

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**Aplicación de la Resonancia Magnética Nuclear
al Control Químico Industrial y Farmacéutico
de Compuestos Orgánicos.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MA. DEL CARMEN PONCIANO RODRIGUEZ**

MEXICO, D. F.

1971



Universidad Nacional
Autónoma de México

Biblioteca Central

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



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.

JURADO:

PRESIDENTE	FRANCISCO SANCHEZ VIESCA.
VOCAL	ANGEL GUZMAN SANCHEZ.
SECRETARIO	LUIS MIRAMONTES CARDENAS.
1er SUPLENTE	ELVIRA SANTOS SANTOS DE FLORES.
2do SUPLENTE	GLORIA PEREZ CENDEJAS.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

**FACULTAD DE QUIMICA
BIBLIOTECA.**

SUSTENTANTE

MARIA DEL CARMEN PONCIANO RODRIGUEZ

ASESOR DEL TEMA

DR. ANGEL GUZMAN SANCHEZ.

COMO MUESTRA DE CARINO

Y

GRATITUD

A MIS PADRES.

Con todo mi agradecimiento al Dr.
Angel Guzmán Sánchez, por su ayuda
y orientación incondicional en todo
momento.

A MIS MAESTROS.

A TODOS MIS COMPAÑEROS.

INDICE	Pag. 1-2
INTRODUCCION	3-15
PARTE TEORICA	16-36
APLICACIONES :	
APLICACION AL ANALISIS DE POLIMEROS	37-46
APLICACION A LA DETERMINACION DE	
DIAGRAMAS DE EQUILIBRIO	47-63
APLICACION A LA DETERMINACION DE ELEMENTOS	64-81
APLICACION A PRODUCTOS FARMACEUTICOS	82-100
OTRAS APLICACIONES	101
CONCLUSIONES	102-105
BIBLIOGRAFIA	

INTRODUCCION.

Los usos más frecuentes de la resonancia magnética nuclear, han sido con el fin cualitativo de identificar protones con un contorno químico determinado, empleando las integrales del área de una señal determinada, para establecer cuántos protones de un tipo hay en una molécula estudiada. Por otra parte, también es posible usar la RMN como — arma analítica cuantitativa, siempre que el espectro que en el espectro de una mezcla sea posible identificar grupos de protones asignables a todos menos uno de los componentes de la misma, ya que la cantidad del último componente puede ser obtenido por diferencia.

Es importante hacer notar que la RMN determina un cierto número de protones, que representan las moléculas de una mezcla. Consecuentemente, los datos obtenibles estarán en unidades de fracción de mol. Si se desean evaluaciones en tanto por ciento de peso, es necesario colocar una cantidad exactamente pesada de la mezcla por analizar y agregar una cantidad conocida de una sustancia que sirva como patrón de referencia.

Además de que la mezcla por analizar debe ser soluble en un disolvente — elegido, el otro requisito es que los desplazamientos químicos de alguno ó algunos de los protones de cada componente de la mezcla (y del patrón), sean tales, que no se sobrepongan dos señales usadas en el conteo, y que en consecuencia, las integraciones puedan efectuarse adecuadamente.

Por otra parte, en el análisis cuantitativo de mezclas, por medio de la RMN no se requiere conocer los espectros de los — compuestos puros, ya que como se ha dicho, basta identificar grupos de protones de cada componente. Otras ventajas que ofrece el análisis por — RMN es que con la aplicación del método, no se consumen las sustancias.

que se han de analizar, pues éstas pueden ser recuperadas después de la determinación del espectro correspondiente.

Finalmente, este método supera a otros métodos espectrométricos y espectroscópicos, por el hecho de que no es necesario conocer el coeficiente de extensión molar, que en este caso es constante e independiente del contorno químico en el cual se encuentren los protones de que se trate.

Como podemos deducir las aplicaciones de dicho método van desde determinaciones cuantitativas de isómeros cis y trans, mezclas isoméricas y racémicas, determinación de curvas de equilibrio, aplicaciones industriales, aplicaciones farmacéuticas, etc. Obteniéndose en todos los casos resultados comparables con los valores teóricos.

PARTE TEORICA:

Dentro de las propiedades de los núcleos, podemos señalar dos grupos, que son: propiedades mecánicas y propiedades eléctricas.

a) Propiedades Mecánicas.- En este grupo tenemos el momento angular y el spin nuclear, ambos tienen influencia en el fenómeno de RMN.

El momento angular se puede definir como el que es debido al movimiento traslacional que tienen las partículas (núcleos) respecto a un punto dado, y el cual es originado por el movimiento rotacional que tiene todo cuerpo.

El movimiento rotacional de la molécula, en especial de los núcleos pertenecientes a ella, en un eje imaginario, se conoce como spin nuclear (I), dicho spin varía dependiendo de las características de masa-carga de los átomos, como se observa en la Tabla I.

Tabla I. Propiedades de los núcleos.

Número de masa	Número atómico	Número de spin(I)
impar.	par ó impar	$\frac{1}{2}, 3/2, 5/2$
par	par	0
para	impar	1, 2, 3

b) Propiedades Eléctricas.- De las propiedades eléctricas de los núcleos, las siguientes tienen influencia en la RMN:

1) Carga eléctrica del núcleo.

2) Momento magnético, ocasionado por el movimiento de la carga de un núcleo (μ).

c) Momento Eléctrico Cuadrupolar.- Se refiere a la distribución de la carga en un núcleo, dependiendo de la superficie del mismo.

Para que exista el fenómeno de resonancia magnética en un núcleo, es requisito indispensable que éste tenga spin nuclear, y como resultado de éste que posea momento magnético, además es necesario someter a éste núcleo a la presencia de un campo magnético en el cual se efectúan los siguientes dos fenómenos:

1.) Orientación en el campo, que es el número posible de orientaciones, el cual será igual a $2I + 1$, donde I = al número de spin nuclear.

Para cada orientación, corresponde una energía potencial determinada que se encuentra dada por la siguiente ecuación :

$$E_p = H_0 \cos \varphi$$

Donde H_0 = Intensidad del campo magnético.

φ = Ángulo formado por cada una de las orientaciones respecto al campo magnético.

2.) Movimiento precesional.- Tenemos que los núcleos con una orientación dada por efecto de su momento angular, tienden a disminuir el ángulo φ y a orientarse paralelamente al campo magnético, esto no se lleva a cabo debido a que existe el movimiento precesional, como se ilustra en la Fig. 1.

Además tenemos que la velocidad precesional es proporcional al campo magnético y se encuentra representada por la siguiente expresión :

$$V_0 = H_0$$

Como experimentalmente H_0 varía, se tienen diferentes velocidades -

de precesión, independientemente de esto, hay que hacer notar que existe un equilibrio dinámico entre las diferentes orientaciones de un núcleo. Este equilibrio se ve regido por la ecuación de Boltzmann, la cual aplicada al caso particular del hidrógeno queda expresada de la siguiente forma:

$$\frac{N + \frac{1}{2}}{N - \frac{1}{2}} = 1 + \frac{2 \mu H_0}{k T} = 1.000006^{11}$$

¹¹ La diferencia entre ésta cantidad y la unidad, ó sea el exceso de núcleos en una orientación, es la que realmente registra el aparato de RMN.

Esto lo podemos explicar de la siguiente manera,. Si tenemos un protón en un campo magnético estático externo, éste puede asumir solamente dos orientaciones en dicho campo, las cuales corresponden a una energía que es igual a $\pm \mu H_0$. Dentro de las dos orientaciones, la de baja energía, corresponde a aquel estado en el cual el momento magnético nuclear está alineado paralelamente al campo magnético externo, y la orientación de alta energía corresponde al estado en el cual el momento magnético nuclear está alineado antiparalelamente a dicho campo.

Es posible inducir transiciones entre estos dos estados de orientación, siendo ν la frecuencia de la radiación electromagnética necesaria para cada transición y quedando expresada por:

$$\nu = 2 \mu H_0 / h$$

Donde H_0 es la fuerza del campo magnético externo.

La frecuencia precesional de un núcleo girando, es exactamente igual a la frecuencia de la radiación electromagnética necesaria para inducir una transición de un giro nuclear a otro.

La transición nuclear corresponde a un cambio en el ángulo que el eje del imán nuclear forma con el campo magnético aplicado, éste cambio puede ser roto antes a través de la aplicación de la radiación electromagnética, cuyo vector magnético que lo compone se encuentra rotando en un plano perpendicular al campo magnético principal.

Cuando la frecuencia del campo magnético de rotación y la frecuencia precesional del núcleo es igual, se dice que está en resonancia, y la absorción ó emisión de energía por medio del núcleo puede entonces tener lugar, por lo tanto la resonancia nuclear puede ocurrir cuando un núcleo ($I > 0$) es puesto en un campo magnético estable y es además sometido a una radiación electromagnética de una frecuencia apropiada.

La teoría de la radiación magnética nos indica que la probabilidad de una transición hacia arriba en un campo magnético por absorción de energía, es exactamente igual a la probabilidad que existe de un estado de transición hacia abajo por un proceso estimulado por el campo. Además de lo anterior, la teoría nos muestra que una transición espontánea de un estado de alta energía a un estado de baja energía es posible en la región de radio frecuencia.

Por lo tanto si los dos estados de giro son posibles en un conjunto de núcleos

en los cuales la población es exactamente igual, la posibilidad de un estado de transición elevado, sería exactamente igual que la transición a baja energía, y por lo tanto podría haber un efecto de resonancia nuclear no observable.

Sin embargo bajo condiciones ordinarias en un campo magnético, hay un ligero exceso de núcleos en el estado de baja energía (baja energía de orientación), en el cual ellos toman una distribución de Boltzmann, que en condiciones normales posee un valor de 0.001 %, que - aunque es un valor demasiado pequeño, nos da el exceso finito de núcleos en un estado de bajo nivel de energía en la región de radio frecuencia, sin éste pequeño exceso de núcleos, no habría fenómeno de RMN.

Como el conjunto de núcleos frecuentemente absorbe radiación en la región de radio frecuencia, el exceso de núcleos que estaban originalmente en un bajo estado pueda disminuir, de acuerdo con esto la intensidad de absorción puede disminuir y puede bajo ciertas circunstancias desaparecer enteramente. Tal fenómeno se conoce como - saturación, el cual se define como sigue: es el fenómeno en el cual la población de núcleos en los dos estados de spins se iguala.

Como no existe un mecanismo para que el núcleo en un estado de alta energía pueda retornar a uno de baja energía, transcurre un periodo de tiempo para que el exceso inicial de núcleos en estado de - baja energía pueda volver a su estado inicial. La transición por medio la cual un núcleo en estado de alto giro retorne a uno de bajo giro, se conoce como relajación ó proceso de relajación, existiendo dos tipos de ellos, que son : relajación spin - spin y relajación rel- spin, la pri-

mera de ellas se efectúa por medio del cambio mutuo de giro de dos núcleos en estado de precesión y los cuales se encuentran muy cercanos uno del otro.

Asociado con cada núcleo precesionado hay un componente del vector magnético rotando en un plano perpendicular al campo principal, si dos núcleos se encuentran muy próximos, éste pequeño campo de rotación magnético es el que se requiere para inducir una transición con el núcleo vecino. Por lo tanto este mutuo cambio de giros; (relajación spin-spin) acorta el tiempo de vida del núcleo individual en un alto estado de giro, lo cual no contribuye al mantenimiento del exceso de núcleos requeridos en un bajo estado de giro.

En cuanto al término red ó enrejado, se refiere a las estructuras de las moléculas (de disolventes simples, líquidos, gases ó sólidos) que contienen un núcleo en estado de precesión, todas éstas moléculas poseen un movimiento de translación, rotación y vibración, que tienen propiedades magnéticas, por lo tanto en la red se encuentran una variedad de pequeños campos magnéticos.

En el enrejado existe un pequeño campo magnético particular propiamente orientado, en el cual se puede inducir a la transición en un imán magnético nuclear con precesión particular de un estado de alta energía a uno de baja energía.

La energía de esta transición es transmitida al componente del enrejado como energía translacional, vibracional y rotacional adicional.

No obstante la energía total del sistema permanece inalterable, así un núcleo puede ser regresado de un estado de alta energía a uno de bajo nivel, este proceso mantiene el exceso de núcleos necesarios en un estado de baja energía, condición indispensable para la observación del fenómeno de RPN.

De acuerdo con lo anterior podemos decir que en cuanto a las líneas espectrales, la amplitud de las mismas es inversamente proporcional al promedio del tiempo empleado en el sistema en el estado excitado.

Así podemos observar señales agudas cuando existe un estado de excitación prolongado, en cambio las líneas anchas se pueden observar cuando se presentan estados de excitación de vida corta, por lo tanto en la amplitud de las líneas espectrales vemos la influencia de los procesos de relajación spin-spin y red-spin.

Lo anterior lo podemos comprobar claramente con el caso que presentan los sólidos o líquidos muy viscosos, en los cuales los movimientos moleculares se encuentran muy restringidos, por lo tanto las relajaciones enrejado-spin se presentan con poca frecuencia, de acuerdo con esto la mayoría de los líquidos viscosos presentan un tiempo de relajación enrejado-spin muy largo. En otros términos los sólidos y líquidos muy viscosos usualmente suministran núcleos convenientemente orientados en un bajo estado de giro, el cual puede cambiarse a un estado de alto giro, obteniéndose por consiguiente un tiempo de relajación spin-spin muy corto, sentando por lo tanto líneas espectrales anchas.

Existen factores adicionales que influyen también en la amplitud de las líneas espectrales como son los ensanchamientos paramagnéticos resultantes de la presencia de moléculas paramagnéticas como el oxígeno disuelto en la muestra ó también la presencia de iones presentes en la muestra, teniendo como resultado que los tiempos de relajación spin - enrejado se reducen grandemente, por lo tanto es recomendable liberar a la muestra por analizar del oxígeno que pudiera tener.

La posición de la frecuencia de resonancia de un protón con respecto a una línea escogida arbitrariamente se conoce como desplazamiento químico.

Existen en la RMN fenómenos llamados de protección, que se encuentran asociados con la densidad electrónica que rodea al núcleo tomado en consideración, ó con la corriente electrónica en la cual se encuentra el núcleo, así tenemos protección debida a los electrones que se encuentran inmediatos al núcleo y protecciones a larga distancia.

En las protecciones por densidad electrónica y la forma como afecta a los protones, se debe al aumento ó disminución de la electronegatividad de los grupos próximos al protón considerado. Mientras más electronegativo sea un grupo vecino, el protón presentará su resonancia en un campo menor.

Dentro de las protecciones por densidad electrónica, tenemos dos casos diferentes, la debida a corrientes diamagnéticas locales que son corrientes electrónicas de circulación opuesta al campo magnético principal, con lo cual se reduce el campo real experimentado por los núcleos, se dice que ésta protección es positi-

va, debido a que las señales aparecen en campos más altos. El otro tipo de protección, se conoce como protección paramagnética, la cual depende de la orientación de grupo dado, respecto al campo magnético. Las circulaciones paramagnéticas alrededor de un núcleo producen un campo magnético secundario, paralelo, y en el mismo sentido que el campo magnético principal, con lo que la protección del núcleo disminuye, ya que soporta ambas intensidades, y la señal de resonancia aparece a campo más bajo.

En la protección a larga distancia tenemos que cierto tipo de estructuras, hacen posible la circulación de electrones a través de un número relativamente grande de centros atómicos y entonces se tiene la protección a larga distancia. Este tipo de corrientes diamagnéticas son generadas de átomo a átomo, y se desarrollan fácilmente en curvas amplias cerradas, como en el caso de los orbitales π del benceno.

Los tres mecanismos de protección son el resultado de corrientes inducidas, que son proporcionales al campo magnético aplicado.

Por lo tanto podemos obtener una importante conclusión derivada directamente de la experiencia antes mencionada, y que es: "La frecuencia del desplazamiento químico es directamente proporcional a la fuerza del campo aplicado."

En un campo magnético fuerte, se podrán observar bandas para cada grupo de protones eivalentes. Como el mismo tipo de transición la experimentan cada uno de los protones, la intensidad de una banda, dada por el área bajo la curva, será proporcional al número de protones de cada grupo.

Para medir los desplazamientos químicos, existen sustancias que se toman como estándares de referencia.

cia, y puede ser ésta referencia externa ó interna, externa cuando se encuentra separada de la solución por analizar o interna - cuando se encuentra en la misma solución que la sustancia cuyo espectro se desea .

El compuesto más comunmente conocido y usado en éstas determinaciones es el TMS, por sus propiedades, por - ejemplo, el ser químicamente inerte y que no puede eliminarse con facilidad después de detraer el espectro, además tiene como - otra de sus propiedades, el de ser magnéticamente isotópico, y sus protones dan una señal únicamente, sin complicaciones.

Otro de los compuestos que puede usarse - es el DSS (sal disódica del ácido 2,2 - dimetil, penta-2- sila-5- sulfónico) aunque puede producir señales que pueden llegar a interferir en la determinación.⁵

Existen entre los núcleos interacciones magnéticas entre los diferentes tipos de ellos y éstas son conocidas como interacciones - spin - spin,, y a la distancia que exista entre los picos de una señal múltiple dada, se le llama constante de acoplamiento (J), la cual toma diferentes valores, según cada caso en particular, además es independiente del campo magnético.

Para calcular la multiplicidad de las señales causadas por ésta interacción, se han postulado tres reglas:

- 1) Núcleos de un grupo equivalente no interaccionan entre sí y dan una señal simple (ejem: los tres H del metilo).
- 2) La multiplicidad de una banda de grupos equivalentes está determinada por los núcleos cercanos de spin equivalente, que cau-

van $(2n + 1)$ bandas, por ejemplo la interacción de un metilo con un metileno.

3) Si hay más de dos grupos no equivalentes interaccionando entre sí, la multiplicidad de uno de ellos será $(2n + 1)(2n' + 1) \dots$ en donde n y n' representan este número de núcleos interaccionando y los cuales son equivalentes.

Estas reglas sólo se aplican cuando el desplazamiento químico entre los protones acoplados es grande en comparación con las constantes de acoplamiento, se dice entonces, que los patrones spin-spin son de primer orden⁶.

Para el caso particular del protón las intensidades relativas de los picos de una señal múltiple está dada por los coeficientes de desarrollo del binomio de Newton.

Tenemos además patrones de acoplamiento para los protones cuyos desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento son del mismo orden, los cuales se representan por medio de las letras A, B, etc. Es decir si se trata de los núcleos equivalentes se simbolizan por A_n , B_n , etc.

Si tenemos dos núcleos equivalentes, se simboliza por A_2 , cuando varios núcleos interaccionan entre sí ó están acoplados, por ejemplo un núcleo A con varios núcleos B, la constante de acoplamiento entre A y cada núcleo B, tiene que ser de la misma magnitud.^{1,2}

Cuando A tiene un desplazamiento químico muy diferente del de otro protón con el cual interacciona, éste último se representa como X, Y, etc., y cuando el desplazamiento es semejante al de A, se representa con las letras B, C, etc.^{1,2}

Así tenemos para dos protones que interaccionan, los siguientes sistemas : A_2 , AB, ABX.

Cuando se trata de tres protones, tenemos : sistemas A_3 , AB_2 , AX_2 , ABC y ABX. Por último tenemos el caso en el cual interacciones cuatro ó más protones : sistema A_4 , A_2X_2 , AX_3 , A_2X_2 , A_2B_2 , ABX_2 , $ABXY$, $AEDD$ y ABX_3 .

Es importante tener en cuenta que cuando los átomos de carbono π tengan hibridación sp^2 , como sucede en los compuestos aromáticos y vinílicos, los acoplamientos de los protones podrán ser a través de más de tres ligaduras, y se conocen como acoplamientos a larga distancia, como sucede en el caso de los grupos metilo que interaccionan con los protones aromáticos del benceno.

La magnitud de J las constantes de acoplamiento a larga distancia ó acoplamiento benéfico son del orden de 0.3 a 1.0 cps.³

En cambio en los protones vinílicos; el acoplamiento a través de cuatro ligaduras se denomina acoplamiento alílico y su valor depende de la posición relativa de los protones que interaccionan (cisoides ó transoides),⁴ y su valor varía aproximadamente entre 1 y 2 cps.

