

**FACULTAD QUIMICA
BIBLIOTECA**

Cat.

Encuad.

Ent. 2971

Mat. 541.64(043)

Sell. 543.54(045)

Test.

Top. T.D-Q

Ri 186920.11

240
R. 2972

UNIVERSIDAD LITERARIA DE VALENCIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



MECANISMOS DE SEPARACION EN SEC.
EFECTOS DE TEMPERATURA Y CONCENTRACION

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL
GRADO DE DOCTOR PRESENTA
ROBERTO TEJERO TOQUERO

DEPTO. QUIMICA-FISICA

VALENCIA, SEPTIEMBRE 1985

UMI Number: U603118

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U603118

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

A mis padres.

El presente trabajo se ha llevado a cabo en el Departamento de Química Física de la Facultad de Químicas de la Universidad de Valencia, con la colaboración de los profesores Dr. J.E. Figueruelo y Dr. A. Campos, a quienes deseo expresar mi agradecimiento.

Muchas han sido las personas que de una u otra forma han hecho posible la realización de esta Memoria. Quede aquí constancia de mi agradecimiento a todas ellas.

De una forma especial quisiera también agradecer la colaboración de:

Dr. V. Soria por sus valiosos consejos y ayudas en todo lo que respecta a SEC.

"Agus" ya que sin él el presente trabajo no hubiera sido lo que es.

Blanca Calabuig por las medidas de viscosidad aquí empleadas y por su amistad y preocupación.

Para terminar y con un cariño especial, deseo agradecer la amistad, colaboración, ánimo y empuje de Bernardo Celda y la "desbordante" ayuda de Rafael Gava para quien ni aunque supiera hablar cien idiomas en contraría suficientes palabras de agradecimiento. ¡Gracias "Rafa" !.

INDICE

	<u>pag.</u>
1.- INTRODUCCION.....	1
2.- FUNDAMENTOS TEORICOS.....	7
2.1.- MECANISMOS DE SEPARACION.....	8
2.1.1.- Mecanismo de exclusión estérica.....	10
2.1.2.- Modelos teóricos.....	10
2.1.2.1.- Modelo de Giddings y col.....	11
2.1.3.- Mecanismos secundarios.....	17
2.1.3.1.- Mecanismo de parti- ción.....	18
2.1.3.2.- Mecanismo de adsor- ción.....	19
2.1.4.- Interpretación termodinámica....	22
2.2.- EFECTO DE CONCENTRACION.....	24
2.2.1.- Modelo de Rudin.....	25
2.2.2.- Modelo de Janca.....	28
2.2.3.- Modelo de Bleha y col.....	30
2.2.4.- Modelo propuesto.....	33
a) Disoluciones muy diluídas....	36
b) Disoluciones diluídas.....	37
2.2.4.1.- Aplicación al cálculo del efecto de concen- tración en SEC.....	38
a) Disoluciones muy diluídas.....	39
b) Disoluciones di- luídas.....	40
2.2.4.2.- Aplicación al cálculo	

	del efecto de concen- tración en SEC cuando en el eluyente hay o- tro polímero.....	40
	a) Disoluciones muy diluídas.....	41
	b) Disoluciones di- luídas.....	43
3.-	PARTE EXPERIMENTAL.....	45
3.1.-	SEC.....	46
3.1.1.-	Descripción del equipo.....	46
3.1.2.-	Control de temperatura.....	47
3.1.3.-	RelLENOS utilizados.....	47
3.1.4.-	Condiciones experimentales para la obtención de cromatogramas....	49
3.2-	MUESTRAS EMPLEADAS.....	50
3.3-	LLENADO DE LAS COLUMNAS.....	52
4.-	RESULTADOS Y DISCUSION.....	55
4.1.-	INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA.....	56
4.1.1.-	Efectos secundarios.....	68
4.2.-	EFECTO DE CONCENTRACION.....	78
4.2.1.-	Disoluciones muy diluídas.....	78
4.2.1.1.-	Buenos disolventes.....	80
4.2.1.2.-	Disolventes "theta"....	87
4.2.2.-	Disoluciones diluídas.....	89
4.2.2.1.-	Cálculo de k_A	92
4.2.2.2.-	Cálculo de k'_A	95
4.2.2.3.-	Buenos disolventes.....	99
4.2.2.4.-	Disolventes "theta"....	105
4.2.3.-	Efecto de concentración para sis- temas polímero/polímero/disolven- te.....	112
4.2.3.1.-	Polímero A disuelto e	

inyectado en una diso- lución binaria formada por disolvente puro y polímero B a concentra ción C_B	116
4.2.3.2.- Polímeros A y B disuel tos e inyectados en un disolvente puro que cir cula como eluyente	122
5.- RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	129
6.- BIBLIOGRAFIA.....	133



1.- INTRODUCCION

1.- INTRODUCCION

La "cromatografía de exclusión estérica" o "cromatografía de exclusión por tamaño" (SEC) es un método de separación cuyas primeras referencias bibliográficas se sitúan al final de la década de los cincuenta y principio de los sesenta. Durante ese intervalo de tiempo las observaciones experimentales de que en columnas cromatográficas rellenas con geles porosos ocurría una separación de sustancias de distintos tamaños moleculares proliferaron rápidamente¹. Desde entonces se ha denominado a este método con una variada gama de términos debido a su desarrollo posterior y al sucesivo descubrimiento de sus principios fundamentales. Así, "cromatografía de filtración sobre gel", "cromatografía de separación por tamaño", "cromatografía de difusión restringida", "cromatografía de permeación de gel",... etc., son sinónimos de SEC y aparecen frecuentemente en la bibliografía. Cada uno de estos términos tiene ciertas ventajas pero también numerosos inconvenientes. Este hecho unido a que el mecanismo fundamental del método es complicado y no puede expresarse mediante un solo término hace que la elección del nombre sea, en cierta manera, arbitraria. "Cromatografía de exclusión estérica" (SEC) es el término más usado en publicaciones recientes² y el que se usará por tanto a lo largo de esta Memoria.

La SEC es, pues, un tipo de cromatografía líquida (CL) en la que las moléculas son separadas de acuerdo con su tamaño en disolución en un relleno de material poroso. Es la técnica más sencilla y fácil de usar de las de CL a pesar de lo cual se aplica a gran cantidad de muestras y para resolver una amplia gama de problemas de separación. En principio, cualquier tipo de muestra soluble puede ser tratada aunque, de acuerdo con Snyder y Kirkland³, las principales aplicaciones caen dentro de una de estas tres categorías:

- Separación de compuestos de alto peso molecular, parti

cularmente de aquellos que no sean iónicos. Junto a la resolución de macromoléculas individuales tales como ácidos nucleicos y proteínas, esta técnica es comúnmente empleada para la obtención de las distribuciones de pesos moleculares de polímeros sintéticos.

- Las mezclas simples pueden separarse fácilmente, en especial si los componentes de la mezcla tienen pesos moleculares muy diferentes. En estos casos la cantidad de muestra a tratar es muy superior con respecto a los otros métodos de CL.

- Es el método deseable para una separación exploratoria de muestras desconocidas. Tal separación da una visión rápida y completa de la muestra, ayudando en la decisión de que técnica de CL será la más adecuada para una muestra dada.

En el análisis de polímeros, los cromatogramas son las "huellas dactilares" de las muestras inyectadas y dan, mediante el adecuado tratamiento matemático, una precisa caracterización del polímero (promedios de peso molecular, distribuciones de pesos moleculares, dispersidad, ...etc.). Para llevar a cabo estos cálculos es necesario un calibrado del sistema. Muchos fueron los intentos de calibrado⁴⁻⁶ hasta que Benoit y col.⁷ propusieron como calibrado universal una representación de $\log(M|\eta|)$ frente al volumen de elución, V_e , ($|\eta|$ es la viscosidad intrínseca del polímero, M el peso molecular y V_e el volumen de elución del máximo del cromatograma). El producto $M|\eta|$ es una medida del tamaño efectivo de las macromoléculas en disolución y se denomina "volumen hidrodinámico". Esta representación no depende del eluyente ni de la naturaleza y estructura del polímero inyectado. Estos resultados, generalmente de acuerdo con observaciones experimentales⁸, están basados en la suposición de que el fenómeno de exclusión por tamaño es un fenómeno puramente entrópico debido a la disminución del número posible de configuraciones de una macromolécula dada cuando se acerca a una

superficie. Este aspecto ha sido estudiado desde un punto de vista termodinámico por Casassa⁹⁻¹², quien justifica el calibrado universal excepto, quizás, para macromoléculas de muy diferentes tamaños^{8,12}. En la práctica, sin embargo, se observan serias discrepancias con el calibrado universal. Se han detectado anomalías en los volúmenes de elución cuando el eluyente es mal disolvente (o disolvente "theta") del polímero¹³⁻¹⁹ o cuando se trabaja con geles activos²⁰⁻²⁴. En tales casos los solutos son separados mediante un mecanismo complejo que engloba la exclusión estérica y fenómenos de no-exclusión (efectos o mecanismos secundarios) en los que juegan un papel importante las interacciones del soluto con el relleno (gel). Estas anomalías causan dificultades en el cálculo de los promedios de peso molecular por medio del concepto del calibrado universal. Una comprensión de los mecanismos secundarios de separación es, pues, necesaria con el fin de seleccionar aquellos sistemas donde estos fenómenos sean mínimos.

Los mecanismos secundarios engloban interacciones disolvente-polímero-gel (o, en general, disolvente-polímero-relleno) y son explicados a través de fenómenos parciales de adsorción y partición, incompatibilidad, solvatación y exclusión e inclusión iónicas.

En publicaciones anteriores²⁵⁻²⁷ se estudió el mecanismo de separación en SEC sobre rellenos activos. Los cambios en las curvas de elución se explicaban en términos de interacciones polímero-gel (p-g), disolvente-gel (d-g) y disolvente-polímero (d-p). Las interacciones d-g se expresaban mediante la fuerza del disolvente, $\epsilon^{\circ 3}$, las d-p a través del exponente α de la ecuación viscosimétrica de un sistema dado mientras que las p-g utilizando el parámetro de solubilidad, δ . A través de las medidas de volúmenes de elución de tres tipos de polímeros en una gran variedad de eluyentes se alcanzaron conclusiones sobre los mecanismos secundarios y su influencia en la separación, pero sin lograr discernir su

naturaleza. A modo de resumen una conclusión es clara: el mecanismo de exclusión estérica pura se ve complicado a menudo con interacciones adicionales que, si bien a veces se puede utilizar favorablemente en la separación dando información adicional sobre el carácter y estructura de la muestra, habrá que tratar de minimizar.

Por otro lado, una comprensión de la influencia de las variables experimentales sobre los resultados en SEC permite una explicación de su mecanismo en mayor detalle y como consecuencia un conocimiento más profundo de los parámetros químico-físicos de los polímeros analizados.

La problemática expuesta hasta aquí nos indujo a una mayor profundización en el estudio de los fenómenos responsables del mecanismo de separación. Dicha profundización se ha realizado mediante el estudio de la influencia de dos variables experimentales estrechamente ligadas con los fenómenos secundarios como son temperatura y concentración. Resultado de ello ha sido el trabajo que en esta Memoria se expone y que ha quedado estructurado como sigue:

En primer lugar se abordan los fundamentos de los mecanismos de separación en SEC. Dentro del mecanismo de exclusión estérica se estudia el modelo de Giddings y col. como representativo de los modelos de equilibrio, mientras que en lo relativo a "efectos secundarios" se estudia un modelo mixto de partición-adsorción propuesto por Dawkins. La segunda parte de estos fundamentos versa sobre la influencia de las variables experimentales, en lo que se refiere a la concentración se estudian tres modelos de la bibliografía y se cierra el apartado con la presentación de un modelo semiempírico que proponemos en esta Memoria.

Posteriormente se pasa a la parte experimental en la que se describe el equipo utilizado. En este apartado se recoge también la técnica utilizada en el llenado de las co-

lumnas cromatográficas al no ser éstas comerciales.

Por último se reúnen todos los resultados experimentales en forma tabulada y gráfica. Después de una breve discusión cualitativa acerca de la elección de los sistemas objeto de estudio comienza la verdadera discusión de resultados de la influencia de las variables experimentales antes mencionadas. En lo que atañe a la temperatura se estudia, mediante su influencia en los volúmenes de elución, la participación de los efectos secundarios en el proceso de separación. Seguidamente se comprueba el modelo propuesto para el "efecto de concentración", primero comparándolo cualitativamente con los ya existentes para finalizar con una comprobación cuantitativa en base a resultados propios y procedentes de otros autores.

2.- FUNDAMENTOS TEORICOS

2.- FUNDAMENTOS

En este apartado se va a hacer especial hincapié en los diversos modelos propuestos para explicar las separaciones en SEC. Se comienza por describir aquellos modelos de equilibrio que suponen que la separación ocurre únicamente por exclusión, el llamado efecto primario. A continuación se indican modelos que además del efecto primario tienen en cuenta posibles efectos secundarios, tales como adsorción y partición, cuya termodinámica se discute.

Por otro lado, se incluye una revisión de las influencias sobre el volumen de elución de los parámetros experimentales en SEC, dedicando especial atención al "efecto de concentración", para el que se presenta un nuevo modelo semiempírico.

2.1.- MECANISMOS DE SEPARACION

Según se ha mencionado, la SEC es un tipo de cromatografía líquida en columna utilizada para separar solutos según su forma y tamaño. Siempre que las muestras sean solubles, en un medio acuoso o no acuoso, las separaciones pueden realizarse en un rango de pesos moleculares que se puede extender desde pocos cientos hasta varios millones de unidades. El sistema requerido consiste en un líquido capaz de disolver la muestra y un relleno poroso del tamaño de poro apropiado. El soluto que atraviesa la columna cromatográfica participa en un proceso de distribución entre la fase móvil (líquido que fluye alrededor de las partículas del gel) y la fase estacionaria (mismo líquido "estancado" en los poros de las partículas). En el equilibrio, la distribución del soluto puede ser definida en términos de un coeficiente de distribución, K_{SEC} , como:

$$K_{SEC} = \frac{C_s}{C_m} \quad (2.1)$$

donde C_s y C_m son las concentraciones de soluto por unidad de fase estacionaria y móvil, respectivamente.

La magnitud a medir cromatográficamente es el volumen de elución (o retención), V_e , que se relaciona con K_{SEC} mediante:

$$V_e = V_0 + K_{SEC} \cdot V_i \quad (2.2)$$

expresión en la que V_0 es el volumen total de la fase móvil (volumen intersticial o muerto) y V_i el volumen total de la fase estacionaria.

En contraste con otros tipos de cromatografía líquida, los coeficientes de distribución en SEC, definidos por la ec. (2.1) son relativamente pequeños y varían de 0 a 1. Cuando la molécula de soluto es demasiado grande para entrar en los poros del relleno, es totalmente excluida del volumen de los poros y será eluída en primer lugar; K_{SEC} toma entonces su valor mínimo, cero, y $V_e = V_0$. Un soluto monomérico con tamaño molecular muy pequeño es capaz de penetrar en todos los poros y por lo tanto será eluída más tarde; K_{SEC} alcanza para este caso su valor máximo, uno, y $V_e = V_0 + V_i$. Entre estos dos límites de tamaño molecular tiene lugar una permeación selectiva y los solutos son eluídos en orden decreciente de tamaños, es decir, pesos moleculares decrecientes, con volúmenes de elución comprendidos entre V_0 y $V_0 + V_i$.

