

Resumen

Este proyecto tiene como objetivo diseñar un elemento que permita conectar un detector de infrarrojos a un aparato cromatográfico en uso actualmente en el laboratorio de la universidad.

Para ello se estudiarán los conceptos involucrados en los procesos de cromatografía, incluyendo sus funciones, los detectores que se usan en la experimentación actual, centrándose principalmente en el IR, y los materiales utilizados en estas prácticas.

Posteriormente, se escogerán ciertos elementos para formar finalmente una celda de IR capaz de acoplarse al sistema completo. Una vez obtenido un montaje que cumpla con los objetivos propuestos, se procederá a probar el resultado con unos procesos de experimentación sobre muestras conocidas, para determinar si la sensibilidad y resolución del montaje son suficientes para aplicarlos en análisis habitualmente.

Los resultados obtenidos determinarán la viabilidad de este método en diferentes situaciones, ya que el objetivo de la experimentación es tener diferentes enfoques, por ejemplo, se probará con polímeros de alto peso, de bajo peso, mezclas de polímeros o un copolímero.

La utilización complementaria de diversos equipos de detección y medición permite estudiar los análisis desde diferentes puntos de vista, sin embargo, suponen una complicación en el montaje.

Se comprueba que si el espacio de paso por la celda tiene una anchura de menos de 2 mm, el funcionamiento es más adecuado para aplicar la espectrografía.

Se ha hecho un prototipo funcional, que ha permitido realizar una experimentación que, debido al uso de cloroformo como disolvente, otorga resultados interesantes en las bandas de IR entre 1600 y 2200 cm^{-1} , esta región es adecuada para el estudio de los polímeros que se analizan, como el ácido poliláctico o el PMMA. Además estas señales obtenidas presentan la suficiente intensidad como para realizar un cromatograma HPLC-GPC.

Sumario

RESUMEN	1
SUMARIO	2
1. GLOSARIO	5
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1. Motivación del proyecto	7
2.2. Alcance del proyecto	7
2.3. Objetivos	7
3. CONCEPTOS BÁSICOS	9
3.1. HPLC y detectores para HPLC.....	9
3.1.1. Conceptos de cromatografía	9
3.1.2. Fase estacionaria	10
3.1.3. Propiedades de la fase estacionaria.....	10
3.1.4. Tratamientos al soporte	11
3.1.5. Fase móvil y tipo de cromatografías.....	11
3.1.6. Detectores HPLC.....	12
3.2. Detectores de IR.....	14
3.2.1. Tipo de detector IR	14
3.2.2. Detección continua off-line	15
3.2.3. Detección online	15
3.2.4. Funcionamiento del detector	15
3.2.5. Espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier	16
3.3. Aspectos técnicos de los detectores espectroscópicos.....	18
3.3.1. Ley de Lambert-Beer	18
3.3.2. Camino óptico.....	19
3.3.3. Manejo de la muestra	19
3.3.4. Fuente de radiación	19
3.3.5. Otros elementos	20
3.3.6. Obtención de datos.....	20
3.4. Polímeros y GPC.....	21
4. DISEÑO	25
4.1. Celda.....	25
4.1.1. Soporte	25
4.1.2. Ventanas y separador.....	26



4.1.3.	Simulaciones y cálculos previos	27
4.2.	Sistema de conducción de la fase móvil.....	33
4.2.1.	Inyección y distribución de la muestra	33
4.2.2.	Conexiones adicionales	34
4.2.3.	Disolvente	34
4.3.	Adaptación de la ley de Lambert-Beer	36
4.3.1.	Camino óptico.....	36
4.3.2.	Concentración.....	36
4.4.	Adquisición de datos	40
4.4.1.	Seguimiento de control	40
4.4.2.	Estudio Analítico	41
4.5.	Tratamiento y representación de datos	42
4.5.1.	Detector de IR.....	42
4.5.2.	Tratamiento de datos.....	42
4.5.3.	Representación gráfica.....	43
5.	RESULTADOS	44
5.1.	Planos	44
5.2.	Montaje.....	52
6.	ENSAYOS	60
6.1.	Preparación para la cromatografía	60
6.2.	GPC Polímero de muestra: Poliláctico.....	62
6.2.1.	Poliláctico de referencia.....	62
6.2.2.	Polilácticos de diferente peso molecular.....	64
6.2.3.	Poliláctico degradado.....	66
6.3.	GPC de otros polímeros.....	69
6.3.1.	Acetato de celulosa	69
6.3.2.	Polimetilmetacrilato.....	71
6.3.3.	Poliestireno	71
6.3.4.	Copolímero SAN.....	72
6.4.	Pruebas individuales	73
7.	ESTUDIO ECONÓMICO	76
7.1.	Coste material	76
7.2.	Coste humano.....	77
7.2.1.	Planificación.....	78
7.3.	Coste de agua y electricidad.....	79
7.4.	Coste total	80

8. ESTUDIO AMBIENTAL	81
8.1. Tratamiento de residuos.....	81
8.2. Emisión de compuestos orgánicos volátiles.....	81
8.3. Gasto ambiental.....	82
CONCLUSIONES	83
AGRADECIMIENTOS	84
BIBLIOGRAFÍA	85



1. Glosario

A: Absorbancia

a: Coeficiente de absorptividad

AFC: Cromatografía por afinidad

c: Concentración

CA: Acetato de celulosa

COV: Compuestos orgánicos volátiles

CSP: Fase estacionaria quiral

DEHP: Di(2-etilhexil)ftalato

GPC: Cromatografía de permeación en gel

HIC: Cromatografía por interacción hidrofóbica

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia

IEC: Cromatografía de intercambio iónico

IR: Infrarrojos

I: Camino óptico

NPLC: Cromatografía líquida de fase normal

PEEK: Polieterecetona

PMMA: Polimetilmetacrilato

PS: Poliestireno

RPLC: Cromatografía líquida de fase inversa

SAN: Copolímero estireno y acrilonitrilo

SEC: Cromatografía de exclusión por tamaño

2. Introducción

2.1. Motivación del proyecto

La razón de ser de este proyecto es la de conseguir un método de análisis de las propiedades de polímeros, siendo estos actualmente estudiados mediante la cromatografía HPLC.

En el estado actual, la valoración de los polímeros permite diferenciar la concentración presente según su peso molecular, pero no la estructura específica que estos presentan. Para poder obtener esta información, se plantea como alternativa la inclusión de un detector de IR.

2.2. Alcance del proyecto

Este proyecto se centrará en el diseño de una pieza que permita añadir el paso por un detector de IR al montaje actual del proceso de cromatografía. De ser posible, se construiría un prototipo del resultado final, para poder ser utilizado en el laboratorio. En este caso se procedería a realizar ensayos con muestras reales de mezclas de polímeros obtenidos por degradación o síntesis biológica.

Aunque se pueda considerar obtener determinadas características de diseño de aplicación general, en principio se trata de un estudio específico para la situación del laboratorio de las instalaciones presentes en la universidad, por lo que se particulariza el estudio a las dimensiones y materiales disponibles en ella. En este sentido también hay que considerar que la aplicación a la que se destinará

2.3. Objetivos

El objetivo general de este proyecto es diseñar un sistema que permita establecer un detector de IR en el proceso cromatográfico.

Para ello, se tendrán en cuenta ciertos objetivos particulares, incluyendo el diseño tecnológico del detector, definiendo características dimensionales y de sus materiales.

En este sentido también se pretende estudiar el comportamiento del fluido, que determinará también las características del montaje que permitan una circulación correcta de éste.

Se construirá además un prototipo de la celda de detección en el infrarrojo utilizando ventanas de NaCl y las piezas que ya se utilizan en espectroscopía infrarroja y HPLC.

Por otro lado, se intentará llevar a cabo ensayos para validar los resultados, incluyendo estos un tratamiento de datos que permita la valoración de la estructura de los polímeros. En este sentido se cromatografiarán polímeros como el ácido poliláctico, el PMMA, el PS y el copolímero SAN. Todos ellos se estudiarán mediante la técnica cromatográfica de GPC.

3. Conceptos básicos

3.1. HPLC y detectores para HPLC

Muchas áreas como la farmacéutica o la biotecnológica han establecido en los últimos años la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés, High-Performance Liquid Chromatography) como método para llevar a cabo la separación, purificación y detección de productos químicos. El desarrollo de esta técnica ha dado lugar a la combinación de columnas de alta eficiencia con instrumentación precisa, haciendo del proceso una buena herramienta de estudio.

3.1.1. Conceptos de cromatografía

Resulta básico establecer, para entender el proceso cromatográfico, los conceptos de retención y selectividad. Los principios de la separación de componentes proceden de la migración a diferentes velocidades por el lecho cromatográfico de diferentes compuestos presentes en una mezcla. Este fenómeno es causado por la diferencia en la retención que sufren ciertas sustancias respecto a otras en un medio. Quedando separadas entre una fase móvil y una estacionaria. Estas fases, según su estado, determinan la clasificación de la cromatografía, siendo principalmente consideradas la fase móvil líquida sobre el soporte o lecho sólido.

La velocidad de migración en la que se basa el proceso puede venir caracterizada por una secuencia de situaciones de equilibrio, que se caracterizan por unas ecuaciones de velocidad que definen cuándo las especies atraviesan la zona de retención ^[1].

En definitiva, la retención de productos se basa en el equilibrio entre las dos fases del proceso. Por otro lado la fuerza de esta retención viene de dos factores principales, la adsorción de los componentes del analito que compiten en la fase sólida y la solubilidad de los mismos en la fase móvil.

La relación entre la retención y la composición de una mezcla no siempre se comporta de la manera ideal, en determinados casos es requerido un estudio empírico del comportamiento del proceso.

3.1.2. Fase estacionaria

Una parte importante del método HPLC es la estructura química de cada parte. Por ejemplo, se ha de tener en cuenta que gran parte de las características de la fase estacionaria provienen del material usado como soporte, ya sea este el usado directamente como adsorbente o se someta a un tratamiento químico superficial para obtener este efecto.

En el contexto de HPLC, los principales materiales utilizados como soportes son por ejemplo el gel de sílice, un sólido de forma granular y poroso de dióxido de silicio, la alúmina, óxido de aluminio que presenta una estructura cristalina hexagonal, carbono grafitizado poroso o la celulosa. Algunos procesos más específicos pueden utilizar materiales menos extendidos, sin embargo, para la mayoría de casos, los materiales más utilizados son los mencionados.

3.1.3. Propiedades de la fase estacionaria

Estos materiales se estudian según unos parámetros, tanto físicos como químicos, que sirven para poder conocer las propiedades que dará ese soporte.

En lo que a propiedades físicas respecta, se encuentran los siguientes factores:

Porosidad

Tamaño de poro

Tamaño y rigidez de partícula

Forma de la partícula

Estas cuatro propiedades son las características físicas más interesantes, a pesar de que el efecto de la forma de la partícula es relativamente reducido, en comparación con los otros datos.

Las propiedades químicas de un soporte con un mayor interés en el diseño de la cromatografía son:

Polaridad

Comportamiento ácido-base

Estabilidad ante el disolvente y pH extremos

Posibilidad de modificación por reacciones químicas

Con esto se tiene ya la información necesaria para conocer las propiedades del soporte utilizado en la separación.

3.1.4. Tratamientos al soporte

Solo en determinados casos, como se ha comentado, se utiliza el material del soporte directamente como fase estacionaria. En general, se procede primero a un tratamiento para modificar las propiedades de la superficie. Se utilizan tres métodos de modificación.

Unión química de ligandos, que se realiza sobre los grupos reactivos de la superficie del soporte.

Deposición de una capa polimérica, que pasa a ser la fase estacionaria interactuando con el analito. Según las propiedades de esta capa, densidad, espesor y estructura principalmente, el material del soporte puede o no participar en los fenómenos de interacción con el analito.

Por último, se puede utilizar una combinación de estos dos métodos, con polímeros fijados químicamente a la superficie.

La elección del tratamiento y los agentes utilizados en el mismo se determina por el tipo de cromatografía que se llevará a cabo. En este sentido la modificación del material se enfoca a las características de la retención de la fase estacionaria que se obtiene. Para esto se consideran los parámetros siguientes:

Estructura química del nuevo centro activo

Cantidad de modificación (cantidad de espacios cubiertos)

Inmovilización de los enlaces

Longitud, flexibilidad y polaridad del enlace entre el grupo funcional y el soporte

3.1.5. Fase móvil y tipo de cromatografías

No sólo las propiedades de la fase estacionaria son importante, la fase móvil, así como el analito enfrente de la fase estacionaria permiten clasificar las cromatografías. Se presenta

por ejemplo el caso NPLC (Normal-Phase Liquid Chromatography), que opera una fase móvil de baja polaridad con una estacionaria polar. En este caso, la retención es dominada por la interacción entre los grupos polares del analito y los de la fase estacionaria.

También se tiene la RPLC (Reversed-Phase Liquid Chromatography), con una superficie no polar interactuando con una fase móvil de una mezcla de agua y productos orgánicos, muy extendida para analitos que se disuelven en esta fase móvil. En este caso la retención se debe tanto a la interacción de la superficie no polar con los componentes no polares del analito como a l efecto hidrofóbico. La selectividad de este método se basa en la composición de lis grupos más apolares, como es de esperar, siendo la NPLC más selectiva con grupos polares.

Otro caso es la IEC (Ion-Exchange Chromatography) utilizado para separar compuestos con cargas, iones que interaccionan con los grupos cargados de la superficie. La fase móvil utilizada suele ser una mezcla de agua con sustancias orgánicas o soluciones amortiguadoras.

Como ya se ha dicho, ciertos casos específicos de cromatografía pueden requerir fases estacionarias específicas, ejemplos de estas cromatografías son la AFC (Affinity Chromatography), CSPs (Chiral Stationary Phases), HIC (Hydrophobic-Interaction Chromatography) o SEC (Size Exclusive Chromatography)

Este último método de separación (SEC) discrimina las moléculas del analito en función de su tamaño, y es utilizado principalmente en la separación de polímeros. Por ello, es el método de interés en el proceso que se estudia en este proyecto, ya que es el adecuado al trabajar con las sustancias poliméricas que se estudian.

En este caso, la retención no está presente, sino que dependiendo del tamaño y geometría de la molécula la exclusión de la misma presenta una selectividad, debido a la diferencia de accesibilidad de los poros para éstas. De esta manera, las moléculas de mayor tamaño atraviesan primero la fase estacionaria, dejando de alguna manera retenidas durante más tiempo a las moléculas más pequeñas.

Este proceso de separación, también llamado en ocasiones GPC (Gel-Permeation Chromatography), se verá en mayor detalle en un apartado posterior, así como las propiedades de los polímeros que lo hacen tan adecuado para su separación.

3.1.6. Detectores HPLC

Posterior a esta separación, se encuentran diferentes procesos de detección, utilizados para establecer las propiedades, ya sean cuantitativas o cualitativas, del analito.

A pesar de haber una gran variedad de procesos de detección y valoración aplicables a la cromatografía líquida, en general presentaban en el pasado un importante problema de sensibilidad, especialmente en comparación con la cromatografía de gases. Sin embargo, el desarrollo a lo largo de los años de estas técnicas ha resultado en la capacidad de utilizar aparatos con resultados muy adecuados.

Los principios en los que se basan los diferentes detectores son varios, y de cada una han surgido diferentes versiones que hacían posibles estos análisis. Es cierto a pesar de ello que las investigaciones se han centrado principalmente en cuatro tipos de detectores. Estos son:

Detector UV (Ultravioletas)

Detector por fluorescencia

Detector de conductividad eléctrica

Detector de índice de refracción

Aunque es cierto que existen otros tipos de detectores muy extendidos para aplicaciones específicas, con estos se cubren prácticamente las posibles necesidades de un usuario. En el caso de este proyecto, por ejemplo, y considerando las instalaciones disponibles, se requiere un detector añadido, ya que no se tiene la capacidad de disponer de todos los datos deseados con los detectores instalados por defecto. De esta manera, se introduce un detector de infrarrojos, que se estudiará en mayor profundidad en un apartado posterior.

Un detector consiste principalmente en un sensor y la electrónica asociada al tratamiento de señales. La pieza básica, y que determina casi por completo las capacidades del detector es el sensor.

Esta pieza es la encargada de obtener la información contenida en la muestra, y es la que permite, transformando pertinentemente los datos obtenidos, recibir una representación exterior de lo que se contiene en el interior de la cromatografía.

El detector más interesante para este proyecto, obviando el de IR objetivo, es el de UV/Visible. Este es uno de los tipos de detector más extendidos, y en soluciones acuosas presenta un funcionamiento muy adecuado, sin embargo, no es tan útil si el disolvente es orgánico. No quita, sin embargo, que haya variedad en los disolventes aptos en las longitudes de onda necesarias para detectar los diferentes analitos^[2].

La funcionalidad de este detector viene determinada por la ley de Lambert-Beer, que se presentará en un apartado posterior.

En general, para el funcionamiento de estos aparatos se utiliza una fuente de radiación, que habitualmente emite a una determinada longitud de onda, que puede variarse de diferentes formas, por ejemplo, utilizando filtros con una lámpara de mercurio. Hay equipos más avanzados, capaces de captar un rango mayor de longitudes de onda, incluso simultáneamente en algunos casos.

Esta radiación atraviesa la muestra, que presenta una absorbancia diferente en función de la concentración y naturaleza de la muestra. Esta información puede ser evaluada para determinar la presencia de analito en un flujo de muestra.

La ventaja principal de este detector es su elevada sensibilidad, siempre y cuando las muestras absorban en la franja de UV, pudiendo utilizar celdas pequeñas para la experimentación.

Además, no son afectados de manera importante por las condiciones de la fase móvil, haciéndolos sencillos de manipular y fiables, incluso al manipularlos personal con poca experiencia en el campo.

Este detector no sólo se ha usado a modo cuantitativo, la selectividad en la absorción de diferentes componentes en una muestra, este proceso se vio utilizado por ejemplo en el estudio de poli(estiren-co-metacrilato de metilo), aprovechando esta disparidad de la propiedad entre los componentes del copolímero^[3].

3.2. Detectores de IR

Los detectores de infrarrojo pueden ser utilizados para obtener información tanto cuantitativa como cualitativa de las muestras, y pueden aplicarse a un proceso cromatográfico de maneras muy variadas.

Conceptualmente, la detección de IR trabaja en la región del espectro electromagnético situada entre 12800 y 10 cm^{-1} , pudiendo establecerse una distinción entre IR cercano, de 12800 a 4000 cm^{-1} , IR medio, de 4000 a 400 cm^{-1} e IR lejano, que alcanza los 10 cm^{-1} . A pesar de que el IR cercano ha presenciado un aumento en su uso por sus ventajas de preparación de muestra, el IR medio sigue siendo el utilizado en la mayor parte de aplicaciones analíticas.

3.2.1. Tipo de detector IR

Los detectores de IR se pueden dividir a grandes rasgos en dos tipos diferentes de detector, y esta clasificación se basa en su funcionamiento.

En primer lugar se tiene la detección continua off-line, pero también se utiliza para ciertas aplicaciones la detección online. A continuación se profundiza en ambas posibilidades.

3.2.2. Detección continua off-line

En este tipo de detecciones, la porción de muestra a analizar se deposita en un disco de germanio rotativo, de manera que el disolvente se evapora mientras el analito queda depositado en el disco.

Este disco se analiza posteriormente fuera de la línea de trabajo, detalle que da nombre a la detección off-line. Este análisis se puede llevar a cabo en cualquier punto del disco. Sabiendo además la velocidad del flujo y de rotación del disco, es posible relacionar las diferentes muestras del disco con porciones particulares de la muestra.

El uso más expandido de esta práctica es la monitorización del contenido de comonomeros en copolímeros de polietileno^[3].

3.2.3. Detección online

Por su nombre se puede ver que esta propuesta se realiza como parte integrada en el recorrido del fluido por el cromatógrafo. Este método no es tan habitual, principalmente por algunos de sus inconvenientes respecto a la alternativa, pero sí que tiene unos usos en ciertos campos de investigación.

El inconveniente básico en este sentido es la reducción de la sensibilidad del detector al utilizar un sistema online, razonado por la presencia de una cantidad importante de disolvente que entorpece el análisis. Este hecho afecta a la resolución de los resultados obtenidos, obteniendo datos con menor claridad, ante la cantidad de ruido que puede percibir el sensor.

La ventaja del sistema online, sin embargo, es la repetibilidad de las pruebas. Esto se debe con gran probabilidad al hecho de que el camino óptico queda mejor definido al utilizar una celda, que dota de una longitud constante al mismo.

Ambos tipos de detectores pueden utilizarse para obtener resultados cuantitativos, estableciendo una relación lineal entre el valor de la prueba y la concentración en la muestra.

3.2.4. Funcionamiento del detector

La energía que permite obtener resultados de la utilización de un detector de IR proviene de las fuerzas que unen a los átomos de una molécula. Estas uniones pueden equipararse

con uniones elásticas que involucran los modos normales de vibración. Los espectros vibracionales de las moléculas dependen de los modos normales de vibración, pero también de la masa, disposición geométrica y propiedades de los enlaces de los átomos.

Esta energía es la que determina la absorción que presenta una molécula irradiada con una luz a una longitud de onda adecuada. Al absorber la energía proporcionada un átomo pasa a un estado de excitación de mayor energía.

La razón por la que los picos de absorbancia no son exactamente lineales, sino que presentan una cierta anchura, tiene varias explicaciones. En primer lugar, la energía de un estado superior sobrepoblado causa que el decaimiento de moléculas excitadas, que pasan a un estado ligeramente distinto a otro en el que se podían encontrar, esto provoca que la absorción se lleve a cabo ligeramente desplazada hacia uno de los lados, ampliando la banda de absorción.

También provoca este efecto la velocidad de las moléculas, que debido al efecto Doppler, varía la frecuencia detectada por el sensor. Finalmente, las interacciones o colisiones entre átomos o moléculas pueden también provocar un intercambio de energía que ensancha el espectro percibido

Los detectores de IR, ya sean del tipo que sean según la clasificación anterior, pueden denominarse como dispersivos o de transformada de Fourier.

Los primeros se basan en el uso de redes de reflexión que permiten dispersar la radiación. En su montaje son relativamente similares a los de UV/Visible, aunque por supuesto utilizan una fuente y un detector distintos.

Los que a luz de este proyecto resultan interesantes son los no dispersivos utilizando la transformada de Fourier (FTIR).

3.2.5. Espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier

Este tipo de espectrómetros está compuesto por tres elementos principales, la fuente luminosa, un interferómetro Michelson y un detector^[4]. El interferómetro es un elemento que divide inicialmente un haz de luz dirigido hacia él, posteriormente, estas divisiones vuelven al elemento, donde son combinadas en un modelo de interferencia que se emite generalmente a un detector.

