

00577

2
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

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

**FASES DE ALTA TEMPERATURA PARA
CROMATOGRAFIA DE GASES CON
COLUMNAS CAPILARES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA ANALITICA)

P R E S E N T A :

Q. MA. INES JIMENEZ GARCIA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

México, D. F.

1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	página
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Columnas Capilares. Consideraciones Generales	2
2.2 Fases estacionarias	4
2.2.1 Parámetros de una fase estacionaria	4
2.2.2 Tipos importantes de fases estacionarias en columnas capilares.	5
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	6
3.1 Equipo, material y reactivos	9
3.2 Etapas de fabricación	10
3.2.1 Tratamiento hidrotérmico	10
3.2.2 Deshidratación	10
3.2.3 Desactivación	11
3.2.4 Recubrimiento	14
3.2.5 Reticulamiento	15
3.2.6 Acondicionamiento	15
3.2.7 Evaluación	16
4. RESULTADOS	19
4.1 Energía de superficie	19
4.2 Eficiencia	24
4.3 Desactivación	29
4.4 Estabilidad térmica	36
5. DISCUSION DE RESULTADOS	39
6. CONCLUSIONES	42
7. BIBLIOGRAFIA	45

1 INTRODUCCION

En el comienzo de los años 60 se desarrollaron las diferentes metodologías para la fabricación de las columnas capilares de vidrio. Avance tecnológico que promovió en forma importante el uso de este tipo de columnas en la cromatografía de gases. Sin embargo, fué el desarrollo de la tecnología para fabricar columnas a partir de tubo capilar flexible de sílice fundida, lo que aumentó el uso de esta técnica cromatográfica en forma exponencial.

Las tendencias actuales en el desarrollo de columnas capilares se dirigen a la fabricación de fases estacionarias con un amplio intervalo de temperaturas de trabajo, así como de polaridades. El empleo de estas fases facilita el análisis de muestras de muy diversos pesos moleculares y el trabajo a altas temperaturas. La resistencia térmica de las nuevas fases les proporciona, en general, mayor flexibilidad de uso.

El objetivo de este trabajo es fabricar columnas capilares de sílice fundida con fases estacionarias poco polares, estudiando el efecto del reticulamiento sobre la estabilidad térmica y sobre los demás parámetros que caracterizan una columna capilar (eficiencia, desactivación, etc.).

2 ANTECEDENTES

2.1 Columnas Capilares. Consideraciones Generales.

Golay introdujo en 1957 las columnas capilares o de tubo abierto (25). Estas representaron una mejora notable en el poder de separación en comparación con las columnas empacadas, lo cual dió una nueva dimensión a la cromatografía de gases. Inicialmente su desarrollo fué lento, debido a que dichas columnas eran de vidrio y muy frágiles. Fué hasta la década de los ochentas, en la que al desarrollarse la tecnología de fibras ópticas, se fabricaron columnas capilares de sílice fundida, flexibles y resistentes, con lo cual se generalizó su uso.

Las columnas capilares se caracterizan por una alta eficiencia y baja caída de presión, lo cual permite tener longitudes muy grandes y consecuentemente un número de platos teóricos (poder de separación) muy alto. Presentan además una superficie muy inerte, en la que los fenómenos de adsorción son significativamente menores que en las columnas empacadas.

La ecuación básica que describe el ensanchamiento de los picos cromatográficos es la ecuación de Van Deemter (ec. 2.1), en la que se involucran los diversos factores que influyen sobre la eficiencia cromatográfica.

$$h = A + B/v + Cv \quad 2.1$$

en donde:

h = altura equivalente de plato teórico.

A = factor de empaque.

B = factor de difusión longitudinal.

C = factor de resistencia a la transferencia de masa.

v = velocidad lineal del gas acarreador.

En las columnas abiertas no existe el término A , por lo cual la ecuación anterior se reduce a la conocida ecuación de Golay.

$$h = B/v + Cv \quad 2.2$$

La ausencia del factor de empaque (A) en las columnas abiertas, tiene como consecuencia una mayor eficiencia.

En todo análisis cromatográfico se desea obtener la mayor eficiencia en el menor tiempo. De la ecuación 2.2 se observa que el término h es inversamente proporcional al valor de v en el término B, y es directamente proporcional en el término C, existe un valor óptimo de v con el cual se obtiene la mayor eficiencia posible (fig. 2.1). La desventaja principal de las columnas capilares es la baja cantidad de fase estacionaria que contienen, por ello su capacidad de muestra es menor. Esto dificulta el análisis de trazas, ya que la cantidad mínima detectable es de cinco a diez veces superior que en una columna empacada. Para minimizar esta desventaja, se trabaja en el desarrollo de técnicas especiales de inyección y de preconcentración de muestra. Por otra parte se han desarrollado columnas capilares de diámetro grande, con la misma cantidad de fase estacionaria de una columna empacada. En la tabla 2.1 se describen las características generales de los diversos tipos de columnas.

Tabla 2.1. Comparación de tipos de columnas.

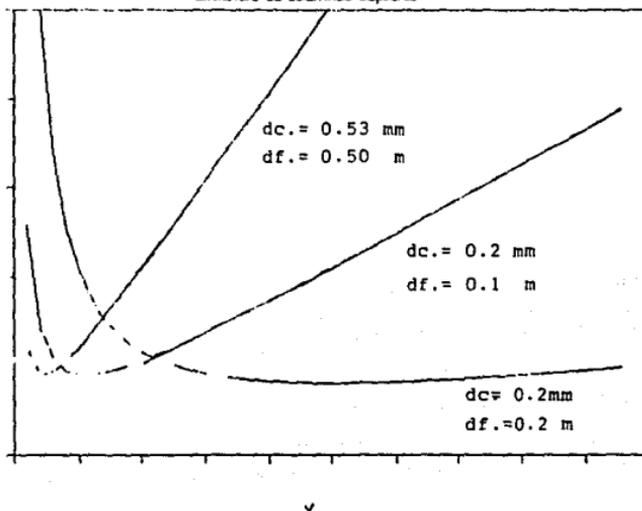
Columna	Long. (m)	D.I. (mm)	Efic.	Capacidad de muestra	Desactivación
W.C.O.T. (calibre pequeño)	5-100	0.2-0.35	Muy alta	Muy baja	Muy alta
W.C.O.T. (calibre grande)	25-150	0.5-0.75	Buena	Baja	Alta
S.C.O.T.	25-150	0.5-0.75	Buena	Buena	Buena
Micro- empacada	0.5-10	0.5-1.00	Alta	Buena	Buena
Empacada	0.5-5.0	2-6	Baja	Muy buena	Baja

W.C.O.T. Tubo abierto recubierto en las paredes.

S.C.O.T. Tubo abierto recubierto sobre un soporte.

FIGURA 2.1

Eficiencia de columnas capilares



2.2 Fases Estacionarias.

2.2.1 Parámetros de una fase estacionaria.

Las fases estacionarias para columnas capilares son en su mayoría, polímeros de alto peso molecular que cumplen los siguientes requisitos:

- Líquidas a la temperatura de trabajo.
- Térmicamente estables.
- Químicamente inertes frente a los solutos, al material del tubo y al gas acarreador.
- Baja presión de vapor a la temperatura de trabajo, presentando en consecuencia poco sangrado.

2.2.2 Tipos importantes de fases estacionarias en columnas capilares.

Comercialmente se manejan alrededor de 300 fases. Seleccionar la fase adecuada para cada trabajo depende de la mezcla por analizar; por lo regular se seleccionan aquellas fases en las que se puede analizar una amplia gama de compuestos.

La mayoría de los análisis en columnas capilares se efectúan con cinco fases básicas: metilsilicón (la más usada), polietilenglicol, metilfenilsilicón, trifluoropropilsilicón y cianopropilsilicón. Estas son las fases que presentan mejores características para el trabajo en columnas capilares. Todas son reticulables y con buena estabilidad térmica. Es posible, además, obtener un mejor recubrimiento del tubo mediante un tratamiento previo, lo que proporciona una alta eficiencia.

Existen además fases para análisis especiales, entre otras se tienen:

- a) Adsorbentes: Mallas moleculares y Polímeros de estireno/divinilbenceno para el análisis de gases permanentes, y para la separación de hidrocarburos de bajo peso molecular.
- b) Quirales: para la separación de isómeros ópticos.
- c) Cristales Líquidos: tienen la capacidad de separar isómeros estructurales.

En la fabricación de columnas capilares es aconsejable utilizar, siempre que sea posible, fases de alta viscosidad ($\nu > 25,000$ centistokes), reticulables, las cuales poseen las siguientes ventajas:

- 1) Recubrimiento de alta eficiencia.
- 2) Amplio intervalo de temperaturas de trabajo.
- 3) Espesor de película variable.
- 4) Tiempo largo de vida.