Existe otro tipo de acoplamiento vinílico, cuyo nombre es acoplamiento "gem", en el que interaccionan núcleos unidos al mismo carbono de una doble ligadura. La magnitud de la constante varía entre 0 y 3.5 cps.

Cuando los acoplamientos se llevan a cabo a través de cinco ligaduras de núcleos unidos a sistemas no satura

dos, se les llaman acoplamientos homociflicos, los cuales se manifiestan con constantes del orden de 1.5 cps cuando la interacción es en forma cisoida y de 0.7 cps cuando es en forma transoida.

Las consideraciones teóricas que explican estas interacciones de núcleos a larga distancia son conocidos ampliamente.⁷

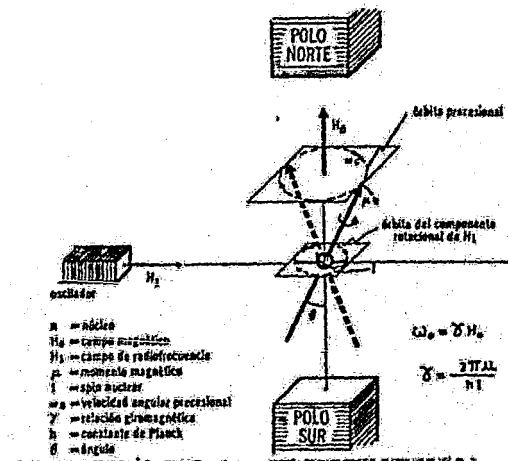


Figura 1. Comportamiento de un núcleo.

APLICACIONES.

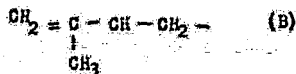
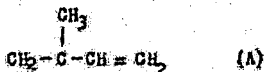
La Aplicación de la espectrometría de RMN como un método analítico cuantitativo ha ido en notable aumento durante los últimos años, sus usos para el análisis de mezclas de productos orgánicos, como polímeros y componentes de formas farmacéuticas, así como su aplicación en campos industriales se están desarrollando ampliamente.

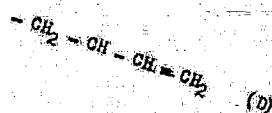
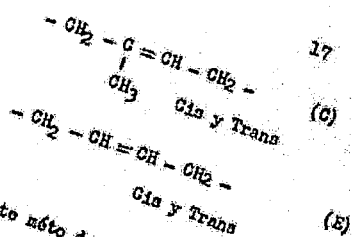
Los fines alcanzados por este método pueden variar, ya que en algunos casos las determinaciones efectuadas van encaminadas a conocer en forma cuantitativa la composición de un producto en una mezcla comercial, en otros casos el fin es encontrar directamente un método de control analítico cuantitativo reproducible y exacto de un componente específico.

APLICACION AL ANALISIS DE POLIMEROS:

Dentro de los primeros trabajos de investigación en este campo de la espectrometría de RMN, tenemos el efectuado por Hung Yu Chen (8) en el año de 1962, sobre los polímeros de butadieno-isopreno y la forma en que se puede determinar su concentración en los copolímeros por RMN de alta resolución (9).

Como se sabe los copolímeros de butadieno-isopreno, tienen un peso molecular que va de 100 000 a 200 000 y las unidades de butadieno e isopreno se encuentran en las cadenas en la siguiente forma:





Este método es altamente útil para poder determinar las concentraciones relativas, y es aplicable por lo tanto al control de calidad de polímeros, tomando en cuenta que un leve cambio en dichas concentraciones de cada componente, afecta las propiedades físicas de los mismos. Para llevar a cabo el análisis, se preparó una solución del polímero de aproximadamente 5 % por peso de muestra en CCl_4 , usando como referencia interna TMS.

También se usaron polímeros de polibutadieno y poliisopreno sintéticos de grado comercial, como compuestos de referencia sin purificar. Otros de los hidrocarburos usados como referencia se muestran en la Tabla II. El espectro de RMN para los copolímeros butadieno - isopreno con una proporción de sus componentes de 10:1 ; 4:1 ; y 1:1 se puede observar en la figura 2.

Si observamos el espectro, vemos que la proporción 1:1 presenta siete picos definidos en dos grupos distintos, dentro de los cuales los picos 1,2,3, presentes a campo bajo del espectro, son característicos de varios protones unidos directamente a carbonos de tipo olefínico, mientras que los picos 4,5,6, y 7 que se encuentran a campos altos, son característicos de los protones remanentes de la molécula.

Tabla II. Picos asignados para el copolimero butadieno - isopreno (1:1).
 Desplazamiento químico del pico, p.p.m. de TMS.

Pico No.	Desplazamiento del pico, p.p.m. de TMS.	Tipo de protón	Compuesto de referencia.	Desplazamiento químico del comp. de ref., en p.p.m. de T.M.S.
1	5.30	- CH = CH ₂ -	1,5- Hexadieno 1- Octeno 1- Hexeno 1- Penteno	5.56
2	5.03	- CH = CH - - CH = CH ₂	Poliisobutadieno cis y trans 1,5- Hexadieno 1- Octeno 1- Hexeno 1- Penteno	5.31 4.86
3	4.65	CH ₃ - CH = C -	Hule natural	5.05
4	1.98	CH ₃ CH - C = C	2- Etil-1- buteno 2,4,4- Trimetil- 1- penteno.	4.62
5	1.58	CH ₃ - C = C	Poliisobutadieno cis y trans	1.98
6	1.26	CH - C - C	Hule natural	1.68
7	0.92	CH ₃ - C - C	...	...
			...	...
			...	...

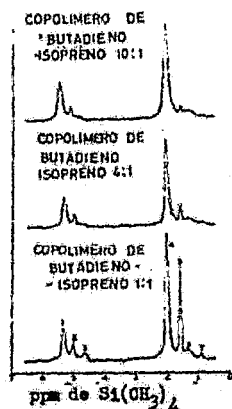


Figura 2. Espectro de alta resolución de copolímeros de butadieno - isopreno.

Todas las asignaciones anteriores fueron hechas tomando en cuenta los resultados obtenidos para los compuestos de referencia, de estructura ya conocida y la cual se encuentra indicada también en la Tabla II.

Como sabemos el área que se encuentra bajo los picos de absorción, es directamente proporcional a la concentración de protones que contribuyen a ella, proveniente de $\gamma^4 H_1^2 T_1 T_2 \ll 1$, donde γ es el radio giro magnético del protón; H es igual a la fuerza del campo de radio frecuencia y T_1 y T_2 corresponden a las constantes de tiempo de relajación spin - red y spin - spin.

Assumiendo que existe una pequeña cantidad de polimerización secundaria a través de las dobles ligaduras presentes en el polímero, se puede calcular la concentración relativa de unidades de la A a la E usando las siguientes ecuaciones simultáneas:

$$3[a] + 2[b] + [c] + 3[d] + 2[e] = \% \text{ del área de los picos } 1+2+3 \quad (1)$$

$$[b] + 4[c] + [d] + 4[e] = \% \text{ del área del pico } 4 \quad (2)$$

$$3[b] + 3[c] = \% \text{ del área del pico } 5$$

$$[a] + [d] + 2 [e] = \% \text{ del Área del pico 1} \quad (4)$$

$$2 [b] = \% \text{ del Área del pico 3} \quad (5)$$

$$2 [c] = \% \text{ del Área del pico 7} \quad (6)$$

El área individual de los picos se expresa como porcentaje del área total de todos los picos. En las ecuaciones anteriores tenemos que $[a]$ a $[e]$ son las concentraciones relativas en moles por ciento correspondientes a las estructuras representadas de A a E.

Las ecuaciones de la 2 a la 6 se usaron para calcular las concentraciones de los cinco componentes, sustituyendo los valores obtenidos en la ecuación 1.

Tabla III. Composición del copolímero butadieno - isopreno (1:1).

Grupo	Concentración encontrada en % de moles.
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}_2 - \text{C} - \text{CH} = \text{CH}_2 \end{array}$	8, 10, 9
$\begin{array}{c} \text{CH}_2 = \text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 - \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	14, 16, 15
$\begin{array}{c} -\text{CH}_2 - \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	34, 30, 32
$-\text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} = \text{CH}_2$	4, 1, 1
$-\text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 -$	40, 43, 43

Tabla IV. Composición del hule natural y del copolímero butadieno - isopreno (1:1).

Grupo	Mezcla 1 % de moles		Mezcla 2 % de moles		Mezcla 3 % de moles	
	Enc.	Calc.	Enc.	Calc.	Enc.	Calc.
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}_2 - \text{C} - \text{CH} = \text{CH}_2 \end{array}$	7	8	10	8	8	8
$\begin{array}{c} \text{CH}_2 = \text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	12	13	14	13	14	13
$\begin{array}{c} -\text{CH}_2 - \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	43	40	38	37	43	40
$- \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2$	2	4	2	4	1	4
$- \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 -$	36	36	38	38	35	37

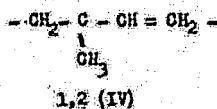
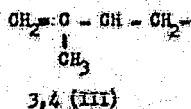
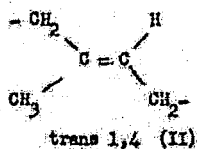
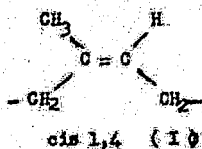
Si observamos la Tabla III veremos que la precisión obtenida en la determinación de un copolímero típico de butadieno - isopreno, cuya composición relativa es de 1:1 es aceptable, existiendo no obstante un error aproximado de 2 - 3 %.

En la Tabla IV se muestran los datos calculados y los resultados de las determinaciones experimentales para la composición de tres mezclas independientes.

Como sabemos en las determinaciones cuantitativas por RMN el manejo del espectrómetro es muy importante y esto se ha discutido ampliamente (10) (11) (12) (13), en el presente estudio tenemos que para los copolímeros de butadieno - isopreno, la concentración de la solución está limitada por la solubilidad de los mismos y su viscosidad limitaciones con esto también la posibilidad de incrementar la señal -

tud de la señal, la cual es directamente proporcional a la concentración. La exactitud del método depende de la eficacia con la cual se pueden separar las señales que se sobreponen, en este caso la separación de los picos 4 y 5 fue la más crítica y esto se ve reflejado en el método de cálculo descrito antes.

Siguiendo con estos estudios, el mismo investigador publicó un trabajo (14) también en 1962, en el cual describe un método para la determinación cuantitativa del contenido de isómeros cis 1,4 y trans 1,4 en 1,4-poliisopreno, usando espectrometría de RMN. Los isómeros presentan las siguientes estructuras:



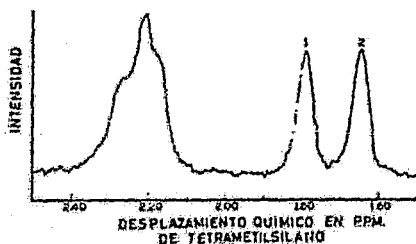
Como veremos más adelante, con variaciones adecuadas este método es aplicable a la determinación de isómeros 3,4 (III) y 1,2 (IV) también.

Para la determinación del contenido de isómeros 1,4 cis y trans, se usan bandas bien definidas y de alta intensidad que presentan los espectros correspondientes. El método gracias a esta característica es sensible y el error es aproximadamente de 0,5 %.

El espectro de RMN obtenido con una mezcla de hule natural cis y trans 1,4, nos muestra que los grupos metilo de las unidades I y -

II no son equivalentes, y usando alta resolución se puede observar — como dos picos bien definidos y cuya separación depende del disolvente — usado, habiéndose encontrado que el benceno es el mejor.

El espectro obtenido se presenta en la Figura 3, pudiendo observar en — él los picos correspondientes para las unidades *cis* y *trans* 1,4 presentes en la mezcla de aproximadamente 3 % de hule Havia y Balata en benceno. Las concentraciones de estas unidades se pueden determinar por medio de la medición exacta de las dos áreas de los picos.



Espectro de R M F de una mezcla de 1,4 - poli-isopreno *cis* y *trans*.

1. Pico perteneciente al protón metílico- *cis*.
2. Pico perteneciente al protón metílico - *trans*.

En la Tabla V se muestran los resultados del análisis para cuatro mezclas de hule Havia - Balata sintéticos. Lo importante de este trabajo es que se determinó con exactitud la posición de la señal del grupo metilo de — la estructura III, usando como referencia 2,5 - dimetil, 1,5 - hexadieno y un polímero de poli- isopreno con alto contenido de la unidad 3,4 — incluidos en benceno.

Tabla V. Composición calculada y encontrada de mezclas de 1,4 poli-isopreno sintéticas.

Solución	Contenido de cis 1,4, en moles por ciento. ¹	
	Calculada	Encontrada
1	22.62	22.81
2	39.47	39.71
3	58.58	58.43
4	67.05	66.48

¹ El porcentaje de moles 1,4 -cis, más el porcentaje de moles de 1,4 -trans = 100.

Tabla VI. Análisis de poli- isoprenos sintéticos.

(% de moles)

Muestra	Cont. 1,4-cis	Cont. 1,4-trans	Cont. 1,2	Cont. 3,4
1	66	24	0	10
2	63	17	10	10
3	0	7	19	74

Dentro de los límites del error experimental se encontró que este pico tiene el mismo desplazamiento químico correspondiente al pico - del nitrilo de la unidad 1,4 - trans.

Con lo anterior el método se pudo - extender al análisis de poli- isoprenos que contengan los cuatro tipos- de unidades, teniendo un error aproximado de 2-3 %, ya que el contenido de unidades 1,4 ; 1,2 ; 1,3 ; se determinó por el procedimiento previamente descrito (8) y las unidades 1,4 - cis; 1,4 - trans y 3,4 se deter- minaron por el presente método. En la Tabla VI se muestran los resulta- dos obtenidos con tres polímeros sintéticos.

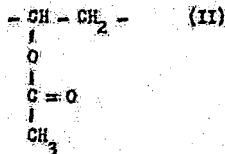
La exactitud y sensibilidad del método es considerablemente mejor que el que presenta el basado en la espectroscopia de infrarojo.

Otra de las determinaciones cuantitativas interesante dentro del estudio de polímeros apareció en 1964 (15), refiriéndose a la determinación del contenido de acetato de vinilo en copolímeros formados por etileno-acetato de vinilo, usando como en los casos anteriores RMN de alta resolución.

El método aquí descrito está basado en el hecho de que la relación de protones calculados por unidad de peso de los monómeros - de etileno y acetato de vinilo es aproximadamente de 2:1.

Por medio de la determinación del contenido de protones por unidad de peso del copolímero, se pueda obtener el contenido de acetato de vinilo del mismo. Ya que el método depende de la determinación total de protones calculados por unidad de peso del copolímero, la sobreposición de los picos no tiene importancia, en este caso particular esto nos da oportunidad de poder usar éste método para copolímeros con mínimo 1 % hasta un gran contenido de acetato de vinilo, siendo este porcentaje prácticamente el límite en el que pierde exactitud el método.

En los copolímeros de etileno - acetato de vinilo, se encuentran las siguientes unidades monoméricas:



El método está basado en el principio de que el pico correspondiente al grupo metilo en la unidad monomérica (II), se separa de los picos co-

respondientes a los protones metilénicos. De la determinación relativa de estos dos grupos de picos, se obtiene rápidamente el contenido de acetato de vinilo en un copolímero.

Antes de que éste método fuera desarrollado, otros investigadores reportaron uno similar (16), sin embargo éste tiene el inconveniente de que al aumentar la concentración de acetato de vinilo se observa un "colec" de la señal correspondiente a los grupos metileno y como consecuencia hay una superposición con el pico del grupo metilo. El nuevo método aquí descrito elimina esta dificultad usando como estándar interno ferroceno.

Este último procedimiento fue probado primero con nueve mezclas de acetato de vinilo y *n*-octacosano. Los resultados de éste análisis se presentan en la Tabla VII.

Tabla VII. Contenido de acetato de vinilo en mezclas de acetato de polivinilo y *n*-octacosano.

Mezcla	% de peso presente.	% de peso encontrado.	Diferencia
1	10.33	10.2	+ 0.13
2	19.88	20.1	+ 0.22
3	29.90	30.1	+ 0.20
4	39.95	38.8	- 1.15
5	50.05	50.1	+ 0.05
6	60.30	59.1	- 1.20
7	69.86	70.9	+ 1.04
8	80.58	80.2	- 0.38
9	90.00	90.3	+ 0.30

Cada uno de los valores corresponde al promedio de diez integraciones -

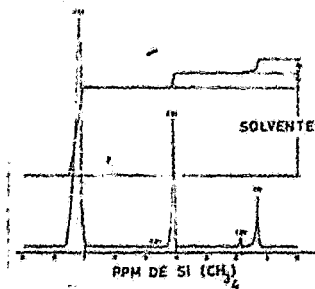


Fig. 4 Espectro e integral de una muestra en solución de un copolímero de etileno-acetato de vinilo.

En la figura 4 podemos observar las señales o líneas espectrales de una muestra de copolímero de etileno-acetato de vinilo en solución, el pico 1 corresponde al grupo $-\text{CH}_2-$; el pico 2 al grupo $\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$; y el pico 3 al ferroceno; el pico 4 al grupo $\text{CH}-$ y el pico 5 al clorobenceno, que fue usado como disolvente.

La relación entre la fracción del peso del acetato de vinilo en el copolímero y la determinación de las áreas de los picos, se obtiene de la siguiente ecuación:

$$\frac{I_f}{I_c} = \frac{\frac{10}{185.92} \cdot W_f}{X \cdot W_c} \quad (1)$$

Donde:

I_f = Área del pico del estándar interno.

I_c = Área del pico característico de los protones en el copolímero.

W_f = Peso del estándar interno usado.

W_c = Peso del copolímero usado.

X = Protones calculados por unidad de peso del copolímero por determinar.

$$X = \frac{1.0}{185.92} \cdot \frac{W_F}{W_C} \cdot \frac{I_0}{I_F} \quad (2)$$

La ecuación anterior es la ecuación (1) modificada. Pero para el cálculo de protones por unidad de peso de un copolímero compuesto de unidades monoméricas I y II con cálculo de protones por unidad de peso de 4/28.03 y 5/86.05 respectivamente, se puede expresar así:

$$X = \frac{4}{28.03} (1 - \alpha) + \frac{5}{86.05} \alpha \quad (3)$$

Donde α = fracción de peso de acetato de vinilo en el copolímero.

Cuando X se determina por medio de la ecuación (2), el peso de la fracción de acetato de vinilo en el copolímero se puede determinar por medio de la ecuación (3). En vista de que la relación entre α y X es lineal, la determinación de α a partir de X se puede simplificar con una gráfica de α contra X, donde los límites para α serían de cero a uno.

Para poder estar seguros de que este método es también aplicable a copolímeros de tipo comercial, se analizaron una serie de seis de ellos, los resultados se muestran en la Tabla VIII.

Tabla VIII. Contenido de acetato de vinilo en copolímeros comerciales de estileno - acetato de vinilo.

Copolímeros	Acetato de vinilo		% de desv. estándar.
	% de peso presente.	% de peso encontrado	
Du Pont Elvax 150	31 - 33	33.4	1.1
Du Pont Elvax 220	28 - 30	29.3	1.3
Du Pont Elvax 250	28 - 30	30.9	1.0
Bayer Levapren K A 5021	30	30.0	0.6
Bayer Levapren 450	45	43.5	0.7
Bayer Levapren KA5023	70	69.0	1.3

Si se desean obtener resultados positivos de este método, se daba de tomar en cuenta que en la determinación experimental es una condición importante, tanto para el copolímero como para el estándar de referencia interna el estar completamente disueltos y que la solución que se forme sea homogénea, tomando en cuenta lo anterior se evitan serios errores en la determinación.

David W. Carlson (17) en 1969 llevó a cabo un trabajo en el que realizó la determinación cuantitativa de la composición de varios hules vulcanizados como hule natural, polibutadieno y copolímeros de butadieno - estireno.

Las muestras de hule vulcanizado se extrajeron usando como disolvente acetona. A 0.250 g de la muestra extraída se le adicionaron 4 ml. de hexaclorobutadieno y se calentaron a 160° C, extrayéndose en esta forma el polímero después de dos horas de calentamiento. Después se filtró la solución y al filtrado se le adicionó T.H.E. como estándar interno. El espectro se obtuvo a la temperatura ambiente.