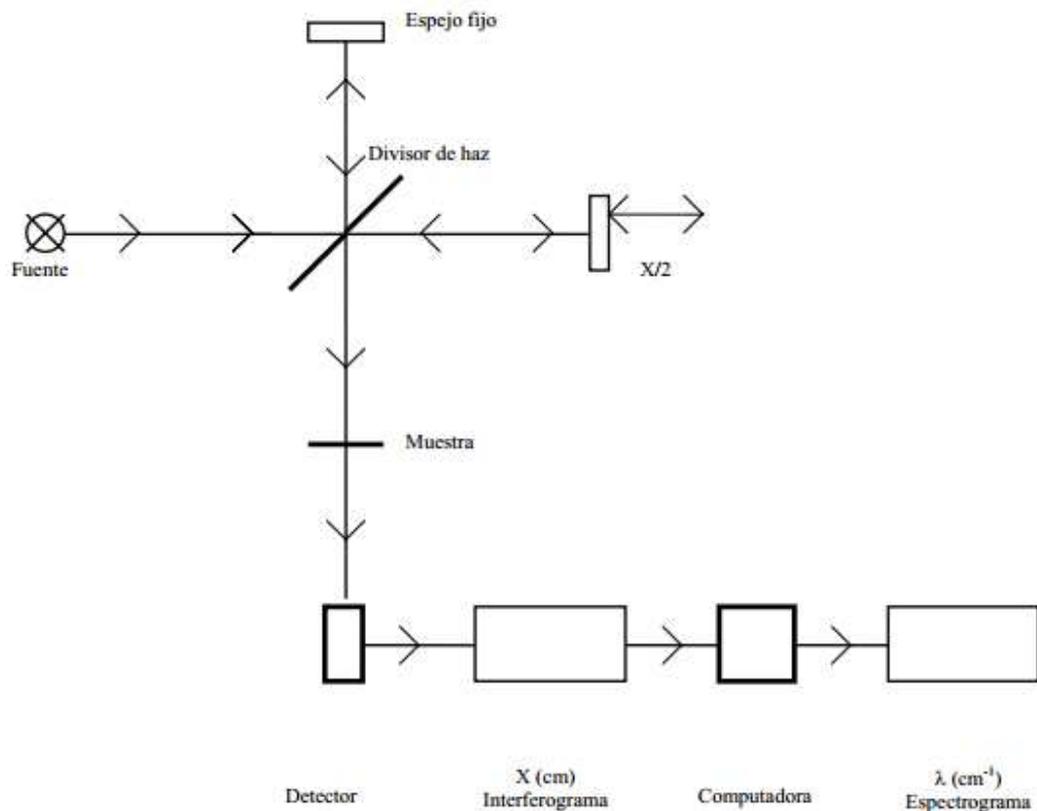


Figura 1 Estructura de un espectrómetro de IR^[4]

El funcionamiento general del detector es el siguiente, la luz emite en toda la región infrarroja, incidiendo en el divisor del haz, siguiendo el funcionamiento del interferómetro, al combinarse retornando al divisor se genera una interferencia constructiva o destructiva según el posicionamiento de un espejo móvil, que es el encargado de retornar uno de los haces que surgen de la división.

Este haz resultante de la combinación pasa por la muestra, donde se produce la absorción, y posteriormente incide en el detector. La intensidad de la señal depende de la posición del espejo móvil, y gracias al proceso conocido como transformada de Fourier se puede obtener el espectro de la muestra según la relación entre este y la señal recibida.

Los espectrómetros por transformada de Fourier tienen ciertas ventajas en comparación con los dispersivos. Primeramente, en el tiempo requerido para obtener la respuesta, ya que todas las frecuencias son estudiadas a la vez.

Este montaje no limita la energía que alcanza al detector, lo cual aumenta la sensibilidad del mismo. Además, el hecho de que el haz que sale de la fuente no incida directamente en

la muestra hace que la temperatura de la misma no se vea afectada en la misma medida, lo cual puede resultar de interés en determinadas operaciones.

Por último, cabe destacar que las emisiones producidas por la muestra no intervienen en la detección, cosa que podría suceder en otras configuraciones, provocando la aparición de espectros de emisión no deseados.

3.3. Aspectos técnicos de los detectores espectroscópicos

A la hora de utilizar cualquier tipo de detector espectroscópico hay que tener en cuenta ciertos conceptos que intervienen en el proceso de detección. Estos no dependen del tipo de detector que se utilice en términos generales, pero hay que tener en cuenta que los específicos como los materiales o las distribuciones de los elementos.

3.3.1. Ley de Lambert-Beer

El concepto básico para la aplicación de los espectrómetros como detectores es el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer. Esta expresión establece una relación entre la concentración y la intensidad de la señal que puede leer un espectrómetro.

Como se ve, la absorbancia o A viene establecida por una constante dependiente del experimento a , el camino óptico seguido l , y la concentración de muestra analizada c .

El valor de a viene determinado por las propiedades de la fase móvil principalmente, y es el concepto que distingue a las muestras del disolvente al pasar por un detector durante un proceso cromatográfico.

La concentración como se puede apreciar establece una relación lineal con la absorbancia, por lo tanto estos métodos permiten tener una manera de analizar sin problemas muestras de manera cuantitativa siempre que se conozcan los demás parámetros.

Como ya se ha dicho el coeficiente a viene de las especies de la muestra y no puede alterarse sin cambiar la disposición o composición de la misma, en general. El otro valor

$$A = a \cdot l \cdot c \quad (\text{Ec. 1})$$

presente en esta expresión, bautizado como camino óptico, es un concepto importante.

3.3.2. Camino óptico

A la hora de diseñar un espectrómetro, es importante tener un camino óptico adecuado y conocido, con tal de ser capaz de establecer la relación que otorga la ley de Lambert-Beer.

Este valor se extrae del recorrido que debe hacer el haz de luz utilizado en el momento de atravesar la muestra contenida en el detector. Este queda definido en general por el recipiente en el que se realiza el estudio. Así, en gran parte de las aplicaciones de los espectrómetros se utilizan cubetas que presentan un tamaño habitualmente de 1 cm para facilitar los cálculos a realizar.

Sin embargo, otras aplicaciones pueden requerir el uso de celdas distintas, que por lo tanto cambian el camino óptico establecido. Por ejemplo, un espectro de IR se puede realizar con una celda formada por dos ventanas cubriendo una película de material. El grosor de esta sería en este caso la variable considerada como camino óptico.

3.3.3. Manejo de la muestra

Para poder llevar a cabo un estudio utilizando la espectrometría es importante durante la etapa de diseño tener en cuenta las propiedades de la muestra que se estudia, y por tanto las características del equipo directamente involucrado con ella.

En primer lugar se encuentra el recipiente en el que estará la muestra depositada durante el análisis. En general las pruebas se realizan sobre muestras en estado líquido o gaseoso así que se utilizan celdas para contener la muestra. En el caso del ultravioleta por ejemplo, se emplean celdas de cuarzo y no de vidrio, como en el caso del visible, porque el vidrio absorbe radiación UV.

Como ya se ha dicho, el disolvente es una parte indispensable que permite transportar la muestra en la fase móvil. Las propiedades del disolvente se han de estudiar detenidamente a la hora de seleccionarlo para la aplicación que se desee, ya que no serviría de nada hacer un estudio de una muestra si el disolvente no es transparente a la radiación empleada, caso en el que el espectro obtenido sería consecuencia de la presencia del disolvente y no de la muestra.

De la misma manera, si la muestra no está disuelta completamente, el resultado es que la radiación no interacciona como se espera con la muestra, dando lugar a unos resultados totalmente distintos a los que se pretende obtener.

3.3.4. Fuente de radiación

La fuente de radiación de la que se ha hablado con anterioridad es el elemento

indispensable en la espectrometría. Están formadas por materiales que se excitan a mayores niveles de energía, ya sea por calentamiento o con electricidad, para regresar al estado de excitación base proceso por el que emiten una energía al exterior.

Las fuentes de radiación no emiten a igual intensidad en la región de interés completa, ya que al variar la longitud de onda varía la radiación. Cambios en la excitación de la fuente, por ejemplo por cambios en el suministro de la electricidad a la misma, también suponen una alteración en las lecturas.

En algunos casos se utilizan instrumentos de doble haz, en los que la radiación emitida se divide en dos, siendo uno el de referencia y el segundo el de muestra, las diferencias entre ambos detectadas en el aparato permiten determinar la intervención de los efectos provenientes de la fuente de luz, y cancelarlos a la hora de realizar el análisis.

Los materiales de las fuentes dependen principalmente del tipo de análisis espectroscópico a realizar, por ejemplo, en el caso del IR, la lámpara de Nernst, barra hueca de óxidos de itrio y zirconio a 1500 °C, es una de las más habituales.

3.3.5. Otros elementos

En el recorrido de la luz por el detector, esta se topa con elementos que lleva a cabo una función específica en el detector.

Por ejemplo se utilizan filtros y monocromadores, que tienen como función obtener valores en bandas estrechas de radiación. Esto permite aumentar la sensibilidad y puede facilitar las lecturas de los resultados obtenidos.

Con este objetivo, elementos como los prismas, las rejillas o los espejos permiten dispersar la luz, pudiendo así dirigir tan solo rangos de longitud de onda que resulten interesantes para el estudio a realizar.

3.3.6. Obtención de datos

Para obtener la información que se busca, los detectores espectroscópicos utilizan la propiedad de los materiales semiconductores que provoca que se genere una corriente eléctrica cuando los fotones provocan un salto de electrones de la banda no conductora a la banda conductora^[5].

En este sentido se pueden tener fototubos y celdas fotovoltaicas. En los primeros los fotones inciden en el cátodo colocado en el interior de un cilindro haciendo que este desprenda electrones, que son entonces recogidos por el ánodo, generando así una corriente proporcional a la intensidad de la radiación recibida.

Este sistema utiliza en ocasiones tubos fotomultiplicadores, basados en el principio de que los electrones desprendidos se aceleran y chocan en otra superficie de iguales características, el número de electrones desprendidos es superior. De este modo, repitiendo el proceso de interacción de los electrones se puede conseguir aumentar considerablemente la intensidad de la señal.

El problema principal de estos sistemas es el precio debido a la complejidad del elemento en cuestión.

Las celdas fotovoltaicas se basan en una hoja de cobre con una capa de semiconductor depositada sobre ella, y cubierta finalmente por el electrodo colector. Las interacciones del semiconductor con la radiación generan una circulación de electrones por el circuito.

El principal problema de este sistema es su baja sensibilidad y el desgaste.

Una vez se ha convertido la señal recibida en una variable eléctrica, se cuenta con elementos auxiliares para facilitar la lectura de los resultados.

En primer lugar se cuenta con amplificadores, que toman una señal de entrada del detector y producen una salida muy superior a la recibida. Los procesos electrónicos que se llevan a cabo se traducen en una ganancia del amplificador, factor por el que es aumentada la señal.

Finalmente se encuentra el sistema de lectura, que puede ser cualquier tipo de procesador, que recibe la señal eléctrica amplificada. Generalmente, esta señal vuelve a ser transformada de manera que el usuario pueda acceder a ella utilizando una interfaz simple y legible.

3.4. Polímeros y GPC

Los polímeros son macromoléculas formadas por la unión de un gran número de moléculas más pequeñas, considerada de manera arbitraria como tal con una masa molar de al menos 1000 o 100 unidades estructurales o más.

Las unidades que forman los polímeros por su repetición son los monómeros, que se enlazan entre sí en el proceso de polimerización.

Los polímeros son ampliamente utilizados hoy en día gracias a su gran variedad, que permite obtener materiales con propiedades variopintas y adaptables a una gran cantidad de situaciones.

Una de las características que determinan las propiedades de los polímeros es la conocida como arquitectura polimérica, que es la manera en la que las cadenas de monómeros se desarrollan y difieren de la estructura lineal, que sería la más básica.

Una de las propiedades que resultan más interesantes en este estudio es la longitud de la cadena. La cadena formada por los monómeros puede tener una longitud variante, ya que puede contener un número indefinido de unidades repetitivas. La variación de esta propiedad resulta en la variación de muchas otras características importantes a la hora de utilizar estos materiales en ciertas aplicaciones. Por ejemplo se encuentra que modifica su resistencia a impactos y aumenta la viscosidad, las cadenas más largas pierden movilidad, aumentando así su dureza y fuerza. Estos cambios se deben a la potenciación de las interacciones entre las cadenas, ya sean por fuerzas de Van der Waals o por entrelazamientos por la geometría y disposición de las cadenas.

La longitud de estas cadenas puede expresarse en términos de masa molar, es decir, el peso que tiene una cadena de polímero de una determinada longitud. Esta propiedad resulta interesante en la tecnología de separación cromatográfica por permeabilidad de geles, GPC por sus siglas en inglés, por razones que ya se ha expuesto, pero se repasarán a continuación en mayor detalle.

Hay que tener en cuenta, sin embargo, que en una muestra de polímero no todas las cadenas de polímeros son iguales, en general el peso de un polímero se determina según la distribución porcentual de cadenas de una cierta longitud, o peso, en la mezcla completa.

Por otro lado, cabe destacar que ciertos tipos de polímero, conocidos como copolímeros, en los que las cadenas poliméricas no tienen una única unidad repetitiva, en estos casos a lo largo de una cadena se distribuyen dos o más monómeros distintos. En estos casos, según la manera en la que estos monómeros aparecen en la cadena larga pueden determinarse distintos tipos, como por ejemplo los alternados o los de bloque.

Otro concepto interesante bajo la premisa de este trabajo es el de la degradación de los polímeros. Esto es, el cambio de propiedades de los polímeros por su exposición a factores del entorno, como pueden ser el calor la luz o agentes químicos.

Esto es interesante debido a que la principal fuerza que actúa en la degradación de los polímeros es la rotura de las cadenas que lo forman. Es decir, que como habitualmente la consecuencia de la degradación del polímero es la reducción de su masa molar.

Al entrar al territorio del estudio de los polímeros, el proceso de GPC o SEC resulta muy habitual. La razón es que es una técnica versátil y útil en este aspecto.

El interés en este aspecto se debe en parte a la presencia de gran cantidad de polímeros

que resultan asequibles en el diseño de una posible aplicación, es importante conocer perfectamente la composición de por ejemplo dos resinas para asegurar cual tendrá una mayor calidad al aplicarla en el lugar pretendido^[6].

En este sentido la distribución de peso de un determinado polímero resulta crítica. Esto es principalmente por el hecho de que aunque parezcan idénticos e incluso tengan unas propiedades similares, los productos pueden presentar una durabilidad alterada en función de la densidad de polímero de un cierto peso.

Pero no sólo se utiliza para determinar la presencia de cadenas de diferente peso en un polímero, el método GPC permite también separar composiciones complejas de polímeros, para poder obtener sus partes por separado o determinar su mera presencia.

El funcionamiento del GPC se basa en la separación de las moléculas según su tamaño efectivo en solución, la muestra diluida en un disolvente adecuado se puede inyectar en un flujo de disolvente en movimiento que lo arrastrará fluyendo a través de una fase estacionaria.

Esta fase está formada por un material poroso empaquetado en una columna. Los poros de este material son los que determinan el funcionamiento de la cromatografía. A medida que se disminuye el tamaño de las moléculas más fácil resulta que sean retenidas en la fase estacionaria, esto hace que con este método se obtenga una buena valoración de las propiedades de los polímeros que se han comentado antes.

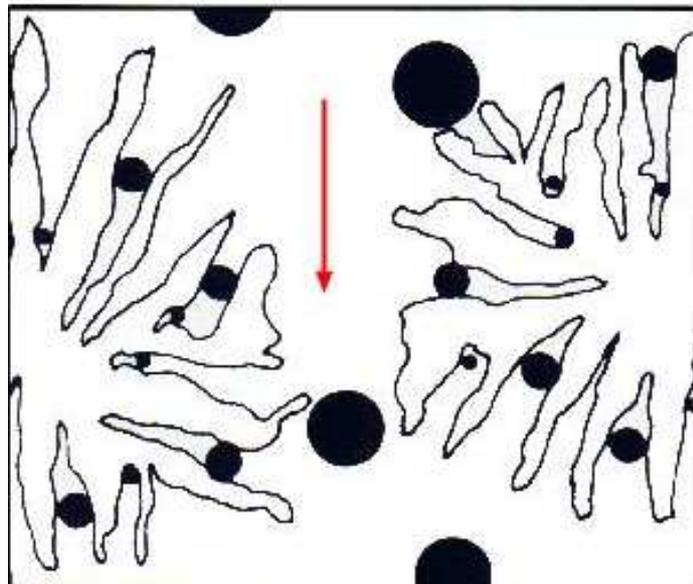


Figura 2 Funcionamiento de la separación por GPC^[6]

A la hora de manipular la instrumentación es importante saber en qué se va a aplicar el

equipo.

Algunas de estas consideraciones son; la presencia de un inyector capaz de unir la muestra al flujo de la fase móvil, el correcto funcionamiento de las bombas usadas que sean capaces de distribuir por el circuito completo el flujo de muestra y la capacidad de monitorización de la separación mediante el uso de los detectores de los que ya se han visto en capítulos anteriores.

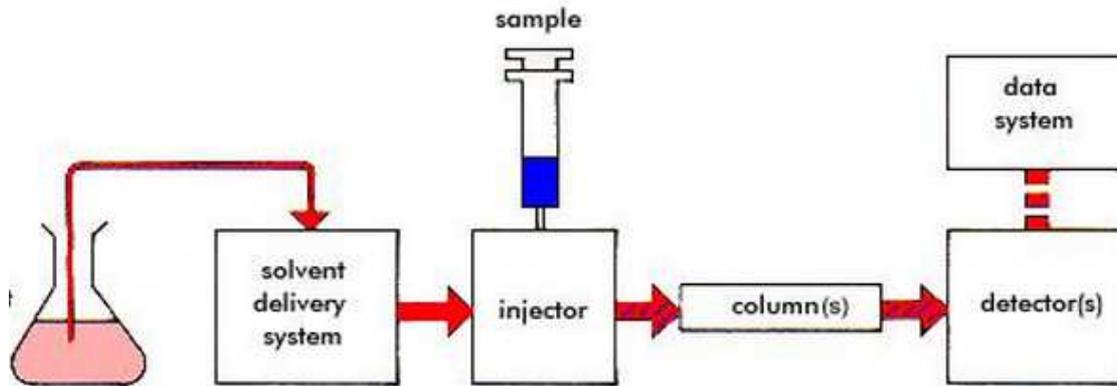


Figura 3 Estructura de un cromatógrafo^[6]

4. Diseño

Para cumplir con el objetivo planteado en este proyecto, se debe realizar un diseño previo del montaje que se utilizará en el momento de los ensayos. Esto incluye las ventanas y el soporte utilizado, así como el equipo necesario para obtener los datos de las muestras.

De esta manera, se comienza con la preparación de la pieza física por la que se hará circular el flujo de analito.

4.1. Celda

Como se ha dicho, la parte más crucial de este ensayo, dado que es la vertiente innovadora del montaje, es la pieza que permitirá hacer fluir la muestra permitiendo a la vez obtener los datos utilizando el detector de IR.

4.1.1. Soporte

Para ello, lo primero es determinar el tipo de celda a emplear. Los criterios más importantes en este apartado son las condiciones de presión y temperatura que se aplicarán en el proceso. En el mercado se pueden obtener elementos que acoplen intercambiadores de calor o montajes especiales capaces de soportar entradas a alta presión^[7]. Sin embargo, dada la magnitud del ensayo y el método de separación utilizado, no se prevé la presencia de grandes presiones que impidan el uso de la celda básica elegida, una celda de transmisión de líquidos universal.

Esta celda presenta diversas ventajas. En primer lugar, la simplicidad de la misma permite realizar cambios en el montaje de manera fácil y rápida, es fácil de desmontar, pudiendo así limpiar o cambiar las ventanas sin problema, por esta misma razón se trata de un equipo versátil, capaz de acoplar diferentes formas y grosores de celda. A pesar de que es útil para realizar análisis de muestras puntuales, se puede adaptar para analizar un flujo de muestra. Por otro lado, cabe considerar que el no requerir de elementos más resistentes o específicos supone un cierto ahorro, ya que este tipo de celdas es comparativamente más económico.

Se debe remarcar que en esta celda el soporte es meramente un caparazón en el que se apoya la propia celda, idealmente no entrará en contacto con la muestra, de manera que no es necesario considerar las posibles interacciones del material con la muestra.

4.1.2. Ventanas y separador

De esta manera se llega a la parte principal del montaje, las propias ventanas, y por lo tanto el corazón de la celda. En primer lugar se determinará el tipo de ventanas a utilizar, en este caso, y dado la naturaleza de los ensayos, se utiliza una celda desmontable para líquidos, en este tipo se tienen dos ventanas independientes, entre las que se introduce un separador para crear un espacio para el paso del fluido. En estas aplicaciones se utilizan ventanas rectangulares, una de las cuales tiene dos orificios, de entrada y salida, que permiten introducir el líquido entre ellas. Evidentemente, esta deberá colocarse en la cara del soporte que presenta las conducciones de entrada y salida. La otra ventana, en cambio es una pieza maciza. Entre ellas se introduce un separador, una simple pieza que crea un espacio suficiente entre las ventanas para dejar paso al analito.

Una vez aquí, se alcanza una de las decisiones más importantes del montaje, el material del que se utilizarán las ventanas. Éstas se presentan en contacto directo con las muestras, y por lo tanto deben ser resistentes a su contenido. Por otro lado, deben ser capaces de soportar las condiciones físicas a las que se someten, aunque como ya se ha comentado, en este caso no será un criterio demasiado exigente. De manera tan o más importante se encuentra la necesidad de utilizar unas ventanas que permitan estudiar la zona que se requiera en el estudio. Particularizando, para conseguir un equipo que permita estudios relativamente generalizados se estima un rango de trabajo de 4000 a 600 cm^{-1} .

En base a estos criterios, se escogen finalmente dos alternativas, por un lado se tienen las ventanas de cloruro de sodio, NaCl, que son aptas para la aplicación en cuestión, pero requieren un cuidadoso trato por el riesgo de ejercer un exceso de presión y su solubilidad en agua^[8], a pesar de ello presentan un precio relativamente bajo, y se cuenta con mayor experiencia en su uso. Por otro lado, se estudia la posibilidad de utilizar ventanas de fluoruro de calcio, CaF₂, que pese a la mejora de sus propiedades y la reducción del efecto de niebla^[8], que facilita la lectura de resultados, hay que tener en cuenta el coste que implica su uso.

En conclusión se establece como primera opción el uso de ventanas de NaCl, pero se adquiere de misma manera el par de CaF₂ tanto como alternativa en caso de no ser viables las primeras como para futuros usos posibles en los que realmente se requieran las propiedades químicas o físicas de las mismas por encima de las demás.

Sin embargo, esto no representa el final del diseño de la celda, ya que el separador juega un papel más importante de lo que parece en el funcionamiento final de la celda. Además de crear un espacio en el que analizar el paso del fluido, el separador determina el ancho de este espacio, que resulta crítico a la hora de determinar el camino óptico seguido para el detector.



4.1.3. Simulaciones y cálculos previos

En este sentido, se puede estimar que grosores de entre medio milímetro y hasta 5 milímetros no deberían suponer un problema para la aplicación que se propone. Ahora que se cuenta con las dimensiones de la celda se puede recurrir a un software para determinar el comportamiento de las líneas de flujo en el interior de la celda. En este caso las simulaciones se realizan con Ansys Workbench 14.0 para obtener una primera aproximación del comportamiento de este flujo.

