero que se intentó fue extraer a los tensoactivos con disolventes. Con este fin, se llevó a cabo un estudio sobre la extracción de los tensoactivos M1 y M2 en el látex LI, usando como extractantes agua, acetonitrilo y metanol, así como también soluciones de acetonitrilo/agua y MeOH/agua en proporciones 20:80, 50:50 y 70:30.

Los extractos se prepararon diluyendo 3 g de látex con 3 g de disolvente, centrifugando a 20 000 rpm durante 1 h. El sobrenadante se recuperó, y el polímero precipitado se lavó 2 veces más con 3 g de disolvente en cada lavado. Los lavados se juntaron con el sobrenadante inicial, se pesaron y se centrifugaron una vez más a 20000 rpm durante 1 h. Los extractos se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos bajo las condiciones de separación mencionadas en la sección 4.3.1.2. Por otro lado, se preparó una solución de los tensoactivos M1 y M2 en las concentraciones correspondientes al contenido teórico de los tensoactivos en los extractos. Esta solución se inyectó bajo las mismas condiciones cromatográficas que los extractos. Tomando como referencia el área de los picos de cada tensoactivo en los cromatogramas, se calculó el porcentaje de recobro en cada uno de los extractos.

Después de analizar los resultados obtenidos, se decidió descartar este método de extracción, ya que aún con el mejor extractante (70% acetonitrilo), los recobros de los tensoactivos fueron inferiores al 70% (49.10% para M1 y 66.34% para M2).

Por esta razón, se decidió efectuar pruebas preliminares para separar a los tensoactivos de los látex por SEC. Éstas pruebas preliminares consistieron en inyectar soluciones de los tensoactivos individuales y de las muestras de látex en el sistema de columnas SEC, con el fin de verificar si los tensoactivos se separaban del polímero y si los tensoactivos presentes en cada muestra se separaban entre sí.

Cabe mencionar que, debido a que el látex LI no es completamente soluble en THF, fue sometido a un proceso de extracción. La extracción se realizó colocando aproximadamente 2 g de película seca⁴ en un soxhlet, calentando con una mezcla de acetonitrilo/agua 70:30 durante 4 horas. Parte del extracto obtenido se evaporó a sequedad en un rotavapor y se redisolvió en THF para ser inyectado en el cromatógrafo. La solución de látex LII se preparó disolviendo la película seca en THF.

Las separaciones se efectuaron bajo las siguientes condiciones cromatográficas:

- Columnas: KF-801 (3 columnas) y KF-802 (1 columna) marca Shodex®⁵
- Volumen de inyección: 50 µL
- Flujo: 1 mL/min
- Temperatura de horno: 38°C
- Temperatura de detector: 35°C

⁴ Los látex se secaron distribuyendo cierta cantidad de muestra en el fondo de una caja petri, dejando secar a temperatura ambiente hasta observar la formación de una película. Una vez formada la película, ésta se cortó en pedazos finos. Con esta resina se prepararon las soluciones que posteriormente se inyectaron en el cromatógrafo.

⁵ Límites de exclusión para estándares de poliestireno: 1500 Da (KF-801) y 5000 Da (KF-802).

Los cromatogramas obtenidos se presentan en el apéndice D. En éstos se observa que los tensoactivos presentan aproximadamente el mismo tiempo de retención (cromatogramas D1 a D4), por lo que en la separación de las muestras de látex, los tensoactivos presentes coeluyen separándose perfectamente del polímero (LII, cromatograma D6) o de los oligómeros solubles (extracto de látex LI, cromatograma D5). Por lo tanto, la cromatografía de exclusión fue la elegida para separar a los tensoactivos de las muestras de látex.

4.3.4.2. Determinación de tensoactivos en el látex LII

Se preparó una solución stock de los tensoactivos M3 y M4 en THF, en concentraciones 1.39 y 2.44 mg/mL, respectivamente⁶.

Por otro lado, se pesaron aproximadamente 90 mg de resina (látex seco) en 6 matraces aforados de 10 mL. En 5 de éstos matraces se adicionaron 1, 2, 3, 4 y 5 mL de la solución stock de tensoactivos. Los 6 matraces se aforaron con THF a un volumen de 10 mL. Las concentraciones de los tensoactivos M3 y M4 adicionados, calculadas para cada solución se presentan en la tabla 4.2.

Tabla 4.2. Concentraciones de los tensoactivos M3 y M4 adicionados en las soluciones de resina de LII

Solución	Peso de resina (mg)	Volumen Sol. Stock (mL)	Conc. M3 (mg/mL)	Conc. M4 (mg/mL)
1	93.46	0	0.000	0.000
2	87.63	1	0.139	0.244
3	90.52	2	0.278	0.487
4	89.07	3	0.417	0.731
5	91.07	4	0.556	0.974
6	91.99	5	0.695	1.218

⁶ La concentración de los tensoactivos en las soluciones stock se definió con base en el contenido teórico de los tensoactivos en la resina.

Las soluciones de resina se inyectaron en el sistema cromatográfico SEC, bajo las condiciones mencionadas en la sección 4.3.4.1. En cada inyección, se colectó de manera automática la fracción que contenía a los tensoactivos.

Las fracciones colectadas se evaporaron a sequedad bajo una corriente de N₂ y se redisolviéron en 3 mL de solución acetonitrilo/agua 1:1 con ácido acético 10 mM. Con base en las concentraciones de los tensoactivos M3 y M4 adicionados en las soluciones de resina (tabla 4.2), y tomando en cuenta el volumen de inyección (50 µL), se calcularon las concentraciones de los tensoactivos en las fracciones colectadas que se presentan en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Concentraciones teóricas de los tensoactivos M3 y M4 en las fracciones obtenidas de la separación del látex LII

Fracción	Conc. M3 (mg/L)	Conc. M4 (mg/L)
1	0.0	0.0
2	2.3	4.0
3	4.6	8.1
4	7.0	12.2
5	9.3	16.2
6	11.6	20.3

Las fracciones redisueltas se inyectaron directamente en el espectrómetro LTQ-Orbitrap, usando ionización por MSI bajo las siguientes condiciones de operación:

- Voltaje de spray: 1.95 kV
- Voltaje de capilar: 49 V
- Temperatura de capilar: 200°C
- Voltaje de aceleración: 150 V
- Flujo: 4 µL/min

La detección de iones se llevó a cabo en modo de ionización positiva, en la modalidad de SIM. La información sobre los iones monitoreados así como los resultados obtenidos se discutirá posteriormente, en la sección 5.4.1.

4.3.4.3. Determinación de tensoactivos en el látex LI

Antes de separar a los tensoactivos del látex LI por SEC y de realizar la determinación de los mismos por CL-EM, fue necesario extraer a los tensoactivos de la muestra (como se mencionó anteriormente, el látex LI no es soluble en THF).

En 8 vasos de precipitados de 50 mL, se pesaron aproximadamente 130 mg de resina y se adicionaron 20 mL de una mezcla de acetonitrilo/agua 70:30. En cada vaso, se sumergió la punta del sonicador mencionado en la sección 4.2, a una distancia de 2.5 cm del fondo del vaso. El sonicador se operó a una potencia de 225 W, dando 5 pulsos de irradiación de 1 min., con pausas de 30 s entre cada pulso. Después de cada extracción, la punta del sonicador se enjuagó con la solución extractante recuperando el lavado en el vaso que contenía al extracto.

Cada extracto se trasvasó con una pipeta Pasteur, a un matraz bola de 100 mL, enjuagando el vaso con extractante al final del trasvase y recuperando el lavado. Los extractos se evaporaron en rotavapor hasta sequedad.

Por otro lado, se preparó una solución stock de los tensoactivos M1 y M2 en THF, en concentraciones 0.33 y 4.80 mg/mL, respectivamente⁷. A 5 de los extractos preparados se adicionaron 1, 2, 3, 4 y 5 mL de la solución stock de tensoactivos.

Finalmente, los 8 extractos se redisolviéron en THF y se trasvasaron a matraces aforados de 10 mL. Las concentraciones de los tensoactivos M1 y M2 adicionados, calculados para cada extracto se presentan en la tabla 4.4.

⁷ La concentración de los tensoactivos en las soluciones stock se definió con base en el contenido teórico de los tensoactivos en la resina.

Tabla 4.4. Concentraciones de los tensoactivos M1 y M2 en las soluciones de resina de LI

Extracto	Volumen Sol. Stock (mL)	Conc. M1 (mg/mL)	Conc. M2 (mg/mL)
1	0	0.000	0.000
2	0	0.000	0.000
3	0	0.000	0.000
4	1	0.033	0.480
5	2	0.066	0.960
6	3	0.099	1.439
7	4	0.133	1.919
8	5	0.166	2.399

Los extractos se separaron por SEC bajo las condiciones mencionadas en la sección 4.3.4.1. En cada inyección, se colectó de manera automática la fracción que contenía a los tensoactivos (es decir, la fracción correspondiente al tiempo de retención de 24 a 30 min).

Una vez colectadas las fracciones correspondientes a cada extracto, éstas se evaporaron a sequedad bajo una corriente de N₂ y se redisolviéron en 4 mL de solución acetonitrilo/agua 1:1 con ácido acético 10 mM.

Las fracciones redisueltas se inyectaron directamente en el espectrómetro de masas LTQ-Orbitrap, usando MSI bajo las condiciones de operación mencionadas anteriormente. La detección de iones se llevó a cabo en modo de ionización positiva, en la modalidad de SIM. La información sobre los iones monitoreados así como los resultados obtenidos se discutirá en la sección 5.4.2.

5. Resultados y Discusión

5.1. Separación de las muestras de tensoactivos comerciales por CLAR

Los cromatogramas obtenidos en la separación de las muestras de tensoactivos comerciales, se presentan en el apéndice A.

5.1.1. Separaciones con base en las cadenas alquílicas

A) Muestra M1

Las condiciones óptimas para la separación de cadenas alquílicas de la muestra M1 fueron:

- Columna: ODS Hypersil ®
- Fase móvil: MeOH-agua 80:20 (v/v)
- Flujo: 1.0 mL/min.

En el cromatograma obtenido bajo estas condiciones (A1), se observa un solo componente ($t_r = 10.490$ min), por lo que se asume que el nonil fenol etoxilado se encuentra puro.

Cabe mencionar que cuando la separación se efectúa a fuerzas de elución mayores (85 y 90%), el pico del componente se ve mas angosto, sin embargo, aparece muy cerca del frente de elución.

B) Muestra M2

Para la muestra M2, las condiciones óptimas en la separación de cadenas alquílicas fueron las siguientes:

- Columna: ODS Hypersil ®
- Fase móvil: MeOH-acetato de amonio (0.1 M) 80:20 (v/v)
- Flujo: 1.0 mL/min.

En el cromatograma obtenido (A2) se aprecian 2 componentes ($t_r = 7.017$ y 10.623 min, respectivamente). Por la proporción de los picos y los tiempos de retención, se presume que el primer componente corresponde al NFES, y que el segundo es NFE.

En la separación de cadenas alquílicas para esta muestra se observó que sólo con una fuerza de elución de MeOH 80% los componentes se resuelven satisfactoriamente.

El estudio sobre la naturaleza del agente de formación de pares iónicos mostró una resolución ligeramente mayor en las separaciones efectuadas en presencia de TEA, comparadas con aquellas en las que se utilizó acetato de amonio, sin embargo, el efecto no fue muy significativo, por lo que se decidió usar éste último por ser de fácil manejo y porque con éste se observa mayor estabilidad de la línea base.

En el estudio del efecto de la concentración del acetato de amonio se observó que, cuando éste se encuentra en mayor concentración, los anchos de pico y los tiempos de retención disminuyen, sin embargo, la resolución no mejora significativamente (por ejemplo, a una concentración de acetato de amonio 0.05 M se tuvo una resolución de 1.97; en tanto que a una concentración de 0.15 M, la resolución fue de 2.14). Para disminuir la absorbancia de fondo y mejorar la línea base, se optó por utilizar la sal a una concentración intermedia de 0.1 M.

Finalmente, con respecto a la velocidad de flujo, los mejores resultados en cuanto al ancho de pico y sensibilidad de detección se obtuvieron a 1 mL/min.

C) Muestra M3

Como se había mencionado en la sección 4.3, la separación de cadenas alquílicas de la muestra M3 se realizó bajo las mismas condiciones que para la muestra M2.

En el cromatograma obtenido (A3) se observa un pico que corresponde al componente mayoritario (NFES, $t_r = 8.73$) con dos hombros ($t_r = 11.28$ y 13.59 min), los cuales probablemente corresponden a impurezas del tensoactivo.

D) Muestra M4

Como se había mencionado con anterioridad, las condiciones de separación de las cadenas alquílicas para la muestra M4 fueron las mismas que se emplearon para la separación de la muestra M1.

En el cromatograma obtenido bajo dichas condiciones (A4), se aprecian 2 componentes ($t_r = 15.772$ y 32.943 min.), de los cuales el primero parece ser el mayoritario (ALE). El segundo pico corresponde a una impureza del tensoactivo cuya identidad se discutirá en la sección 5.2.1.

5.1.2. Determinación de NFE en la muestra M2

En la tabla 5.1 se muestran los datos de la curva de calibración obtenida a partir de las inyecciones de la muestra M1 (NFE).

La curva de calibración que se obtuvo graficando las concentraciones de M1 vs. las áreas promedio correspondientes, se presenta en la figura 5.1. La curva obtenida no pasa por el origen, probablemente debido a que los picos son muy anchos y por lo tanto, su integración tiene cierto margen de error.

Los parámetros de la regresión lineal y sus respectivas incertidumbres se presentan en la tabla 5.2. Los límites de detección y cuantificación calculados con

base en la curva se muestran en la tabla 5.3. Finalmente, los resultados obtenidos de las inyecciones de la solución de muestra M2, concentración 0.1 mg/g. se presentan en la tabla 5.4.

A partir de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la concentración de NFE presente en la muestra, obteniéndose un valor de 0.012 mg/g, por lo que este compuesto constituye aproximadamente el 12% en peso de la muestra M2.

Tabla 5.1. Datos de la curva de calibración de M1 (NFE)¹

Conc. (mg/g)	A1	A2	Ā
0.003	137842	139391	138616
0.006	234457	236150	235303
0.008	286145	284739	285442
0.016	536625	536980	536802
0.022	660159	665925	663042
0.027	831213	833171	832192

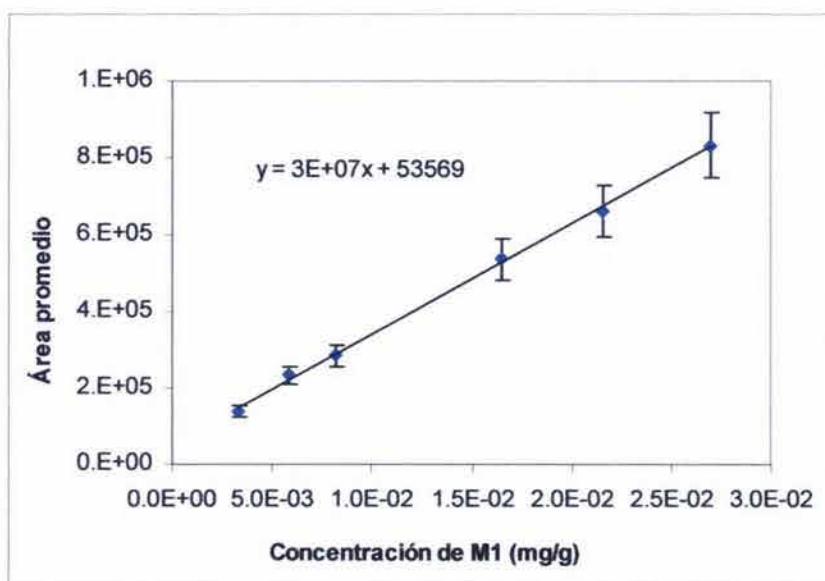


Fig. 5.1. Curva de calibración para la determinación de NFE en M2

¹ Para cada concentración de M1, se presentan las áreas de los picos obtenidos en cada inyección (A1 y A2) y el área promedio (Ā).

Tabla 5.2. Parámetros de la regresión lineal para la curva de calibración de M1

Parámetro de regresión	Valor calculado	Incertidumbre ²
Pendiente (a)	2.87×10^7	$\pm 1.55 \times 10^6$
Ordenada al origen (b)	5.36×10^4	$\pm 2.51 \times 10^4$
Coefficiente de regresión (R)	0.9992	

Tabla 5.3. Límites de detección (LD)³ y cuantificación (LQ)⁴ calculados con base en la curva de calibración de M1

Límite	Valor calculado (mg/g)
LD	0.0012
LQ	0.0041

Tabla 5.4. Resultados de las inyecciones de la solución 0.1 mg/g de M2

Inyección	A	Concentración NFE calculada (mg/g)	Concentración NFE promedio (mg/g)	s	%CV
1	411114	0.0124	0.0124	4.99×10^{-5}	0.40
2	409123	0.0124			
3	411905	0.0125			

5.1.3. Separaciones con base en las cadenas etoxiladas

A) Muestra M1

Las condiciones óptimas para la separación de oligómeros etoxilados del NFE presente en la muestra M1, fueron las siguientes:

- Columna: Synergi Fusion ®
- Fase móvil: acetonitrilo-agua 60:40 (v/v)

² Calculada a partir de los valores t de Student para un intervalo de confianza del 95%

³ Calculado como el valor correspondiente de x para $y = 3s_{xy} + b$ [42]

⁴ Calculado como el valor correspondiente de x para $y = 10s_{xy} + b$ [42]

- Flujo: 0.3 mL/min

Cabe mencionar que a un flujo de 0.1 mL/min se obtiene la mejor resolución, sin embargo, los tiempos de análisis son muy largos, por lo que se eligió un flujo de 0.3 mL/min como una condición de compromiso entre resolución y tiempo de análisis. En el cromatograma obtenido (A5) se observa una distribución relativamente estrecha, de 13 oligómeros. Asumiendo que el coeficiente de extinción molar es aproximadamente igual para todos los oligómeros [6, 19], se calculó su composición molar porcentual con base en la normalización de áreas. Los resultados se presentan en la tabla 5.5.

Tabla 5.5. Composición molar porcentual⁵ de los oligómeros de NFE de la muestra M1

Oligómero	tr (min)	% mol	s	% CV
A-C	31.116	11.1570	0.4467	4.00
D	32.218	6.8884	0.0935	1.36
E	33.412	9.0206	0.1176	1.30
F	34.746	10.9585	0.1489	1.36
G	36.21	12.3965	0.1507	1.22
H	37.826	12.8159	0.0855	0.67
I	39.605	12.1046	0.0284	0.23
J	41.529	10.1185	0.0894	0.88
K	43.441	7.8805	0.1681	2.13
L, M	45.496	6.6593	0.2746	4.12

B) Muestra M2

Las mejores condiciones para la separación de oligómeros etoxilados del NFES presente en la muestra M2, fueron las siguientes:

⁵ Porcentajes molares promedio (% mol), desviación estándar muestral(s) y coeficiente de variación (%CV) para n=3 inyecciones.

- Columna: ODS Hypersil ®
- Fase móvil: MeOH-acetato de amonio (0.1 M) 60:40 (v/v)
- Flujo: 0.3 mL/min

En el cromatograma obtenido (A6) se observan aproximadamente 20 picos, en tiempos de retención entre 18 y 90 min. Por la proporción de dichos picos y su amplia distribución, se plantea la posibilidad de que exista más de una distribución de oligómeros etoxilados en el cromatograma.

C) Muestra M3

Como se había mencionado anteriormente, la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M3 se efectuó bajo las mismas condiciones que para la muestra M2.

En el cromatograma obtenido (A7) se observa una distribución relativamente estrecha de 6 oligómeros del componente mayoritario. La composición molar porcentual obtenida con base en la normalización de áreas se presenta en la tabla 5.6.

D) Muestra M4

Como se mencionó en la sección 4.3, la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M4 se efectuó bajo las mismas condiciones que para la muestra M1.

En el cromatograma obtenido (A8) se observan más de 20 picos, en tiempos de retención entre 20 y 90 min. Por la proporción de dichos picos y su amplia distribución, es posible que exista más de una distribución de oligómeros etoxilados en el cromatograma.