3 DESARROLLO EXPERIMENTAL

En la producción de columnas capilares de alta eficiencia se requiere que la fase estacionaria sea depositada como una película delgada y homogénea en la superficie del tubo capilar. Para asegurar un tiempo de vida razonable de la columna, la película de fase estacionaria debe mantener la uniformidad a través de repetidos programas de temperatura y grandes volúmenes de inyección en una amplia gama de disolventes. La habilidad de la columna para resistir la degradación debida a temperaturas altas o lavados de la fase, se puede incrementar mediante el reticulamiento de la fase estacionaria dentro de la columna. Sin embargo, el intento inicial de colocar una película delgada y homogénea depende de la habilidad de la fase estacionaria para mojar completamente la superficie interna del tubo capilar previamente tratado para este fin.

Las etapas de elaboración de columnas capilares se efectuaron utilizando el equipo esquematizado en las figuras 3.1 y 3.2, utilizando además el cromatógrafo Varian Aerograph S-2700 como horno y el cromatógrafo HP 5880 para las etapas de reticulamiento, acondicionamiento y evaluación.

La figura 3.1 muestra el sistema de control de flujos necesario para manejar libremente el sentido y la velocidad del flujo en la columna capilar.

La figura 3.2 muestra el baño doble termostatado que permite mantener un régimen de evaporación constante del disolvente por vacío. El extremo de la columna sellado con vaselina se deja libre y el otro se conecta a la cámara de expansión. El electrobarómetro es un indicador del funcionamiento correcto del sistema de vacío, cuando ocurre una ruptura en el frente del disolvente, éste genera una señal, indicando la necesidad de lavar la columna y volver a recubrirla.

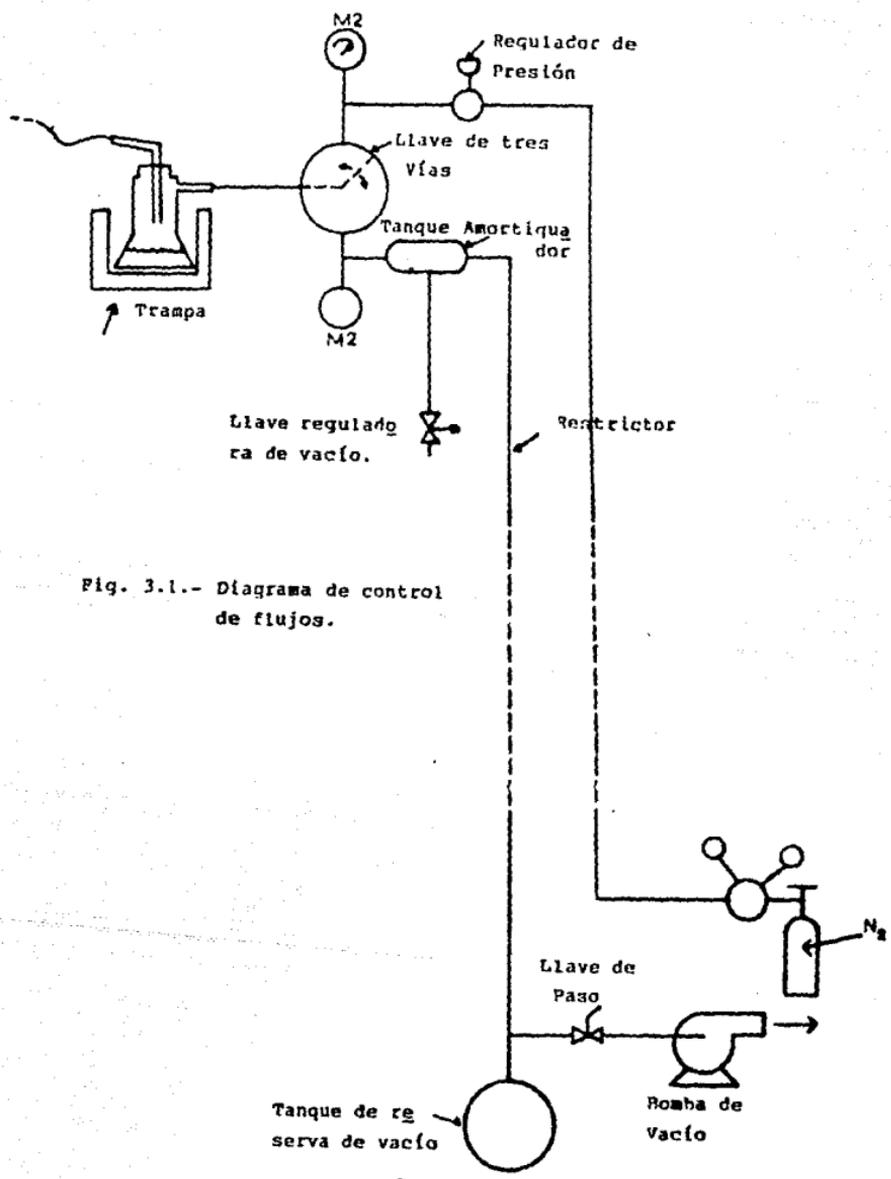
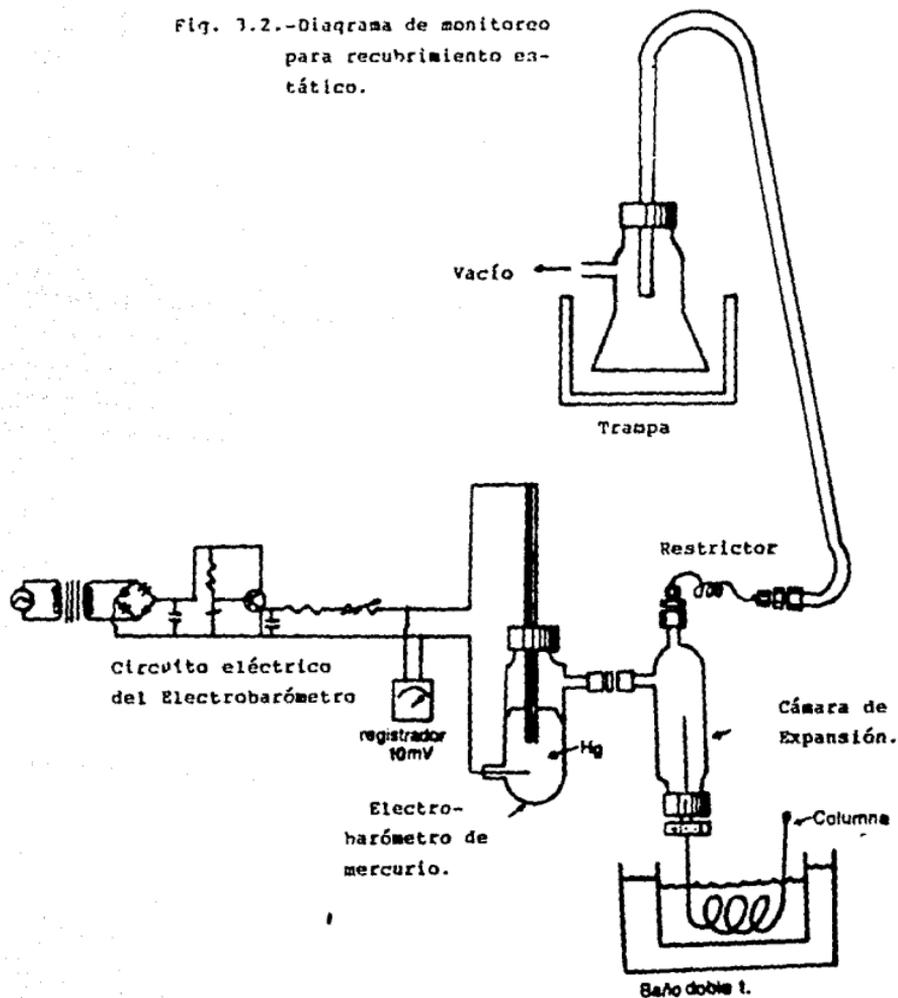


Fig. 3.1.- Diagrama de control de flujos.

Fig. 3.2.-Diagrama de monitoreo para recubrimiento estático.



3.1 Equipo, Material y Reactivos.

- Cromatógrafo HP 5880 con detector de ionización de llama.
- Cromatógrafo Varian Aerograph s-2700.
- Integrador HP 5550.
- Reglstrador Varian A-25.
- Baño Colora.
- Módulo con controles de presión y vacío.
- Catetómetro.
- Tubo de sílice fundida 195 μ de D. I. Polymicro Technologies.
- Parafina Paramex Laboratorio "DEL RIO".
- Vaselina Ponds de México, S.A. de C.V.
- Material de vidrio común en el laboratorio.
- Trampa de Oxígeno, Alltech Associates Inc.
- Trampa de humedad de malla molecular 5-A.
- Tanques a presión de nitrógeno, hidrógeno y aire, INFRA.
- Acido Nítrico, MERCK.
- Acido Clorhídrico, MERCK.
- Octametilciclotetrasiloxano (D₄), Aldrich Chem. Co. Inc.
- Peróxido de Dicumilo, G.T.
- Diclorometano, Química J.V.C.
- Isooctano, BAKER.
- Metanol, "
- n-Hexano, MERCK.
- Estándares de los hidrocarburos; C₁₀, C₁₁, C₁₂, Polyscience Co.
- Estándares de los ésteres metílicos; C₁₀, C₁₁, C₁₂, " "
- 1-Octanol, EASTMAN KODAK.
- 2,3-Butanodiol, MERCK.
- 2,6-Dimetilanilina, MERCK.
- 2,6-Dimetilfenol, Aldrich Chemical Co. Inc.
- Diciclohexilamina, Aldrich Chemical Co. Inc.
- Acido-2-etilhexanoico, Aldrich Chemical Co. Inc.
- Fase estacionaria OV-101, Alltech Associates, Inc.
- Fase estacionaria SE-54, Alltech Associates, Inc.