Se procede por tanto a realizar pruebas a diferentes anchuras de paso, hecho que ayudará a determinar el separador adecuado en el experimento. La geometría definida para el análisis espectrométrico viene definida por la celda escogida a excepción de esta magnitud, por lo que es interesante analizar el efecto que pueda ejercer.

El estudio se lleva a cabo con una medida mínima de 1 mm y se procede de la misma manera con 1,5 mm, 2 mm, 3 mm, 5 mm y 10 mm. Como se ha dicho, el camino óptico, importante para asegurar un correcto funcionamiento del detector, no debería presentar problemas en anchuras de entre 0,5 y 5 mm así que los resultados en esta región resultan de interés, como caso extremo y para comprobar el comportamiento del fluido en diferente situación se analiza la anchura de 10 mm.

Tras generar la geometría, importada desde el programa SolidWorks, se define el modelo como una lámina plana del flujo a la que se introduce y de la que escapa el fluido a través de dos conductos de 1 mm de diámetro.

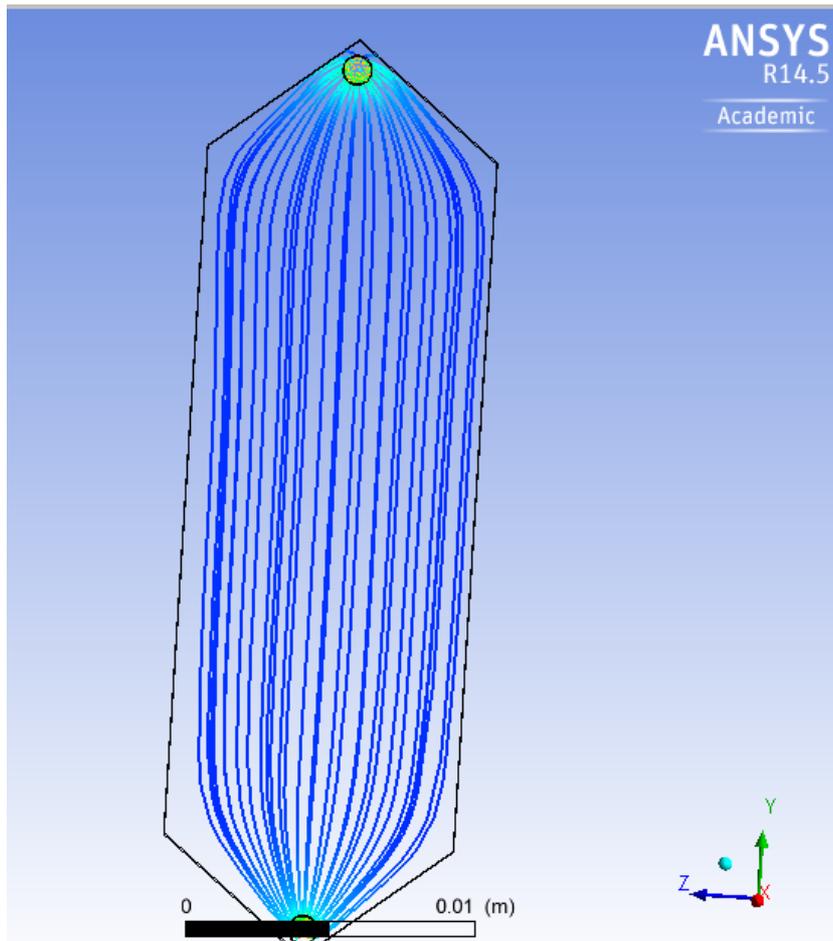


Figura 4 Líneas de flujo para anchura 1 mm

Se puede observar cómo se produce un punto de estancamiento en la pared en la que incide el flujo entrante, elevando la presión notablemente, y provocando que en el interior la presión que lleva el fluido sea reducida.

Para anchuras pequeñas las líneas de flujo siguen un camino plano a través del espacio disponible, hecho que interesa en este caso, ya que la uniformidad en el paso por el detector ayudará a obtener unos resultados fiables.



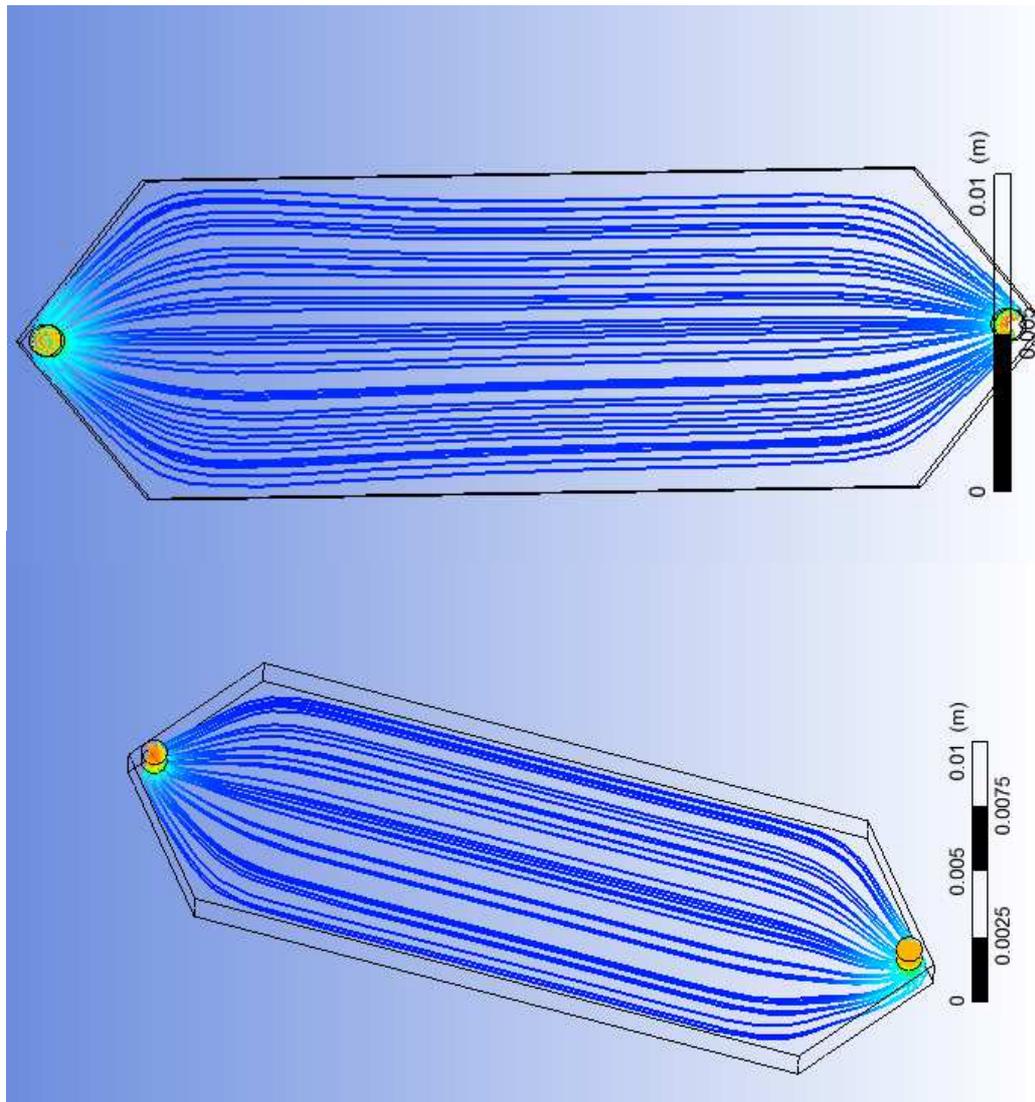


Figura 5 Líneas para 1,5 mm (arriba) y 2 mm (abajo) de ancho

Sin embargo, a medida que se aumenta este espesor se puede apreciar como el flujo empieza a formar curvas en el recorrido, debido a la diferencia de presión que encuentra. Según se incremente este valor, igual lo hacen estas irregularidades.

Se observa por ejemplo en el caso de 3 mm como a pesar de seguir de manera bastante constante la sección central de la placa, en los extremos principalmente las líneas dejan de ser paralelas a la pared. Aunque sea interesante que la parte central no se vea afectada en gran medida no es aconsejable seguir este modelo.

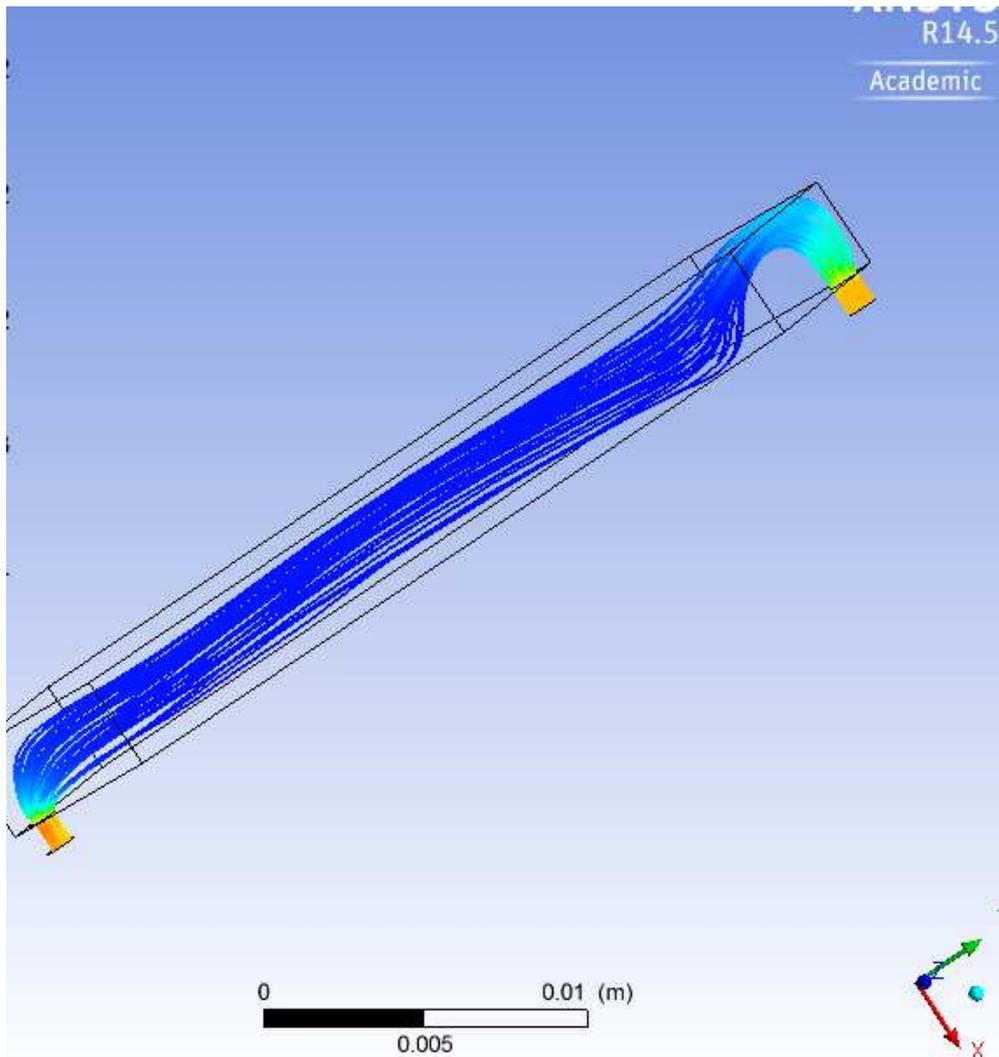


Figura 6 Líneas de flujo para ancho de 3 mm

A unos valores mayores se turbulencias, remolinos que involucran a toda la longitud del área de paso, y que afectarían de manera importante el análisis, también porque ni siquiera se puede decir que todos se comporten de igual manera, es decir, que el camino de las recirculaciones no comparte longitud ni curvatura.



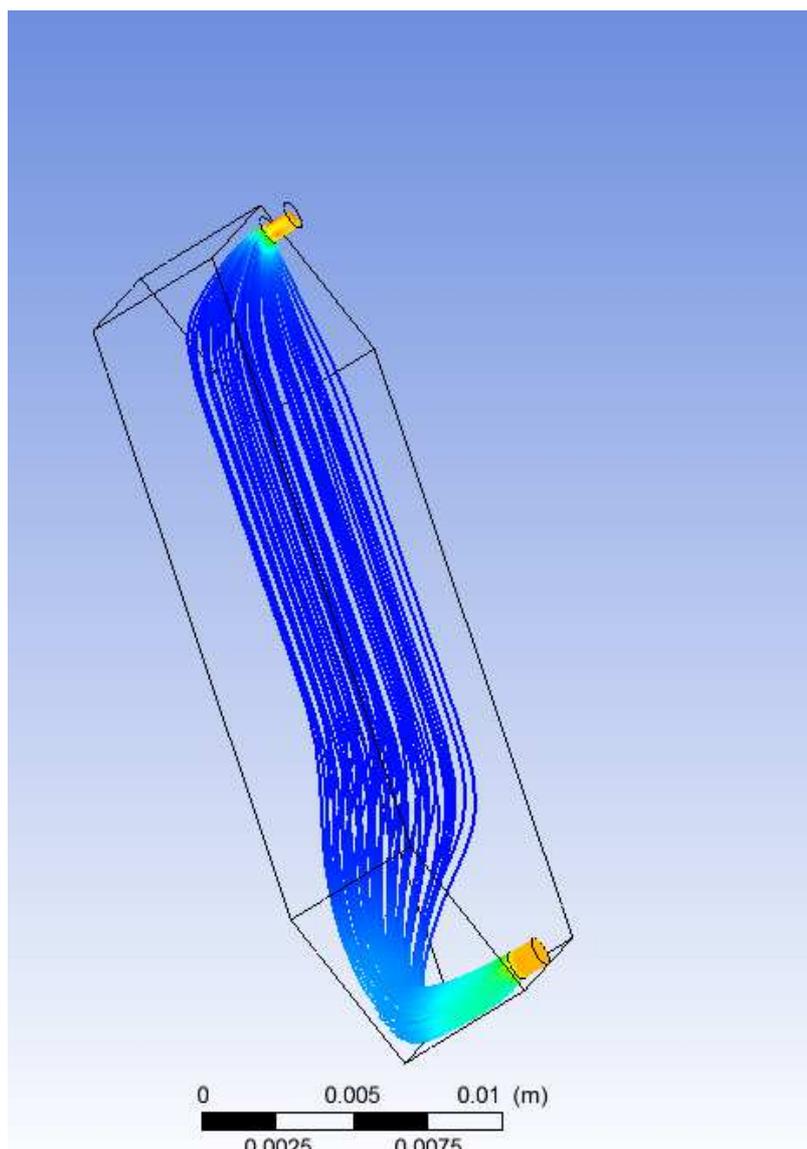


Figura 7 Líneas de flujo para anchura de 5 mm

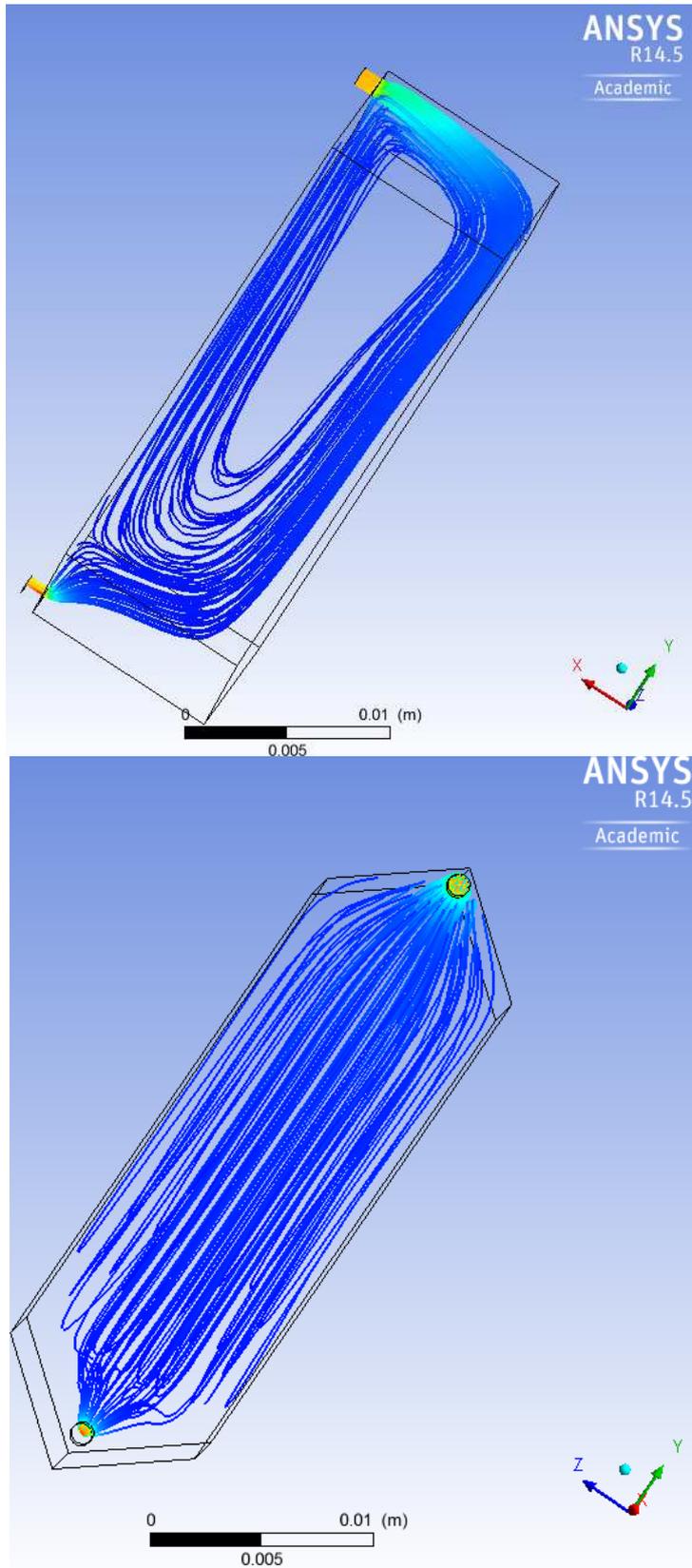


Figura 8 Vista frontal y lateral del flujo para una anchura de 10 mm



Se puede por lo tanto aceptar que un espesor de alrededor de 1 mm es válido para la experiencia que se quiere llevar a cabo. Con este valor se puede proceder a establecer una serie de cálculos para intuir mejor el comportamiento del fluido.

Determinando las dimensiones estándar del espacio dejado por el separador se estima una sección de paso de 1 mm de grosor por una anchura de 10 mm. El caudal a utilizar será de un valor cercano a 1 mL/min, a pesar de que quedará por debajo, el cálculo se realiza con el valor 1 para agilizar el proceso, ya que es meramente estimativo.

Con estos dos valores se puede determinar la velocidad en el interior, que, a pesar de estar ligeramente sobredimensionada por la menospreciada dispersión en la entrada de la celda, permite calcular el número de Reynolds obteniendo un valor notablemente superior al umbral considerado como transitorio.

Se puede esperar en base a estos resultados que el comportamiento será adecuado, ya que es interesante tener este régimen de flujo, un comportamiento en flujo transitorio implica una distribución uniforme de propiedades en todo el fluido, favoreciendo un frente de velocidades uniforme en la circulación, permitiendo tener unas propiedades aproximadamente constantes en el total del flujo, que por supuesto es preferible en un sistema en el que se obtendrán valores de un flujo de manera continua.

En los cálculos y simulaciones llevados a cabo y presentados en este apartado se han introducido las propiedades del cloroformo, que como se verá a continuación, es la especie utilizada en el montaje como disolvente.

4.2. Sistema de conducción de la fase móvil

Para circular por el sistema, la muestra es transportada por un disolvente formando lo que se conoce como la fase móvil.

4.2.1. Inyección y distribución de la muestra

La muestra se debe inyectar en el HPLC, y para ello se emplea un inyector. El funcionamiento de este es relativamente simple. El modelo utilizado permite cargar la muestra en un conducto de entrada, que en el momento de la inyección la introduce en la circulación del disolvente. Esta circulación se propicia utilizando un sistema de bombeo, que lo conduce hasta la columna cromatográfica, en la que entra en contacto con la fase estacionaria.

A continuación deberá hacerse circular en primer lugar por un detector de UV, y finalmente por el detector de IR, incluyendo la celda diseñada.

Se deberán también considerar los depósitos de entrada y salida, siendo el primero un recipiente con el disolvente y el último un recipiente el en el que recoger la fase móvil extraída de la cromatografía.

Teniendo en cuenta que se utilizarán equipos actualmente en uso y por lo tanto disponibles en el laboratorio, el montaje deberá adaptarse a ellos.

Las conducciones se encuentran en general ya establecidas, contando con un equipo bastante utilizado con tuberías típicamente usadas en HPLC, conducciones pequeñas y de metal.

4.2.2. Conexiones adicionales

En este sentido la parte más interesante es la conexión con el detector de IR, ya que se debe introducir como novedad en el montaje actual, requiriendo por lo tanto una forma de enlazar conductos nuevos, además del propio detector.

Los conductos en cuestión son poliméricos, que se pueden conectar a la salida del cromatógrafo completo con un adaptador con rosca. El otro extremo, en contacto con la celda, requiere un estudio más cuidadoso.

Las entradas de la celda del espectrómetro no cuentan con una rosca en la que introducir el adaptador, así que se debe recurrir a soluciones alternativas. Utilizando un adaptador del diámetro adecuado, esto es, similar al de la entrada y salida de la celda. Se procede a fijar la conexión utilizando en este caso un material para incrustar entre el adaptador y los conductos, se requiere de un material maleable, recurriendo en este caso a un polímero, en este caso particular se trata de polieterecetona, PEEK. Finalmente se considera como mejor opción por plasticidad y facilidad de obtención a una película de teflón.

4.2.3. Disolvente

Por último, la parte más importante de la fase móvil y su conducción es el disolvente usado para lograrlo. Este debe cumplir tres cualidades indispensables.

Primero, debe disolver correctamente la muestra, ya que será necesario que las propiedades de la fase móvil sean tan constantes como sea posible, empezando por lo tanto por una correcta disolución. En segundo lugar, no debe interactuar con la conducción, es decir, no sería válido un disolvente que deshiciera las ventanas, o estropease sus propiedades o las de los tubos utilizados en las conexiones. Finalmente, el disolvente se ha de adaptar a la muestra a tratar y su espectro de IR.

Este último punto es muy importante para la aplicación, teniendo en cuenta que aunque no



sea difícil obtener disolventes orgánicos para las muestras sin que interactúen con las sales de la ventana, es muy probable que los espectros interfieran entre ellos, causando que la lectura de los resultados de la muestra resulte mucho más complicada, o incluso indiscernible de los espectros de fondo. A partir de estas condiciones se puede proceder a escoger un producto apto para el objetivo del proyecto.