Tabla 5.6. Composición molar porcentual⁶ de los oligómeros de NFES de la muestra M3

Oligómero	tr (min)	% mol	s	% CV
A, B	35.24	27.1048	0.1828	0.67
C	37.84	30.7209	0.7227	2.35
D	39.852	24.8354	0.1627	0.65
E	42.896	11.8912	0.5955	5.01
F	44.75	5.4478	0.3705	6.80

5.2. Identificación de los componentes de los tensoactivos comerciales por CL-EM

La identificación de los componentes de los tensoactivos comerciales se llevó a cabo mediante la interpretación de los espectros de masas correspondientes, los cuales se discuten a continuación y se presentan en el apéndice C.

5.2.1. Identificación de las cadenas alquílicas

A) Muestra M1

El espectro de masas de la única fracción correspondiente a la muestra M1 (espectro C1) confirma que el componente de esta muestra es NFE, ya que en dicho espectro se observan los aductos de tipo $[M + NH_4]^+$, correspondientes a los oligómeros etoxilados de NFE desde $n=9$ (m/z 634.4506) hasta $n=21$ (m/z 1162.7653). También se observa que los iones más abundantes son los que corresponden a los oligómeros $n=12$ (m/z 766.5296), $n=13$ (m/z 810.5557) y $n=14$ (m/z 854.5819).

Cabe mencionar que además de la serie de aductos anteriormente mencionada, se observa una serie de menor proporción entre m/z 611 y 1051. Por sus

⁶ Porcentajes molares promedio (% mol), desviación estándar muestral (s) y coeficiente de variación (%CV) para $n=3$ inyecciones.

valores de masa nominal, podría pensarse que se trata de la serie de aductos $[M + Na]^+$ del heptilfenol etoxilado (HFE), sin embargo, los datos de alta resolución permiten descartar esta posibilidad, debido a que la exactitud de masa calculada para dicha estructura es mas baja que lo esperado. Por ejemplo, la masa calculada para el aducto $[M + Na]^+$ del oligómero $n=13$ del HFE es 787.4820, y la masa observada es 787.4588, lo que da una exactitud de masa de 29 ppm. Por otro lado, la masa calculada para el aducto $[M + NH_4]^+$ del oligómero $n= 13$ del NFE es 810.5579, y la masa observada es 810.5557, lo que da una exactitud de masa de 3 ppm. En los equipos de alta resolución la exactitud de masa máxima es de 5 ppm, por lo tanto, la estructura que da una exactitud de masa de 3 ppm se considera aceptable, mientras que la estructura que da una exactitud de masa de 29 se descarta.

B) Muestra M2

Cuando se llevó a cabo la separación de la muestra M2 a 0.7 mL/min, se aislaron 3 fracciones ($t_r = 3.614, 9.277$ y 14.677 min.), aunque en la separación efectuada a 1 mL/min sólo se observaron 2 picos (ver cromatogramas A9 y A2). La interpretación de los espectros de masas correspondientes se resume en la tabla 5.7. Cabe señalar que en el caso de la fracción 1, el espectro que se tomó como referencia (C2), es el que se obtuvo cuando la fracción se encontraba en su disolvente original (MeOH/agua 80:20 con acetato de amonio 0.1M), ya que éste espectro presenta mejor proporción señal a ruido que el espectro obtenido después de evaporar y redissolver la fracción en la solución de acetonitrilo/agua 1:1 con ácido acético 1 mM.

La interpretación del espectro de la fracción 2 de M2 obtenido en modo de ionización negativa (espectro C3), corrobora que el componente principal de esta muestra es NFES, cuya distribución de oligómeros va de $n=5$ a 19. En dicho espectro, el ión correspondiente al oligómero $n=9$ (m/z 695.3658) es el más abundante. En el espectro obtenido en modo de ionización positiva (C4) se observa una distribución de iones cuyo valor de m/z corresponde a los aductos $[M + NH_4]^+$ del NFE. En este caso, el ión más abundante es el del oligómero $n=11$ (m/z 722.5076).

También se deduce que la muestra contiene como subproductos NFE (fracción 3) y un compuesto etoxilado no identificado (fracción 1). Se deduce que la fracción 1 es un compuesto etoxilado, debido a que su espectro presenta la distribución clásica para este tipo de compuestos. Aunque su valor de masa nominal coincide con la de los aductos $[M + Na]^+$ del heptilfenol etoxilado (HFE), los datos de alta resolución permiten descartar esta posibilidad, ya que el valor de exactitud de masa calculado para esta estructura sería aproximadamente, de 30 ppm.

C) Muestra M3

Cuando se llevó a cabo la separación de la muestra M3 a 0.7 mL/min, se aislaron 3 fracciones ($t_r = 5.026, 12.882$ y 20.214 min.). En el cromatograma (A10) se observa que después del pico mayoritario, sólo aparece un pico, no dos como en el cromatograma obtenido en la separación efectuada a 1 mL/min (A3). Esto indica que probablemente, el componente que aparecía en 11.28 min ($F=1$ mL/min), coeluye con el componente principal en la separación realizada a 0.7 mL/min. La interpretación de los espectros de masas correspondientes a las fracciones se resume en la tabla 5.8.

La interpretación del espectro de masas de la fracción 2 obtenida en modo de ionización negativa (espectro C7), confirma que el componente principal de M3 es NFES, cuya distribución de oligómeros va de $n=17$ a 36. En dicho espectro, los iones correspondientes a los oligómeros $n=24$ (m/z 1355.7566) y $n=25$ (m/z 1399.7824) son los más abundantes. En el espectro de masas obtenido en modo de ionización positiva (C8), se observa una distribución de iones doblemente cargados, sin embargo éstos no fueron identificados.

También se deduce que la muestra contiene como subproductos a 2 compuestos etoxilados no identificados (fracciones 1 y 3). Por sus valores de masa nominal, podría pensarse que en el espectro de la fracción 1, los aductos observados corresponden a los aductos $[M + NH_4]^+$ de NFE; sin embargo, los datos de alta resolución permiten descartar esta propuesta, debido a que la exactitud de masa para dicha estructura sería aproximadamente de 30 a 35 ppm.

D) Muestra M4

La interpretación de espectros de masas de las fracciones de la muestra M4 se resume en la tabla 5.9.

El espectro de masas de la fracción 1 de M4 (espectro C10), corrobora que el componente mayoritario de la muestra es ALE, el cual presenta una distribución de oligómeros de $n=11$ a 25. En el espectro, el ión correspondiente al oligómero $n=18$ (m/z 996.7029) es el más abundante. Cabe mencionar que además de la serie principal, se observa otra serie de m/z 665 a 1325. Aunque la masa nominal de estos iones coincide con la masa de la serie de aductos $[M + Na]^+$ del alcohol cáprico etoxilado, los datos de alta resolución permiten descartar esta posibilidad, ya que la exactitud calculada para esta estructura sería aproximadamente, de 32 ppm.

Finalmente, la interpretación del espectro de masas de la fracción 2 (espectro C11) indica que se trata de alcohol mirístico etoxilado (AME). También en este caso, el espectro presenta una serie secundaria de aductos que no fue identificada.

Tabla 5.7. Interpretación de los espectros de masas de las fracciones de la muestra M2 (F= 0.7 mL/min)¹

Fracción	tr (min)	Espectro	Asignación	Aducto formado	Distribución de oligómeros*	Ión más abundante*
1	3.614	C2	No identificado	No identificado	<i>m/z</i> 567 a 1051	<i>m/z</i> 699
2	9.277	C3	NFES	[M] ⁻	n=5 (<i>m/z</i> 519) a n=19 (<i>m/z</i> 1135)	n=9 (<i>m/z</i> 695)
3	14.677	C5	NFE	[M + Na] ⁺	n=4 (<i>m/z</i> 419) a n=18 (<i>m/z</i> 1079)	n=10 (<i>m/z</i> 683)

Tabla 5.8. Interpretación de los espectros de masas de las fracciones de la muestra M3 (F= 0.7 mL/min)

Fracción	tr (min)	Espectro	Asignación	Aducto formado	Distribución de oligómeros*	Ión más abundante*
1	5.026	C6	No identificado	No identificado	<i>m/z</i> 567 a 1051	<i>m/z</i> 699
2	12.882	C7	NFES	[M] ⁻	n=17 (<i>m/z</i> 959) a n=36 (<i>m/z</i> 1885)	n=24 (<i>m/z</i> 1355) y n=25 (<i>m/z</i> 1379)
3	20.214	C9	No identificado	No identificado	<i>m/z</i> 432 a 828	<i>m/z</i> 564

Tabla 5.9. Interpretación de los espectros de masas de las fracciones de la muestra M4 (F= 1 mL/min)

Fracción	tr (min)	Espectro	Asignación	Aducto formado	Distribución de oligómeros*	Ión más abundante*
1	15.772	C10	ALE	[M + NH ₄] ⁺	n=11 (<i>m/z</i> 688) a n=25 (<i>m/z</i> 1304)	n=18 (<i>m/z</i> 996)
2	32.942	C11	AME	[M + NH ₄] ⁺	n=12 (<i>m/z</i> 760) a n=23 (<i>m/z</i> 1244)	n=18 (<i>m/z</i> 1024) y n=19 (<i>m/z</i> 1068)

* Valores nominales de *m/z* con base en datos de alta resolución (para consultar datos de alta resolución, ver en el apéndice C los espectros señalados).

5.2.2. Identificación de las cadenas etoxiladas

Como se había mencionado en la sección 4.3.2.2., la identificación de cadenas etoxiladas sólo se llevó a cabo para las muestras de tensoactivos no iónicos (M1 y M4). Los cromatogramas correspondientes se presentan en el apéndice B.

A) Muestra M1

Una vez que se llevó a cabo la separación cromatográfica de la muestra M1 en el sistema CL-EM, se obtuvo el espectro de masas de cada uno de los picos del cromatograma. Dichos espectros corroboran que la muestra es NFE, ya que en éstos se observa un solo pico, correspondiente al aducto $[M + NH_4]^+$ de cada uno de los oligómeros. En este caso, se observa que la distribución de oligómeros va de $n=6$ a 17, y que el oligómero más abundante es el de 12 unidades de óxido de etileno. Tal como se esperaba, los espectros indican que bajo las condiciones cromatográficas utilizadas, la elución de los oligómeros ocurre en orden decreciente de hidrofobicidad. Cabe mencionar que el pico número 13 ($t_r=43.9$ min.) no fue identificado.

En la tabla 5.10 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en el análisis de la muestra por CL-EM; y en la tabla 5.11 se presenta una relación de los picos observados en los cromatogramas obtenidos por CLAR y por CL-EM (Apéndices A y B), así como la identificación de cada uno de éstos picos.

Finalmente, en el apéndice C se muestra como ejemplo, el espectro de masas correspondiente al oligómero 13 del NFE.

Tabla 5.10. Resultados del análisis de M1 por CL-EM

Pico	tr (min)	m/z	n
1	24.1	986	17
2	25.3	942	16
3	26.3	898	15
4	27.5	854	14
5	28.7	810	13
6	30.0	766	12
7	31.5	722	11
8	33.4	678	10
9	35.2	634	9
10	37.1	590	8
11	39.4	546	7
12	41.5	502	6
13	43.9	463	No identificado

Tabla 5.11. Relación e identificación de los picos observados en CLAR y en CL-EM para la muestra M1

CLAR	CL-EM	n
A	1	17
B	2	16
C	3	15
D	4	14
E	5	13
F	6	12
G	7	11
H	8	10
I	9	9
J	10	8
K	11	7
L	12	6
M	13	No identificado

B) Muestra M4

Después de efectuar la separación cromatográfica de la muestra M4 en el equipo CL-EM, se analizaron los espectros de masas correspondientes a cada uno de los picos observados en el cromatograma. El resumen de los resultados obtenidos por CL-EM se muestra en la tabla 5.12.

Mediante el análisis de los espectros de masas, fue posible identificar la presencia de por lo menos 7 distribuciones de oligómeros etoxilados a lo largo del cromatograma. Los espectros de masas de algunos picos cromatográficos presentan más de una señal, lo que significa que bajo las condiciones de separación utilizadas, ciertos compuestos coeluyen.

De las distribuciones de oligómeros observadas, sólo se identificaron 2:

- La distribución IV corresponde a la serie de aductos $[M + \text{NH}_4]^+$ de ALE, cuyos oligómeros van de $n=22$ (pico 13) a $n=9$ (pico 27).
- La distribución VII corresponde a la serie de aductos $[M + \text{NH}_4]^+$ de AME, cuyos oligómeros van de $n=21$ (pico 30) a $n=9$ (pico 42).

Tal como se esperaba, bajo las condiciones cromatográficas utilizadas, la separación ocurre en orden decreciente de hidrofobicidad.

Debido a que el perfil cromatográfico obtenido en CL-EM es muy distinto del que se obtuvo en CLAR, no es posible correlacionar los picos observados en ambos cromatogramas.

En el apéndice C se presentan a manera de ejemplo, los espectros de masas correspondientes a los picos cromatográficos 13, 21 y 32 (espectros C12 a C15).

Tabla 5.11. Resultados del análisis de M4 por CL-EM

Pico	tr (min)	m/z	Distribución	Pico	tr (min)	m/z	Distribución
1	16.0	859	I	14	23.7	1128	IV
2	16.5	837	II	15	24.5	1084	IV
3	16.9	815	I	16	25.5	529	III
4	17.4	793	II			1040	IV
5	17.9	771	I	17	26.5	996	IV
6	18.4	749	II	18	27.5	952	IV
7	18.9	727	I	19	28.7	908	IV
8	19.5	705	II	20	29.9	864	IV
9	20.1	683	I	21	31.1	820	IV
10	20.7	661	III	22	32.7	776	IV
11	21.4	639	I	23	34.3	732	IV
12	22.1	617	III	24	36.0	688	IV
13	22.9	595	I	25	37.9	644	IV
		1172	IV	26	39.0	675	IV
14	23.7	573	III	27	40.2	600	IV

Tabla 5.11(Continuación). Resultados del análisis de M4 por CL-EM

Pico	tr (min)	m/z	Distribución	Pico	tr (min)	m/z	Distribución
28	42.0	631	V	34	53.6	499	V
29	43.5	609	VI			980	VII
30	45.1	587	V	35	56.1	936	VII
		1156	VII	36	58.8	892	VII
31	47.2	565	VI	37	61.7	848	VII
		1112	VII	38	65.0	804	VII
32	49.0	543	V	39	68.5	760	VII
		1068	VII	40	72.3	716	VII
33	51.4	521	VI	41	76.4	672	VII
		1024	VII	42	81.1	628	VII

5.3. Separación de los tensoactivos comerciales en mezclas por CLAR

5.3.1. Separación de la mezcla SI

En el apéndice A se presenta un cromatograma de la separación de la mezcla SI. El primer pico corresponde al tensoactivo M2 ($t_r = 7.673$ min.) y el segundo, al tensoactivo M1 ($t_r = 11.375$ min.).

En la tabla 5.13 se presentan los datos de las curvas de calibración obtenidas después de la separación de la mezcla de tensoactivos SI. Dado que SI es la mezcla de las muestras M1 y M2, los picos de interés son los que corresponden a sus componentes mayoritarios: NFE y NFES. Cabe señalar que en la tabla se presentan las concentraciones de M1 y M2 en cada solución, así como las concentraciones de NFE y NFES calculadas con base en la determinación de NFE en la muestra M1.

Tabla 5.13. Datos de la curva de calibración de SI (NFE + NFES)

Conc. M1 (mg/g)	Conc. NFE (mg/g)	Área	Conc. M2 (mg/g)	Conc. NFES (mg/g)	Área
0.007	0.008	314832	0.013	0.011	157418
0.014	0.017	472091	0.027	0.024	278634
0.033	0.040	1002835	0.064	0.057	662270
0.045	0.055	1335185	0.089	0.078	932918
0.061	0.075	1801908	0.120	0.106	1235487
0.075	0.092	2127314	0.147	0.130	1497055

En las figuras 5.2 y 5.3 se presentan las curvas de calibración para los componentes de la mezcla de tensoactivos SI. La curva correspondiente al NFES no pasa por el origen, probablemente debido a que los picos de este componente son muy anchos y por lo tanto, su integración tiene un amplio margen de error.

En la tabla 5.14, se presentan los parámetros de regresión lineal y sus respectivas incertidumbres; y en la tabla 5.15 se muestran los límites de detección y cuantificación calculados a partir de cada curva.

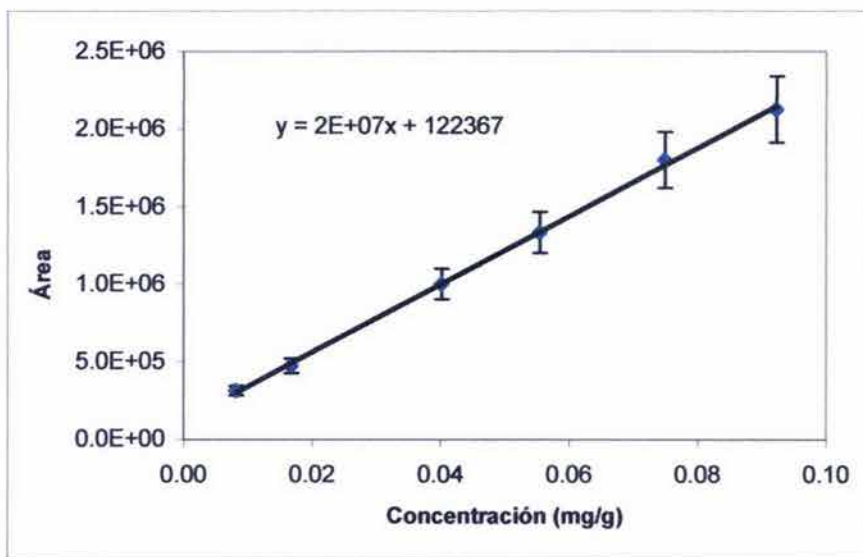


Fig.5.2. Curva de calibración para el NFE en la mezcla SI

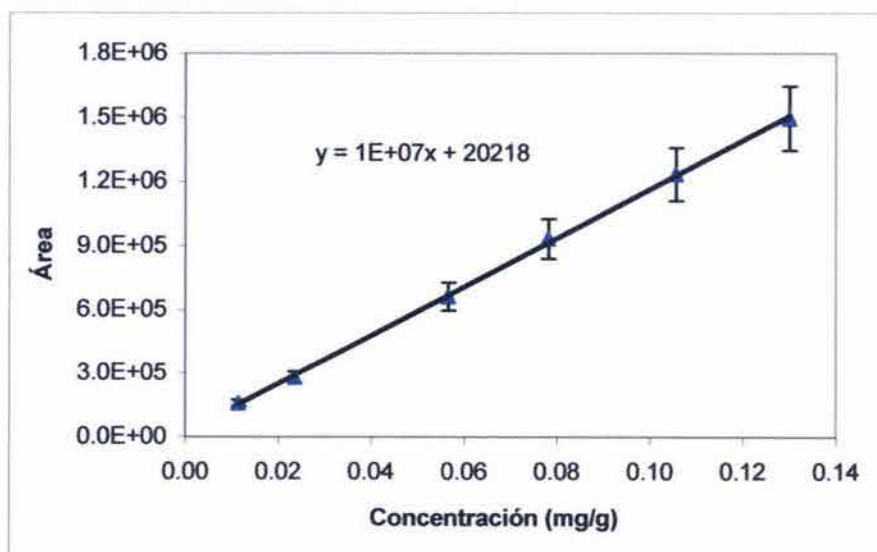


Fig.5.3. Curva de calibración para el NFES en la mezcla SI

Tabla 5.14. Parámetros de regresión lineal para las curvas de calibración de la mezcla de tensoactivos SI

NFE			NFES		
Parámetro de regresión	Valor calculado	Incertidumbre ⁷	Parámetro de regresión	Valor calculado	Incertidumbre ⁷
Pendiente (m)	2.20x10 ⁷	± 8.74x10 ⁵	Pendiente (m)	1.15x10 ⁷	± 3.60x10 ⁵
Ordenada al origen (b)	1.22x10 ⁵	± 4.94x10 ⁴	Ordenada al origen (b)	2.02x10 ⁴	± 2.87x10 ⁴
Coeficiente de regresión (R)	0.9996		Coeficiente de regresión (R)	0.9997	

Tabla 5.15. Límites de detección (LD)⁸ y cuantificación (LQ)⁹ para NFE y NFES en la separación de la mezcla de tensoactivos SI

Componente	LD (mg/g)	LQ (mg/g)
NFE	0.0031	0.0105
NFES	0.0035	0.0117

Finalmente, en las tablas 5.16 y 5.17 se presentan los resultados de las repetibilidades intra e interdía para cada uno de los componentes de la mezcla.