En este caso las ecuaciones usadas para calcular la composición de los polímeros por RMN fueron publicadas por Nochel (18), los espectros obtenidos son de una calidad comparable a los obtenidos con polímeros puros, además se encontró una gran concordancia entre los datos calculados para las cantidades presentes de butadieno, hule natural y estireno y los valores encontrados. Sin embargo se señala como una falla del método al no distinguir la unidad de butadieno del poli-butadieno y al butadieno perteneciente a los copolímeros de butadieno - estireno como se puede observar en la Tabla II.

Se encontraron además las cantidades relativas de 1,2-butadieno y copolímeros de butadieno - estireno en que se encuentran en mezclas de butadieno - estireno.

Tabla IX. Determinación de la composición de polímeros.

Composición de la fórmula calculada.				
Estirano	H uls nat.	Total	Butadieno	
			1,4 -	1,2 -
15.5			75.2	9.3
12.0			50.5	37.5
	25.0	75.0		
	40.0	60.0		
20.0	20.0	60.0		
17.0	30.0	53.0		
16.7	35.0	51.7		
15.6	40.0	44.4		
13.2	40.0	46.8		
11.0	50.0	39.0		
8.8	60.0	31.2		

Composición de la fórmula encontrada.

13.7			76.5	9.8
11.7			47.3	41.4
	27.1	72.9		
	42.0	58.0		
20.0	24.3	55.7		
15.5	31.0	53.5		
16.0	36.0	48.0		
16.6	41.7	41.7		
11.6	44.0	42.9		
9.7	50.0	40.3		
5.0	64.0	31.0		

Se encontraron además las cantidades relativas de 1,2- butadieno y 1,4- butadieno en los casos en que se presentan mezclas de poli-butadieno y copolímeros de butadieno - estireno. Sin embargo no se pudieron calcular las cantidades individuales de butadieno 1,4 cis y trans, pues existe una sobreposición completa de las señales como lo muestra la Figura 5.

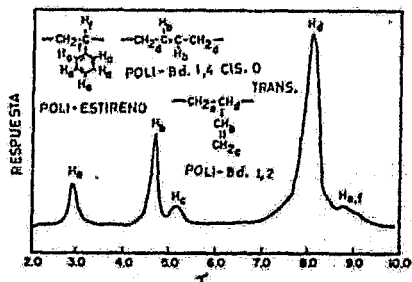


Figura 5. Espectro de RMN de hule vulcanizado conteniendo una mezcla de polibutadieno y copolímero de butadieno - estireno.

Las señales de los protones metilénicos del butadieno y el hule natural se sobreponen a la señal del grupo metilo del hule natural. El grado de sobreposición puede variar de acuerdo con la eficiencia de disolución - de la muestra, que en el caso de polímeros se ha visto ya que es de suma importancia.

Por la razón anterior al área correspondiente a la señal del grupo metílico se midió exactamente de la pendiente inicial y final de la señal para reducir cualquier contribución de la sobreposición de las señales como se muestra en las figuras 6 y 7 por medio de flechas - si la medición no se hace de esta forma los resultados obtenidos son - generalmente altos.

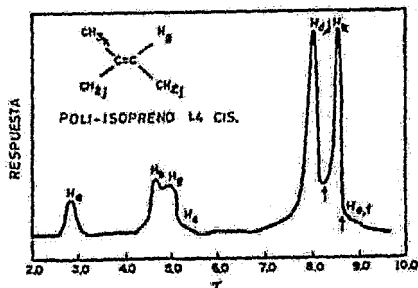


Figura 6. Espectro de RMN de hule vulcanizado conteniendo una mezcla de hule natural y copolímero de butadieno-estireno.

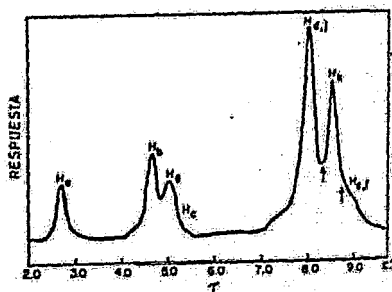


Figura 7. Espectro de RMN de hule vulcanizado conteniendo una mezcla de hule natural, polibutadieno, y copolímero de butadieno-estireno.

En cuanto a los disolventes usados, tenemos que tanto el naftaleno como el orto y para-dicloro benceno; el 1,2,4- tricloroetileno y el 1,1², 2 2' tetracloroetano, disuelven a las muestras de hule vulcanizado a una temperatura alrededor de 160° C. Si se usa un disolvente aromático se presenta la desventaja de que hay interferencia con las señales de los protones aromáticos del estireno.

Dentro de esta misma clase de investigaciones, tenemos la realizada -- por R. A. Spragg en 1970 acerca del estudio de resinas de fenol-formaldehído (19), por RMI.

La información que nos proporciona el espectro de RMN del protón pertenecientes a las resinas formadas por fenol-formaldehído solubles, es muy detallada acerca de la estructura química de las mismas, la cual es difícil de obtener por otras técnicas.

Las resinas de fenol-formaldehído se dividen en dos grupos: las no volátiles, preparadas por medio de mezclas con exceso de fenol, y resoles, que se obtienen con un exceso de formaldehído. Las no volátiles consisten de un núcleo fenólico unido por uniones metilénicas a las posiciones orto ó para con respecto al grupo oxidrilo, habiendo tres posibles isómeros: orto-orto, orto-para, y para-para.

La ventaja que presenta este tipo de análisis es que los desplazamientos químicos son diferentes para cada isómero.

En solución de acetona las señales correspondientes a las señales para las uniones orto-orto y orto-para no aparecen bien definidas (20), pero en piridina los desplazamientos químicos presentan una diferencia considerablemente aceptable (21), con lo cual es posible identificar a cada isómero. La integración de las señales de los tres isómeros nos da una información cuantitativa de la proporción de cada uno de ellos.

La investigación hecha por el método de infrarojo nos proporciona datos acerca del número de sustituyentes orto y para, pero no es posible muchas veces obtener datos acerca de los tres isómeros en forma clara.

En este caso la RMN puede aplicarse también a la investigación del peso molecular de las resinas no volátiles.

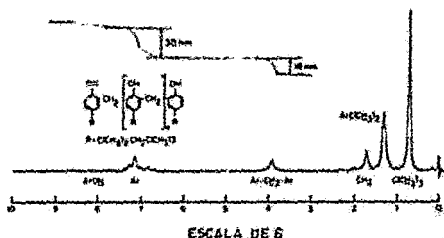


Figura 8. Espectro de RMN de p-octil fenol.

En la Figura 3 podemos observar el espectro del p-octil fenol. El número promedio de uniones metilénicas por cadena es $(n + 1)$, y el número promedio de protones aromáticos y metilénicos por molécula es de $(2n + 6)$ y $(2n + 2)$ respectivamente.

La integración del espectro nos proporciona la relación de protones aromáticos y metilénicos, que es de 30 a 18. Con lo cual tendremos:

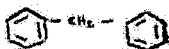
$$\frac{2n + 6}{2n + 2} = \frac{30}{18}$$

Por lo tanto $n = 2$, lo cual nos indica que la longitud promedio de la cadena es de cuatro núcleos fenólicos y el peso molecular promedio es de 860. Estos cálculos se pueden aplicar en forma similar a las integrales de los oxidrilos fenólicos ó a las señales de los grupos alquilo, dando resultados idénticos.

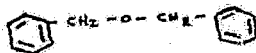
Con este ejemplo podemos ver la gran utilidad del método de RMN en la identificación de cadenas terminales de fenoles sustituidos, en este caso del grupo $(CH_3)_2 - CH_2 - C(CH_3)_3$.

Cuando los sustituyentes del anillo se encuentran en posición meta con respecto al grupo oxidrilo, la gran interferencia estérica que se presenta en la molécula, causa cambios en los desplazamientos químicos de los sustituyentes por el efecto que ejerce sobre ellos el anillo.

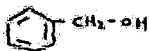
Por ejemplo, en las resinas formadas por el 3,5 xileno las señales correspondientes al grupo metilo pueden aparecer cerca de 0.8 δ en lugar de la posición normal de 2.2 δ . Tales observaciones contribuyen indudablemente en la investigación de las conformaciones de tales compuestos.



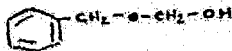
I



II



III



IV

Figura 9. Estructura de los resoles.

Las resinas formadas por resoles son más complejas que las no volátiles ya que presentan mezclas de difenil metano (I) y dibencil éter (II), así como uniones hidroximetílicas (III) y bencil hexiformal (IV), como nos muestra la Figura 9.

La Figura 10 nos presenta el espectro del resol formado por *t*-butil-fenol y formaldehído.

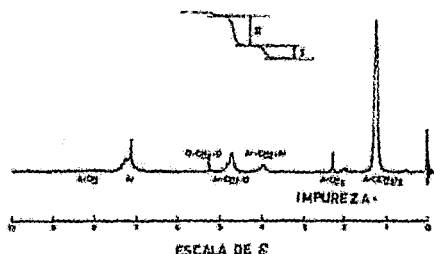


Figura 10. Espectro de RMN del resol de *t*-butil fenol y formaldehído.

La señal que aparece a 3.9 δ es similar a la que aparece en las resinas no volátiles y corresponde a las uniones del difenil metano, mientras que el pico que aparece a 4.7 δ corresponde a los protones metilénicos en las uniones dibencil éter. La señal pequeña que aparece en 5.2 δ corresponde al formaldehído polimerizado.

La integración de los picos metilénicos nos da a conocer la proporción de los dos tipos de uniones presentes en la resina. Las señales para el grupo hidroximetílico así como la correspondiente al grupo hemiformal, pueden aparecer también en la región comprendida de 4.5 - 5.0 δ , pero se pueden identificar rápidamente por su desplazamiento característico a bajo campo cuando la resina se encuentra acetilada (22).

El estudio de el espectro de RMN de un resol y su derivado acetilado nos puede proporcionar datos cuantitativos acerca de las especies presentes. Esto continúa para comprender mejor el complejo mecanismo que sigue a la reacción de condensación del fenol - formaldehído. (22)(23).

APLICACION A LA DETERMINACION DE DIAGRAMAS DE EQUILIBRIO.

Existe una serie de trabajos dentro de este campo, presentados por A. - Manjarrez y colaboradores, apareciendo el primero de ellos en 1965 (24), el cual se refiere a la determinación del diagrama de equilibrio vapor-líquido formado por el sistema benceno-etil benceno correspondiente a un sistema ideal.

Como sabemos la RMN tiene ventajas sobre otros métodos espectrométricos en el análisis de mezclas binarias de líquidos. Una de ellas es que no es necesario conocer el coeficiente de extinción molar, ya que éste es constante e independiente del medio ambiente que rodea al protón en - consideración, la otra es que la intensidad de una señal de RMN es proporcional al número de núcleos de hidrógeno u otro elemento factible de determinar por este método y puede medirse como ya se sabe por medio de la integración del área que se encuentra bajo la curva.

Por lo tanto este método es aplicable al análisis de mezclas tales como las obtenidas del equilibrio existente entre el vapor y una mezcla de benceno y etilbenceno.

La fracción mol de etilbenceno en el vapor puede determinarse por medio de la integración del área bajo los picos correspondientes a los protones del etilo.

El segundo de los trabajos a éste respecto se refiere a la determinación del diagrama de equilibrio de una mezcla azeotrópica binaria, compuesta por agua - p-dioxano (25).

Con el objeto de poder determinar el diagrama de equilibrio de ésta sistema, se seleccionaron técnicas para la recolección de una muestra de vapor en equilibrio con su correspondiente líquido, para la determinación cuantitativa de sus componentes.

Las ventajas que éste método presenta fueron ya analizadas en el trabajo anterior, en este caso particular, la validez del método se demostró por comparación entre los datos obtenidos por él y los que se obtuvieron por cromatografía en fase vapor (26).

En forma similar al trabajo anterior, una vez que se integraron las señales de RMN pertenecientes a dos protones de moléculas diferentes, podemos evaluar la cantidad de cada uno de ellos, dividiendo las áreas integradas correspondientes al hidrógeno que tiene cada molécula y calculando la fracción mol con la siguiente ecuación:

$$Y = \frac{I_{a/k}}{I_{a/2} + I_{a/8}}$$

Se hicieron diferentes mezclas de los componentes de cada mezcla de los líquidos, tomándose una alícuota de ellas y analizándola por RMN por separado para tener una prueba más de la eficacia del método a través de todo el rango de composición del mismo.

Los resultados nos muestran dos cosas diferentes, uno de ellas es que el método de análisis y sus cálculos son acertados, y la otra es que la composición de las soluciones preparadas es muy cercana a las mezclas deseadas. El promedio de tres integraciones para cada pico, obtenidas del espectro de RMN correspondiente se muestran en la Tabla X.

Debido a que solamente se tenía interés en conocer la intensidad de las bandas de absorción de los protones del p-dioxano y del agua, no se usó referencia externa, ni interna.

Tabla X. Sumario de resultados.

x	C_s	C_a	W_s	W_a	I_s	I_a	N	I_s	I_a	Y
0.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.05	0.33283	49.46763	0.5286	49.4676	1.83	113.3	0.0613	3.9	80.0	0.1632
0.10	1.11072	48.88928	1.1108	48.8896	3.3	122.7	0.0571	9.2	78.3	0.3197
0.15	1.86201	48.31794	1.6621	48.3178	4.6	103.9	0.1304	13.9	90.6	0.3970
0.20	2.43170	47.36841	2.4322	47.3678	5.8	93.9	0.1981	17.4	91.0	0.4231
0.25	3.100409	46.809203	3.1002	46.8090	7.9	93.4	0.2527	14.9	73.0	0.4323
0.30	4.02631	45.97139	4.0290	45.9713	10.3	92.7	0.3076	16.0	75.0	0.4601
0.35	4.91901	45.01089	4.9369	45.0108	8.8	61.9	0.3517	19.2	91.2	0.4371
0.40	5.92603	44.00192	5.9384	44.0022	12.6	76.1	0.3983	19.6	91.1	0.4548
0.45	7.16291	42.83109	7.1638	42.8313	15.9	73.0	0.4354	13.1	70.9	0.4600
0.50	8.48601	41.31199	8.4876	41.3123	21.9	81.6	0.3683	17.1	72.7	0.4848
0.55	9.997003	40.002903	9.9977	40.0028	23.2	80.4	0.3363	18.2	72.0	0.5028
0.60	11.53367	38.26413	11.5303	38.2610	29.0	78.3	0.6013	18.3	71.6	0.5082
0.65	13.56106	36.23692	13.5602	36.2396	34.7	75.6	0.6174	18.9	71.4	0.5143
0.70	16.11977	33.83013	16.1199	33.8303	40.3	79.2	0.6263	19.8	71.2	0.5263
0.75	19.00920	30.99020	19.0101	30.9906	48.9	64.9	0.7509	21.0	70.9	0.5423
0.80	22.49229	27.30130	22.4930	27.3011	57.0	56.7	0.8007	22.6	70.0	0.5658
0.85	26.83738	23.36232	26.8371	23.1617	67.8	47.9	0.8198	24.4	69.1	0.5833
0.90	32.20344	17.60416	32.2035	17.6038	81.9	37.1	0.9023	26.0	67.8	0.6031
0.95	39.76445	10.23235	39.7610	10.2334	82.6	18.3	0.9170	32.6	81.2	0.6506
0.973	41.12858	3.37142	44.4266	3.3721	—	—	—	36.3	63.9	0.7396

NOMENCLATURA

 C_s = Cantidad calculada de p-dioxano (g) C_a = Cantidad calculada de agua (g) I_s = Área integrada de los picos de dioxano en las muestras líquidas* I_a = Área integrada de los picos de dioxano en las muestras de vapor* I_s = Área integrada de los picos de agua en las muestras líquidas* I_a = Área integrada de los picos de agua en las muestras de vapor* M_s = Peso molecular de dioxano. M_a = Peso molecular de agua. W_s = Cantidad pesada de dioxano (g) W_a = Cantidad pesada de agua (g) x = Fracción molar seleccionada de agua. N = Fracción molar de agua en líquidos preparados y analizados. Y = Fracción molar de agua medida experimentalmente en los vapores en equilibrio con las muestras líquidas preparadas.

* = Unidades arbitrarias.

En los espectros de RMN pertenecientes a las diferentes mezclas, podemos observar que existe un desplazamiento de la posición de las señales de campo alto a campo bajo, esto sucede cuando la concentración de agua aumenta, mientras que la señal simple perteneciente al p-dioxano permanece más o menos en la misma posición en todas las muestras analizadas.

Esto se puede observar prácticamente si hacemos una comparación de la señal obtenida para la mezcla con más bajo contenido de agua (en la cual la señal aparece a 60 cps a campo más alto que la señal simple del dioxano), y el espectro obtenido para la muestra con mayor contenido de agua, en el cual aparece la señal a 55cps a campo más bajo con respecto a la señal del p-dioxano.

El diagrama vapor - líquido del sistema p - dioxano - agua, determinado a 586 mm de Hg se muestra en la Figura 11.

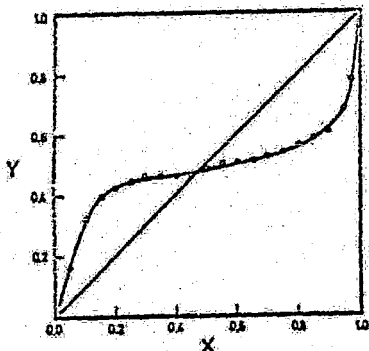


Figura 11. Diagrama de equilibrio vapor-líquido del sistema agua - p-dioxano (586 mm de Hg).

Continuando con los estudios para el establecimiento de curvas de equilibrio vapor - líquido por medio de la RMN, otro trabajo presentado por P. Joseph- Nathan en 1968 (27), describe los resultados de las determinaciones efectuadas en el sistema benceno - tolueno - etilbenceno.

Siendo éste un sistema ideal ternario, las consideraciones teóricas son las mismas que las consideradas para los otros casos anteriores (24), - (25), y no se discutirán de nuevo.

Con el objeto de obtener datos de equilibrio a través de todo el rango de composición del sistema ternario, se prepararon mezclas líquidas de fracción molar conocida a intervalos regulares de 0.1 de mol de cada uno de los componentes, obteniéndose en total sesenta y seis mezclas, de las cuales tres corresponden a los vértices del triángulo y representan a los componentes puros.

Se determinaron los espectros de RMN de cada una de estas sesenta y tres mezclas y con efecto de realizar evaluaciones cuantitativas, los valores para los círculos que más adelante se describen, son el promedio de tres integraciones de cada uno de los grupos de protones presentes en la mezcla.

El espectro de RMN (Fig.12) de cada una de las mezclas ternarias muestra la presencia de señales cerca de 7 ppm cuya integración corresponde a la suma de los seis protones del benceno (6B) y los cinco protones aromáticos del tolueno (5 T) y del etilbenceno (5E).

$$6B + 5T + 5E = 9 \quad (1)$$

Una señal simple que aparece cerca de 2 ppm corresponde a los hidrógenos del grupo metilo del tolueno (3T), y una cuádruple ($J=7$ c/s) centrada en ca. 2.3 ppm y una triple ($J=7$ c/s) centrada en ca. 1.5 ppm corresponden a los protones del metileno y metilo (3E) del grupo etilo del etilbenceno respectivamente (Fig. 12).

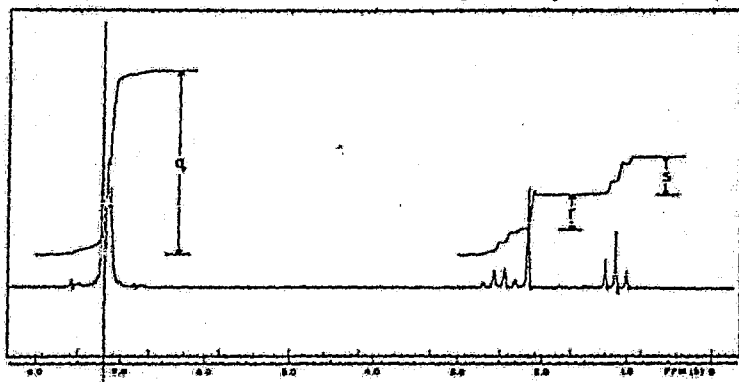


Figura 12. Espectro de RMN de las mezclas ternarias .

$$3T = r \quad (2)$$

$$3E = s \quad (3)$$

La ecuación 1 y 2 pueden resolverse fácilmente para las tres incógnitas (B,T,E) en función de los valores de q, r, s que se obtienen de las integraciones en los espectros de las mezclas, lo mismo se puede hacer con la ecuación(3).