En este caso se recurre al cloroformo, CHCl_3 , cuyas propiedades lo hacen adecuado, es capaz de disolver adecuadamente los polímeros a tratar, y presenta un espectro relativamente limpio en el rango de estudio del IR.

Las propiedades del cloroformo se pueden encontrar a continuación:

Densidad (ρ)=1,483 g/cm³

Viscosidad (μ)=5·10⁻³g/cm·s

Masa molar=119,38 g/mol

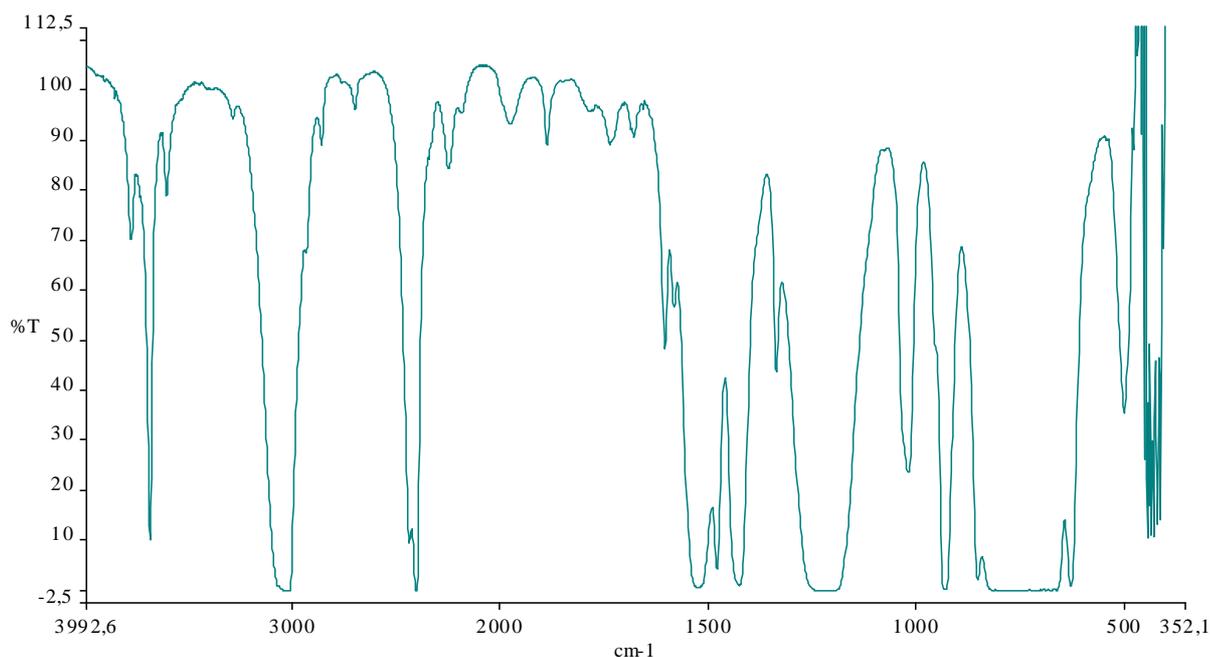


Figura 9 Espectro IR del cloroformo

Y en su espectro de IR se puede comprobar que tiene suficientes áreas en las que se puede percibir la variación causada por otros compuestos. Esto es en el área entre 1600 y 2200 cm⁻¹.

En este espectro las bandas más importantes son, a 3000 cm⁻¹ la banda de C-H, alrededor 1500 cm⁻¹, 1510 a 1480, se sitúan las bandas del armónico de la vibración de tensión del C-

Cl, hacia 1200 se aprecia una banda de C-H de deformación, en torno a 800 se encuentra la banda de vibración de tensión C-Cl. Las demás bandas corresponden a absorciones menores.

4.3. Adaptación de la ley de Lambert-Beer

Los espectrofotómetros permiten obtener una idea de la concentración de la muestra analizada gracias a la relación que establece la ley de Lambert Beer, según la cual la absorbancia es proporcional a un coeficiente de absorptividad, el camino óptico y la concentración.

$$A = a \cdot l \cdot c \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

A: Absorbancia

a: absorptividad

l: camino óptico

c: concentración de muestra

4.3.1. Camino óptico

El camino óptico viene determinado por la geometría que cruza el haz de luz del detector de IR, en este caso, este camino se determina por el grosor que cruza la luz por la ventana de la celda, es decir, el milímetro que se ha determinado de separación. Este camino permite garantizar con cierta fiabilidad un análisis adecuado, sin embargo, esto depende también de la concentración presente en la muestra, como se puede ver en la expresión de esta ley. Un camino óptico mayor se puede utilizar para estudiar concentraciones inferiores.

Una vez definido este parámetro, y considerando que la absorptividad se debe al material o sustancia que ha de recorrer el haz, queda estudiar el comportamiento de la concentración.

4.3.2. Concentración

Dado que el camino óptico viene fijado en pasos anteriores del proceso de diseño, se debe



comprobar que efectivamente será adecuado para el estudio. Para ello, hay que determinar la concentración aproximada que será capaz de identificar el detector.

Como se ha dicho antes si se requiriera un estudio de concentraciones menores, se tendría que aumentar este camino, pero como se ha comprobado, no cualquier grosor es válido para la experimentación planteada.

Para realizar esta prueba, se dispone de una muestra preparada de un polímero, tratándose en este caso de ácido poliláctico. Iniciando la prueba a una concentración del 1%, se preparan disoluciones en cloroformo del polímero y se procede a analizar la muestra con una espectrometría puntual con el aparato que se utilizará en la experimentación final.

Para las contener las disoluciones se utilizan viales cerrados para evitar la evaporación debido a la limitada cantidad de las mismas.

La primera disolución se obtiene dejando 2 g de polímero sólido en un vial con 2 mL de cloroformo. El proceso tarda unas horas en completarse. Una vez se tiene la primera disolución, las de 0,1%, 0,01% y 0,001% se obtienen diluyendo a una décima parte, por lo tanto en un vial se introducen 9 mL de cloroformo con 1 mL medido con jeringa de la muestra de concentración inmediatamente anterior. La muestra al 0,005% se tiene mezclando 1 a 1 cloroformo y la disolución al 0,01%.

Se realizan por lo tanto pruebas con concentraciones de 1%, 0,1%, 0,01%, 0,005% i 0,001%.

Los espectros obtenidos en la primera muestra, del 1%, se observan a continuación. Por un lado se tiene la representación por transmitancia, pero también se puede observar por absorbancia, obteniendo resultados más visibles y que permiten intuir la concentración con mejor precisión. Como se ve, se percibe claramente un pico alrededor de 1750 cm^{-1} , que representa el doble enlace C=O, presente habitualmente entre $1670\text{-}1820\text{ cm}^{-1}$ [9].

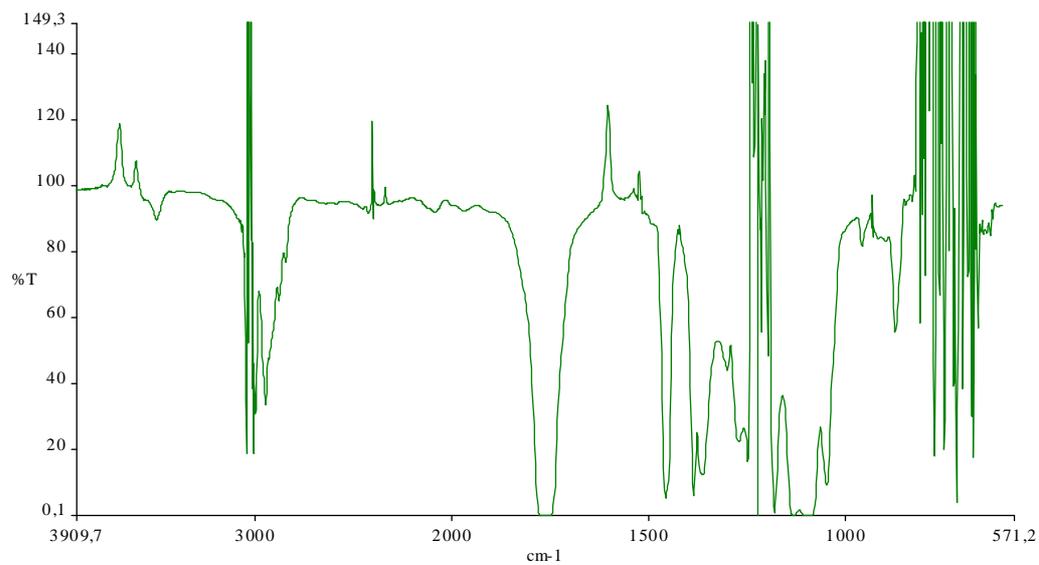


Figura 10 Espectro IR de la transmitancia de la muestra al 1%

El resto de muestras se presentan a continuación:

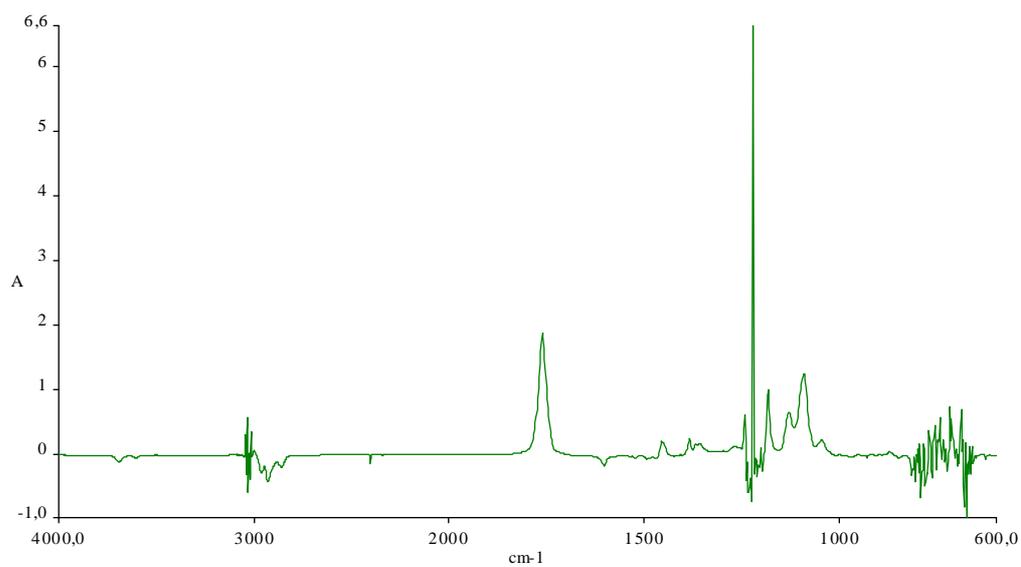


Figura 11 Espectro IR de la absorbancia de la muestra al 0,1%



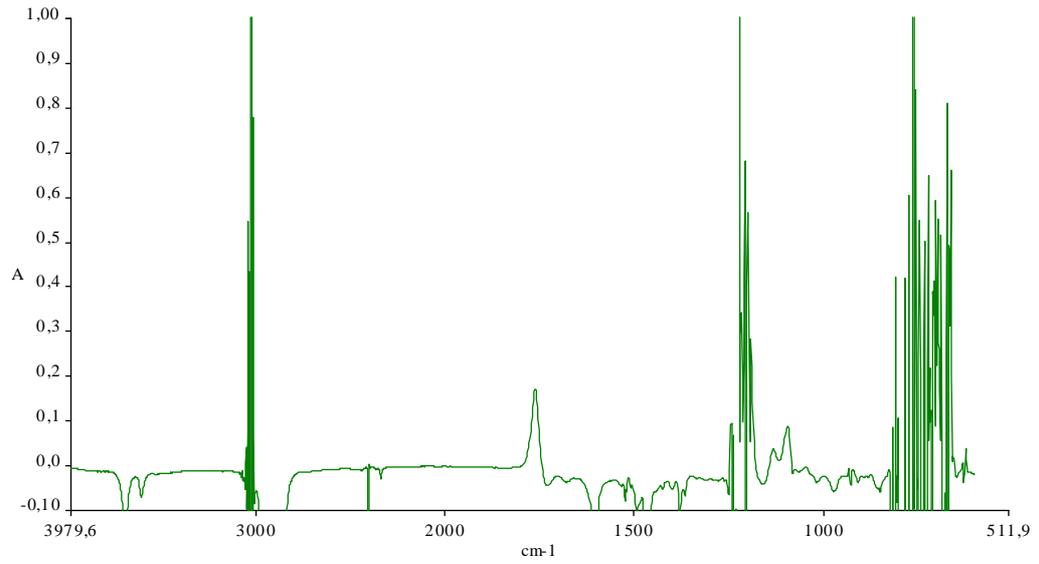


Figura 12 Espectro IR de la absorbancia de la muestra al 0,01%

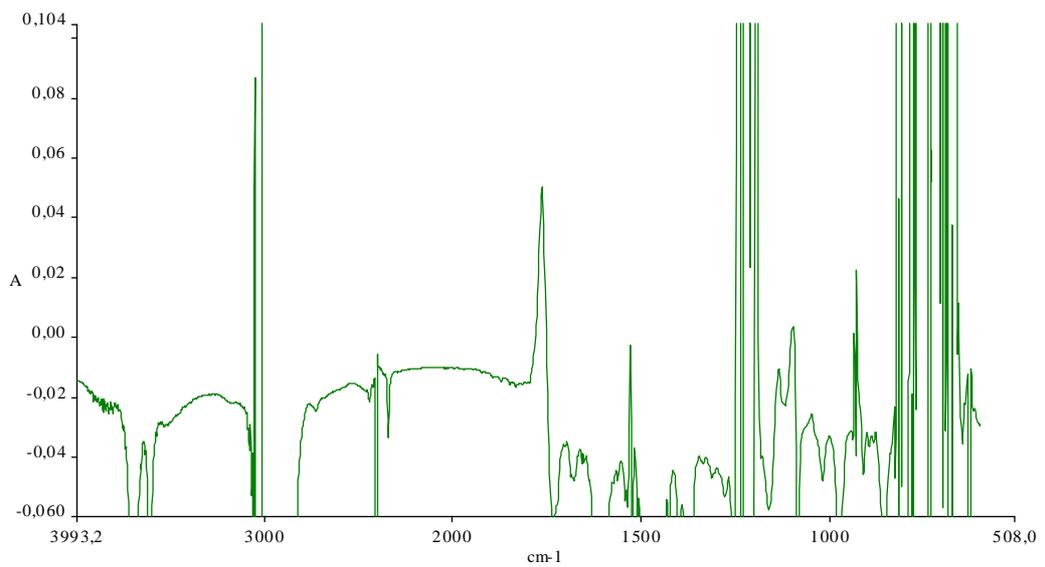


Figura 13 Espectro IR de la absorbancia de la muestra al 0,005%

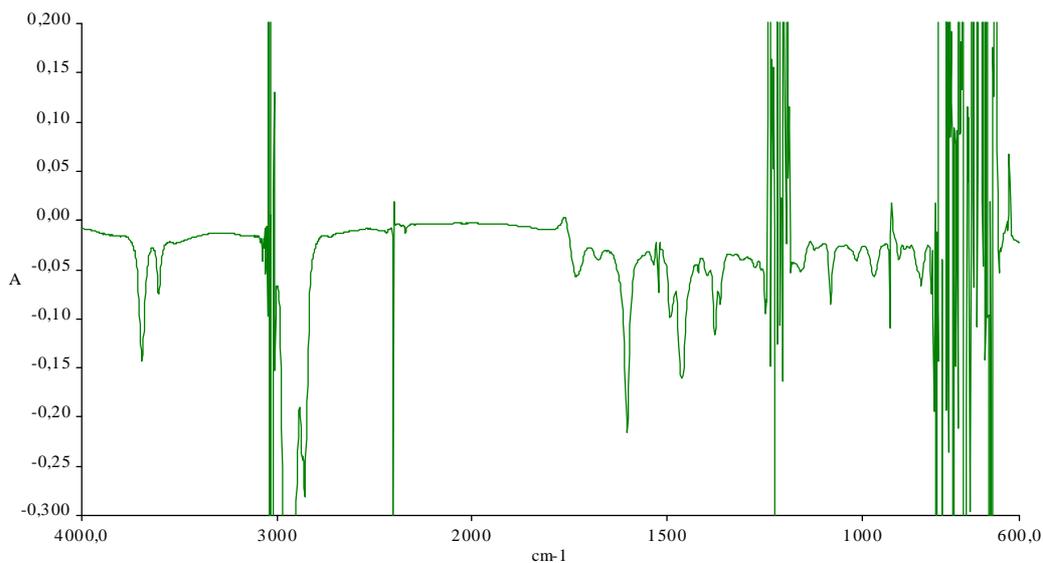


Figura 14 Espectro IR de absorbancia de la muestra al 0,001%

Como se observa incluso en la muestra más diluida se puede apreciar la presencia del pico característico, por lo tanto, y con la base de que se utilizarán concentraciones superiores a este umbral, el experimento se puede llevar a cabo con las especificaciones definidas.

Hay que tener en cuenta que a longitudes de onda cercanas a 800 y a 3000 cm^{-1} el ruido es mucho mayor, debido a que el espectrofotómetro de infrarrojo no es capaz de compensar adecuadamente las fuertes señales del disolvente. El CO_2 del aire y la respiración de los encargados pueden generar señales importantes en magnitud, pero de poco interés, hacia los 2200 cm^{-1} .

4.4. Adquisición de datos

El proceso de adquisición de datos tiene dos vertientes. Por un lado, se lleva a cabo un seguimiento con un elemento integrado en el cromatógrafo, y por otro el análisis cualitativo objetivo de este proyecto.

4.4.1. Seguimiento de control

Para poder comprobar el correcto funcionamiento del montaje objetivo, se propone utilizar un mecanismo que permita controlar la aparición de las especies a detectar. Dada la posibilidad de que ya sea por montaje o por concentración de muestra el detector de IR no tuviera la capacidad de identificar el paso del analito por la celda, es importante tener alguna forma de determinar si realmente hay algo que detectar.



Con este objetivo se utiliza el detector UV integrado en el cromatógrafo, este componente, siendo parte del propio montaje, tiene algunas ventajas respecto al detector que se busca incluir en este proyecto. En primer lugar no requiere establecer canalizaciones añadidas, por lo que su funcionamiento está prácticamente garantizado por la experiencia en su uso, además de tener la certeza de que es capaz de identificar el paso de concentraciones pequeñas. Sin embargo, debe destacarse que las longitudes de onda a las que trabaja no son idóneas para las especies a estudiar, aunque sí es capaz de detectarlas.

Para trabajar con el detector, se utiliza también un software, transformando la señal, que conectada a un ordenador permite obtener un perfil temporal del comportamiento del detector. Este añadido dota de una interfaz sencilla para trabajar. Debe considerarse a la hora de interpretar esta ayuda, que al estar situado antes del paso por el IR, la detección en éste último presenta un desfase de unos segundos. Esto es importante considerarlo durante la realización de la experimentación.

Este montaje, en definitiva, es una simple manera de asegurar que el detector de IR, que es el interés principal del proyecto, funcione correctamente, y por lo tanto no se tratará en los resultados del análisis.

4.4.2. Estudio Analítico

Una vez montado el equipo, el siguiente paso es poner en funcionamiento la experimentación, esto implica establecer la manera de extraer unos resultados del montaje realizado. Para ello se cuenta con el espectrómetro de IR, aparato que permite obtener una señal al paso de las especies de muestra.

Este aparato está conectado a un ordenador que gracias al software Spectra es capaz de mostrar el espectro absorbancia, por ejemplo, del contenido de la celda de IR. Con él se puede por lo tanto adquirir una representación de las propiedades del flujo que cruza la celda a cada momento, aunque este aspecto, y la forma de interpretarlo se verá en el siguiente apartado.

La limitación de este equipamiento es la imposibilidad del software de realizar un análisis continuo del paso de muestra, ya que no permite automatizar el proceso de toma de muestra.

La solución a esta situación es el trabajo manual de obtención de espectros, es decir, tomar cada espectro por separado. Se establece así un sistema que incluye lo siguiente.

En primer lugar, tras iniciar la bomba, se tardará un cierto tiempo en empezar a recibir señal, ya que la muestra debe recorrer todo el sistema, de este modo, se establece un periodo de espera de 5 minutos, durante este tiempo, además se cuenta con el detector de

UV, cuya interfaz sí que permite evaluar la evolución a tiempo real, y por lo tanto tener un indicador si durante este tiempo se percibiera el paso de alguna especie a analizar.

Pasado este tiempo se procede a realizar un espectro del flujo, y se repite el proceso cada 30 segundos. Estos espectros se obtienen de la realización de 4 barridos por paso, es decir, que cada perfil se obtiene de una combinación de 4 análisis realizados en este espacio de 30 segundos entre medida y medida.

Así se consigue un seguimiento suficientemente correcto de la evolución del flujo, y permite identificar la presencia de los polímeros en el paso por el detector.

Cabe destacar que para acelerar el proceso de obtención de datos requeriría por un lado reducir el número de pasos o reducir la resolución del análisis, sin embargo, estas dos medidas, especialmente la segunda, podrían comprometer la fiabilidad del detector, por esta razón, y dado que el tiempo de medida se considera suficiente, se prefiere no manipular más estos parámetros.

4.5. Tratamiento y representación de datos

Para tratar el resultado de la detección de la muestra se utiliza el software que se ha presentado antes, con la ayuda del propio equipo de IR.

4.5.1. Detector de IR

En primer lugar, el detector de IR, como ya se ha presentado trabaja con un espectro de gran variedad de longitudes de onda, que en el equipo se interpretan como rangos de absorción en diferentes bandas de frecuencia, para transformar estos datos en un espectro que estudiar, el equipo cuenta con un proceso, conocido como la transformada de Fourier, que hace que los resultados finales obtenidos sean los espectros continuos que se quiere observar en la pantalla del ordenador.

4.5.2. Tratamiento de datos

A partir del proceso de detección se obtiene gracias al programa Spectra una representación del espectro que se puede manipular para obtener los resultados buscados. Este software permite, por ejemplo obtener una indicación de la transmitancia de la muestra, pero también se puede estudiar según su absorbancia. Con las herramientas de control de eje se puede adaptar la sección a estudiar y ver tan sólo los fragmentos de interés por pantalla.

La limitación más importante de analizarlo mediante este software, es que los valores que



presenta la interfaz no son muy precisos, y la lectura gráfica se encuentra limitada. Sin embargo, los datos que componen la curva del espectro sí se pueden obtener del programa, por ejemplo en formato ASCII, lo que permite a su vez realizar un tratamiento posterior utilizando un programa aparte.

En este caso el programa a utilizar es Excel, que permite unir todos los datos de los espectros obtenidos durante un proceso cromatográfico, algo que no se puede hacer directamente con Spectra, que ofrece los valores de cada toma de datos por separado. Una vez contenidos todos los valores se puede estudiar el valor más exacto de los picos de absorbancia que interesan.

Estos espectros se estudian con el interés de encontrar un comportamiento característico de la muestra en algún punto del espectro. En el proceso de cromatografía, además, se busca comparar los espectros para ver la evolución de la muestra que pasa por el detector. Para ello se pretende tener una manera de incluir la representación gráfica de todo un proceso en un mismo lugar, pudiendo examinar un gráfico 3D.