Con base los resultados obtenidos, se concluye que el método de separación de la mezcla SI es lineal y repetible en el intervalo de concentraciones trabajado.

⁷ Calculada a partir de los valores t de Student para un intervalo de confianza del 95%

⁸ Calculado como el valor correspondiente de x para $y = 3s_{x/y} + b$ [42]

⁹ Calculado como el valor correspondiente de x para $y = 10s_{x/y} + b$ [42]

Tabla 5.16. Resultados de las repetibilidades intra e interdía para 3 puntos de la curva de calibración de NFE¹⁰

Conc. NFE (mg/g)	Repetibilidad intradía			Repetibilidad interdía		
	Ā	s	%CV	Ā	s	%CV
0.0082	352492	892	0.25	336032	16483	4.91
0.0402	1046087	29243	2.80	1106485	56713	5.13
0.0749	1730388	89383	5.17	1820389	111878	6.15

Tabla 5.17. Resultados de las repetibilidades intra e interdía para 3 puntos de la curva de calibración de NFES¹⁰

Conc. NFES (mg/g)	Repetibilidad intradía			Repetibilidad interdía		
	Ā	s	%CV	Ā	s	%CV
0.0115	137394	3853	2.80	151397	8385	5.54
0.0566	622277	12424	2.00	643153	10537	1.64
0.1056	1203317	23967	1.99	1219775	22794	1.87

5.3.2. Separación de la mezcla SII

En el apéndice A se presenta un cromatograma de la separación de la mezcla SII. El primer pico corresponde al tensoactivo M3 ($t_r = 7.17$ min.) y el segundo, al tensoactivo M4 ($t_r = 15.61$ min.).

En la tabla 5.18 se muestran los datos de las curvas de calibración obtenidas para la mezcla de tensoactivos SII. La mezcla SII contiene a los tensoactivos comerciales M3 y M4, por lo que en este caso, los picos de interés son los que corresponden a NFES y a ALE. Sin embargo, debido a que no se determinó el contenido neto de NFES y ALE en las muestras M3 y M4, las curvas de calibración y toda la información obtenida con base en éstas, se refieren a las concentraciones de M3 y M4.

¹⁰ Para cada concentración de NFE(S), se presentan el área promedio (\bar{A}), desviación estándar muestral (s) y coeficientes de variación (%CV) para $n = 3$ inyecciones.

Tabla 5.18. Datos de la curva de calibración de SII (M3 y M4)

Conc. M3 (mg/g)	Área	Conc. M4 (mg/g)	Área
0.1193	1226031	0.1123	1054636
0.2925	2137163	0.2997	2458885
0.4867	3545936	0.4987	3872296
0.6799	4827056	0.6966	5203139
0.9642	6581584	0.9880	6880275

En las figuras 5.4 y 5.5 se presentan las curvas de calibración para la mezcla de tensoactivos SII. Se observa que las curvas de la mezcla SII no pasan por el origen. Esto se atribuye nuevamente a errores en la integración.

Los parámetros de la regresión lineal y sus respectivas incertidumbres se presentan en la tabla 5.2.

En la tabla 5.19 se presentan los parámetros de regresión lineal y sus respectivas incertidumbres; y en la tabla 5.20 se muestran los límites de detección y cuantificación calculados a partir de cada curva.

Finalmente, los resultados de repetibilidad intra e interdía para cada componente de la mezcla, se presentan en las tablas 5.21 y 5.22.

Con base en los resultados anteriores se concluye que la separación de la mezcla SII es lineal y repetible en el intervalo de concentraciones trabajado. Los coeficientes de variación y límites de detección son similares a los que reporta Park, H.S. et.al [9] para la separación de una mezcla de tensoactivos usando ELSD.

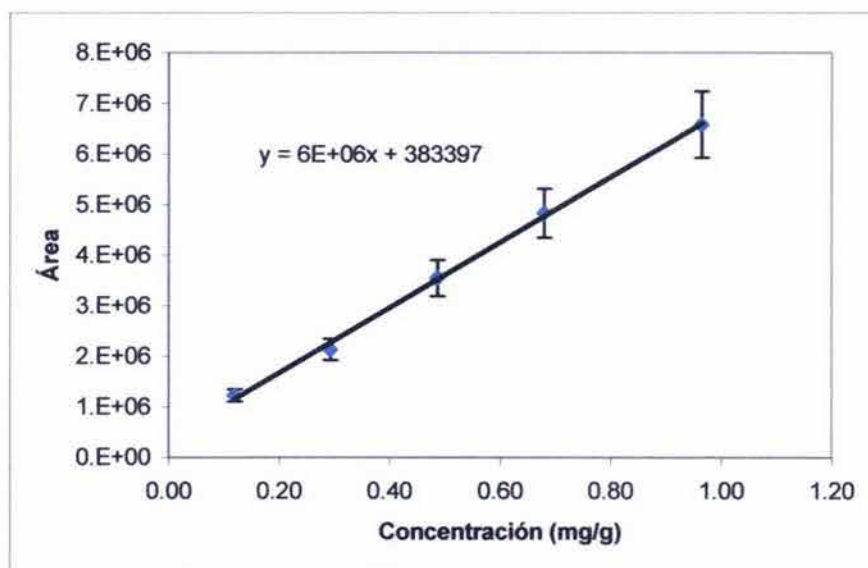


Fig.5.4. Curvas de calibración para M3 en la mezcla SII

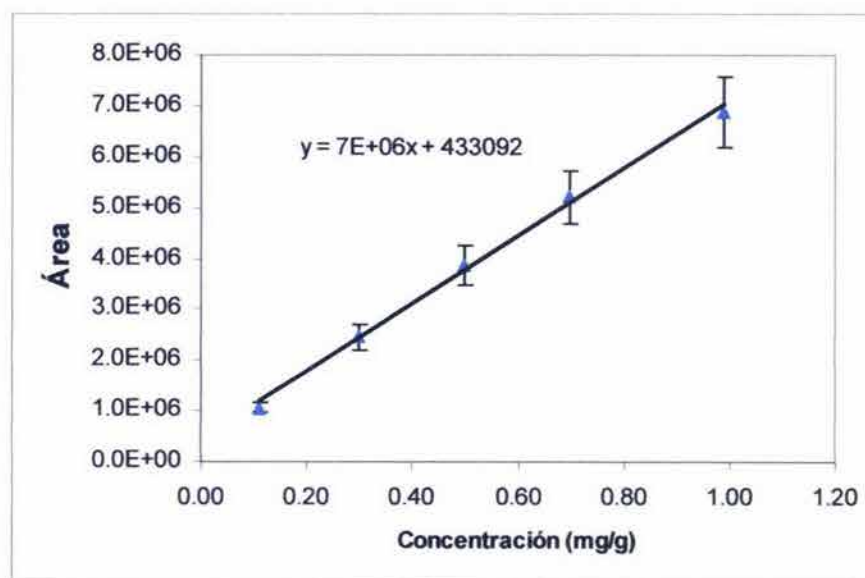


Fig.5.5. Curvas de calibración para M3 en la mezcla SII

Tabla 5.19. Parámetros de regresión lineal para las curvas de calibración de la mezcla de tensoactivos SII

Parámetro de regresión	M3		Parámetro de regresión	M4	
	Valor calculado	Incertidumbre ¹¹		Valor calculado	Incertidumbre ¹¹
Pendiente (m)	6.45x10 ⁶	± 4.61x10 ⁵	Pendiente (m)	6.67x10 ⁶	± 6.88x10 ⁵
Ordenada al origen (b)	3.83x10 ⁵	± 2.71x10 ⁵	Ordenada al origen (b)	4.33x10 ⁵	± 4.14x10 ⁵
Coefficiente de regresión (R)	0.9992		Coefficiente de regresión (R)	0.9984	

Tabla 5.20. Límites de detección (LD) y cuantificación (LQ) para M3 y M4 en la separación de la mezcla de tensoactivos SII¹²

Componente	LD (mg/g)	LQ (mg/g)
M3	0.0445	0.1657
M4	0.0664	0.2213

Tabla 5.21. Resultados de las repetibilidades intra e interdía para 2 puntos de la curva de calibración de M3¹³

Conc. M3 (mg/g)	Repetibilidad intradía			Repetibilidad interdía		
	Ā	s	%CV	Ā	s	%CV
0.3035	1888017	87217	4.62	2053772	87722	4.27
1.0059	6443541	67768	1.05	6532400	44002	0.67

¹¹ Calculada a partir de los valores t de Student para un intervalo de confianza del 95%

¹² Límites de detección y cuantificación calculados como se indica en las notas 8 y 9.

¹³ Para cada concentración de NFE(S), se presentan el área promedio (Ā), desviación estándar muestral (s) y coeficiente de variación (%CV) para n= 3 inyecciones.

Tabla 5.22. Resultados de las repetibilidades intra e interdía para 3 puntos de la curva de calibración de M4¹³

Conc. M4 (mg/g)	Repetibilidad intradía			Repetibilidad interdía		
	Á	s	%CV	Á	s	%CV
0.2937	2742329	122428	4.46	2630385	181724	6.91
0.9735	6543155	142552	2.18	6737132	129147	1.92

5.4. Determinación de tensoactivos en muestras de látex por CL-EM

5.4.1. Determinación de tensoactivos en el látex LII

Como se mencionó en la sección 4.3.4.2, para llevar a cabo la determinación de tensoactivos en las fracciones del látex LII, la detección de iones se efectuó en modalidad de SIM. Debido a que la señal generada por los iones negativos del NFES era muy pobre, se optó por monitorear a los iones positivos m/z 722 del NFES y m/z 1046 del ALE¹⁴. El ión m/z 722 es el catión generado por el NFES en mayor abundancia, sin embargo, su estructura se desconoce (ver sección 5.2.1). Por otro lado, el ión m/z 1046 corresponde al aducto $[M + Na]^+$ del oligómero $n=19$ del ALE.

En la figura 5.6 se presentan a manera de ejemplo, las gráficas de la corriente de iones obtenidos para una inyección. En la parte superior de la figura, se muestra la gráfica de la corriente total de iones (TIC, por sus siglas en inglés) y las otras son las gráficas de corriente generadas por cada uno de los iones monitoreados. Los resultados obtenidos después de integrar las gráficas de los iones monitoreados, se presentan en las tablas 5.23 y 5.24. Las respectivas curvas se presentan en las figuras 5.7 y 5.8. Los parámetros de regresión correspondientes se muestran en la tabla 5.25. Es importante mencionar que, aunque se inyectaron las 6 fracciones obtenidas de las separaciones por SEC, sólo se presentan los resultados para las 4 primeras

¹⁴ Recordemos que el látex LII contiene a los tensoactivos M3 y M4, y que los componentes mayoritarios de estos tensoactivos comerciales son NFES y ALE, respectivamente.

fracciones, ya que las 2 últimas se encuentran fuera del intervalo lineal para este sistema¹⁵.

Con base en la ecuación de cada curva se calcularon los valores de concentración extrapolados de M3 y M4, es decir, las concentraciones de M3 y M4 (x) cuando la respuesta de los iones (y) es igual a cero. Éstos son los valores de concentración de M3 y M4 en la fracción de una solución de resina no dopada.

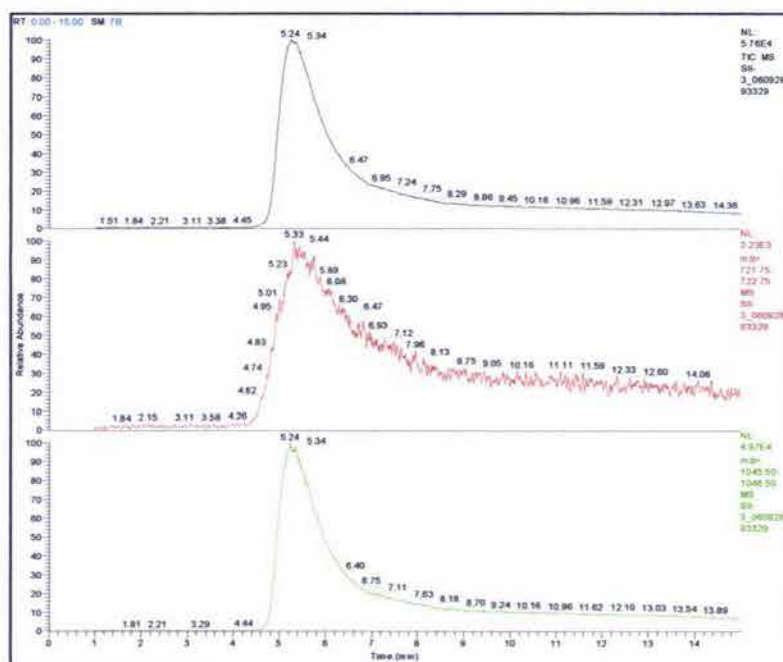


Figura 5.6. Gráfica superior (negra): TIC, gráfica intermedia (roja): m/z 722, gráfica inferior (verde): m/z 1046.

¹⁵ La linealidad del sistema se verificó inyectando 6 soluciones de M1 y M2 preparadas con las concentraciones equivalentes a las concentraciones que en teoría, contienen las 6 fracciones. Este experimento corroboró que el intervalo lineal del sistema se encuentra entre los primeros 4 puntos de la curva: después del cuarto punto la abundancia de los iones monitoreados disminuye con respecto a la esperada en un sistema lineal para esa concentración de tensoactivos.

Tabla 5.23. Resultados de la integración de la gráfica del ión m/z 722

Fracción	Conc. M3 (mg/L)	Inyección 1	Inyección 2	Promedio
1	0.00	49298	40478	44888
2	2.32	81889	78804	80346.5
3	4.64	101224	97405	99314.5
4	6.96	135056	123225	129140.5

Tabla 5.24. Resultados de la integración de la gráfica del ión m/z 1046

Fracción	Conc. M4 (mg/L)	Inyección 1	Inyección 2	Promedio
1	0.00	548853	484291	516572
2	4.06	1333890	1179292	1256591
3	8.12	1659833	1537566	1598700
4	12.18	2306754	2665964	2486359

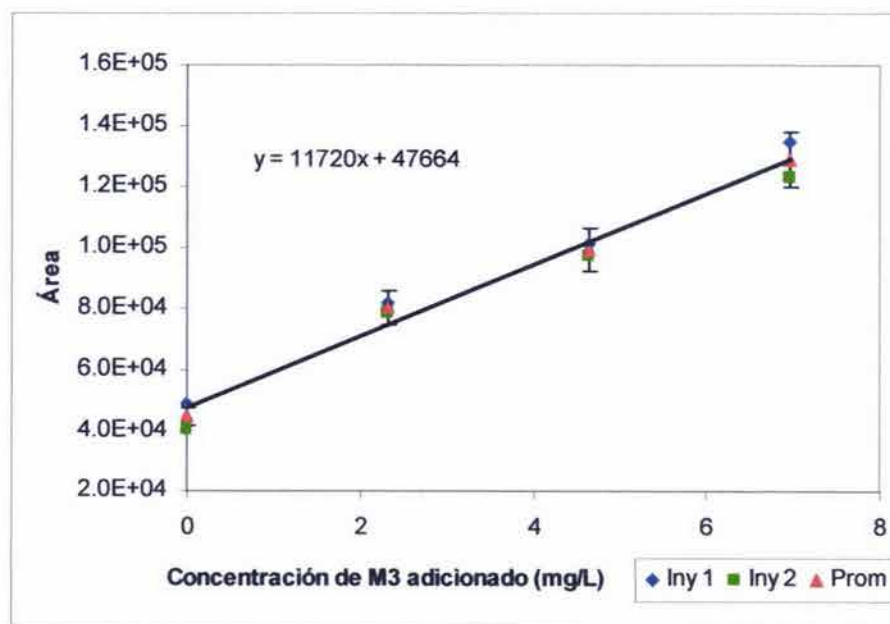


Figura 5.7. Gráfica de regresión para el monitoreo del ión m/z 722

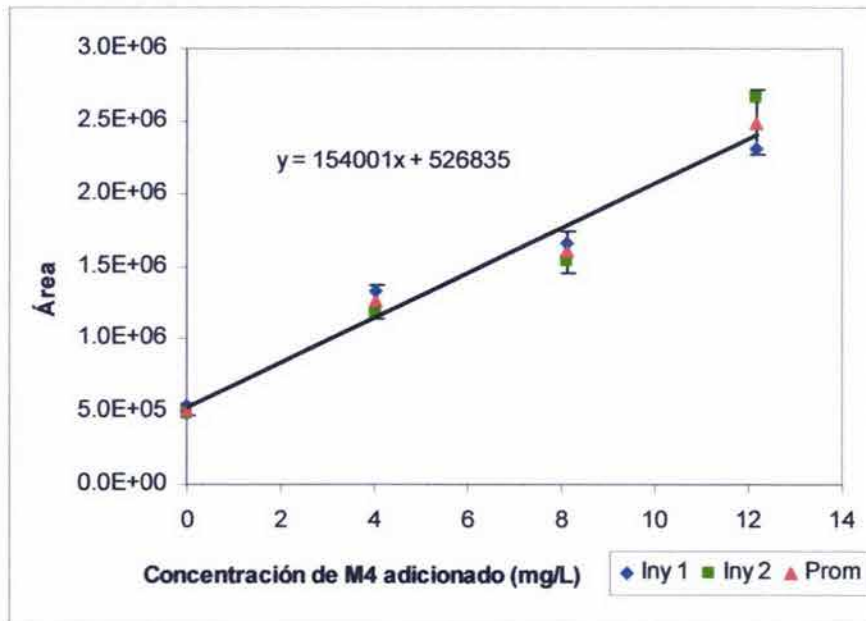


Figura 5.8. Gráfica de regresión para el monitoreo del ión m/z 1046

Tabla 5.25. Parámetros de regresión para el monitoreo de los iones m/z 722 y 1046

	m/z 722		m/z 1046		
Parámetro de regresión	Valor calculado	Incertidumbre ¹⁶	Parámetro de regresión	Valor calculado	Incertidumbre ¹⁶
Pendiente (m)	1.17×10^4	$\pm 2.92 \times 10^3$	Pendiente (m)	1.54×10^5	$\pm 5.54 \times 10^4$
Ordenada al origen (b)	4.77×10^4	$\pm 1.27 \times 10^4$	Ordenada al origen (b)	5.27×10^5	$\pm 4.21 \times 10^5$
Coefficiente de regresión (R)	0.9939		Coefficiente de regresión (R)	0.9875	

¹⁶ Calculada a partir de los valores t de Student para un intervalo de confianza del 95%.

Tomando en cuenta el volumen de inyección¹⁷, la concentración de resina en solución¹⁸, y el contenido de no volátiles del látex¹⁹, se calcularon las concentraciones de M3 y M4 en la solución de resina, en la resina seca y en el látex. Los resultados obtenidos, así como los valores de concentración teóricos, se presentan en las tablas 5.26, 5.27 y 5.28.

Tabla 5.26. Concentraciones de M3 y M4 calculados en la fracción de una solución de resina no dopada

Tensoactivo	Concentración calculada (mg/L)	Incertidumbre
M3	4.07	+/- 0.19
M4	3.42	+/- 0.56

Tabla 5.27. Contenido de M3 y M4 calculados en la solución de resina, en la resina seca y en el látex LII.

Contenido en:	Valor calculado	
	M3	M4
Solución de resina (mg/mL)	0.2440	0.2053
Resina seca (%)	2.69	2.26
Látex (%)	1.45	1.22

¹⁷ Volumen de inyección en SEC: 50 µL.