3.2 Etapas de Fabricación.

3.2.1 Tratamiento hidrotérmico.

Aún cuando la actividad del tubo de sílice fundida es muy pequeña, se ha demostrado que esta varía considerablemente de un lote a otro. Esto influye grandemente en la reproducibilidad y desactivación de la columna. De los métodos estudiados para obtener una superficie reproducible con una máxima hidroxilación, se encontró que el tratamiento hidrotérmico con ácido nítrico al 20% es el más adecuado.

Durante el tratamiento hidrotérmico se humedeció la columna con ácido nítrico al 20%, se sellaron los extremos y se colocó en el horno a una temperatura de 200°C durante 10 horas. Después de enfriar, se lavó con ácido nítrico al 1% y finalmente con metanol. El propósito de los lavados es remover los residuos del tratamiento ácido, ya que estos pueden causar una pobre estabilidad térmica de la fase estacionaria.

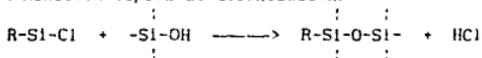
3.2.2 Deshidratación.

Es necesario un tratamiento con temperatura para eliminar el agua físicamente adsorbida sobre la superficie de la columna durante el tratamiento con ácido. La temperatura debe ser lo suficientemente alta como para eliminar la mayor cantidad de agua, pero sin llegar a provocar la deshidroxilación de la superficie. Una humedad excesiva no solo decrece la mojabilidad de la pared del tubo, sino además interfiere con las modificaciones químicas de la etapa siguiente. La deshidratación se hizo a una temperatura de 225°C durante 90 minutos con flujo de nitrógeno.

3.2.3 Desactivación.

La técnica más adecuada para lograr la desactivación y aumentar la mojabilidad de la superficie interna del tubo de sílice fundida es la modificación química(12). Esta consiste en el reemplazo de los grupos hidroxilo de la superficie por grupos éter sililo (silanización). Se realiza con reactivos que contienen grupos funcionales similares o idénticos a los de la fase estacionaria. Los reactivos sililantes más comúnmente usados son de los tipos: disilazanos, disiloxanos y clorosilanos.

Figura 3.4 Reacción típica de silanización.



La modificación química permite obtener una superficie inerte, con la energía de superficie adecuada para un buen mojado por la fase estacionaria. Rutten y colaboradores (9) hicieron un estudio de los procesos químicos involucrados en esta etapa por técnicas especializadas de RMN de ^{29}Si . Estas técnicas les permitieron encontrar las condiciones óptimas para la silanización.

En nuestro estudio la silanización se llevó a cabo haciendo pasar el equivalente en volumen de una o dos espiras del tubo empleado, del reactivo silanizante D_4 (octametilciclotetrasiloxano) con presión de nitrógeno. Una vez expulsado el silanizante se sellaron los extremos, la columna se cubrió con papel aluminio y se mantuvo en el horno durante 90 min a una temperatura de 400°C . Después de enfriar, se lavó con cloruro de metileno y se secó con flujo de nitrógeno a una temperatura de 100°C durante 30 minutos.

Para obtener un alto poder de separación en cualquier tipo de columnas capilares, es esencial depositar la fase estacionaria como una película delgada y homogénea. Esta película debe mantenerse íntegra, sin formar gotas cuando cambia la temperatura de trabajo. Tanto la naturaleza de la fase estacionaria como la superficie de la columna por recubrir contribuyen a un mejor mojado de la misma. Bartle y Novotny primero (11), y Farre-Ruis después (11), hicieron estudios acerca de la mojabilidad de columnas capilares basados en el trabajo de Zisman(8).

El método del capilar (8) se usa para construir las gráficas de Zisman las cuales se utilizan para determinar la energía de superficie crítica en tubos de diferentes materiales, lo que ayuda a determinar el grado de mojado de esas superficies por la fase estacionaria.

La tensión superficial de un líquido (γ_l) es la fuerza por unidad de longitud en la superficie líquida que se opone a la expansión del mismo líquido. En la interfase líquido-sólido existe un ángulo de contacto característico (θ), este se define como el ángulo formado por la tangente de la gota líquida y la superficie sólida. Para un líquido que moja completamente una superficie sólida el ángulo es cero. La tendencia del líquido a no mojar la superficie se incrementa con el ángulo de contacto. En este método se grafica el coseno de θ contra la tensión superficial γ_l .

La energía de superficie crítica del tubo se obtiene de las gráficas de Zisman extrapolando a cero, es decir el valor de γ_l correspondiente a $\cos \theta$ igual a 1, este valor es característico para cada sólido y se conoce como tensión superficial crítica (γ_c). En general los líquidos con $\gamma_l < \gamma_c$ mojarán completamente la superficie, y los líquidos con $\gamma_l > \gamma_c$ mojarán parcialmente.

En la tabla 3.1 se muestran los datos de tensión superficial y densidad de las mezclas de Metanol-agua usadas para el cálculo del ángulo de contacto siguiendo el método del capilar (8), basado en las siguientes fórmulas:

$$\cos(\theta) = \frac{h\rho gr}{2\gamma_1} \quad (3.1)$$

$$\gamma_c = \frac{\cos(\theta) - a}{b} \quad (3.2)$$

donde : g (Cd. Universitaria) = 977.9416 cm/seg²

h = altura del líquido en el capilar.

ρ = densidad del líquido de prueba.

r = radio del tubo capilar.

γ = tensión superficial del líquido de prueba.

TABLA 3.1
Densidad y tensión superficial de las mezclas metanol-agua

Metanol-agua	γ_1 (dina/cm)	ρ (g/ml)
100-0	22.1	0.792
90-10	24.9	0.820
75-25	28.3	0.859
70-30	29.7	0.872
60-40	32.6	0.894
50-50	34.9	0.916
25-75	45.8	0.962
20-80	51.6	0.967
10-90	58.5	0.982
0-100	72.0	1.000

3.2.4 Recubrimiento.

El principal objetivo al recubrir una columna es el de proveerla de una película uniforme de fase, necesaria para tener la mayor eficiencia posible y para no dejar superficie del tubo expuesta, lo cual nos permite lograr una buena resolución. En este trabajo se empleó el método de recubrimiento estático (6), que produce columnas de alta calidad, y donde se puede controlar libremente el espesor de película de fase estacionaria. En este método la columna se llena con la disolución de fase estacionaria, se sella uno de los extremos y el otro se conecta al sistema de vacío para evaporar el disolvente.

En este tipo de recubrimiento existen varios aspectos que deben ser tomados en cuenta. El disolvente debe ser muy volátil. Debe además ser degasificado antes de usarlo, con ello se evita la formación de burbujas dentro de la columna durante el llenado y en la etapa de evaporación, ya que estas burbujas provocarían un rompimiento de la fase estacionaria. Posteriormente se debe usar un baño con doble termostato para evitar variaciones en la temperatura durante la evaporación. Esta debe iniciarse con un vacío ligero, ya que un alto vacío puede causar que la fase estacionaria se salga de la columna.

El extremo sellado de la columna lleva un tapón de vaselina, mezclada con parafina refinada de p.f. 56-58 °C para darle una mayor consistencia. Para evitar el contacto del tapón con la disolución de fase estacionaria se coloca entre ellos un pequeño volumen de Isooctano, el cual tiene un punto de ebullición mayor que el del disolvente utilizado (cloruro de metileno). Se debe tener un monitoreo continuo del frente del disolvente para seguir paso a paso la evaporación.

La solución de fase estacionaria debe ser de preparación reciente, ésta se hace de acuerdo a la ecuación de razón de fases:

$$\beta = \frac{4df}{DI} \quad (3.3)$$

β = razón de fases.

df = espesor de película de fase estacionaria.

DI = diámetro interno de la columna.

3.2.5 Reticulación.

El reticulamiento favorece los enlaces covalentes entre las moléculas de la fase estacionaria produciendo un recubrimiento insoluble y difícil de extraer. El reticulamiento por radicales libres forma gomas insolubles que aumentan el interés por las columnas capilares. Este tipo de entrecruzamiento resulta de los enlaces C-C formados entre los grupos metilo que atacan los átomos de silicio (Si-C-C-Si).

Tanto los peróxidos, como ciertos compuestos azo y la radiación gama, se utilizan como generadores de radicales libres. En este caso a la disolución de la fase estacionaria se agregó peróxido de dicumilo como iniciador del reticulamiento. Después de evaporado el disolvente, se inició el proceso de curado colocando la columna en el cromatógrafo, conectada solamente al inyector con flujo de nitrógeno, bajo las siguientes fases de un programa de temperatura.

