



COS77
20j. 2

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**METODOLOGIA ALTERNA PARA LA DETERMINACION DE
CONTAMINANTES ORGANICOS EN AGUAS**

T E S I S

Que para obtener el Grado de:

**MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS
(Química Analítica)**

P R E S E N T A:

Q. F. B. ARACELI PEÑA ALVAREZ

México, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

RESUMEN

La Cromatografía Extractiva y el Análisis del Vapor Confinado (AVC) se estudiaron como métodos alternativos al propuesto por United States Environmental Protection Agency (USEPA) para la determinación de orgánicos volátiles en agua. Los compuestos estudiados fueron Benceno, Tolueno, Etilbenceno, Clorobenceno, orto, meta y para-Diclorobenceno, considerados como contaminantes prioritarios.

En la cromatografía extractiva se utilizaron columnas comerciales de fase químicamente unida (C₁₈) las cuales se evaluaron para la concentración de aromáticos volátiles. Se encontró que la eficiencia de la recuperación de los compuestos en estudio depende del volumen, la concentración y la solubilidad de la muestra por lo que estas variables deben controlarse cuando se quiera una determinación cuantitativa. Se estudió el efecto de la adición de un modificador orgánico (metanol) a la muestra antes de la concentración para incrementar la eficiencia de la recuperación y se encontró que se requiere una concentración de metanol entre 20 y 30 %v/v para lograr un máximo de rendimiento.

En el análisis del vapor confinado (Headspace Analysis) que se basa en el equilibrio térmico entre la fase vapor y la fase líquida de la muestra, se analizó el efecto de las diversas variables de operación: temperatura y tiempo de equilibrio, presión y fuerza iónica. Se estableció que las condiciones óptimas para operar el sistema son: temperatura entre 50 y 70°C., tiempo de equilibrio mínimo de 30 min. presión ambiente y fuerza iónica superior a 2.

Se demostró que ambos métodos pueden utilizarse como alternativos al método de Trampa y Purga propuesto por USEPA para la determinación de aromáticos volátiles, dado que presentan buena precisión y límite de detección adecuado.

ABSTRACT

Extractive chromatography and Headspace Analysis were studied as alternative methods to the one proposed by United States Environmental Protection Agency (USEPA) for the determination of volatile organics in water. The compounds studied were Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Chlorobenzene, 1,4-Dichlorobenzene, 1,3-Dichlorobenzene, 1,2-Dichlorobenzene, considered as priority pollutants.

In the extractive chromatography commercial cartridges of bonded phase (C₁₈) were evaluated for the concentration of volatile organics, it was observed that the efficiency of the recuperation of studied compounds depends on the volume, the concentration and solubility of the sample. For the quantitative analysis the parameters mentioned should be controlled in order to obtain reproducible results, to increase the efficiency of the recovery it was studied the effect of the addition of an organic modifier (methanol) to the sample; it was found that the optimum concentration for maximum extraction of the volatile organics between 20 to 30 % v/v.

In the headspace analysis the effect of the diverse operations variables such as temperature and equilibrium time, pressure and ionic strength were studied. It was established that the optimum conditions to operate the system are: temperature between 50 to 70, equilibrium time minimum 30 min., atmospheric pressure and ionic strength above 2.

The results obtained showed that it is possible to compare both methods with the Purge-Trap system proposed for USEPA.

I N D I C E

	PAGINA
1. INTRODUCCION	1
2. GENERALIDADES	6
2.1 Análisis de Trazas	
2.2 Extracción en Columna	
2.3 Análisis del vapor confinado (AVC)	
3. PARTE EXPERIMENTAL	25
3.1 Equipo, Material y Reactivos	
3.2 Experimentos realizados	
4. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	34
5. CONCLUSIONES	66
6. BIBLIOGRAFIA	68

INTRODUCCION

La demanda de agua en el mundo ha ido en constante aumento, cada vez se requiere un mayor volumen debido a la explosión demográfica, al incremento de las tierras de riego, al crecimiento de las industrias y al avance tecnológico y científico. En extensas regiones del mundo, las reservas de aguas superficiales han disminuido en forma alarmante y se ha intensificado la localización de aguas subterráneas. En algunos casos la carencia de agua ha detenido el desarrollo socio-económico de las naciones.

En nuestro país el 55% de la superficie territorial está considerada como desértica, árida y semiárida; en ella hay ausencia de escurrimientos y depósitos superficiales, con una precipitación mínima de la que se pierde gran parte por evaporación. La poca que logra infiltrarse en las capas sedimentarias de relleno se encuentra altamente contaminada con sulfuros, carbonatos, cloruros y otras sustancias químicas, por lo que no es apta para la industria y menos aún para el consumo doméstico.

El crecimiento de la población en nuestro país, en particular en el Valle de México (aproximadamente 18 millones de habitantes) así como el desarrollo de su industria, han originado un aumento en la demanda de agua, y un incremento en la descarga de aguas residuales ($50 \text{ m}^3/\text{s}$), que vertidas sin previo tratamiento a los cuerpos receptores ocasionan un desequilibrio ecológico de distintos grados.

Entre las principales fuentes de contaminación en nuestro país se encuentran: aguas residuales urbanas, industrias del petróleo, papel y celulosa, madera, productos de hule, minerales no metálicos, productos químicos (insecticidas, pesticidas, detergentes), industria del azúcar, refrescos y bebidas.

Actualmente los usuarios del Valle de México requieren aproximadamente $56 \text{ m}^3/\text{s}$ de agua, de los cuales $32.4 \text{ m}^3/\text{s}$ son para uso doméstico, $11.3 \text{ m}^3/\text{s}$ para la industria, comercio y servicios, $4 \text{ m}^3/\text{s}$ para uso recreacional y $8 \text{ m}^3/\text{s}$ para la agricultura. Se estima que para el año 2000 se requerirán $71 \text{ m}^3/\text{s}$ de agua, $45.3 \text{ m}^3/\text{s}$ para uso doméstico, $5.8 \text{ m}^3/\text{s}$ para la industria, $13.2 \text{ m}^3/\text{s}$ para comercio y servicios, $6.7 \text{ m}^3/\text{s}$ para usos públicos y recreacionales (1,2).

Evidentemente la reserva de agua que se tiene va en decremento día a día y el costo que representa el traer el agua a la zona urbana para satisfacer las necesidades de los usuarios es muy elevado ya que las fuentes de abastecimiento se localizan fuera de la cuenca del Valle de México.

La necesidad de contar con otras fuentes de abastecimiento para cubrir en parte algunas necesidades de los usuarios, ha llevado a establecer un

programa de consumo de agua tratada. En el D.F., las plantas de tratamiento de agua que se encuentran funcionando proporcionan $5.325 \text{ m}^3/\text{s}$ y se espera un incremento del volumen total de aproximadamente $8 \text{ m}^3/\text{s}$. Por el momento el agua tratada es utilizada en la irrigación de áreas verdes y recarga de los lagos recreacionales; se espera que a largo plazo se pueda utilizar en la industria, agricultura y en algunos usos domésticos.

Por ser la contaminación del agua un problema que afecta y preocupa no sólo a nuestro país, sino a países desarrollados como Canadá, Francia, Alemania, Japón, U.S.A. etc., se han establecido normas de calidad para el agua a nivel mundial que han permitido unificar criterios de calidad.

Existen centros de investigación como el Instituto Nacional para Estudios del Ambiente (Japón)(3), Laboratorios de Análisis de Calidad del Agua (Canadá), Agencia de Protección Ambiental (Estados Unidos de Norteamérica), Instituto Nacional de los Estados Unidos para la Seguridad Ocupacional y la Salud (NIOSH), Ministerio de Ecología (Francia), que han ido surgiendo no sólo por la necesidad de establecer estándares de calidad ambiental sino también para tomar y promover medidas administrativas de conservación de la naturaleza. Estos organismos han desarrollado y puesto en marcha diferentes técnicas de análisis de contaminantes orgánicos de acuerdo a sus necesidades.

Estas técnicas han sido recopiladas y publicadas como manuales nacionales que son utilizados como métodos estándares para evaluar la calidad del agua. Así, por ejemplo: Environmental Water Quality Standards Analytical Methods (Canadá) (4), American Standard Methods (USA) (5), Methods for Organic Compounds in Municipal and Industrial Waste Water (USEPA) (6), etc.

El costo para realizar estudios semejantes que permitan establecer los criterios de calidad en nuestro país es muy elevado, sin embargo, la necesidad de clasificar el agua en función de su uso y características de calidad originó un plan a nivel nacional (Plan Nacional Hidráulico) (1) para conocer el grado de contaminación que ya se tenía en ese momento. La base para hacer esta evaluación, que permitió establecer un orden de prioridad, fueron los indicadores físicos, sociales y económicos, así como los factores productores de residuos contaminantes.

Con los resultados de estos estudios, México adoptó ciertos criterios establecidos por los países desarrollados para la identificación, clasificación y cuantificación de contaminantes de alto riesgo. De esta manera se han logrado identificar 165 contaminantes (7,8,9) que se encuentran clasificados como contaminantes metálicos, orgánicos purgables, ácidos, básicos, neutros y pesticidas, además de los parámetros físicos y biológicos.

En dependencias oficiales se siguen procedimientos de análisis establecidos por algunos de estos organismos, específicamente para la valoración de contaminantes orgánicos se utiliza "Methods for Organic Compounds in Municipal and Industrial Waste Water (USEPA) (6). Sin embargo, para la implantación y aplicación adecuada de esos procedimientos es necesario contar con instrumentación analítica, reactivos adecuados y con el personal especializado, lo que hace que el costo de este tipo de análisis sea elevado. Por tal motivo es difícil incorporar estas técnicas en las industrias y organismos públicos en forma rutinaria.

Este estudio forma parte de un proyecto que busca desarrollar métodos alternos simples y más económicos a los que actualmente se utilizan que permitan determinar trazas de compuestos orgánicos considerados como contaminantes de alto riesgo en agua y que presenten ventajas sobre los ya establecidos. En este caso en particular el objeto de estudio fueron los compuestos aromáticos volátiles: benceno, tolueno, etilbenceno, clorobenceno, 1,4-diclorobenceno, 1,3-diclorobenceno y 1,2-diclorobenceno.

GENERALIDADES

2.1 ANALISIS DE COMPONENTES ORGANICOS A NIVEL DE TRAZAS POR CROMATOGRAFIA DE GASES.

El interés del análisis de trazas de compuestos orgánicos en agua ha crecido en los últimos años. Sin embargo, existen muy pocos métodos que puedan, fácil y rutinariamente determinar el contenido de contaminantes orgánicos en concentraciones menores a mg/l. El desarrollo de métodos para detectar compuestos individuales por debajo de este límite es esencial, puesto que muchas sustancias consideradas como contaminantes probables del agua son riesgos potenciales aún en concentraciones extremadamente bajas.

Podemos considerar microcomponentes a aquellos compuestos que se encuentran en concentraciones del orden de mg/l o menores (10). Es decir, una traza o microcomponente es un constituyente que se encuentra en concentración menor en otro material llamado "matriz".

Se han utilizado diversos métodos para el análisis de trazas, entre los que se encuentran: cromatografía de gases y líquidos, espectrometría de masas (EM), espectroscopía ultravioleta (UV), cromatografía en capa delgada (TLC), fluorescencia, métodos electroquímicos (11), etcétera. Sin embargo, el de mayor aplicación ha sido la cromatografía de gases que es utilizada ampliamente por su eficiencia, selectividad y versatilidad y cuya única limitante es la volatilidad y estabilidad térmica de los compuestos de interés.

Para un análisis de trazas (AT) por cromatografía de gases es necesario considerar tanto el tratamiento de la muestra antes de la

determinación, como los sistemas cromatográficos más importantes que son la columna (12) y el detector (13).

2.11 Columna

La columna está constituida por un tubo de vidrio o acero inoxidable de diferente longitud y diámetro interno, está empacada con una fase estacionaria que se encuentra en un soporte inerte para evitar pérdidas por adsorción. La fase estacionaria debe ser estable y no presentar sangrado bajo las condiciones de operación, ya que se requiere trabajar en condiciones de máxima sensibilidad y cualquier alteración en la fase produciría ruido en el registro, desviación de la línea base y aparición de señales espurias, lo que en muchos casos imposibilitaría la determinación de los microcomponentes.

La selectividad de la fase estacionaria es importante, ya que permite lograr una mejor separación de los microcomponentes y evita las posibles interferencias del disolvente empleado en la preparación de la muestra, o de la matriz original al analizar directamente la muestra.

2.12 Detector

En el análisis de trazas (AT) es necesario contar con la suficiente sensibilidad como para detectar componentes en concentraciones muy bajas. Para ello existen detectores específicos y no específicos (13).

Entre los detectores no específicos o de respuesta universal se cuenta con el detector de conductividad térmica y entre los detectores específicos al de ionización de llama (DIF), cuya respuesta es selectiva para los compuestos orgánicos; el detector de captura de electrones (DCE), muestra una respuesta

muy selectiva y sólo responde a compuestos conteniendo átomos electronegativos; detector termiónico o detector de nitrógeno/fósforo (DNF), sensible a los compuestos de fósforo, nitrógeno y a algunos halógenos; detector fotométrico de llama (DFL), de respuesta muy selectiva a compuestos que contienen azufre y/o fósforo; detector de conductividad electrolítica (DCE), que responde a compuestos halogenados y/o nitrogenados y detector microcoulombimétrico, que responde a compuestos halogenados (excepto los fluorados).

Sin embargo, en el AT no se puede contar con un detector específico en forma general y cada problema en particular requiere un detector apropiado. Por tanto, la selección del detector para el AT dependerá de las características que tengan los microcomponentes a analizar.

Las características más importantes que debe poseer un detector para el AT (14) son: alta selectividad, sensibilidad y un nivel de ruido tan bajo como sea posible. Además debe ser insensible a fluctuaciones de temperatura, presión, velocidad de flujo y no debe ser afectado por contaminantes.

El intervalo lineal del detector no es de crucial importancia en el AT, debido a que se trabajan concentraciones igual o menores a mg/l.

2.121 Selectividad

Este factor depende del principio de operación del detector. Como se mencionó anteriormente, existen detectores específicos y no específicos.