4.5.3. Representación gráfica

Esto se consigue con un último programa de tratamiento de datos, Origin, con él se puede realizar un tratamiento gráfico de una gran cantidad de datos en una misma hoja de trabajo. Así, se obtiene una representación del espectro en un gráfico absorbancia vs cm^{-1} añadiendo un tercer eje, que en este caso representa la evolución del tiempo.

Este proceso podría realizarse también en Excel, pero debido a la versatilidad del mismo, estas herramientas no están suficientemente optimizadas, y el tiempo y trabajo que supone para el programa obtener resultados, no es viable aprovecharlo.

5. Resultados

Una vez establecidos los parámetros para en diseño del montaje, se puede proseguir con la resolución del proyecto principal, el ensamblaje de las piezas necesarias para lleva a cabo una espectrometría de IR en un proceso de HPLC.

Para ello se cuenta con el diseño en detalle de la celda, los planos de la cual se encuentran a continuación, y la disposición final del montaje funcional. Posteriormente se realizan comprobaciones de que el funcionamiento es el esperado realizando ensayos para obtener unos datos de la manera que ya se ha expuesto.

5.1. Planos

A continuación se presentan los planos, así como un modelo 3D de la celda utilizada en el espectrómetro.



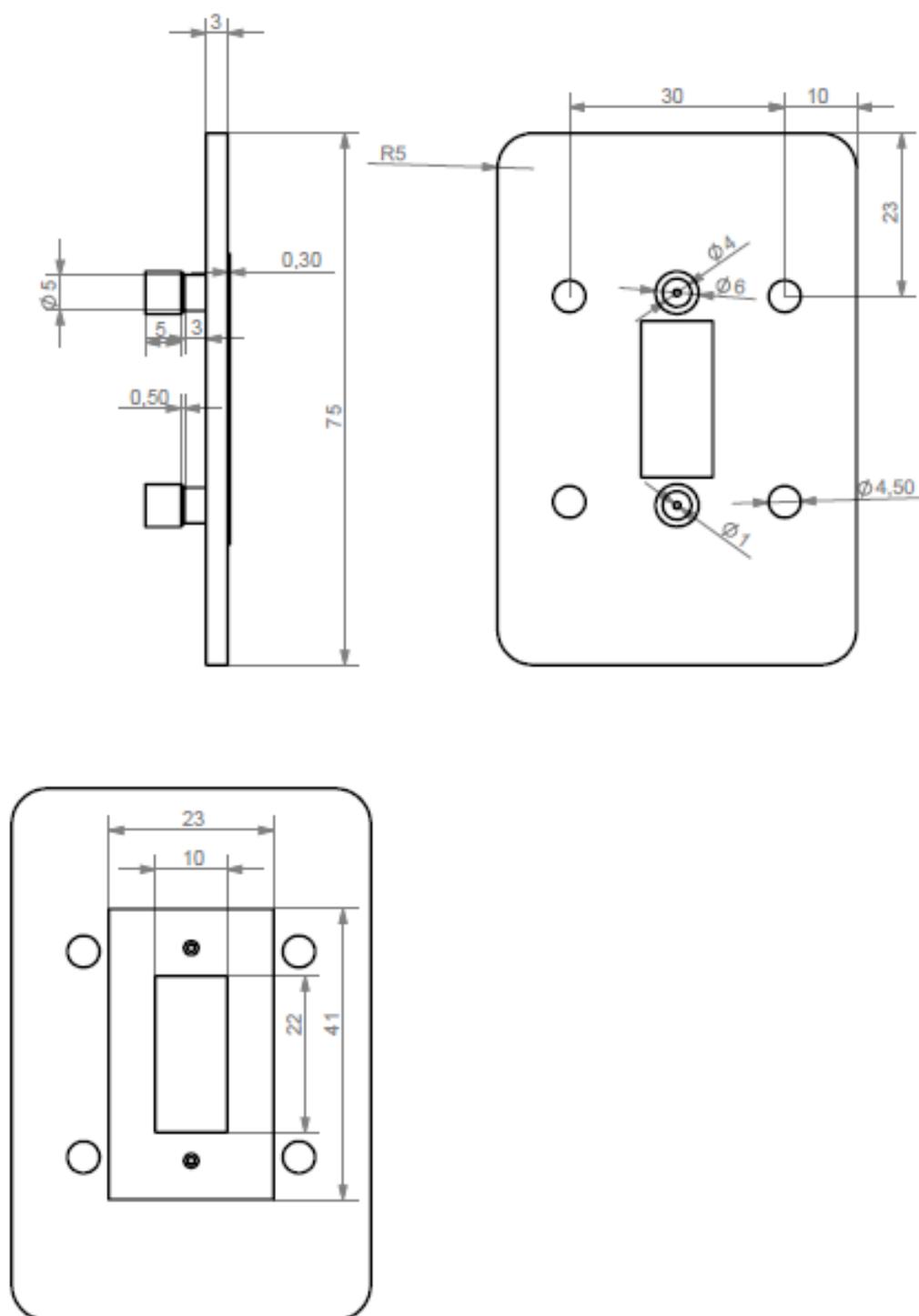


Figura 15 Planos pieza 1 del soporte

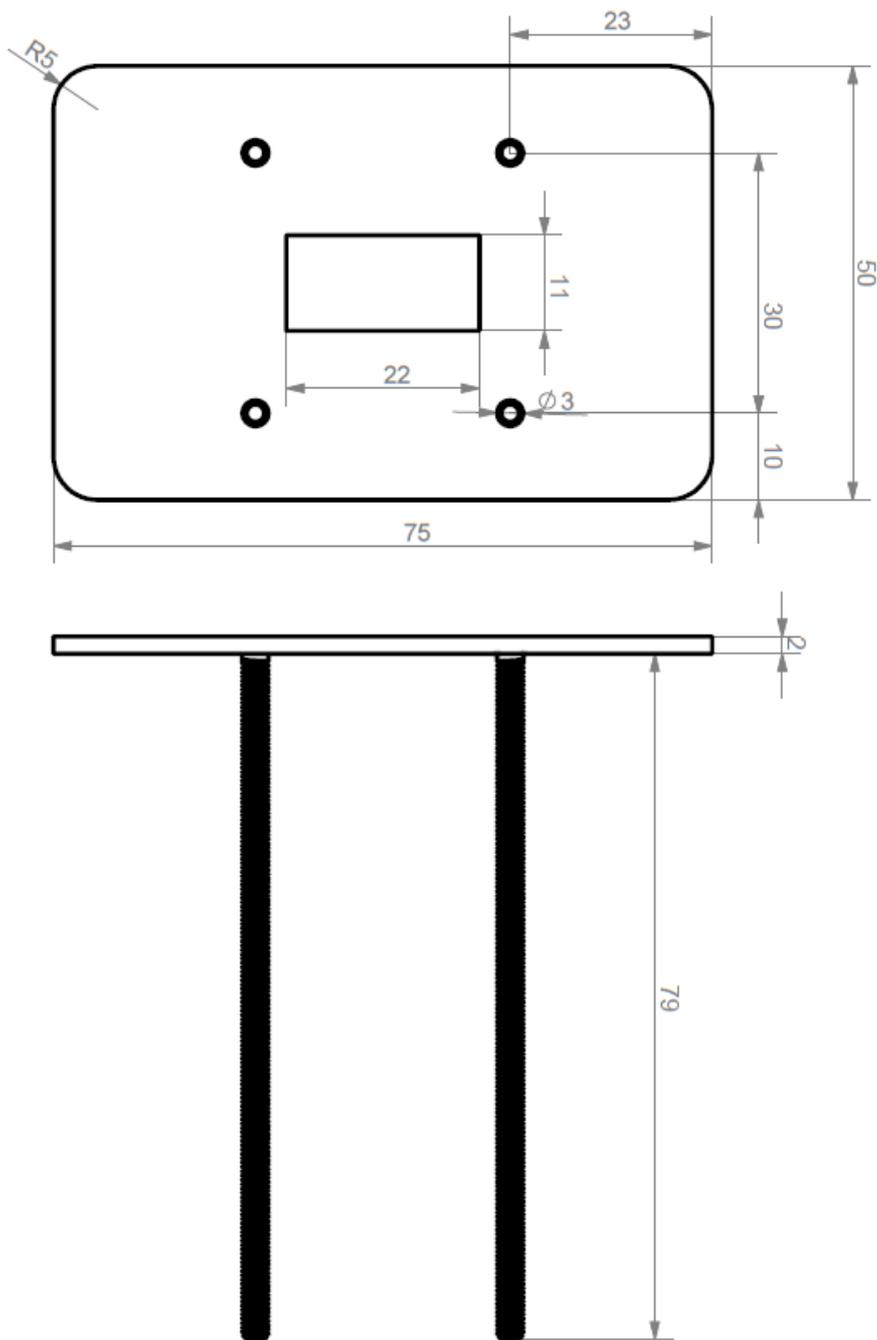


Figura 16 Planos pieza 2 del soporte



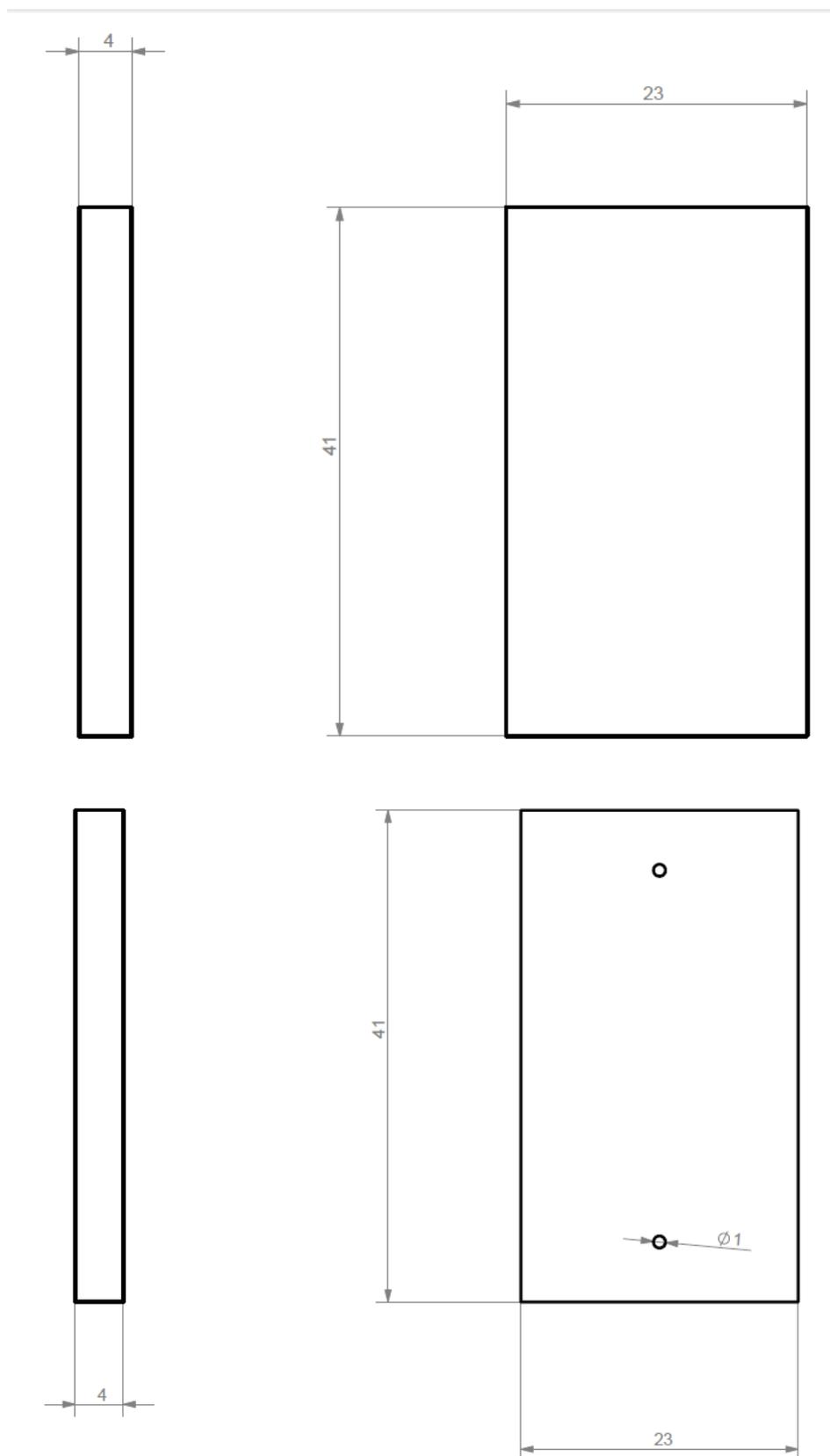


Figura 17 Planos de las ventanas posterior (arriba) y frontal (abajo)

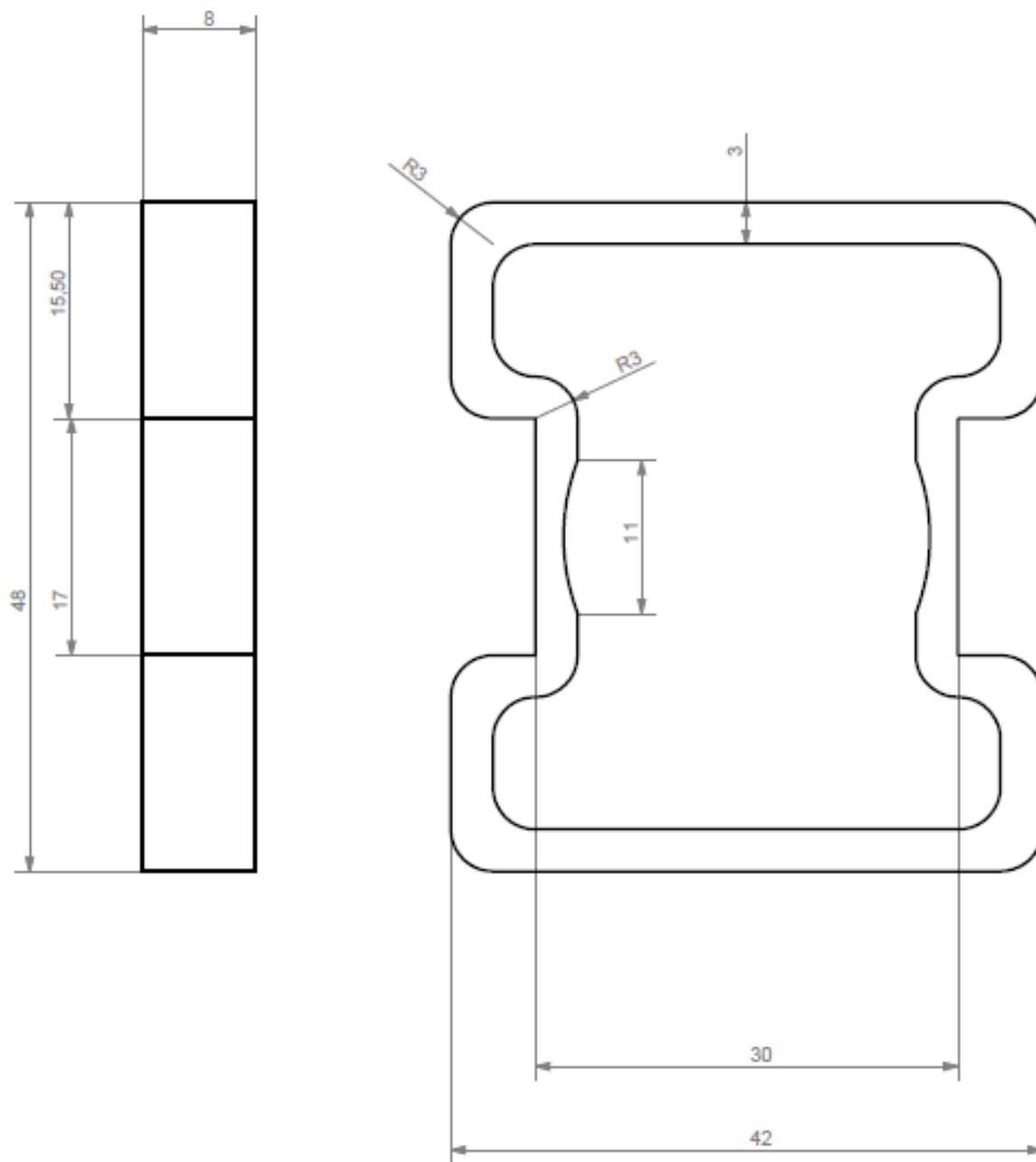


Figura 18 Planos de la pieza de sujeción de la ventana



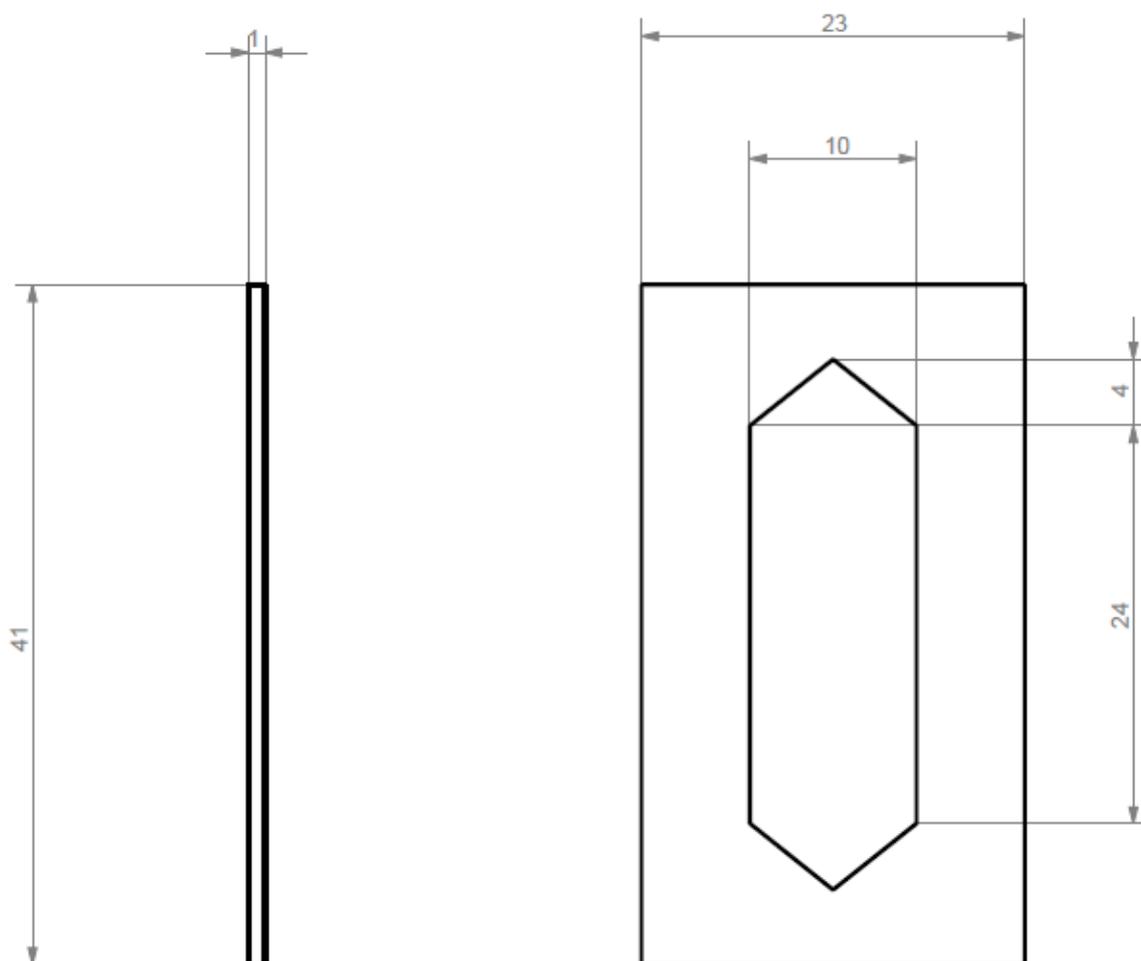


Figura 19 Planos de la pieza de separación

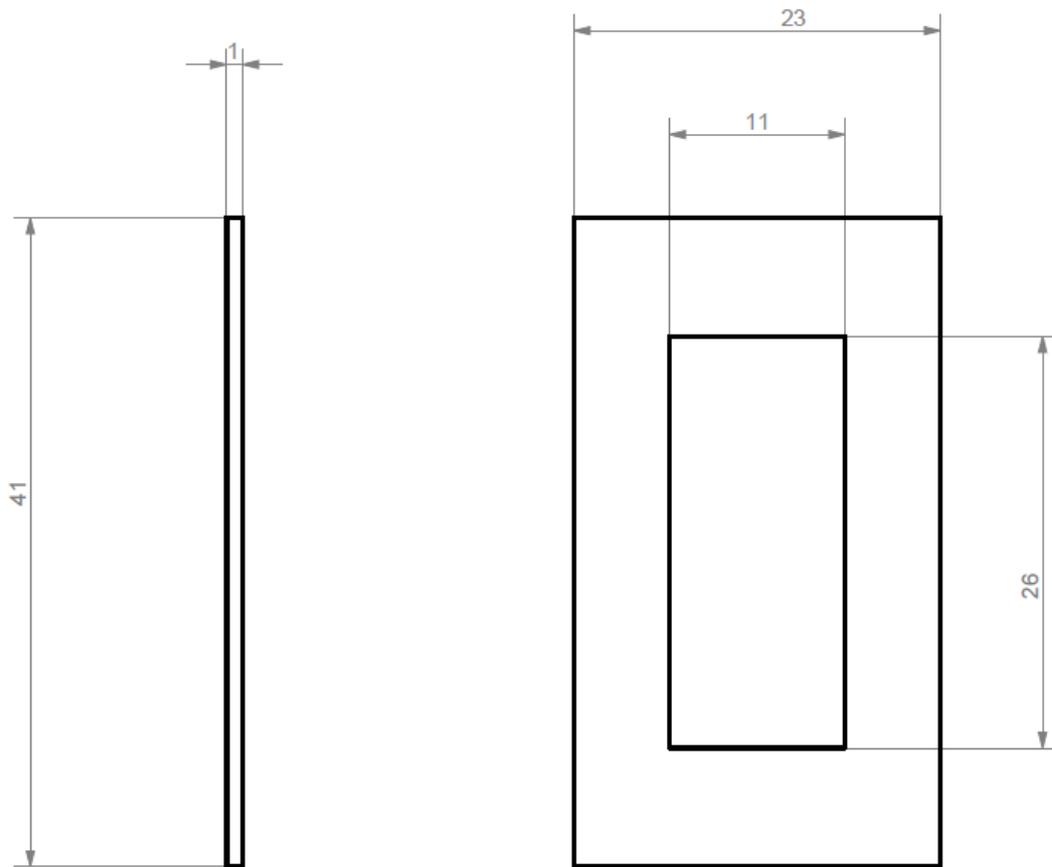


Figura 20 Planos de la almohadilla de apoyo



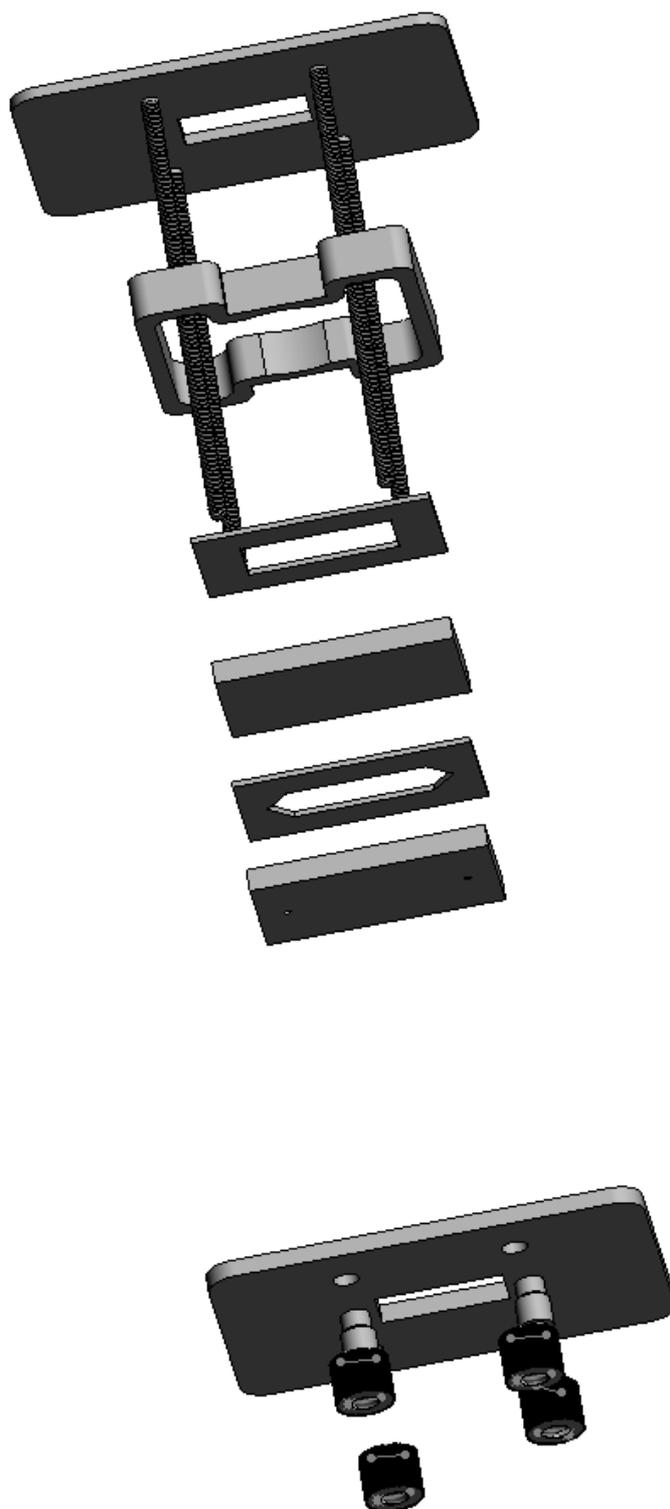


Figura 21 Representación 3D de la celda

Este material se ha obtenido utilizando el programa SolidWorks, en el que se han aplicado unas medidas obtenidas del cuerpo real, comprobando de esta manera que el volumen ocupado es correcto, y que no supone problemas en la aplicación.