Se han propuesto varias teorías para explicar este particular mecanismo²⁸. De acuerdo con Bly²⁹ se pueden dividir en tres categorías: a) exclusión estérica, b) termodinámica (pérdida de entropía conformacional de una macromolécula cercana a una superficie) y c) difusión restringida. Las dos primeras categorías corresponden a modelos de equilibrio y la tercera a modelos de flujo. Aunque los mecanismos de flujo son importantes en ciertos experimentos, existe abundante evidencia que indica que la mayor parte

de las separaciones prácticas en SEC se llevan a cabo en condiciones de equilibrio^{9,30}. Van Kreveld y Van der Hoed³⁰ en una serie de experiencias cuidadosamente diseñadas demostraron que las teorías de exclusión estérica y las de pérdida de entropía conformacional conducían a resultados similares.

2.1.1.- Mecanismo de exclusión estérica

En este mecanismo introducido primeramente por Flodin³¹ se alcanza un equilibrio de difusión. La velocidad de difusión del soluto dentro y fuera de los poros es mayor que la velocidad intersticial del eluyente alrededor de las partículas del gel. El coeficiente de distribución de un soluto que sufre permeación selectiva en el volumen de poros viene dado por:

$$K_{SEC} = \frac{V_i(\text{acc.})}{V_i} = \frac{V_e - V_0}{V_i} \quad (2.3)$$

expresión en la que $V_i(\text{acc.})$ es la fracción del volumen total de poros accesible al soluto. Un reordenamiento de la ec. (2.3) da como resultado la ec. (2.2).

La validez de este mecanismo de exclusión estérica ha sido demostrada para gran número de polímeros en varios tipos de relleno²⁹.

2.1.2.- Modelos teóricos

El problema general para todos los modelos teóricos es aproximar el tamaño molecular y el de poros a las cantidades adecuadas. Las teorías de equilibrio predicen la existencia de un parámetro de tamaño universal para todos los polímeros, según el cual se puede describir el comportamiento cromatográfico de cualquier muestra. Benoit y col.⁷ propusieron como tal parámetro el volumen de la molécula en disolución, representado por el volumen hidrodinámico, $M|\eta|$, que según la teoría de Flory³² es proporcional al cubo del radio medio de giro, $\langle r^2 \rangle^{1/2}$, según

$$M|\eta| = 6^{3/2} \cdot \phi \langle r^2 \rangle^{3/2} \quad (2.4)$$

expresión en la que ϕ es una constante universal, independiente del sistema polímero-disolvente-temperatura.

Aceptando el volumen hidrodinámico como el parámetro determinante del tamaño molecular y por tanto de la separación y siguiendo el procedimiento de Anderson y Stoddart³³ se puede escribir:

$$K_{SEC} = -A \log M|\eta| + B \quad (2.5)$$

donde A y B son constantes.

Los distintos modelos tratan de calcular el coeficiente de distribución, K_{SEC} , asumiendo distintas formas geométricas simples para los poros y las moléculas. Así, la forma y tamaño de los poros del relleno se aproxima a esferas, planchas y cilindros^{34,35} o por matrices de esferas empaquetadas al azar³⁶.

2.1.2.1.- Modelo de Giddings y col.

Este modelo se incluye en la categoría de los modelos termodinámicos de equilibrio y se va a estudiar en profundidad ya que es el más representativo y sencillo de aplicar.

Giddings y col.³⁷ suponen que el proceso de separación es un proceso de equilibrio basándose en que:

- los coeficientes de partición obtenidos por métodos cromatográficos, SEC, están en excelente acuerdo con los obtenidos por métodos estáticos.
- los volúmenes de elución son usualmente independientes del caudal.
- sobre bases fundamentalmente teóricas un gran alejamiento del equilibrio es incompatible con los picos estrechos que se obtienen en los buenos sistemas cromatográficos.

Si la situación de no equilibrio llegara a ser un factor importante, lo que puede ocurrir bajo ciertas condiciones, se revelaría inmediatamente a través de un excesivo en

sanchamiento de los picos y una resolución pobre ³⁸.

Al igual que otros tipos de equilibrio termodinámico, el presente caso puede relacionarse de una forma general con las interacciones externas y moleculares a través del formalismo de la mecánica estadística. Así, el coeficiente del equilibrio de partición es el cociente entre las funciones de partición de las moléculas dentro de poros y fuera de los mismos, es decir, en el seno del fluido y en consecuencia, el cociente de dos integrales de configuración

$$K = \frac{\iiint e^{-\epsilon_p(r, \psi, \lambda)/kT} dr d\psi d\lambda}{\iiint e^{-\epsilon_b(r, \psi, \lambda)/kT} dr d\psi d\lambda} \quad (2.6)$$

expresión en la que las coordenadas generalizadas r, ψ, λ describen respectivamente, la posición molecular, la orientación y la conformación (variables internas libres) y ϵ_p y ϵ_b son, a su vez, las energías en el poro y en el seno del fluido, respectivamente, que se podrán aproximar por sumas de los términos aditivos adecuados.

En el seno del eluyente la macromolécula tendrá una energía debida a las interacciones intramoleculares, ϵ_M , (que dependerá de las conformaciones, λ) y un término debido a las interacciones intermoleculares, ϵ_{MN} , así $\epsilon_b = \epsilon_M + \epsilon_{MN}$. Se omite la interacción soluto-disolvente ya que serán iguales dentro y fuera del poro. Dentro de la malla porosa existe, además, un término energético, ϵ_{MP} , debido a las interacciones de la macromolécula y las paredes del poro. Se pueden imponer ahora unas condiciones restrictivas arbitrarias como son:

- cálculo de K como límite para dilución infinita, por lo que $\epsilon_{MN} = 0$.

- que todas las conformaciones accesibles son energéticamente iguales, o dicho de otra manera, que sólo existe una conformación simple (molécula rígida) tal que $\epsilon_M = 0$.

Se adopta, por último, el modelo de "pozo de potencial" para describir ϵ_{MP} , lo que significa que la extensión geométrica de las paredes del poro y de la macromolécula pueden ser aproximadas por condiciones límite distintas y discontinuas, cuyo solapamiento da como resultado $\epsilon_{MP} = \infty$ y el no solapamiento $\epsilon_{MP} = 0$. Tal función de potencial no tiene en cuenta fuerzas de adsorción. Ya que ϵ_{MP} es discontinuo, el factor de Boltzmann, $e^{-\epsilon_{MP}/kT}$, también lo será. Habrá que generalizar dicho factor para una malla de poros al azar. Cuando se trata de describir un material poroso real es deseable introducir poros cuyas dimensiones sean fijadas por planos al azar, varillas, etc. En tales casos la localización de la pared del poro no está definida, pero está fijada por una función de densidad de probabilidad. Una molécula de configuración dada (r, ψ, λ , fijas) no tocará las paredes del poro en una cierta fracción de la malla, fracción que será igual al conjunto promedio $\langle e^{-\epsilon_{MP}/kT} \rangle$. Se puede introducir ahora un parámetro, $q(r, \psi, \lambda)$, tomado como el conjunto promedio anterior y que puede ser definido alternativamente como la probabilidad de que una macromolécula no toque la pared del poro. Para poros al azar q variará continuamente de 0 a 1 y para poros uniformes q valdrá 0 ó 1.

Teniendo en cuenta el anterior tratamiento para el término de interacción molécula-poro y las condiciones restrictivas impuestas, es decir $\epsilon_M = 0$ y $\epsilon_{MN} = 0$, la ec. (2.6) puede escribirse:

$$K = \frac{\iiint q(r, \psi, \lambda) \, dr d\psi d\lambda}{\iiint dr d\psi d\lambda} \quad (2.7)$$

Naturalmente, las restricciones impuestas por cualquier pared de poro causarán una reducción local de la concentración cerca de la pared. Dicha concentración aumentará según la molécula se aleje de la pared hasta alcanzar, finalmente, el valor del seno del fluido, cuando la distancia del centro de gravedad al extremo más alejado de la molécula es

menor que la distancia del centro de gravedad a la pared ($q=1$ para todas las orientaciones y conformaciones en esta posición). Este fenómeno está descrito por un coeficiente local de partición, $\kappa(r)$, que representa la densidad relativa de los centros de gravedad como función de la posición, r

$$\kappa(r) = \frac{\iint q(r, \psi, \lambda) d\psi d\lambda}{\iint d\psi d\lambda} \quad (2.8)$$

De la misma forma puede definirse otro coeficiente local de partición, $\kappa'(\psi, \lambda)$, que es el coeficiente de distribución para las moléculas con orientación y conformación fijadas

$$\kappa'(\psi, \lambda) = \frac{\int q(r, \psi, \lambda) dr}{\int dr} \quad (2.9)$$

Teniendo en cuenta, por último, que se va a tratar principalmente con moléculas rígidas que carecen de grados internos libertad, la ec. (2.7) se reduce a:

$$K = \frac{\iint q(r, \psi) dr d\psi}{\iint dr d\psi} = \frac{\int \kappa(r) dr}{\int dr} = \frac{\int \kappa'(\psi) d\psi}{\int d\psi} \quad (2.10)$$

expresiones generales que se van a aplicar a distintos tipos de mallas porosas para el cálculo del coeficiente de distribución.

El tratamiento se divide ahora para distintos tipos de poros, mallas de poros uniformes y mallas de poros al azar. El primer tipo de poro es sencillo de estudiar ya que solo necesita tratar con un poro que será representativo de todos, pero este caso se aleja de la realidad para un sistema cromatográfico por lo que se va a estudiar la malla de poros al azar.

Todo el desarrollo alcanzado hasta aquí lo ha sido en base a considerar la exclusión como un fenómeno de solapamiento de superficies, por lo que una malla de poros al azar pue-

de imaginarse como un volumen inicialmente libre dividido en poros por superficies de colocación y orientación aleatorias. Si una molécula de configuración dada en el espacio libre es "tocada" por una o más de las superficies insertadas, tal macromolécula representa un estado prohibido que es automáticamente excluido de la malla porosa ($q=0$). El coeficiente de partición será la razón del número de moléculas sin "tocar" y el número total.

Frecuentemente es útil imaginar la red de poros compuesta por sistemas independientes de superficies, para este caso $q = q_1 \cdot q_2 \dots q_n$, por lo que el coeficiente de distribución, dado por la ec. (2.7), quedará en la forma:

$$K = \frac{\iiint \Pi q_i(r, \psi, \lambda) dr d\psi d\lambda}{\iiint dr d\psi d\lambda} \quad (2.11)$$

Con estas consideraciones se pueden aplicar ya las expresiones obtenidas para distintos tipos de redes de poros al azar. El modelo más simple será el formado por infinitos planos paralelos colocados aleatoriamente a lo largo del eje X, con una distancia media \bar{d}_x . Sea $L_x(\psi, \lambda)$ la proyección molecular sobre el eje X en una cierta configuración. El coeficiente de partición dependiente de la configuración, $\kappa'(\psi, \lambda) = q(\psi, \lambda)$, para este medio homogéneo anisotrópico sigue la distribución de Poisson:

$$\kappa' = q = \exp(-L_x/\bar{d}_x) = \exp(-sL_x/2) \quad (2.12)$$

La magnitud s es el área superficial por unidad de volumen libre o "radio hidráulico recíproco" y representa el tamaño de poro. El producto sL_x es la relación de tamaño molécula-poro (adimensional).

Integrando la ec. (2.12) para todos los ángulos y conformaciones se obtiene K . La expresión integral, sin embargo, no es universal sino que en general se parte de expresiones cuya complejidad aumenta según lo hace la geometría

molecular. El caso más sencillo se presenta cuando las moléculas son esféricas, ya que $L_x = L_0$ (diámetro de la esfera) y el coeficiente de distribución, K , es para este caso:

$$K = \exp(-sL_0/2) \quad (2.13)$$

Generalizando ahora el tratamiento para una red constituida por n sistemas de planos paralelos al azar, cada uno con orientación arbitraria y una distancia media \bar{d}_i , la molécula de configuración fijada proyecta una longitud L_i a lo largo del eje normal del i -ésimo sistema de planos. Según la ec. (2.12), para cada sistema de planos hay un único $q_i = \exp(-s_i L_i/2)$. Para $q' = q = \prod q_i$, se tendrá:

$$q = \prod_n \exp(-s_i L_i/2) = \exp(-\sum_n s_i L_i/2) = \exp(-s \sum_n L_i w_i/2) \quad (2.14)$$

donde w_i ($\sum_n w_i = 1$) describe la distribución de superficies dependiente de los ángulos. Si se considera una red isotrópica de planos (modelo de planos al azar), todos los factores de peso serán iguales, $w_i = 1/n$, y haciendo tender $n \rightarrow \infty$, todas las orientaciones de los planos están igualmente representadas. En este límite:

$$q = \exp(-s\bar{L}/2) \quad (2.15)$$

donde \bar{L} es la longitud media de la proyección de la molécula a lo largo de varios ejes. Mientras L_i es una función de la orientación molecular, ψ , \bar{L} no lo es a causa de la condición de isotropía. El coeficiente de distribución, después de aplicar la ec. (2.11), queda:

$$K = \frac{\int \exp[-s\bar{L}(\lambda)/2] d\lambda}{\int d\lambda} \quad (2.16)$$

y sólo es necesario, pues, promediar a todos los estados

conformacionales para llegar al cálculo de K.

Para moléculas rígidas se obtiene para el coeficiente de distribución:

$$K = \exp(-s\bar{L}/2) \quad (2.17)$$



Expresión válida para moléculas de cualquier geometría sin importar su complejidad. Es una ecuación con un parámetro de tamaño definible que cubre todas las geometrías moleculares. \bar{L} es la cantidad crucial, ya que, de acuerdo con el modelo, dos moléculas con igual \bar{L} tendrán mismo K a pesar de cualquier diferencia en la forma. El nombre que se le da a \bar{L} es "longitud externa media", reflejando el hecho de que sólo los grupos extremos de una molécula afectarán a su partición.

2.1.3.- Mecanismos secundarios

Cuando se trabaja en SEC sobre geles inertes, tales como los geles de poliestireno entrecruzado, se obtiene una representación universal del volumen hidrodinámico⁷ frente al volumen de elución, si el eluyente es buen disolvente del polímero. Sin embargo, cuando el eluyente es un mal disolvente o disolvente "theta" del polímero ocurren desplazamientos hacia volúmenes de elución más altos^{39,40,14}. Para tratar de explicar estas "anomalías" se han propuesto mecanismos secundarios en los que entran a formar parte la adsorción y partición¹⁵, así como su interpretación termodinámica¹⁴.

Por otro lado cuando se trabaja con soportes activos tales como los geles porosos inorgánicos, las representaciones de $\log M|\eta|$ vs. V_e en malos disolventes se desplazan hacia volúmenes de elución más bajos en algunos casos^{42,21} y hacia volúmenes más altos en otros^{20,25}, en comparación con un buen disolvente. El mecanismo de separación en estos geles estará altamente influenciado por los fenó

menos de adsorción y retención debidos a la polaridad del relleno ^{25,43-45}.