2.122 Sensibilidad

La sensibilidad se define como la variación en la respuesta a un

muy selectiva y sólo responde a compuestos conteniendo átomos electronegativos; detector termiónico o detector de nitrógeno/fósforo (DNF), sensible a los compuestos de fósforo, nitrógeno y a algunos halógenos; detector fotométrico de llama (DFL), de respuesta muy selectiva a compuestos que contienen azufre y/o fósforo; detector de conductividad electrolítica (DCE), que responde a compuestos halogenados y/o nitrogenados y detector microcoulombimétrico, que responde a compuestos halogenados (excepto los fluorados).

Sin embargo, en el AT no se puede contar con un detector específico en forma general y cada problema en particular requiere un detector apropiado. Por tanto, la selección del detector para el AT dependerá de las características que tengan los microcomponentes a analizar.

Las características más importantes que debe poseer un detector para el AT (14) son: alta selectividad, sensibilidad y un nivel de ruido tan bajo como sea posible. Además debe ser insensible a fluctuaciones de temperatura, presión, velocidad de flujo y no debe ser afectado por contaminantes.

El intervalo lineal del detector no es de crucial importancia en el AT, debido a que se trabajan concentraciones igual o menores a mg/l.

2.121 Selectividad

Este factor depende del principio de operación del detector. Como se mencionó anteriormente, existen detectores específicos y no específicos.

2.122 Sensibilidad

La sensibilidad se define como la variación en la respuesta a un

cambio de concentración del soluto $S = R/Q$. También puede expresarse como la pendiente de la recta obtenida al relacionar la intensidad de la respuesta del detector con la concentración de la muestra.

2.123 Cantidad mínima detectable

La cantidad mínima detectable es la concentración o cantidad de muestra que produce o genera una respuesta en el detector de intensidad dos veces mayor a la respuesta del nivel del ruido.

Considerando que el detector en el AT debe ser insensible a fluctuaciones de temperatura, presión y velocidad de flujo, el nivel de ruido debe ser mínimo o de lo contrario aumentaría el valor de la cantidad mínima detectable.

2.13 Tratamiento de la muestra

Es difícil efectuar directamente un AT debido a las bajísimas concentraciones en que se encuentran los componentes a determinar en relación a los otros componentes de la muestra. Por esta razón es necesario concentrar los microcomponentes para eliminar la mayor parte de la matriz. La selección adecuada del método de concentración constituye un paso crítico en el proceso de análisis, si este método se selecciona correctamente las condiciones de operación cromatográficas no serán tan estrictas como en el análisis directo en el que se requiere equipo de gran estabilidad en condiciones de sensibilidad máxima. Entre los métodos de concentración más comunes se puede citar (10): evaporación de disolventes, codestilación, diferentes técnicas cromatográficas

especialmente cromatografía de adsorción, trampas a baja temperatura (15), columnas preparativas y análisis del vapor confinado (Headspace).

Para el propósito de este estudio sólo se describirán algunos aspectos de los métodos utilizados en United States Environmental Protection (USEPA, 6) para el análisis de aromáticos volátiles: los de "Extracción" y "Trampa y Purga".

2.131 Extracción

El método de extracción es un proceso de concentración muy utilizado en el análisis de trazas de compuestos orgánicos. Se efectúa con un disolvente inmisible con el agua, pero en el que el coeficiente de reparto permita la extracción de los componentes por determinar lo más cuantitativamente posible.

En este procedimiento existen algunas dificultades ya que frecuentemente la extracción es menos efectiva de lo que se desea y requiere de grandes volúmenes de muestra para extraer la cantidad mínima de material necesario para el análisis. En ocasiones se requiere de controlar el pH y utilizar más de un disolvente si los componentes tienen polaridades diferentes. El inconveniente principal de los grandes volúmenes de muestra es el riesgo de requerir cantidades considerables de disolventes orgánicos que presentan cierta toxicidad y elevado costo.

2.132 Trampa y Purga

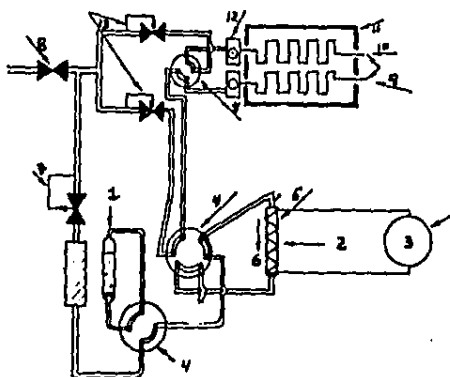
Otro procedimiento ampliamente utilizado para la determinación de compuestos orgánicos volátiles a nivel de trazas se basa en la adsorción

selectiva de los microcomponentes sobre diferentes tipos de materiales (10,16,17,18,20) por ejemplo: tierra de diatomeas, zeolitas, polímeros porosos, etc. que se encuentran como amberlita XAD-2,4,7,8, Porapak Q, chromosorb 102,105, Tenax, etc.

Trampa y purga es el método propuesto por USEPA para el análisis de compuestos orgánicos volátiles (6). En este método los compuestos volátiles son removidos burbujeando un gas inerte en la muestra; este gas se hace pasar por una pequeña columna de acero inoxidable empacada con un adsorbente (tenax) en donde los compuestos de interés son retenidos. Después son desorbidos térmicamente y pasan a la columna cromatográfica donde se efectúa la separación e identificación.

Este método se ha adoptado en algunos laboratorios para el análisis de compuestos orgánicos volátiles aún cuando presenta ciertas desventajas, por ejemplo, contaminación cruzada (cuando se analizan muestras de diferente concentración); la presencia de impurezas en el gas de purga (se requiere gas ultrapuro); y el acoplamiento del sistema "trampa y purga" al cromatógrafo de gases.

El siguiente esquema muestra el sistema que se utiliza.



1. Aparato para purga
2. Trampa (tenax)
3. Control de calor
4. Válvulas
5. Resistencia
6. Flujo del gas en la trampa
7. Control del flujo del gas de purga
8. Regulador de presión
9. Columna analítica
10. Columna secundaria
11. Entrada del detector
12. Inyector
13. Control flujo gas portador

2.133 Extracción en columna

En este proceso de concentración la muestra se pasa por una columna de vidrio o de un material inerte (polipropileno) empacada con un soporte polar o no polar y posteriormente se desorbe con algún disolvente suficientemente selectivo para los microcomponentes.

El principio de operación es la cromatografía de líquidos. actualmente existen en el mercado columnas con diferentes empaques (21) para escoger (sílica, florisil y fases químicamente unidas), en esta forma es posible seleccionar adecuadamente el tipo de empaque de acuerdo a los componentes en estudio.

En el caso particular de este estudio se emplearon únicamente columnas con fase químicamente unida C_{18} (22,23).

Estas columnas son sencillas de operación y presentan ciertas ventajas: alta capacidad (superior a 60 mg), pequeñas cantidades de disolvente para la extracción, posibilidad de elección entre algunas fases y bajo costo.

2.134 Análisis del vapor confinado (AVC)

El AVC (headspace analysis) es un método indirecto en el cual la muestra se encuentra en un sistema cerrado y la fase vapor que se encuentra en equilibrio térmico con ella se analiza por cromatografía de gases (24,25,26,27,28,29,30). La distribución de los componentes en las dos fases depende de la temperatura, de la presión de vapor de cada compuesto, de la influencia de la matriz sobre los coeficientes de actividad de los compuestos y de la relación de fase vapor/fase líquida o en su caso fase vapor/fase sólida.

El empleo de esta técnica proporciona un método de alta resolución, sensibilidad y selectividad. Un sistema acoplado Cronatografía de Gases/Espectrometría de Masas permitiría tener una forma específica de análisis de trazas.

La aplicación del método es muy amplia, además de emplearse en el análisis de aguas potables y de desecho, se ha utilizado para determinar residuos de disolvente en sólidos y materiales de empaque; monómeros residuales; análisis de ingredientes aromáticos en alimentos básicos; bebidas alcohólicas y no alcohólicas; alcohol y sustancias tóxicas en sangre, aromas y sabores; productos naturales, determinación de datos de equilibrio vapor /líquido para la determinación de constantes termodinámicas tales como calores de mezcla y calores de disolución; constantes de equilibrio; constantes de velocidad de reacción; e isothermas de adsorción (24,39).

Después de exponer algunos de los métodos ya establecidos para el análisis de aromáticos volátiles y considerando las limitaciones que presentan cada uno de ellos, se seleccionaron los métodos de concentración en columna (de fase químicamente unida) y del análisis del vapor confinado (AVC) como técnicas a evaluar este estudio. Por ello en la siguiente sección se discuten las bases teóricas y algunas consideraciones especiales.

2.14 Aspectos teóricos

Para poder explicar el o los mecanismos que participan en la concentración de muestras al emplear columnas de fase químicamente unida, es necesario conocer qué son y como se comportan estas fases.

En cromatografía líquida-líquida convencional, la fase estacionaria es un líquido físicamente unido al soporte por adsorción, sin embargo, recientemente se ha popularizado el uso de fases orgánicas que se encuentran químicamente enlazadas al soporte, lo cual ha derivado en un método más conveniente conocido como cromatografía en fase químicamente unida.

Con base en las polaridades relativas de la fase móvil y la fase estacionaria son posibles dos tipos de la cromatografía líquida-líquida convencional: la cromatografía en fase normal y la cromatografía en fase inversa.

La cromatografía de fase normal es aquella en que la fase estacionaria es más polar que la fase móvil. Este tipo de cromatografía se utiliza para muestras polares más solubles en agua y el orden de elución del soluto es similar al observado en cromatografía de adsorción.

La cromatografía de fase inversa se tiene cuando la fase estacionaria es menos polar que la fase móvil. Generalmente es útil para separar muestras de baja solubilidad en agua y el orden de elución de solutos es el inverso al observado en la cromatografía de fase normal.

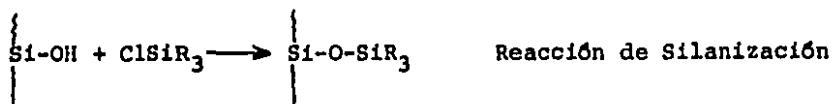
2.141 Fases químicamente unidas

La introducción de las fases químicamente unidas (31,32) permitió su aplicación en la cromatografía de fase inversa. A partir de entonces se han empleado micropartículas de sílica, que han hecho posible preparar columnas muy eficientes con fases químicamente unidas. Estas fases no están restringidas a la fase inversa sino que también puede utilizarse en cromatografía en fase normal.

Las fases químicamente unidas presentan ventajas sobre las fases impregnadas, ya que son más estables porque la fase estacionaria químicamente unida al soporte no se desprende durante el uso de la columna, su uso es más simple, es decir, no se necesitan precolumnas y/o presaturación y se obtienen eficiencias mayores.

Una desventaja de la cromatografía de fase químicamente unida, es la falta de reproducibilidad en su preparación.

Las fases químicamente unidas se pueden preparar por varios métodos (33), dependiendo de la naturaleza del soporte y de la especie química que se desea enlazar. La gran mayoría de los soportes están constituidos por sílica y el radical orgánico es de naturaleza muy variada.



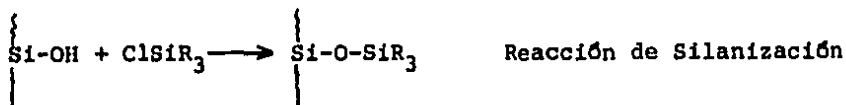
Actualmente estas fases se preparan principalmente por silanización, se hace reaccionar el grupo $\begin{array}{c} | \\ \text{Si-O-Si-OH} \\ | \end{array}$ del soporte con reactivos organoclorosilanos u organocloroalcóxidosilano (dependiendo del grupo R deseado). Estas fases son estables hidrolíticamente en un intervalo de pH de 2 a 8.5. Dependiendo del alquilsilano empleado, monocloro o policloro, de la estequiometría de los reactivos y de las condiciones experimentales de la reacción se obtendrá una capa orgánica monomérica (del tipo cepillo) o una capa polimérica de fase estacionaria sobre el soporte.

Las fases con capas orgánicas monoméricas se preparan haciendo reaccionar la superficie de los grupos silanoles con X o R donde $X = \text{Cl, OH, OCH}_3, \text{OC}_2\text{H}_5$ y $R = \text{radical orgánico}$. Se ha estudiado la estequiometría de

Las fases químicamente unidas presentan ventajas sobre las fases impregnadas, ya que son más estables porque la fase estacionaria químicamente unida al soporte no se desprende durante el uso de la columna, su uso es más simple, es decir, no se necesitan precolumnas y/o presaturación y se obtienen eficiencias mayores.

Una desventaja de la cromatografía de fase químicamente unida, es la falta de reproducibilidad en su preparación.

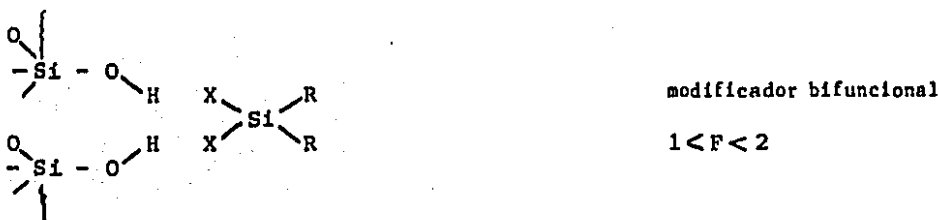
Las fases químicamente unidas se pueden preparar por varios métodos (33), dependiendo de la naturaleza del soporte y de la especie química que se desee enlazar. La gran mayoría de los soportes están constituidos por sílica y el radical orgánico es de naturaleza muy variada.



Actualmente estas fases se preparan principalmente por silanización, se hace reaccionar el grupo $\begin{array}{c} | \\ \text{Si-O-Si-OH} \\ | \end{array}$ del soporte con reactivos organoclorosilanos u organocloroalcoxisilano (dependiendo del grupo R deseado). Estas fases son estables hidrolíticamente en un intervalo de pH de 2 a 8.5. Dependiendo del alquilsilano empleado, monocloro o policloro, de la estequiometría de los reactivos y de las condiciones experimentales de la reacción se obtendrá una capa orgánica monomérica (del tipo cepillo) o una capa polimérica de fase estacionaria sobre el soporte.