¹⁸ Concentración promedio de resina en solución: 9.062 mg/mL.

¹⁹ Contenido de no volátiles en el látex: 53.98%.

Tabla 5.28. Valores de M3 y M4 teóricos en la fracción, en la solución de resina, en la resina seca, y en el látex LII.

Contenido en:	Valor teórico M3	Valor teórico M4
Fracción (mg/L)	2.33	4.24
Solución de resina (mg/mL)	0.1396	0.2547
Resina seca (%)	1.54	2.81
Látex (%)	0.83	1.52

Analizando estos resultados se concluye que el contenido de M4 calculado es similar al contenido teórico en el látex. Sin embargo, el contenido de M3 calculado es, aproximadamente, el doble que el contenido esperado.

La inexactitud en la determinación de M3 se atribuye a que probablemente no se trabajó en el intervalo de concentraciones adecuado (debió haberse trabajado en niveles de concentración más bajos).

5.4.2. Determinación de tensoactivos en el látex LI

Como se mencionó en la sección 4.3.4.3, la detección de iones presentes en el látex LI se efectuó en modalidad de SIM. Nuevamente, la señal generada por los iones negativos del NFES era muy pobre, por lo que se optó por monitorear a los iones positivos m/z 722 del NFES y m/z 815 del NFE²⁰. El ión m/z 722 corresponde al aducto $[M + NH_4]^+$ del oligómero $n=11$ del NFE que genera el NFES al ionizarse positivamente (ver sección 5.2.1). El ión m/z 815 corresponde al aducto $[M + Na]^+$ del oligómero $n=13$ del NFE.

En la figura 5.7 se presentan las gráficas de corriente de iones obtenidos para la fracción de una de las soluciones de resina no dopada. En la parte superior se

²⁰ Recordemos que el látex LI contiene a los tensoactivos M1 y M2, y que los componentes mayoritarios de estos tensoactivos comerciales son NFE y NFES, respectivamente.

muestra la gráfica TIC, y las otras son las gráficas generadas por cada uno de los iones monitoreados. En éstas gráficas se observa que la concentración de tensoactivos extraídos es tan baja, que las señales generadas por los iones m/z 722 y 815 es prácticamente nula.

Cabe mencionar que además, se demostró que la extracción no fue repetible, ya que se compararon las gráficas TIC después de inyectar las fracciones de las 3 soluciones de resina no dopadas, y se encontró que los perfiles no son comparables.

Debido a la falta de repetibilidad y baja eficiencia en la extracción, no se continuó con esta determinación.

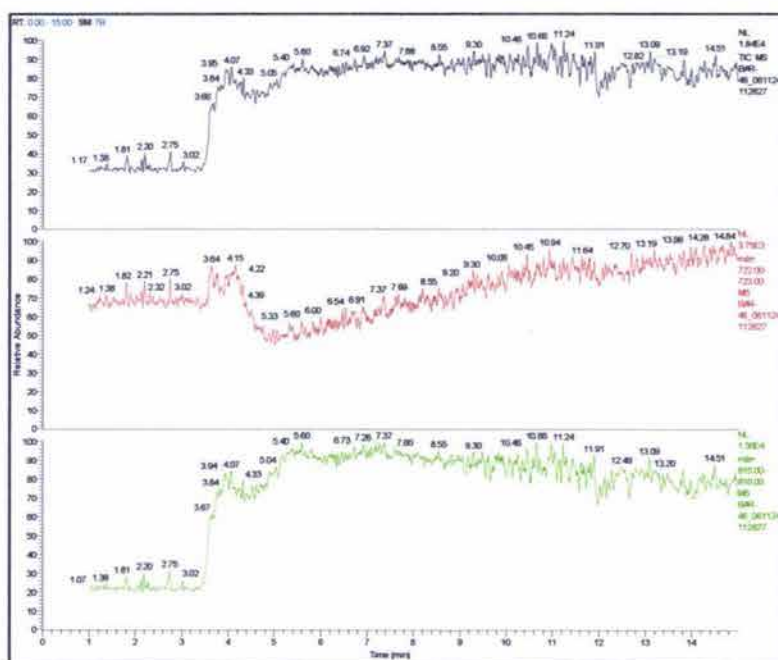


Figura 5.9. Gráfica superior (negra): TIC, gráfica intermedia (roja): m/z 722, gráfica inferior (verde): m/z 815.

7. Conclusiones

Haciendo uso de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), fue posible diseñar métodos de separación para los componentes de los tensoactivos comerciales estudiados, así como para las mezclas formuladas de los mismos.

La separación de los componentes de los tensoactivos puede optimizarse variando los siguientes parámetros:

- Naturaleza de fase estacionaria
- Naturaleza del eluyente
- Fuerza de elución
- Velocidades de flujo

Mediante la separación de cadenas alquílicas, es posible identificar a los componentes de los tensoactivos comerciales; en tanto que la separación de cadenas etoxiladas puede utilizarse para conocer la distribución de oligómeros y en ciertos casos, para obtener un estimado de su composición porcentual.

En cuanto a la separación de tensoactivos en mezclas, los métodos desarrollados presentan buena linealidad, precisión y límites de detección adecuados para el control de calidad de materia prima y producto formulado.

La determinación de tensoactivos en muestras de látex por el método aquí propuesto, resultó factible en el caso de la muestra de látex cuya resina es soluble en THF. La concentración del tensoactivo mayoritario fue determinada con éxito, sin embargo, la concentración del tensoactivo que se encontraba en menor proporción se calculó con un margen de error relativamente alto (aproximadamente del doble que lo esperado).

En el caso de la muestra de látex cuya resina es insoluble en THF, los métodos de extracción evaluados (extracción de tensoactivos del látex con

disolventes en ultracentrífuga y extracción de tensoactivos en resina seca con ultrasonido) demostraron ser poco eficientes bajo las condiciones en las que se realizaron. Además, en el caso del método que se efectuó con ultrasonido, la extracción no fue repetible. Por estas razones, no fue posible llevar a cabo la determinación de tensoactivos en esta muestra.

7. Perspectivas

En primera instancia, se propone que los métodos de separación y determinación de tensoactivos por CLAR y CL-EM desarrollados en este proyecto, se apliquen al análisis rutinario de tensoactivos comerciales y látex sintéticos con fines de control de calidad.

En lo que respecta al proyecto, el trabajo a futuro que se plantea se enfoca concretamente, a la obtención de mayor información y mejores resultados en los experimentos de CL-EM. Las propuestas son las siguientes:

A) Realización de experimentos EM-EM para la identificación de los componentes de M2 y M3

En la sección 5.2.1 se mencionó que no fue posible identificar a algunos de los componentes de las muestras de tensoactivos M2 y M3. Con este fin, se propone efectuar experimentos EM-EM con el ión más abundante de la distribución observada en el espectro de masas correspondiente a cada fracción (ver tablas 5.7 y 5.8); ya que se considera que fragmentando este ión, será posible obtener más información estructural sobre los aductos formados.

B) Optimización de las condiciones cromatográficas para la identificación de cadenas etoxiladas de M2 y M3 por CL-EM

En la sección 4.3.2.2 se explicó que la identificación de cadenas etoxiladas por LC-MS no se llevó a cabo para los tensoactivos M2 y M3, debido a que la concentración de acetato de amonio utilizada para la separación es demasiado alta para las fuentes de ionización de LC-MS. Por esta razón se plantea optimizar las condiciones cromatográficas en CLAR, reduciendo la concentración del agente de formación de pares iónicos, de manera que sea posible llevar a cabo la separación de oligómeros en LC-MS.

C) Optimización de la extracción de tensoactivos del látex LI

En las secciones 4.3.4 y 5.4.2 se muestra que los métodos de extracción de tensoactivos del látex LI ensayados fueron poco eficientes bajo las condiciones descritas, por lo que se plantea probar un método alternativo de extracción.

Se propone extraer a los tensoactivos del látex (muestra íntegra) con ultrasonido, usando como extractante una solución acetonitrilo/agua 70:30. De manera posterior a la extracción la muestra se centrifugaría, recuperando el sobrenadante. El polímero precipitado sería sometido a una extracción bajo las mismas condiciones que la muestra inicial, centrifugando posteriormente. El procedimiento se repetiría 2 veces más, recuperando el sobrenadante después de cada centrifugación.

Cabe mencionar que las variables de operación de la sonda de ultrasonido (potencia, tiempo de irradiación, número de pulsos, etc.), tendrían que ser evaluadas con el fin de obtener las mejores condiciones de extracción.

D) Reajuste de intervalos y niveles de concentración en la determinación de tensoactivos del látex LII

En cuanto a la determinación de los tensoactivos M3 y M4 en el látex LII, con el fin de mejorar los resultados obtenidos, se plantea trabajar con más puntos dentro del intervalo lineal del sistema (ver sección 5.4.1).

Por ejemplo, en el caso de la determinación de M4, la curva se construyó con las concentraciones 0, 4, 8 y 12 mg/L; por lo que ahora se propone incluir concentraciones intermedias entre esos puntos, es decir, que la curva se obtendría con soluciones de concentraciones 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 mg/L.

En cuanto a la determinación de M3, se propone redefinir el intervalo de concentraciones a estudiar para mejorar la exactitud. El intervalo trabajado fue de 0 a 7 mg/L, por lo que ahora se propone estudiar el intervalo de 0 a 3.5 mg/L.

8. Bibliografía

[1] Jönsson, B.; Lindman, B.; Holmberg, K.; Kronberg, B.; *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. John Wiley & Sons, Chichester, 1998.

[2] Kirk-Othmer *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 23. John Wiley & Sons, 4th ed., New York, 1997.

[3] Ullman's *Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Vol. 35, Wiley-VCH, 6th ed., Weinheim, 2003.

[4] Schmitt T. M. *Analysis of Surfactants* .2nd ed. Marcel Dekker Inc. New York, 2001.

[5] Bear, G.R. "Universal detection and quantitation of surfactants by high-performance liquid chromatography by means of the evaporative light-scattering detector". *Journal of Chromatography A*, 1988, 459, 91-107.

[6] Wang, Z.; Fingas, M. "Rapid separation of non-ionic surfactants of polyethoxylated octylphenol and determination of ethylene oxide oligomer distribution by C1 column reversed-phase liquid chromatography". *Journal of Chromatography A*, 1993, 673, 145-156.

[7] Liu, X. Pohl, C. A.; Weiss, "New polar-embedded stationary phase for surfactant analysis". *J. Journal of Chromatography A*, 2006, 1118, 29-34.

[8] Wang, Z.; Fingas, M. "Analysis of polyethoxylated nonylphenols by supercritical fluid chromatography and high-performance liquid chromatography". *Journal of Chromatographic Science*, 1993, 31, 509-518.

[9] Park, H. S.; Ryu, H. R.; Rhee, Ch. K. "Simultaneous separation of nine surfactants of various types by HPLC with evaporative scattering detection". *Talanta*, 2006 (artículo en prensa).

[10] Kósa, Á.; Dobó, A.; Vékey, K.; Forgács, E. "Separation and identification of nonylphenylethylene oxide oligomers by high-performance liquid chromatography with UV and mass spectrometric detection". *Journal of Chromatography A*, 1998, 819, 297-302.

[11] Márquez, N.; Antón, R.E.; Usubillaga, A.; & Salager, J.L. "Optimization of HPLC conditions to analyze widely distributed ethoxylated alkylphenol surfactants". *Journal of Liquid Chromatography*, 1994, 17(5), 1147-1169.

[12] Lunar, L., Rubio, S.; Pérez-Bendito, D., "Differentiation and quantification of linear alkyl benzenesulfonate isomers by liquid chromatography-ion-trap mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, 2004, 1031, 17–25.

[13] Houde, F.; DeBlois, Ch.; Berryman, D. "Liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of nonylphenol polyethoxylates and nonylphenol carboxylic acids in surface water". *Journal of Chromatography A*, 2002, 961, 245-256.

[14] Rissler, K. "High-performance liquid chromatography and detection of polyethers and their mono(carboxy)alkyl and -arylalkyl substituted derivatives". *Journal of Chromatography A*, 1996, 742, 1-54.

[15] Pilc, J. A.; Sermon, P. A. "Chromatographic separation of a wide range of ethoxylated non-ionic surfactants and their sulphonates using high-performance liquid chromatography". *Journal of Chromatography A*, 1987, 398, 375-380.

[16] Di Corcia, A. "Characterization of surfactants and their biointermediates by liquid chromatography-mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, 1998, 794, 165-185.

[17] Heining, K.; Vogt, C.; Werner, G. "Separation of nonionic surfactants by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography". *Analytical Chemistry*, 1998, 70, 1885-1892.

[18] Miszkiewicz, W.; Szymanowski, J. "Operational characteristics of the evaporative light scattering detector used in analysis of ethoxylated alcohols". *Journal of Liquid Chromatography*, 1996 19(7), 1013-1032.

[19] Thoren, C.G.K.; Yavaraski, T.P.; Hayes, K.F. "High-performance liquid chromatographic analysis of polydisperse ethoxylated non-ionic surfactants in aqueous samples". *Journal of Chromatography A*, 1996, 752, 155-165.

[20] Cretier, G.; Podevin, C.; Rocca, J.L. "Analysis of aliphatic alcohol ethoxylates in terms of alkyl and ethylene oxide chain lengths by reversed-phased liquid chromatography with evaporative light scattering detection". *Journal of Chromatography A*, 2000, 874, 305-310.

[21] Dubey, S. T.; Kravetz, L.; Salanitro, J. P. "Analysis of nonionic surfactants in bench-scale biotreater samples". *Journal of American Oil Chemist's Society*, 1995, 72 (1), 23-30.

[22] Lopez de Alda, M.J.; Díaz-Cruz, S.; Petrovic, M.; Barceló, D. "Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment". *Journal of Chromatography A*, 2003, 1000, 503-526.

[23] Petrovic, M.; Barceló, D. "Analysis and fate of surfactants in sludge and sludge-amended soils". *Trends in Analytical Chemistry*, 2004, 23, (10-11), 762-771.

[24] Jonkers, N.; Govers, H.; De Voogt, P. "Adduct formation in LC-ESI-MS of nonylphenol ethoxylates: mass spectrometrical, theoretical and quantitative analytical aspects". *Analytica Chimica Acta*, 2005, 531 217-228.

[25] Niessen, W.M.A.; Tinke, A.P. "Liquid chromatography-mass spectrometry general principles and instrumentation". *Journal of Chromatography A*, 1995, 703, 37-57.

[26] Yoshimura, H; Sugiyama, T.; Nagai, T. "Rapid quantitative HPLC analysis of polyethoxylated nonionics". *Journal of American Oil Chemist's Society*, 1987, 56 (4) 550-555.

[27] Desbene, P.L.; Desmazieres, B.; Basselier, J.J.; Desbene-Monvernay, "Analytical study of non-ionic surfactants used in enhanced oil recovery: optimization of analytical conditions in reversed-phase partition chromatography". *A. Journal of Chromatography A*, 1989, 461, 305-313.

[28] Chaimbault, P.; Elfakir, C., Lafosse, M. "Comparison of the retention behavior of polyethoxylated alcohols on porous graphitic carbon and polar as well as apolar bonded-silica phases". *Journal of Chromatography A*, 1998, 797, 83-91.

[29] Lemiére, F. "Interfaces for LC-MS". *Guide to LC-MS*. December 2001. en: <http://www.lcgceurope.com> (fecha de consulta: 26/02/2005).

[30] Thermo Electron Corporation. *Finnigan LTQ Hardware Manual*. Technical Publications, Thermo Electron Corporation. Revision B, San Jose California, 2005.

[31] Willoughby, R.; Sheehan, E.; Mitrovich, S. *A Global View LC/MS*. Global View Publishing 2nd ed. Pittsburgh, 2002.

[32] Duarte, L.G. Apuntes de la asignatura *Espectrometría de Masas*, Facultad de Química, UNAM. Semestre 2006-1.

[33] "Mass analyzers" en: <http://www.chem.queensu.ca> (fecha de consulta: 26/11/2006).

[34] Makarov, A.; Muenster, H. "Breakthrough technology for bottom-up proteomics and small molecule research". *American Laboratory*, 2006, 38 (14) 32-34.

[35] Lemiére, F. "Analyzers for LC-MS". *Guide to LC-MS*. December 2001.en: <http://www.lcgceurope.com> (fecha de consulta: 26/02/2005).

[36] Philipsen, H. J. A. "Determination of chemical composition distributions in synthetic polymers". *Journal of Chromatography A*, 2004, 1037, 329-350.

[37] Nielen, M. W. F.; Buijtenhuijs, A. "Coupling of liquid chromatographic polymer separations with time-of-flight mass spectrometry". *LC·GC Europe*, February 2001, 1-4.

[38] Latourte, L.; Blais, J. C. ; Tabet, J. C. ; Cole, R. B. "Desorption behavior and distributions of fluorinated polymers in MALDI and electrospray ionization mass spectrometry". *Analytical Chemistry*, 1997, 69, 2742-2750.

[39] Murgasova, R.; Hercules, D. M. "Polymer characterization by combining liquid chromatography with MALDI and ESI mass spectrometry". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 373, 481-489.

[40] "Flow units, slm" en: www.hastings-inst.com/products/300-series.html (fecha de consulta: 13/12/2006).

[41] Wu, Z.; Gao, W.; Phelps, M. A.; Wu, D.; Miller, D. D.; Dalton, J. T. "Favorable effects of weak acids on negative-ion electrospray ionization mass spectrometry". *Analytical Chemistry*, 2004, 76, 839-847.

[42] Miller, J. C.; Miller, J. N. *Statistics for Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. 2nd ed. Chichester, 1988.

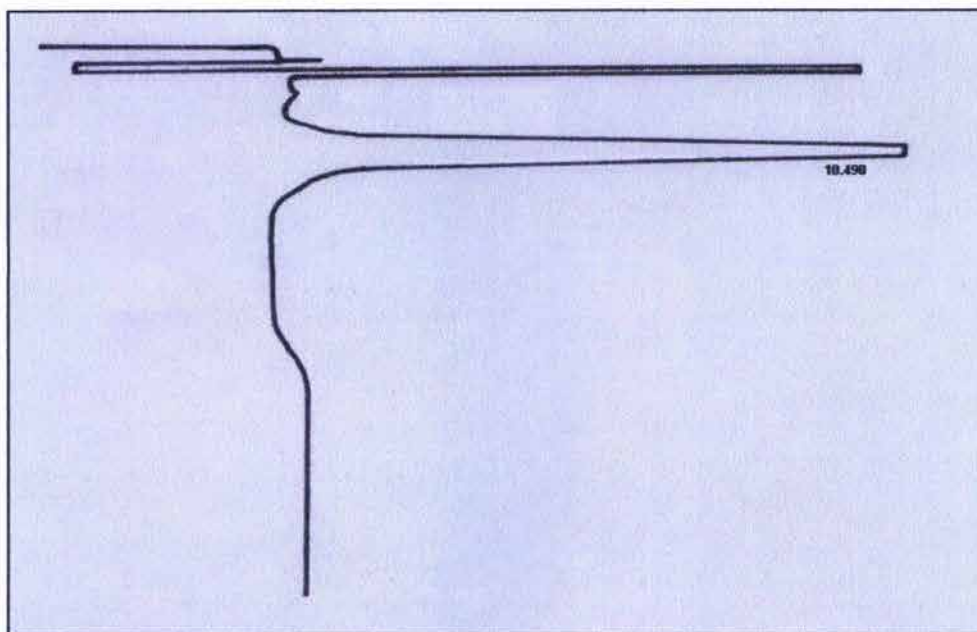
[43] Gross, J. H. *Mass spectrometry: a textbook*. Springer, New York, 2004.

[44] Sparkman, D. *Mass Spectrometry Desk Reference*. Global View Publishing, Pittsburgh, 2000.