2.1.3.1.- Mecanismo de partición

La observación de que los desplazamientos hacia mayores volúmenes de elución de las rectas de calibrado para polímeros en malos disolventes, con respecto al calibrado para los mismos en buenos disolventes, son más acusadas conforme disminuye el tamaño molecular (mayor fracción de volumen de la fase estacionaria total accesible al soluto), induce a pensar en un mecanismo de partición, tal como han propuesto Heitz y Kern ⁴⁶.

En cromatografía líquida convencional para pequeñas moléculas ⁴⁷, un parámetro de retención importante es k' , definido según la expresión:

$$k' = k_p \cdot \frac{V_i}{V_0} \quad (2.18)$$

donde k_p es el coeficiente de reparto del soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil. En el caso de solutos poliméricos, la fracción de fase estacionaria dependerá, además, del tamaño del soluto y la ec. (2.18) se transforma, por tanto, en:

$$k' = k_p \cdot \frac{K_D \cdot V_i}{V_0} \quad (2.19)$$

En esta constante estarán incluidas tanto la retención por partición como la retención por exclusión para un tamaño dado. El volumen de elución para una especie dada teniendo en cuenta estos dos fenómenos será:

$$V_e = V_0 + k' \cdot V_0 \quad (2.20)$$

o lo que es lo mismo:

$$V_e = V_0 + K_D \cdot k_p \cdot V_i \quad (2.21)$$

expresión que es idéntica a la ec. (2.2) cuando $k_p = 1$. Heitz y Kern⁴⁶ y Dawkins¹⁵ proponen una expresión similar a la ec. (2.21). La sustitución de la ec. (2.5) en la ec. (2.21) da como resultado la expresión siguiente:

$$\frac{V_e - V_0}{k_p} = V_i (-A \cdot \log M|\eta| + B) \quad (2.22)$$

A modo de conclusión de estas expresiones, puede decirse que $k_p = 1$ cuando las separaciones son exclusivamente por tamaño y $k_p > 1$ para separaciones cuyo mecanismo presenta fenómenos de exclusión estérica y partición.

2.1.3.2.- Mecanismo de adsorción

Si se contempla la fase estacionaria como superficie activa en el interior de los poros del gel, al lado de los fenómenos anteriores hay que considerar la posibilidad de que el soluto sea adsorbido en el gel, más aún si éste es inorgánico (sílice porosa) y tiene grupos activos de silanol en su superficie con facilidad para crear interacciones con el polímero, probablemente por formación de puentes de hidrógeno.

Experimentos estáticos han confirmado estos supuestos tanto para solutos de gran tamaño (macromoléculas)⁴⁸ como para disolventes de pequeño tamaño²⁴. En el caso de geles activos el problema se complica ya que entra en juego la afinidad de los disolventes por el gel, en función de la polaridad de éstos, compitiendo y obstaculizando la adsorción del soluto.

Considerando la fase estacionaria como el área superficial del interior de los poros del gel, para una estructura de poro simple, V_i (volumen interno total de poros), estará relacionado con el área superficial, S , según:

$$V_i = \gamma \bar{r} \frac{S}{2} \quad (2.23)$$

donde \bar{r} es el radio promedio de poro obtenido de la distribución de tamaño del mismo y γ es un factor numérico que depende de la geometría y de la definición de tamaño medio del poro⁴⁹.

Es evidente que si la distribución de tamaños de poro no se ve alterada por unas condiciones experimentales dadas S será directamente proporcional a V_i y por lo tanto en la ec. (2.22) k_p representará las retenciones debidas tanto a los efectos de partición como a los efectos de adsorción. Si se suponen poros cilíndricos no intersectantes⁴⁹, r será el radio de un cilindro abierto y el volumen interno total de poros, V_i , vendrá dado por:

$$V_i = \int_0^{\infty} V(r) dr \quad (2.24)$$

y el área superficial, S , vendrá dada por:

$$S = \int_0^{\infty} \frac{2V(r)}{r} dr \quad (2.25)$$

donde se ha aplicado el valor de V_i dado en la ec. (2.24). De esta forma, la ec. (2.25) representa la distribución del área superficial acumulativa para todo el gel como una función del radio de poro.

Para un mecanismo primario de exclusión estérica, la accesibilidad al volumen interno del gel de un soluto con un tamaño dado, R (R es el radio hidrodinámico del polímero en unas condiciones dadas), estará determinada por la distribución de tamaños de poro:

$$K_D V_i = \int_R^{\infty} V(r) dr \quad (2.26)$$

por lo que, sustituyendo la ec. (2.26) en la ec. (2.2) resulta:

$$V_e = V_0 + \int_R^{\infty} V(r) dr \quad (2.27)$$

Se puede definir ahora un factor k'' similar al definido en la ec. (2.18) y expresado en términos del área superficial de la fase estacionaria accesible a un soluto de tamaño R , por lo que $K_D V_i \approx K_D S_i$ y teniendo en cuenta la ec. (2.25) se obtiene:

$$K_D S_i = \int_R^{\infty} \frac{2V(r)}{r} dr \quad (2.28)$$

Sustituyendo la ec. (2.28) en la ec. (2.18) se obtiene para el factor k'' :

$$k'' = \frac{2k_p}{V_0} \int_R^{\infty} \frac{V(r)}{r} dr \quad (2.29)$$

expresión en la que k'' indica la estimación relativa del volumen de fase estacionaria (superficie del gel). Para facilitar la integración de la ec. (2.29) se puede suponer que la distribución de poros está representada por la distribución de Schulz-Zimm:

$$V(r) = \frac{r}{\bar{r}^2} e^{-r/\bar{r}} \quad (2.30)$$

siendo \bar{r} el radio medio de poro. Sustituyendo la ec. (2.30) en la ec. (2.29) e integrando se obtiene, finalmente, para k'' el valor:

$$k'' = \frac{2k_p}{rV_0} (e^{-R/\bar{r}} - e^{-R_0/\bar{r}}) \quad (2.31)$$

siendo R_0 el límite máximo de integración, el mayor tamaño

de poro correspondiente a la exclusión total ($K_D=0$, $V_e=V_0$). El volumen de elución de una especie de tamaño R vendrá expresado finalmente como:

$$V_e = V_0 \left(1 + \frac{2k_p}{\bar{r}V_0} e^{-R/\bar{r}} \right) \quad (2.32)$$

si se desprecia en la ec. (2.31) el término $e^{-R_0/\bar{r}}$. Tomando logaritmos y reordenando términos, la ec. (2.32) se puede expresar como:

$$\ln \frac{V_e - V_0}{k_p} = - \frac{R}{\bar{r}} + \ln \frac{2}{\bar{r}} \quad (2.33)$$

expresión que predice, en función de k_p (que engloba contribuciones de adsorción y partición), el volumen de elución de una especie de radio R en un gel de porosidad media \bar{r} .

2.1.4.- Interpretación termodinámica

Como ya se ha mencionado antes, el proceso de separación en SEC se lleva a cabo en condiciones de equilibrio. En estas condiciones el cambio de energía libre standard, ΔG° , para la transferencia de moléculas de la fase móvil a la fase estacionaria, a temperatura constante, estará relacionado con el coeficiente de distribución, K_{SEC} , mediante:

$$\Delta G^\circ = -kT \ln K_{SEC} \quad (2.34)$$

donde k es la constante de Boltzmann.

Si se considera, ahora, que la separación consiste en dos mecanismos, por un lado el mecanismo primario que tendría en cuenta la exclusión estérica con un cambio de energía libre, ΔG_D , y por otro, los efectos secundarios, si se presentan, con un cambio de energía libre, ΔG_p , que englo-

baría las interacciones polímero-gel, el cambio total de energía libre será:

$$\Delta G^{\circ} = \Delta G_D + \Delta G_p \quad (2.35)$$

Aplicando las ecs. (2.34) y (2.35) a la ec. (2.2) se obtiene:

$$V_e = V_0 + V_i e^{-\Delta G_D/RT} e^{-\Delta G_p/RT} \quad (2.36)$$

Para una superficie de poro inerte, $\Delta G_p = 0$ (exclusión estérica). Los tratamientos mecano-estadísticos del mecanismo de exclusión estérica calculan la pérdida de entropía conformacional cuando una molécula pasa de la fase móvil al interior del poro^{9-11,37}. No existe cambio en la energía libre de mezcla cuando el soluto pasa de una fase a otra, por lo tanto ΔG_D vendrá dado por:

$$\Delta G_D = -T\Delta S_D = -kT \ln K_D \quad (2.37)$$

Esta ecuación sugiere que K_D es independiente de la temperatura, lo que es una característica de un mecanismo controlado por cambios entrópicos. Teniendo en cuenta la ec. (2.37) la ec. (2.36) se transforma en:

$$V_e = V_0 + V_i e^{+\Delta S_D/R} e^{-\Delta G_p/RT} \quad (2.38)$$

En general, pues:

$$K_{SEC} = e^{-\Delta H^{\circ}/RT} e^{\Delta S^{\circ}/RT} \quad (2.39)$$

Marsden⁵⁰ atribuyó el término entálpico de la ec. (2.39) a las interacciones soluto-gel (adsorción ó incompatibilidad). Dawkins y Hemming¹⁵ consideran el término entálpico como un coeficiente de distribución, k_p , cuyo valor es la unidad cuando el mecanismo de exclusión estérica es el úni-

co tipo de interacción en la separación (es decir $\Delta H^\circ=0$). Si hay adsorción y/o partición del soluto entonces $k_p > 1$ (ΔH° negativo) y si lo que existe es incompatibilidad entre el soluto y el gel los valores de k_p varían entre 0 y 1 (ΔH° positivo). De acuerdo con este concepto, Dawkins y Hemming suponen que el término entrópico de la ec. (2.39) es un coeficiente de distribución, K_D , que representa la exclusión estérica pura, ec. (2.37). Ambos coeficientes de distribución se pueden representar, en fin, como:

$$k_p = \exp (-\Delta H^\circ/RT) \quad (2.40)$$

$$K_D = \exp (\Delta S^\circ/RT) \quad (2.41)$$

2.2.- EFECTOS DE CONCENTRACION

Cuando se trabaja en SEC el volumen de elución de un soluto macromolecular varía con la concentración de la disolución inyectada, como se ha demostrado experimentalmente, tanto para macromoléculas sintéticas⁵¹⁻⁵³ como biológicas⁵⁴⁻⁵⁶. La variación en el volumen de elución aumenta con el peso molecular del soluto, con la estrechez de su distribución de pesos moleculares y con la calidad del disolvente^{21,57-60}. Generalmente, se encuentra una relación lineal entre la concentración y el volumen de elución del máximo del cromatograma, V_e . El encogimiento del ovillo macromolecular⁶¹⁻⁶³ y el "viscous fingering"^{64,65} que aparece al aumentar la concentración parecen ser los agentes causantes del retardo en V_e . La contribución de ambos factores es conocida convencionalmente como "efectos de concentración" en SEC y no se incluyen en este concepto otros efectos secundarios que también retrasan el V_e , como son la sobrecarga de la columna y la adsorción del soluto en el gel⁶⁶.

Como ya se ha mencionado antes, la SEC se utiliza convencionalmente para el cálculo de los promedios de peso molecular de polímeros a través de la ecuación de calibrado⁷,

generalmente lineal, que relaciona los logaritmos de los volúmenes hidrodinámicos de las muestras con sus V_e a dilución infinita. En la práctica, el calibrado universal se determina inyectando disoluciones de muestras standard a concentraciones finitas por lo que los valores de V_e obtenidos deben ser corregidos a dilución infinita. Se han propuesto muchos modelos empíricos de corrección^{52,60,67-69} y también diferentes modelos teóricos que intentan predecir cuantitativamente el "efecto de concentración". En el modelo de Janca^{65,70,71} se supone que los agentes causantes del efecto de concentración son el gradiente de viscosidad en la zona móvil a lo largo de la columna y la contracción del ovillo, mientras que los modelos semiempíricos de Rudin^{61,72} y Bleha y col.⁷³ solo se considera el último efecto.

La contracción de los ovillos (dependiente de la concentración) se supone que es el resultado de interacciones termodinámicas a través de complicados efectos de volumen excluido intra e intermoleculares⁷⁴⁻⁷⁷. En el modelo que al final de este apartado se propone para el efecto de concentración, se supone que la contracción del ovillo y por tanto, los efectos de concentración, son debidos a la contribución conjunta de interacciones termodinámicas e hidrodinámicas, siendo introducidas ambas en el modelo por medio del coeficiente de Huggins, k_H , del que dependen los volúmenes predichos.

Se estudian someramente a continuación los modelos existentes de "efectos de concentración", en orden cronológico, es decir: el modelo de Rudin, el de Janca y el de Bleha y col., cerrándose el apartado con el desarrollo en profundidad del modelo que se propone.

2.2.1.- Modelo de Rudin

El parámetro según el cual se lleva a cabo la separación en SEC es el volumen hidrodinámico⁷ de las macromoléculas en disolución. Rudin⁶¹ calcula los efectos de concentración estudiando la variación de los volúmenes hidrodinámicos

de los polímeros con la concentración.

El volumen hidrodinámico, V_h , de una molécula de polímero no hinchada puede ser estimado mediante:

$$V_h = \frac{M}{\rho N_A} \quad (2.42)$$

donde ρ es la densidad de la parte amorfa del polímero, M es el peso molecular y N_A el número de Avogadro. El volumen hidrodinámico de un polímero hinchado (tamaño del polímero disuelto (solvatado)) a una concentración finita es el producto de V_h y ξ , donde ξ es el factor de hinchamiento efectivo (adimensional) dado por la expresión empírica⁷⁸

$$\frac{1}{\xi} = \frac{1}{\xi_0} + \frac{c(\xi_0 - \xi_x)}{0,507\rho\xi_0} \quad (2.43)$$

en la que ξ_0 y ξ_x están definidos, respectivamente, como el factor de hinchamiento a dilución infinita y el factor de volumen crítico, expresados como:

$$\xi_0 = \frac{kM^a\rho}{2,5} \quad (2.44)$$

$$\xi_x = 2,56 + \frac{(0,34 \cdot 10^{-3})M}{M_0} \quad (2.45)$$

donde M_0 es el peso molecular del monómero. Estas ecuaciones, (2.42) a (2.45), han sido utilizadas para evaluar el volumen hidrodinámico del poliestireno por SÉC diferencial⁶³.

La ecuación (2.43) no reproduce, sin embargo, las observaciones experimentales en disolventes "theta". Por ello se ha propuesto la siguiente ecuación que parece reproducir bien las observaciones en todos los disolventes⁶²:

$$\frac{1}{\xi} = \frac{1}{\xi_0} + \frac{c(\xi_0 - 1)}{c_x \xi_0} \quad (2.46)$$

donde c_x es la concentración de la disolución de polímero correspondiente a la fracción de volumen crítica, ϕ_x , aquella en que las dimensiones de la macromolécula solvatada coinciden con las que tendría en un disolvente "theta". El factor de hinchamiento efectivo vale consiguientemente:

$$\xi = \frac{9,3 \cdot 10^{24} |\eta|}{|\eta|_{\theta} [(9,3 \cdot 10^{24}) + 4\pi N_A c (|\eta| - |\eta|_{\theta})]} \quad (2.47)$$

El tamaño de un polímero disuelto (el volumen hidrodinámico del polímero solvatado) a concentración finita, $V_h \xi$, resulta valer:

$$V_h \xi = \frac{4\pi |\eta| M}{9,3 \cdot 10^{24} + 4\pi (6,022 \cdot 10^{23}) c (|\eta| - |\eta|_{\theta})} \quad (2.48)$$

La ecuación anterior predice que el volumen hidrodinámico decrece desde un valor máximo a dilución infinita ($c=0$) y que no experimenta cambios en un disolvente "theta".