Las fases con capas orgánicas monoméricas se preparan haciendo reaccionar la superficie de los grupos silanoles con X o R donde X=Cl, OH, OCH₃, OC₂H₅ y R=radical orgánico. Se ha estudiado la estequiometría de

las reacciones de superficie con varios modificadores obteniendose diferentes tipos:



Con un reactivo monofuncional se observa una reaccion uno a uno, dando un valor de 1.0 para F, donde F es la relacion de número de moles de grupos silanoles reactivos a numero de moles de modificador reactivo.

Experimentalmente valores de F=3 no se han encontrado probablemente a causa de factores externos.

Existen algunos problemas para la preparacion de los empaques, por ejemplo, los grupos organo-silanoles acidos que permanecen sin reaccionar en la modificacion de la superficie pueden afectar el comportamiento de retencion de solutos y adversamente influir en la estabilidad del empaque en soluciones a pH

mayor de 7. Una reacción incompleta de la superficie con el reactivo silanol o la formación de nuevos grupos Si-OH que son accesibles a moléculas de la fase móvil o de la muestra pueden causar coleo de picos cromatográficos (particularmente para solutos básicos) y una baja capacidad de muestra para la columna. Por lo tanto, la tendencia que existe para la preparación de estos empaques es formar una densa monocapa de grupos funcionales en lugar de un recubrimiento parcial y el uso de dimetilsilanos ($X-Si(CH_3)_2-R$) para proporcionar un recubrimiento orgánico homogéneo con un mínimo de grupos Si-OH residuales.

2.142 Mecanismo de separación

El mecanismo de retención en las fases químicamente unidas no ha sido establecido definitivamente, sin embargo, se han propuesto varios mecanismos (31,32,34,35,36,37).

Primero se considera a las cadenas-CH- como un líquido estacionario, por lo tanto es posible el reparto entre las dos fases líquidas. Alternativamente se ha sugerido que la fase estacionaria se recubre de una capa líquida de composición diferente a la fase móvil y forma una fase líquida convencional teniendo de esta manera cromatografía líquida-líquida (38).

Otro proceso posible es la adsorción sobre el adsorbente no polar siendo entonces similar a cromatografía sólido-líquido clásica; sin embargo, existe una diferencia fundamental: en cromatografía sólido-líquido el factor que determina la retención del soluto es la interacción soluto-sólido controlada por fuerzas polares específicas mientras que en fase inversa las interacciones soluto-fase estacionaria son más débiles dependiendo solamente de las fuerzas de dispersión no específicas, del tipo Van der Waals y el

comportamiento en la fase móvil es entonces predominante. Por lo tanto la fuerte retención entre el soluto y la cadena hidrocarbonada de la fase estacionaria llevaron a C. Horvath (32) a aplicar la teoría del efecto solvofóbico. En su estudio utilizó la vainilalanina; este compuesto aparte de los grupos polares presenta una parte apolar, que experimenta un efecto hidrofóbico que da por resultado que se asocie reversiblemente con las cadenas hidrocarbonadas de la fase estacionaria. Así la interacción no es debida propiamente a fuerzas de atracción entre el soluto y la fase estacionaria, sino que se origina en la repulsión neta que existe entre el agua y la parte apolar de la molécula del soluto, así como la cadena $-(CH_2)_n-$ la fase estacionaria. La configuración más estable es entonces la que presenta el mínimo de superficie con respecto al disolvente, es decir, la asociación de la cadena y la parte apolar del soluto.

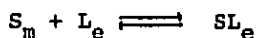


Fig.2. ESTADO DE MINIMA ENERGIA

Considerando lo anterior se deduce que el efecto solvofóbico es más fuerte cuando la parte apolar de la molécula del soluto es mayor, el % de C en la fase estacionaria es mayor (mayor recubrimiento del soporte por las cadenas hidrocarbonadas y/o mayor longitud de las cadenas), la polaridad de la fase

móvil es mayor, es decir, a medida que aumenta la proporción de agua en la mezcla.

En la cromatografía solvofóbica la interacción entre el soluto y la fase estacionaria se considera como una asociación de las moléculas del soluto, S, con la cadena hidrocarbonada considerada como un ligante L, en la superficie. La retención del soluto está dada por el siguiente equilibrio.



Donde el complejo SL se asume que se forma por interacciones solvofóbicas y el proceso se caracteriza por la constante de equilibrio K:

$$K_{eq} = \frac{|SL|_e}{|S_m||L_e|}$$

dado que la concentración del ligante es mucho mayor que la concentración de soluto inyectado, se tendrá:

$$|L|_{tot.} = |L|_{libre} = Cte.$$

$$K_{eq} |L| = \frac{|SL|}{|S|} = k$$

$$K_{eq} = \frac{k}{|L|} \quad \text{constante de reparto del soluto}$$

Por lo tanto la constante de reparto del soluto puede calcularse a través de propiedades macroscópicas del soluto y del disolvente (superficie

hidrocarbonada, tensión superficial del disolvente, etc.) es decir, por un tratamiento termodinámico puesto que en el equilibrio

$$-\frac{\Delta G}{RT} = \ln K_{eq} = \ln \frac{k}{L}$$

2.15 Aspectos teóricos del Análisis del Vapor Confinado

Consideremos F_i el área del pico cromatográfico que se obtiene del AVC proporcional a (P_i) la presión parcial de vapor del componente volátil (i) y \bar{c}_i el factor de proporcionalidad.

$$F_i \sim P_i \quad ; \quad F_i = \bar{c}_i P_i \quad (1)$$

para cada sustancia \bar{c}_i es específico y dependerá del detector utilizado. Para un sistema real p_i se puede expresar:

$$P_i = P_{o,i} X_i \delta_i \quad (2)$$

donde $p_{o,i}$ es la presión de vapor del compuesto i puro, x_i es la fracción mol de i disuelto en la muestra y δ_i es el coeficiente de actividad del componente i disuelto.

Si se tiene una mezcla ideal, se tendrá que $\delta_i = 1$ por lo que se adquiere la forma de la ley de Raoult

$$P_i = P_{o,i} X_i \quad (3)$$

Sin embargo, en muchos de los casos se tiene mezclas no ideales que presentan desviaciones positivas ($\delta_i > 1$) o negativas ($\delta_i < 1$) a la ley de Raoult.

De las ecuaciones 1 y 2 se obtiene la expresión de equilibrio para la interpretación cuantitativa del análisis:

$$X_i = \frac{F_i}{\bar{c}_i P_{o,i} \delta_i} \quad (4)$$

de esta ecuación podemos ver que el P_i es importante para la cuantificación, ya que si se conoce el factor $\frac{1}{z_i \cdot P_o \cdot f_i}$ la concentración buscada se puede obtener directamente del área del pico cromatográfico.

De acuerdo a la teoría las disoluciones se clasifican de acuerdo al valor de δ : $\delta = 1$ solución ideal; $\delta = \text{cte.}$ solución diluida ideal y $\delta = f(x)$, solución real.

Si recordamos que este tipo de técnica se utiliza básicamente para el análisis de trazas, es posible considerar que se tienen soluciones diluidas ideales donde $\delta = \text{cte.}$ En estas condiciones el producto $\bar{z}_i \cdot P_o \cdot \delta_i$ es una constante, si además el detector empleado tiene una respuesta lineal, $\bar{c} = \text{cte.}$ Si por el contrario se trabaja con soluciones donde las concentraciones de i son altas $\delta = f(x)$, por lo que el área del pico será una función de la concentración y entonces se tendrán que emplear disoluciones estándares de varias concentraciones para hacer una curva de calibración.

Otro de los factores que afecta la ecuación (3) es la temperatura ya que de acuerdo a la ecuación de Clausius Clapeyron

$$\frac{d \ln P}{d T} = \frac{\Delta H}{RT^2} \quad (5)$$

a una temperatura dada, la presión de vapor es característica de un compuesto, por lo tanto es necesario controlar la temperatura en la determinación.

También es esencial determinar el tiempo requerido para establecer el equilibrio líquido/vapor. Esto es debido a que existen diferencias en la velocidad de difusión de cada uno de los componentes hacia la fase vapor.

Si el tiempo permitido para el equilibrio es muy corto, se tendrá un error en las determinaciones, por lo que dependiendo del tipo de muestra se requerirá mayor o menor tiempo para alcanzarlo. Así por ejemplo si la muestra es muy viscosa requerirá mayor tiempo de equilibrio que una menos viscosa.

Para el análisis del vapor confinado no son aplicables las técnicas que se utilizan comúnmente en cromatografía de gases para incrementar la sensibilidad de la respuesta, por ejemplo: aumentar el volumen de inyección (si se trabaja con análisis directo), utilizar detectores específicos o efectuar una concentración previa de la muestra.

La sensibilidad del AVC se denomina respuesta del AVC (E_{HS}) y está relacionada a la concentración x del microcomponente por la siguiente ecuación.

$$E_{HS} = \frac{F_i}{X_i} = \bar{c}_i P_{o_i} \quad (6)$$

de donde podemos ver que existen dos maneras de incrementar la sensibilidad analítica.

i) Incrementando la temperatura: la sensibilidad es función de la presión de vapor y ésta a, su vez, de la temperatura. Sin embargo esta técnica es limitada ya que a una alta temperatura corresponde una mayor presión y aumenta el riesgo de fugas en el recipiente donde se efectúa el equilibrio vapor/líquido. También se puede ocasionar contaminación o interacciones con partes del recipiente, produciendo alteraciones o hasta imposibilitar la determinación.

ii) Incremento del coeficiente de actividad (γ): adicionando a la muestra un compuesto que puede ser un electrolito o un no electrolito (salting out-efecto salino).

El primer caso - adición de un electrolito - se basa en el efecto salino para aumentar la solubilidad de ciertas sustancias disueltas (solubilización) o bajar su solubilidad (desplazamiento salino).

Particularmente el efecto salino por desplazamiento salino es muy empleado para muestras acuosas como un medio de incrementar la concentración en la fase vapor de los componentes volátiles que se encuentran a niveles de trazas. Se ha observado que la magnitud de este efecto frecuentemente depende de la naturaleza de la sal que se utilice (24,39,40).

En el segundo caso se puede aumentar la sensibilidad adicionando un no electrolito, tal es el caso de la adición de agua a disoluciones orgánicas como se muestra en la figura 3.

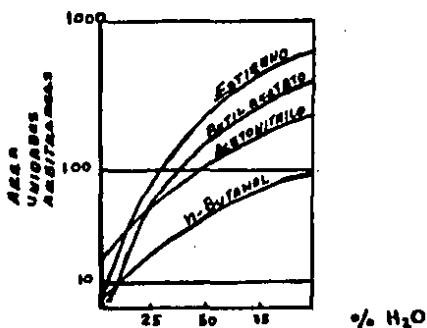


Fig. 3 Área de los picos correspondientes a 120 ppm de estireno, acetato de butilo, acrilonitrilo y butanol en DMF como una función del contenido de agua en la mezcla (24).

2.151 Aspectos prácticos del AVC

Un requerimiento importante para el AVC es establecer las condiciones experimentales adecuadas para la determinación en cuestión.

En principio cualquier recipiente sellado que tenga un dispositivo para tomar la muestra en la fase vapor puede servir para el análisis. Sin embargo para seleccionar estos recipientes o contenedores se deben considerar los siguientes aspectos.

- El contenedor debe ser de vidrio de alta calidad para que pueda soportar las presiones y temperaturas de operación.

- Si se emplea un septum para sellar al contenedor, las superficies expuestas a la muestra deben mantenerse tan pequeñas como sea posible para minimizar los efectos de disolución y difusión en el material. La superficie interna del septum se puede cubrir con una pequeña lámina de metal para evitar posible contaminación de la muestra.

- Para obtener un equilibrio de temperatura rápido y efectivo la relación de volúmenes entre el volumen total del recipiente y el vapor en equilibrio no deben ser muy grandes. Generalmente se utilizan contenedores de aproximadamente 2 y 3 ml o en el caso de sólidos 2 o 3 gramos.

Las jeringas que se utilizan para tomar la muestra deben ser especiales para gases y en algunas ocasiones es conveniente calentarlas para evitar condensación de la muestra.

PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. EQUIPO, MATERIAL Y REACTIVOS.

- Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama Hewlett Packard, Mod. 5880A
- Cromatógrafo de gases Perkin Elmer sigma 2B con detector de ionización de llama
- Integrador Hewlett Packard Mod. 3390 A
- Jeringas: convencional de vidrio de 10 ml Edigar No.5963
graduada de 10 ul Hamilton 3701 N
con válvula de seguridad para gases(gas-tight)
de 50 y 500 ul Hamilton
de 1 ml Hamilton ϕ 1005
- Columna 1: acero inoxidable de 6 pies x 1/8 pulgada, empacada con 5 % de Bentona 34 + 5 % de diisodecilftalato sobre chromosorb WHP 100/120
- Columna 2: vidrio de 6 pies x 1/4 pulgada, empacada con 5 % de Bentona 34 + 5 % de OV-101 sobre chromosorb WHP 100/120
- Balanza analítica mettler Mod. M54AR
- Parrilla thermolyne UL Mod. HP-A 1915
- Equipo para destilacion Quickfit

- Frascos viales con válvula (Mininert) y septum de teflón, capacidad 15ml (Alltech)
- Vasos de precipitado de 10, 25, 50 y 1000 ml
- Columnas comerciales (cartuchos Sep-Pak, Waters Assc. parte # 51910)
- Filtros Millex-HV (Millipore) 0.45 um. Catalogo No. SLRVO25NS
- Nitrógeno, Hidrógeno y Aire de alta pureza (Infra)
- Agua libre de orgánicos
- Pentano R.A Merck
- Metanol y Acetonitrilo para cromatografía (Merck)
- Benceno, Tolueno, Etilbenceno, Clorobenceno, meta, orto y para diclorobenceno (estandares puros, Supelco)
- Cloruro de amonio para análisis (Merck)
- Carbonato de potasio para análisis (Merck)
- Sulfato de sodio anhidro R.A (J.T. Baker)
- Sulfato de amonio (Merck)
- Citrato de amonio para análisis (Merck)
- Cloruro de sodio para análisis (Merck)
- Los disolventes (agua, metanol y n-pentano) fueron destilados, los reactivos (Na_2SO_4 , NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, etc.) grado analítico se utilizaron directamente. Las sustancias patron se utilizaron sin purificación alguna
- Se utilizó agua desionizada la cual se destiló y se pasó a través de un filtro (Millex-4V Millipore) acoplado con un cartucho Sep-Pak previamente acondicionado. El agua así purificada se almacena en recipientes de vidrio de color ámbar perfectamente limpios.