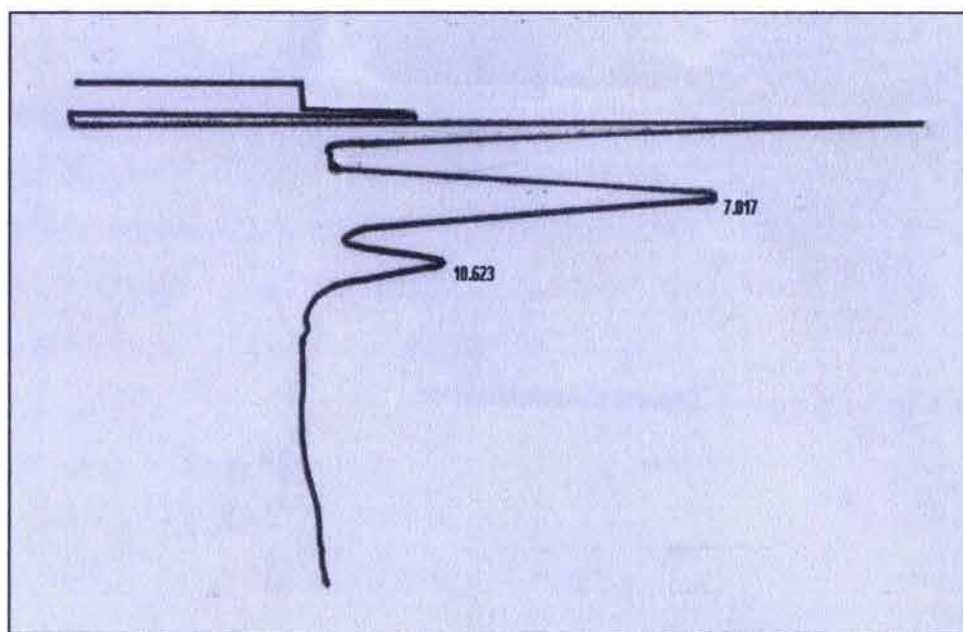
[45] Pappas, J. *Quadrupole Ion-Trap Mass Analyzer*, Thermo Electron, Somerset, New Jersey, 2004.

Apéndice A

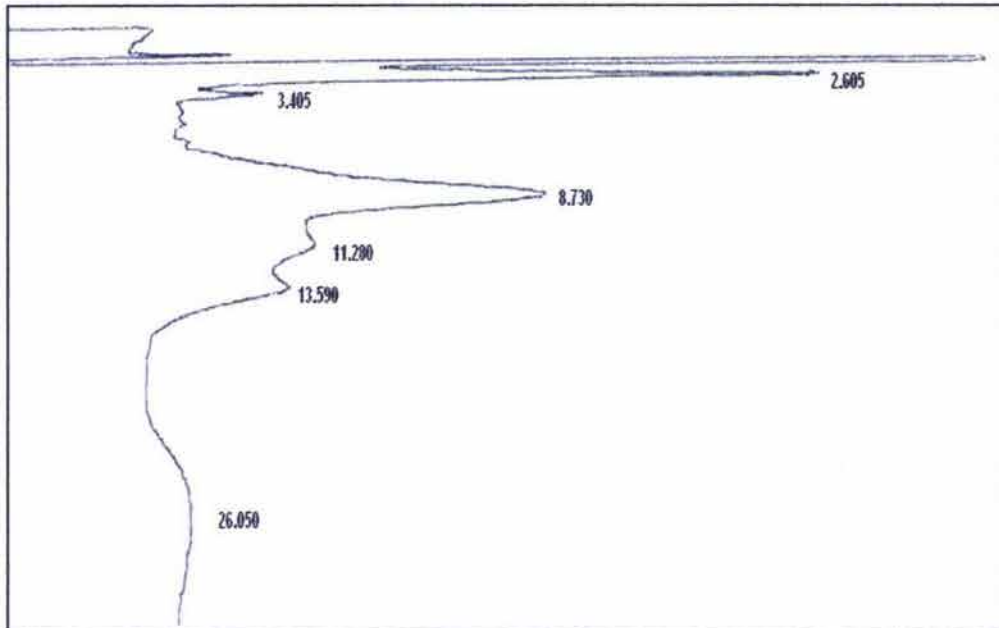
Cromatogramas CLAR



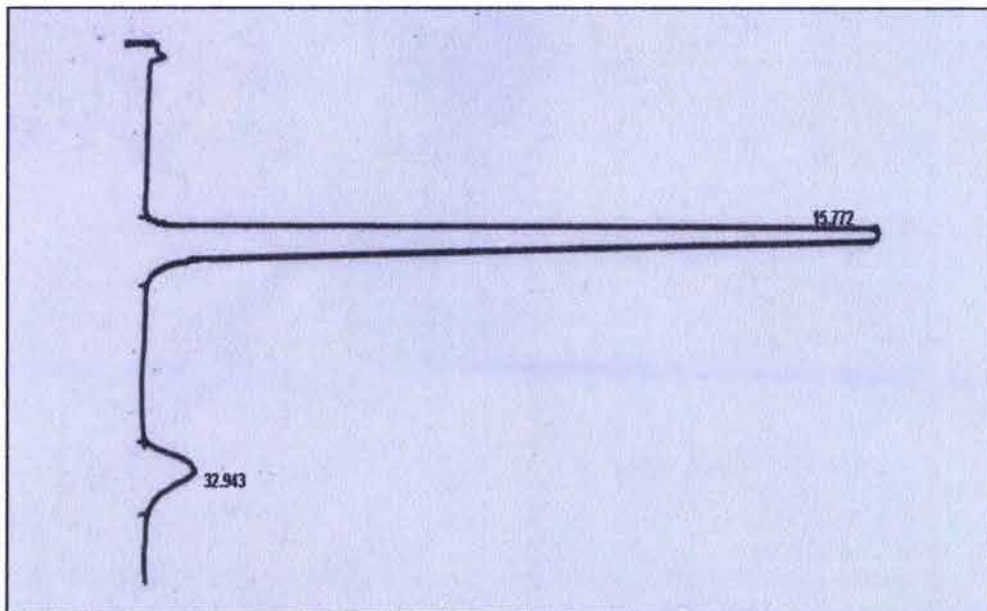
A1. Cromatograma de la separación de cadenas alquílicas de la muestra M1



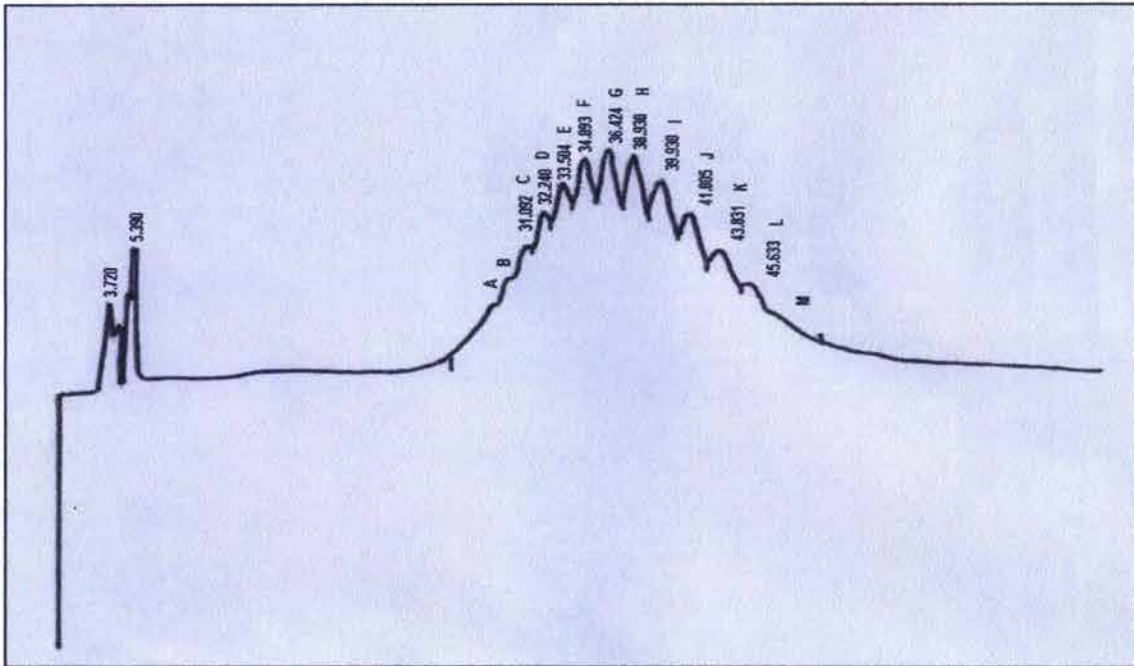
A2. Cromatograma de la separación de cadenas alquílicas de la muestra M2



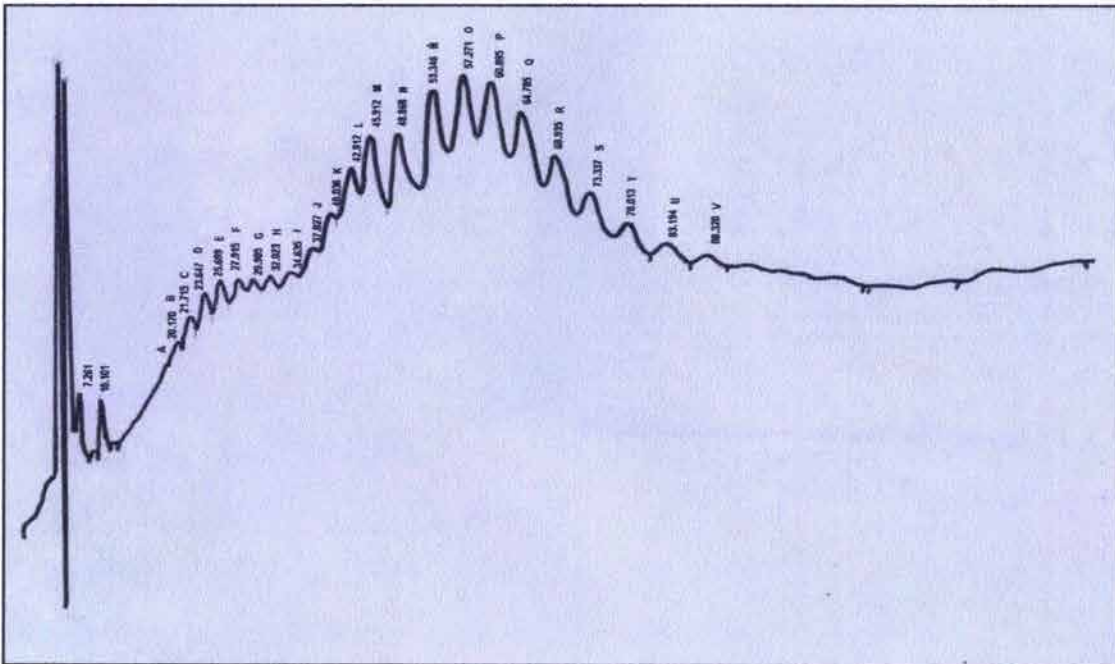
A3. Cromatograma de la separación de cadenas alquílicas de la muestra M3



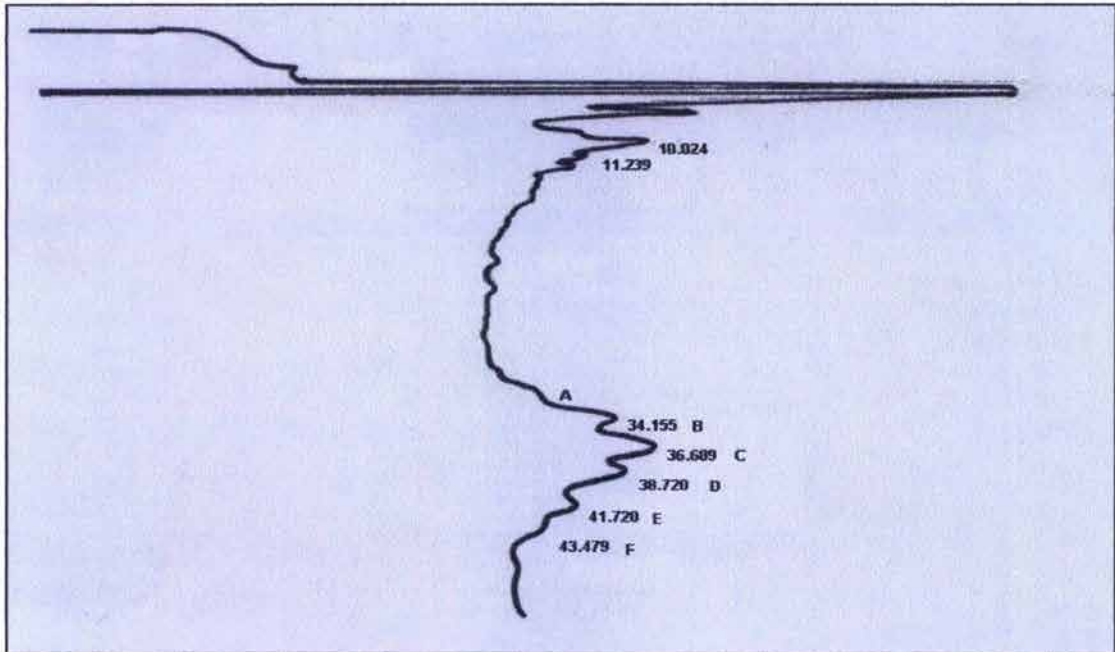
A4. Cromatograma de la separación de cadenas alquílicas de la muestra M4



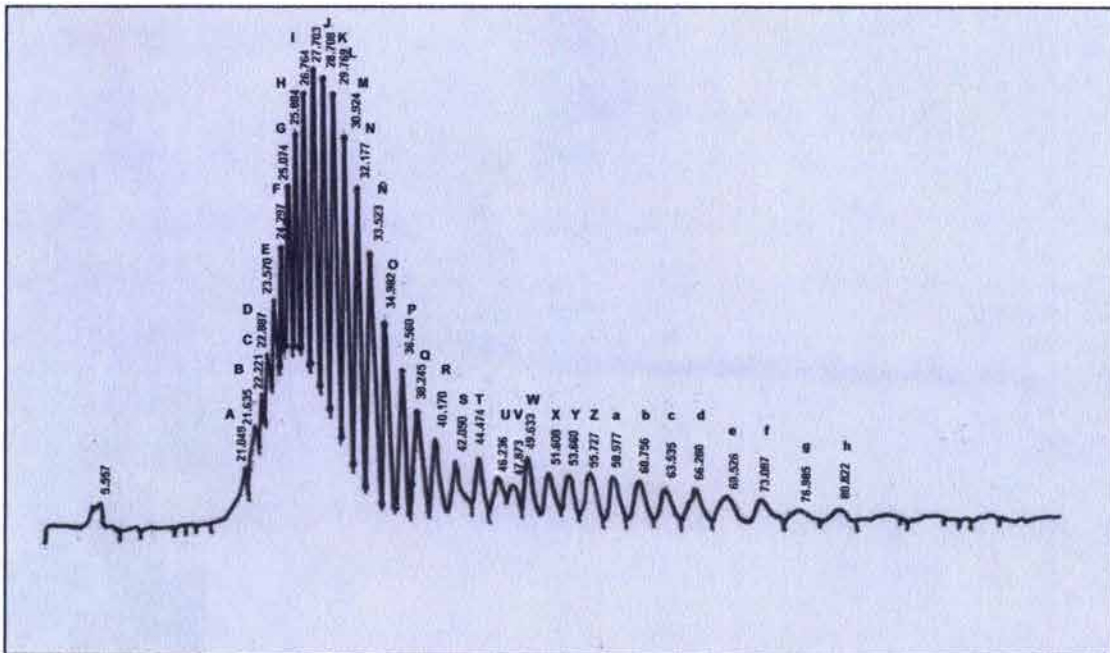
A5. Cromatograma de la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M1



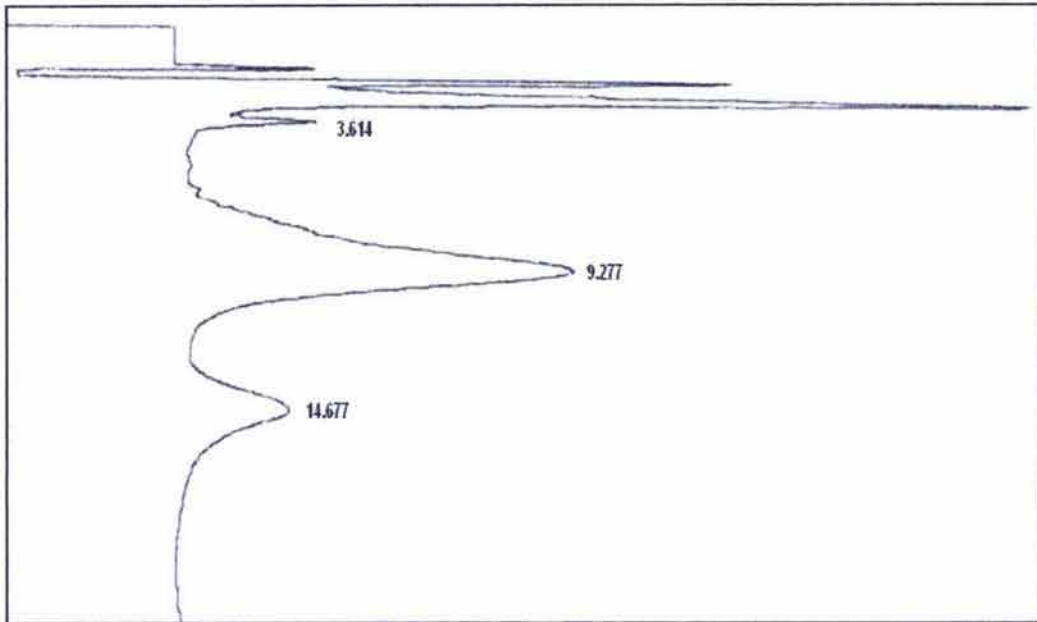
A6. Cromatograma de la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M2



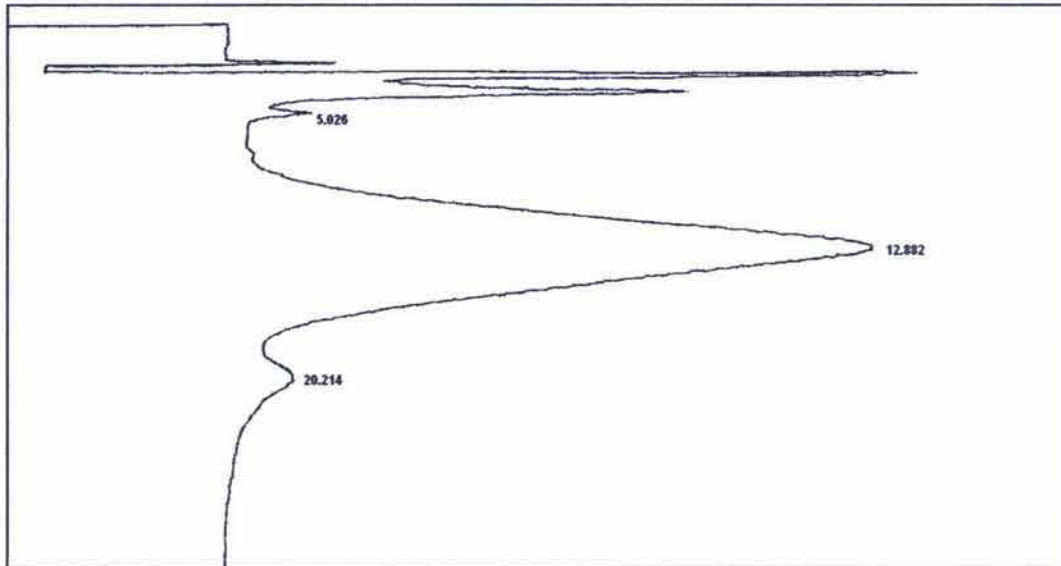
A7. Cromatograma de la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M3