Una vez obtenidos los valores para B,T,E, se calculan las fracciones molares en los vapores por medio de las siguientes ecuaciones:

$$Y_B = \frac{B}{B+T+E}$$

$$Y_T = \frac{T}{B+T+E}$$

$$Y_E = \frac{E}{B+T+E}$$

Razonamientos matemáticos semejantes, pero más simples, se aplicaron para la resolución de las 27 mezclas binarias. Los datos obtenidos de los espectros de RMN y las correspondientes fracciones mol de los vapores calculadas con esos datos se presentan en la Tabla - II.

Si comparamos las cantidades calculadas, cuyos valores se muestran en la Tabla XII, con los valores obtenidos experimentalmente, se puede concluir que el error experimental del método aplicado es muy pequeño (aproximadamente de 0.01% de fracción de mol) y por otra parte se puede decir que el comportamiento del sistema estudiado es muy cercano a lo ideal.

En la Figura 13 se muestra el diagrama triangular de equilibrio vapor líquido del sistema ternario benceno - tolueno - etilbenceno, determinado experimentalmente.

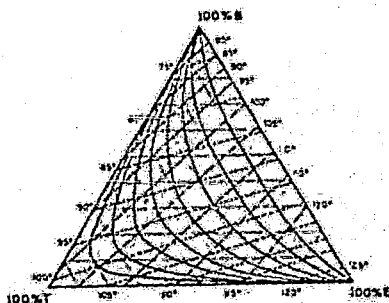


Figura 13. Diagrama de equilibrio benceno-tolueno-etilbenceno, experimental.

Tabla XI. Cálculos tédricos para el sistema (ideal).

N_s	N_r	N_e	t	$N_s P_s$	$N_r P_r$	$N_e P_e$	P	V_{s1}	V_{s2}	V_{s3}
0	0	1.0	126	0	0	580	580	0	0	1.000000
0	0	0.9	123	0	107	477	581	0	0	0.163219
0	0	0.8	120	0	198	388	580	0	0	0.237093
0	0	0.7	117	0	270	313	585	0	0	0.489747
0	0	0.6	114	0	342	236	588	0	0	0.581652
0	0	0.5	112	0	398	188	589	0	0	0.629140
0	0	0.4	109	0	447	138	588	0	0	0.680779
0	0	0.3	107	0	490	96	589	0	0	0.856177
0	0	0.2	105	0	526	59	585	0	0	0.897917
0	0	0.1	103	0	558	28	586	0	0	0.932853
0	1.0	0	0	0	580	0	0	0	0	1.000000
0.1	0	0.9	116	201.9	0	383	580	0.241491	0	0.655558
0.1	0.1	0.8	113	180	82.6	313	580	0.351121	0	0.633170
0.1	0.2	0.7	111	170.1	151.6	255.4	587.1	0.450259	0.263328	0.151613
0.1	0.3	0.6	108	168	217.5	201.8	587.1	0.546112	0.370164	0.143382
0.1	0.4	0.5	105	158	272	135	587	0.670085	0.461947	0.139752
0.1	0.5	0.4	103	150	320	110	580	0.715072	0.518923	0.139106
0.1	0.6	0.3	102	142	365	81.6	585	0.840111	0.602061	0.087514
0.1	0.7	0.2	100	131.3	399	21.8	584	0.918878	0.738113	0.042407
0.1	0.8	0.1	98	128	432	0	583	0.99011	0.990088	0
0.1	0.9	0	97	122	461.7	0	582	0	0	0.142107
0.2	0	0.8	107	327	0	219.2	582	0.357834	0	0.632031
0.2	0.1	0.7	105	306	62.2	211.4	580	0.526764	0.112353	0.529019
0.2	0.2	0.6	103	293.2	123	167.2	587.1	0.697148	0.212862	0.280100
0.2	0.3	0.5	101	278	177	133	588	0.872709	0.301020	0.228100
0.2	0.4	0.4	99	268	223.2	91.2	586.4	0.950201	0.380027	0.110107
0.2	0.5	0.3	97	259.6	264.5	70.2	585.5	0.121536	0.411903	0.110938
0.2	0.6	0.2	96	248	302.4	41.8	587.2	0.160479	0.511946	0.070294
0.2	0.7	0.1	94	230	314.8	21.2	585	0.392823	0.571711	0.030103
0.2	0.8	0	93	221	364	0	583	0.777281	0.621372	0
0.3	0	0.7	100	408.8	0	179.0	583.8	0.691191	0	0.301361
0.3	0.1	0.6	99	387	54.5	143.2	582.7	0.830021	0.692892	0.217103
0.3	0.2	0.5	97	362.6	103.8	114	587.1	0.927213	0.170101	0.191071
0.3	0.3	0.4	95	351.0	147	66.8	583.4	0.988709	0.230233	0.117107
0.3	0.4	0.3	94	337.8	187.6	63	584.4	0.571079	0.218450	0.107070
0.3	0.5	0.2	92	324	221.5	40.2	583.7	0.553184	0.378179	0.060033
0.3	0.6	0.1	91	311.4	253.8	19.2	584.4	0.532854	0.431291	0.032831
0.3	0.7	0	89	300.0	285.8	0	580.2	0.512784	0.187203	0
0.4	0	0.6	94	410.6	0	127.2	588	0.782331	0	0.216168
0.4	0.1	0.5	93	414.4	43.2	102.5	580.1	0.811097	0.077119	0.121044
0.4	0.2	0.4	91	420	86	74	581	0.719178	0.111504	0.113361
0.4	0.3	0.3	90	406.4	123.6	56.7	580.7	1.00287	0.210429	0.060402
0.4	0.4	0.2	89	392	158.4	36	586.1	0.668183	0.270182	0.061391
0.4	0.5	0.1	87	379.2	199	17.3	580.5	0.616137	0.323933	0.029197
0.4	0.6	0	86	368	228.8	0	582.8	0.825000	0.375000	0
0.5	0	0.5	92	490.5	0	91	588	0.814387	0	0.183416
0.5	0.1	0.4	88	470	38.3	70	584.5	0.911650	0.003518	0.118931
0.5	0.2	0.3	86	450	73.8	50.7	581.5	0.970607	0.120051	0.060540
0.5	0.3	0.2	85	445.5	106.5	32.8	583.8	0.712293	0.181822	0.032791
0.5	0.4	0.1	84	432.5	136.4	16	583	0.939316	0.259162	0.027320
0.5	0.5	0	83	419	169	0	588	0.712593	0.271111	0
0.6	0	0.4	84	522	0	81	585	0.905051	0	0.102511
0.6	0.1	0.3	83	507	33.2	48.2	580.4	0.845081	0.045016	0.078783
0.6	0.2	0.2	82	492	64	50	586	0.839180	0.109211	0.031194
0.6	0.3	0.1	81	478.2	93	14.8	586.2	0.813102	0.186618	0.021361
0.6	0.4	0	80	460.8	120	0	586.8	0.735201	0.290186	0
0.7	0	0.3	81	516	0	42	588	0.924371	0	0.071428
0.7	0.1	0.2	80	502.2	29	28.1	581.6	0.905253	0.005006	0.041138
0.7	0.2	0.1	79	488.6	57.2	12.8	586.8	0.880654	0.007311	0.021200
0.7	0.3	0	78	472.8	83.4	0	586	0.857679	0.112320	0
0.8	0	0.2	79	566	0	23.0	587.4	0.918453	0	0.011613
0.8	0.1	0.1	78	548	20.2	11.2	585.6	0.934112	0.041752	0.019132
0.8	0.2	0	77	536	54	0	587	0.913117	0.000000	0
0.9	0	0.1	74	536	0	9.9	580.5	0.943122	0	0.010097
0.9	0.1	0	73	528	23.2	0	584.8	0.960251	0.009128	0
1.0	0	0	72	518	0	0	580	1.000000	0.000000	0.000000

Tabla XII. Fracción de moles calculadas de los datos de MSN.

N_0	N_1	N_2	η	r	λ	f	V_0	V_1	V_2
0	0	1.0		0			0	0	1.000000
0	0.1	0.9		14.2	0.5		0	0.170292	0.829708
0	0.2	0.8		27	54.5		0	0.331284	0.668716
0	0.3	0.7		50	23		0	0.463116	0.536884
0	0.4	0.6		68	33.9		0	0.571897	0.428103
0	0.5	0.5		87	28		0	0.670344	0.329656
0	0.6	0.4		65	21		0	0.753813	0.246187
0	0.7	0.3		71	13		0	0.823581	0.176419
0	0.8	0.2		18.2	10		0	0.886021	0.113979
0	0.9	0.1		85	3.2		0	0.942350	0.057650
0	1.0	0			0			1.000000	0
0.1	0	0.9	140	0	53	1	0.315238	0	0.684762
0.1	0.1	0.8	128	9.5	39	1	0.372245	0.131670	0.510547
0.1	0.2	0.7	122	18	30	1	0.301347	0.268470	0.431722
0.1	0.3	0.6	121	25	24	1	0.248507	0.364000	0.388503
0.1	0.4	0.5	100	30	15.8	1	0.272721	0.432135	0.274941
0.1	0.5	0.4	81	23	9.5	1	0.234034	0.540340	0.205135
0.1	0.6	0.3	81	28	6.5	1	0.211430	0.619210	0.180225
0.1	0.7	0.2	52	40	6	2	0.225050	0.670391	0.109358
0.1	0.8	0.1	132	56.27	3.2	1	0.218589	0.741255	0.042407
0.1	0.9	0	122	58.5	0	1	0.207317	0.792683	0
0.2	0	0.8	156	0	41.36		0.358018	0	0.641762
0.2	0.1	0.7	168	6.1	21.5	1	0.325010	0.161095	0.536924
0.2	0.2	0.6	115	12.7	18	1	0.261234	0.290113	0.290113
0.2	0.3	0.5	110	18	14	1	0.178200	0.293178	0.224299
0.2	0.4	0.4	109	22.5	10.5	1	0.150000	0.315000	0.175000
0.2	0.5	0.3	105	25.9	7	1	0.125704	0.431518	0.122112
0.2	0.6	0.2	69	23	4.2	1	0.108207	0.508417	0.087472
0.2	0.7	0.1	125	40	2.3	1	0.091805	0.573123	0.035029
0.2	0.8	0	181	69.5	0	2	0.072710	0.622760	0
0.2	0	0.7	130.8	0	29.5		0.093512	0	0.501199
0.3	0.1	0.6	60	11.2	32	4	0.667037	0.084650	0.251372
0.3	0.2	0.5	145	20.3	32.1	2	0.620133	0.127140	0.252561
0.3	0.3	0.4	115	31	18.5	2	0.598377	0.231321	0.150101
0.3	0.4	0.3	94	22.5	10.5	2	0.574538	0.321212	0.101729
0.3	0.5	0.2	75	30.5	5.7	2	0.553270	0.376300	0.070411
0.3	0.6	0.1	98	44	4	2	0.538461	0.425976	0.038131
0.3	0.7	0	43	34	0	2	0.513588	0.480112	0
0.4	0	0.6	150	0	18.5	2	0.784681	0	0.215159
0.4	0.1	0.5	38	15.5	55	10	0.745185	0.078118	0.177096
0.4	0.2	0.4	23	18	18.5	10	0.711285	0.149068	0.136615
0.4	0.3	0.3	115	24.5	8.8	2	0.694635	0.202200	0.105165
0.4	0.4	0.2	95	28	8.8	2	0.666922	0.284018	0.069053
0.4	0.5	0.1	91	31.5	4	2	0.644709	0.310218	0.040033
0.4	0.6	0	108	48.5	0	2	0.625771	0.374229	0
0.5	0	0.5	61	0	24	8	0.813750	0	0.186250
0.5	0.1	0.4	70	21	46	10	0.805451	0.066310	0.127188
0.5	0.2	0.3	85	20.5	15.5	4	0.794544	0.168477	0.040074
0.5	0.3	0.2	52	47	23	10	0.769944	0.129651	0.061311
0.5	0.4	0.1	112	24	3.5	2	0.755613	0.230786	0.025198
0.5	0.5	0	107.5	31	0	2	0.731718	0.280422	0
0.6	0	0.4	67	0	17.5	4	0.901108	0	0.108891
0.6	0.1	0.3	42	14	18	10	0.831325	0.062015	0.083591
0.6	0.2	0.2	55	30	15	10	0.818622	0.110091	0.055015
0.6	0.3	0.1	81	18.5	5	10	0.801395	0.170738	0.027625
0.6	0.4	0	113	24	0	2	0.797501	0.202200	0
0.7	0	0.3	25	0	127	4	0.951116	0	0.048884
0.7	0.1	0.2	45	12	11	10	0.895400	0.052459	0.044008
0.7	0.2	0.1	48	22.6	6	10	0.872236	0.160744	0.026091
0.8	0	0.2	106	18	0	2	0.845280	0.132730	0
0.8	0.1	0.1	32	0	33	10	0.818335	0	0.016667
0.8	0.2	0	70	18	8.5	10	0.805467	0.051187	0.024607
0.8	0.3	0	68	31.5	0	2	0.812664	0.090160	0
0.8	0.4	0	86	0	10	10	0.800227	0.091858	0
0.9	0	0.1	92	0	0	1	0.970000	0.030000	0
0.9	0	0	0	0	0		1.000000	0	0

Símbolos empleados en las tablas anteriores:

x_B = Fracción mol de benceno en el líquido.

x_E = Fracción mol de etilbenceno en el líquido.

x_T = Fracción mol de tolueno en el líquido.

P_B = Presión de vapor del benceno a $t^\circ C$ (mm Hg).

P_E = Presión de vapor del etilbenceno a $t^\circ C$ (mm Hg).

P_T = Presión de vapor del tolueno a $t^\circ C$ (mm Hg).

P = Presión total = ca 586 mm Hg.

y_B = Fracción mol de benceno en el vapor (experimental).

y_E = Fracción mol del etilbenceno en el vapor (experimental).

y_T = Fracción mol del tolueno en el vapor (experimental).

y_{B1} = Fracción mol de benceno en el vapor (cálculo ideal).

y_{E1} = Fracción mol de etilbenceno en el vapor (cálculo ideal).

y_{T1} = Fracción mol del tolueno en el vapor (cálculo ideal).

APLICACION A LA DETERMINACION DE ELEMENTOS.

Dentro de otras aplicaciones al análisis cuantitativo por RMN, tenemos la que presentó J.L. Jungnickel (28) en 1963, basado en la integración de las intensidades de las señales de algunos de los diferentes tipos de hidrógeno, determinando su presencia en forma cuantitativa por medio de ellas.

Recientemente han surgido posibilidades de realizar una integración electrónica de las áreas que se encuentran debajo de las bandas de absorción de RMN. Puesto que el área bajo la curva es estrictamente proporcional (en condiciones propias de trabajo) al número de núcleos contribuyentes a formar la banda, son posibles nuevos avances en la aplicación de la RMN.

La cantidad total de hidrógeno puede determinarse por comparación con muestras cuyo contenido de protones se conoce, por lo tanto es posible realizar un análisis cuantitativo de mezclas de compuestos orgánicos.

La elevación del pico de absorción de la señal de RMN en condiciones de barrido lento (29) está dada por la siguiente ecuación:

$$I_{max} = K \frac{\gamma H_1 T_2 N}{T [1 + (\gamma H_1)^2 T_1 T_2]} \quad (3)$$

Donde:

- γ = radio de giro magnético.
- H_1 = r.f. del campo magnético.
- N = Número de núcleos.
- T = Temperatura absoluta.
- T_1 = Tiempo de relajación spin-spin.
- T_2 = Tiempo de relajación spin-spin.

Como las elevaciones de los picos individuales afectan los resultados por los acoplamientos spin-spin y también por variaciones de T_2 , las cuales varían inversamente con la amplitud de línea, no es un buen método para la determinación del número de núcleos. Por esto - de otra manera el área bajo un pico puede estar dada por la siguiente expresión :

$$A_H = \int_{-\infty}^{+\infty} I dH = K' \frac{H, N}{T [1 + (rH)^2 T_1 T_2]^{1/2}} \quad (2)$$

Como la integral normal se obtiene como una función del tiempo más que de la fuerza del campo magnético, puede quedar de la siguiente forma :

$$A_t = \int_{-\infty}^{+\infty} I dt = K'' \frac{H, N}{TR [1 + (rH)^2 T_1 T_2]^{1/2}} \quad (3)$$

Sin embargo bajo condiciones de barrido lento, se requiere un tiempo muy largo para obtener la integral, lo cual obviamente es impráctico. Se ha visto que para un barrido rápido, T_1 debe reemplazarse por el tiempo actual, durante el cual se permite que tengan lugar las transiciones, éste tiempo r es el tiempo empleado en pasar a través de la resonancia. La ecuación (3) sólo es válida en condiciones de barrido lento, donde el campo magnético se barre tan lentamente que obtenemos la siguiente expresión :

$$\frac{T_1 R}{H_1} \ll \text{amplitud de línea} \quad (4)$$

Para obtener el valor de " r " tenemos que :

$$r = \frac{\Delta H}{R} \quad (5)$$

Donde H = amplitud de línea, ahora puesto que :

$$\Delta H = \frac{1}{\gamma T_2}$$

(6)

Tenemos que T_1 en la ecuación (3) puede ser reemplazada por δt . Esto hace que T_2 quede cancelada y tenemos entonces la siguiente ecuación:

$$At = K'' \frac{H_1 N}{TR [1 + \gamma H_1^2 / R]^{1/2}} \quad (7)$$

Para $\gamma H_1^2 / R \ll 1$ se puede expresar así:

$$At = K'' \frac{H_1 N}{TR} \left[1 - \frac{1}{2} \gamma H_1^2 / R + \dots \right] \quad (8)$$

Esta ecuación es válida para aquellas condiciones en que $\gamma H_1^2 T_2 \gg 1$ (barrido rápido comparado con el tiempo de relajación).

En el curso de las determinaciones analíticas se observaron numerosos ejemplos de desviaciones aparentes de las cantidades teóricas relativas de varios tipos de hidrógeno en compuestos que se supone presentaban una pureza máxima. No obstante que para reunir las condiciones para las cuales la ecuación (8) es válida, se adicionó un integrador electrónico al aparato de RMN usado.

Como no se sabía si éstas desviaciones eran debidas a las condiciones incorrectas de operación ó a la composición deficiente del instrumento, ó bien simplemente a las impurezas que pudiesen estar presentes en la muestra, la exactitud del integrador usado, se determinó por medio de las magnitudes relativas de las integrales obtenidas para los protones con diferente desplazamiento químico en compuestos seleccionados y con una pureza ya establecida.

(6)

Tenemos que T_1 en la ecuación (3) puede ser reemplazada por esto hace que T_2 quede cancelada y tenemos entonces la siguiente ecuación :

$$At = K'' \frac{H_1 N}{TR [1 + \gamma H_1^2 / R]^{1/2}} \quad (7)$$

Para $\gamma H_1^2 / R \ll 1$ se puede expresar así :

$$At = K'' \frac{H_1 N}{TR} [1 + 1/2 \gamma H_1^2 / R + \dots] \quad (8)$$

Esta ecuación es válida para aquellas condiciones en que $\gamma RT_2 \gg 1$ (barrido rápido comparado con el tiempo de relajación).

En el curso de las determinaciones analíticas se observaron numerosos ejemplos de desviaciones aparentes de las cantidades teóricas relativas de varios tipos de hidrógeno en compuestos que se supone presentaban una pureza máxima.

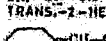
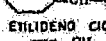
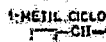
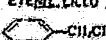
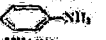
No obstante que para reunir las condiciones para las cuales la ecuación (8) es válida, se adicionó un integrador electrónico al aparato de RMN usado.

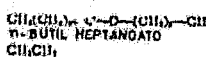
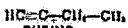
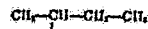
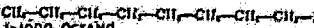
Como no se sabía si estas desviaciones eran debidas a las condiciones incorrectas de operación ó a la composición deficiente del instrumento, ó bien simplemente a las impurezas que pudiesen estar presentes en la muestra, la exactitud del integrador usado, se determinó por medio de las magnitudes relativas de las integrales obtenidas para los protones con diferente desplazamiento químico en compuestos seleccionados y con una pureza ya establecida.