3.2 CONCENTRACION DE AROMATICOS VOLATILES EN COLUMNA

Soluciones estándar de aromáticos volátiles: La solución estándar más concentrada (10 mg/l) se preparó en un matraz aforado previamente calibrado que contenía aproximadamente 3 ml de pentano, se adiciono gota a gota cada uno de los compuestos, se anoto su peso y por diferencia se obtuvo el peso exacto de cada compuesto. Se llevo a volumen con pentano inmediatamente después de haber pesado todos los compuestos.

De esta solución se prepararon mezclas estándar en pentano con una concentración aproximada de 200, 100, 22, 10 y 2 mg/l; con estas soluciones se preparo la curva de calibración.

POCEDIMIENTOS.

La figura 4 muestra el sistema utilizado para la concentración en columna.

Muestras: Se utilizaron muestras acuosas de aromáticos volátiles de concentración aproximada a 2 mg/l de cada uno de los compuestos en estudio (tabla 1). Estas soluciones se prepararon adicionando 10 ul de una solución metanolica (2000 mg/l de cada compuesto) a un matraz aforado de 10 ml y se completo el volumen con agua libre de orgánicos.

Concentracion: Para la concentración de los aromáticos volátiles se utilizaron columnas comerciales de fase enlazada C_{18} . Antes de utilizar la columna se lavo sucesivamente con 3 ml de metanol, 2 ml de acetonitrilo y 3 ml de metanol. El objeto de estos lavados fue eliminar los residuos de la silanización de la fase estacionaria o alguna otra impureza, así como mojar la

FIG. 4 CONCENTRACION EN COLUMNA

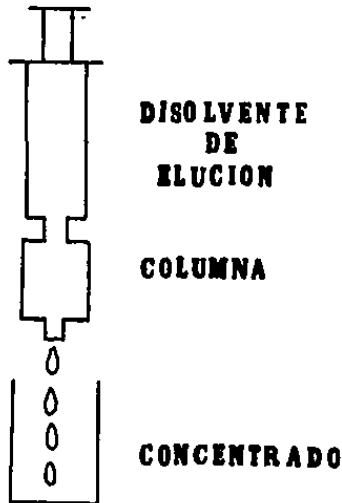
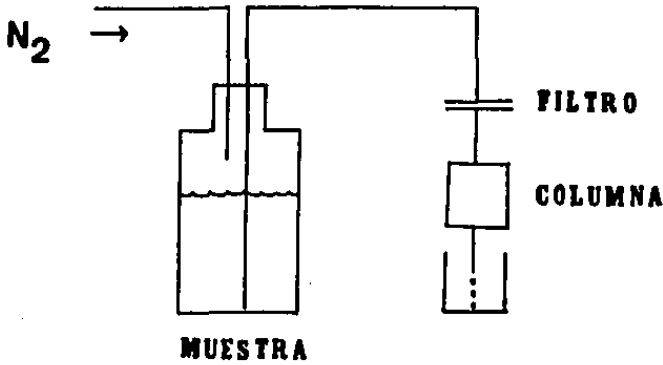


TABLA 1. AROMATICOS VOLATILES

COMPUESTO		SOLUBILIDAD EN AGUA g/peso, 25°C
BENCENO	(B)	0.06
TOLUENO	(T)	0.05
ETILBENCENO	(EB)	+
CLOROBENCENO	(CB)	+
p-DICLOROBENCENO	(PDCB)	0.0079
m-DICLOROBENCENO	(MDCB)	0.0123
o-DICLOROBENCENO	(ODCB)	0.0145

+ no se dispone del dato.

fase estacionaria favoreciendo de esta forma la retención de los compuestos. Después de acondicionar la columna de esta manera, se paso lentamente la muestra acuosa, posteriormente se lavó con 2 ml de agua y el exceso se eliminó con un ligero flujo de nitrógeno. Los compuestos se eluyeron adicionando 1 ml del disolvente elegido y el extracto obtenido se analizo directamente por cromatografía de gases. Considerando la necesidad de mojar y mantener así la fase estacionaria, se adicionó un modificador orgánico a la muestra lo que asegura que la fase estacionaria permanezca mojada durante el proceso de concentración. En este caso el metanol fue el modificador orgánico que se utilizó.

Es importante lavar la columna después de pasar la muestra porque la pequeña cantidad de metanol que queda en ella puede ser eluida con el disolvente de elución y causar problemas en la determinación de algunos compuestos, ya que produce una señal ancha en el cromatograma que imposibilita la determinación.

Para la inyección de la muestra en el cromatógrafo se enfrio previamente la jeringa para evitar evaporación de la muestra.

Para evaluar la eficiencia de la extracción en función de la concentración del modificador orgánico, se adicionó a la muestra metanol en proporción 0, 10, 20, 30 y 40 % v/v.

La eficiencia de la recuperación también se evaluó en función del volumen de muestra utilizando volúmenes de 5, 10, 25 y 50 ml de solución acuosa a una concentración constante de 2 mg/l.

El efecto de la concentración se estudió con tres concentraciones diferentes 10, 20 y 40 mg/l utilizando un volumen constante de 10 ml.

Condiciones de operación: El análisis de los concentrados se realizó con un cromatógrafo de gases Perkin Elmer sigma 2D y la columna 1. Antes de efectuarse el análisis cromatográfico fue necesario hacer una compensación externa.

3.3 DETERMINACION DE AROMATICOS VOLATILES POR AVC.

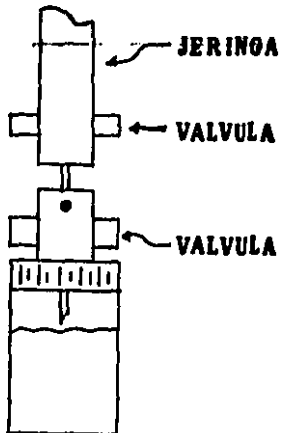
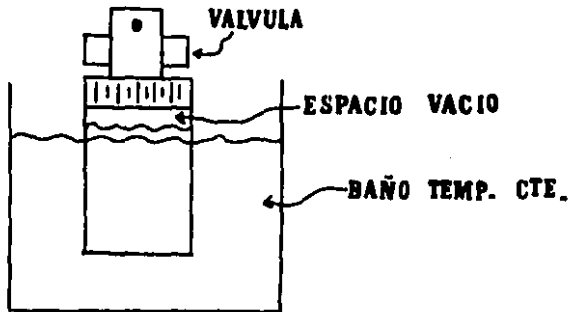
Se estudió el efecto de diversas variables sobre la sensibilidad del método (medida como el área del pico cromatográfico), para lo cual se utilizó el arreglo experimental que se muestra en la figura 5.

Para contener la muestra se utilizaron viales con válvula Mininert de teflón de 15 ml de capacidad. El control de temperatura se hizo en un baño de agua y la muestra de vapor para el análisis por cromatografía de gases se tomó con una jeringa de 1 ml con válvula de seguridad de teflón. En todos los casos se inyectó una muestra de 500 ul.

Preparación del material: Los frascos viales y la válvula se lavaron con jabón y agua destilada después de cada determinación, posteriormente se les dio un lavado rápido con hexano y acetona. Se dejaron secar con calor en un horno a 120 grados durante 30 min. La jeringa con válvula de seguridad debe limpiarse perfectamente después de cada inyección con flujo de nitrógeno

El septum del inyector del cromatógrafo era de alta temperatura (HT/X/9 Alltech) para evitar contaminaciones y frecuentemente se cambio para evitar fugas de la muestra.

FIG. 5. ANALISIS DEL VAPOR CONFINADO



VARIABLES :

- TEMP.
- FUERZA IONICA
- PRESION INICIAL
- TIEMPO DE EQUILIBRIO

Muestras: Se preparó una disolución en acetonitrilo (grado cromatográfico) de aproximadamente 1000ug/l de los compuestos puros, de esta disolución se prepararon muestras cuya concentración vario de 10 a 2000 ug/l.

La muestra en estudio se preparó en un matraz aforado de 10 ml que contenía aproximadamente 9 ml de agua libre de orgánicos se adicionó el volumen necesario de solución estándar para tener la concentración en estudio y se completo el volumen con agua. Esta solución así preparada se vertió en el vial, se cerro perfectamente y se coloco en el bano a temperatura controlada.

Incremento de sensibilidad analítica: El estudio del efecto de diversos factores sobre la sensibilidad del método se efectuó variando temperatura y tiempo de equilibrio, efecto de la presión del sistema, relación de fase vapor /líquido y fuerza iónica.

El estudio de tiempo y temperatura de equilibrio se determinó con muestras de 100 ug/l a las temperaturas de 50, 70 y 82 °C y a los tiempos de 5, 15, 30 y 55 min.

En la variación de la relacion vapor/líquido, se operó con volúmenes de 4, 7 y 10 ml usando una concentración de 0.1 ug/l para cada componentes durante 30 min a 50°.

Efecto de la presión: Para el estudio de esta variable, se le aplicó a la muestra vacío durante 10 min antes de someterla a calentamiento, se operó a 90 °C durante 30 minutos.

Para analizar el efecto de la fuerza iónica, se utilizaron diversas sales: NH_4Cl , K_2CO_3 , Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SC}_4$, NaCl y citrato de amonio grado R.A.

Se prepararon disoluciones de cada una de las sales a fuerza iónica de 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0. De cada una de ellas se tomo 10 ml y se les adiciono 10 ul de la solución estándar para tener una concentración aproximada de 0.1 ug/l de cada uno de los compuestos. El vial se coloco en el bano de agua a 50°C durante 30 min, pasado este tiempo se tomo la muestra y se inyecto en el cromatógrafo.

Para evaluar la aplicabilidad del metodo se detrmio el límite de detección y la reproducibilidad, comparándose los resultados con los procedimientos propuestos por USEPA(6) operando a presión ambiente con una temperatura de 92°C , un tiempo de equilibrio de 30 min y fuerza iónica de 0.

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Concentración de Volátiles.- Para la extracción en columna se probaron diferentes disolventes para eluir los compuestos y se encontró que el pentano es el eluyente adecuado para la determinación ya que arrastra a todos los compuestos en estudio y no presenta interferencias en el análisis cromatográfico, es suficiente 1 ml de pentano para la elución completa de estos.

En las figuras 6, 7 y 8 se muestran los resultados de los diferentes experimentos realizados.

La fig. 6 muestra los resultados obtenidos en el estudio de la eficiencia de la recuperación en función de la presencia del modificador orgánico. De acuerdo a estos resultados vemos que es necesario añadir un modificador a la muestra para aumentar los rendimientos.

El efecto favorable del metanol para la recuperación de los aromáticos volátiles se debe probablemente al cambio sobre el mojado de la fase estacionaria. Al ser esta hidrofóbica tiende a contraerse y disminuir la superficie de contacto, la presencia de metanol produce un gradiente de polaridad en la interfase permitiendo un mejor mojado, favoreciendo la transferencia de masa. El rendimiento alcanza un máximo en función de la proporción de metanol, pues un exceso aumenta el poder eluyente contraponiéndose al efecto buscado, se observa de los resultados que la cantidad de metanol adicionada debe ser entre 20 y 30 % v/v.

Para el estudio de la eficiencia de la recuperación como una función de la concentración se probaron tres concentraciones diferentes para cada compuesto y se emplearon 10 ml de muestra en todos los casos. En la fig.6, se observa que las 3 concentraciones producen una eficiencia de recuperación comparable si se considera la variabilidad del método.

Esto puede indicar que la adsorción de los compuestos es constante para diferentes concentraciones. Por lo tanto se podría pensar que la eficiencia de recuperación en este caso, no depende de la capacidad de la columna sino de la capacidad de adsorción de los compuestos.

Los resultados que ilustra la fig. 8 muestra un decremento en la eficiencia de la recuperación al incrementar el volumen de muestra.

Estos efectos se podrían explicar si se considera que existe un equilibrio entre la velocidad de adsorción y desorción de los compuestos, pero si este equilibrio no se logra o se altera, la velocidad de desorción será mayor que la de adsorción y habrá una pérdida del compuesto, por lo tanto aunque el volumen de muestra sea grande no se lograra incrementar la cantidad adsorbida.

Otra posible explicación sería considerar que se altera la superficie del empaque debido a la presencia de alguno de los compuestos lo que haría que el equilibrio ya no fuera entre los compuestos en estudio y la fase estacionaria, sino entre los solutos y la capa que recubre a la fase estacionaria. Esto produciría un cambio en el equilibrio de adsorción y desorción favoreciendo el incremento de desorción causando una pérdida neta de los compuestos (22,23).

Utilizando la concentración en columna se obtuvo el límite de detección que se muestra en la tabla 2. Estos resultados se pueden comparar con los que se obtienen utilizando los procedimientos USEPA(6), particularmente el método de "trampa y purga" (tabla 3). Es decir si se considera que se puede concentrar 1000 veces una muestra de 2 ug/l, lo que permite determinar soluciones de baja concentración utilizando un detector de ionización de llama en lugar de un detector de fotoionización en el análisis cromatográfico.

En la fig. 9 se muestra la curva de calibración para los compuestos estudiados. La linealidad y la ausencia de errores sistematicos(ordenada al origen igual a cero) indican que la cuantificación por estandarización externa es confiable.

La fig. 10 muestra las condiciones cromatograficas y el cromatograma que se obtiene al inyectar 1 ul de la muestra.

En las replicas de los experimentos se observó que la reproducibilidad para un mismo operador es de 10 % relativo al promedio, lo que es aceptable por tratarse del análisis de trazas.