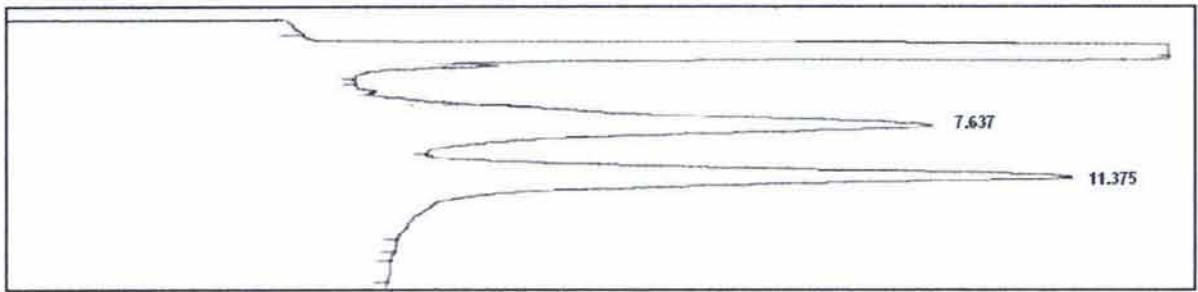
A8. Cromatograma de la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M4



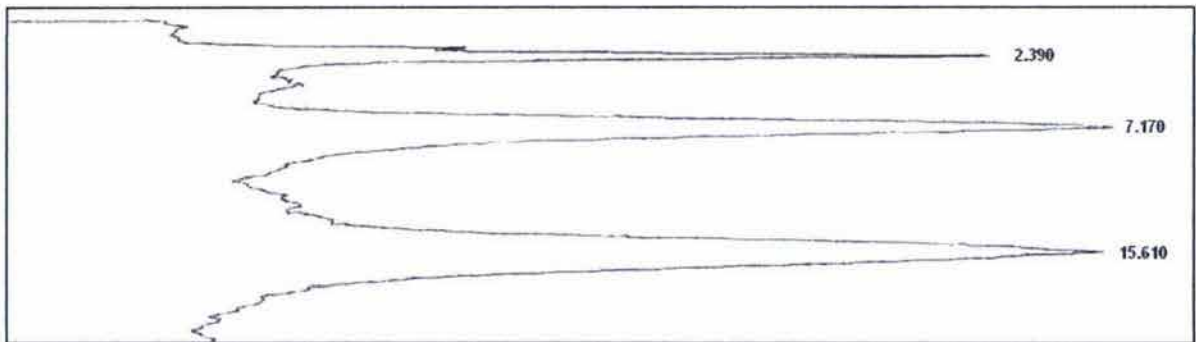
A9. Cromatograma de la separación previa a la identificación de fracciones de la muestra M2 (0.7 mL/min)



A10. Cromatograma de la separación previa a la identificación de fracciones de la muestra M3 (0.7 mL/min)



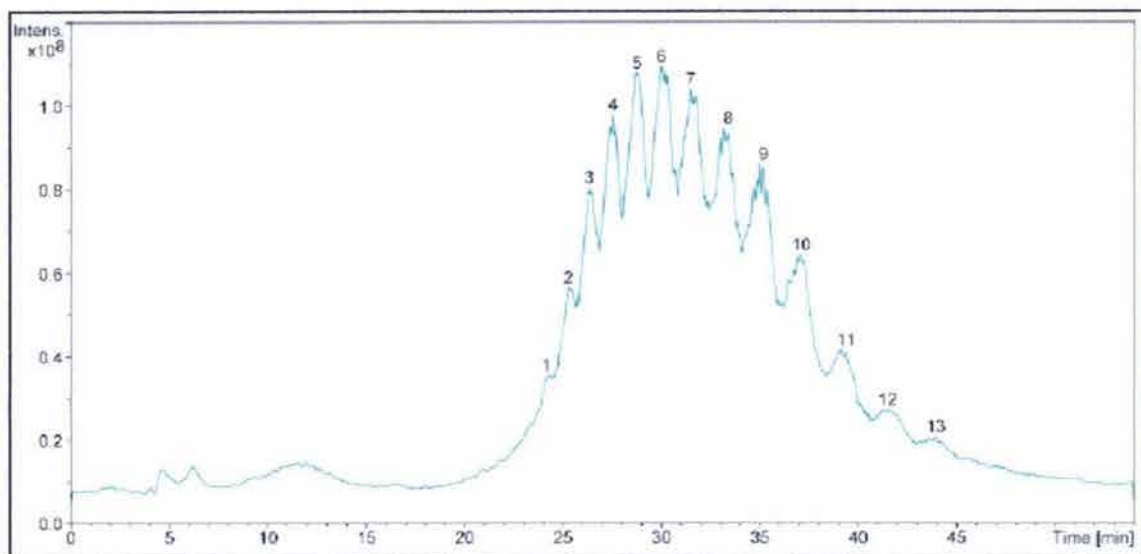
A11. Cromatograma de la separación de la mezcla SI



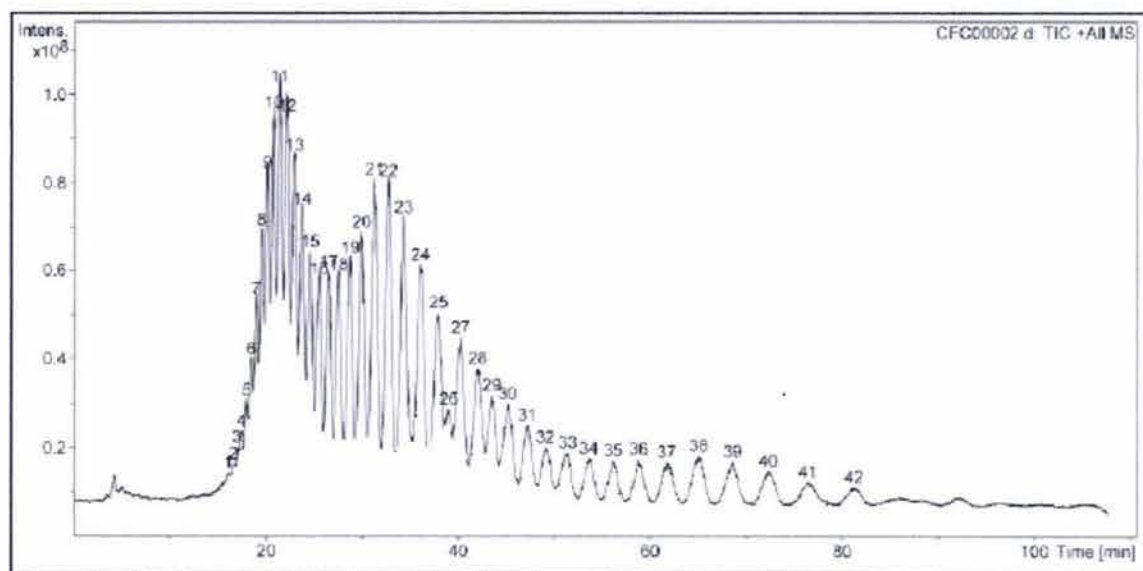
A12. Cromatograma de la separación de la mezcla SII

Apéndice B

Cromatogramas CL-EM



B1. Cromatograma de la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M1

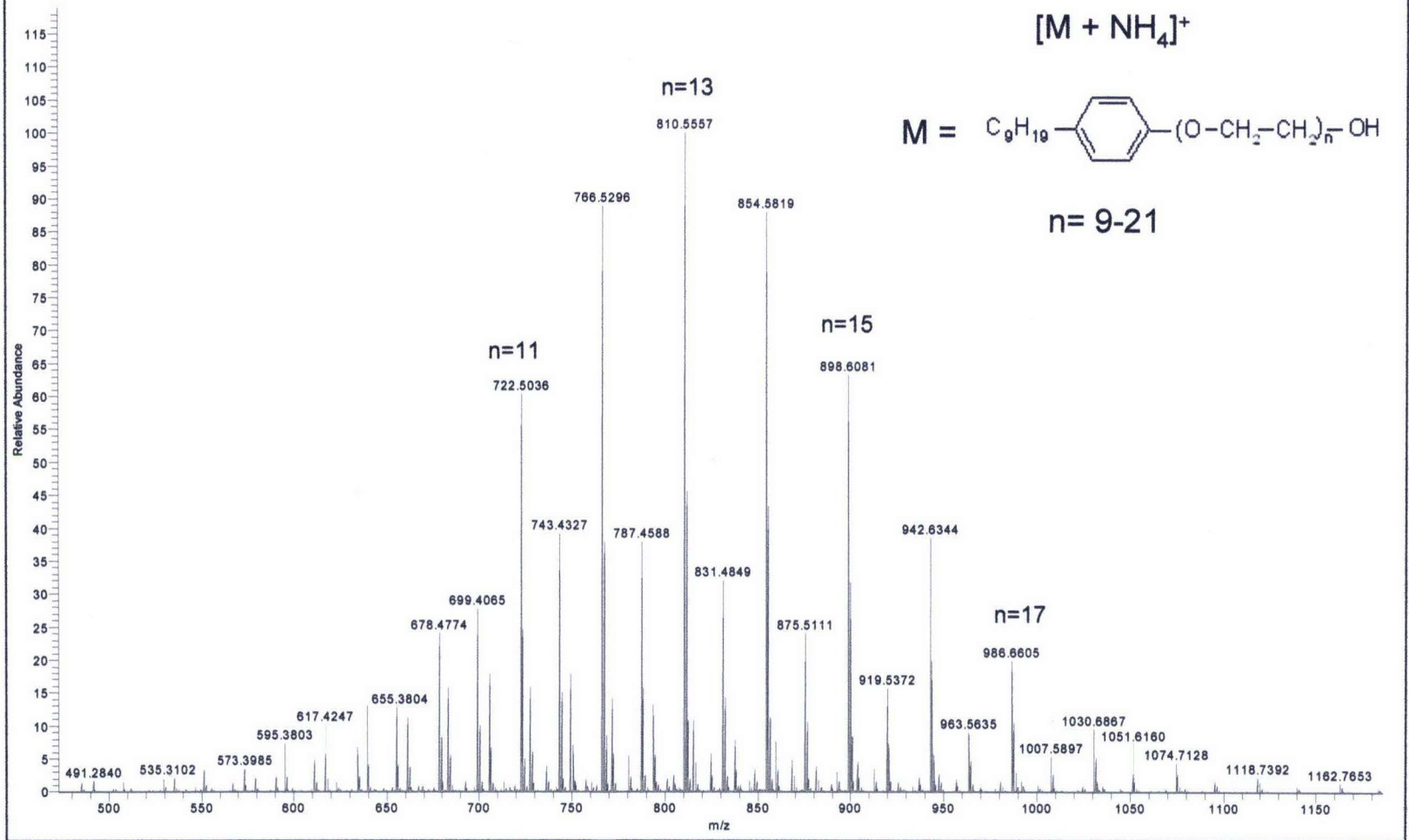


B2. Cromatograma de la separación de cadenas etoxiladas de la muestra M4

Apéndice C

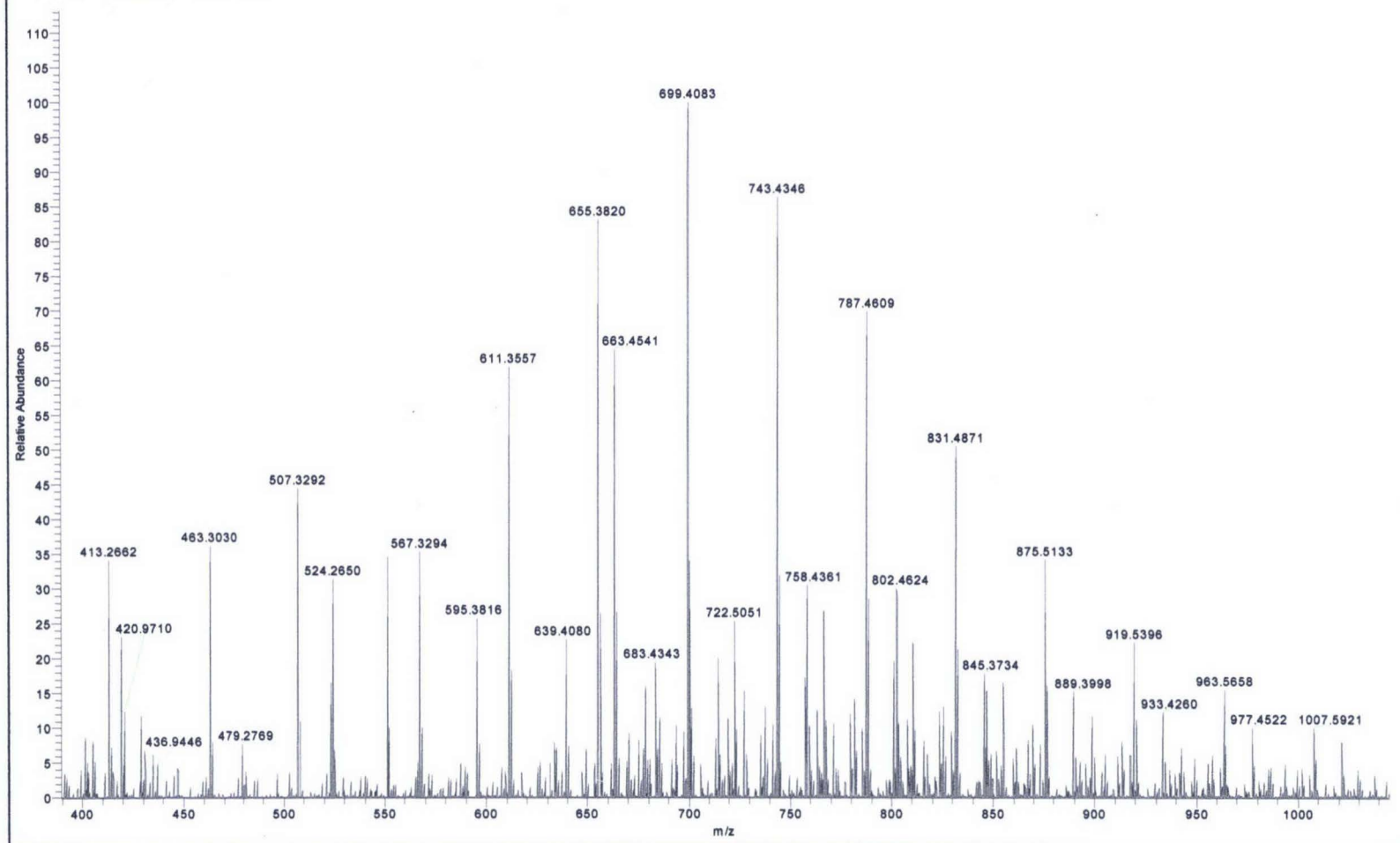
Espectros de masas

S9010_060717153017 #887-924 RT: 3.08-3.64 AV: 38 NL: 9.43E7
T: FTMS + p NSI Full ms [100.00-2000.00]



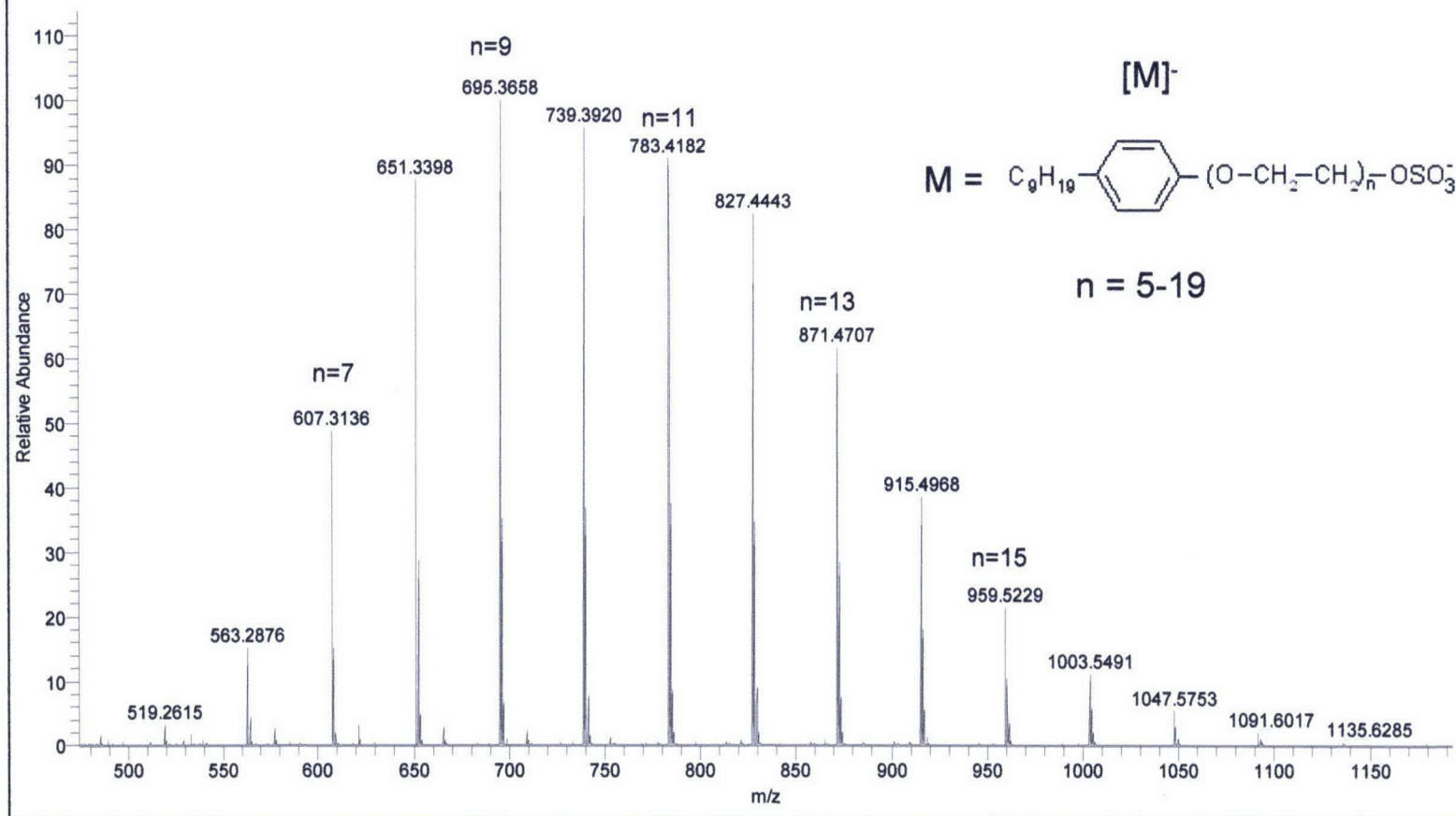
C1. Espectro de masas de la muestra M1 (NFE), en detección positiva

DAES60_F1_AcOH_060803192814 #270-314 RT: 2.66-3.34 AV: 45 NL: 3.81E6
T: FTMS + p NSI Full ms [150.00-2000.00]