La serie de compuestos estudiados se encuentran en la Tabla XIII con sus respectivas purezas, tipos de protones, desplazamientos químicos y el porcentaje de hidrógeno teórico y experimental.

Tabla XIII. Resultados de la integración del espectro de RMN de hidrógeno perteneciente a compuestos puros.

Veloc. de barrido = 10 c.p.s./seg.
r.f. del campo = 0.1 milligauss.
Conc. aprox. 30 % v. en CCl_4 .

	99.77	$\sim\text{CH}_2$, ANILLO	1.03 0.25	60.0 40.0	60.0 40.0	+0.1 -0.1
1-TRANS-2-DIMÉTIL CICLOPROPANO	>99	$\sim\text{CH}_2$, $\sim\text{CH}_2$, ALQUILLO	5.75 4.53 1.03	8.3 15.7 75.0	8.3 15.7 75.1	+0.1 -0.2 +0.1
	99.88	$\sim\text{CH}_2$, ALQUILLO	5.3 0.9-1.0	14.3 85.7	14.3 85.8	+0.1 +0.1
3,3-DIMÉTIL-1-BUTENO						
	99.80	$\sim\text{CH}_2$, ALQUILLO	5.05 1.9-2.1	7.1 92.9	7.0 93.0	+0.1 +0.1
TRANS-2-HEPTENO						
	99.9	$\sim\text{CH}_2$, ALQUILLO	5.20 1.7-2.3	10.0 90.0	10.0 90.0	0.0 0.0
ETILIDENO CICLO HEXENO						
	99.9*	$\sim\text{CH}_2$, $\sim\text{CH}_2$, ALQUILLO	5.50 4.83 1.5-2.4	8.3 10.7 75.0	8.3 10.7 75.0	0.0 0.0 0.0
1-MÉTIL CICLO PENTANO						
	99.8	AROMÁTICO Ar- CH_2 , $\sim\text{CH}_2$	7.05 2.33 1.15	50.0 20.0 30.0	50.0 19.8 30.2	0.0 +0.2 +0.2
ETILIDENO CICLO PENTANO						
	99.80	AROMÁTICO $\sim\text{CH}_2$, Ar- CH_2	6.85 2.70 1.60	24.3 25.3 50.4	24.6 25.6 50.5	+0.3 +0.3 +0.5
ETIL BENCENO						
	~99	AROMÁTICO $\sim\text{CH}_2$, Ar- CH_2 , Ar- CH_2 -C=	7.05 5.8 3.0 5.35	50.0 19.0 20.0 11.0	52.2 19.1 19.1 8	+0.2 +0.2 +0.2 +0.2
TETRALINA						
	99.0*	AROMÁTICO Ar- CH_2	6.3-7.2 5.3	71.4 28.6	71.0 29.0	+0.4 +0.4
ALIL BENCENO						
	99.94	$\sim\text{CH}_2$, $\sim\text{CH}_2$, $\sim\text{CH}_2$	4.00 1.47 5.00	16.7 50.0 33.3	17.2 49.3 33.5	+0.5 -0.7 +0.2
ANILINA						
		$\sim\text{CH}_2$, O- CH_2 , ALQUILLO	4.7 3.5 0.8-1.7	10.0 20.0 70.0	9.8 19.9 70.3	+0.2 -0.1 +0.3
ETANOL						
		$\sim\text{CH}_2$, O- CH_2 , CH ₃	7.25 1.24 0.13	25.6 25.6 48.8	24.8 26.0 41.2	+0.2 -1.4 -1.6
ETIL PROPILICO						
		$\sim\text{CH}_2$, O- CH_2 , ALQUILLO	3.3 0.4-1.4	22.2 77.8	21.4 78.6	+0.4 +0.4
ETIL BUTILICO						

			$\text{O}-\text{CH}_2-$	2.2-2.5	50.0	49.8	-0.2
1,2-EPOXI PROPANO			ALQUILO	1.22	50.0	50.2	+0.2
	>99.5		$\text{CH}_3-\text{O}-\text{CH}_2-$	4.80	0.1	0.1	0.0
n-BUTIL HEPTANOATO			TOODOS LOS DEMAS	0.0-3.2	99.9	99.9	0.0
			CH_3-CH_2-	2.25	40.0	39.0	-0.1
DIETIL CETONA			$-\text{CH}_2-$	1.0	60.0	60.1	+0.1
	>99		$\text{C}\equiv\text{C}-$	2.17	53.3	53.0	-0.3
BUTINO			$-\text{CH}_2-$	1.78	16.7	16.7	0.0
	A.P.I.		$-\text{CH}_2-$	1.14	50.0	50.3	+0.3
PIRROLIDINA	99.85		$\text{N}-\text{CH}_2-$ + NH	2.84	41.4	41.5	+0.1
				1.6-1.8	58.6	58.2	-0.1
	A.P.I.		$\text{S}-\text{CH}_2-$	2.83	10.0	10.0	0.0
2-BUTANOLOL			$-\text{SH}, \text{CH}_2, \text{CH}_2\text{CH}_2$	0.9-1.0	90.0	90.0	0.0
	99.92		$-\text{SH}$	1.09	10.0	9.9	-0.1
1-BUTIL MERCAPTANO			ALQUILO	1.40	90.0	90.1	+0.1
	99.97		$\text{S}-\text{CH}_2-$	2.4	20.0	19.4	-0.6
n-BUTIL TIO PROPANO			CH_2-S	0.9-2.0	80.0	80.0	+0.0
			CH_2-Cl	3.9	11.1	11.3	+0.2
2-CLORO BUTANO			$-\text{CH}_2-\text{CCl}$	1.5	55.0	56.7	+1.1
			CH_2-I	1.0	33.3	32.0	-1.3
1-1000 OCTANO			ALQUILO	3.15	11.5	11.8	0.0
				1.30	88.2	88.2	0.0

Los compuestos fueron seleccionados para dar un amplio rango de diferentes grupos de protones no equivalentes. Si observamos la Tabla XIII, vemos que el número de átomos de hidrógeno de cada tipo en un compuesto puro puede determinarse con gran exactitud, no sucediendo lo mismo para aquellos compuestos cuya pureza es menor de 95% pues el error aumenta al disminuir la pureza.

Los espectros del etanol y tetralina se integraron varias veces a con diferentes valores para la r.f. del campo, ésto se hizo para ver si la saturación selectiva se podía observar a valores altos de r.f., y también para determinar el rango óptimo de operación del poder de r.f..

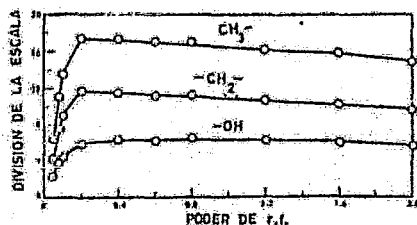


Figura 14. Efecto del poder de r.f. observado en las intensidades de las bandas integradas para etanol.

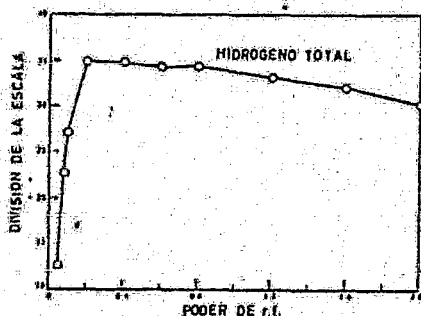


Figura 15. Efecto del poder de r.f. observado en la integral total para etanol.

En las figuras 14 y 15 se grafican las magnitudes de las señales - para cada tipo de protón y para el contenido total de hidrógeno - del etanol, contra los diferentes valores de r.f. para el campo. Gráficas similares pero correspondientes a la tetralina se muestran en las figuras 16 y 17.

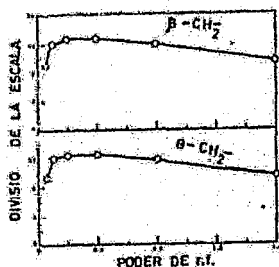


Figura 16. Efecto del poder de r.f. observado en las intensidades de las bandas integradas para tetralina.

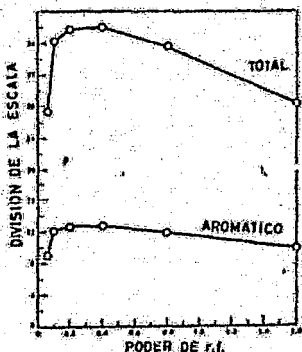


Figura 17. Efecto del poder de r.f. observado la integral total para tetralina.

En la Tabla XIV podemos observar el porcentaje de hidrógeno encontrado y la desviación que presenta en cuanto a los valores teóricos para cada tipo de hidrógeno del etanol, obtenidos de las integrales en las diferentes posiciones ó valores de r.f.

Tabla XIV. Resultados de la integración del espectro de etanol a varios niveles de poder de r.f.

Veloc. de barrido = 10 c.p.s./seg.
Conc. aprox. = 30 % v. en CCl_4

Poder r.f. mG	Tipo de protón	% de hidrog. encont. ^a	Desv. de lo teórico	Poder r.f. mG	Tipo de protón	% de hidrog. encont. ^a	Desv. de lo teórico.
0.05	CH_3 -	50.4	+0.4	0.6	CH_3 -	49.6	-0.4
	- CH_2 -	33.1	-0.2		- CH_2 -	32.9	-0.7
	- OH	16.5	-0.2		- OH	17.8	+1.1
0.08	CH_3 -	49.6	-0.4	0.8	CH_3 -	49.1	-0.9
	- CH_2 -	33.6	+0.3		- CH_2 -	32.3	-1.0
	- OH	16.8	+0.1		- OH	18.6	+1.9
0.1	CH_3 -	50.3	+0.3	1.2	CH_3 -	49.2	-0.8
	- CH_2 -	33.6	+0.3		- CH_2 -	32.4	-0.9
	- OH	16.2	-0.5		- OH	18.4	+1.7
0.2	CH_3 -	49.9	-0.1	1.6	CH_3 -	49.2	-0.8
	- CH_2 -	33.5	+0.2		- CH_2 -	32.1	-1.2
	- OH	16.6	-0.1		- OH	18.7	+2.0
0.4	CH_3 -	49.4	-0.6	2.0	CH_3 -	49.4	-0.6
	- CH_2 -	32.8	-0.5		- CH_2 -	32.1	-1.2
	- OH	17.8	+1.1		- OH	18.5	+1.8

^a Teórico = 50.0 % en CH_3 -, 33.3 % en $-\text{CH}_2-$, y 16.7 en $-\text{OH}$.

En la figura 18 podemos observar lo anterior graficamente, además - podemos ver la evidencia de que la saturación selectiva conforme - aumenta el nivel de radio frecuencia.

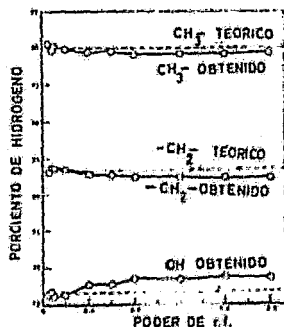


Figura 18. Efecto del poder de r.f. en el porcentaje de cada tipo de hidrógeno calculado para etanol.

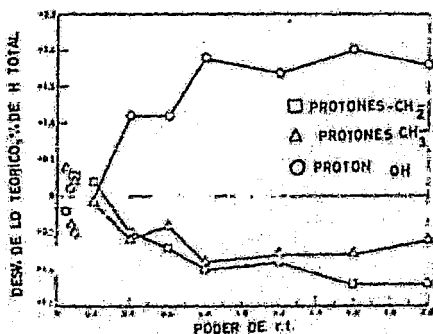


Figura 19. Efecto del poder de r.f. sobre los errores en los porcentajes de cada tipo de hidrógeno en etanol.

En la figura 19 podemos observar la gráfica que nos muestra la desviación que existe de los resultados con respecto a los valores teóricos para cada tipo de protones del etanol contra las diferentes posiciones ó niveles de radio frecuencia.

Existe una tendencia definitiva en las curvas a demostrar la saturación selectiva a valores mayores de 0.2 miligauss para las posiciones de radio frecuencia.

Los datos correspondientes a la tetralina se encuentran indicados en la Tabla XV y la gráfica correspondiente nos la muestra la figura 20.

Tabla XV. Resultados de la integración de la tetralina a varios niveles de poder de radio frecuencia.

Veloc. de barrido = 10 c.p.s. /seg.
Conc. aprox. = 30 % v. en CCl_4 .

Poder de r.f. mG.	Tipo de protón.	% de hidrógeno encont. ^c	Desv. de lo teórico.
0.06	Ar	32.8	- 0.5
	a- CH_2 -	33.9	+ 0.6
	b- CH_2 -	33.2	- 0.1
0.1	Ar	33.6	+ 0.3
	a- CH_2 -	33.6	+ 0.3
	b- CH_2 -	32.8	- 0.5
0.2	Ar	33.6	+ 0.3
	a- CH_2 -	33.3	0.0
	b- CH_2 -	33.1	- 0.2
0.4	Ar	33.6	+ 0.3
	a- CH_2 -	33.3	0.0
	b- CH_2 -	33.1	- 0.2
0.8	Ar	33.5	+ 0.2
	a- CH_2 -	33.5	+ 0.2
	b- CH_2 -	33.0	- 0.3
1.6	Ar	35.0	+ 1.7
	a- CH_2 -	32.9	- 0.4
	b- CH_2 -	32.1	- 1.2

Donde los valores teóricos son 33.3 % para cada tipo de protón.

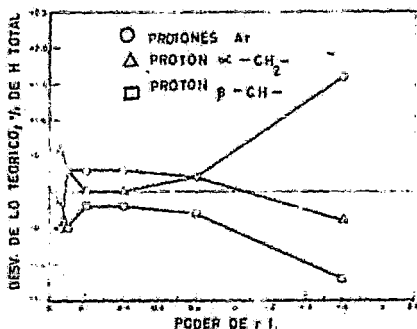


Figura 20. Efecto del poder de r.f. en los errores sobre los porcentajes de cada tipo de hidrógeno en la tetralina.

Los resultados obtenidos para la tetralina son similares a los que se encontraron para el etanol, exceptuando la saturación selectiva, la cual no ocurre sino hasta que el nivel de r.f. se incrementa a más de 0.8 miligauss y no a valores de 0.2 como sucede para el caso del etanol.

Un trabajo relacionado con el anterior, pero más reciente, fue hecho por J.P. Paulsen y colaboradores (30).

Dicho trabajo se refiere a la determinación cuantitativa de hidrógeno y fluor en compuestos orgánicos por medio de RMN. El método aquí usado a semejanza con el anterior se basa en la medición de las intensidades de las señales en forma cuantitativa, como ya quedó demostrado existe una gran exactitud en dicho método (28).

Este método se puede aplicar además a determinaciones elementales de hidrógeno y fluor, así como a otros componentes orgánicos elementales, aplicándose también a la determinación de grupos funcionales.

Existen cierta clase de grupos, como aquellos que poseen protones aromáticos y metilénicos terminales cuyos picos de resonancia aparecen en regiones donde la interferencia es mínima que pueden determinarse por el método antes mencionado.

Dentro de los grupos funcionales, tenemos que el grupo aldehído experimenta también una pequeña sobreposición en el espectro, y su posición es favorable no obstante que su determinación presenta — mucho error, lo cual es atribuible a la dificultad de mantener estos compuestos en estado puro, ya que siempre aparecen pequeños — picos en sus espectros que nos indican que hubo una pequeña oxidación ó bien una polimerización.

Otra mayor dificultad que se presenta en la determinación de grupos funcionales por RMN, es el hecho de que muchos grupos importantes contienen hidrógenos intercambiables como son : $-OH$, $-COOH$, $-NH$, etc. Este problema se ilustra en la Tabla XVI.

Tabla XVI. Determinación cuantitativa de protones Ácidos.

Muestra	Solvente	Moles		% error
		Encont.	Tomadas	
Acido acético	CCl_4	0.0763	0.0761	+0.3
Acido propiónico	CCl_4	0.0134	0.0136	-1.5
Acido butírico	CCl_4	0.01097	0.0110	-0.4
Acido Valérico	CCl_4	0.00875	0.00865	+1.1
Acido ciclohexano carboxílico	CCl_4	0.01752	0.01767	-0.9
Acido fórmico	CH_3CN	0.0291	0.0270	+8.2
Acido benzoico	Acetona	0.0100	0.00652	+53
Acido benzoico	Acetona	0.01050	0.00942	+11

Desv. est. = 0.5

El estándar interno usado fue benceno, excepto para el ácido benzoico en cuyo caso se usó $(CH_3)_3SiCH_2Cl$.

En la determinación del grupo carboxilo, el principal problema es - la interferencia que presenta con el agua lo cual se puede observar practicamente en las tres últimas determinaciones de la tabla anterior.

En general debido a la dificultad que existe para aislar los picos resultantes en el espectro de RMN y el problema del intercambio de protones, solamente se pueden determinar pocos grupos funcionales. En cuanto a los resultados obtenidos para la determinación de fluor en forma elemental por RMN, están resumidos en la Tabla XVII.

Tabla XVII. Determinación de fluor elemental en moléculas orgánicas.

Solvente usado CCl_4 ; Estándar interno, fluorobenceno.

Compuesto	Conc. aprox. de fluor H	% en peso de fluor		Error relativo.
		Teórico	Encont.	
m-Bromo , , trifluoro- tolueno	6	25.3	25.7	+1.6
m- diclorobenceno	2	33.3	33.2	-0.3
2,3-dibromo-octafluoro butano	2	45.25	42.1	-0.4
Acido trifluoro acético	3	50.0	49.7	-0.6
Mescla de 1,2-dicloro tetrafluoro propeno cis y trans	4	41.5	40.4	-2.6
2,2,3,3- tetracloro hexa- fluoro butano	0.5	37.5	38.2	+1.8
1,2- dicloro octafluoro ciclohexano ¹	0.8	50.7	51.3	+1.2
Mescla de 2,3-dicloro hexafluoro butano 2 cis y trans	2	48.8	47.8	-2.0

¹ Se usó como estándar interno m-bromo , , trifluoro tolueno.

Este método empleado para la determinación de fluor, es particularmente significativo si consideramos la dificultad que presenta su determinación en compuestos orgánicos por métodos convencionales. La exactitud del método depende en parte de la concentración de las muestras usadas, la cual debe ser como mínimo de 1 M, los resultados a éste respecto se muestran en la Tabla XVIII. Al nivel de 0.1 M el error se incrementa hasta cerca de un 10 %.

Tabla XVIII. Efecto de la concentración en la exactitud para la determinación de fluor.

Compuesto	Conc. aprox. de F, M.	% en peso de fluor.		Error relat.
		Teórico	Encont.	
Acido trifluoro acético	32	50.0	50.6	+1.2
	2.6		49.7	-0.6
	0.07		44.4	-11.2
m - bromo- , , trifluoro tolueno	6.0	25.3	25.7	+1.6
	0.1		23.3	-7.9

En cuanto a la cantidad de muestra necesaria para un análisis exacto en este caso depende por supuesto, del peso molecular del compuesto que lo posea y el número de átomos de fluor presentes en él.

La determinación de fluor como grupo funcional presenta también serios problemas, ya que de hecho no existe un método para su determinación cuantitativa en forma química.

En su determinación por RMN los desplazamientos químicos que presenta en el espectro son considerablemente grandes entre el fluor y los demás protones, lo cual facilita su determinación. La Tabla XIX nos muestra los resultados cuantitativos para tres de los compuestos que lo poseen en forma de grupo funcional.

Tabla XIX. Determinación de fluor como grupo funcional.

Grupo	Compuesto	% en peso de F		Error relativo.
		Teórico	Encont.	
CF ₃	2,3-dibromo octafluoro butano	31.7	31.5	-0.6
	1,2- dicloro tetrafluoro propeno	31.2	30.2	-3.2
CF ₂	1,2-dicloro octafluoro hexeno (grupos 1,6 CF ₂)	25.7	25.5	-0.8
CF	2,3-dibromo octafluoro butano	10.55	10.63	+0.4
	Dicloro tetrafluoro propeno	10.41	10.22	-1.8

En otro estudio hecho por los mismos investigadores (31) se propone un método para la determinación cuantitativa de hidrógeno activo - basado en la reacción de intercambio con agua deuterada y la determinación de éste intercambio por RMN.