Se observó que los datos de reproducibilidad varían de lote a lote de columnas, encontrándose que un lote diferente proporciona eficiencias de extracción significativamente diferentes para un mismo compuesto, lo que probablemente se deba a diferencias en la silanización de la fase estacionaria. También se observó diferencias de reproducibilidad de columna a columna intralote.

En este estudio se utilizó una sóla marca comercial de columnas. Sin embargo, se podría probar con otras marcas o prepararlas en el laboratorio con el fin de establecer si las diferencias encontradas se deben al proceso de concentración o al proceso de fabricación de estas columnas.

RECUPERACION %

COMPUESTO	0	5	10	20	30	40	METANOL
(B)	46	64	62	74	77	62	
(T)	50	66	66	74	79	84	
(PDCB)	58	77	76	93	80	85	
(ODCB)	69	96	89	101	101	79	

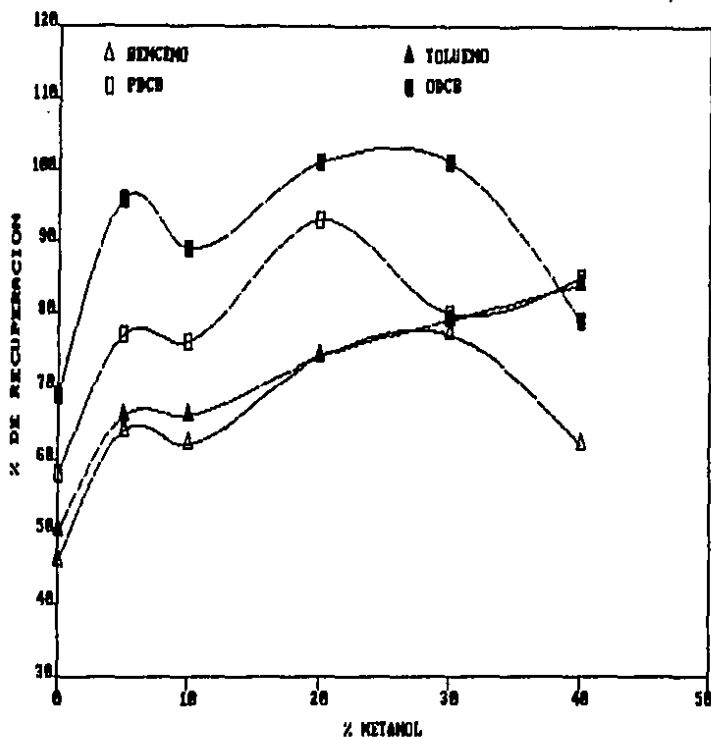


Fig.6. Efecto del metanol sobre el rendimiento de recuperación.

RECUPERACION %

COMPUESTO	5	10	25	50	Vol. Muestra (ml)
(B)	+	15.1	16.7	10.95	
(T)	42.2	42.2	40.9	22.21	
(PDCB)	67.2	64.3	68.9	54.12	
(ODCB)	53.5	63.1	79.1	63.60	

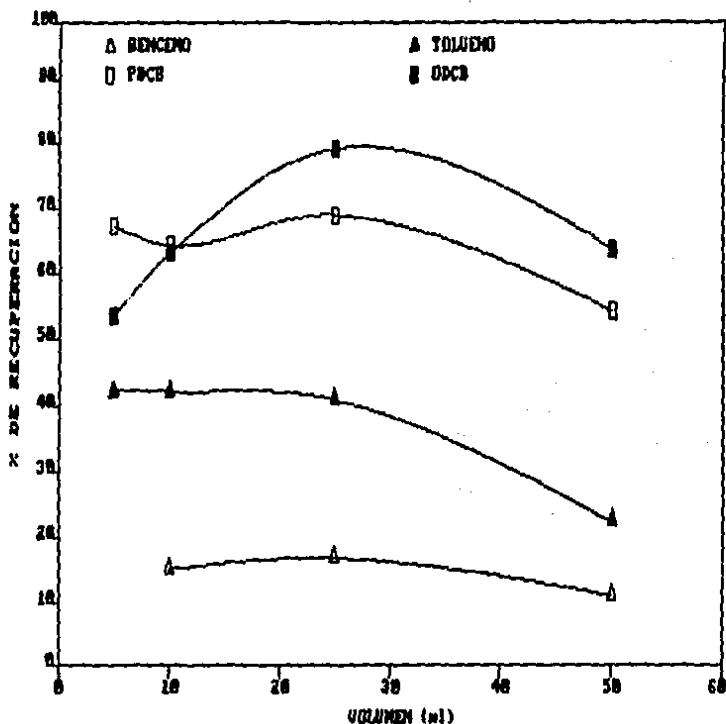


Fig. 7. Efecto de la variación de volumen de la muestra sobre el rendimiento.

RECUPERACION %

COMPUESTO	10	20	40	CONC. ug/l
(B)	52.7	45.5	53.3	
(T)	45.0	47.5	50.9	
(PDCB)	61.7	60.1	64.8	
(ODCB)	63.4	65.5	74.8	

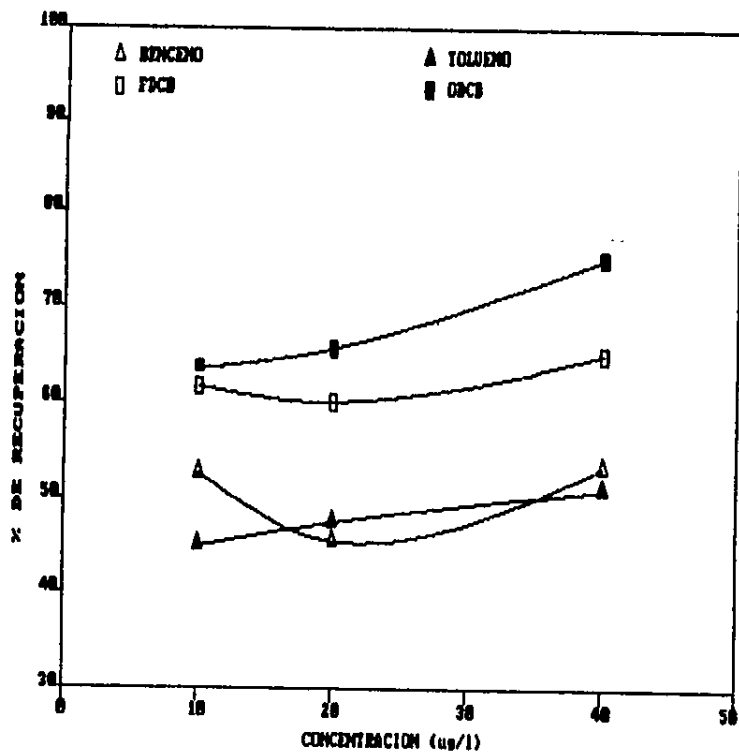


Fig. 8. Efecto de la concentración de la muestra sobre el rendimiento.

TABLA 2. LIMITE DE DETECCION DEL METODO

CONCENTRACION EN COLUMNA (AROMATICOS VOLATILES).

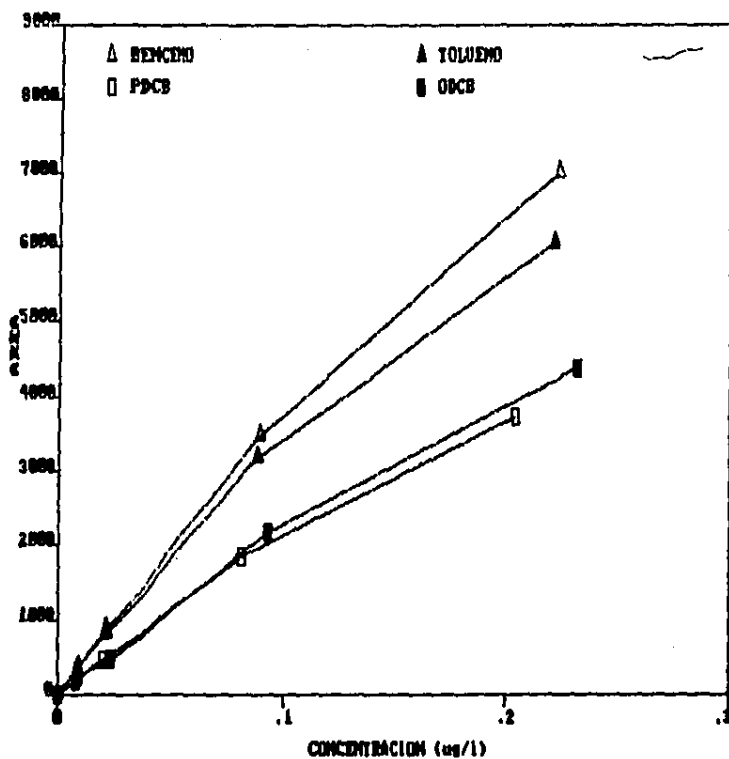
COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCION Min.	LIMITE DE DETECCION ug/l
(B)	3.51	2.17
(T)	7.75	2.00
(PDCB)	18.76	2.27
(ODCB)	29.15	2.11

Columna 1: Columna de acero inoxidable de 6 pies por 1/8 pulgada empacada con 5 % de Bentona 34 + 5 % diisodecilftalato sobre chromosorb WHP 100/120. Detector de ionización de flama.

TABLA 3. LIMITE DE DETECCION DEL MET. 602 USEPA(6).

COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCION Min.	LIMITE DE DETECCION ug/l
(B)	3.33	0.0002
(T)	5.75	0.0002
(PDCB)	16.80	0.0003
(ODCB)	29.15	0.0004

Columna de acero inoxidable de 6 pies por 1/8 pulgada, empacada con 5 % SP-1200 y 1.75 % Bentona 34 sobre chromosorb 100/120, detector de fotoionización.



-Fig.9. Curva de Calibración (Aromáticos volátiles).

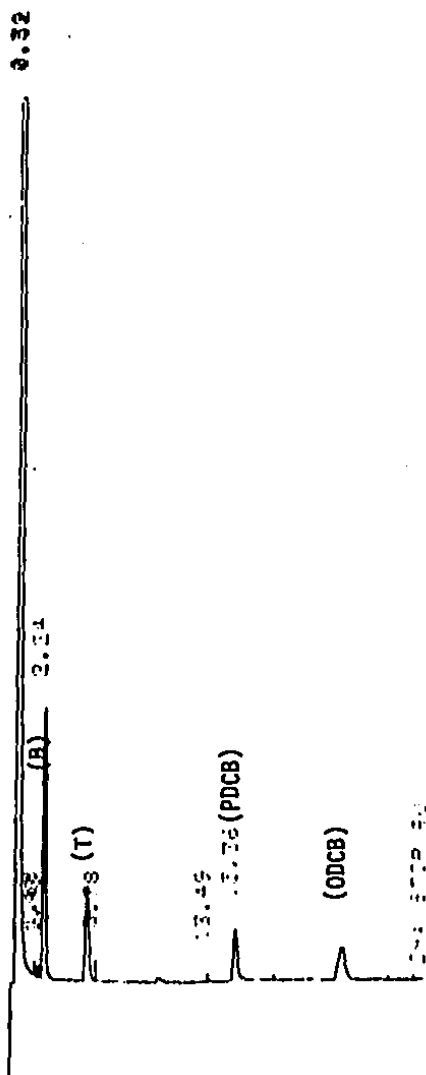


Fig.10 Cromatograma de una muestra de aromáticos volátiles concentrada por columna.

Columna 1: Detector de ionización de flama (120°C), inyector 120°C, temperatura inicial 40°C, tiempo inicial 6 min., vel. de programación 6°/min, temperatura final 100°C.

Análisis del Vapor Confinado.- En la tabla 4 y las figuras 11, 12 y 13 se muestran los resultados de temperatura y tiempo de equilibrio para la determinación de aromáticos volátiles por AVC.

De estas gráficas se observa que todos los compuestos muestran una misma tendencia a incrementar la sensibilidad (área del pico) con respecto al tiempo y la temperatura. Las diferencias entre los valores de pendiente obtenidas para cada compuesto se deben probablemente a las variaciones en los coeficientes de difusión (D_{AB}) de cada uno de ellos. Cuanto mayor sea el coeficiente de difusión mayor será la transferencia de masa, así por ejemplo para el benceno-aire se tiene $D_{AB} = 0.096 \text{ cm}^2/\text{seg}$ y para clorobenceno-aire $D_{AB} = 0.079 \text{ cm}^2/\text{seg}$ (16), observandose una mayor pendiente y menor tiempo de equilibrio para el benceno que para el clorobenceno. También se observa que se necesita por lo menos 30 min para establecer el equilibrio.

En la tabla 5 y la fig. 14 se muestra la relación entre la sensibilidad y la temperatura.

De acuerdo a la relación $d \ln P / dT = H_v / T^2 R$ y la regla de Trouton, era de esperarse que para compuestos de punto de ebullición más bajos se tuviera mayor sensibilidad y que esta aumentara exponencialmente con la temperatura; sin embargo, el operar a altas temperaturas presenta desventajas: problemas de operación, fugas a través del septum debido al incremento de la presión dentro del vial, contaminación del sistema debido a la fuerte adsorción de los compuestos, condensaciones en la jeringa (debido al cambio de temperatura) en el momento de la inyección y esto afectaría la reproducibilidad de la determinación.

En las figuras 15 a 19 se muestra el efecto de la fuerza iónica de la solución sobre la sensibilidad. Se observa un incremento de sensibilidad al aumentar la fuerza iónica. Dicho aumento era previsible si consideramos la ecuación $E_{MS} = Z_i P_i$, en donde la sensibilidad es una función directa del coeficiente de actividad del compuesto "i" y este a su vez depende de la composición de la mezcla en la cual "i" esta presente, por lo tanto si se variaba la fuerza iónica de la solución el valor de esta sería afectado debido a que los iones de las sales disueltas varían las actividades de las sustancias presentes en la solución acuosa lo que hace que disminuya su solubilidad en la solución presentandose el desplazamiento salino.

En la figura 20 se observa que la magnitud del desplazamiento probablemente se dependa del electrolito utilizado, puesto que cada uno de ellos muestra diferente incremento en la sensibilidad, siendo mayor el efecto a fuerza iónica de 2.