La relación entre el volumen de elución, V_e , y el volumen hidrodinámico, V_h , para un sistema particular polímero disolvente dependerá, obviamente, de las características del juego de columnas. De cualquier forma, se puede suponer que la curva de calibrado puede representarse mediante una relación lineal del tipo ³³:

$$\ln V_h = a - b \cdot V_e \quad (2.49)$$

donde a y b son constantes. Teniendo en cuenta (2.48) y (2.49) se llega finalmente a :

$$V_e = V_0 + \frac{1}{b} \ln (1 + 0,8137 (|\eta| - |\eta|_{\theta}) c) \quad (2.50)$$

La ec. (2.50) permite calcular el volumen de elución de una

muestra, en SEC, en función de la concentración de la disolución inyectada y muestra que el efecto de concentración aumenta con la concentración, con la eficiencia de la columna (a través de b) y con la bondad del eluyente (a través de $|\eta| - |\eta|_0$).

2.2.2.- Modelo de Janca

En este modelo teórico se tienen en cuenta tres fenómenos: el cambio en el tamaño efectivo de las moléculas eluidas, el debido a la viscosidad de la disolución de polímero en el volumen intersticial y la exclusión secundaria, debida a la ocupación del poro por otra molécula de polímero. Los dos primeros fenómenos hacen aumentar el V_e , mientras que el último lo hace disminuir.

El fenómeno de viscosidad es una contribución debida a la menor movilidad de la solución viscosa de polímero comparada con el disolvente puro de la fase móvil. La exclusión secundaria es una contribución debida a la reducción en el volumen de poros accesible a una macromolécula por la presencia de otras macromoléculas, efecto que aumenta con la concentración.

En el cálculo teórico, se supone que los cambios en la concentración de la disolución de polímero inyectada ocurren tanto inmediatamente al principio de la columna (a causa de la distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria), como durante la elución, a causa de la dispersión longitudinal que acompaña al movimiento de la zona de muestra a lo largo de la columna. Suponiendo un cambio instantáneo en el volumen hidrodinámico efectivo con un cambio en la concentración, el volumen de elución, V_S , puede calcularse mediante ^{65,71,79}:

$$V_S = P + Q \left(\ln V_h + \frac{B^2 C_I^2 \sigma_I^2}{(\sigma_T^2 - \sigma_I^2) A^2} \ln \frac{\sigma_T A + B C_I \sigma_I}{\sigma_I A + B C_I \sigma_I} - \frac{B C_I \sigma_I}{(\sigma_T + \sigma_I) A} + \right.$$

$$\left. \frac{\sigma_I^2}{\sigma_T^2 - \sigma_I^2} \ln (A + BC_I) - \frac{\sigma_I^2}{\sigma_T^2 - \sigma_I^2} \ln \frac{\sigma_T^{A+BC_I} \sigma_I}{\sigma_T} \right\} \quad (2.51)$$

donde P y Q son las constantes de calibrado⁷:

$$V_e = P + Q \ln (V_h \xi) \quad (2.52)$$

ecuación idéntica a (2.49) salvo la nomenclatura utilizada.

La ec. (2.51) da el volumen de elución calculado como una función del volumen hidrodinámico, concentración y eficiencia de la columna. C_I es la concentración de la muestra inyectada, σ_T la desviación standard total de la curva de elución para un polímero monodisperso al final de la columna y σ_I la desviación standard para la contribución del volumen de inyección. ξ y ξ_0 ya se han definido, ecs. (2.43) y (2.44). A y B están definidos por último, como:

$$A = \frac{1}{\xi_0} \quad \text{y} \quad B = \frac{\xi_0 - 1}{C_x \xi_0}$$

La contribución al volumen de elución debida al efecto de viscosidad en el volumen intersticial es proporcional a la diferencia entre las viscosidades de polímero y disolvente y puede calcularse mediante:

$$V_V = K' \left\{ \frac{2|\eta|C_I\sigma_I}{\sigma_T + \sigma_I} + \frac{2K_H|\eta|^2C_I^2\sigma_I^2}{\sigma_T^2 - \sigma_I^2} \ln \frac{\sigma_T}{\sigma_I} \right\} \quad (2.53)$$

donde K' es una constante empírica de proporcionalidad calculada usando en dicha ecuación valores experimentales de los volúmenes de elución a diferentes concentraciones de moléculas excluidas. K_H es la constante de Huggins para el sistema polímero-disolvente en estudio, definida como:

$$\eta_{sp} = |\eta|C + K_H|\eta|^2C^2 \quad (2.54)$$

donde η_{sp} es la viscosidad específica de la disolución de polímero. Finalmente, el incremento de V_e debido al tercer efecto de la exclusión secundaria se calcula mediante la ecuación:

$$V_E = - \frac{2(\bar{V}_e - V_0) \phi_x \sigma_I C_I}{\sigma_T^2 - \sigma_I^2} \left(\frac{\sigma_T - \sigma_I}{A} - \frac{BC_I \sigma_I}{A^2} \ln \frac{A\sigma_T + BC_I \sigma_I}{A\sigma_I + BC_I \sigma_I} \right) \quad (2.55)$$

donde \bar{V}_e es el volumen de elución promediado^{71,79} y las demás variables ya han sido definidas.

Janca define el volumen de elución como el debido a la suma de los tres efectos:

$$V_e = V_S + V_V + V_E \quad (2.56)$$

Las ecs. (2.51), (2.53) y (2.55) muestran que los cambios de V_e causados por los efectos de concentración son tanto mayores cuanto mayores son los volúmenes de inyección y la eficiencia de la columna, lo que parece estar de acuerdo con los resultados experimentales^{65,80,81}. De los tres efectos el que más contribuye a V_e es el viscoso. Según Janca⁷⁹ este efecto es aproximadamente cuatro veces superior al del encogimiento del ovillo en presencia de otras macromoléculas, es decir, la contribución del volumen hidrodinámico no excede el 20% del cambio total en V_e .

2.2.3.- Modelo de Bleha y col.

Bleha y col.⁷³ se basan en las relaciones presentadas por Eizner⁷⁵ y Yamakawa⁸² para expresar la compresión macromolecular al aumentar la concentración de polímero, C , en disolución. La teoría de Eizner describe la dependencia con la concentración del factor de expansión del radio de giro, $\alpha_S^2 = \bar{S}^2 / \bar{S}_0^2$, para disoluciones diluídas. \bar{S}_0^2 es el radio de giro del ovillo sin perturbar. La dependencia de α se expresa mediante una serie de potencias:

$$\alpha_C = \alpha_0 (1 - A_2 M F_E C - A_3 M F_E' C^2 - \dots) \quad (2.57)$$

donde M es la masa molecular relativa, A_2 y A_3 son el segundo y tercer coeficientes del virial del sistema polímero-disolvente y tanto F_E como F'_E son funciones complicadas de los parámetros de volumen excluido. Eizner muestra, también, que en el rango de bajas concentraciones la contribución del término cuadrático de la ec. (2.57) es despreciable y el factor de expansión decrece linealmente desde su valor límite a dilución infinita.

Yamakawa⁸² obtiene una expresión analítica similar para la dependencia con la concentración del factor de expansión de la distancia extremo-extremo, $\alpha_h^2 = \bar{h}^2/\bar{h}_0^2$, resolviendo las ecuaciones diferenciales para las funciones de distribución de la distancia extremo-extremo. Reordenando la expresión por él obtenida^{82,83} se llega a:

$$\alpha_C = \alpha_0 \exp(-A_2 M F_Y C) \quad (2.58)$$

expresión en la que la función F_Y está definida como:

$$F_Y = (k/k_1) |1 - h_0(\bar{Z}_0) / h(\bar{Z}_0)| \quad (2.59)$$

donde $\bar{Z}_0 = Z/\alpha_0^3$, Z es el parámetro de volumen excluido y las constantes k y k_1 tienen valores de 0,4551 y 5,731, respectivamente⁸². La función $h(\bar{Z}_0) \approx h_0(\bar{Z}_0)$, ya que la expansión en series indica una diferencia despreciable.

Aproximando el ovillo polimérico en disolución a una esfera, el volumen hidrodinámico efectivo a dilución infinita, $V_h(0)$, es :

$$V_h(0) = (4/3)\pi(\bar{S}^2)^{3/2} = (4/3)\pi(|\eta|M/\Phi') \quad (2.60)$$

donde $\Phi' = 100(6)^{3/2}\Phi$, y Φ es la constante universal de Flory³² que varía con la calidad del disolvente de acuerdo con⁸⁴:

$$\Phi' = \Phi'_0 (1 - 2,63\varepsilon + 2,86\varepsilon^2) \quad (2.61)$$

donde $\epsilon = (2a - 1)/3$ y a es el exponente de la relación $|\eta| = k.M^a$. El volumen hidrodinámico en la ec. (2.60) se puede expresar en función de parámetros del estado "theta" y el factor de expansión α_0 , ya que $|\eta| = k_\theta M^{1/2} \alpha_0^3$ que sustituido en (2.60) conduce a:

$$V_h(0) = (4\pi k_\theta M^{3/2} / 3\phi'_\theta) [\alpha_0^3 / (1 - 2,63\epsilon + 2,86\epsilon^2)] \quad (2.62)$$

En la ec. (2.62) se recomienda⁸⁵ para ϕ'_θ el valor $4,2 \cdot 10^{24}$. La sustitución en esta última ecuación de α_0 por α_C de las ecs. (2.57) y (2.58) permite obtener:

$$V_h(C) = V_h(0) (1 - A_2 M F_E C - \dots)^3 \quad (2.63)$$

y

$$V_h(C) = V_h(0) \exp(-3A_2 M F_Y C) \quad (2.64)$$

expresiones ambas que permiten definir el volumen hidrodinámico efectivo de una macromolécula en función de su concentración.

Sólo queda ahora convertir los cambios de volumen hidrodinámico de las ecs. (2.63) y (2.64) en variaciones del V_e en SEC. Este objetivo se logra utilizando, al igual que en los modelos anteriores, el concepto de calibrado universal⁷ que para una disolución infinitamente diluída se puede expresar:

$$\log V_h(0) = b_1 - b_2 V_e(0) \quad (2.65)$$

y para una disolución de polímero a concentración C :

$$\log V_h(C) = b_1 - b_2 V_e(C) \quad (2.66)$$

de ambas ecuaciones se obtiene:

$$V_e(C) = V_e(0) + (1/b_2) \log [V_h(0)/V_h(C)] \quad (2.67)$$

Finalmente, sustituyendo en esta ecuación el valor de $V_h(C)$ dado por la expresión de Eizner, restringiéndola a los dos primeros términos, (2.63), y por la de Yamakawa, (2.64), se obtienen, respectivamente:

$$V_e(C) = V_e(0) - (3/b_2) \log(1 - A_2 M F_E C) \quad (2.68)$$

$$V_e(C) = V_e(0) + 1,303 \cdot A_2 M F_Y C / b_2 \quad (2.69)$$

relaciones muy similares que muestran que el efecto de concentración en SEC para un sistema polímero-disolvente depende del segundo coeficiente del virial, A_2 , del peso molecular del soluto, M , y de su concentración en el eluyente así como de las funciones F_E y F_Y que dependen a su vez de parámetros de volumen excluido (expresado por α_0 ó Z). Ambas expresiones dependen también de la pendiente de calibrado, b_2 , que define la selectividad de la columna.

2.2.4 Modelo propuesto.

El modelo propuesto se basa, al igual que el de Rudin y col.^{61,72}, en la disminución del volumen hidrodinámico que sufren las macromoléculas en disolución, debido a la repulsión creada entre ellas al aumentar la concentración.

Como ya se ha mencionado, en SEC es habitual el uso del calibrado universal⁷ para caracterizar polímeros, consistente en admitir que el logaritmo del volumen hidrodinámico de una macromolécula a dilución infinita en cualquier disolvente, $V_h(0)$, varía linealmente con el volumen de elución del máximo del cromatograma, V_e . Sin embargo, a concentración finita, C_D , el volumen hidrodinámico de una macromolécula, $V_h(C_D)$, depende fuertemente de la concentración^{61,62,75,82} dependencia más acusada conforme es mayor la masa molecular de la muestra⁶¹. V_e dependerá, pues, de la masa molecular del polímero y de la concentración, a una temperatura dada.

La ecuación de calibrado universal a dilución infinita puede representarse mediante:

$$\log V_h(0) = \log (M|\eta|_A) = 0 - PV_e(0) \quad (2.70)$$

y para una disolución a concentración C_D :

$$\log V_h(C_D) = \log (M|\eta|_{A,C_D}) = 0 - PV_e(C_D) \quad (2.71)$$

es decir, el calibrado se conservará ⁷² ya que el eluyente y demás condiciones operacionales permanecen constantes. $V_h(C_D)$ y $V_e(C_D)$ son, respectivamente, el volumen hidrodinámico del polímero a concentración C_D (con una viscosidad $|\eta|_{A,C_D}$) y el volumen de elución de dicho polímero. Restando las dos ecuaciones anteriores, (2.71) de (2.70) se obtiene:

$$- P \cdot (V_e(C_D) - V_e(0)) = \log \frac{|\eta|_{A,C_D}}{|\eta|_A} \quad (2.72)$$

Por otro lado, en el estudio viscosimétrico de sistemas ternarios polímero A-polímero B-disolvente, se han dado expresiones ^{86,87} mediante las cuales es posible calcular el parámetro de interacción viscosimétrico b_{AB} entre ambos polímeros en función de las viscosidades intrínsecas de los polímeros y la variación de la viscosidad de uno de ellos al ir variando la concentración del otro. Debido a la similitud de comportamiento experimental de un polímero en presencia de otro y de un polímero en presencia de sí mismo (en lo que respecta a la disminución de su viscosidad intrínseca), por un lado, y a la sencillez de las expresiones que relacionan el valor de dicha viscosidad con los coeficientes de interacción viscosimétricos por otro, es por lo que se toman dichas expresiones como base del cálculo de $|\eta|_{A,C_D}$.