5.2. Montaje

Finalmente, los elementos escogidos se conectan en el laboratorio para poder llevar a cabo la experimentación. A continuación se presenta la distribución final de los elementos.

En primer lugar se tiene el HPLC completo, una unidad que como se ha dicho se ha utilizado en el laboratorio con anterioridad. Se pueden observar las distintas partes y sus conexiones.

Empezando por el inyector y su conexión a la bomba, las figuras 22 a 24 muestran su disposición.



Figura 22 Inyector con jeringa de inyección



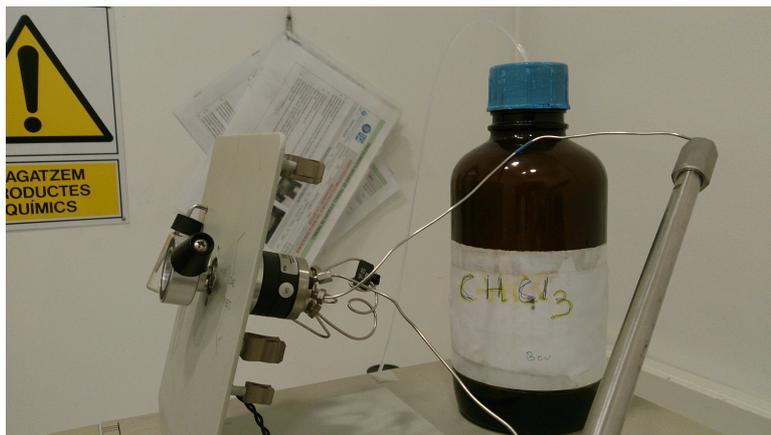


Figura 23 Inyector y recipiente de disolvente



Figura 24 Bomba del HPLC

En las figuras siguientes, de 25 a 27, aparecen tanto la columna cromatográfica como el detector de UV, unido al sistema de control de resultados, acabando con el conjunto que representa la unidad utilizada hasta ahora en el uso de HPLC.

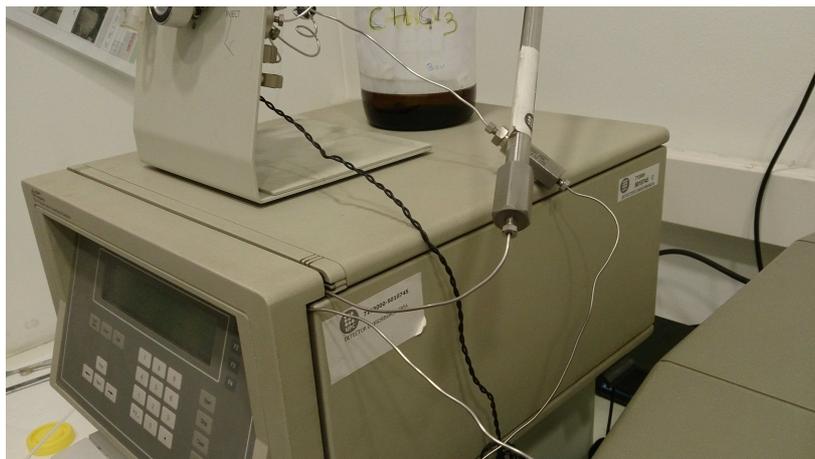


Figura 25 Detector de UV



Figura 26 Columna cromatográfica



Figura 27 Unidad de HPLC



Por otro lado se puede observar en las figuras 28 y 29 el espectrómetro de IR, conectado a un ordenador con el software necesario para interpretar los resultados.



Figura 28 Espectrómetro de IR

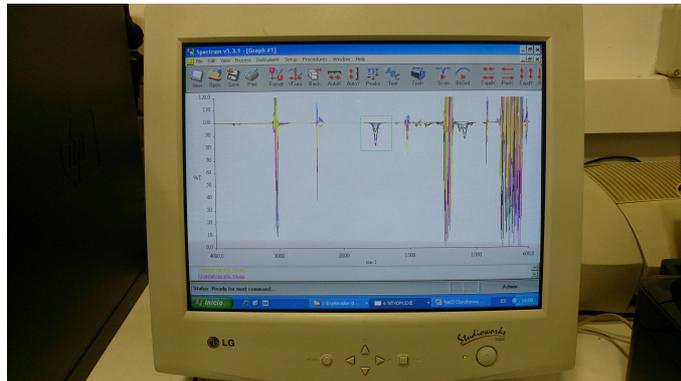


Figura 29 Ejemplo de aplicación del software en el ordenador al que está conectado el detector

Éste contiene la celda, cuyas partes, junto con el conjunto ensamblado, se pueden apreciar en las figuras 30 a 33.

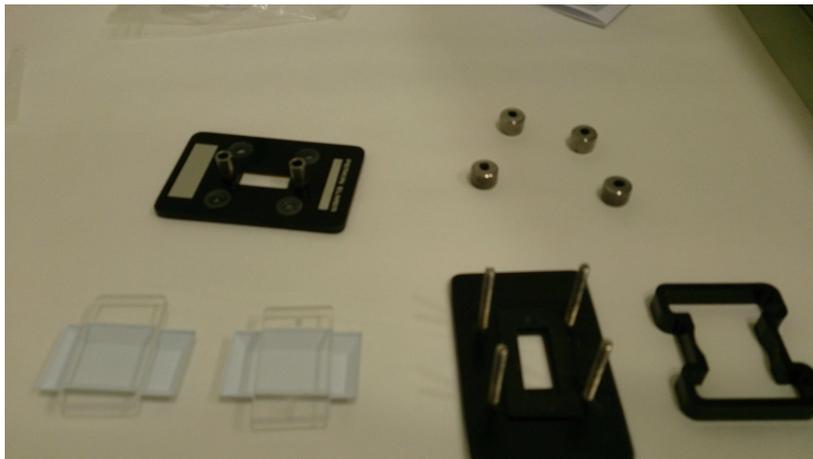


Figura 30 Celda desmontada



Figura 31 Celda montada junto a las muestras de comprobación de concentraciones



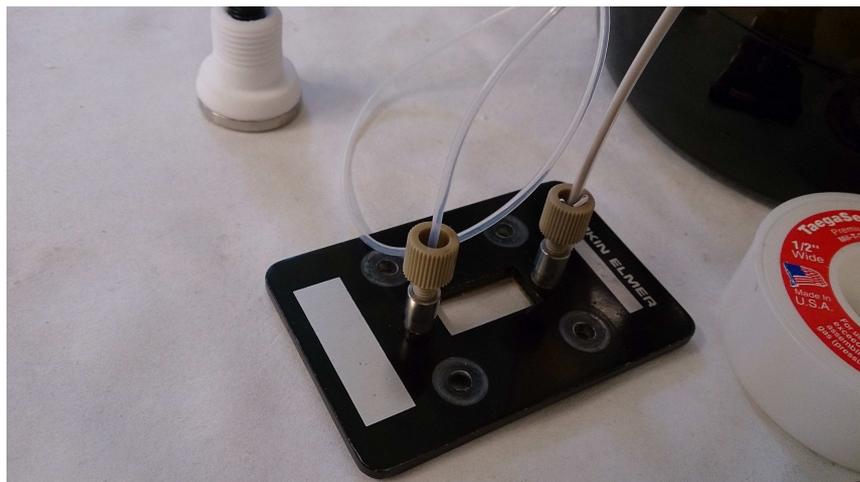


Figura 32 Canalizaciones de la celda



Figura 33 Celda instalada en el detector de IR

Una vez establecido el conjunto, se debe comprobar que las canalizaciones y conexiones no presentan pérdidas. Esto se hace simplemente haciendo recorrer el flujo por todo el circuito. Tras las comprobaciones, y aplicando reparaciones en caso de ser necesarias, también se ha de corroborar que la circulación por dentro de la celda es correcta. Una forma de verlo es monitorizar el momento de llenado de la misma, al iniciar la circulación de disolvente, y ver que se forma un perfil ascendente plano.

Este hecho se puede apreciar en las figuras 34 a 36.



Figura 34 Inicio del paso de muestra por la ventana



Figura 35 Nivel medio de fluido en el interior de la ventana



Figura 36 Llenado de la ventana

Una vez se tiene el montaje y se ha comprobado su correcto funcionamiento, se puede proceder a comprobar que se han cumplido los objetivos del proyecto, aplicando el montaje a una cromatografía real, como se verá a continuación.



En caso afirmativo, se puede aplicar este resultado a diferentes tipos de pruebas y asegurar su viabilidad en diferentes condiciones.



Figura 37 Montaje completo

6. Ensayos

Para comprobar que el funcionamiento del equipo es el correcto, se procede a la realización de diferentes ensayos, con la intención de observar el comportamiento del detector ante según qué situaciones y su capacidad de responder correctamente.

6.1. Preparación para la cromatografía

En todos los ensayos se ha seguido la misma mecánica para preparar la muestra a inyectar en el cromatógrafo. El primer paso es obtener una muestra de cada polímero, ésta se deposita después en un tubo eppendorff, en el que se introducen unos 2 mL de cloroformo. Esta mezcla se deja reposar durante el tiempo suficiente como para que el polímero se diluya.

Según qué ensayo, se requiere tener en cuenta algunas cosas, o se dan situaciones especiales, que se tratarán en su apartado correspondiente.

Cabe destacar que hay que asegurarse de que el polímero queda diluido, especialmente en caso de realizar pruebas a muestras que se ha preparado con mucha anterioridad, el cloroformo se evapora con facilidad, con lo que pasado un tiempo puede dejar las muestras con el polímero depositado en el tubo, y esto no siempre es fácil de ver.

Los ensayos se realizan sobre los siguientes grupos:

Polilácticos

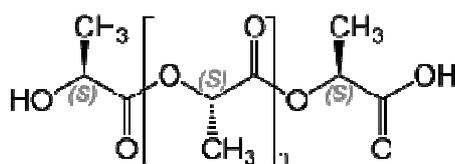


Figura 38 Ácido poliláctico



Polimetilmetacrilato (PMMA)

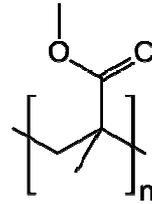


Figura 39 Polimetilmetacrilato

Poliestireno (PS)

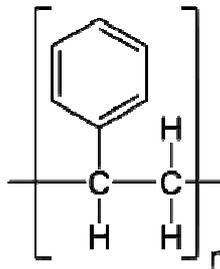


Figura 40 Poliestireno

Acetato de celulosa (CA)

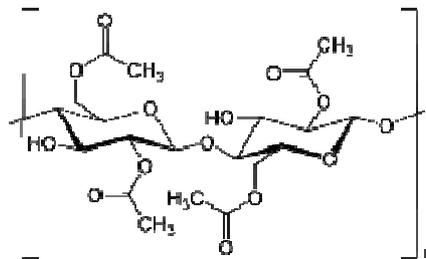


Figura 41 Acetato de celulosa

Copolímero de estireno y acrilonitrilo (SAN)

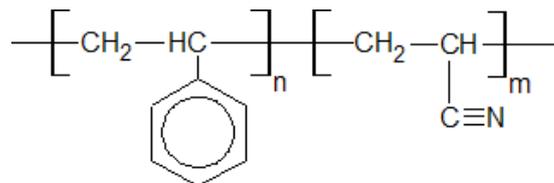


Figura 42 Copolímero estireno acrilonitrilo^[10]

6.2. GPC Polímero de muestra: Poliláctico

Para empezar se realiza el estudio cromatográfico del polímero conocido como poliláctico, el mismo que se ha utilizado para preparar las muestras a bajas concentraciones. El pico a identificar en este caso vuelve a ser el enlace C=O a unos 1750 cm^{-1} .

Sin embargo de este polímero se cuenta con diversos estudios, con estas pruebas se pretende estudiar la diferencia entre polímeros de distinto peso, así como el efecto de la degradación de los polímeros.

6.2.1. Poliláctico de referencia

El primer ensayo se realiza sobre un polímero poliláctico considerado como de referencia, con características medias para el interés de este ensayo.

Tras realizar la cromatografía, se puede observar que efectivamente el pico esperado está presente.

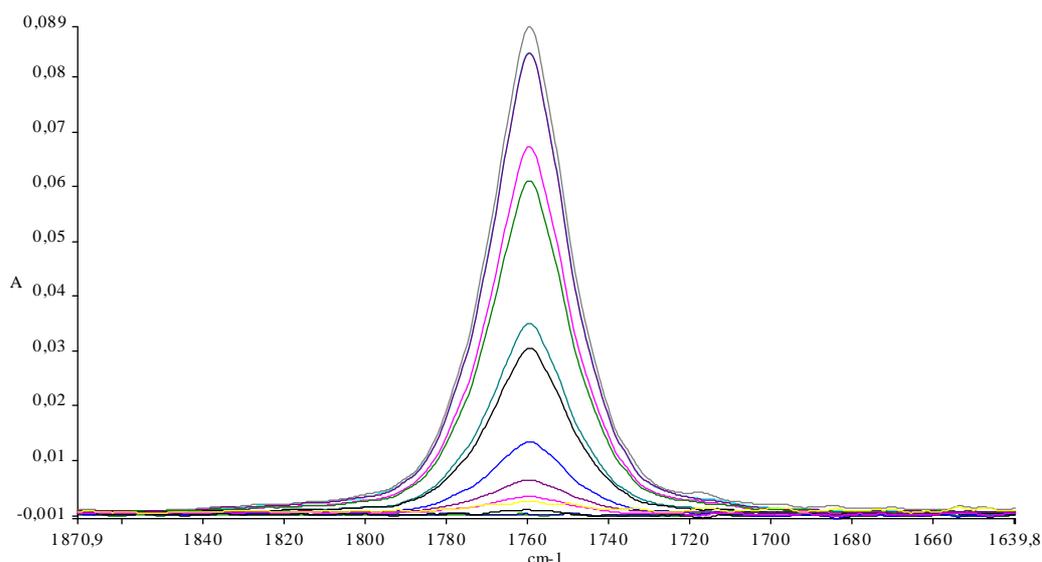


Figura 43 Espectro de las diferentes medidas en el tiempo para poliláctico de referencia

Como se ve a cada color le corresponde un tiempo, de manera que se puede llegar a leer el momento en el que se empieza a detectar muestra y cuando deja de verse.

Sin embargo, para facilitar la interpretación de los resultados y como ya se ha expuesto anteriormente, se utiliza el programa Origin para obtener una representación más práctica.



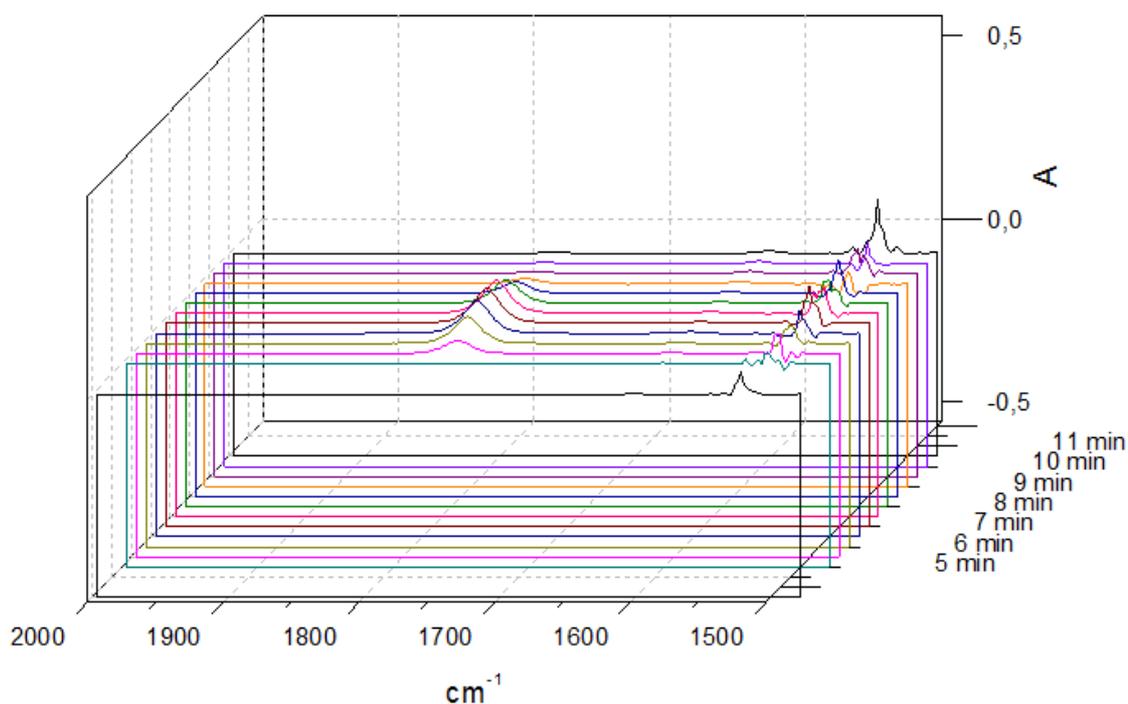


Figura 44 Evolución en el tiempo del espectro obtenido para un poliálctico de referencia en el proceso GPC

De esta manera resulta más sencillo ver qué momento, que como ya se ha dicho están separados entre ellos por 30 segundos, es el que presenta el inicio de la observación, 5,5 minutos en este caso, y como se alcanza el máximo, en 7 minutos en la representación anterior.

Tanto en este caso como en los siguientes, se podría intentar interpretar el rango de longitudes de onda cercano a los 3600 para observar la presencia de OH, que podría dar una idea de la longitud de la cadena, ya que los OH son extremos, así que a mayor densidad de OH, por lo tanto de señal, que dé la muestra, más cortas serían las cadenas.

Sin embargo y como se puede comprobar, la cantidad de ruido presente en ese rango es demasiado grande para obtener conclusiones fiables.

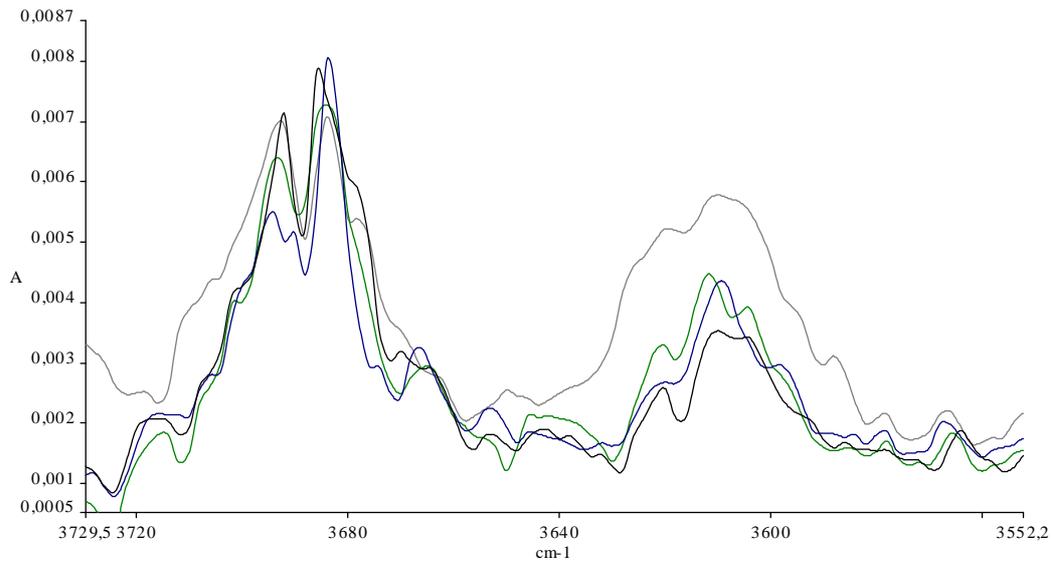


Figura 45 Espectro de IR del poliláctico de referencia

6.2.2. Polilácticos de diferente peso molecular

Si realizamos la misma experiencia, pero aplicada en este caso a polímeros de alto o bajo peso molar, el resultado debería ser similar, se obtendría por lo tanto un pico en el mismo lugar, pero en este caso desplazado en el tiempo.