Temperatura inicial 40°C, tiempo inicial cero horas, velocidad del primer gradiente 5°C/min, temperatura final del primer gradiente 170°C, temperatura final del segundo gradiente 300°C, velocidad del segundo gradiente 2°C/min, tiempo final 10 horas.

3.2.6 Acondicionamiento.

Esta es la etapa final en la preparación de una columna, e involucra el lavado con diferentes disolventes, para eliminar los productos laterales provenientes principalmente del catalizador, y un posterior calentamiento con flujo de nitrógeno seco y libre de oxígeno para eliminar las fracciones volátiles residuales de la fase estacionaria.

En nuestro caso el acondicionamiento sólo se realizó con calentamiento a una temperatura un poco menor que la máxima permitida por la fase estacionaria, aplicando flujo de nitrógeno durante 12 horas. Se consideró que esta prueba era suficiente para remover cualquier residuo de bajo peso molecular presente en la columna.

3.2.7 Evaluación.

Una columna se considera adecuada cuando posee alta eficiencia, mínima actividad y alta estabilidad térmica.

La eficiencia se estima por el número de platos teóricos (N), que indican la relación entre el tiempo que el soluto permanece en la fase estacionaria y el ensanchamiento del pico cromatográfico. Para evaluar la eficiencia, se inyectó una mezcla de los hidrocarburos C₁₀, C₁₁ y C₁₂, a temperatura isotérmica. El número de platos teóricos se corrigió por el efecto de las contribuciones externas (21). El ancho de un pico se relaciona con la eficiencia por la ecuación:

$$W_{0.5}^2 = W_{\text{ext}}^2 + \frac{5.545}{N} t_r (t_r - t_m) \quad (3.4)$$

donde:

W_{0.5} = ancho del pico a la mitad de la altura.

W_{ext} = efecto externo de ensanchamiento del pico.

N = número de platos teóricos.

t_r = tiempo de retención del máximo del pico.

t_m = tiempo muerto.

La actividad mínima indica qué tan eficiente fué el recubrimiento de la columna, por la cantidad de sitios activos remanentes que pueden de alguna manera influenciar en la forma o tamaño de los picos cromatográficos. Para evaluar la desactivación se inyectó la mezcla de Grob, que está formada por sustancias de diferentes polaridades y se preparó de acuerdo a la tabla 3.2 (16).

Tabla 3.2. Componentes de la mezcla de Grob.

Sustancia	Código	mg/20ml.
Decanoato de Metilo	E10	242
Undecanoato de Metilo	E11	236
Dodecanoato de Metilo	E12	230
n-Decano	C10	172
n-Undecano	C11	174
n-Dodecano	C12	176
1-Octanol	o1	222
2,3-Butanodiol	D	380
2,6-Dimetilanilina	A	205
2,6-Dimetilfenol	P	194
Diciclohexilamina	am	204
Acido-2-etilhexanóico	S	242

A excepción del 2,3-butanodiol que se disolvió en cloroformo, los demás componentes de la mezcla fueron disueltos en hexano. De la mezcla original se omitió el nonanal (al) debido a que en columnas no-polares o poco polares no se disuelven los aldehidos, además que pudiera coeluir con el n-undecano y el 2,6-dimetilfenol. Estos compuestos pueden servir por meses si se mantienen por separado y en refrigeración. Solo los alcanos y los ésteres pueden ser colocados en el mismo vial. La mezcla concentrada se prepara colocando un ml. de cada vial y diluyendo a 10 ml, de ésta se toma un ml y se afora a 20 ml para obtener la mezcla diluida con la cual se trabaja. Esta debe ser recién preparada a partir de la concentrada antes de inyectarla, o preparar una nueva cuando aparezca un ligero color amarillo.

Algunas de estas sustancias pueden sufrir alteraciones durante el almacenamiento. Un caso específico es el 2,3-butanodiol que a menudo se encuentra como una mezcla de isómeros. El butanodiol empleado fué purificado por cromatografía de gases preparativa antes de utilizarlo.

Debido a que la mayoría de las separaciones cromatográficas en columnas capilares se realizan a altas temperaturas o con temperatura programada, la estabilidad térmica de la fase estacionaria es de gran importancia. Para que el comportamiento de una columna sea satisfactorio, la fase estacionaria debe permanecer estable como una película delgada y uniforme.

La estabilidad térmica se evaluó aplicando un programa de temperatura, después se hicieron de nueva cuenta las pruebas de eficiencia y desactivación. El programa de temperatura fué el siguiente:

Etapas	Temp. (°C)	tiempo(min)	vel. (°C/min)
1	200	5	20
2	230	15	20
3	260	15	20
4	290	15	20
5	320	15	

4 RESULTADOS

Se fabricaron cinco columnas con las características que se señalan en la tabla 4.1.

Tabla 4.1.

Columna	Fase Est.	Silanizante	Entrecruzador	Long. (m)
1	OV-101	D ₄	P. de Dicumilo	6
2	OV-101	HMDS+TMCS	P. de Dicumilo	6
3	OV-101	ninguno	P. de Dicumilo	6
4	OV-101	D ₄	ninguno	6
5	SE-54	D ₄	P.de Dicumilo	12

4.1 Energía de superficie.

Las alturas de las diferentes mezclas metanol/agua (tabla 3.1) para las diferentes etapas de tratamiento del tubo de sílice, así como el coseno del ángulo de contacto y el valor de la energía crítica de superficie (γ_c), calculados con las ecuaciones 3.1 y 3.2 se detallan en las tablas 4.2 a 4.5.

Tabla 4.2.

Cálculo de γ_c para el tubo de sílice fundida después del tratamiento hidrotérmico.

Mezcla	h(cm)	Cos θ
1	5.97	0.9995
2	6.04	0.9293
3	6.47	0.9175
4	6.25	0.8573
5	6.24	0.7995
6	6.32	0.7749
7	6.49	0.6368
8	5.9	0.5165
9	5.63	0.4415
10	5.66	0.36

Análisis de regresión: $a=1.26$; $b=-0.013$; $r=0.986$

$\gamma_c = 20$ dinas/cm

Tabla 4.3

Cálculo de γ_c para el tubo de sílice fundida una vez deshidratado.

Mezcla	h(cm)	Cos θ
1	5.6	0.9878
2	6.33	0.9739
3	6.91	0.9799
4	7.01	0.9615
5	6.89	0.8827
6	7.84	0.9613
7	8.04	0.7890
8	8.51	0.7451
9	7.28	0.5709
10	6.99	0.4535

Análisis de regresión: $a=1.268$; $b=-0.011$; $r=-0.984$

$\gamma_c=24.098$ dinas/cm

Tabla 4.4

Cálculo de γ_c del tubo de sílice fundida después de silanizar con D_4 .

Mezcla	h(cm)	Cos θ
1	5.36	0.8974
2	4.5	0.6923
3	3.32	0.4709
4	3.37	0.4622
5	2.84	0.3638
6	2.48	0.3041

Análisis de regresión: $a=1.84$; $b=-0.045$; $r=-0.97$

$\gamma_c=18.66$ dinas/cm

Tabla 4.5

Cálculo de γ_c para el tubo de sílice fundida después de silanizar con la mezcla HMDS+TMCS.

Mezcla	h(cm)	Cos θ
1	5.6	0.9376
2	5.01	0.7708
3	4.04	0.5729
4	3.35	0.4595
5	3.93	0.5035
6	2.88	0.3531

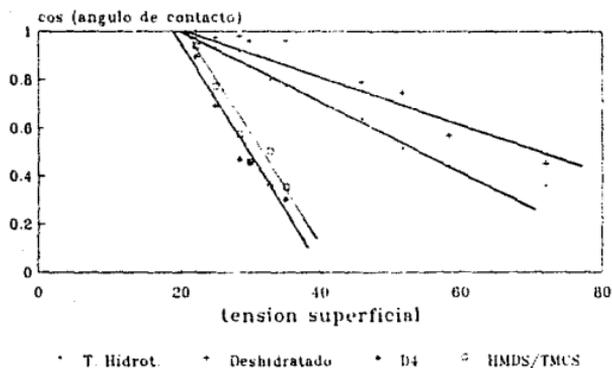
Análisis de regresión: $a=1.85$; $b=-0.043$; $r=-0.95$
 $\gamma_c=19.76$ dinas/cm.

Tabla 4.6

Valores de γ_c para las diferentes etapas del tratamiento del tubo de sílice fundida.

Etapas	γ_c (dinas/cm)
Tratamiento hidrotérmico	20.00
Deshidratación	24.10
Silanización con D_4	18.66
Silanización con HMDS+TMCS	19.76

FIGURA 4.1
 Graficos de Zisman



4.2 Eficiencia.

Los resultados de la mezcla de prueba y de la eficiencia calculada con la ecuación 3.3 se muestran en las tablas 4.7 a 4.13 y en la figura 4.2 a 4.4.

Tabla 4.7

Determinación del número de platos teóricos efectivos para la columna N•1.