Las ventajas del método propuesto es que no es destructivo, además es más preciso que los métodos convencionales pudiéndose aplicar a los grupos menos reactivos, tales como el hidrógeno acetilénico y los grupos CH₂-CO -.

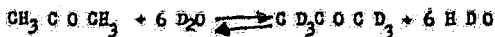
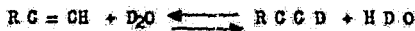
El presente método se semeja a los demás métodos convencionales en que depende también de una reacción que incluye el grupo activo, - en éste caso el reactivo es el agua pesada y el producto de reacción da lugar a la desaparición de un pico en el espectro de RMN a 60 Mc/seg, el cual resulta del intercambio de protones.

Cuando una muestra contiene dos tipos diferentes de protones, los cuales cambian de lugar rápidamente, solamente se observa una señal en el espectro, representando a las áreas combinadas.

El pico resultante aparece en una posición apropiada entre los dos picos originales (32).

En el método propuesto, los protones que dan lugar al pico en el espectro son determinados cuantitativamente y además se usan como una medida del hidrógeno activo presente en la muestra, además existe un equilibrio en la distribución de los protones entre el sitio activo y el agua pesada, produciendo un pico simple en el espectro de RMN, el cual contiene todo el hidrógeno activo.

El curso de la reacción del agua pesada con un grupo que contiene un hidrógeno activo puede ilustrarse por medio de las siguientes ecuaciones, las cuales son típicas de esta clase de reacciones :



El método para la determinación de los protones en el pico que corresponde al pico del hidrógeno activo - agua, se describió ya con anterioridad (28). Para calcular el hidrógeno activo tenemos la siguiente fórmula :

$$\text{Moles de hidrógeno activo} = B \left[1 + \frac{A}{C - B} \right]$$

Donde:

A = Moles totales de hidrógeno en el pico del agua después del intercambio, determinada por el área del pico proporcional al tiempo y a los gramos equivalentes de protones en el estándar interno.

$B = A$ la cantidad de A corregida para las moles de protones presentes originalmente en el agua deuterada (D_2O) = a la cantidad de de H y D intercambiadas.

C = Moles de deuterio adicionadas a la muestra.

La proporción de H/D en el agua = $A/(C - B)$

La ecuación anterior no es válida cuando la muestra contiene hidrógenos activos de intercambio lento y rápido, debiéndose además de tomar precauciones en la preparación de la muestra que se analiza para evitar que el error propio del método aumente.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla II, para obtenerlos se deben de tomar en cuenta varios factores como velocidad de intercambio, miscibilidad, y la sobreposición de los espectros - además con éstos resultados se puede determinar también el % en peso del hidrógeno activo en la muestra.

Tabla II. Determinación de hidrógeno activo en compuestos orgánicos.

Muestra	Veloc.	Número de H activo por mol		% de error
		Teórico	Encont.	
Metanol	rápida	1	1.00	0.0
Acido p-amino benzoico	rápida	3	3.04	+ 1.3
2-amino etanol	rápida	3	3.07	+ 2.3
1,3-butanodiol	rápida	2	1.92	- 4.0
Diétil malonato ¹	lenta	2	2.00	0.0
Acetoacetato de etilo ¹	lento	2	2.02	+ 1.0
Acetamida	lenta	2	2.04	+ 2.0
Resorcinol	lenta	2	2.01	+ 0.5
Resorcinol ¹	rápida	2	2.06	+ 3.0
Fenil acetileno ^{1,2}	lenta	1	0.95	- 5.0
Acetona ^{1,2}	lenta	6	5.89	- 1.8

¹ usando piridina como catalizador ; ² usando como catalizador -

$LiOD$ disuelto en D_2O .

APLICACION A PRODUCTOS FARMACEUTICOS.

Dentro del campo de productos farmacéuticos D.P. Hollis desarrolló un método para la determinación cuantitativa de aspirina, fenacetina y cafeína (APC) en mezclas de productos por medio de la RMN, (33).

Como sabemos existen diferentes métodos mediante los cuales es posible llevar a cabo el análisis de mezclas de APC en analgésicos, dichos métodos pueden ser: extracción, cromatografía ó bien por métodos espectrométricos dentro de los cuales tenemos el infrarrojo, ultravioleta y RMN. El tiempo en que se lleva a cabo el análisis es igual para los tres, pero al usar el de RMN se presenta la ventaja de que es el más directo en cuanto a la separación que se obtiene de los picos conocidos para cada uno de los componentes de las mezclas, y es posible realizar el análisis en forma cuantitativa.

Además se presenta la ventaja de que los picos que se obtienen presentan absorciones protónicas constantes y no se ven afectadas por disolventes ó por interacciones entre los solutos presentes.

En el presente trabajo se usó como estandar de referencia para las determinaciones cafeína en solución.

Los espectros obtenidos para la aspirina, fenacetina y cafeína en solución de $CDCl_3$, se pueden observar en las figuras 21, 22 y 23.

En la figura 24 se presenta el espectro de RMN de una tableta comercial que presenta en su formulación a los tres componentes en estudio.

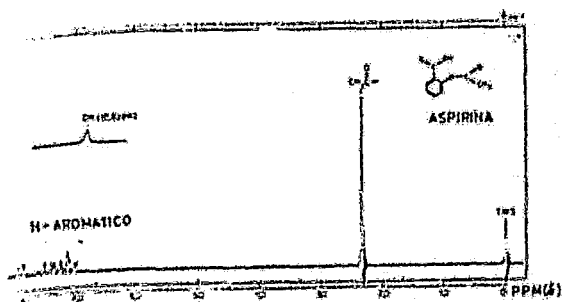


Figura 21. Espectro de RMN de la aspirina

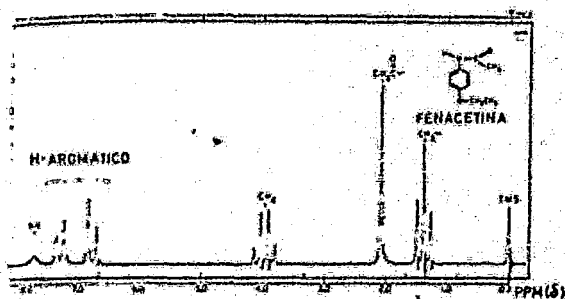


Figura 22. Espectro de RMN de la Fenacetina.

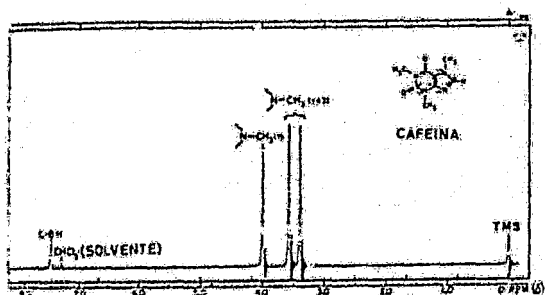


Figura 23. Espectro de RMN de la cafeína.

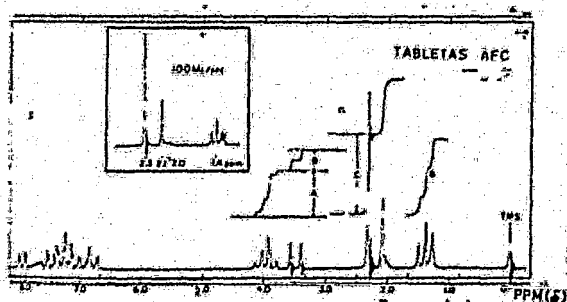


Figura 24. Espectro de RMN de una mezcla de aspirina, fenacetina y cafeína.

A. Aspirina

C. Cafeína

B. Fenacetina

Para la aspirina la señal fina que aparece alrededor de 2.3 ppm y la cual corresponde al metilo del grupo éster, es la que se elige como señal analítica. Para la fenacetina se eligió como señal analítica el cuarteto que aparece en 4.0 ppm, el cual corresponde al metileno del grupo etilo.

También se puede considerar la señal alrededor de 2.1 ppm como debida al grupo metilo de la maida, éste pico sobresale a los otros y se resuelve claramente en el espectro obtenido a 100 Mc/seg (fig. 24), en dos señales, las cuales se atribuyen a la existencia de - isómeros rotacionales pertenecientes a la unión -C-N-.

El número de miligramos de cada componente por - cada miligramo de muestra se puede calcular de la siguiente manera :

$$\text{Aspirina} = \frac{\text{mg asp.}}{\text{mg muestra}} = \left[\frac{C}{I_{\text{caf.}}} \right] \times \left[\frac{P.M. \text{ asp.}}{P.M. \text{ Caf.}} \right] \times \left[\frac{\text{mg caf}}{\text{ml sol.}} \right] \times \left[\frac{0.500 \text{ ml}}{\text{Est.}} \right] \times \left[\frac{1}{\text{mg Muestra}} \right] \quad (1)$$

$$\text{Fenacetina} = \frac{\text{mg fen}}{\text{mg Muestra}} = \left[\frac{1 - \frac{1}{2} (B - 0.0055 G)}{I_{\text{caf}}} \right] \times \frac{3}{2} \times \left[\frac{P.M. \text{ fen}}{P.M. \text{ caf}} \right] \times$$

$$\left[\frac{\text{mg caf}}{\text{ml sol.}} \right] \times \left[\frac{0.500 \text{ ml}}{\text{Est.}} \right] \times \left[\frac{1}{\text{mg Muestra}} \right] \quad \dots \dots (2)$$

$$\text{Cafeína} = \frac{\text{mg caf}}{\text{mg Muestra}} = \left[\frac{\frac{1}{2} (B - 0.0055 G)}{I_{\text{caf}}} \right] \times \left[\frac{\text{mg caf}}{\text{ml sol.}} \right] \times \left[\frac{0.500 \text{ ml}}{\text{Est.}} \right] \times \left[\frac{1}{\text{mg Muestra}} \right] \quad (3)$$

Donde A, B, C, son los valores de las integrales como se muestra en la figura 24, y se pueden medir arbitrariamente en unidades también arbitrarias.

I_{caf} corresponde a la integral de un grupo metilo de la muestra estándar de cafeína, aspirina y fenacetina. El término 0.0055 representa la corrección de la señal del carbono -13 de la aspirina, el que presenta una posición debajo del pico del CH_2 - de la cafeína a 3.4 ppm.

Los resultados se obtuvieron sacando el promedio de siete lecturas en los espectros, en la Tabla XXI tenemos los resultados obtenidos con varias concentraciones conocidas de mezclas de AFC, también - se incluyen los resultados obtenidos con dos tabletas comerciales.

Tabla XXI. Análisis por RMN de mezclas de AFC.

mg.adic./ml. ó mg./tableta			ENCONTRADO POR RMN			% de error absoluto		
ASP	FEN	CAP	ASP	FEN	CAP.	ASP	FEN.	CAP
20.0	...	8.0	20.0	...	8.2	0	...	...
...	30.0	...	...	35.7	...	...	0.8	2.5
20.0	30.0	8.0	20.0	35.4	8.2	0	1.7	2.5
40.0	32.0	7.5	40.0	34.8	7.6	0.25	3.7	2.7
20.8	22.0	5.0	20.8	21.4	8.4	2.0	2.7	2.3
41.0	27.0	9.0	41.1	26.0	8.7	1.2	3.5	3.3
40.2	41.0	0.0	39.0	40.0	6.3	3.0	...	...
20.7	30.8	5.4	20.8	30.0	5.1	0.41	0	0.3
20.2	24.8	19.0	25.8	23.4	18.0	1.5	1.3	2.1
220	162	32.4	217	163	30.0	...	...	...
220	162	32.4	219	174	31.0	...	...	...
220	162	32.4	221	164	31.1	...	...	...
220	162	32.4	220	171	31.4	...	...	...

Descripción de las muestras:

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1. Aspirina (CHCl ₃). | 8. Mezcla de AFC (CDCl ₃) |
| 2. Cafeína (CHCl ₃) | 9. Mezcla de AFC (CDCl ₃) |
| 3. Fenacetina (CHCl ₃) | 10. Mezcla de AFC (CDCl ₃) |
| 4. Mezcla de AFC (CHCl ₃) | 11. Tableta A, AFC (CHCl ₃) |
| 5. Mezcla de AFC (CHCl ₃) | 12. Tableta B, AFC (CHCl ₃) |
| 6. Mezcla de AFC (CDCl ₃) | 13. Tableta A, AFC (CDCl ₃) |
| 7. Mezcla de AFC (CDCl ₃) | 14. Tableta B, AFC (CDCl ₃) |

La exactitud de los resultados obtenidos dependen de la cantidad - de cada componente presente en la muestra. Las mezclas que se recu- ren en la Tabla XXI cubren el rango de composición usual encontrada en las preparaciones farmacéuticas comerciales.

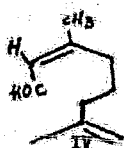
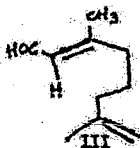
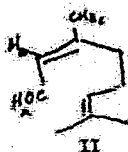
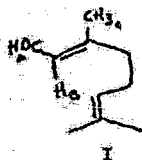
El promedio de las desviaciones del valor correcto para todas las -
mezclas conocidas son los siguientes : aspirina 1.1 %; fenacetina—
2.2 %; cafeína 3.2 %.

Esto nos demuestra que la RMN puede usarse para
analizar preparaciones comerciales de AFO, con una exactitud sufici-
ente como para emplearse en control de calidad, además los resultados
obtenidos son comparables con los obtenidos por otros métodos espec-
trométricos.

Otra de las aplicaciones dentro del mismo campo analítico la tenemos
en la determinación de componentes de mezclas de aceites esenciales ,
en el estudio hecho por P. Joseph-Nathan y colaboradores (34), en el
cual llevó a cabo la evaluación de mezclas de geranial y neral por -
medio de la RMN.

Como sabemos el citral es uno de los componentes más
importantes de los aceites esenciales, especialmente de aquellos que
se obtienen de la especie Citrus.

El citral puede existir en cuatro -
formas isoméricas geométricamente, las cuales son : geranial (I) y -
neral (II), las cuales se conocen comúnmente como citral - α y citral
 β , respectivamente; y el α -geranial (III) y el α -neral (IV), (35).
Los isómeros antes mencionados presentan la siguiente estructura:



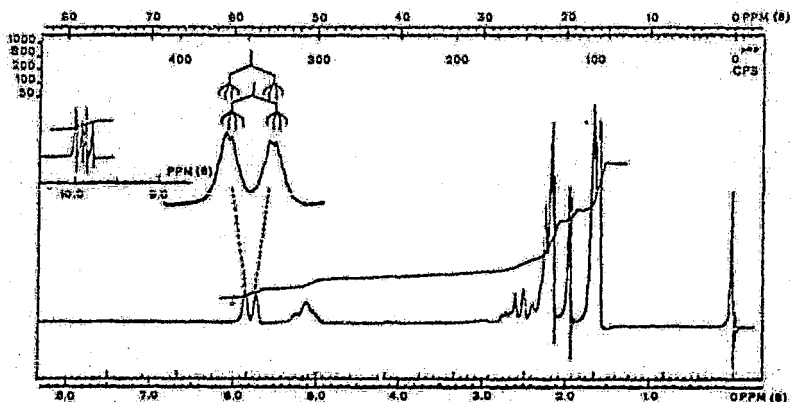


Figura 25 . Espectro de RMN del citral.

En el espectro obtenido (Fig. 25) se presenta duplicidad de varias señales características y la medición adecuada de las constantes de acoplamiento. Estas señales combinadas con las intensidades relativas de las mismas, permiten asignar convenientemente la posición de absorción de cada grupo de la mezcla en el espectro.

La presencia de dos señales dobles, cuya constante de acoplamiento es $J_{AB} = 8$ c/s, y que se encuentra centrada en $\delta = 9.93$ y 9.85 , es debida a los protones aldehídicos del geranial (I) y del neral (II) respectivamente.

La otra señal doble aparece con una constante de acoplamiento $J_{BC_3} = 1.1$ c/s centrada en $\delta = 2.15$, ésta se asignó a los protones del metilo vinílico del geranial (I), mientras que el mismo sustituyente del neral (II) muestra una señal doble a $\delta = 1.97$ ($J = 1.2$) c/s).

La multiplicidad de una señal centrada en $\delta = 5.78$, corresponde al H_α de ambos citrales.

Mientras que la señal ancha que aparece entre δ 4.9 y 5.30 y dos señales simples en δ 1.66 y 1.60, son asignadas al protón vinílico y al α dimetilo de la mezcla.

Los protones alifáticos restantes de los citrales aparecen entre δ 2.28 y 2.15. En la mezcla en estudio se encontró que no hay evidencia para sospechar la presencia de α -geranial (III) o de α -neral (IV).

La interpretación anterior difiere de otra realizada anteriormente (36), en la que los metilos del isopropilideno del citral -a, separado del citral-b, fueron interpretados como un doblete ($J=3$ c/s) en $\delta=1.65$ suponiéndose que se trataba de la interacción de un protón aldehídico ($J=7.8$ c/s) con un protón olefínico ($J=8.4$ c/s).

La evaluación cuantitativa de las mezclas I y II se efectúan como sigue: la fracción mol de neral (II), se obtiene dividiendo el área integrada bajo la señal doble centrada en $\delta=1.97$, entre la mitad del área integrada por la suma de las señales simples en δ 1.66 y 1.60. La fracción mol del geranial (I) se obtiene por diferencia con la unidad.

Debido a que la señal localizada en δ 1.97 no está superpuesta con otra señal y que las bandas de absorción de hidrógenos unidos a carbonos, no sufren desplazamientos por concentración, la evaluación cuantitativa puede hacerse aún cuando la composición sea baja en alguno de los componentes.

Otro método para determinar la composición de la mezcla consiste en dividir el área integrada bajo el doblete centrado en δ 9.35, que corresponde al protón aldehídico del neral (II), entre el área del doblete del mismo grupo funcional del geranial (I), que aparece cen-

trada en δ 9.93. Como éstos dos dobletes tienen un desplazamiento químico tal que a primera vista parecen ser un cuádruplete, pueden también compararse las integraciones de una de las ramas de cada doblete, siempre y cuando la comparación se efectúe entre las ramas del campo más alto a las de campo más bajo.

Otro estudio interesante dentro del mismo campo farmacéutico, es el que se refiere a la determinación directa por RMN de la proporción de amina libre con respecto a su sal, así como la correlación de acidez, desarrollado por Stanley A. Koch y colaboradores (37).

El estudio se llevó a cabo con las siguientes aminas: pirilamina, metapirileno, d-l- desoxiefedrina y difenhidramina, junto con una ó más de sus sales como clorhidratos, nitratos percloratos, maleatos y p-toluensulfonatos. Todas éstas aminas son de tipo alifático con uno ó más grupos N - metílicos. Los espectros de RMN de éstos compuestos nos muestran que el desplazamiento químico de los grupos N-metílicos es lineal, dependiendo de la fracción de base libre y moléculas de sal presentes, esto nos proporciona un método de determinación directa de la proporción de amina y su sal.

Estas observaciones coinciden con las hechas originalmente por Gutowsky (38) y Masuda (39), demostrando que un rápido intercambio químico entre especies químicas presentes en una mezcla y que contribuyen a una misma línea de absorción, produce una relación lineal entre la variación del desplazamiento químico y la fracción de protones. Esta variación puede ser correlacionada con la fuerza relativa del ácido incluido en la formación de la sal, en un disolvente en el cual éstos ácidos normalmente se consideran

insolubles.

Algunos autores (40 - 45) han difundido y aplicando éste método y el fenómeno que incluye, usualmente en consideración al intercambio de protones en soluciones acuosas. Al verificar la relación lineal antes mencionada (43), se correlacionó con la fuerza relativa de los ácidos incluyendo la formación de la sal en un solvente (CHCl_3) en el cual se consideran normalmente insolubles.

Las determinaciones se llevaron a cabo con muestras comerciales de aminas, como son: clorhidrato de metapirileno, salento de pirilamina, clorhidrato de d,l-desorixefedrina y clorhidrato de difenhidramina, las cuales se utilizaron sin una purificación posterior.