Esto se puede comprobar llevando a cabo la experimentación, de la que se obtienen los siguientes resultados.



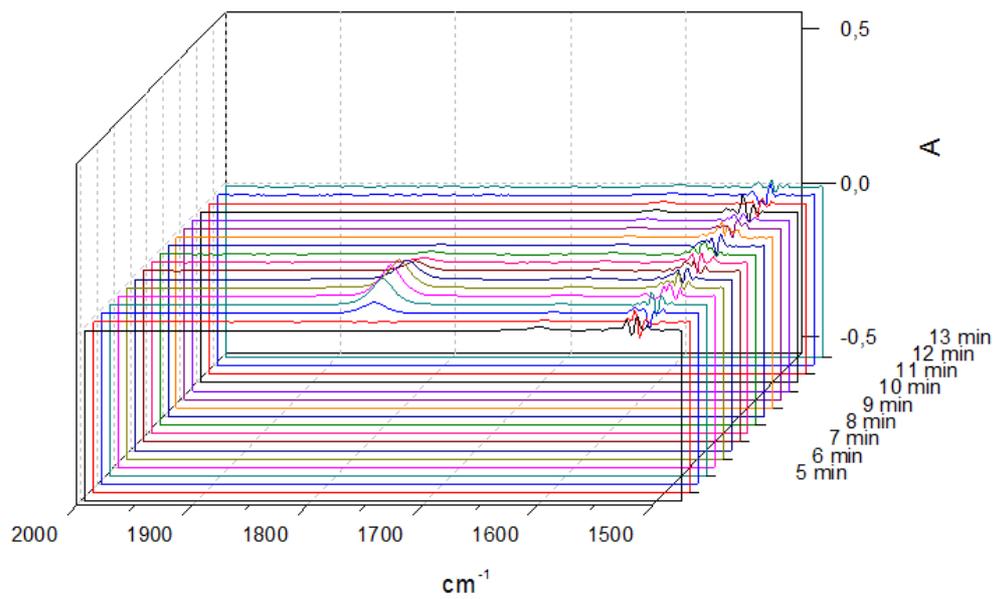


Figura 46 Evolución temporal del espectro de IR de un poliláctico de alto peso molar sometido a un GPC

En este caso se puede observar que el pico máximo se sitúa a los 6 minutos, es decir, ligeramente antes que el en caso del polímero de referencia.

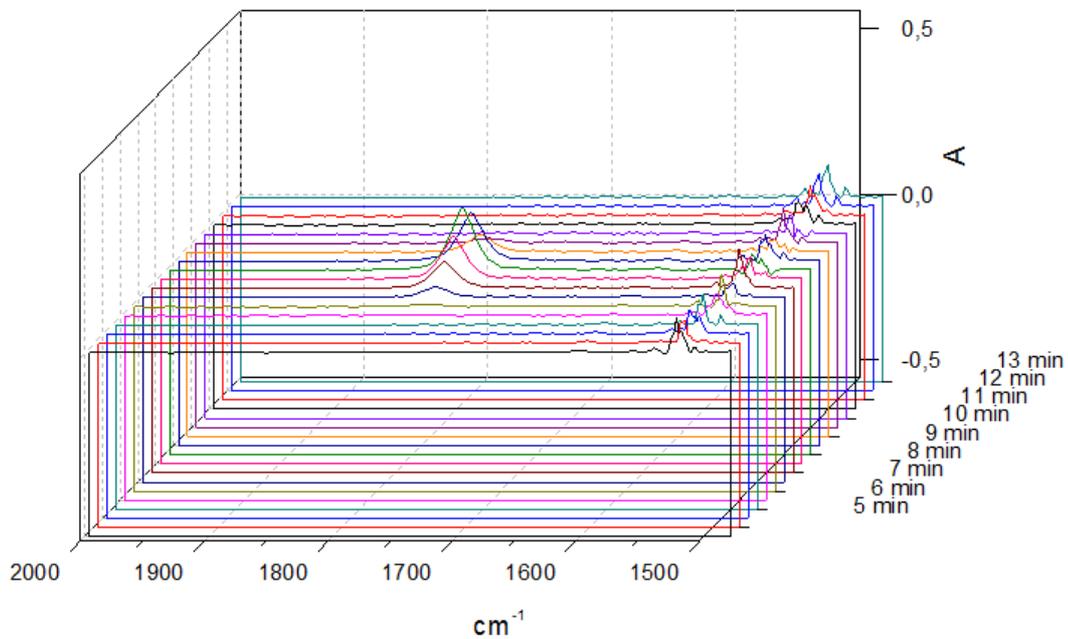


Figura 47 Evolución temporal del espectro de IR de un poliláctico de bajo peso molar sometido a un GPC

En este caso se ve a simple vista como el pico de absorbancia aparece mucho más tarde que en los casos anteriores, en torno a los 9 minutos establece la máxima respuesta.

Estos dos resultados corroboran el funcionamiento del GPC, ya que al introducir muestras de mayor peso, es decir cadenas largas y más grandes, la salida de la columna es más rápida que en el caso de muestras de peso menor, que son retenidas en la columna, como era de esperar.

También se deduce de estas pruebas que el poliláctico de referencia tiene un peso molar relativamente alto, más cercano al polímero de alto peso que al de bajo, teniendo en cuenta que se conoce esta información de ellos.

6.2.3. Poliláctico degradado

La siguiente parte de la experimentación tiene como objetivo observar el comportamiento de un polímero que ha sido degradado biológicamente, para ello se cuenta con muestras del poliláctico de referencia que se ha dejado degradar durante ciertos periodos de tiempo, se tienen muestras a 0 semanas, 4 semanas, 8 semanas y 10 semanas.

El estudio de los cambios que padecen pueden permitir determinar la forma en la que se degradan, así como el tiempo que pueden tardar.

A continuación se presentan los resultados de la experimentación con las muestras degradadas de polímeros.



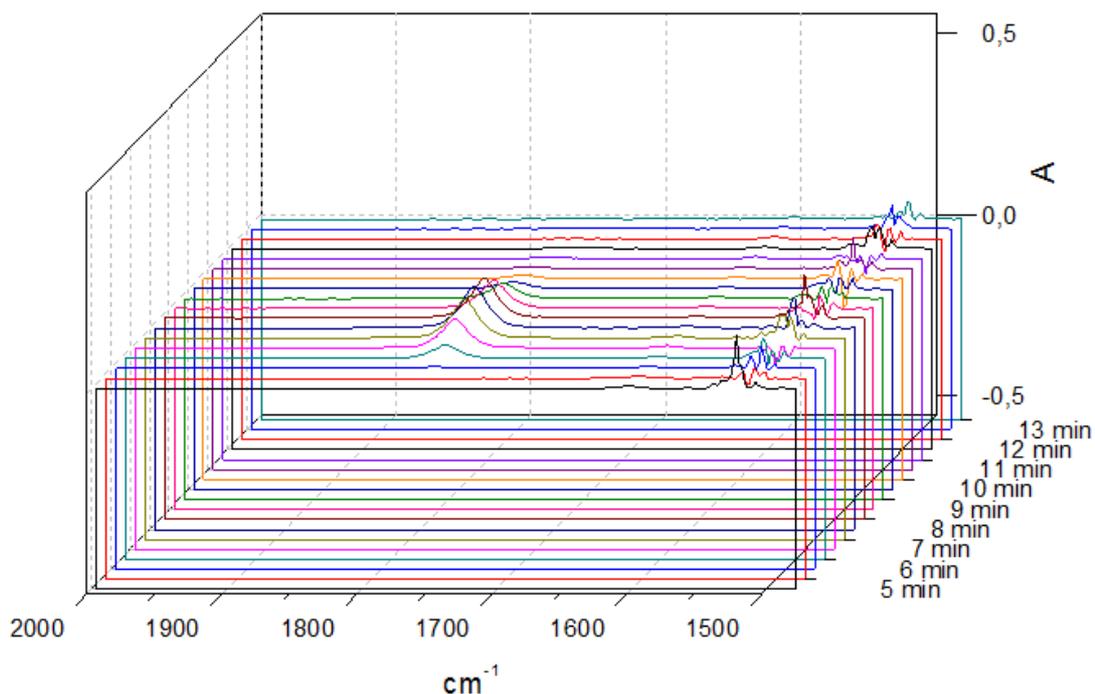


Figura 48 Evolución temporal del espectro de IR de un poliláctico degradado durante cero semanas

Es fácil ver que el resultado es prácticamente igual al del poliláctico de referencia, aunque quizá ligeramente desplazado hacia tiempos más largos por el contacto, por corto que sea, con agentes degradantes.

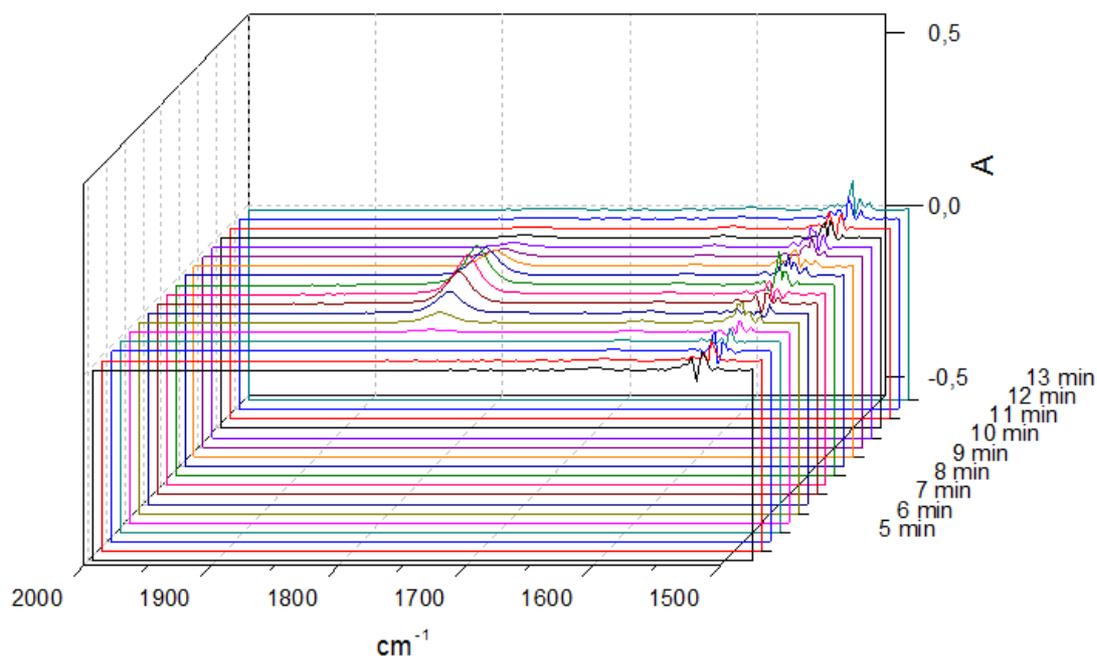


Figura 49 Evolución temporal del espectro de IR de un poliláctico degradado durante cuatro semanas

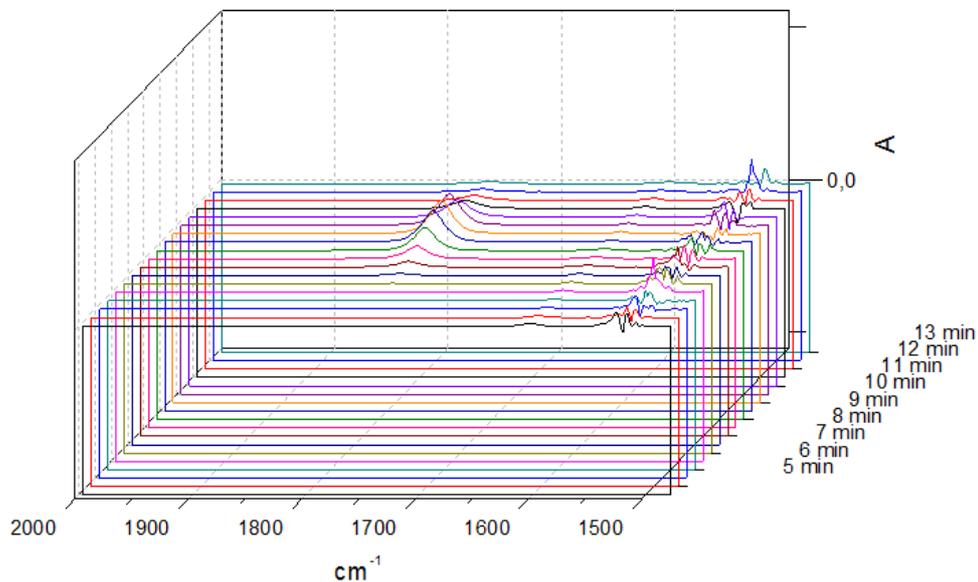


Figura 50 Evolución temporal del espectro de IR de un poliláctico degradado durante ocho semanas



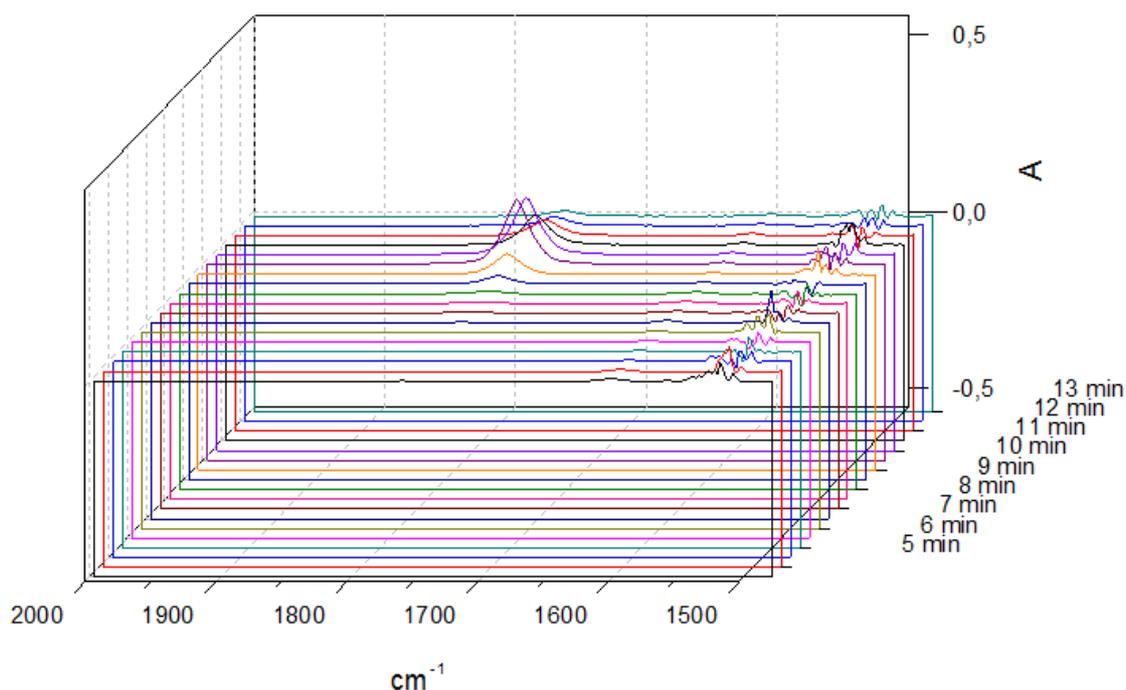


Figura 51 Evolución temporal del espectro de IR de un poliláctico degradado durante diez semanas

Se puede apreciar como a medida que avanza el tiempo, el polímero aparece en momentos más tardíos, esto es porque como ya se ha visto antes, la degradación de polímeros tiene como una de las principales consecuencias la reducción de la longitud de las cadenas, y por lo tanto la reducción del tamaño y peso de las mismas.

En los últimos análisis la diferencia sigue siendo apreciable, a pesar de que, en primer lugar, el polímero puede no ser fácil de degradar más allá, y el hecho de que la ventana de tiempo es menor.

6.3. GPC de otros polímeros

Además del poliláctico, se cuenta con otro tipo de polímeros que se someten a las mismas pruebas.

6.3.1. Acetato de celulosa

En este caso se pretende hacer el estudio sobre el acetato de celulosa, sin embargo, la disolución de este polímero en el cloroformo es extremadamente lenta, sin embargo, el

resultado de una espectrografía da una señal, esta se debe no al CA, sino a un aditivo para hacer los plásticos más sensibles, el DEHP, di(2-etilhexil)ftalato.

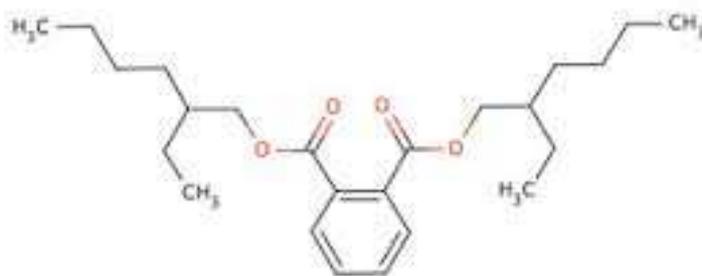


Figura 52 DEHP

La presencia de enlaces C=O del éster hace que se reciba una señal similar a la de los otros casos.

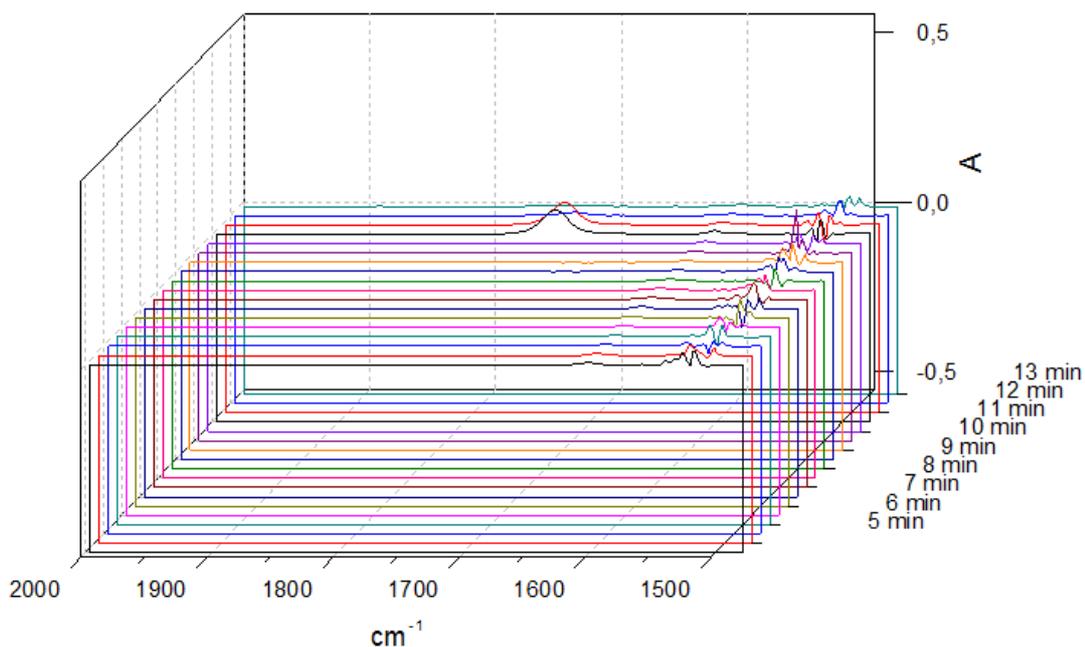


Figura 53 Evolución temporal del espectro de IR de DEHP

Se observa que al ser la molécula más pequeña, sale relativamente tarde de la columna.



6.3.2. Polimetilmetacrilato

El estudio del polimetilmetacrilato da los siguientes resultados.

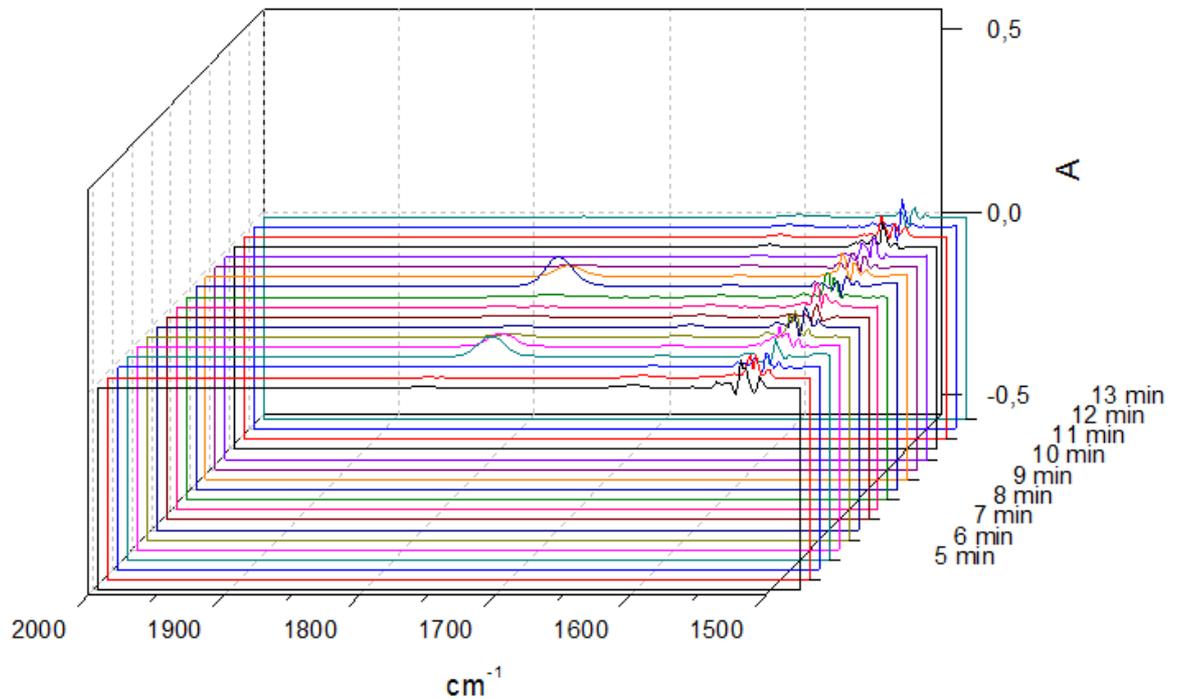


Figura 54 Evolución temporal del espectro de IR de PMMA

Lo primero que se observa es que en este caso no se percibe un pico, sino dos distintos separados en el tiempo. Esto se debe a que la muestra de PMMA no está formada por un solo tipo del polímero, es una mezcla de un PMMA de masa 500k y otro de masa 20k.

Así, las moléculas de peso mayor salen mucho antes que las más pequeñas, que quedan retenidas mostrando el pico más alejado en el tiempo.

6.3.3. Poliestireno

Los resultados del poliestireno son los siguientes.