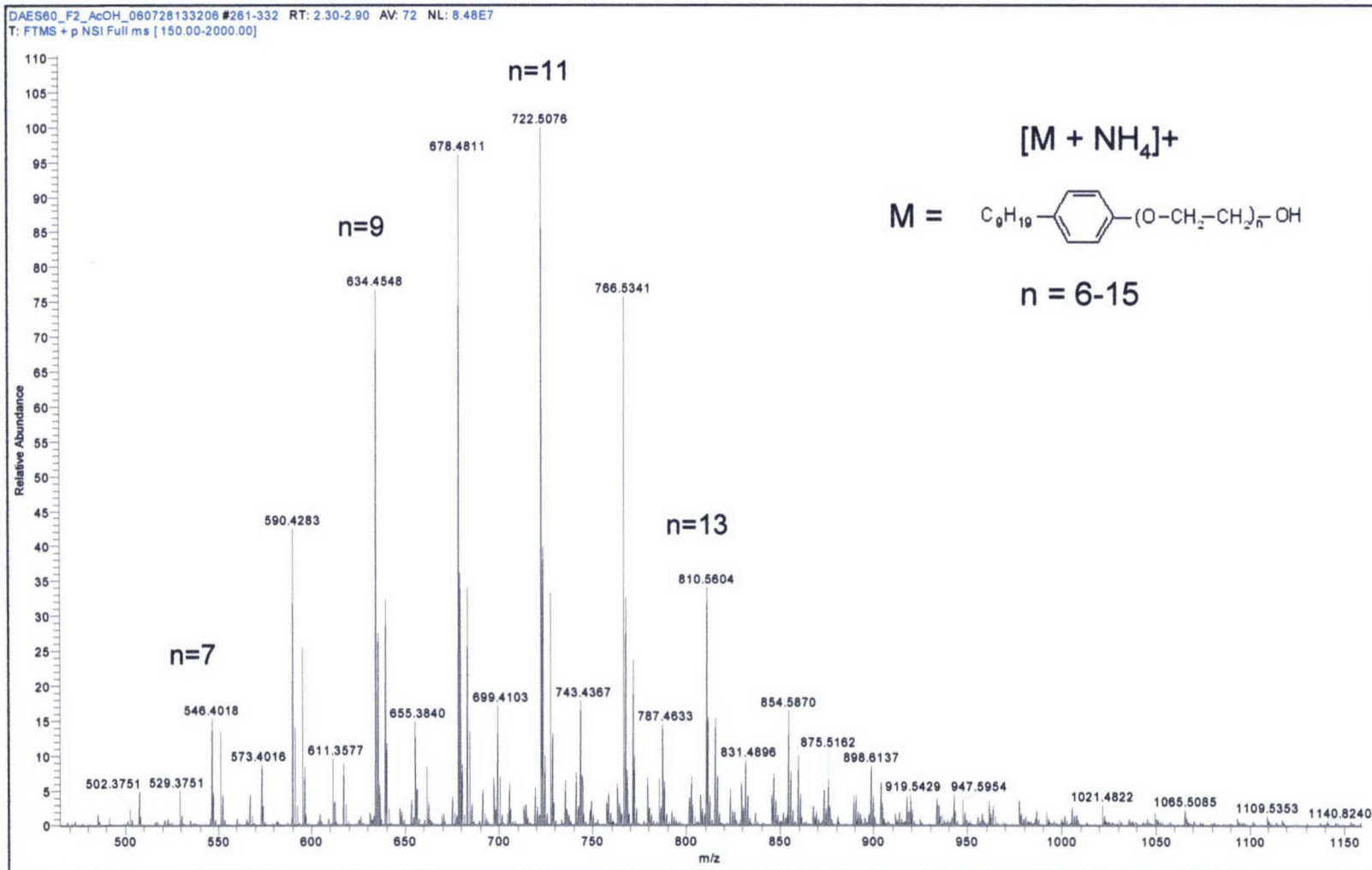


C2. Espectro de masas de la fracción 1 de M2 (no identificada), en detección positiva

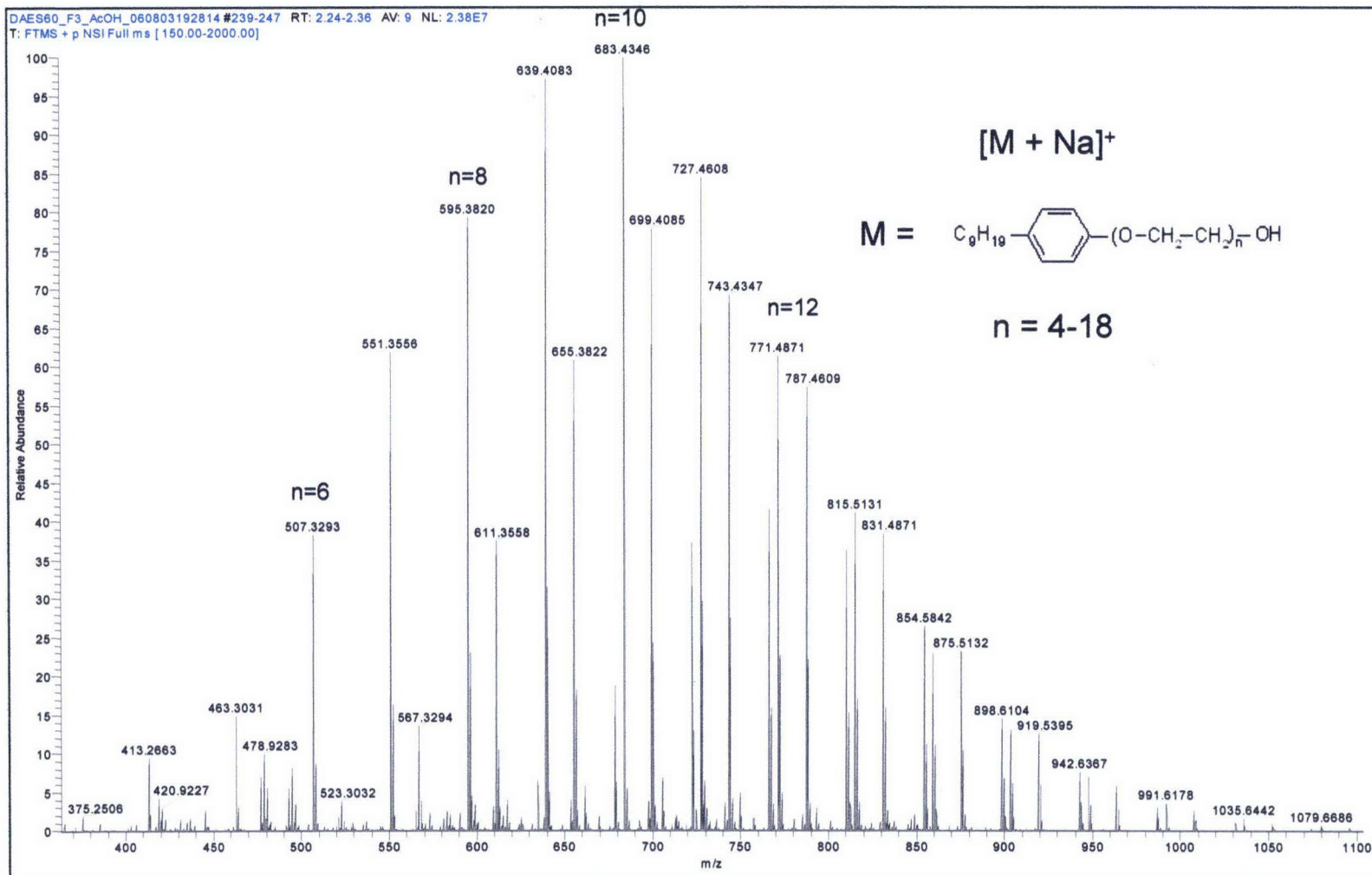
DAES60_F2_AcOH_060728133206 #192-217 RT: 1.65-1.86 AV: 26 NL: 1.36E7
T: FTMS - p NSI Full ms [150.00-2000.00]



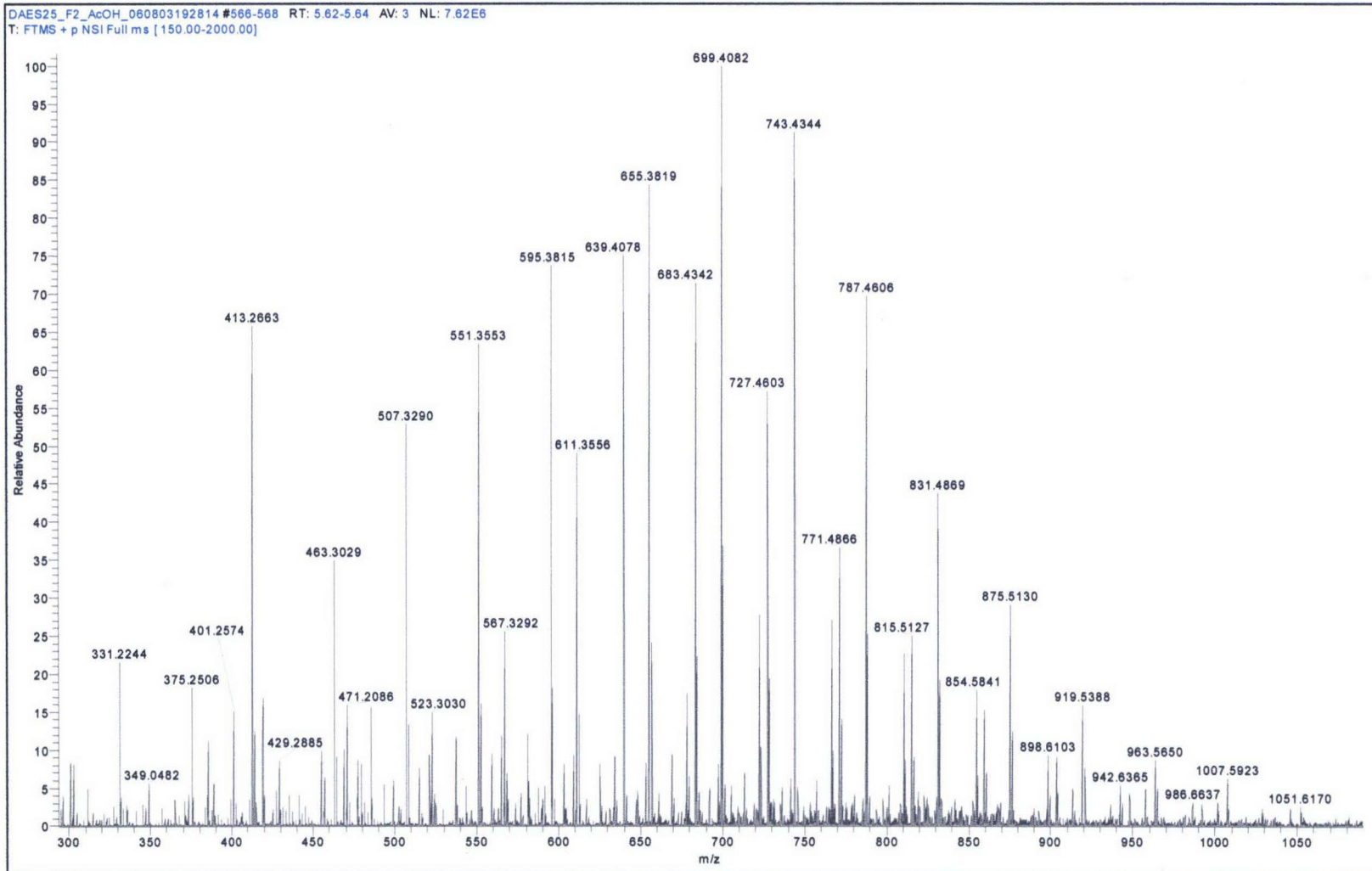
C3. Espectro de masas de la fracción 2 de M2 (NFES), en detección negativa



C4. Espectro de masas de la fracción 2 de M2 (NFE), en detección positiva

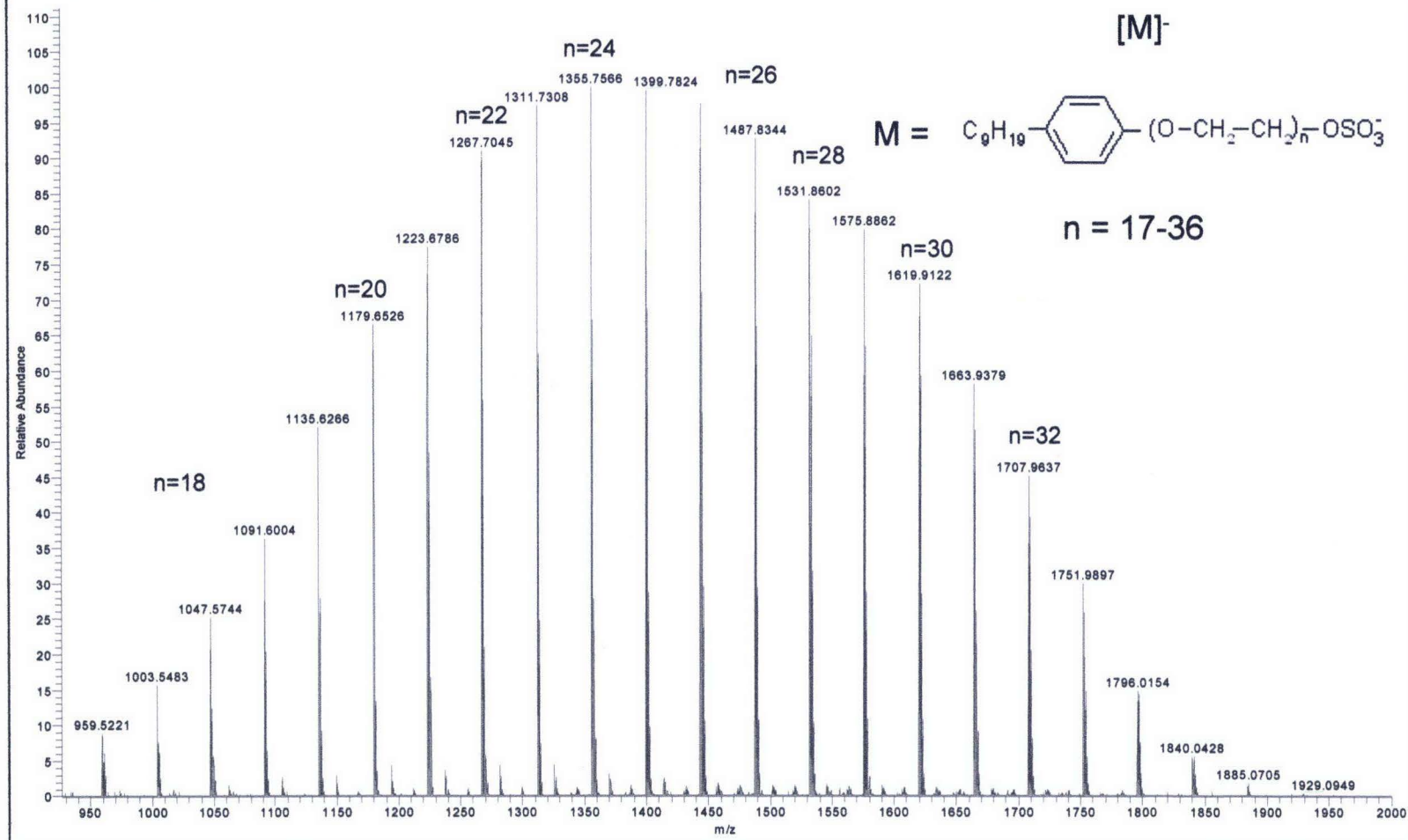


C5. Espectro de masas de la fracción 3 de M2 (NFE), en detección positiva

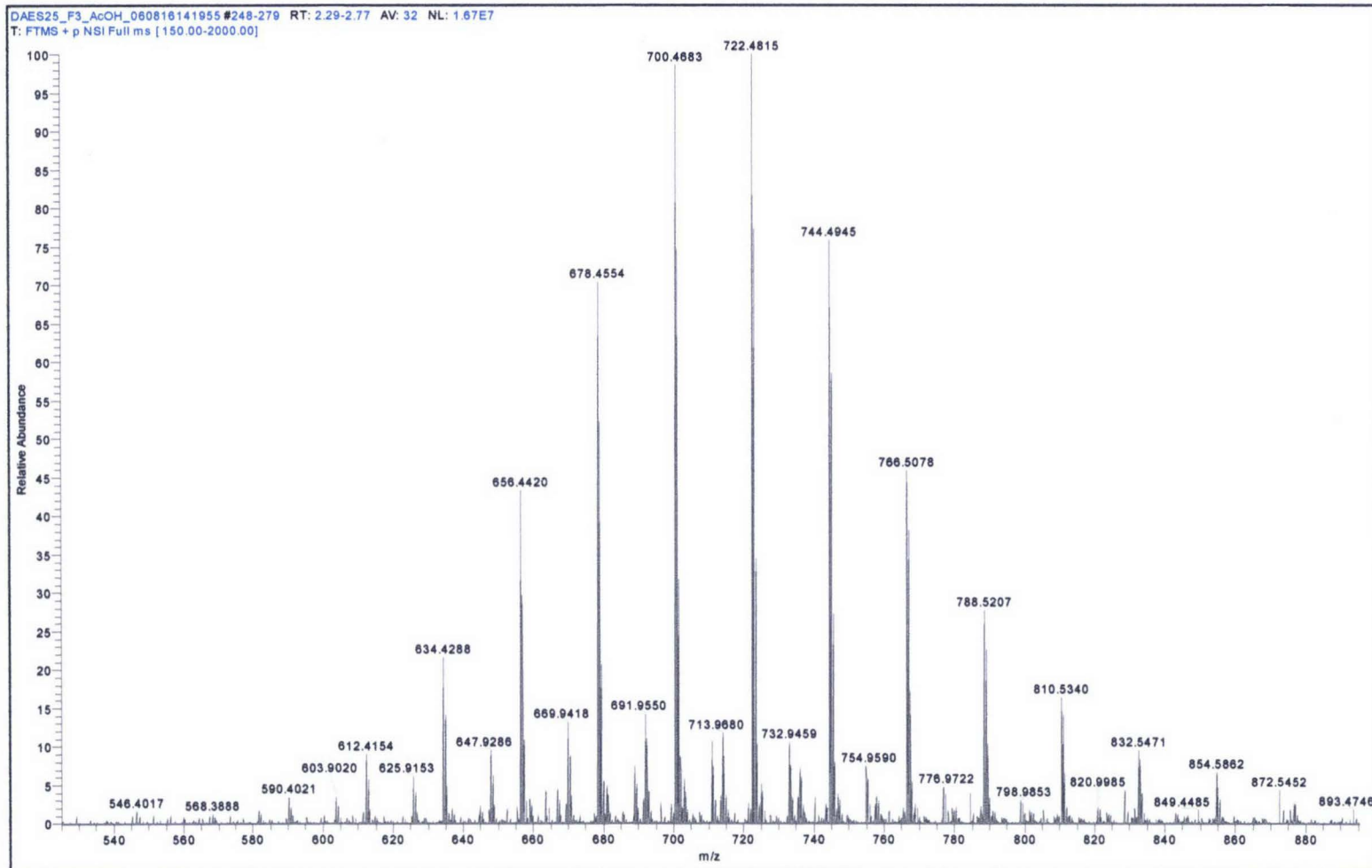


C6. Espectro de masas de la fracción 1 de M3 (no identificada), en detección positiva

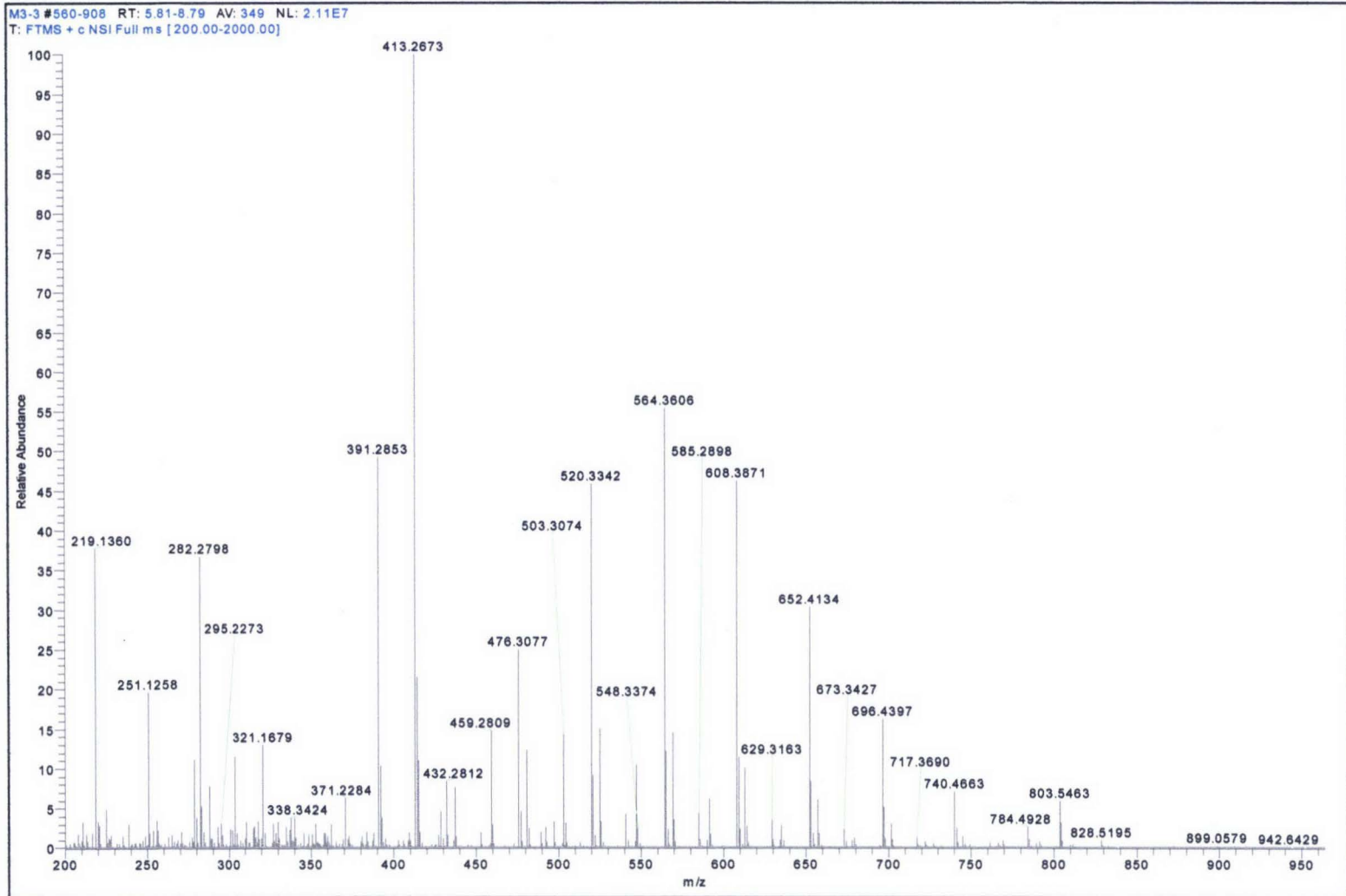
DAES25_F3_AcOH_060803192814 #829-841 RT: 2.87-3.05 AV: 13 NL: 3.53E6
T: FTMS - p NSI Full ms [150.00-2000.00]