#C	$W_0 \cdot s^2$	$t_r(\text{min})$	$t_r(t_r - t_0)\text{min}$
10	0.000586	0.80	0.48
11	0.00118	1.43	1.76
12	0.003	2.71	6.6

Análisis de regresión: $a=0.00045$; $b=0.000376$; $r=0.9989$

$N= 4745$; $H=0.4$ mm

$t_m= 0.20$ min.

Tabla 4.8

Cálculo de número de platos teóricos efectivos (N) para la columna N•2.

#C	$W_0 \cdot s^2$	$t_r(\text{min})$	$t_r(t_r - t_0)\text{ min}$
0	0.00127	1.99	3.5
1	0.0038	3.98	14.9
2	0.016	8.18	65.0

Análisis de regresión: $a=0.00033$; $b=0.0002$; $r=0.9999$

$N=27725$; $H=0.2$ mm

$t_m=0.23$ min.

Tabla 4.9

Cálculo de número de platos teóricos efectivos (N) para la columna N° 3.

#C	$W_0 \cdot s^2$	t_r (min)	$t_r(t_r - t_m)$ min
10	0.000258	0.71	0.333
11	0.00048	1.08	0.907
12	0.00107	1.73	2.57

Análisis de regresión: $a=0.000144$; $b=0.00036$; $r=0.9998$
 $N=15402$; $H=0.39$
 $t_m=0.24$ min.

Tabla 4.10

Cálculo del número de platos teóricos efectivos (N) para la columna N°4, antes de la prueba de estabilidad térmica.

#C	$W_0 \cdot s^2$	t_r (min)	$t_r(t_r - t_m)$ min
0	0.00035	0.88	0.536
1	0.0007	1.36	1.48
2	0.0017	2.27	4.54

Análisis de regresión: $a=0.00018$; $b=0.00033$; $r=0.9996$
 $N=16803$; $H=0.35$
 $t_m=0.27$ min.

Tabla 4.11

Cálculo del número de platos teóricos efectivos (N) para la columna N=4, después de la prueba de estabilidad térmica.

#C	$W_0 \cdot s^2$	t_r (min)	$t_r(t_r - t_m)$ min
10	0.0003	0.81	0.429
11	0.0006	1.32	1.37
12	0.0015	2.27	4.5

Análisis de regresión: $a=0.00027$; $b=0.00027$; $r=0.9982$

$N=20516$; $H=0.29$

$t_m=0.28$ min.

Tabla 4.12

Cálculo del número de platos teóricos efectivos (N) para la columna N= 5 antes de la prueba de estabilidad térmica.

#C	$W_0 \cdot s^2$	t_r (min)	$t_r(t_r - t_m)$
10	0.0015	1.59	1.87
11	0.004	2.85	6.95
12	0.012	5.42	27.15

Análisis de regresión: $a=0.0009$; $b=0.0004$; $r=0.999$

$N=13862$; $H=0.86$

$t_m=0.41$ min.

Tabla 4.13

Cálculo del número de platos teóricos efectivos (N) para la columna N° 5, después de la prueba de estabilidad térmica.

#C	$W_0 \cdot s^2$	$t_r(\text{min})$	$t_r(t_r - t_w)\text{min}$
10	0.00145	1.66	2.075
11	0.0038	2.94	7.43
12	0.0104	5.56	28.63

Análisis de regresión: $a=0.00102$; $b=0.0003$; $r=0.997$

$N=18483$; $H=0.64$

$t_w=0.41 \text{ min.}$

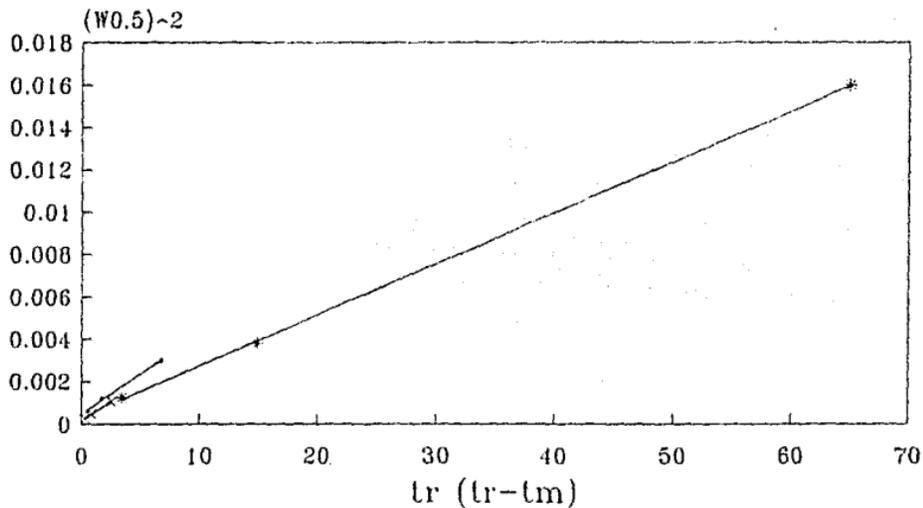
Tabla 4.14

Resultados del No. de platos teóricos y eficiencia para las diferentes columnas.

Columna	N	H (mm)
1	14745	0.40
2	27725	0.20
3	15402	0.39
4	16803	0.35
4'	20516	0.29
5	13862	0.86
5'	18483	0.64

FIGURA 4.2

Eficiencia de las columnas



• Columna No 1 * Columna No 2 x Columna No 3

FIGURA 4.3
Eficiencia, columna No 4

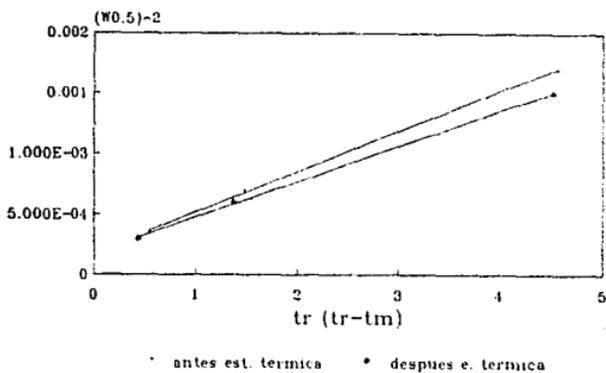
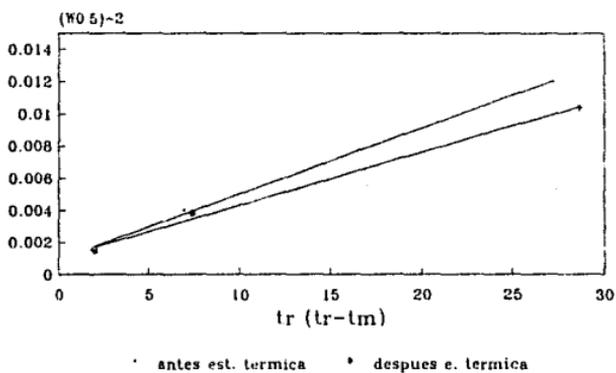


FIGURA 4.4
Eficiencia, columna No 5



4.3 Desactivación.

Las condiciones de trabajo, para todas las columnas, mediante las cuales se evaluó la desactivación, se dan a continuación.

Temperatura inicial= 40°C.

Temperatura final= 200 °C

Tiempo inicial= 0 minutos.

Tiempo final= 0 minutos.

Velocidad= 3°C/min.

Cantidad inyectada= 3µl.

Tabla 4.15

Resultados de la mezcla de Grob para la columna N° 1.

Compuesto	hexp.	hteo.	(hexp/hteo)*100	Area	A/A C12
D				43.05	2.11
ol	6.65	11.0	60.45	14.72	0.722
P	7.50	10.3	72.81	16.19	0.7944
A	6.90	8.90	77.52	17.76	0.8714
am	6.15	5.70	107.89	21.91	1.075
C12				20.38	

Fig. 4.5 Cromatograma de la mezcla de Grob para la columna N° 1

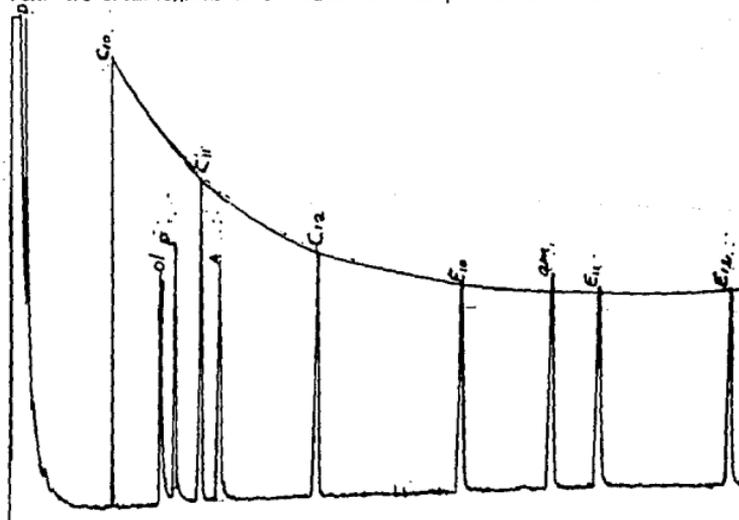


Tabla 4.16

Resultados de la mezcla de Grob para la columna N° 2.