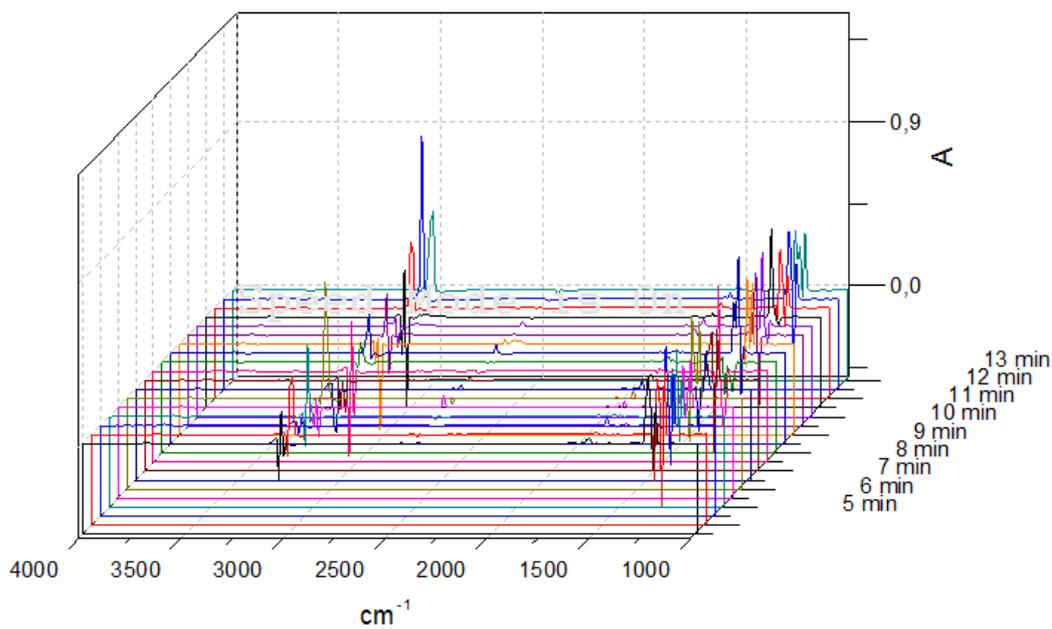


Figura 55 Evolución temporal del espectro de IR de PS

En este caso no se observan datos de interés, el pico en el que se sostenían los análisis anteriores no está presente en este caso, y el resto de posibles lecturas quedan enmudecidas por el ruido y la presencia del cloroformo, que pese a ser simplemente un fondo, sigue formando parte de la mezcla.

6.3.4. Copolímero SAN

De la misma manera, en el caso del copolímero SAN los resultados son difíciles de leer.



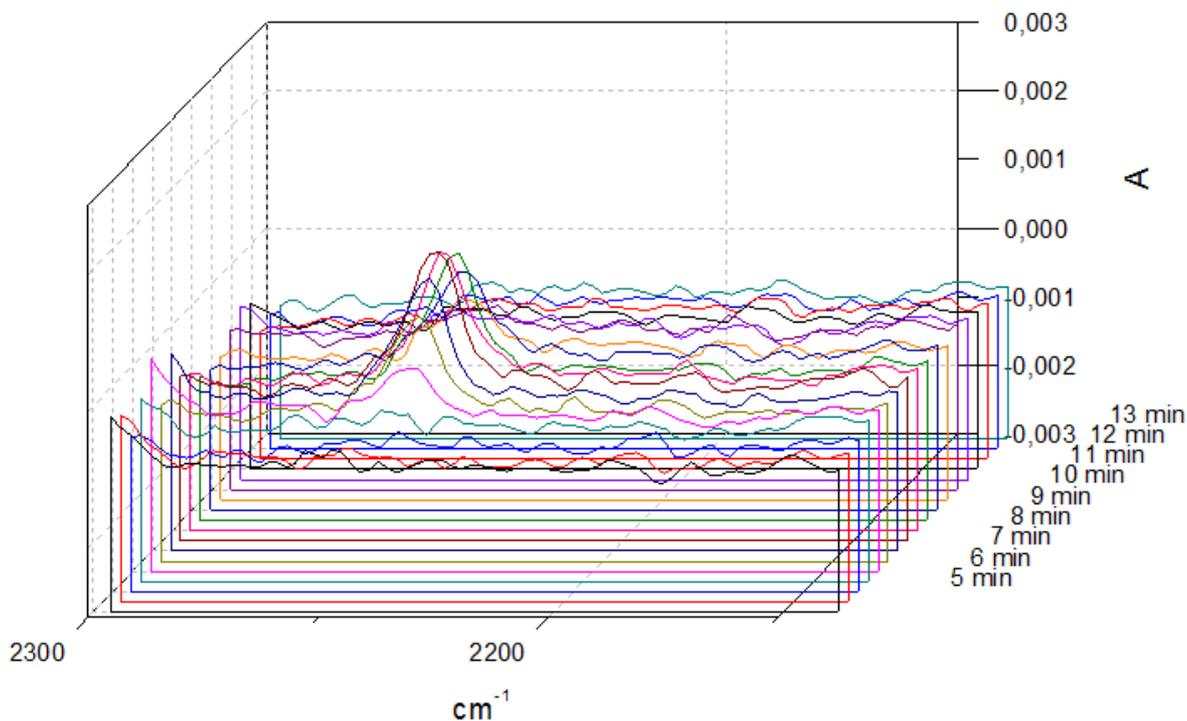


Figura 56 Evolución temporal del espectro de IR de SAN

Si se hace un aumento suficiente en esta región, parece que se puede intuir un cambio en la señal a unos 2250 cm^{-1} . Pero los niveles de absorbancia son tan minúsculos, que es difícil establecer si es un dato fiable.

Este punto podría darse por la presencia del nitrilo en la estructura del copolímero, pero en todo caso no permitiría determinar la cantidad relativa de un monómero frente al otro, que sería la principal intención de este ensayo.

6.4. Pruebas individuales

También se han realizado unas comprobaciones finales haciendo un espectro de los polímeros sin someterse al proceso cromatográfico, los resultados permiten ver la presencia de los picos estudiados, y la mejor resolución hace que permitan ser estudiados con mayor facilidad para identificar los picos que se deberán buscar en los espectros cromatográficos.

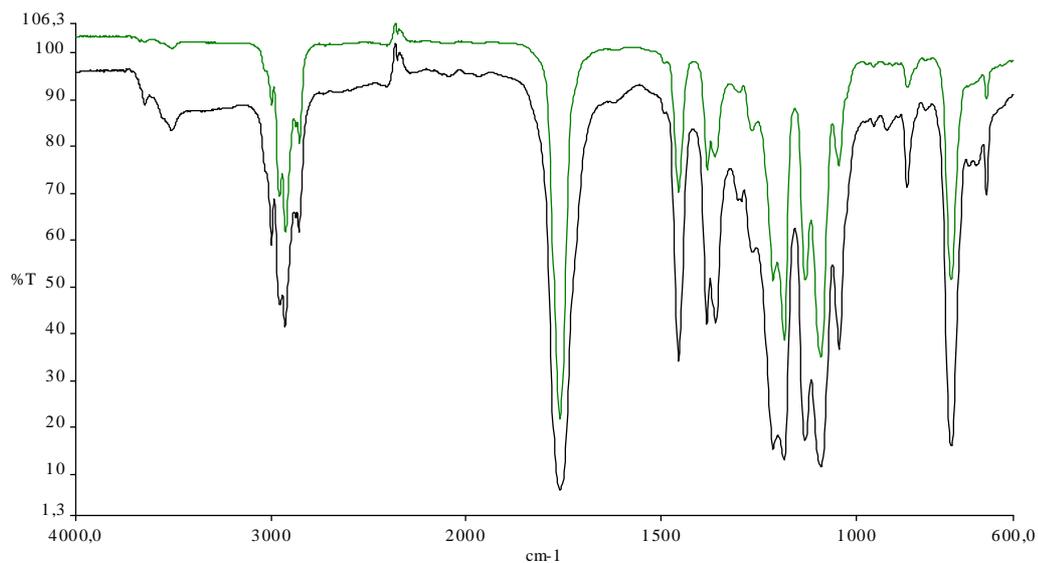


Figura 57 Comparación del poliláctico degradado 0 vs 10 semanas

Se puede ver que los picos presentes son básicamente los mismos, ya que en esta prueba no se puede apreciar la diferencia del peso en el pico de 1750 cm^{-1} . Sin embargo se puede apreciar en el rango de acción del OH, que antes no era de utilidad, como en el degradado a 10 semanas, es decir, con cadenas más pequeñas, la señal de OH destaca más. Esto es probablemente debido a su mayor prominencia en relación al total, por lo que tiene más probabilidades de interactuar con la luz, al estar más presente en la muestra.

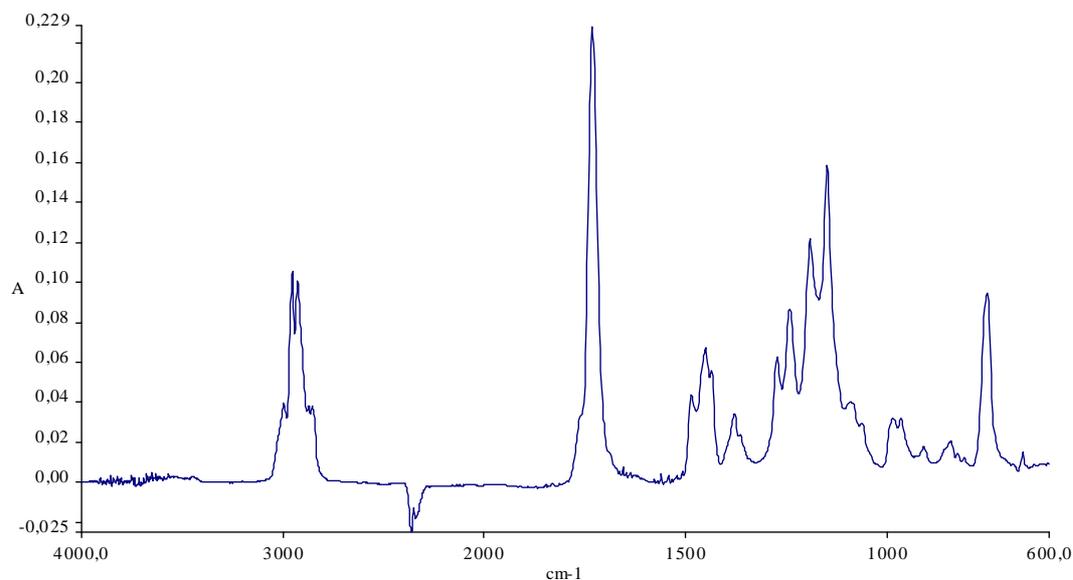


Figura 58 Espectro IR de PMMA



Otro ejemplo es el PMMA, en este espectro es mucho más fácil apreciar el pico, que sobresale por encima del resto de señales.

7. Estudio económico

Para determinar el interés de este proyecto es importante asegurar que el coste que suponga llevarlo a cabo sea adecuado a las posibilidades de mejora del mismo, así como las posibilidades de los interesados de costear los gastos que conlleva. Por eso, es importante analizar en qué y cuánto dinero requerirá como inversión poner en marcha el proyecto.

Los costes totales de este proyecto se pueden clasificar según su uso, así se calculan unos costes de material, de coste humano de las personas que lo realizan y el consumo energético y de agua.

A continuación se detallan estos conceptos.

7.1. Coste material

El coste del material usado se puede dividir en dos categorías, por un lado se encuentran los reactivos utilizados en las pruebas, que se desglosa en la tabla 1. En la tabla 2, en cambio, se presentan los precios del equipo utilizado en la experimentación.

Reactivos	Consumo(kg)	Precio (€/kg)	Coste (€)
Polímeros	0,005	1,00	0,00
Cloroformo	1 L	45,60 €/L	45,60
TOTAL			45,60

Tabla 1 Coste de reactivos

Los polímeros utilizados se obtiene de muestras utilizadas en el laboratorio, y la cantidad requerida de cada uno es muy reducida, por esto, el precio de su utilización como reactivos se puede negligir.

La celda entera compuesta de unas ventanas de NaCl, el soporte y los espaciadores suponen un coste de 201,43 euros.



Material	Consumo (unidades)	Preu (€/unidad)	Coste (€)	Vida útil
Erlenmeyer (100 mL)	2	4,86	9,72	Reutilizable
Viales cristal (10 mL)	10	0,4	4	Reutilizable
Par ventanas NaCl Specac	1	107,73	107,73	Reutilizable
Par ventanas CaF2 Specac	1	428,28	428,28	Reutilizable
Jeringa inyección (100 µL) Hamilton HPLC syringe	1	120,60	120,60	Reutilizable
Celda desmontable para IR Specac Omnicell	1	92,70	92,70	Reutilizable
Guantes	30	0,3	9	Un solo uso
Material papelería			10	Un solo uso
Material laboratorio vario			25	Reutilizable
Cromatógrafo HPLC Waters Completo con bomba, inyector manual, detector UV y sistema de adquisición de datos	1 40 horas de utilización	15000	amortizació n a 10 años, coste 30	Amortizable
Columna GPC Polymer laboratories	1 40 horas de utilización	1200	amortizació n a 5 años, coste 10	Amortizable
Espectrofotómetro de IR Perkin Elmer	1 60 horas de utilización	14500	amortizació n a 10 años, coste 43,5	Amortizable
TOTAL			890,53	

Tabla 2 Costes de material

7.2. Coste humano

El coste humano incluye el dinero necesario para contratar los servicios del personal cuya participación es necesaria para la realización del proyecto. En este caso se trata de un ingeniero químico, que realiza el proyecto, y un doctor en ingeniería química encargado de la supervisión, dirección, tutoría y colaboración en el proyecto.

En la tabla 3 se especifican los tiempos dedicados por los involucrados, incluyendo tanto el trabajo de laboratorio, como la labor de investigación y redacción realizada. Junto a estos datos se plantean los precios a pagar por el trabajo realizado.

Trabajador	Nº de horas	Precio (€/hora)	Coste (€)
Ingeniero Químico	480	12	5760
Doctor	50	25	1250
TOTAL			7010

Tabla 3 Coste humano

7.2.1. Planificación

A continuación se presenta una tabla especificando el uso del tiempo dedicado al proyecto.

		Tiempo								
		10 - 28 febrero	1 - 19 marzo	20 marzo - 9 abril	10 - 30 abril	1 - 19 mayo	20 mayo - 9 junio	10 - 30 junio	1 - 8 julio	
Actividades	Búsqueda bibliográfica									
	Selección de opciones									
	Diseño inicial									
	Diseño final									
	Montaje									
	Ensayos									
	Planos									
	Escritura de la memoria									
	Preparación defensa									

Tabla 4 Programación del proyecto



7.3. Coste de agua y electricidad

El trabajo experimental implica un consumo de recursos que no se puede ignorar, tanto la electricidad utilizada en el funcionamiento del equipo, como el agua gastado limpiando el material después de las pruebas deben tenerse en cuenta al determinar el coste del experimento. La tabla 5 establece el consumo de potencia de los elementos utilizados, así como el precio de la electricidad por kWh, dando así el coste total.

Aparato	Potencia máxima (W)	tiempo (h)	Consumo (kWh)	Precio (€/KWh)	Coste (€)
HPLC	2000	40	80	0,123	9,84
Espectrómetro IR	3000	60	180	0,123	22,14
Varios			25	0,123	3,08
TOTAL					35,06

Tabla 5 Coste de electricidad

El concepto de consumo varios incluye el coste de aparatos ordinarios presentes en un laboratorio, estos incluyen entre otros la calefacción, la luz o los ordenadores.

En la tabla 6 se puede apreciar el coste de agua relacionado con la limpieza de los equipos utilizados. Dada la reducida magnitud de la experimentación el equipo utilizado es bastante reducido, y los gastos también son pequeños.

Proceso	Consumo (L)	Precio (€/m3)	Coste (€)
Limpieza material	50	3	0,15
TOTAL			0,15

Tabla 6 Coste del agua

Servicio	Coste (€)
Electricidad	35,06
Agua	0,15
TOTAL	35,21

Tabla 7 Coste total de servicios

El coste final de los servicios se sitúa en 35,21 €

7.4. Coste total

El coste total del proyecto se puede calcular sumando todos los conceptos presentados en los apartados anteriores.

Concepto	Coste (€)
Reactivos	45,60
Material	890,53
Personal	7010
Agua y electricidad	35,21
TOTAL	7981,34

Tabla 8 Coste total

El coste total es por lo tanto de aproximadamente 8000 € (OCHO MIL EUROS).



8. Estudio ambiental

Este proyecto supone un impacto relativamente reducido en el medio ambiente, principalmente por la reducida escala a la que se instala. No obstante, hay ciertas consideraciones a tener en cuenta de cualquier modo.

8.1. Tratamiento de residuos

A pesar de que no se han utilizado reactivos especialmente peligrosos en la realización del proyecto, se han de considerar unos ciertos pasos.

El disolvente utilizado en los ensayos con el espectrómetro de IR es el cloroformo (CHCl_3), que se ha gestionado como residuo en el recipiente de “disolventes orgánicos clorados”, para posteriormente ser destruido en una empresa especializada de acuerdo a la legislación vigente.

8.2. Emisión de compuestos orgánicos volátiles

El uso de cloroformo en la disolución de los polímeros para la experimentación supone una cierta liberación de gases que se ha de considerar. Parte de este disolvente se ha evaporado en la atmósfera como compuesto orgánico volátil (COV), que es un contaminante atmosférico a cuantificar.

Del litro de cloroformo utilizado se estima que un 5% se ha evaporado. Esto es, más o menos unos 50 mL, o sea, 70 g. De aquí se puede evaluar la cantidad de vapores emitidos siguiente.

$$70 \text{ g } \text{CHCl}_3 \cdot \frac{1 \text{ mol } \text{CHCl}_3}{119,5 \text{ g } \text{CHCl}_3} \cdot \frac{24450 \text{ mL vapor}}{1 \text{ mol } \text{CHCl}_3} = 14322,2 \text{ mL vapor} \quad (\text{Ec. 2})$$

Suponiendo que los COV se reparten uniformemente en una manzana urbana típica barcelonesa ($100 \times 100 \text{ m}^2$ de área) y una altura media de 100 m se pueden valorar los COV emitidos durante el proyecto.

$$\frac{14322,2 \text{ ml}}{100 \text{ m} \cdot 100 \text{ m} \cdot 100 \text{ m}} = 14,32 \cdot 10^{-3} \frac{\text{ml}}{\text{m}^3} (\text{ppm}) \quad (\text{Ec. 3})$$

Se puede comprobar que se trata de una cantidad prácticamente nula, considerando que

no supone ningún problema contar con emisiones menores a 0,1 ppm.

8.3. Gasto ambiental

El gasto ambiental engloba el gasto de agua y electricidad del proyecto, los valores cuantificativos se puede consultar en el estudio económico.

El agua consumida, considerada tan sólo en la limpieza de material supone una demanda de 50 L a la red de aguas.

El consumo eléctrico estimado previamente es de 285 kWh, para determinar el impacto de este valor se utiliza el mix energético español, que lo relaciona con las emisiones de CO₂. Este valor se sitúa actualmente en 248 g/kWh ^[1] 70680 g CO₂ emitidos a la atmósfera.



Conclusiones

En primer lugar, se ha conseguido alcanzar el objetivo principal establecido en este proyecto, que abarcaba el diseño del montaje que permitiera llevar a cabo la experimentación pertinente.

En este sentido, también se ha logrado realizar las pruebas que se pretendían, aunque en algunos casos se requieran modificaciones, como el cambio de disolvente, para obtener unos resultados realmente interesantes.

El hecho de contar con material utilizable en el laboratorio supone una gran ventaja a la hora de realizar las pruebas, pero también limita la escala a la que se puede llegar con estas pruebas. Por ejemplo, el arreglo realizado para establecer las canalizaciones es sencillo de hacer si se puede manipular con facilidad las conexiones de los equipos de HPLC, y no siempre es posible. Por otro lado, las conexiones hechas impedían aislar la muestra durante las mediciones, al no poder cerrar el compartimento de la celda, esto hace que las interferencias, sobretodo del CO₂, sean notables.

La utilización complementaria de diversos equipos de detección y medición permiten estudiar los análisis desde diferentes puntos de vista, sin embargo, suponen una complicación en el montaje que, aunque en este caso no haya supuesto un impedimento importante, no puede aplicarse siempre, ya sea por disponibilidad o compatibilidad de los equipos.

Como conclusiones particulares podemos citar:

- El diseño de la celda de infrarrojo se optimiza a caminos ópticos inferiores a 2 mm.
- Usando los materiales habituales en HPLC y espectroscopía infrarroja puede construirse un prototipo de celda de detección HPLC-IR.
- En la ventana de radiación infrarroja entre 1600 y 2200 cm⁻¹ se puede detectar las señales de polímeros como ácido poliláctico, PMMA o copolímero SAN, usando cloroformo como fase móvil.
- La intensidad de las señales de los polímeros es suficiente para obtener resultados cromatográficos de HPLC-GPC.
- El coste de la celda es de 201,43 euros.

Agradecimientos

Me gustaría agradecer toda la ayuda y apoyo que me ha ofrecido Jordi Bou, director de este proyecto, que me ha facilitado en gran medida la realización de la parte experimental, y me ha ofrecido ayuda durante todo el proceso de confección del trabajo.

También quiero agradecer a mi familia el apoyo que me han dado para poder trabajar en este proyecto con facilidad.

Bibliografía

- [1] CORRADINI, D., EKSTEEN, E., EKSTEEN, R., SCHOENMAKERS, P., MILLER, N., *Handbook of HPLC*, CRC Press, 1998
- [2] BAKER, J.T. *HPLC Solvent reference manual*, Chemical Co., Phillipsburg, 1985
- [3] STRIEGEL, A.M., YAU, W.W., KIRKLAND, J.J., BLY, D.D., *Modern Size-Exclusion liquid Chromatography*, John Wiley & sons, 2009
- [4] GÓMEZ, R., MURILLO, R., *Espectrometría infrarroja*, UNAM
- [5] ITESCAM, *Instrumentación para espectroscopía* [www.itescam.edu.mx, 20 de mayo de 2014]
- [6] WATERS, *GPC, Gel permeation chromatography* [www.waters.com/waters, 11 de junio de 2014]
- [7] SPECAC, *IR cells*, [<http://www.specac.com/products/liquid-transmission-cell>, 15 de marzo de 2014]
- [8] ADVANCED LIGHT SOURCE, *IR windows materials*, [<http://infrared.als.lbl.gov/content/web-links/90-window-materials>, 12 de abril de 2014]
- [9] COATES, J., *Interpretation of infrared spectra, a practical approach*, John Wiley & sons, 2000
- [10] TEXTOS CIENTÍFICOS, *SAN: copolímero de estireno y acrilonitrilo* [<http://www.textoscientificos.com/polimeros/san>, 25 de junio de 2014]
- [11] GENCAT, *Canvi climàtic*, [www20.gencat.cat/portal/site/canviclimatic, 23 de juny de 2014]