En general, todas las bases de nitrógeno orgánico estudiadas producen sales solubles en cloroformo. Los espectros de RMN de cada base y de su sal correspondiente reflejan después de la formación de la sal, el desplazamiento característico a bajo campo de los grupos de protones no lábiles situados adyacentemente al nitrógeno protonado.

La extensión de los desplazamientos totales en éste caso dependen de a) la basicidad de la amina; b) de la naturaleza del ácido incluido en la formación de la sal y c) de la proximidad de las señales de los protones al sitio básico.

Cuando se encuentran presentes ambas formas de la amina, ó sea la amina libre y su sal en la misma solución de CHCl_3 , aparecen como un solo grupo en resonancia, y el desplazamiento químico resultante en cualquier mezcla, se puede expresar de la siguiente forma:

$$\delta_{\text{m}} = \delta_{\text{L}} + (\delta_{\text{S}} - \delta_{\text{L}}) \times S$$

Donde δ_{L} , δ_{S} = a los desplazamientos químicos de la amina y su sal

en estado puro respectivamente.

X_s = a la fracción mol de la sal presente (42).

En la Tabla XIII podemos observar los resultados obtenidos para el análisis comparativo de mezclas de amina libre y la sal correspondiente de la difenhidramina.

Como podemos observar, los valores obtenidos por RMN son más altos que los obtenidos por otros métodos. - Esta diferencia de valores se puede deber a una pequeña cantidad - de otra sal que se encuentre presente, además del clorhidrato, y - que pueda contribuir al desplazamiento a campo bajo en el espectro de RMN correspondiente, no obstante esto, el método da resultados más exactos en el porcentaje de base libre.

Tabla XIII. Análisis comparativo de mezclas de base - sal de difenhidramina.

Muestra	RMN	% de sal en CHCl_3 UV y titulación con AgNO_3	% de dif.
A	64.0	62.5	2.3
B	71.4	69.0	3.4
C	76.0	74.9	1.4
D	79.1	78.7	0.5
E	82.8	82.2	0.7

En la Tabla XIII podemos observar los datos correspondientes a los desplazamientos químicos de los grupos $\text{N}-\text{CH}_3$ en solución, provenientes de sales purificadas de difenhidramina, las cuales son características para cada sal en particular.

Tabla XXIII. Datos espectrales de RMN para sales de difenhidramina.

Sal	NMR (N-Me relativo a TMS)	
	cps	ppm
HCl	171.4	2.86
HBr	171.8	2.86
HI	171.6	2.86
HNO ₃	174.4	2.91
HTos	175.0	2.92
HClO ₄	178.0	2.97

No obstante la especificidad que presenta el método, podemos abrigar la posibilidad de establecer un orden relativo de fuerza de ácidos, en cloroformo para cada uno de los ácidos incluidos en la formación de la sal.

Este orden de fuerza de acidez, se ha tratado de comprobar por otros métodos como son espectroscopía de infrarojo (46) y los datos obtenidos concuerdan con los de RMN.

En el campo de los esteroides P.J. Nathan y colaboradores (47) hicieron una determinación analítica cuantitativa por RMN de la concentración de progestágenos en preparados farmacéuticos, conocidos como anovulatorios esteroidales.

Dichos preparados farmacéuticos consisten generalmente de un estrógeno que presenta el anillo A aromatizado, y de un progestágeno Δ^{13} -ceto ó bien $\Delta^{5(6)}$ -ceto. La determinación cuantitativa de estas mezclas de esteroides, se basa en la diferencia que existe entre los desplazamientos químicos de los protones aromáticos y vinílicos.

El compuesto estrogénico muestra en los espectros de RMN la presencia de señales debidas a tres protones aromáticos, ya que las otras posiciones restantes en el anillo se encuentran ocupadas, dos de ellas por la fusión con el anillo B y la otra con un grupo oxidrilo 6 metoxilo.

En tanto los compuestos Δ^4 -3-ceto muestran la presencia de un protón vinílico perteneciente al carbono 4. Por su parte los derivados $\Delta^{5(6)}$ -3-ceto, se pueden convertir facilmente (48) en forma cuantitativa en compuestos Δ^4 -3-ceto y ser cuantificados como éstos últimos. Las señales que se usan para la determinación cuantitativa de ambos compuestos son las señaladas.

Tabla XXIV. Datos analíticos de Resonancia Magnética Nuclear, de los esteroides en estudio, en ppm (δ) respecto al TMS ref. int.

Compuesto	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	Aceto	Me(C ₁₈)	
Ia	7.11	6.65	6.59	4.72	0.6	—	—	—	—	Me(a-Be): 0.9 (1)
Ib	7.11	6.63	6.57	4.79	0.81	—	—	—	—	CH=CH: entre 5.75 y 6.2
IIa	7.12	6.61	6.55	—	0.89	—	2.49	—	—	—
IIb	7.20	6.71	6.66	—	0.92	—	2.61	—	—	OMe: 3.79 (1)
IIIa	—	—	5.86	—	0.91	—	2.39	—	—	—
IIIb	—	—	5.71	—	0.94	—	2.03	1.97	—	—
IV	—	—	—	—	0.86	—	2.16	—	—	CH ₃ (C ₁₃): 1.75 (1)
V	—	—	5.76	—	0.69	1.21	2.07	—	—	Me(a-Fe): 0.91 (1)
VI	—	—	6.31	—	0.71	1.16	2.01 a 2.10	2.03 a 2.10	—	CH ₃ (C ₁₃): 6.31 (1)
VII	—	—	5.89	—	0.66	1.21	2.01 a 2.10	2.03 a 2.10	1.64	—
VIII	—	—	5.70	—	0.69	1.25	—	—	1.66	Me(C ₁₈): 1.60 (1)

En la Tabla XXIV se pueden observar los desplazamientos químicos de las señales más características de cada compuesto con respecto al TMS usado como referencia interna. Además de éstos desplazamientos químicos, existen ciertas multiplicidades que pueden o no estar presentes, y las cuales caracterizan a las señales. La combinación de ambos factores debe de considerarse para efectuar evaluaciones cualitativas y cuantitativas.

D

De la interpretación detallada de los espectros de RMN se puede observar que los protones del estrógeno y el protón vinílico del progestágeno aparecen a campos diferentes.

Tomando en cuenta las consideraciones anteriores, podemos concluir que de la integración a del área bajo la curva de las diferentes señales obtenidas, se puede calcular directamente la cantidad de cada componente en la mezcla. Ahora si además dicha mezcla es adicionada de un estándar de referencia interna, como puede ser un tercer componente, cuyas señales tengan desplazamientos químicos tales que no se superpongan con las demás a señales de los componentes por analizar, es posible calcular directamente las cantidades del progestágeno y del estrógeno presentes en la mezcla analizada.

En la figura(26) podemos observar las señales características de una mezcla de estrógeno y progestágeno con m-dinitro benceno adicionado a ella .

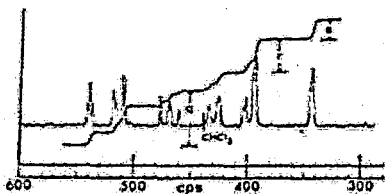
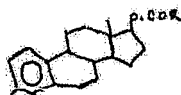


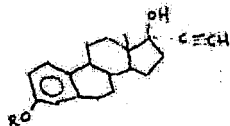
Figura 26. Espectro de RMN parcial de una mezcla de m-dinitro benceno, un progestágeno y un estrógeno - (en CDCl_3 con TMS ref. int.)

Las muestras de esteroides analizados presentan compuestos que tienen la siguiente estructura:



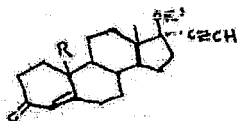
Ia. $R = H$, $R' = C_6H_5$

Ib. $R = H$, $R' = (CH_2)_8-CH=CH_2$



IIa. $R = H$

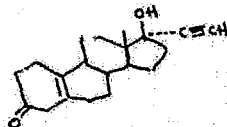
IIb. $R = Me$



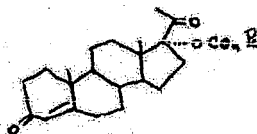
III a. $R = H$, $R' = H$

b. $R = H$, $R' = Ac$

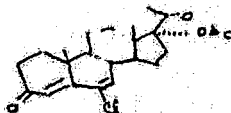
c. $R = Me$, $R' = H$



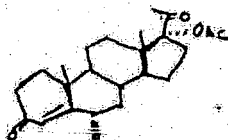
IV



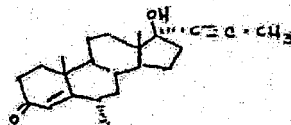
V



VI



VII



VIII

Para calcular desde un punto de vista general los miligramos de estrógeno (mg_a), y del progestágeno (mg Δ⁴), se pueden aplicar las siguientes ecuaciones :

$$m_a = \frac{M_a \cdot m_o \cdot n_a \cdot r}{M_o \cdot n_o \cdot q}$$

$$m_{\Delta^4} = \frac{M_{\Delta^4} \cdot m_o \cdot n_o \cdot s}{M_o \cdot n_{\Delta^4} \cdot q}$$

Donde: M = Pesos moleculares.

m = Miligramos.

n = Número de protones integrados.

q, r, s = Altura de las integraciones.

a, Δ⁴, o = Subíndices usados para identificar al estrógeno, aromático, progestágeno y estándar respectivamente.

Otra forma de efectuar los cálculos puede ser aquella en la que se considera la integración de uno, dos, ó tres de los protones del estándar. En la figura(26) además del espectro parcial, podemos observar la curva de integración del área bajo las señales de resonancia, en las cuales la magnitud "q" representa el área bajo las señales de los cuatro protones del m- nitrobenzeno; "r" corresponde al área de los dos protones del estrógeno y "s" corresponde al área de los protones vinílicos del progestágeno, que dependiendo del compuesto pueden ser uno ó dos.

Las mezclas de los compuestos analizados y los disolventes usados se resumen en la Tabla XIV.

Tabla XXV. Análisis efectuados por RMN.

Número	Componente	Fórmula	Disolventes
1	Capato de hidroxiprogesterona Valerato de estradiol	(VI) (Ia)	$\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$
2	Acetato de nortestosterona Etilol estradiol	(IIIb) (IIa)	$\text{Me}_2\text{CO}-d_6$
3	Acetato de andropropogesterona Etilol estradiol	(VII) (IIa)	$\text{CDCl}_3, \text{Me}_2\text{CO}-d_6 (1:1)$
4	Dantioctona Etilol estradiol	(VIII) (IIa)	$\text{Me}_2\text{CO}-d_6$
5	Enicetona Etilol estradiol	(IIIc) (IIa)	No se encontró disolvente adecuado
6	Nortestosterona o nortestodrona Metanol	(IIIa) (IIIc)	COCl_2
7	Nortestosterol Metanol	(IV) (IIb)	$\text{CDCl}_3 + \text{HCl}$
8	Acetato de alomadinona Metanol	(VI) (IIb)	CDCl_3

Por otra parte es posible establecer por medio de las multiplicidades de las señales, desplazamientos químicos e integraciones de las señales de RMN, la naturaleza de los ácidos de cadena lineal que esterifican a los grupos oxidrilo de las moléculas esteroidales, existiendo dos casos generales, que son cuando el éster está formado con un ácido saturado y cuando lo está con un ácido no saturado.

En el primer caso, para determinar las señales de los protones de la cadena del ácido, se establece por diferencia con el número de protones integrados para la parte esteroideal, dicha diferencia nos proporciona el número de hidrógenos contenidos en la cadena del ácido, con lo cual se puede definir su naturaleza, esto es aplicable también a los compuestos cuya estructura corresponde a I_a y V de los mencionados anteriormente.

En el caso en el que el ácido esterificante posee insaturaciones, es posible establecer su naturaleza si en la presencia de doble (s) ligaduras efectuando consideraciones semejantes a las usadas en la determinación del número de Iodo en triglicéridos (49), así como la determinación del tamaño de la cadena -

por medio de integraciones.

La exactitud de las evaluaciones cuantitativas efectuadas por medio de la RMN, puede estimarse a groso modo en $\pm 2\%$ en condiciones normales del aparato.

Otro trabajo sumamente interesante que apareció recientemente, fue el desarrollado acerca de mezclas de sulfas en productos farmacéuticos sólidos y líquidos (49.1). La ventaja de la determinación de sulfas por RMN consiste en que se pueden determinar solas ó en mezclas, y en el caso particular de formas farmacéuticas, no es necesario hacer una separación de los componentes de éstas, pues no interfieren ni excipientes, colorantes, etc., lo cual no sucede por medio de su determinación por otros métodos, además la exactitud obtenida es considerablemente buena.

De los resultados obtenidos tenemos un resumen en la Tabla IIIVa, dichos valores se obtuvieron por medio de la aplicación de la siguiente fórmula, la cual ya había sido mencionada:

$$n_a = \frac{M_a \cdot n_c \cdot r \cdot n_s}{M_s \cdot n_a \cdot q}$$

Obteniéndose directamente el número de miligramos de cada componente.

Tabla IIIVa. Valores obtenidos para sulfonamidas en mezcla.

Muestra	mg usados	mg obtenidos por RMN	% error absoluto
Sulfatiazol	55.0	58.19	+ 2.0
Sulfadiazina	55.0	54.85	+ 0.6
Sulfadimetoxina	55.0	57.71	+ 4.9
Sulfametazina	55.0	55.63	+ 1.1

OTRAS APLICACIONES.

Dentro de las aplicaciones a diferentes determinaciones tenemos, el estudio hecho por P.W. Flanagan (50), en el cual por medio de la aplicación de la RMN de alta resolución se identificó y se hizo un análisis de surfactantes no iónicos.

Como sabemos los detergentes no iónicos disponibles comercialmente están representados por un número de condensados de óxido de etileno, - esta clase de detergentes son los que se estudiarán en el presente trabajo.

Generalmente éstos condensados tienen bases hidrófobas de fenoles alquílicos, alcoholes grasos, aminas ó ácidas y usualmente se fabrican para una aplicación específica, lo cual significa que además de seleccionar un hidrófobo específico, se debe seleccionar la cantidad de óxido de etileno adicionada, la cual debe ser conocida y ajustarse a la aplicación encomendada al hidrófobo seleccionado.

Existen varios métodos para encontrar cuantitativamente el óxido de etileno, (51) pero llevan demasiado tiempo - para su determinación y además carecen de precisión. Dentro de éstos métodos tenemos el de la degradación del agente no iónico con HBr ó HI, pero no son aplicables cuando se trata de un derivado que contenga un grupo amina ó un grupo mercaptano (52).

En cambio la RMN ofrece un método cuantitativo conveniente para su determinación, tanto de su estructura como de su composición, las ventajas de éste método es que no es destructivo y es relativamente rápido, además por medio de él se pueden estudiar y determinar muestras relativamente pequeñas, así como muestras que sean mezclas de homólogos.

La exactitud de éste método depende de ciertos factores, los cuales deben de tomarse en cuenta, como son la saturación, homogeneidad - del campo, etc.

En el caso del óxido de etileno condensado con alquil fenoles encontramos quizá el ejemplo más sorprendente acerca de la información que puede obtenerse por éste método, en la figura (27), podemos observar el espectro de RMN correspondiente a un típico detergente comercial, el cual pertenece al grupo antes mencionado. En él existen tres grupos de líneas separadas, además de la correspondiente al TMS, que aparece a 10.0 tau.

El grupo que se encuentra en lo más bajo del campo (3.0, tau), es característico de los protones que se encuentran directamente unidos a un núcleo aromático. El grupo intermedio (6.1 tau), corresponde a los protones pertenecientes al óxido de etileno, más el protón oxidrilico terminal, el grupo localizado a campo más alto corresponde a los protones de la cadena alquílica.

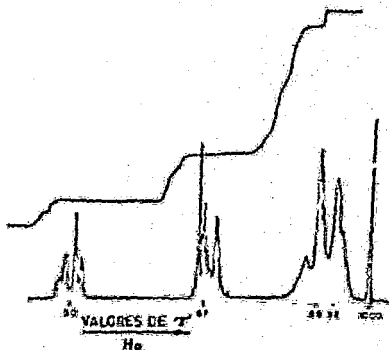


Figura 27. Espectro de RMN e integral de un condensado de un alquil fenol y óxido de etileno.

Para calcular el número de protones en cada lado de la cadena es fácil, ya que tenemos arriba de cada pico su integral y por medio de ésta podemos hacerlo tomando en cuenta los cuatro protones aromáticos que son característicos.

La estructura de la señal del protón aromático nos indica que la sustitución es para y que la estructura para la señal de la cadena alquímica presenta un alto grado de ramificación. Haciendo la comparación con algunos estándares, podemos indicar que originalmente era un grupo polipropilo.

La Tabla XXVI nos muestra los resultados obtenidos de diferentes fenoles alquímicos etoxilados, obteniéndose en la mayoría de los casos concordancia de los valores aquí obtenidos con los proporcionados por los fabricantes.

Tabla XXVI. Condensados de fenoles alquímicos.

Muestra	Cadena alquímica RON	C ₄ H ₉ (unidades) RON
AP - 1	9.4 ± 0.2 ¹	1.57 ± 0.5 ¹
AP - 3	9.4 ± 0.3 ¹	9.6 ± 0.3 ¹
AP - 4	8.3 ± 0.3 ¹	9.6 ± 0.3 ¹
AP - 5	11.9 ± 0.7 ¹	6.2 ± 0.3 ¹

¹ Desv. estándar.

En el caso de los fenoles alquímicos condensados con óxido de etileno, tenemos que se presenta el caso en donde el promedio del peso molecular absoluto de cada porción de la molécula se puede determinar directamente, pero no sucede lo mismo en todos los casos estudiados.

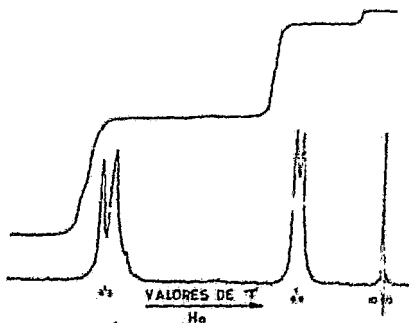


Figura 28. Espectro de RMN e integral de un polímero de óxido de etileno - óxido de propileno.

En la figura (28) tenemos el espectro de RMN perteneciente a un polímero de óxido de etileno - óxido de propileno, en el cual la señal alrededor de 6.5 tau corresponde a los protones pertenecientes a los átomos de carbono que se encuentran unidos al oxígeno, la señal en 8.9 tau corresponde a los protones de los grupos metilo unidos al óxido de propileno.

Sin embargo no se puede asignar un número definitivo de protones a cada una de esas señales, por lo tanto se debe determinar la proporción de óxido de propileno con relación a las unidades de óxido de etileno.

En la Tabla XIXVII tenemos los resultados de la cuantificación de esta relación (en términos de % de peso), calculada en una serie de polímeros de óxido de etileno - óxido de propileno.

Tabla XXVII. Polímeros de óxido de etileno -
óxido de propileno.

Muestra	% en peso de C_2H_4O
EPO - 1	13.2 ± 0.6 ¹
EPO - 2	28.6 ± 0.7 ¹
EPO - 3	39.5 ± 0.6 ¹

¹ Desv. Est.

En dos de los tres casos estudiados, hay una marcada discrepancia entre los datos obtenidos experimentalmente y los proporcionados por los fabricantes, sin embargo si se combinan los datos de RMH con los datos de manufactura, los resultados son favorables en cuanto al peso molecular del producto final y el peso molecular para el poli- óxido de propileno.

Otro problema del cual no se tenía referencia, fue el que se presentó con el alcohol etoxilado, cuyo espectro se muestra en la figura (29). En éste caso la señal correspondiente al grupo $O-CH_2$ del alcohol, cae directamente bajo la señal de las unidades de óxido de etileno, por lo tanto todo lo que se pudo hacer fue determinar la relación que existe de porciones hidrófobas e hidrófilas de la molécula.

Se pensó en usar la resonancia del grupo $-CH_3$ como referencia, pero no estaba suficientemente resuelta de la señal del grupo CH_2 , y además se deseaba conocer algo acerca de las ramificaciones en el alcohol.

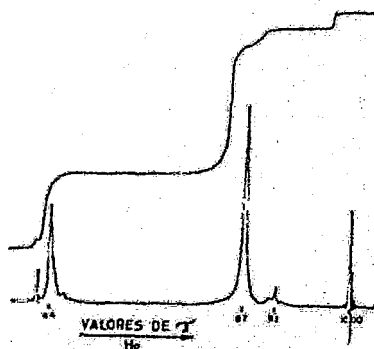


Figura 29. Espectro de RMN e integral de un alcohol etoxilado.