Compuesto	hexp (cm)	hteo (cm)	(hexp/hteo)*100	Area	A/A C12
D				7.22	0.1427
ol	3.1	12.2	25.40		
P	7.6	11.5	66.08	37.82	0.7477
A	7.0	10.5	66.66	42.69	0.8440
aa	8.3	7.5	110.66	56.85	1.124
C12				50.58	

Fig. 4.6 Cromatograma de la mezcla de Grob para la columna N°2

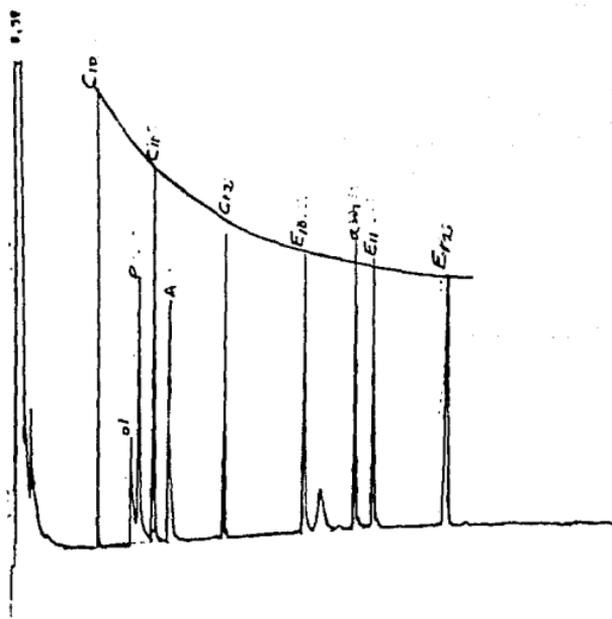


Tabla 4.17

Resultados de la mezcla de Grob para la columna N° 4, antes de la prueba de estabilidad térmica.

Compuesto	h _{exp} (cm)	h _{teo} (cm)	(h _{exp} /h _{teo})*100	Area	A/A C12
D				11.82	0.73
ol	4.0	4.1	97.56	15.11	0.9332
P	3.7	3.9	94.87	14.76	0.9116
A	3.4	3.45	98.55	16.05	0.9913
S	1.1	3.3	33.33		
am	0.8	2.5	32.0		
C12				16.19	

Fig. 4.7 Cromatograma de la mezcla de Grob para la columna N°4 antes de aplicar la prueba de estabilidad térmica.

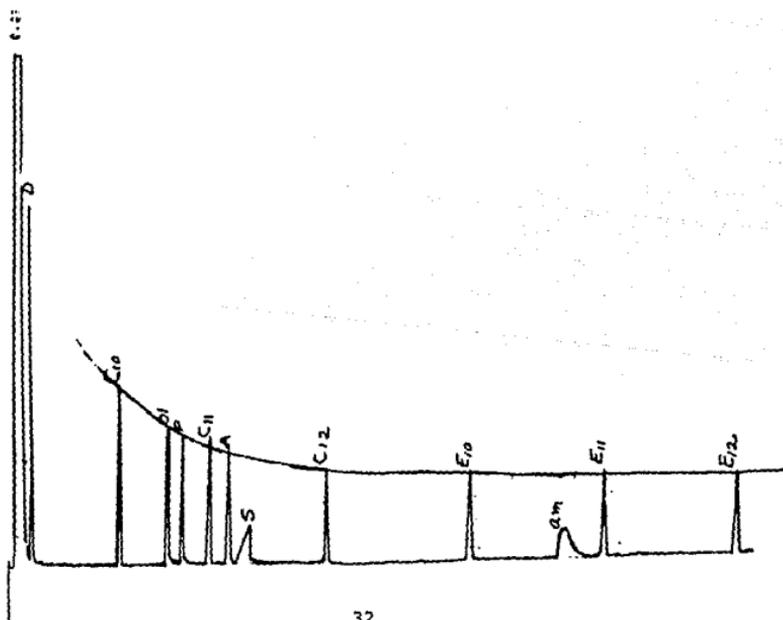


Tabla 4.18

Resultados de la mezcla de Grob para la columna N. 4, después de la prueba de estabilidad térmica.

Compuesto	hexp (cm)	hteo (cm)	(hexp/hteo)*100	Area	A/A C12
D				14.67	0.7076
ol	1.7	2.8	60.71		
P	1.75	2.7	64.81	15.61	0.7530
A	2.2	2.7	81.84	18.26	0.8808
S	0.7	2.7	25.92		
am	2.2	2.9	75.86	14.30	0.6898
C12				20.73	

fig.4.8 Cromatograma de la columna N.4 después de aplicar la prueba de estabilidad térmica.

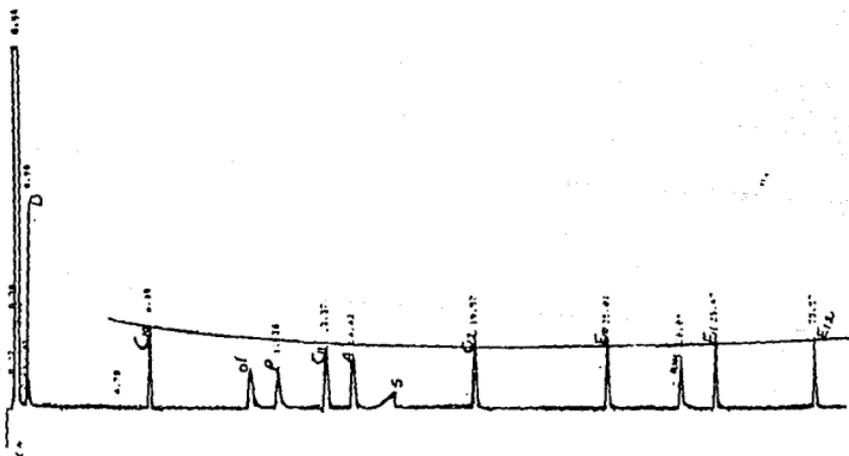


Tabla 4.19

Resultados de la mezcla de Grob para la columna N. 5, antes de la prueba de estabilidad térmica.

Compuesto	hexp (cm)	hteo (cm)	(hexp/hteo)*100	Area	A/A C12
D				22.7	0.5108
ol	11.6	12.4	93.54	42.46	0.9554
P	10.3	11.9	86.55	39.90	0.8978
S	3.5	11.5	30.45		
A	10.7	11.2	95.53	44.51	1.0015
am	7.5	10.1	74.25		
C12				44.44	

Fig. 4.9 Cromatograma de la mezcla de Grob para la columna N.5 antes de aplicar la prueba de estabilidad térmica.

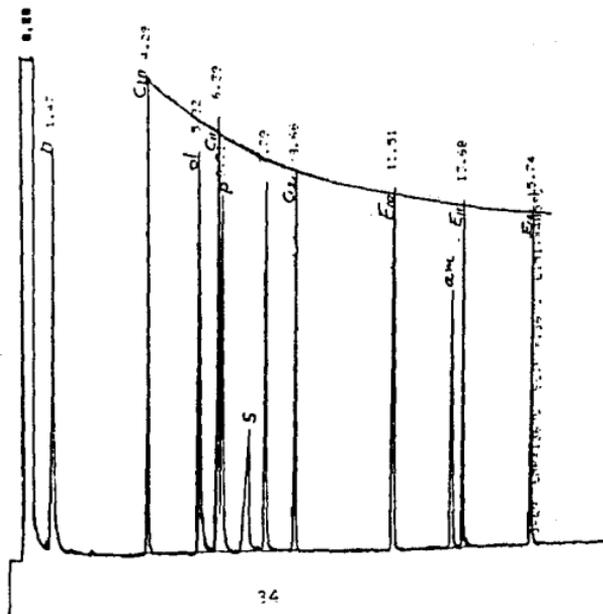
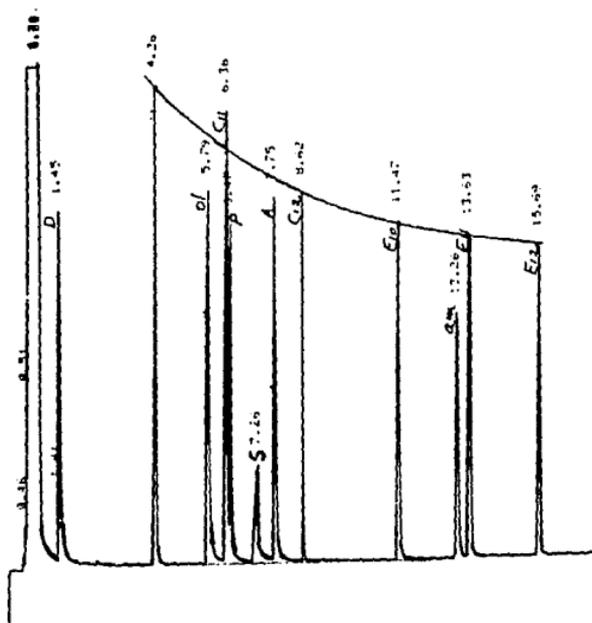


Tabla 4.20

Resultados de la mezcla de Grob para la columna N° 5, después de la prueba de estabilidad térmica.