La viscosidad específica reducida de un polímero B en

un disolvente dado puede expresarse como:

$$\frac{\eta_{sp,B}}{C_B} = \frac{(t_{CB}/t_0)^{-1}}{C_B} = |\eta|_B + b_B C_B + b'_B C_B^2 + \dots \quad (2.73)$$

siendo:

$$t_{CB} = t_0 (1 + C_B |\eta|_B + C_B^2 b_B + C_B^3 b'_B + \dots) \quad (2.74)$$

y C_B , $|\eta|_B$, b_B y b'_B la concentración, viscosidad intrínseca y parámetros de interacción viscosimétricos, respectivamente, del polímero B en el disolvente, mientras que t_{CB} y t_0 indican el tiempo de flujo por un capilar de una disolución de concentración C_B y de disolvente puro, respectivamente. Krigbaum y Wall⁸⁸ y Cragg y Bigelow⁸⁹ propusieron que la viscosidad de dos polímeros A y B en un disolvente dado puede expresarse como:

$$\frac{\eta_{sp,m}}{C_m} = |\eta|_m + b_m C_m + b'_m C_m^2 + \dots \quad (2.75)$$

expresión en la que se ha tomado un término adicional ($b'_m C_m^2$) a los tomados por los autores, indicando el subíndice "m" la mezcla de A+B. La ec. (2.75) puede también escribirse como:

$$\begin{aligned} \frac{\eta_{sp,A+B}}{C_A+C_B} = & |\eta|_A^{W_A} + |\eta|_B^{W_B} + (b_A^{1/2} W_A + b_B^{1/2} W_B)^2 (C_A+C_B) + \\ & + (b_A^{1/3} + b_B^{1/3})^3 (C_A+C_B)^3 + \dots \end{aligned} \quad (2.76)$$

siendo W_i la fracción en peso del polímero i en la mezcla de polímeros. El $t_{C_A+C_B}$ vendrá dado en este caso por:

$$t_{C_A+C_B} = t_0 \left(1 + |\eta|_A C_A + |\eta|_B C_B + (b_A^{1/2} C_A + b_B^{1/2} C_B)^2 + (b_A^{1/3} C_A + b_B^{1/3} C_B)^3 + \dots \right) \quad (2.77)$$

La viscosidad intrínseca de un polímero A en un disolvente binario que sea mezcla de disolvente puro y polímero B a concentración C_B será:

$$|\eta|_{A,C_B} = \lim_{C_A \rightarrow 0} \frac{t_{C_A+C_B} - t_{C_B}}{t_{C_B} C_A} \quad (2.78)$$

La expresión original de Cragg y Bigelow no tiene en cuenta, como ya se ha apuntado, el término cuadrático de la concentración (2.75) y su validez, obviamente, se restringe a concentraciones pequeñas. En SEC, sin embargo, se plantean problemas con concentraciones grandes donde la expresión original de Cragg y Bigelow no es capaz de prever la viscosidad intrínseca y habrá que utilizar la ec. (2.75) que, en principio, debe ser válida para concentraciones más elevadas. Por ello, aunque en paralelo, el desarrollo del modelo se va a dividir en dos apartados: aplicación a disoluciones muy diluidas (ec. (2.75) simplificada) y aplicación a disoluciones moderadas. Además, como se verá en la discusión de resultados del modelo aunque conceptualmente no hay diferencias en esa división, sí las habrá a la hora de aplicar las expresiones resultantes ya que, obviamente, en el segundo caso aparecen parámetros de interacción de orden superior difíciles de evaluar experimentalmente.

a) Disoluciones muy diluidas:

Sustituyendo en la ec. (2.78) las expresiones para los tiempos dados por las ecuaciones (2.74) y (2.77) hasta los términos cuadráticos se obtiene:

$$|\eta|_{A,C_B} = \lim_{C_A \rightarrow 0} \frac{|\eta|_A + C_A b_A + 2C_A b_{AB}}{1 + C_B |\eta|_B + C_B^2 b_B} = \frac{|\eta|_A + 2C_B b_{AB}}{1 + C_B |\eta|_B + C_B^2 b_B} \quad (2.79)$$

Expresión en la que se adopta para el parámetro de interacción viscosimétrico el valor teórico $b_{AB} = (b_A b_B)^{1/2}$ ^{37,41}, es decir, la media geométrica de los parámetros de interacción individuales.

Estas expresiones han sido utilizadas por Bohmer y col.⁹⁰, Dondos y col.⁸⁶ y Bohdanecky y col.⁸⁷ entre otros. Sin embargo, nosotros estamos interesados en el caso particular en que el polímero B sea el mismo polímero A, es decir, en el cálculo de las expresiones anteriores para un polímero A que se encuentre en presencia de un "disolvente binario" formado por una disolución del mismo polímero A en un disolvente dado a concentración C_D . Para este caso particular la ec. (2.79) quedaría:

$$|\eta|_{A,C_D} = \frac{|\eta|_A + 2C_D b_A}{1 + C_D |\eta|_A + C_D^2 b_A} \quad (2.80)$$

sin más que sustituir C_B por C_D y b_{AB} por b_A .

b) Concentraciones moderadas (disoluciones diluidas)

Sustituyendo de nuevo en la ec. (2.78) las expresiones de los términos, pero tomando los términos cúbicos en la concentración, se llega a:

$$|\eta|_{A,C_B} = \frac{|\eta|_A + 2b_{AB} C_B + 3b'_{BBA} C_B^2}{1 + |\eta|_B C_B + b_B C_B^2 + b'_B C_B^3} \quad (2.81)$$

ecuación que para el caso particular objeto de nuestro estudio se transforma en:

$$|\eta|_{A,C_D} = \frac{|\eta|_A + 2b_A C_D + 3b'_A C_D^2}{1 + |\eta|_A C_D + b_A C_D^2 + b'_A C_D^3} \quad (2.82)$$

donde, siguiendo el razonamiento de los autores, se adopta para el parámetro de interacción el valor teórico:

$$b'_{BBA} = (b'_B b'_B b'_A)^{1/3}$$

La ec. (2.82) es similar a la dada para disoluciones muy diluidas, ec. (2.80), pero con nuevos términos en numerador y

denominador que incluyen un nuevo parámetro de interacción viscosimétrico, b'_A .

2.2.4.1.- Aplicación de las expresiones anteriores al cálculo del efecto de concentración en SEC.

A la hora de calcular el efecto de concentración en SEC es evidente que interesa conocer el cociente $|\eta|_{A,CD}/|\eta|_A$, ver (2.72). Para ello se dispone de las dos expresiones dadas anteriormente, ecs. (2.80) y (2.82), para disoluciones muy diluídas y disoluciones de concentración moderada, respectivamente.

Para el caso de disoluciones muy diluídas, tomando la ec. (2.80) y dividiendo por $|\eta|_A$ se obtiene:

$$\frac{|\eta|_{A,CD}}{|\eta|_A} = \frac{1+2k_A|\eta|_A C_D}{1+|\eta|_A C_D + k_A |\eta|_A^2 C_D^2} \quad (2.83)$$

si se considera el valor de la constante de Huggins dado por la conocida relación^{87,91}

$$k_A = \frac{b_A}{|\eta|_A^2} \quad (2.84)$$

y para el caso de disoluciones diluídas (concentraciones moderadas):

$$\frac{|\eta|_{A,CD}}{|\eta|_A} = \frac{1+2k_A|\eta|_A C_D + 3k'_A|\eta|_A^2 C_D^2}{1+|\eta|_A C_D + k_A |\eta|_A^2 C_D^2 + k'_A |\eta|_A^3 C_D^3} \quad (2.85)$$

si se considera el valor de k'_A dado por^{87,91}:

$$k'_A = \frac{b'_A}{|\eta|_A^3} \quad (2.86)$$

La introducción de k_A y k'_A queda justificada teniendo en cuenta que la viscosidad específica reducida puede escribirse⁹¹:

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = |\eta| + k|\eta|^2 C + k'|\eta|^3 C^2 \quad (2.87)$$

Sustituyendo los valores expresados en las ec. (2.83) y (2.85) en la ec. (2.72) se obtiene:

$$V_e(C_D) = V_e(0) - \frac{1}{P} \log \frac{1+2k_A |\eta|_{A,D} C_D}{1+|\eta|_{A,D} C_D + k_A |\eta|_{A,D}^2 C_D^2} \quad (2.88)$$

$$V_e(C_D) = V_e(0) - \frac{1}{P} \log \frac{1+2k_A |\eta|_{A,D} C_D + 3k'_A |\eta|_{A,D}^2 C_D^2}{1+|\eta|_{A,D} C_D + k_A |\eta|_{A,D}^2 C_D^2 + k'_A |\eta|_{A,D}^3 C_D^3} \quad (2.89)$$

la ec. (2.88), válida para concentraciones de polímero muy diluídas, da el valor del volumen de elución $V_e(C_D)$ de una muestra a concentración C_D en función de $V_e(0)$, de la viscosidad intrínseca de la muestra inyectada, $|\eta|_A$, de C_D y de la constante de Huggins, k_A , de la muestra en el disolvente eluyente.

a) Inyección de disoluciones muy diluídas

La ec. (2.88) es válida para concentraciones de polímero muy pequeñas, conscientes de ello, se puede buscar equivalencias de dicha ecuación mediante aproximaciones en que desaparezca el logaritmo. El objeto de estas transformaciones será buscar expresiones más reducidas y fácilmente discutibles. Para C_D muy pequeñas y como $|\eta|_{A,C_D}/|\eta|_A$ (ec. (2.83)) es una función derivable respecto de C_D , dicha función podrá aproximarse a un polinomio en suma de potencias de C_D mediante un desarrollo en serie de Taylor. Es decir:

$$\frac{|\eta|_{A,C_D}}{|\eta|_A} = F(C_D) = F(C_D)_{C_D \rightarrow 0} + F'(C_D)_{C_D \rightarrow 0} \frac{C_D}{1!} + F''(C_D)_{C_D \rightarrow 0} \frac{C_D^2}{2!} + \dots \quad (2.90)$$

Luego, si se supone que k_A es independiente de C_D en el intervalo de concentraciones (C_D pequeñas), se puede escribir:

$$\frac{|\eta|_{A,C_D}}{|\eta|_A} = 1 + (2k_A - 1) |\eta|_{A,D} C_D + (1 - 3k_A) |\eta|_{A,D}^2 C_D^2 + \dots \quad (2.91)$$

Aplicando logaritmos y recordando que $\lim_{x \rightarrow 0} \ln(1+x) \approx x$

$$\begin{aligned} \log \frac{|\eta|_{A,C_D}}{|\eta|_A} &= 0,4343 \ln \left[1 + (2k_A - 1) |\eta|_{A,C_D} + (1 - 3k_A) |\eta|_{A,C_D}^2 \right] = \\ &= 0,4343 \left[(2k_A - 1) |\eta|_{A,C_D} + (1 - 3k_A) |\eta|_{A,C_D}^2 \right] \end{aligned} \quad (2.92)$$

que sustituido en (2.87) da:

$$v_e(C_D) = v_e(0) - \frac{0,4343}{P} \left[(2k_A - 1) |\eta|_{A,C_D} + (1 - 3k_A) |\eta|_{A,C_D}^2 \right] \quad (2.93)$$

b) Inyección de disoluciones diluídas (moderadamente concentradas).

Para estos casos hay que considerar la ec. (2.89). Si volvemos a aplicar el procedimiento anterior, es decir, desarrollamos $|\eta|_{A,C_D} / |\eta|_A$ en suma de potencias de C_D , se obtiene:

$$\frac{|\eta|_{A,C_D}}{|\eta|_A} = 1 + (2k_A - 1) |\eta|_{A,C_D} + (1 - 3k_A + \frac{3k_A^2}{|\eta|_A}) |\eta|_{A,C_D}^2 + (4k_A - 2k_A^2 - 1 - \frac{4k_A^3}{|\eta|_A}) |\eta|_{A,C_D}^3 \quad (2.94)$$

expresión más compleja que la ec. (2.91) y en la que no tiene sentido seguir operando de la forma anterior ya que las expresiones que se van a alcanzar seguirán siendo complejas. Además, a viscosidades altas, como C_D es mayor, el término cúbico tendrá gran importancia por lo tanto resulta más útil conservar la ec. (2.89) sin ninguna aproximación.

2.2.4.2.- Aplicación de las expresiones anteriores al cálculo del efecto de la concentración de un polímero en SEC cuando en el eluyente hay otro polímero.

El problema de teorizar o prever el volumen de elución de una muestra inyectada a determinada concentración cuando el eluyente está formado por disolvente y otro polímero a concentración conocida es complejo, pero puede abordarse haciendo uso de las ideas ya expuestas. Siguiendo el camino habitual, se comienza exponiendo el problema correspondiente a disoluciones de polímero muy diluídas para, seguidamente, pasar al tratamiento de disoluciones moderadas.

Recordando la expresión que daba la viscosidad intrínseca del polímero A en presencia del polímero B a concentración C_B , ec. (2.78), y ahora, siguiendo con las ideas expuestas anteriormente, se plantea la viscosidad intrínseca del polímero A a concentración finita C_D , en presencia del polímero B a concentración C_B como:

$$|\eta|_{A, (C_D+C_B)} = \lim_{C_A \rightarrow 0} \frac{t_{(C_A+C_D)+C_B} - t_{C_D+C_B}}{t_{C_D+C_B} C_A} \quad (2.95)$$

el tiempo $t_{C_D+C_B}$ correspondería al tiempo de flujo del "disolvente" (disolvente puro más polímero B a C_B y polímero A a C_D) y $t_{(C_A+C_D)+C_B}$ al tiempo de flujo de la disolución de polímero A a concentración C_A en ese "disolvente". Recordando, ahora, las ecs. (2.74) y (2.77) para los tiempos, se puede escribir:

$$t_{(C_A+C_D)+C_B} = t_0 \{ 1 + |\eta|_A (C_A+C_D) + |\eta|_B C_B + [b_A^{1/2} (C_A+C_D) + b_B^{1/2} C_B]^2 + [b_A^{1/3} (C_A+C_D) + b_B^{1/3} C_B]^3 + \dots \} \quad (2.96)$$

$$t_{C_D+C_B} = t_0 \{ 1 + |\eta|_A C_D + |\eta|_B C_B + (b_A^{1/2} C_D + b_B^{1/2} C_B)^2 + (b_A^{1/3} C_D + b_B^{1/3} C_B)^3 + \dots \} \quad (2.97)$$

- a) Disoluciones muy diluídas de polímero inyectado y polímero en el eluyente.

Tomando las ecs. (2.96) y (2.97) hasta los términos cuadráticos y aplicando la ec. (2.95) para el cálculo de la viscosidad intrínseca se obtiene:

$$|\eta|_{A, (C_D+C_B)} = \frac{|\eta|_A + 2b_A C_D + 2b_{AB} C_B}{1 + |\eta|_A C_D + |\eta|_B C_B + b_A C_D^2 + b_B C_B^2 + 2b_{AB} C_D C_B} \quad (2.98)$$

expresión que da la viscosidad del polímero A a concentración finita C_D en presencia del polímero B a concentración C_B . Si en esta ecuación se hace $C_D=0$ se obtiene la ec. (2.79) que expresaba la viscosidad intrínseca del polímero A en presencia del polímero B a concentración C_B . Por otro lado, si en la ec. (2.98) se hace $C_B=0$ se llega a la ec. (2.80) que expresaba la viscosidad intrínseca del polímero A a concentración finita C_D .