El efecto de la presión se muestra en la fig. 21. De acuerdo a estos resultados no existe una gran ventaja o diferencia al utilizar presión, puesto que el incremento de sensibilidad que se logra es pequeño en comparación a los problemas experimentales que se tienen. Sin embargo, se incrementa el intervalo lineal que podría ser útil en otras determinaciones.

En la tabla 8 y 9 se muestran los resultados de la evaluación de la precisión y del límite de detección. Observandose que los resultados obtenidos por el AVC son comparables con el método de trampa y purga propuesto por USEPA (6). La comparación es posible si se considera que para el AVC se utilizó un detector de ionización de flama en lugar de detectores específicos y más sensibles que los empleados en estos métodos. Posiblemente una de las razones

por las que se puede tener un LDM tan bajo es que el equilibrio vapor/líquido únicamente los compuestos volátiles se encuentran presentes y esto hace que se eliminen interferencias y contaminaciones eliminando el ruido en el sistema cromatográfico.

Estos resultados permiten establecer una ventaja significativa del AVC sobre los demás métodos, puesto que presenta el % CV (coeficiente de variación) más bajo. Este resultado se debe probablemente a la simplicidad del método, es decir, las variables que se deben controlar (temperatura y tiempo de equilibrio básicamente) en comparación a las de los otros métodos son menores, si bien estos métodos pueden ser más sensibles por utilizar detectores específicos (Espectrometro de masas) pero el control sobre el mismo y sobre el sistema de Trampa y Purga debe ser más estricto.

Es importante hacer notar que otra ventaja que presenta tanto la concentración en columna como el análisis del vapor confinado (AVC) sobre el método de Trampa y Purga es su bajo costo, puesto que implantar el sistema propuesto por USEPA(6) tiene un costo aproximado de más de \$500,000 pesos considerándose que ya se cuenta con un cromatografo de gases. Otra limitación que incrementa el costo del análisis es que este sistema no se puede ocupar para otras determinaciones. Utilizando la concentración en columna el costo es de aproximadamente \$8,000 pesos y no se requiere un cromatografo con sistemas especiales, además cada columna se puede utilizar mas de una vez. En cuanto al AVC el costo es mínimo si se cuenta con una jeringa con válvula de paso de teflón y un vial con válvula Mininert. Si se requiere adquirir estos, el costo es aproximadamente de \$200,000 pesos.

TABLA 4. TIEMPO DE EQUILIBRIO A DIFERENTES TEMPERATURAS

COMPUESTO		5	15	30	50	Tiempo (min)
(B)	50°	0.538	0.879	1.09	1.0	
	70°	0.577	-	0.822	1.0	
	84°	0.395	-	0.7916	1.0	
(T)	50°	0.456	0.789	0.960	1.0	
	70°	0.511	-	0.771	1.0	
	84°	0.344	-	0.778	1.0	
(EB)	50°	0.544	0.996	1.210	1.0	
	70°	0.46	-	0.744	1.0	
	84°	0.284	-	0.745	1.0	
(CB)	50°	0.569	0.877	0.946	1.0	
	70°	0.655	-	0.895	1.0	
	84°	0.451	-	0.811	1.0	
(PDCB)	50°	0.561	0.825	0.793	1.0	
	70°	0.685	-	0.945	1.0	
	84°	0.480	-	0.904	1.0	
(ODCB)	50°	0.592	0.774	0.787	1.0	
	70°	0.770	-	1.010	1.0	
	84°	0.502	-	0.930	1.0	

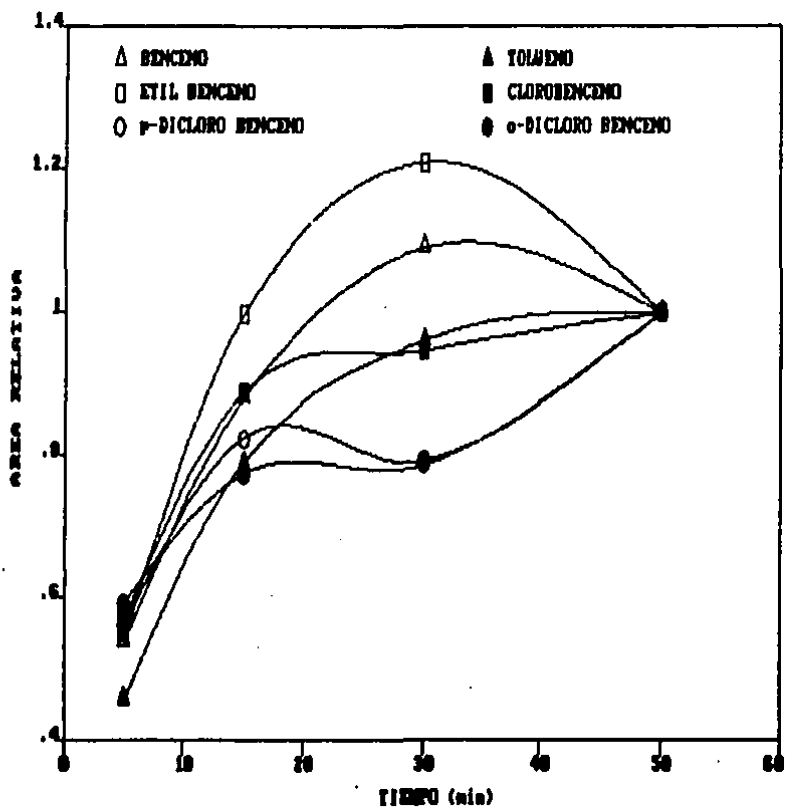


Fig.11. Area relativa contra tiempo de equilibrio a 50°C.

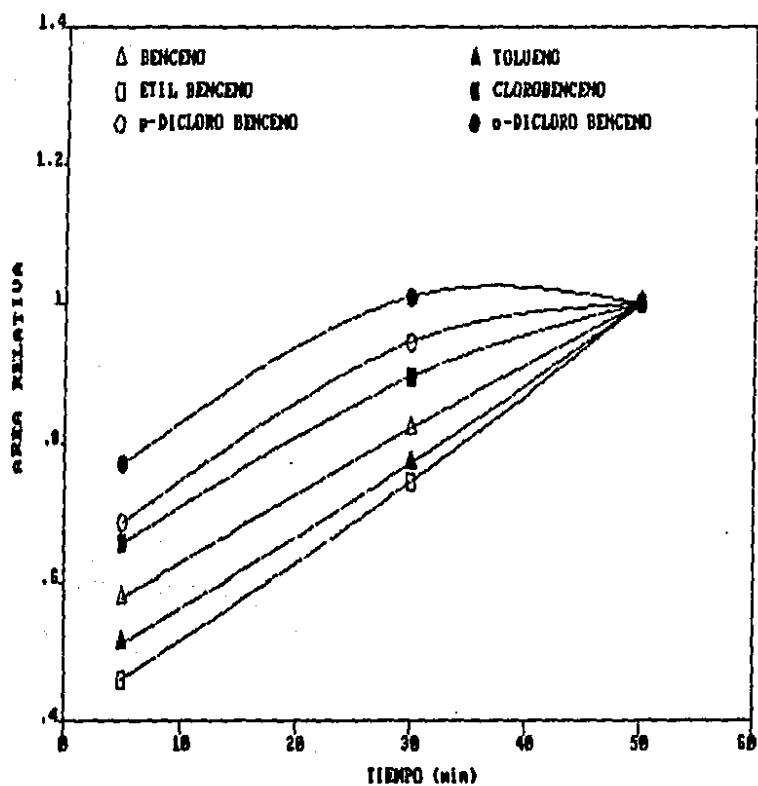


Fig.12. Area relativa contra tiempo de equilibrio a 70°C.

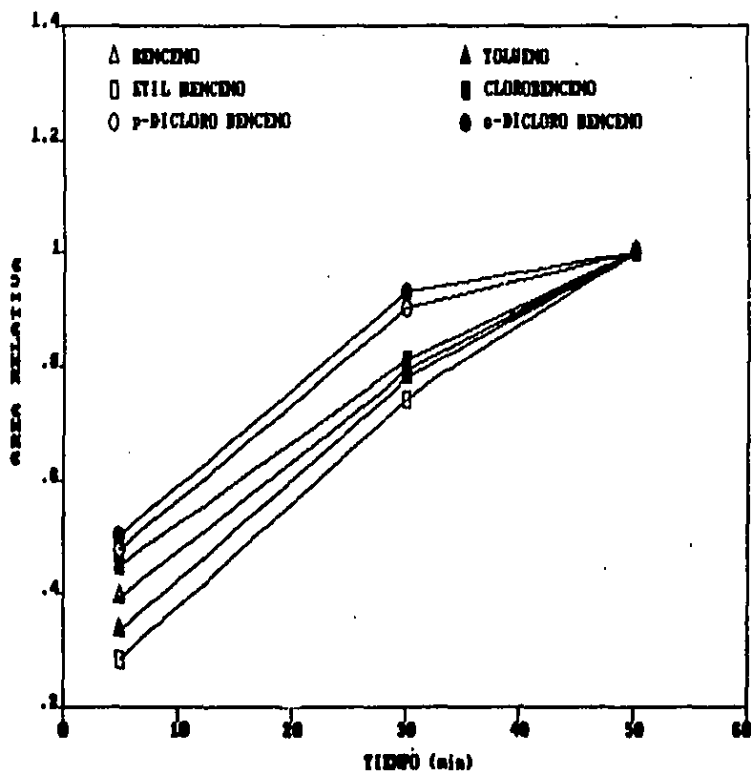


Fig.13. Area relativa contra tiempo de equilibrio a 84°C.

TABLA 5. SENSIBILIDAD (AREA RELATIVA) A DIFERENTES TEMPERATURAS

COMPUESTO	30	50	70	85	TEMP. (°C)
(B)	0.229	0.438	0.811	1.0	
(T)	0.248	0.419	0.910	1.0	
(EB)	0.435	0.295	0.591	1.0	
(CB)	0.182	0.363	0.740	1.0	
(PDCB)	0.147	0.347	0.718	1.0	
(ODCB)	0.014	0.248	0.555	1.0	

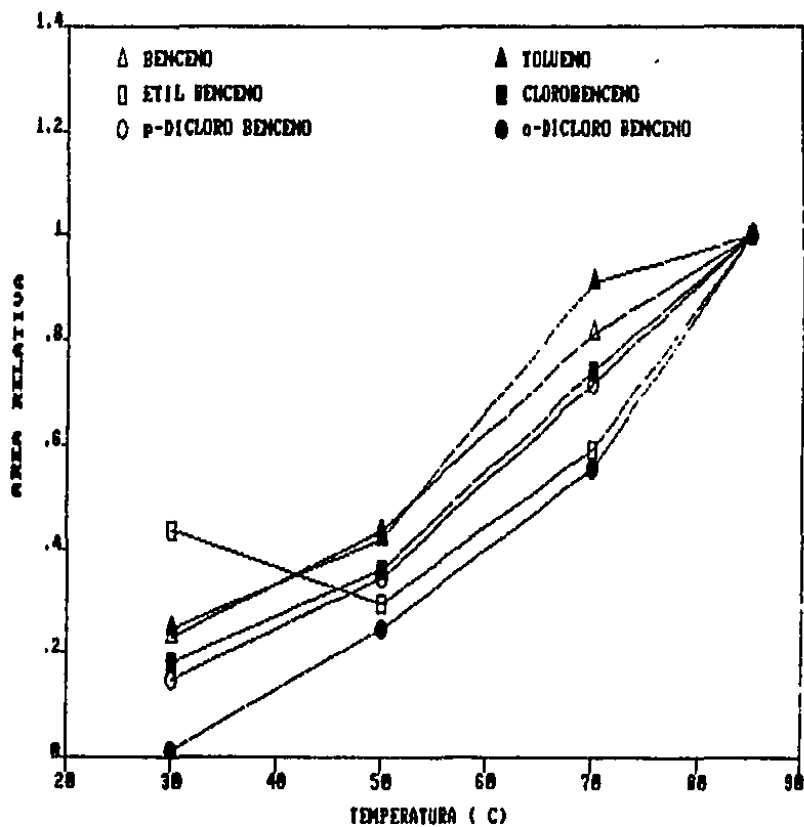


Fig.14. Sensibilidad contra temperatura

TABLA 6. INCREMENTO DE SENSIBILIDAD (AREA RELATIVA) DE LOS
 COMPUESTOS ORGANICOS EN EL VAPOR SOBRENADANTE DEBIDO A LA
 ADICION DE SALES A DIFERENTE FUERZA IONICA (TEMP. 50°C).