Compuesto	h _{exp} (cm)	h _{teo} (cm)	(h _{exp} /h _{teo})*100	Area	A/A C12
D				28.22	0.65
ol	10.8	12.2	88.52	44.14	1.014
P	9.8	11.8	83.05	39.85	0.91
S	2.9	11.3	25.66	18.67	0.43
A	10.5	11.0	95.45	42.86	0.98
am	7.0	9.3	75.26	32.16	0.74
C12				43.50	

Fig. 4.10 Cromatograma de la mezcla de Grob después de aplicar la prueba de estabilidad térmica.



4.4 Estabilidad térmica.

Esta prueba se aplicó sobre las dos columnas que demostraron menor grado de activación. Una de ellas (la N° 4) carecía de agente reticulador; a la otra (N° 5) se le añadió peróxido de dicumilo como agente reticulador. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.21, y en las figuras 4.11 y 4.12.

Tabla 4. 21

Intensidad de la señal de fondo para las columnas 4 y 5. El valor se midió cuando la línea base se estabilizaba a la temperatura indicada.

Columna	OV-101(4)	SE-54(5)
Temperatura °C	Area	Area
200	276.50	188.39
230	258.14	201.14
260	276.01	230.5
290	301.55	331.17
320	350.60	753.00

Fig. 4.11

Línea base obtenida durante el programa de temperatura
de la prueba de estabilidad térmica.

a) col. #4

b) col. #5

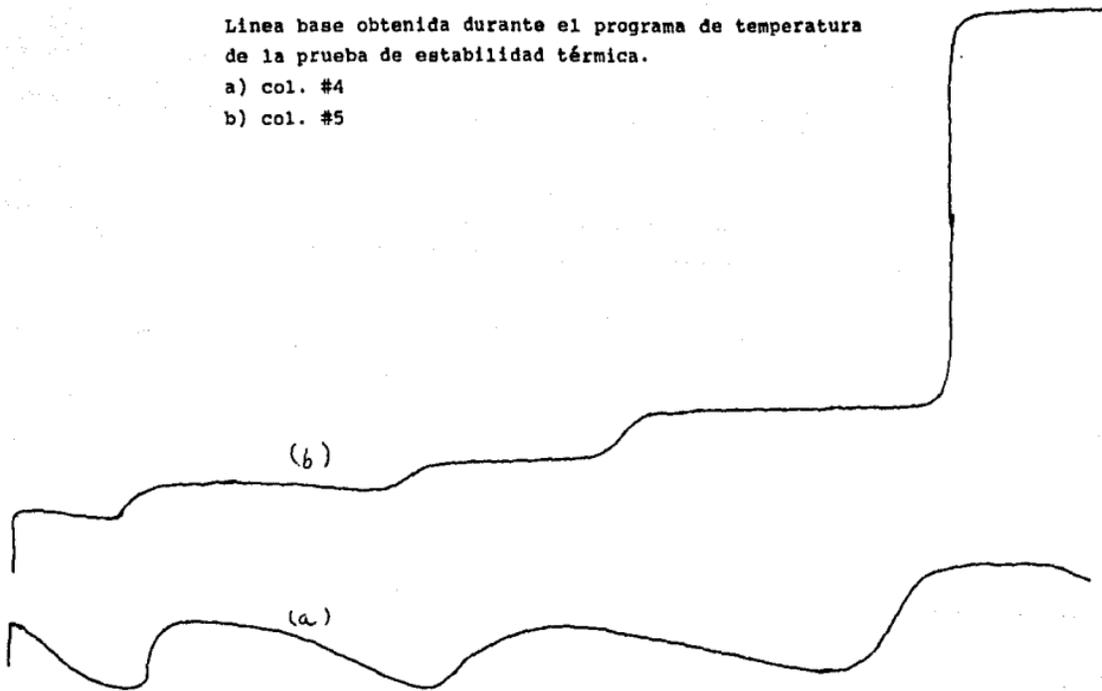
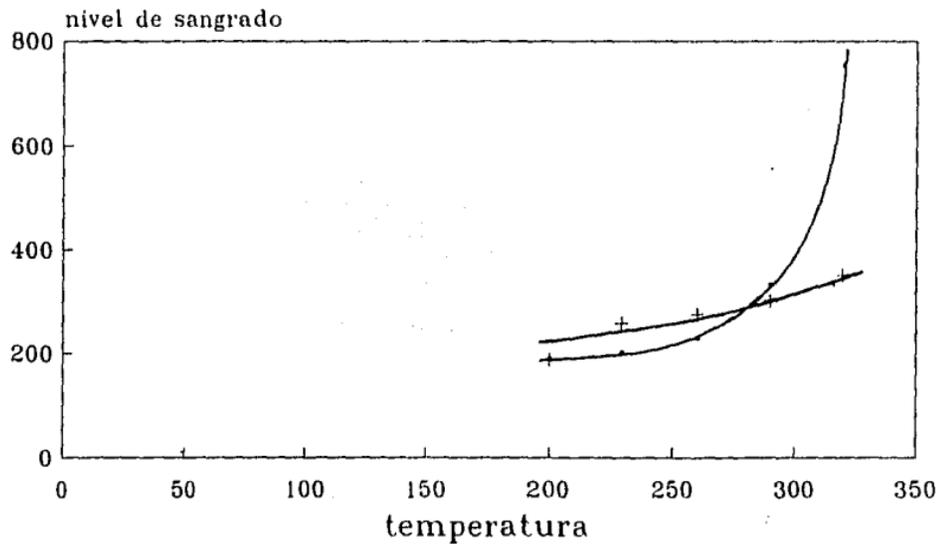


FIGURA 4.12
Sangrado de las diferentes fases



• col. 5, SE-54 + col. 4, OV-101

5 DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 Tensión Superficial.

La relación observada experimentalmente entre el coseno del ángulo de contacto y la energía de superficie de las diferentes mezclas metanol/agua demostró seguir, dentro de la incertidumbre experimental, la dependencia lineal propuesta en la teoría de Zisman.

La energía de superficie de las fases estacionarias tipo metil-silicón es para OV-101 de 20.4 dinas/cm, y para SE-54 de 21.5 dinas/cm. De los datos de la tabla 4.6 se observa que los valores de γ_c , excepto para el tubo deshidratado, son menores que el valor de γ_i de las fases estacionarias. En consecuencia debe esperarse un mojado parcial del tubo de sílice fundida en la etapa de recubrimiento por estas fases.

5.2 Silanización.

Las columnas # 1, 4 y 5 se silanizaron con D₄, la columna #2, con la mezcla HMDS+TMCS. De acuerdo a los resultados de desactivación, las columnas silanizadas con D₄ presentan mejores resultados. El modelo de Grob para la desactivación propone que el 1-octanol es un indicador sensible de la adsorción. Comparando el porcentaje de elución del 1-octanol en todas las columnas, se observa que la columna # 2, silanizada con la mezcla, presenta un menor porcentaje de elución para este compuesto.

5.3 Eficiencia.

La eficiencia de una columna indica la relación entre el tiempo que el soluto permanece dentro de la misma y el ensanchamiento del pico cromatográfico. Su cálculo da también un indicio de la homogeneidad del recubrimiento por la fase estacionaria.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

De acuerdo a la tabla 4.14, los valores obtenidos para las columnas recubiertas con la fase OV-101 se aproximan a los valores promedios observados por Freeman (4).

Sin embargo, la columna silanizada con la mezcla HMDS+TMCS mostró mayor eficiencia que las otras. Esto coincide con los resultados observados en la prueba de energía de superficie.

La columna # 5 recubierta con la fase SE-54, muestra una eficiencia baja, debido a que la γ_1 de la misma es mayor que la γ_c del tubo silanizado, dando por consecuencia un mojado menos homogéneo.

5.4 Desactivación.

La relación de la altura de los picos cromatográficos contra la altura esperada de los solutos inertes, es una manera fácil de evaluar la adsorción. Cubre todos los tipos de distorsión de los picos, como son: ensanchamiento, coleo, adsorción irreversible o degradación.

En las columnas 1 y 2, la ciclohexilamina (am) eluye más que el 1-octanol (ol), lo cual indica que las columnas están libres de sitios ácidos, por consecuencia poseen propiedades básicas, esto se refuerza con la ausencia total del pico del ácido-2-etilhexanoico (S).

La columna # 4 presenta dos pruebas de desactivación, antes y después de ser sometida a la prueba de estabilidad térmica. Esta columna no fué reticulada. Antes de dicha prueba, presenta un carácter neutro, pues el porcentaje de elución del ácido y de la amina son casi los mismos, además existe poca adsorción ya que el 1-octanol eluye casi por completo.