A la hora de aplicar la ec. (2.98) en SEC, se ha tomado el volumen hidrodinámico a concentración C_D como $V_h(C_D) = M|\eta|_{A, (C_D+C_B)}$ y el volumen hidrodinámico a dilución infinita como $V_h(0) = M|\eta|_{A, C_B}$ como hacen otros autores⁹³. Teniendo en cuenta, ahora, la ec. (2.72):

$$-P(V_e(C_D) - V_e(0)) = \log \frac{|\eta|_{A, (C_D+C_B)}}{|\eta|_{A, C_B}} \quad (2.99)$$

Sustituyendo en esta expresión los valores de las viscosidades intrínsecas dadas por las ecuaciones (2.98) y (2.81) y teniendo en cuenta que

$$k_A = \frac{b_A}{|\eta|_A^2} ; k_B = \frac{b_B}{|\eta|_B^2} ; b_{AB} = (b_A b_B)^{1/2} = |\eta|_A |\eta|_B (k_A k_B)^{1/2}$$

se obtiene, después de simplificar:

$$V_e(C_D) = V_e(0) -$$

$$\frac{1}{P} \log \frac{[1+|\eta|_B C_B + k_B |\eta|_B^2 C_B^2] [1+2|\eta|_A k_A C_D + 2|\eta|_B (k_A k_B)^{1/2} C_B]}{[1+|\eta|_B C_B + |\eta|_A C_D + (k_B^{1/2} |\eta|_B C_B + k_A^{1/2} |\eta|_A C_D)^2] [1+2|\eta|_B (k_A k_B)^{1/2} C_B]} \quad (2.100)$$

Esta expresión, al igual que para las viscosidades, se transforma en su homóloga, ec.(2.88), sin más que hacer $C_B=0$ (no hay polímero en el eluyente).

La anterior ecuación puede hacerse más manejable haciendo $X \equiv |\eta|_A C_D$, $Y \equiv |\eta|_B C_B$, $\alpha \equiv k_A^{1/2} X$, $\beta \equiv k_B^{1/2} Y$. Sustituyendo estos valores se obtiene la expresión:

$$V_e(C_D) = V_e(0) - \frac{1}{P} \log \prod_{m=1}^2 \left(\frac{[1+2k_A^{1/2}(\alpha+\beta)]}{[1+x+y+(\alpha+\beta)^2]} \right)_{m=2; x=0}^{3-2m} \quad (2.101)$$

de tal forma que cuando m vale 2, x vale 0.

b) Disoluciones moderadas de polímero inyectado y polímero en el eluyente.

Sustituyendo en la ec.(2.95) las expresiones de los tiempos de flujo (ecuaciones (2.96) y (2.97)) pero considerando ahora los términos cúbicos y operando de forma similar a disoluciones muy diluídas se obtiene:

$$|\eta|_{A, (C_D + C_B)} = \frac{|\eta|_A + 2b_{AD} C_D + 2b_{AB} C_B + 3b'_{AD} C_D^2 + 3b'_{BA} C_B^2 + 6b'_{AB} C_D C_B}{1 + |\eta|_A C_D + |\eta|_B C_B + b_{AD}^2 C_D^2 + b_{BB}^2 C_B^2 + b_{AB} C_D C_B + b'_{AD} C_D^3 + b'_{BB} C_B^3 + 3b'_{AB} C_D^2 C_B + 3b'_{BA} C_D C_B^2} \quad (2.102)$$

expresión en la que se aplican los valores teóricos ya mencionados para $b'_{AB} = (b'_{AA} b'_{BB})^{1/3}$ y $b'_{BA} = (b'_{BB} b'_{AA})^{1/3}$ y para $b_{AB} = (b_{AA} b_{BB})^{1/2}$.

Para comprobar esta ecuación, haciendo $b'_i=0$ (disoluciones muy diluídas) se obtiene la ec.(2.98). A la hora de las aplicaciones en SEC, teniendo en cuenta que

$$b'_{AB} = |\eta|_A^2 |\eta|_B (k'_A k'_A k'_B)^{1/3}$$

$$b'_{BA} = |n|_A |n|_B^2 (k'_A k'_B k'_B)^{1/3}$$

y operando de forma similar a disoluciones muy diluidas, se alcanza finalmente la ecuación:

$$v_e(C_D) = v_e(0) - \frac{1}{P} \log \left[\frac{1 + |n|_{B C_B} + (k'_B)^{1/2} |n|_{B C_B}^2 + (k'_B)^{1/3} |n|_{B C_B}^3}{1 + |n|_{A C_D} + |n|_{B C_B} + (k'_A)^{1/2} |n|_{A C_D} + k'_B^{1/2} |n|_{B C_B}^2 + (k'_A)^{1/3} |n|_{A C_D} + k'_B^{1/3} |n|_{B C_B}^3} \cdot \frac{1 + 2k'_A^{1/2} (k'_B)^{1/2} |n|_{B C_B} + k'_A^{1/2} |n|_{A C_D} + 3k'_A^{1/3} (k'_B)^{1/3} |n|_{B C_B} + k'_A^{1/3} |n|_{A C_D}^2}{1 + 2k'_A^{1/2} k'_B^{1/2} |n|_{B C_B} + 3k'_A^{1/3} k'_B^{2/3} |n|_{B C_B}^2} \right] \quad (2.103)$$

La expresión anterior es una ecuación general que conduce, mediante simplificaciones, a cualquiera de las expresiones expuestas en el modelo que se propone en esta Memoria. Así, si $k'_i=0$ (disoluciones muy diluidas polímero-polímero-disolvente) la ec.(2.103) se transforma en la ec.(2.102), si $C_B=0$ se obtiene la ec.(2.89) (disoluciones moderadas polímero-disolvente) y finalmente, con $k'_i=0$ y $C_B=0$ se obtiene la ec.(2.88) (disoluciones muy diluidas polímero-disolvente). Al igual que en el caso anterior, se puede hacer más manejable la ec.(2.103) si se toma: $X \equiv |n|_{A C_D}$, $Y \equiv |n|_{B C_B}$, $\alpha \equiv k'_A^{1/2} X$, $\beta \equiv k'_B^{1/2} Y$, $\gamma \equiv k'_A^{1/3} X$, $\delta \equiv k'_B^{1/3} Y$, operando:

$$v_e(C_D) = v_e(0) - \frac{1}{P} \log \prod_{m=1}^2 \left[\frac{1 + 2k'_A^{1/2} (\delta + \gamma) + 3k'_A^{1/3} (\delta + \gamma)^2}{1 + x + y + (\beta + \alpha)^2 + (\delta + \gamma)^3} \right]^{3-2m} \quad m=2; x=0 \quad (2.104)$$

al igual que en el caso anterior cuando $m=2$, $x=0$.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1.- SEC

A pesar de las innovaciones instrumentales producidas en esta técnica , el concepto básico del método apenas ha variado desde que fuera introducida. El disolvente eluyente, almacenado en un depósito, es filtrado, desgasificado y bombeado a presión a través de una o varias columnas conectadas en serie, siendo dividido en dos líneas: muestra y referencia. La disolución de polímero se inyecta en la línea de muestra y a la salida de las columnas es comparada con la de referencia mediante un sistema de detectores que mida alguna propiedad física proporcional a la concentración; la respuesta a la diferencia en esta propiedad se convierte en una señal eléctrica que posteriormente es registrada.

3.1.1.- Descripción del equipo

El equipo empleado consta fundamentalmente de cuatro partes:

1. Sistema de bombeo
2. Sistema de inyección
3. Columnas cromatográficas
4. Sistema de detección

El sistema de bombeo consiste en una bomba de doble pistón alternativo de Waters Assoc., modelo M6000A, que puede alcanzar una presión de 6000 p.s.i. (408 atmósferas) desde un caudal de 0,1 ml/min. a 9,9 ml/min., un sistema de amortiguación que consigue una constancia en el caudal de $\pm 0,01$ ml/min. y un potenciómetro limitador de presión con una escala de 100 a 6000 p.s.i.

Como sistema de inyección se ha utilizado un U6K Inyector de Waters Assoc., del tipo de válvula de puerta múltiple. Básicamente se trata de un circuito en paralelo con el de conducción por el que se introduce la muestra a pre-

sión ambiental. Consiste en un bucle calibrado de 2 ml. de capacidad límite que está siempre lleno de disolvente-eluyente. En el momento de la inyección se produce automáticamente una marca en el registro que señala el origen en la escala de volúmenes de elución.

Las columnas cromatográficas son la parte principal del equipo por ser en ellas donde se lleva a cabo el proceso de separación. Suele constar de una o varias columnas conectadas en serie, dependiendo del rango de pesos moleculares de las muestras a estudiar. En la presente Memoria se ha empleado un juego de tres columnas de acero inoxidable sin soldadura de 30 cm. de longitud y 0,78 cm. de diámetro interno cada una, cuyo relleno se discutirá más adelante. Todas las uniones se han realizado con tubería capilar y conectores especiales (volumen muerto nulo) con el fin de evitar la dispersión axial.

El detector empleado a la salida del juego de columnas ha sido un refractómetro diferencial de Waters Assoc., modelo R-401 que tiene unos rangos de atenuación, en múltiplos de dos, que varían desde 0,25X hasta 128X, correspondientes a una señal a escala completa de $6 \cdot 10^{-6}$ a $3 \cdot 10^{-3}$ unidades de índice de refracción.

Los volúmenes de elución se han determinado mediante el uso de un sifón Waters Assoc. de capacidad nominal de 1 ml. que por calibrado mediante pesada del eluyente resultó ser de 0,964 ml.

3.1.2.- Control de temperatura

El control de temperatura se ha logrado mediante la inmersión del juego de columnas en un baño termostático, justo a la salida del inyector. Las temperaturas de medida han sido de 20, 35 y 50°C, con una constancia de $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

3.1.3.- Soportes utilizados

Los soportes utilizados en SEC se dividen en dos gran-

des tipos: orgánicos e inorgánicos (o también blandos y rígidos). A la vista de los estudios a efectuar y las condiciones en que se iban a llevar a cabo las medidas (variación de temperaturas, eluyentes,...) se eligió un soporte inorgánico. Los soportes inorgánicos presentan numerosas e importantes ventajas frente a los orgánicos, tales como: la alta estabilidad química, térmica y mecánica, compatibilidad con todo tipo de disolventes, tanto orgánicos como inorgánicos, menor pérdida de carga y porosidad independiente de la naturaleza del disolvente. No obstante, y debido a su constitución química, presencia de grupos -OH, pueden aparecer fenómenos de adsorción que para ciertos fines pueden resultar perjudiciales.

El soporte elegido está constituido por partículas esféricas de gel de sílice y es comercializado por Merck bajo la marca LiChrospher. Se han utilizado tres tipos de LiChrospher, los denominados Si 100, Si 300 y Si 500, donde el número indica el diámetro medio de poro. Las características de los rellenos citados se recogen en la tabla 3.1.

TABLA 3.1

Características de los rellenos utilizados. Todos los datos proceden del fabricante.

Nombre	tamaño de partícula	volumen de poros	superficie específica
LiChrospher Si 100	10 μm .	1,2 ml/g.	250 m^2/g
LiChrospher Si 300	10 "	2,0 "	250 "
LiChrospher Si 500	10 "	0,8 "	50 "

3.1.4.- Condiciones experimentales para la obtención de cromatogramas.

En el estudio del efecto de la temperatura se han obtenido cromatogramas de las muestras en cuatro disolventes-eluyentes distintos: benceno, butanona y mezclas volumen-volumen de benceno-metanol (80/20) y butanona-heptano (50/50) a las tres temperaturas indicadas. En cada caso el eluyente se introducía en el depósito, donde estaba protegido de la luz y en contacto con el exterior a través de un tubo relleno con gel de sílice para evitar la absorción de agua. Cuando el eluyente era una mezcla de disolventes, el depósito se unía a un recipiente que contenía una mezcla de ambos disolventes a la misma composición. Este recipiente estaba equipado con un refrigerante que actuaba como agente saturante, evitando así las variaciones de la mezcla y, por tanto, fluctuaciones en el registro. La constancia de la mezcla se comprobaba por refractometría. Todas y cada una de las experiencias se realizaron cuando el equipo estuvo perfectamente estabilizado a las condiciones de trabajo seleccionadas.

Las disoluciones de las muestras a inyectar se prepararon en matraces de 1 ml. de capacidad por pesada del polímero; a continuación se añadía el disolvente extraído del cromatógrafo con el fin de que disolvente y eluyente fueran idénticos. El volumen de inyección y la concentración de las muestras se seleccionaron de forma que no influyeran en el volumen de elución.

Las condiciones de trabajo seleccionadas para todos los eluyentes y a todas las temperaturas fueron las siguientes: velocidad del eluyente = 1 ml/min., velocidad del registro = 1 cm/min. y sensibilidad del refractómetro = 8X.

Se ha considerado como volumen de elución de una muestra dada el correspondiente al máximo del pico del cromatograma.

Los volúmenes de elución se corrigieron midiendo la temperatura del eluyente en el sifón, calculando así la expansión o contracción del eluyente debida a la diferencia de temperaturas.

Por lo que respecta a las medidas del efecto de concentración, se realizaron inyecciones de disoluciones a distintas concentraciones, manteniendo en todos los casos el volumen de inyección con el fin de evitar contribuciones ajenas al efecto objeto de estudio. Las disoluciones se prepararon por pesada en matraces de 1 ml. Las restantes condiciones de velocidad de eluyente y velocidad de registro se mantuvieron idénticas al caso anterior, salvo la sensibilidad del refractómetro que se atenuó cuando fué necesario (concentraciones altas). También para este caso se ha considerado como volumen de elución el correspondiente al máximo del pico del cromatograma.

3.2.- MUESTRAS EMPLEADAS

Las muestras empleadas en la presente Memoria han sido patrones de poliestireno (PS) cuyos pesos moleculares se recogen en la tabla 3.2, así como la nomenclatura utilizada para designarlos. Esta indica la procedencia de las muestras, así, las que comienzan con "W" son patrones comercializados por Waters Assoc. y las que comienzan por "ST" proceden del C.N.R.S. de Estrasburgo. Las muestras señaladas con * a pesar de pertenecer a Waters Assoc. y a la misma muestra no eran del mismo lote y tenían en realidad los pesos moleculares que se detallan.

Ante la variación de los datos para algunas muestras (datos suministrados por el fabricante) se hicieron cuidadosas medidas mediante técnicas de cromatografía y de difusión de luz, de las que se obtuvieron los promedios que en definitiva han sido los utilizados para los diversos cálculos a lo largo de la Memoria y que se detallan en la tabla 3.3.

TABLA 3.2

Muestras empleadas.

Nomenclatura	Características			
	\bar{M}_v	\bar{M}_n	\bar{M}_p	\bar{M}_w
W2700K	2,340.000	1,990.000	2,700.000	--
W 470K	383.000	350.000	450.000	--
ST 320K	--	308.000	--	320.000
W 200K	233.000	217.600	240.000	--
ST 137K	--	132.000	--	139.000
W 110K*	111.000	111.000	111.000	--
W 110K	111.000	111.000	111.000	--
W 35K*	47.400	51.150	50.000	--
W 35K	47.400	51.150	50.000	--
ST 24K	--	24.700	--	24.000
ST 21K	--	19.700	--	21.300
W 15K	9.100	9.050	9.000	--
W 2K	2.400	2.200	2.900	--

TABLA 3.3

Características promedio de las muestras empleadas.

Nomenclatura	Peso Molecular
W2700K	2,700.000
W 470K	450.000
ST 320K	314.000
W 200K	240.000
ST 137K	136.000
W 110K*	130.000
W 110K	100.000
W 35K*	50.000
W 35K	37.100
ST 24K	24.500
ST 21K	20.500
W 15K	9.000
W 2K	2.900

3.3.- LLENADO DE LAS COLUMNAS

Como ya se ha mencionado, la alternativa seguida fue la de adquirir los geles por separado y construir las columnas en nuestro laboratorio.