SAL	COMP.	0.0	0.5	2.0	4.0	FZA. IONICA (I).
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	(B)	0.619	0.754	0.834	1.0	
	(T)	0.673	0.814	0.903	1.0	
	(EB)	0.722	0.882	0.892	1.0	
	(CB)	0.514	0.653	0.807	1.0	
	(PDCB)	0.503	0.662	0.836	1.0	
	(ODCB)	0.282	0.449	0.745	1.0	
	NH_4Cl	(B)	0.566	0.658	0.744	1.0
(T)		0.540	0.649	0.771	1.0	
(EB)		0.549	0.660	0.843	1.0	
(CB)		0.468	0.609	0.697	1.0	
(PDCB)		0.419	0.610	0.724	1.0	
(ODCB)		0.257	0.561	0.663	1.0	
NaCl		(B)	0.569	0.673	0.741	1.0
	(T)	0.655	0.700	0.712	1.0	
	(EB)	0.619	0.748	0.843	1.0	
	(CB)	0.424	0.536	0.650	1.0	
	(PDCB)	0.404	0.581	0.721	1.0	
	(ODCB)	0.216	0.495	0.677	1.0	

SAL	COMP.	0.0	0.5	2.0	4.0	FZA. IONICA
$C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$						
	(B)	0.548	0.596	0.828	1.0	
	(T)	0.619	0.654	0.878	1.0	
	(EB)	0.703	0.707	0.895	1.0	
	(CB)	0.521	0.552	0.835	1.0	
	(PDCB)	0.521	0.590	0.876	1.0	
	(ODCB)	0.439	0.508	0.739	1.0	
K_2CO_3						
	(B)	0.587	0.685	1.0		
	(T)	0.602	0.717	1.0		
	(EB)	0.654	0.717	1.0		
	(CB)	0.549	0.697	1.0		
	(PDCB)	0.562	0.755	1.0		
	(ODCB)	0.527	0.780	1.0		

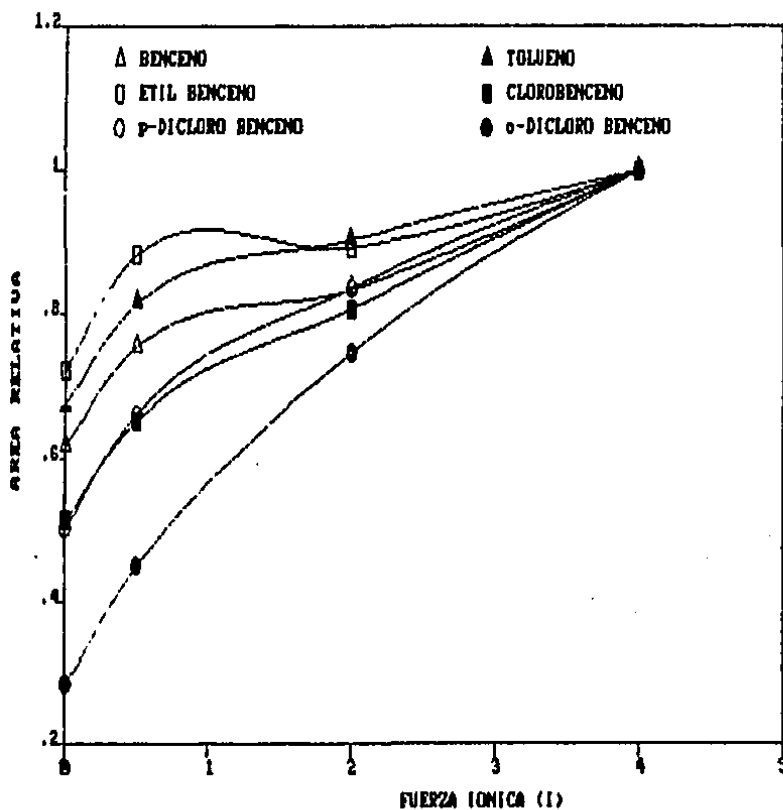


Fig.15. Efecto de la fuerza iónica sobre la sensibilidad $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

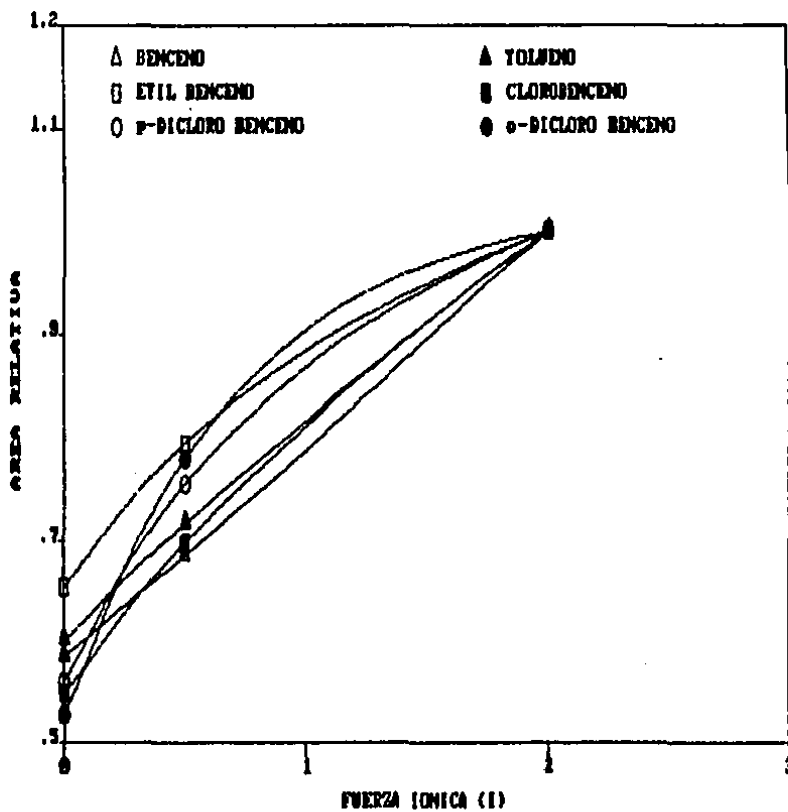


Fig.16. Efecto de la fuerza iónica sobre la sensibilidad (K_2CO_3).

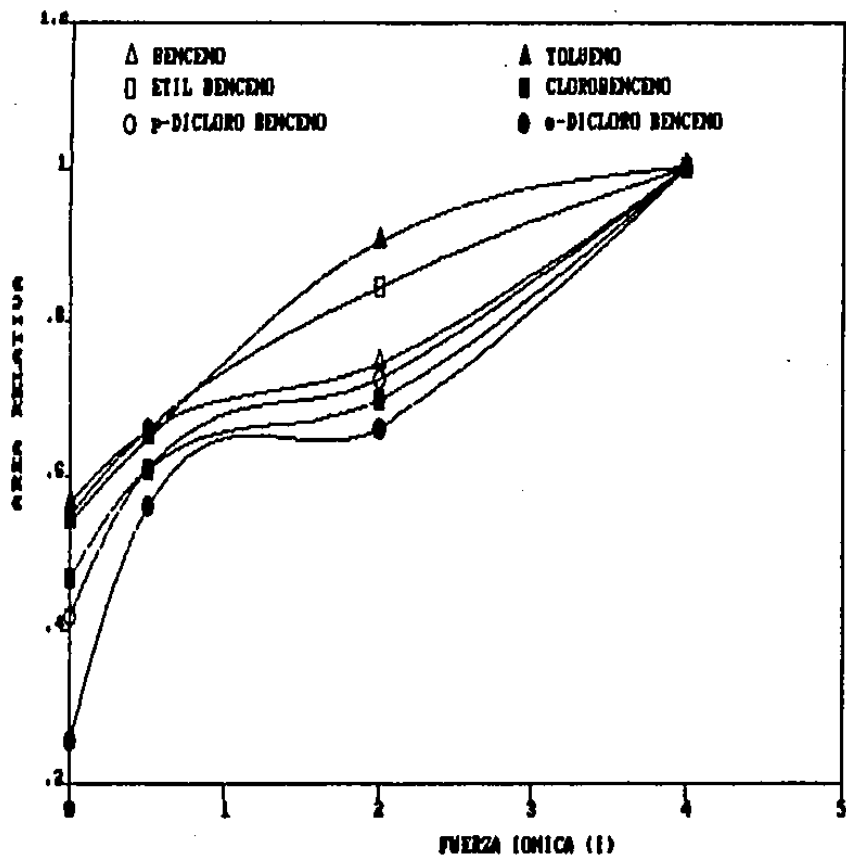


Fig.17. Efecto de la fuerza iónica sobre la sensibilidad (NH_4Cl).

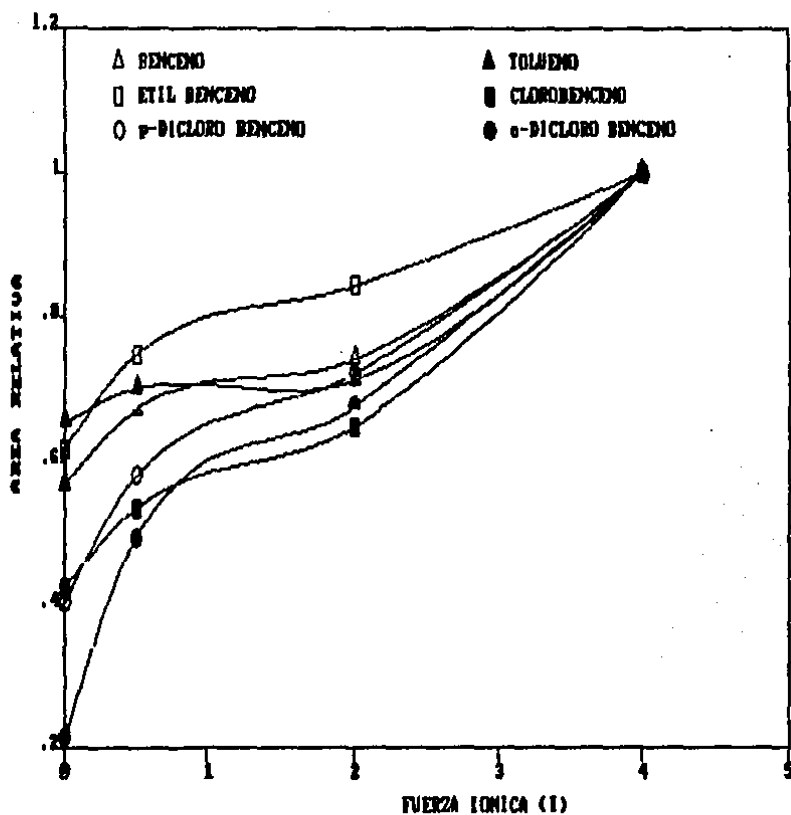


Fig.18. Efecto de la fuerza iónica sobre la sensibilidad (NaCl).

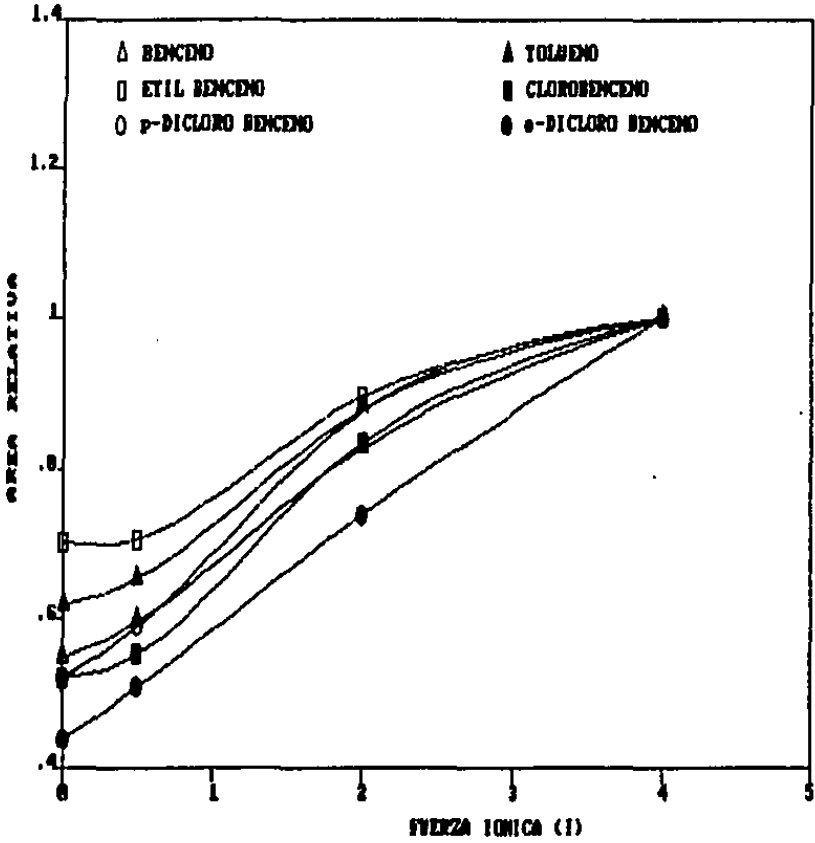


Fig.19. Efecto de la fuerza iónica sobre la sensibilidad (citrato de sodio).