Después de dicha prueba, la elución de los componentes de la mezcla de Grob es menor, la columna muestra sitios básicos activos ya que el porcentaje eluido del ácido (S) es menor y el de la amina (am) aumentó.

La columna # 5 (reticulada), también aporta dos pruebas de desactivación. Los datos obtenidos antes y después de ser sometida a la prueba de estabilidad térmica, no sufren cambio apreciable ni en adsorción, ni en las propiedades ácido/base. con la temperatura aplicada se expulsaron los residuos no deseados dentro de la columna y quizá sea indicativo de que el entrecruzado químico aún no se había efectuado por completo.

5.5 Estabilidad Térmica.

Se sometieron a esta prueba las columnas 4 y 5 para comparar el comportamiento de una fase estacionaria no reticulada (col. 4) y de una reticulada (col. 5).

Los resultados de la tabla 4.21 y de las figuras 4.9 a 4.11 muestran que la columna # 4 estuvo expulsando residuos de la fase estacionaria, y que éstos eran de diferentes pesos moleculares, tal como lo indica la inestabilidad de la línea base en las diferentes regiones isotérmicas.

La columna # 5, presenta un sangrado homogéneo, indicando la ausencia de residuos. Pero al llegar a una temperatura límite, la señal se disparó, mostrando que por encima de esta temperatura la pérdida por evaporación de la fase estacionaria era excesiva.

5.6 Reticulamiento.

A todas las columnas excepto la # 4, se les agregó peróxido de dicumilo como iniciador del reticulamiento.

De las pruebas de eficiencia se observa que dicho agente no tiene influencia considerable sobre las columnas.

Donde se aprecian diferencias mayores, es en las pruebas de desactivación y estabilidad térmica, anteriormente señaladas.

6 CONCLUSIONES

De los resultados de tensión superficial (γ_c) obtenidos, el valor de ésta para el tubo silanizado con la mezcla de HMDS+TMCS es mayor que el de el tubo silanizado con D4, lo cual dará un mejor mojado del tubo por la fase estacionaria

La diferencia en cuanto a la desactivación por silanización, puede ser causada porque los productos de reacción de los silanizantes son de diferentes tamaños, el D4 es mayor que los productos de la mezcla HMDS+TMCS, por lo que además de formar los puentes de siloxano con los silanoles de la superficie del tubo de sílice, puede, por impedimento estérico, cubrir una mayor superficie dando de esa manera mejor desactivación. Con esto impide que los solutos puedan ser adsorbidos por los sitios activos que permanecen aún después de la silanización.

La columna # 3, que no se silanizó, presenta una superficie tan activa, que solo eluyen los hidrocarburos de la mezcla de Grob. Con lo cual se puede concluir, que la silanización es indispensable para desactivar las columnas.

En lo que corresponde a la eficiencia, de la tabla 4.14 se observa que la columna # 2 tiene una mejor eficiencia, lo cual da un indicio de que fue mejor recubierta por la fase estacionaria, esto coincide con la prueba de tensión superficial donde su valor de γ_c fué el mayor.

En la tabla citada anteriormente se dan los valores de N y H. Para las columnas 4 y 5, el primer valor se obtiene antes de someterlas a la prueba de estabilidad térmica, en ambas columnas se observa que los valores obtenidos después de dicha prueba son mayores, lo que indica que con la prueba aplicada se eliminarán residuos de fase estacionaria y probablemente a que el reticulado químico, en la columna # 5, se llevó a cabo por completo.

Por lo que se refiere a la prueba de desactivación, se puede concluir que todas las columnas quedarán con propiedades básicas.

En la columna # 4, el aumento en la adsorción después de aplicar la prueba de estabilidad térmica, indica que se perdió parte de la fase estacionaria, dejando una película más delgada y en consecuencia una actividad mayor.

La columna # 5, que si fué reticulada, sufre poca variación en sus resultados. Esta recubierta con la fase SE-54 que tiene grupos vinilo, lo que garantiza un mejor reticulado evitando que se pierda fase en forma apreciable, sin modificar la estructura de la misma.

Con los resultados obtenidos en la prueba de estabilidad térmica se puede concluir, que el reticulado de las fases estacionarias es indispensable.

Para elaborar una "buena" columna capilar, no polar, se deben realizar las siguientes etapas:

- a) Tratamiento hidrotérmico con ácido nítrico al 20% con temperatura de 200 °C por espacio de 1.5 horas.
- b) Después de enjuagarla con ácido nítrico al 1% y con metanol, se deshidrata en atmósfera de nitrógeno a 225°C durante 1.5 horas.
- c) Se recomienda una desactivación por silanización, para ello se selecciona un reactivo que tenga grupos químicos lo más parecido posible a los de la fase estacionaria con la cual se va a recubrir. Para lo cual, se pasa un volumen de silanizante equivalente al de una espira de la columna, se sellan los extremos, se introduce en el horno a 400°C por 1.5 horas y después de enfriar se lava con cloruro de metileno, a continuación se seca con flujo de nitrógeno a una temperatura de 100°C durante 30 minutos.

d) El método de recubrimiento más recomendado por la literatura, es el estático, éste se aplicó en este trabajo.

e) El reticulamiento aumenta la estabilidad térmica de las columnas así como su tiempo de vida media. Este se debe llevar a cabo agregando peróxido de dicumilo en un 2% respecto a la cantidad total de fase estacionaria utilizada. Una vez evaporado el disolvente en el cual se disolvieron ambos (fase y reticulador), se aplica el siguiente programa de temperatura para lograr el reticulamiento.

Temperatura inicial 40°C , tiempo inicial 0 horas, velocidad del primer gradiente $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, temperatura final del primer gradiente 170°C , temperatura final del segundo gradiente 300°C , velocidad del segundo gradiente $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$, tiempo final 10 horas.

7 BIBLIOGRAFIA

- 1.- Basic Gas Chromatography
H.M.McNair and E. J. Bonelli
August, 1968, U.S. A.
- 2.- Gas Chromatography with Glass Capillary Columns
Walter Jennings
Second Edition, University of California, Davis Cal.
Academic Press, 1980.
- 3.- Capillary Gas Chromatography
Dr. Harold M. McNair
Chemistry Department Virginia Tech.
Blacksburg, April, 1985.
- 4.- High Resolution Gas Chromatography
R.R.Freeman,
Second Edition
- 5.- An Introduction to Separation Science
Snyder, Karger and Horvath
John Wiley and Sons, Inc.
New York, 1973.
- 6.- M.W. Ogden and H.M.McNair
J.H.R.C. & C.C., vol. 8, July 1985.
- 7.- M.J. Hartigan and L.S. Ettre
J. of Chromatography, 119 (1976) 187-206.
- 8.- M.W. Ogden and H.M. McNair
J. of Chromatography, 354 (1986) 7-18.
- 9.- Rutten, Haan, Van de Ven Cruchten and Rijkx
J.H.R.C. & C.C.vol. 8, October 1985.
- 10.- A. Venema and J.T. Sukkel
J.H.R.C. & C.C. vol. 8, November 1985.
- 11.- K.D. Bartle, B.W. Wright, M.L. Lee
Chromatographia, vol. 14, #7, July 1986.
- 12.- M.L. Lee and B.W. Wright
J. of Chromatography, 184 (1980) 235-312.

- 13.- G. Rutten, A. van de Ven, J. de Jaan, L. van de Ven and J. Rijks
J.H.R.C. & C.C., vol. 7, Nov. 1984.
- 14.- Silvia L. Gelover Santiago
Estudio de Fases Estacionarias en Cromatografía de Gases.
Tesis de Maestría, Fac. de Química, U.N.A.M. 1988.
- 15.- Francisco Rojo Callejas
Proyecto de Investigación de C.C. para C.G.
U.N.A.M., México, D.F. 1986.
- 16.- K. Grob and G. Grob and K. Grob Jr.
J. of Chromatography, 219 (1981) 13-20.
- 17.- Brian L. Goodwin
J. of Chromatography, 172 (1979) 31-36.
- 18.- Wright, Peaden and Lee
J. of Chromatography, 248 (1982) 17-34.
- 19.- O. Etler and G. Vigh
J.H.R.C. & C.C., vol. 8, January 1985.
- 20.- G. Alexander
Chromatographia, vol. 13 No. 10, October 1980.
- 21.- Francisco Rojo Callejas
Modelo para la evaluación de las Contribuciones Externas
Tesis de Maestría, Fac. de Química, U.N.A.M., 1980.
- 22.- K. Grob, Jr.; G. Grob and K. Grob.
J. of Chromatography, 156 (1978) 1-20.
- 23.- LI YU-FU, XIA YONG-XIA, XU DONG-PENG AND LI GUANG-LIANG
J. of Polymer Science: Polymer Chem Edition
Vol. 19, (1981) 3069-3079.
- 24.- K. Grob, G. Grob and K. Grob Jr.
J. of Chromatography, 211 (1981) 243-246.
- 25.- M.J.E. Golay and V. J. Coates.
Gas Chromatography (1975 Lansing Symposium),
Academic Press, N. Y., 1985, pp. 1-13
H.J. Noebels and I.S. Fagerson (Editors).