La eficacia en la separación de una columna está profundamente afectada por la calidad del relleno. Para obtener un relleno homogéneo y reproducible hay que emplear la técnica de llenado adecuada al tamaño de las partículas del gel. Básicamente, existen dos técnicas de llenado, en seco y en presencia de disolvente; la elección del método a usar depende del tipo de soporte. Con soportes que tengan un diámetro medio de partícula de $30\mu\text{m}$. se pueden conseguir rellenos homogéneos mediante llenado en seco^{94,95}. Para tamaños de partículas inferiores a $20\mu\text{m}$., cual es nuestro caso, la bibliografía^{96,97} recomienda el llenado en presencia de disolvente (slurry packing). Dentro de esta técnica de llenado existen varios procedimientos tales como el de densidad equilibrada⁹⁸⁻¹⁰¹ desarrollado por Majors, el de suspensión estable^{102,104} de Kirkland y el método de viscosidad de Ashauer y Halász¹⁰⁰, aunque también se ha citado el uso de métodos de llenado utilizando un disolvente único de baja viscosidad tal como hexano, cloroformo¹⁰¹, metanol¹⁰⁵ y tetracloruro de carbono^{106,107}.

De lo anterior se desprende que la bibliografía no recomienda ningún método de llenado en particular y probablemente existen tantos métodos de llenado como investigadores desearios de fabricar su propia columna¹⁰⁸. En vista de ello, se procedió a llenar las columnas con los medios al alcance en nuestro laboratorio, de acuerdo con el siguiente procedimiento. Una vez pesada la cantidad suficiente de gel, se seca en la estufa durante 2-3 horas y después se dispersaba utilizando metanol. Posteriormente se sometía a ultrasonidos con el fin de desgasificar el disolvente y, al mismo tiempo, destruir cualquier aglomerado de partículas. Una vez desgasificada se introducía la dispersión en el recipiente

de llenado según el esquema de la figura 3.1 y se procedía

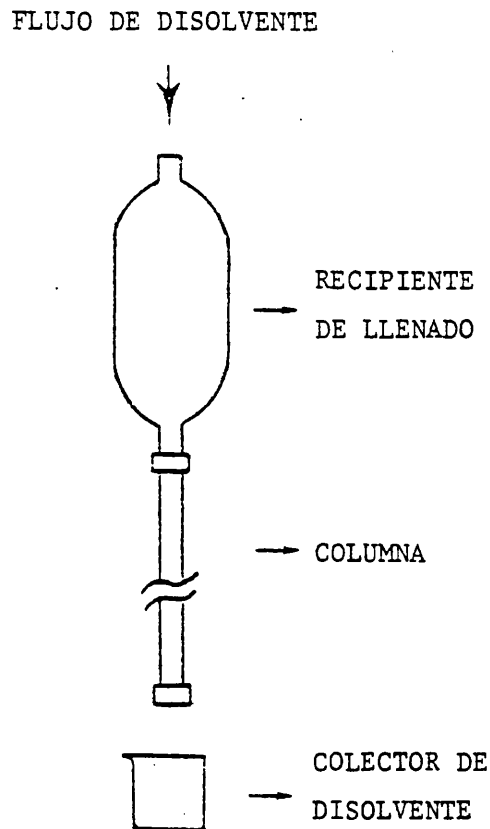


Figura 3.1.- Esquema del dispositivo utilizado para el llenado de las columnas.

a bombear disolvente a través del conjunto. Finalmente, se hacía pasar un volumen de disolvente inerte, por ejemplo, n-hexano, que fuera unas diez veces el volumen de la columna para iniciar el reacondicionamiento, eliminando el metanol adsorbido.

Una vez llenas y acondicionadas, se comprobaba la

eficacia de cada columna, midiendo el número de platos teóricos mediante la inyección de una disolución de o-diclorobenceno al 1%. El proceso de llenado se repetía, en caso necesario, hasta alcanzar la eficacia deseada.

Una vez realizadas las experiencias se procedió al vaciado de las columnas. El gel, lavado y seco, se pesó para conocer la cantidad de cada gel que había en las columnas, resultando los valores que se detallan en la Tabla 3.4.

TABLA 3.4

Peso de gel en el juego de columnas.

<u>Tipo de gel</u>	<u>Peso</u>
Si 100	4,45 g.
Si 300	4,39 g.
Si 500	4,89 g.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.- RESULTADOS Y DISCUSION

La presentación de resultados y posterior discusión se divide en dos apartados. En el primero de ellos se recogen y discuten los resultados de la influencia de la temperatura en los volúmenes de elución, (V_e), de las muestras y mediante ellos se trata de evaluar la participación de los efectos secundarios (adsorción, partición por incompatibilidad...) en el mecanismo global de separación en SEC, estudiando la termodinámica de esos procesos. El segundo apartado recoge la influencia de la concentración sobre los V_e y junto a resultados propios se estudian los de varios autores a la luz del modelo propuesto que es también comparado con los ya existentes.

4.1.- INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Se comienza este apartado presentando los resultados primarios procedentes de las mediadas en SEC, es decir, los calibrados realizados a las temperaturas de 20, 35 y 50°C para los cuatro sistemas objeto de estudio en esta Memoria.

La elección de los distintos eluyentes para este estudio se realizó en función de las conclusiones alcanzadas en trabajos anteriores²⁴⁻²⁷ siendo el procedimiento seguido mantener un mismo polímero (poliestireno, PS) e ir variando los eluyentes y las temperaturas. Los eluyentes utilizados fueron benceno (BEN), butanona (MEC) y mezclas de benceno-metanol (80/20, v/v) (BEN-MET) y butanona-heptano (50/50, v/v) (MEC-HEP). En el caso de las mezclas BEN-MET y MEC-HEP las composiciones específicas fueron elegidas por estar cerca de condiciones "theta" y ser donde los efectos secundarios eran más acusados²⁵. De aquí en adelante se denominará, por tanto, a estos sistemas como PS/BEN, PS/MEC, PS/BEN-MET y PS/MEC-HEP.

A la hora de realizar los distintos calibrados es necesario el conocimiento del volumen hidrodinámico, $M|\eta|$, de las muestras empleadas para lo que se necesitan las viscosi

dades intrínsecas, $|\eta|$, a las temperaturas de medida citadas. Una adecuada discusión de los datos de viscosidad aquí empleados se hizo en la referencia (109). Para el cálculo de los radios hidrodinámicos de las muestras, R , a partir de los volúmenes hidrodinámicos se ha utilizado la ecuación de Einstein:

$$R^3 = \frac{30.M|\eta|10^{24}}{\pi N_A} \quad (4.1)$$

en la que N_A es el número de Avogadro, estando R y $|\eta|$ expresados en unidades de Å y dl.g⁻¹, respectivamente.

Las tablas 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4 recogen los resultados de los volúmenes de elución junto con los volúmenes y radios hidrodinámicos para cada sistema a las temperaturas de 20, 35 y 50°C.

En las figuras 4.1, 4.2 y 4.3 se representan los calibrados, $\log M|\eta|$ vs. V_e , para todos los sistemas a las tres temperaturas.

El volumen de elución de una muestra varía cuando lo hace la temperatura de la columna^{110,111}. Los factores que se consideran responsables de los cambios de V_e con la temperatura son¹¹¹:

- la expansión (o contracción) en el volumen de disolvente (eluyente).
- la viscosidad de disolvente y soluto.
- el volumen hidrodinámico del soluto.
- la expansión (o contracción) en el volumen del gel.
- las interacciones soluto-gel (efectos de adsorción, partición,...).
- el coeficiente de difusión del soluto.

La expansión (o contracción) en el volumen del eluyente estará causada por la diferencia de temperaturas entre el depósito de eluyente y la columna. Como se ha mencionado en la parte experimental, los volúmenes de elución de las muestras se han corregido (midiendo la temperatura en el sifón)

TABLA 4.1

Volúmenes hidrodinámicos ($M|\eta|$), radios hidrodinámicos (R), volúmenes de elución (V_e) y coeficientes (K_{SEC}) para el sistema PS/BEN a 20, 35 y 50°C.

Muestra	Temperatura											
	20°C				35°C				50°C			
	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}
W2700K	7,15	607,3	17,91	---	7,10	584,4	18,06	---	7,11	588,9	18,16	---
W 470K	5,79	213,8	19,13	0,065	5,77	210,6	19,23	0,063	5,77	210,6	19,28	0,060
ST 320K	5,54	176,5	19,46	0,082	5,53	175,1	19,54	0,079	5,53	175,1	19,60	0,077
W 200K	5,36	153,7	19,99	0,111	5,35	152,5	20,20	0,114	5,34	151,4	20,25	0,111
ST 137K	4,90 ₄	108,3	22,46	0,242	4,90 ₂	108,0	22,75	0,250	4,89	107,2	22,97	0,256
W 110K*	4,90	108,0	22,64	0,251	4,90	108,0	---	---	4,89	107,2	---	---
W 110K	4,67	90,5	---	---	4,68	91,2	---	---	4,67	107,2	---	---
W 35K*	4,16	61,2	26,48	0,455	4,17	61,7	26,62	0,457	4,16	61,2	26,71	0,456
W 35K	3,95	52,1	27,65	0,518	3,97	52,9	27,76	0,518	3,95	52,1	27,84	0,516
ST 24K	3,63	40,7	29,12	0,596	3,65	41,4	29,26	0,598	3,63	40,7	29,34	0,596
ST 21K	3,42	34,7	30,29	0,658	3,43	34,9	30,40	0,659	3,42	34,7	30,50	0,658
W 15K	2,84	22,2	32,87	0,795	2,85	22,4	32,88	0,792	2,85	22,4	32,98	0,790
W 2K	2,02	11,8	34,71	0,892	2,04	12,0	34,74	0,891	2,03	11,9 ₃	34,77	0,885
---	--	--	36,73	---	--	--	36,78	---	--	--	36,92	---

TABLA 4.2

Volúmenes hidrodinámicos ($M|\eta|$), radios hidrodinámicos (R), volúmenes de elución (V_e) y coeficientes (K_{SEC}) para el sistema PS/MEC a 20, 35 y 50°C.

Muestra	Temperatura											
	20°C				35°C				50°C			
	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}
W2700K	6,74	443,3	18,01	---	6,76	450,2	17,86	---	6,74	443,3	17,96	---
W 470K	5,48	168,6	19,43	0,074	5,49	168,9	19,67	0,094	5,46	166,0	19,50	0,080
ST 320K	5,25	141,3	19,99	0,103	5,26	142,4	19,98	0,110	5,22	138,1	20,08	0,110
W 200K	5,09	125,0	20,40	0,125	5,09	125,0	20,39	0,132	5,05	121,2	20,60	0,138
ST 137K	4,66	89,8	22,98	0,260	4,66	89,8	23,03	0,269	4,62	87,1	23,19	0,272
W 110K*	4,66	--	---	---	4,65	--	---	---	4,62	--	---	---
W 110K	4,45	76,5	24,10	0,318	4,44	75,9	24,43	0,342	4,41	74,1	24,19	0,324
W 35K*	3,98	53,3	26,99	0,469	3,96	52,5	27,01	0,476	3,92	50,9	27,21	0,482
W 35K	3,79	46,1	28,10	0,527	3,77	45,4	28,41	0,549	3,73	44,0	28,16	0,531
ST 24K	3,49	36,6	29,57	0,604	3,46	35,8	29,56	0,609	3,42	34,7	29,80	0,617
ST 21K	3,39	--	---	---	3,37	--	---	---	3,35	--	---	---
W 15K	2,76	20,9	33,11	0,789	2,73	20,4	33,43	0,811	2,70	20,0	33,13	0,790
W 2K	2,01	11,8	34,95	0,885	1,97	11,4	34,88	0,886	1,91	10,9	35,04	0,890
----	--	--	36,90	---	--	--	37,03	---	--	--	37,10	---

TABLA 4.3

Volúmenes hidrodinámicos ($M|\eta|$), radios hidrodinámicos (R), volúmenes de elución (V_e) y coeficientes (K_{SEC}) para el sistema PS/BEN-MET a 20, 35 y 50°C.

Muestra	Temperatura											
	20°C				35°C				50°C			
	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}
W2700K	6,87	498,8	17,77	---	6,90	501,2	17,83	---	6,91	505,1	17,97	---
W 470K	5,60	184,8	18,67	0,047	5,60	184,8	19,12	0,069	5,61	186,2	19,34	0,071
ST 320K	5,37	154,9	19,08	0,073	5,36	153,7	19,48	0,088	5,37	154,9	19,65	0,087
W 200K	5,19	139,9	19,64	0,104	5,19	134,9	20,00	0,115	5,20	136,0	20,18	0,115
ST 137K	4,76	97,0	21,56	0,212	4,75	96,3	22,09	0,227	4,76	97,0	22,58	0,239
W 110K*	4,75	--	---	---	4,75	96,3	22,33	0,239	4,75	96,3	22,65	0,243
W 110K	4,54	81,9	22,73	0,277	4,53	--	---	---	4,54	--	---	---
W 35K*	4,05	56,2	25,16	0,413	4,04	55,8	25,63	0,415	4,04	55,8	26,03	0,419
W 35K	3,85	48,2	26,03	0,461	3,84	47,9	26,59	0,466	3,84	47,9	27,08	0,473
ST 24K	3,54	38,0	27,35	0,535	3,53	37,7	27,93	0,537	3,53	37,7	28,45	0,544
ST 21K	3,45	--	---	---	3,43	--	---	---	3,43	--	---	---
W 15K	2,79	21,4	30,60	0,717	2,77	21,1	31,16	0,709	2,77	21,1	31,74	0,715
W 2K	2,03	11,9	32,49	0,822	2,00	11,7	33,30	0,823	1,99	11,6	33,98	0,832
----	--	--	35,67	---	--	--	36,68	---	--	--	37,10	---

TABLA 4.4

Volúmenes hidrodinámicos ($M|\eta|$), radios hidrodinámicos (R), volúmenes de elución (V_e) y coeficientes (K_{SEC}) para el sistema PS/MEC-HEP a 20, 35 y 50°C.