Además de los compuestos antes mencionados, se examinaron algunos otros tipos de detergentes no iónicos menos importantes (Tabla - XVIII), todos representan casos en los cuales se puede determinar un peso molecular absoluto y en cada caso se obtuvieron valores razonables.

Tabla XVIII. Condensados de óxido de etileno.

Muestra	Hidrófobo	Unidades O.E.
EO - 1	Acido oleico	6.1 ± 0.1^1
EO - 2	Aceto ácido	13.2 ± 0.4^1
EO - 3	Alcohol oleico	17.8 ± 0.3^1
EO - 4	Olcomida	8.6 ± 0.3^1
EO - 5	Mercaptano	6.8 ± 0.2^1

¹ Desv. est.

Todos los compuestos resumidos en la Tabla XXVIII tienen una base de referencia como se muestra en la figura (30) correspondiente al mercapto - etoxilato.

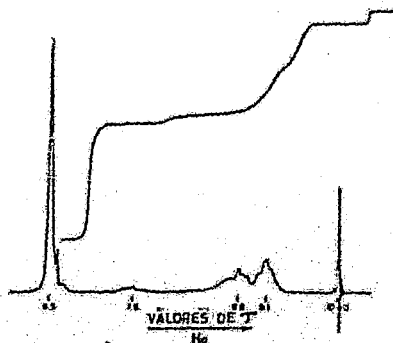


Figura 30. Espectro de RMN e integral de mercapto - etoxilato.

En el espectro anterior, la señal de los protones $S-CH_2-C$ (7.5 tau), es un poco confusa, pero la integral se puede usar como estándar para determinar como se encuentran muchos protones en el resto de la molécula. Los autores debían decidir si se trataba de un grupo $S-CH_2-C$ ó de uno $S-CH-C$, pero solo uno de ellos dió resultados razonables.

Como era de esperarse el método está sujeto a interferencias, el agua normalmente no interfiere como se muestra en la Tabla XIII, otro factor de interferencia sería el poli-óxido de etileno, en cuyo caso la interferencia no es fácilmente detectable. Generalmente no hubo necesidad de aislar los componentes no iónicos de los detergentes comerciales, aunque hubo pequeña interfe-

rencia.

Tabla XXIX. Precisión y exactitud de la determinación de óxido de etileno por RMN.

Muestra	Hidrófobo	D.E. (unidades)	
		Por peso	Por RMN
GRP-1278-12	Alcohol ALFOL 1214	1.02	1.12 ± 0.04^1
GRP-1278-16	Alcohol ALFOL 1214	2.26	2.40 ± 0.04^1
HW-1217-85 ¹¹	Alcohol ALFOL1214	2.97	2.83 ± 0.04^1
GRP-1278-13	Alcohol ALFOL 1214	4.18	3.97 ± 0.08^1
Aducto tetra-etilen glicol	Dodecanol	2.00	2.06 ± 0.06^1

¹¹ 50.7 % activo en agua. La muestra examinada consiste de partes iguales de ésta mezcla y CCl₄.

¹ Desv. est.

En otro trabajo interesante Kazuo Konishi y colaboradores (53), - realizaron una determinación cuantitativa de monoésteres de 1,2 - propanodiol, pertenecientes a los ácidos grasos de cadena larga, e por medio de la RMN de fluor.

Dichos ésteres se han usado como agentes de actividad superficial para mejorar las propiedades espumosas de los aceites comestibles, éstos monoésteres de 1,2 propanodiol se preparan generalmente como una mezcla de 1,2 monoésteres acompañados de una pequeña cantidad del diéster.

Brandner (54) ha reportado que la proporción de equilibrio de los monoésteres 1 y 2, depende de la temperatura, y un pequeño cambio en él causa una diferencia en su composición.

Recientemente se ha reportado también la caracterización de alcoholes por medio de sus derivados trifluoroacetilados (55)(56), las ventajas que presenta éste método son : en primer lugar que los desplazamientos químicos del fluor son en general más grandes que los de otros protones, pero dentro de una

magnitud aceptable, en segundo lugar se pueden observar las señales de los tres núcleos de fluor en lugar de un protón del alcohol.

En el caso de los monoésteres de 1,2 propanodiol, tienen solamente un grupo oxidrilo en la molécula. El monoéster -1 tiene un grupo oxidrílico secundario, y el monoéster 2, uno primario. Para éste tipo de grupos oxidrilo, en el presente trabajo describiremos una ampliación del método antes mencionado (55, 56) con aplicación cuantitativa para monoésteres 1,2 de ácidos grasos de cadena larga por resonancia magnética de fluor.

En la figura (31), podemos observar el espectro de resonancia magnética de fluor de los derivados trifluoroacetilados de los monoésteres 1 y 2. Las señales asignadas en la figura (31) se derivaron del uso de estándar de monoestearato 1,2, el cual fue purificado por cromatografía de elución y fue identificado por espectrometría de infrarrojo.

Las señales que aparecen a bajo campo fueron asignadas a los derivados trifluoroacetilados de los monoésteres en la posición 2, y las señales localizadas a campo alto fueron asignadas a los derivados trifluoroacetilados en posición 1. Estas señales se usaron para la determinación cuantitativa de ambos componentes.

Se sacó el promedio de la altura de las señales y se calculó el porcentaje del monoestearato-2. Los resultados de esta determinación se encuentran en la Tabla XIX.

En el análisis por resonancia magnética de fluor, se usaron dos tipos de muestras, una de ellas purificada por cromatografía de elución y la otra no, de los datos obtenidos para las dos muestras, podemos concluir que el proceso de purificación

por cromatografía no es necesario, con lo cual se vé simplificado - el método, pues no obstante que exista una pequeña cantidad de ésteres y ácidos grasos libres en la muestra, éstos no interfieren en - el análisis:

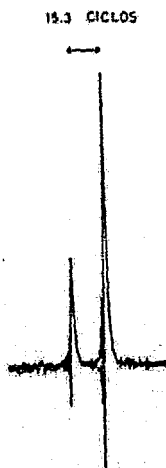


Figura 31. Espectro de RMN de P^{19} (56.4 Mc) de los derivados trifluoroacetilados de mono - esteratos 1,2.

Tabla XXX. Análisis cuantitativo de monoestearato 2, en mezclas de monoestearatos 1,2.

Muestra	P^{19} % en RMN		Cromatografía de elución.
	Purif.	Impurif.	
1	33.6	33.7	34.1
2	32.2	33.5	34.6
3	28.5	28.5	28.9
4	30.6	31.0	30.3
5	32.6	31.7	34.7

En éste método hay que tener la precaución de que la muestra de mono-
 oestearatos 1, 2 no se isomerice durante el proceso de trifluoroaceti-
 lación, ésto se puede saber y medio del análisis de cada monoesta-
 rato por separado.

Después de analizar los resultados obtenidos, podemos
 dar la proporción de equilibrio de los monoestearatos 1,2 en los pro-
 ductos comerciales, siendo ésta de 2:1.

El método aquí empleado da resultados aceptables, no obstante que el
 cálculo cuantitativo se hizo tomando en cuenta la elevación de los -
 picos en lugar de las integrales correspondientes.

En el campo de la petroquímica, D.E. Wetmore
 y colaboradores (57) hicieron un estudio sobre las fracciones de bajo
 peso molecular de tres asfaltos, con el objeto de determinar las di-
 ferencias existentes entre ellos.

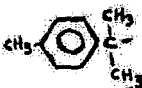
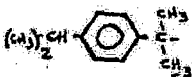
Otros investigadores integraron las
 porciones adecuadas de los espectros obtenidos por RM para determinar
 la cantidad de protones aromáticos presentes, protones con respecto a
 núcleos aromáticos, protones nafténicos, protones metilénicos ali-
 fáticos y protones metílicos que se son a δ b con respecto a sistemas
 aromáticos.

Para poder obtener resultados lógicos, después de llevar
 a cabo la división de cada área por medio de la amplificación del -
 espectro correspondiente de cada uno de ellos, las áreas fueron -
 corregidas a una concentración del 100 % de la fracción y después
 dividida entre la absorción protónica total para dicha fracción.

Uno de los más recientes trabajos publicados, es el perteneciente a G.A. Ward y colaboradores (58), el cual se refiere a mezclas de peróxidos orgánicos, hidropéroxidos y alcoholes, y su determinación en forma cuantitativa por medio de la RMN.

En la Tabla XXXI se muestra una lista de los desplazamientos químicos de los protones β -CH con respecto al grupo -OOH ó -OH, con los que se ha encontrado que dan señales más adecuadas para efectuar el análisis cuantitativo en algunos peróxidos, hidropéroxidos y alcoholes, de los cuales no habían sido reportados antes.

Tabla XXXI. Desplazamientos químicos de los protones β , con respecto a los grupos -OOR, -OOH, -OH. ¹¹

R	(Desplazamiento químico de los protones indicados en Hz contra TMS)		
	ROOR	ROOH	ROH
$(CH_3)_3 C-$	73.0	76.3	75.2
	—	91.8	87.8
	—	94.0	92.0

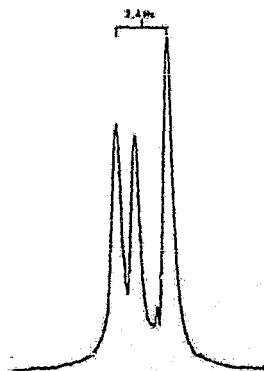


Figura 32. Espectro de RMN de los protones metílicos de (izq. a der.) α, α -dimetil bencil peróxido, hidroperóxido y alcohol en acetona.

Aunque los picos no se presentan bien resueltos en el espectro, la altura de los mismos y su área, se pueden medir frecuentemente con relativa facilidad.

En la figura (32) tenemos el espectro de una mezcla de hidroperóxido, alcohol y peróxido terbutílico, aquí la resolución es adecuada para la determinación cuantitativa de la altura de los picos ó del área de los mismos.

Como una aplicación cuantitativa típica del método, se llevó a cabo un experimento para determinar la exactitud y la precisión que se puede obtener en dichas determinaciones por medio de los picos obtenidos del espectro y los cuales se encuentran estrechamente cerca

nos para sistemas de peróxidos con protones B.



Figura 33. Espectro de RMN de (13q. a der.) hidroperóxido, alcohol y peróxido t - butílico.

Para llevar a cabo este estudio, se prepararon mezclas de hidroperóxidos terbutílico y alcohol terbutílico en dioxano (Fig. 34).

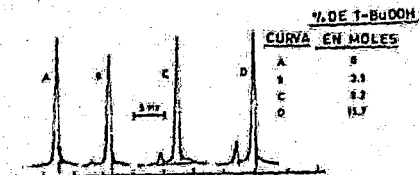


Figura 34. Espectro de RMN de mezclas de peróxido e hidroperóxido t - butílico.

Aunque el área de los picos puede medirse con un planímetro, se encontró que también se podían obtener resultados satisfactorios usando la altura de los picos obtenidos como una medida para determinar las concentraciones relativas de los compuestos. Éste fue el procedimiento usado, aunque presenta el inconveniente de que solamente es aplicable cuando los picos obtenidos son singuletes bien definidos y con una amplitud de línea constante.

Los resultados obtenidos después de varias determinaciones, para diferentes mezclas, se encuentran resumidos en las Tablas XXXIII y XXXIV.

Tabla XXXIII. Desplazamientos químicos de los protones en hidroperóxidos y alcoholes.

R	v. Hz	
	ROOR	ROH
$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$	176	152
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_2\text{-CH}_2\text{-}$	176	155
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_6\text{-CH}_2\text{-}$	176	—
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_7\text{-CH}_2\text{-}$	—	155
$\text{CH}_3\text{-CH-CH}_2\text{-}$ CH_3	169	146

Tabla XXXIV. Análisis cuantitativo de mezclas de alcohol t-butílico a hidroperóxido t-butílico en dicxano.

% Teórico de alcohol	% Encontrado
25.0	24.3 25.6 prom. 25.2 24.7 25.8 dif. 0.6 25.4
50.0	50.7 50.8 prom. 50.8 51.0 50.8 50.8
75.0	71.7 71.5 prom. 72.4 73.2 72.7 73.0
90.0	88.6 87.4 prom. 88.2 87.8 88.3 88.9

Haciendo una comparación con los datos para la composición conocida de la mezcla y los resultados obtenidos, encontramos que éstos concuerdan, y que además existe precisión en ellos, no obstante — que los picos se encontraban muy cerca unos de otros.

También se hicieron estudios con otras mezclas de peróxidos similares, encontrando que los resultados son buenos para aquellas muestras en las cuales los picos de RMN se encuentran separados por 0.8 Hz ó más.

Se encontró también que el límite más bajo de concentración es de 2-3%, dando un pico aceptable.

De acuerdo con los datos obtenidos, podemos concluir que este método es exacto y rápido para determinaciones cuantitativas, aún cuando los disolventes usados en su determinación sean diferentes.

CONCLUSIONES :

Del estudio realizado, podemos concluir que el uso de la RMN como un método analítico cuantitativo es muy útil en la determinación de componentes de mezclas de compuestos, proporcionándonos datos exactos y precisos que nos hacen aceptarlo como un método confiable, además tiene la ventaja de ser sumamente específico en los resultados que proporciona en cuanto a señales en el espectro y en cuanto al valor numérico.

Presenta la ventaja también de que para su realización no es necesario tener una cantidad de muestra relativamente grande como se necesitaría para la aplicación de otro método, ya muestra es recuperable.

Para obtener buenos resultados y evitar en la mayor parte posible el error del mismo, es necesario tomar en cuenta factores que ya se han citado en algunos experimentos, pero que podemos generalizar, y que son: la solución de la muestra por analizar en forma homogénea, evitar la saturación por radio frecuencia dependiendo del compuesto en estudio.

Una vez tomados éstos y otros errores posibles que pudiesen surgir, podemos estar seguros de que el método dará muy buenos resultados como lo hemos podido observar.

Debido a esto es su aceptación cada día mayor tanto en el campo de química industrial, farmacéutica, de investigación, etc.

BIBLIOGRAFIA :

1. Jackman, L.M., Applications of NMRs in Organic Chemistry, Pergamon Press, New York (1959).
2. Bhacca, N.S., y Williams, D.H., Applications of NMRs in Organic Chemistry, Holden Day Inc., San Francisco (1964).
3. Nathan, P.J., y Díaz, E., Introducción a la RMN, Limusa - Wiley, México, 1970.
4. Silverstein, R.M., y Bassler, G.C., Spectrometric Identification of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., New York (1967).
5. Mathieson, D.W., Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists, Academic Press, Inc., Londres (1967).
6. Roberts, J.D., Nuclear Magnetic Resonance Applications to Organic Chemistry, Mc Graw Hill Book Co. Inc., N.Y. (1959).
7. Dyer, J.R., Applications of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds, Pentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J. (1965).
8. Chen, H.Y., Anal. Chem., 34, 1134 (1962).
9. Bovey, F.A., et al, J. Polymer Sci., 38, 73 (1959).
10. Reilly, C.A., Anal. Chem., 32, 211R (1960).
11. Varian Associates, Instrument, Div., Instruction Manual, V-3521 NMR Integrator, Publ. 87-100-029.
12. Varian Assoc., NMR and EPR Spectroscopy, chap. 8, Pergamon Press New York (1960).
13. Williams, R.B., Ann. N.Y. Acad. Sci. 70, 890 (1958).
14. Chen, H.Y., Anal. Chem., 34, 1793 (1962).
15. Chen H.Y., Anal. Chem., 36, 1394 (1964).

16. Porter, H.S., Nakais, S.W., Johnson, J.F., *Anal. Chem.*, **35**, 1948 (1963).
17. Carlson, D.W., y Altenau, A.G., *Anal. Chem.*, **41**, 969 (1969).
18. Mochel, V.D., *Rubber, Chem. Technol.*, **40**, 1200 (1967).
19. Spragg, R.A., *Instruments News*, **21**, 7 (1970).
20. Hirst, R.G., et al, *J. Polymer Sci., A*, **3**, 2091 (1965).
21. Yoshikawa, T., Kumanotani, J., *Makromol. Chem.*, **131**, 273 (1970).
22. Woodbrey, J.O., Higginbottom, H.P., Gultberson, H.H., *Polymer Sci., A*, **33**, 1079 (1965).
23. Brockmann, W., Brockmann, H., Budzilewicz, H., *Kautsch und Gummi*, **21**, 679 (1968).
24. Manjarrez, A., et al, *Chem. and Inds.*, **81**, (1965).
25. Barza, S.J., *Org. Chem.*, **28**, 1914 (1963).
26. Manjarrez, A., Foster, L., y Nathan, P.J., *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **XII**, 171 (1967).
27. Nathan, P.J., Manjarrez, A., et al, *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **XII**, 9 A (1968).
28. Jungnickel, J.L., y Forbes, J.W., *Anal. Chem.*, **35**, 938 (1963).
29. Reilly, C.A., *Anal. Chem.*, **30**, 839 (1958).
30. Paulsen, J.P., Cooke, W.D., *Anal. Chem.*, **34**, 1713 (1964).
31. Paulsen, J.P., Cooke, W.D., *Anal. Chem.*, **36**, 1721, (1964).
32. Pople, J.A., Schneider, W.G., Bernstein, H.J., *High Resolution NMR*, p. 218, Mc Graw Hill, New York (1959).

33. Hollis, D.F., *Anal. Chem.*, **35**, 1682 (1963).
34. Nathan, P.J., Manjarrez, A., *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **11**, 4 (1967).
35. Simonsen, J.L. y Owen, L.W., *The Terpenes*, Cambridge University Press, Vol. I, 83 (1953).
36. Venuto, P.B., y Day, A.R., *J. Org. Chem.*, **29**, 2735 (1964).
37. Koch, S.A., y Doyle, T.D., *Anal. Chem.*, **39**, 1273 (1967).
38. Cutowsky, H.S., y Saika, A., *J. Chem. Phys.*, **21**, 1688 (1953).
39. Masuda, Y., y Kanda, T., *J. Phys. Soc., Japan*, **8**, 432 (1953).
40. Hood, G.C., et al, *J. Chem. Phys.*, **22**, 2067 (1954).
41. Grunwald, E., et al, *J. Chem. Phys.*, **27**, 641 (1957).
42. Craig, R.A., y Richards, R.E., *Trans. Faraday Soc.*, **59**, 1962 (1963).
43. Buckson, R.L., Smith, S.G., *J. Phys. Chem.*, **68**, 1875 (1964).
44. Akitt, J. W., et al, *Chem. Commun.*, **15**, 349 (1965).
45. Read, J. M., Collatien, J.H., *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 3440 (1965).
46. Ebsworth, E. U.A., y Sheppard, N., *Spectrochim. Acta.*, **13**, 261 (1959).
47. González, Ma. P., y Nathan, P.J., *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **12**, 261 n (1968).
48. Djerassi, C., (Ed.) *Steroid Reactions. An outline for Organic Chemist* 267, Holden Day, San Francisco (1963).
49. Johnson, L. I., Shoolery, J. N., *Anal. Chem.*, **34**, 1136 (1962).
- 49.1. Rodríguez, S.A.M., Tesis para Maestría, Fac. Quim. UNAM, 1971.
50. Flanagan, P.W., Greff, R.A., y Smith, H.F., *Anal. Chem.*, **35**, 128 (1963).
51. Sittler, P., *Am. Soc., Testing Materials, Bull.* **190**, 51-3 (1953).
52. Siggia, S., et al, *Anal. Chem.*, **30**, 115 (1958).

- 53. Konishi, K., y Kanoh, Y., Anal. Chem., 40 ,1881 (1968).
- 54. Bradner, J.D., y Birkmeier, R.L., J. Am. Oil Chemist's Soc. 41 ,
367 (1964).
- 55. Manatt, S.L., J. Am. Chem. Soc., 88 , 1323 (1966).
- 56. Manatt, S.L., Anal. Chem., 38 , 1063 (1966).
- 57. Wetmore, D.E., et al , Anal. Chem., 35 , 225 (1966).
- 58. Ward, G.A., Anal. Chem., y Hair, D.R., 41 , 538 (1969).