EFECTO DE LA ADICION DE SALES INCREMENTO RELATIVO A AGUA PURA

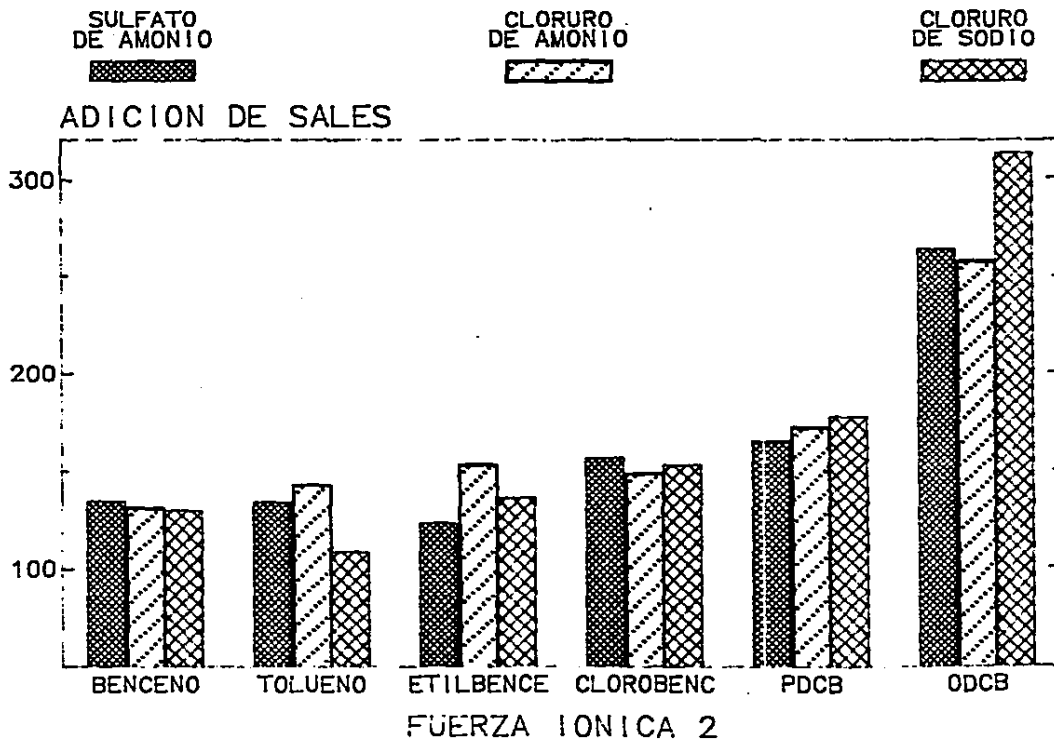


FIG.20

EFECTO DE LA ADICION DE SALES INCREMENTO RELATIVO A AGUA PURA

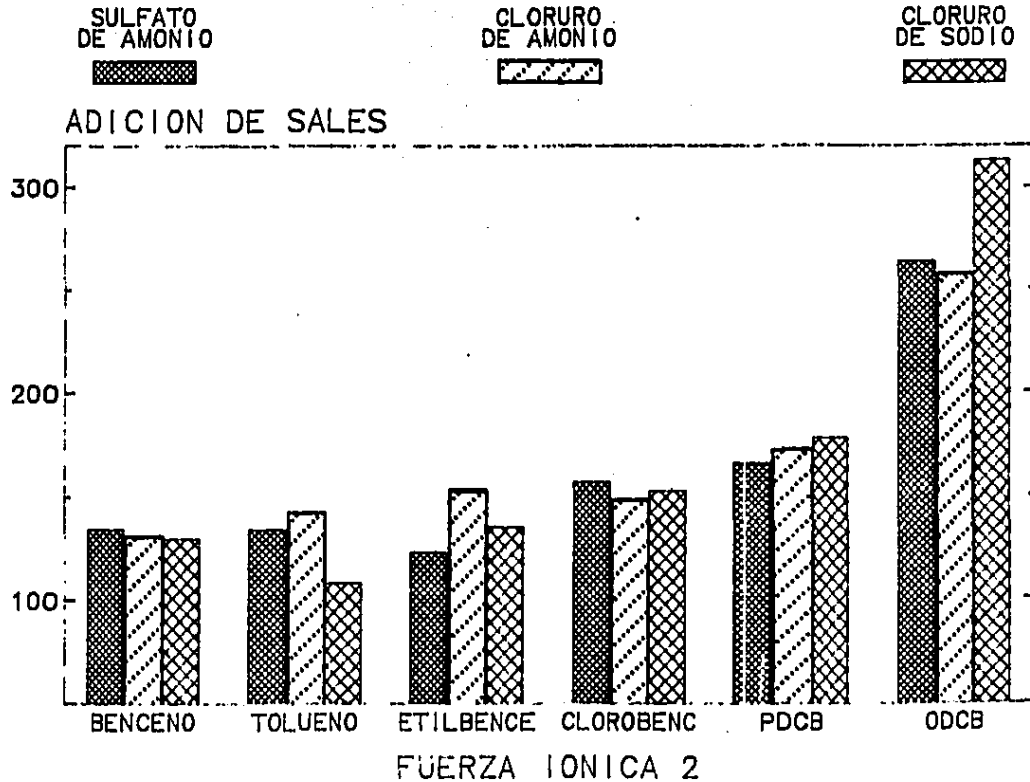


FIG.20

TABLA 7.

ANALISIS DEL VAPOR SOBRENADANTE

AROMATICOS VOLATILES.

EFECTO DEL VACIO PREVIO AL CALENTAMIENTO.

COMPUESTO	CONCENTRACION ug/l	AREA DEL PICO (PA)	AREA DEL PICO (V)
(B)	2090	7405	9382
	1045	5646	7268
	524	3550	5379
(T)	2140	4235	6652
	1070	3134	3616
	535	1515	1873
(PDCB)	2149	1312	2556
	1070	1291	1465
	535	662	800
(ODCB)	2080	1051	1847
	1040	1024	1034
	520	561	643

PA = PRESION AMBIENTE

V = VACIO

TABLA 8.

ANALISIS DEL VAPOR SOBRENADANTE

LIMITE DE DETECCION DEL METODO (ug/l).

AROMATICOS VOLATILES

COMPUESTO	LDM	MET.602	MET.624	MET.1624
(T)	10	0.2	6.0	10
(EB)	10	0.2	7.0	10
(CB)	10	0.2	6.0	10
(PDCB)	7	0.3	4.0+	10++
(MDCB)	9	0.4	2.0+	10++
(ODCB)	9	0.4	-	10++

+ METODO 626

++ METODO 1625

TABLA 9.

ANALISIS DEL VAPOR CONFINADO

PRECISION (20 ug/l).

AROMATICOS VOLATILES.

COMPUESTOS	CV %	MET.602	MET.624	MET.1624
(T)	15	17.5	34.5	31.5
(EB)	15	29.0	24.0	48.0
(CB)	15	25.0	37.5	41.0
(PDCB)	10	27.5	31.5	42.0 +
(MDCB)	15	33.5	27.5	42.0 +
(ODCB)	15	20.0	35.5	17.0 +

+ METODO 1625

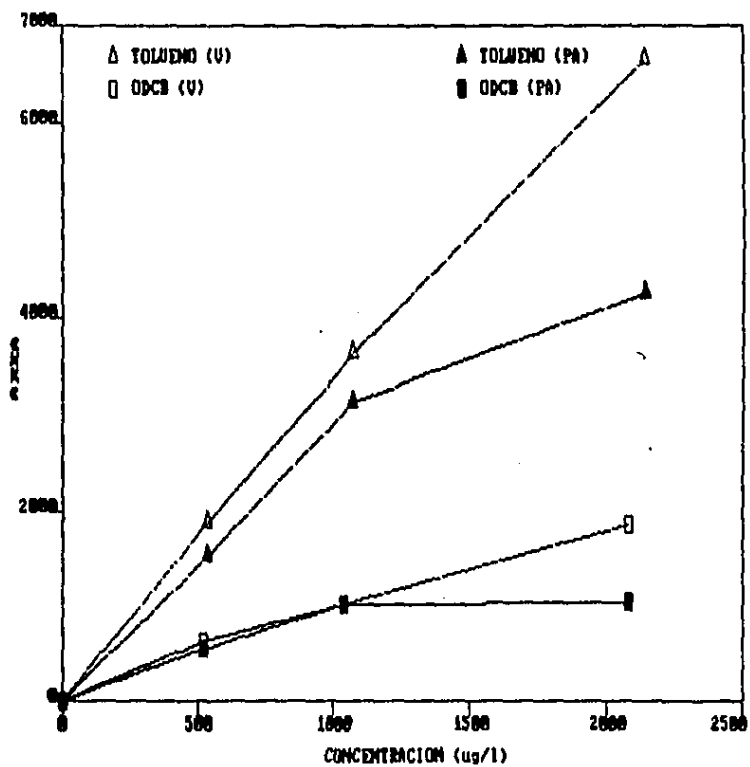


Fig.21. Análisis del vapor confinado
Aromáticos volátiles.
EFECTO DE LA PRESION

V = Vacío

PA = Presión ambiente

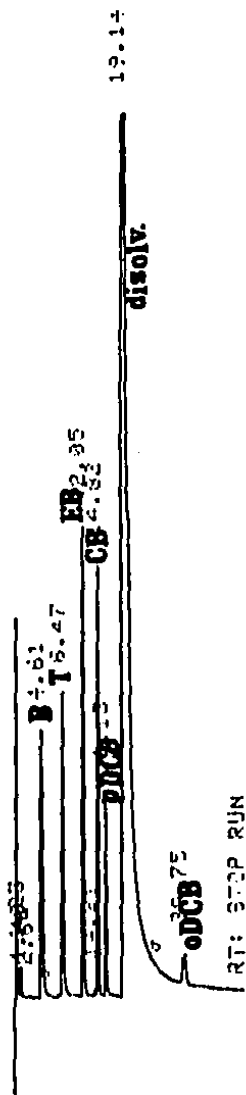


FIG.22. Cromatograma de una muestra de aromáticos volátiles concentrada por Análisis del Vapor Confinado. Columna 2, Detector de Ionización de Flama (120°C), Inyector 120°C, Temperatura inicial 40°C, Tiempo inicial 6 min., Velocidad de programación 6°/min., Temperatura final 100°C.

CONCLUSIONES

1. Debido a su simplicidad y a la disponibilidad comercial de las columnas de fase químicamente unida, el método de concentración en columna ofrece ventajas significativas sobre la técnica de Trampa y Purga que emplean los métodos oficiales de USEPA.
2. En la cromatografía extractiva el incremento de volumen y la concentración de la muestra causa decremento en la eficiencia de la recuperación como se ilustra en las figuras 7 y 8 observándose que el rendimiento de la extracción es inversamente proporcional a la solubilidad de los compuestos en estudio.
3. Puesto que la eficiencia de la recuperación depende del volumen y la solubilidad de la muestra, estos deberán considerarse cuando se requiera una extracción cuantitativa del agua.
4. No se tiene buena reproducibilidad al utilizar las columnas comerciales entre lote y lote lo que hace que el rendimiento de extracción no sea reproducible.
5. Es necesario aumentar los rendimientos de recuperación añadiendo un modificador orgánico. En este caso la concentración del modificador, metanol, debe encontrarse entre un 20 y 30 % v/v para lograr un máximo en el rendimiento de acuerdo a la figura 6.

6. En cuanto al método de Análisis del Vapor Confinado (AVC) es posible incrementar la sensibilidad operando el sistema a presión reducida, temperaturas altas y fuerza iónica superior a 2. Sin embargo, para un mejor control del mismo es preferible utilizar presión ambiente, temperatura entre 50 y 70 °C.

7. De acuerdo a las figuras 11, 12 y 13 es imprescindible permitir un tiempo de equilibrio mínimo de 30 minutos para alcanzar el equilibrio vapor/líquido y de esta manera tener reproducibilidad en las determinaciones.

8. El objetivo primordial de este trabajo era establecer métodos alternos simples y más económicos que permitan determinar trazas de compuestos orgánicos considerados de alto riesgo en agua. Al respecto, cabe señalar que esta meta fue suficientemente alcanzada al ser estos procedimientos utilizados con resultados comparables a los métodos propuestos por USEPA (6) (como se muestra en el LDM y Presición). Sin embargo, para que estos métodos sean completamente optimizados se podrían continuar estudiando ciertos puntos que puedan subsanar problemas que se encontraron, o bien implantar estos métodos para la determinación de otros grupos de compuestos considerados como contaminantes orgánicos. Por lo tanto, debido a su simplicidad y bajo costo, se hace accesible su incorporación a cualquier laboratorio que tenga la infraestructura de cromatografía de gases y el desarrollo de estos métodos es una alternativa que debe considerarse para estudios posteriores de contaminación.

BIBLIOGRAFIA

1. Plan Nacional Hidráulico 1981
Comisión del Plan Nacional Hidráulico (SARN).
2. Proceeding. VOL.I, August 23-28, 1981, Washington D. C.
Water Reuse, Symposium II. "Water Reuse in the Future"
American Waters Works Association (AWWA).
3. Quality of Environment in Japan (1985)
Environment Agency Government of Japan.
4. Analytical Method Manual 1979
In land water directorate water quality branche. Ottawa Canada. August 1979
5. Standar Methods of Chemical Analysis.
6. EPA. Test Methods. Methods for organic chemical analysis of municipal
and industrial waste water; July 1983.
7. Q.V. Thomas, J.R. Stork, and S.L Lammert. J.Chromatogr. Sci., 18, 583(1980)
8. M.W. Dong and Joseph L. Di Cesare., J.Chromatogr.Sci., 20, 517(1982)
9. Dr. Bruce Rousen, Communications Gas Chromatography
Packard Instrument Company (1981).
10. Applications of Mass Spectrometry of Trace Analyses, Lectures of a course
held at the joing research centre, Ispra, Italy, 29 September
3 October 1980; S. Franchetti (ED). Elsevier Scientific Publishing Company
Amsterdam.
11. Mark, S. Varney and Martin R. Preston; J.Chromatogr., 340, 256(1983)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

12. W.R. Supina; The Packet column in Gas Chromatography;Supelco, Inc.
Bellefonte, Pa.
13. D.J. Davis; Gas Chromatography Detectors;
John Wiley and Sons.; New York, 1974
14. H. Hachenberg; Industrial Gas Chromatographic Trace Analysis;
Heyden and Son.LTD, 1973
15. P.G. Simmonds; J.Chromatogr., 289, 117(1984)
16. Richard. C.Chong and J.S.Fritz; Talanta, 25, 659(1978)
17. W.Bertsch, E. Anderson and G. Holzer; J.Chromatogr., 112, 701(1975)
18. B. Dowty, L. Green and J.L. Laseter; J.Chromatogr. Sci., 289, 117(1984)
19. Lars. Renberg. Anal. Chem., 50, 1836(1978)
20. H. Dressler; J.Chromatogr., 165, 167(1979)
21. Sep-pak Cartridges Waters Associates, Waters, Sep-pak and PIC.
22. W.A Saner. J.R. Jadamec, and R.W. Sarger., Anal. Chem., 51, 218(1979)
23. E. Chladek and R.S. Marano; J.Chromatogr. Sci., 22, 313(1984)
24. H.Hachenberg and P. Schmit; Gas Chromatographic headspace analysis;
Heyden and Son 1979
25. E. S. K. Chion, et al; Envirom. Sci. Technol., 11, 282(1977)
26. E.A.Dietz, Jr. and F. Singley; Anal. Chem., 51, 1809(1979)
27. R.E. Kepner, H. Haarse and J. Strating; Anal. Chem., 36, 77(1964)
28. L.E. Kaiser and B.G. Oliver., Anal. Chem., 48, 2207(1976)
29. S.L. Friant and I.H. Suffet; Anal. Chem., 51, 216(1979)
30. J.P. Meure., Envi. Sci. Technol., 14, 930(1980)
31. H.Colin and G.Guiachon; J. Chromatogr., 141, 289(1977)
32. G. Horvath, W. Malander and I. Molnar; J. Chromatogr., 125, 129(1976)
33. Snyder, L.R and Kirkland;
J.J.A Melwy. Interscience. Publications. New York, John Wiley 1974

34. C. Horvath and W. Melander; J. Chromatogr. Sci., 15, 393(1977)
35. R.F.W. Scott and C. F. Simpson; J. Chromatogr., 32, 11(1980)
36. A. Nahum and C. Horvath., J. Chromatog., 53(1981)
37. B.L. Karger, J.R. Cant, A. Hartkopf; J. Chromatogr., 128, 65(1976)
38. An Introduction to Separation Science by B.L. Karger, L.R Snyder and C. Horvath., New York, J. Wiley, 1973
39. R. E. Kepner et al; Anal. Chem., 36, 77(1964)
40. S.L. Friant and I.H Suffet., Anal. Chem., 51, 2167(1979)