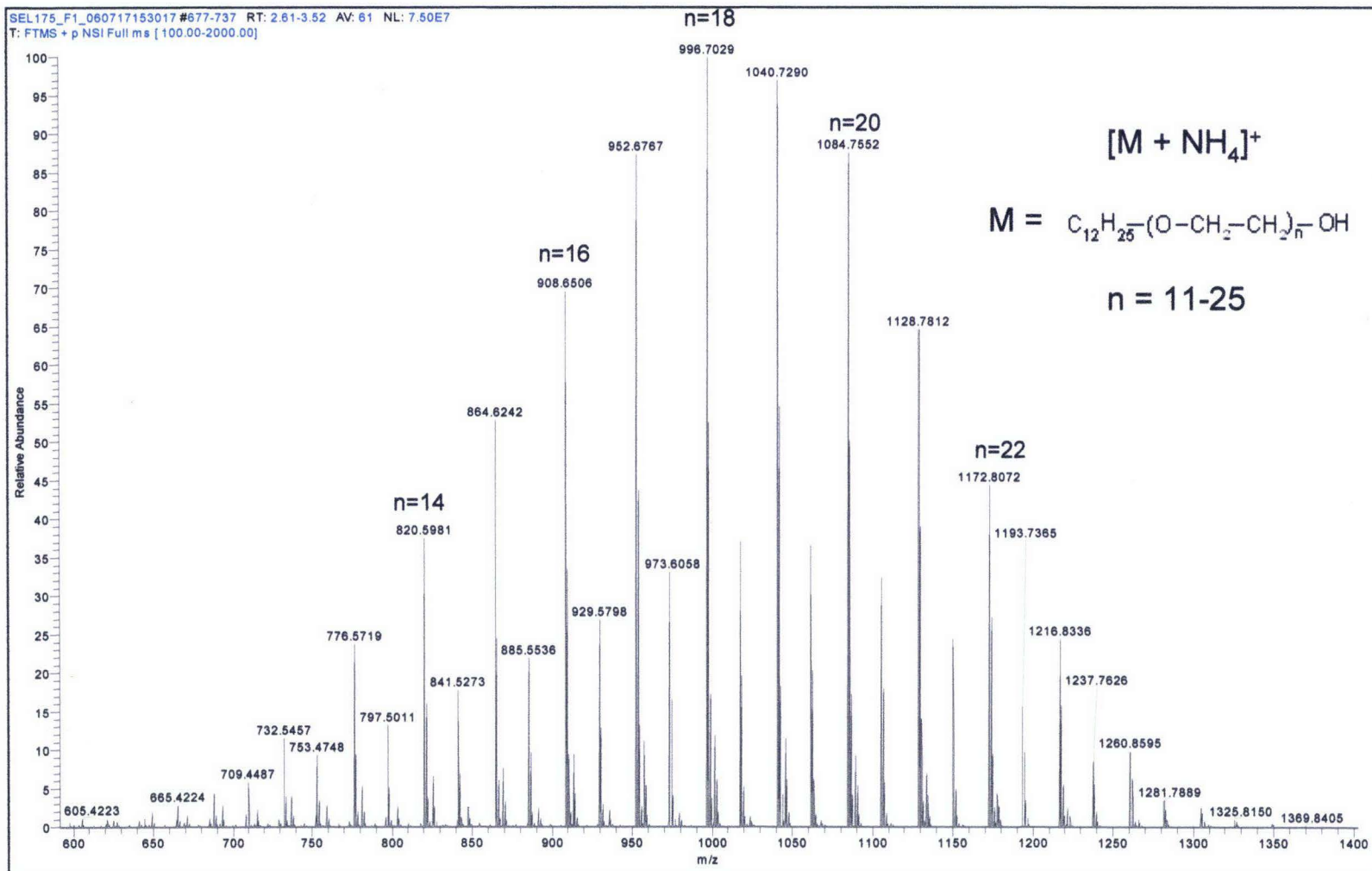
C7. Espectro de masas de la fracción 2 de M3 (NFES), en detección negativa



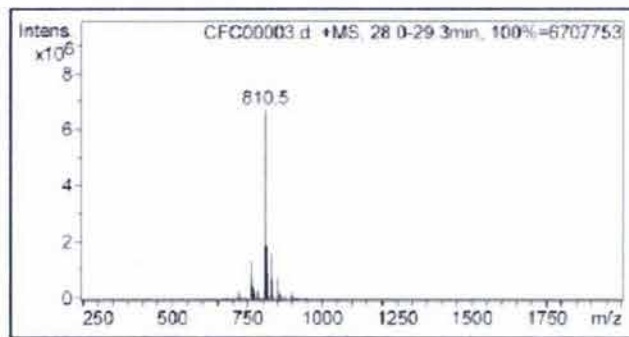
C8. Espectro de masas de la fracción 2 de M3 (no identificada), en detección positiva



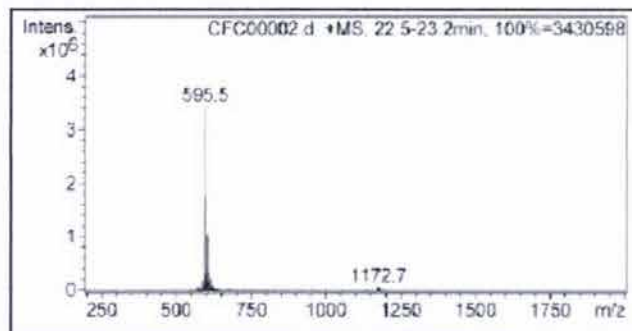
C9. Espectro de masas de la fracción 3 de M3 (no identificada), en detección positiva



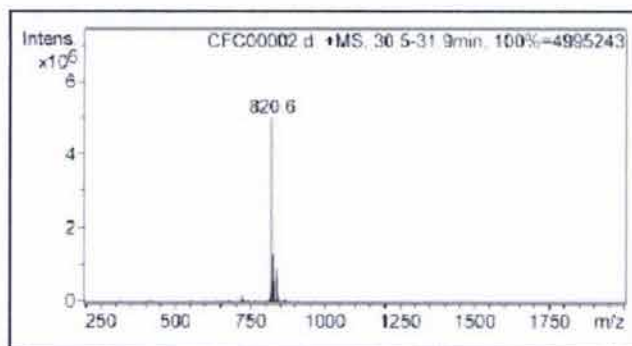
C10. Espectro de masas de la fracción 1 de M4 (ALE), en detección positiva



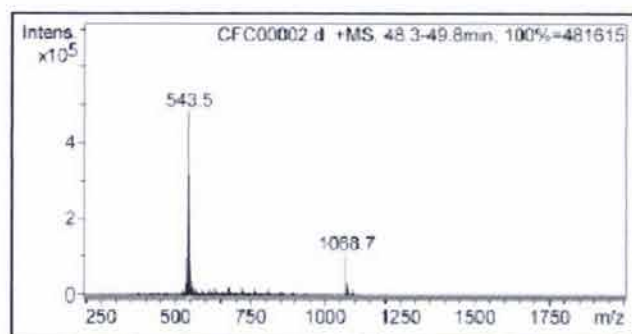
C12. Espectro de masas del oligómero
n=13 del NPE (muestra M1)



C13. Espectro de masas del pico 13 de la muestra M4



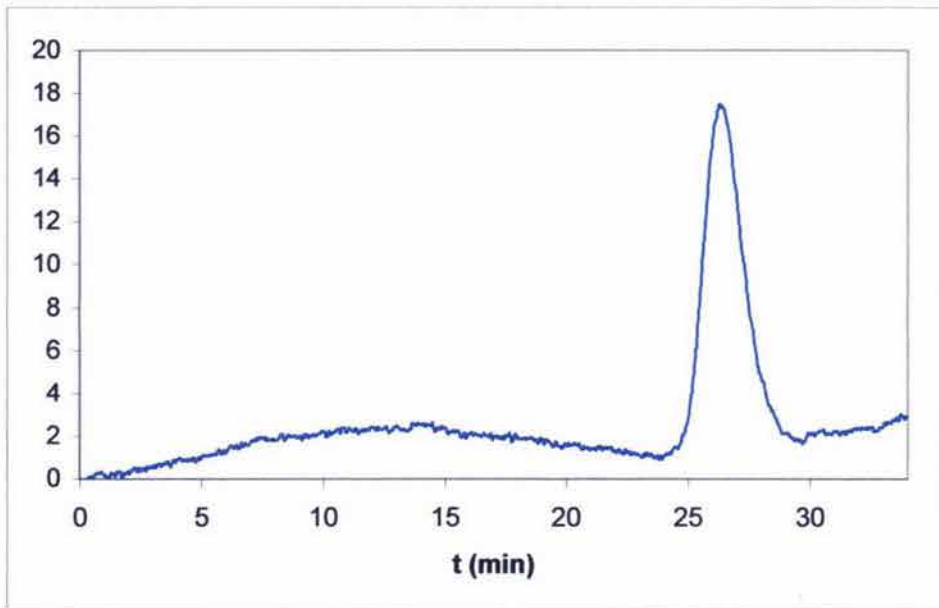
C14. Espectro de masas del pico 21 de la muestra M4



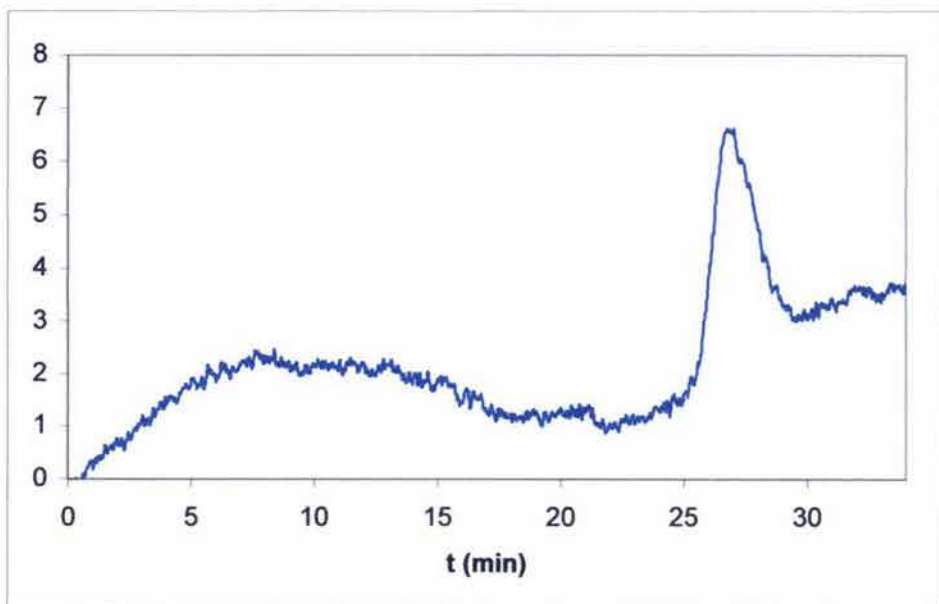
C15. Espectro de masas del pico 32 de la muestra M4

Apéndice D

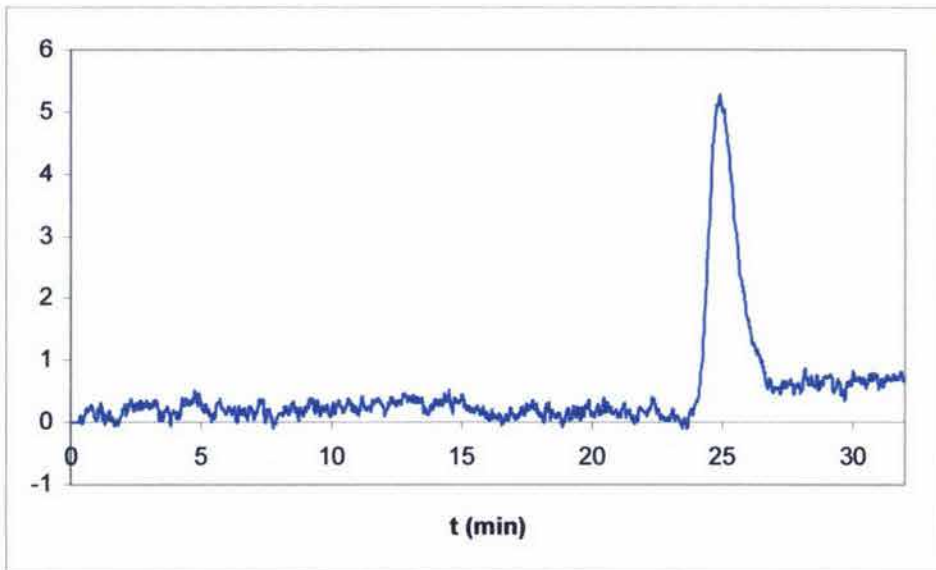
Cromatogramas CPG



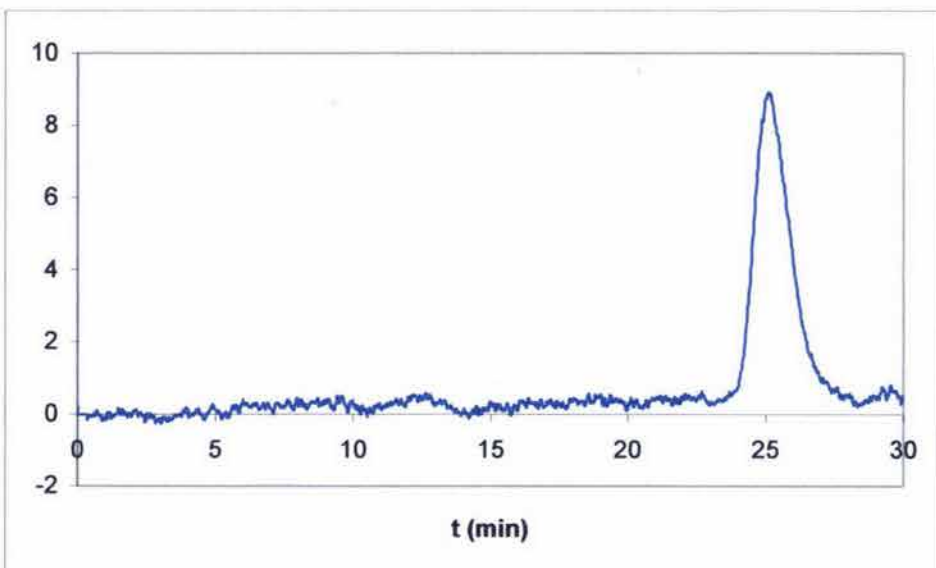
D1. Cromatograma de la muestra M1



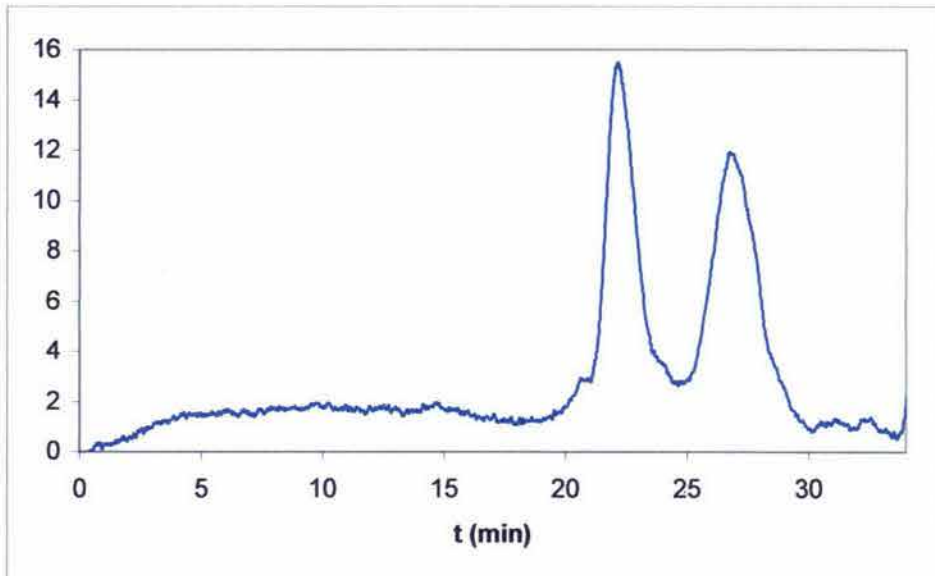
D2. Cromatograma de la muestra M2



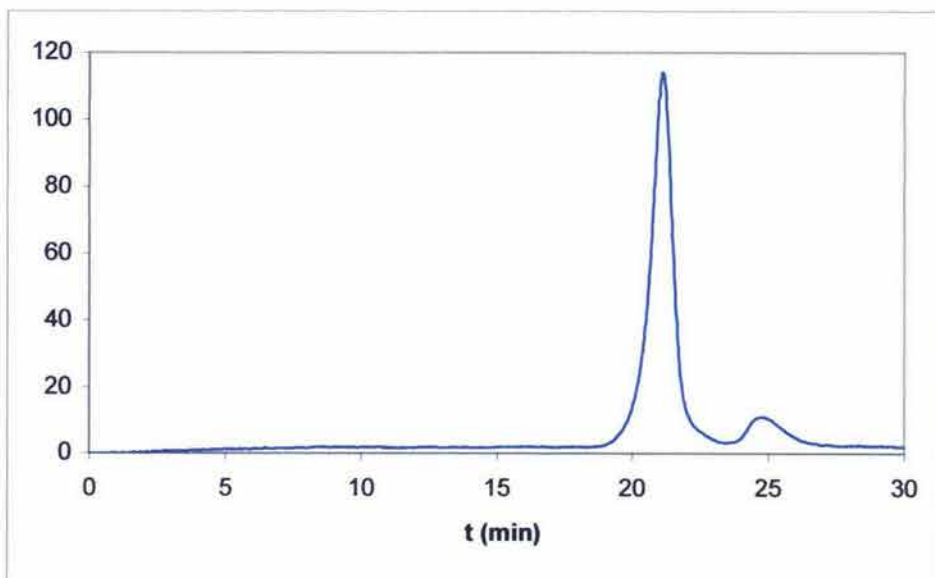
D3. Cromatograma de la muestra M3



D4. Cromatograma de la muestra M4



D5. Cromatograma del extracto de la muestra de látex LI



D6. Cromatograma de la muestra de látex LII

9650989-6

56-76-82-94

crifouco@yahoo.com