Muestra	Temperatura											
	20°C				35°C				50°C			
	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}	$\lg M \eta $	R(Å)	V_e (ml)	K_{SEC}
W2700K	6,43	349,5	18,61	---	6,49	365,9	18,36	---	6,60	389,1	18,28	---
W 470K	5,29	145,7	21,16	0,140	5,39	157,3	20,91	0,140	5,36	153,7	20,56	0,125
ST 320K	5,08	124,0	21,86	0,178	5,11	126,9	21,59	0,177	5,13	129,2	21,35	0,169
W 200K	4,93	110,5	22,53	0,215	4,95	112,2	22,21	0,212	4,97	114,0	21,86	0,197
ST 137K	4,55	82,2	25,82	0,396	4,56	83,2	25,46	0,390	4,57	83,8	25,11	0,376
W 110K*	4,54	--	---	---	4,55	--	---	---	4,55	--	---	---
W 110K	4,35	70,8	26,88	0,454	4,36	71,4	26,56	0,451	4,34	71,4	26,28	0,440
W 35K*	3,92	50,9	29,68	0,608	3,92	50,9	29,40	0,607	3,87	50,1	29,13	0,597
W 35K	3,75	44,7	30,59	0,658	3,74	44,3	30,33	0,658	3,69	43,7	30,08	0,649
ST 24K	3,47	36,0	31,91	0,730	3,47	36,0	31,57	0,726	3,39	35,5	31,40	0,722
ST 21K	3,39	33,9	32,73	0,775	3,38	33,6	32,51	0,777	3,30	33,6	32,40	0,771
W 15K	2,76	20,9	34,36	0,865	2,80	21,6	34,27	0,874	2,67	21,6	34,10	0,870
W 2K	2,07	12,3	35,46	0,925	2,10	12,6	35,51	0,942	1,95	12,5	35,48	0,946
----	--	--	36,82	---	--	--	36,56	---	--	--	36,46	---

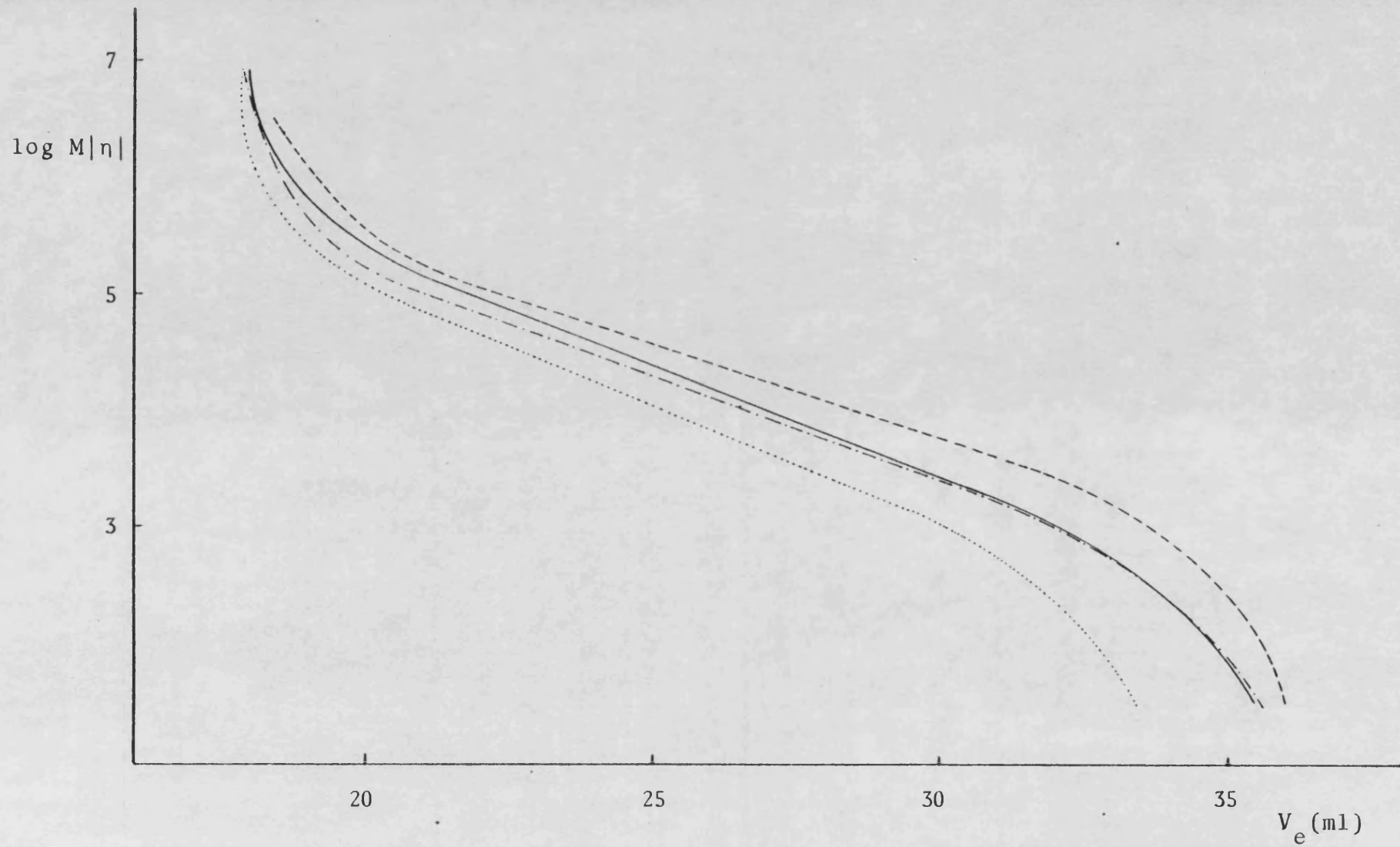


Figura 4.1.- Variación de los volúmenes de elución, V_e , con el volumen hidrodinámico, $\log M|\eta|$, para los sistemas: PS/BEN (—); PS/MEC (- - -); PS/BEN-MET (.....) y PS/MEC-HEP (- · - ·) a 20°C.

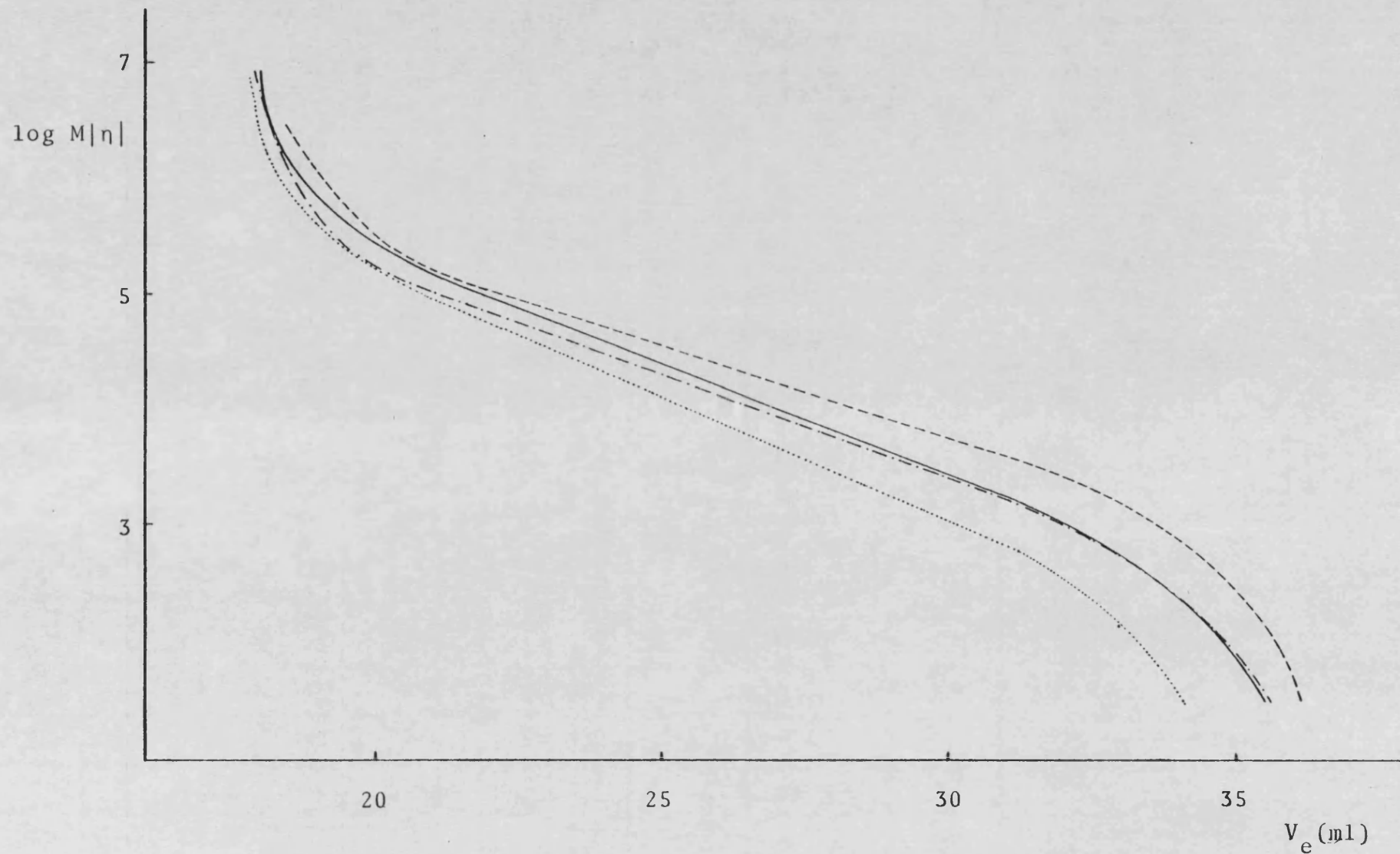


Figura 4.2.- Variación de los volúmenes de elución, V_e , con el volumen hidrodinámico, $\log M|\eta|$, para los sistemas: PS/BEN (—); PS/MEC (---); PS/BEN-MET (.....); PS/MEC-HEP (- - - -) a 35°C.

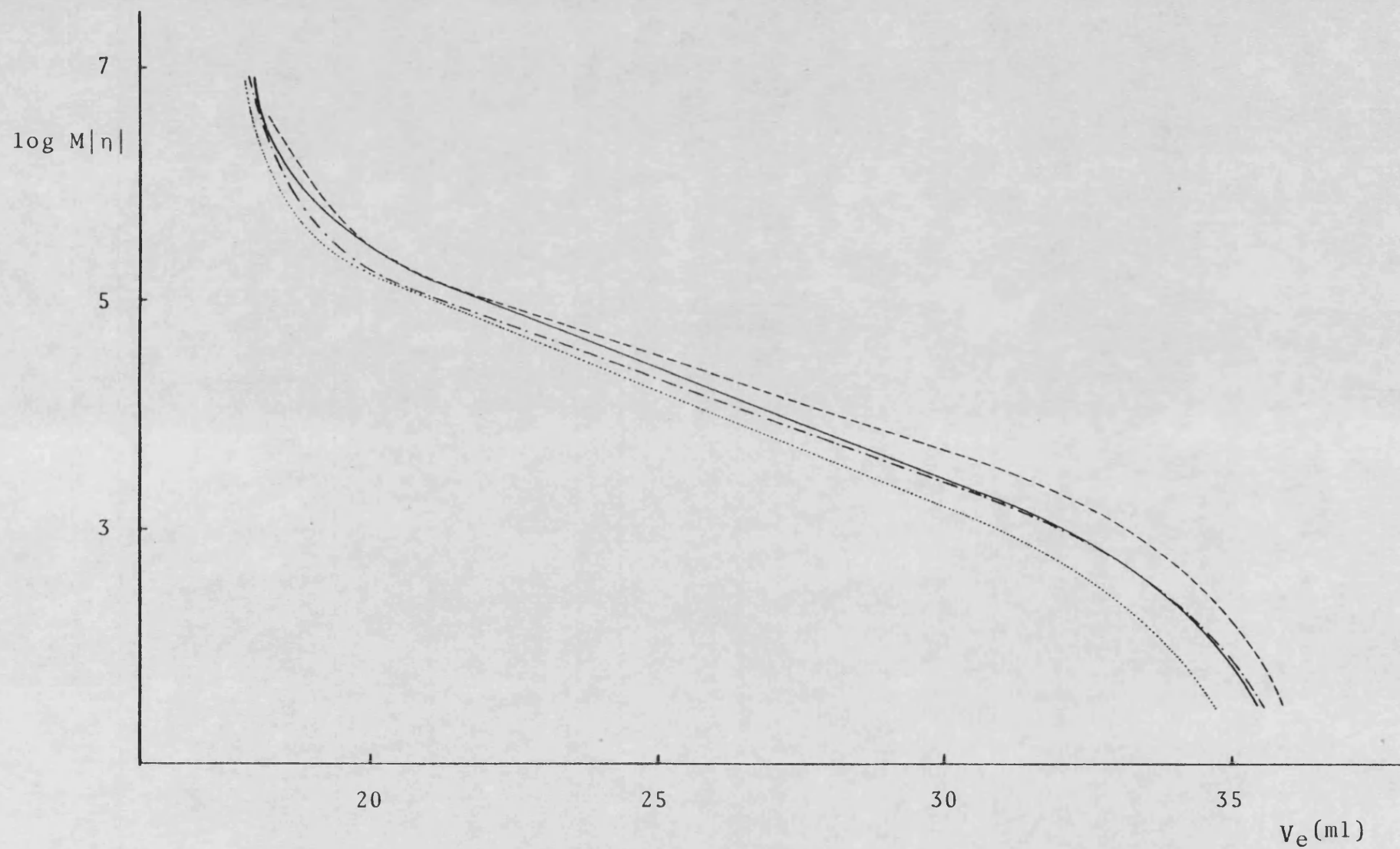


Figura 4.3.- Variación de los volúmenes de elución, V_e , con el volumen hidrodinámico, $\log M|\eta|$, para los sistemas: PS/BEN (—); PS/MEC (---); PS/BEN-MET (.....); PS/MEC-HEP (- - - -) a 50°C.

eliminando así la contribución de este factor. La viscosidad del eluyente no afecta al volumen de elución¹¹¹, mientras que una expansión o contracción en el volumen del gel es improbable¹¹⁰, sobre todo en el presente caso al tratarse de un gel inorgánico rígido (gel de sílice). La variación en el coeficiente de difusión puede tener cualquier efecto sobre el volumen de elución¹¹². Sin embargo el coeficiente de difusión aumenta con la temperatura^{113,114} produciendo un aumento en el volumen de elución.

El cambio residual en el volumen de elución después de corregidos los cambios debidos a la variación en el volumen hidrodinámico de las muestras será debido a interacciones soluto-gel¹¹¹. Mediante el estudio de las variaciones de los volúmenes de elución con la temperatura se podrá, pues, estudiar la influencia de estas interacciones en el proceso de separación en SEC.

Como ya se ha apuntado antes, en publicaciones anteriores²⁴⁻²⁷ se estudiaron los mecanismos en función de estas interacciones variando los eluyentes y variando el polímero (la naturaleza de la muestra), concluyendo que para las mezclas benceno-metanol existía una posible incompatibilidad con la fase estacionaria ya que los V_e eran menores que los esperados (sistema de referencia) y para las mezclas butano-na-heptano una posible adsorción (mayores V_e que los esperados). En el caso de las mezclas benceno-metanol la "fuerza por el gel" del eluyente se aumentaba al añadir metanol, mientras que en el caso butanona-heptano descendía al aumentar el contenido de n-heptano. El único punto a aclarar era la elección del sistema de referencia adecuado para así poder poner en evidencia los mecanismos secundarios. Como tales sistemas se tomaron²⁵ aquellos en que el eluyente es un disolvente único (no mezclas) y además "buen disolvente" del polímero, v.g. PS/BEN, PS/MEC. En estos sistemas se supone que el responsable principal (o único) de las separaciones es el mecanismo de exclusión estérica por lo que cualquier desviación con respecto a ellos revela la presencia de "efectos secundarios".

Si se comparan los calibrados para el sistema PS/BEN a las tres temperaturas se observa que son prácticamente coincidentes, al igual que ocurre para el sistema PS/MEC; es decir, la variación de la temperatura no afecta a estos calibrados, lo que sugiere que en estos sistemas el mecanismo de separación es el de exclusión estérica únicamente ya que al ser éste un fenómeno puramente entrópico (ver (2.37)) es independiente de la temperatura. La elección de PS/BEN y PS/MEC como sistemas de referencia con $k_p=1$ queda, por tanto, confirmada.

En la fig.4.4 se representa el coeficiente K_{SEC} frente al radio hidrodinámico R . En ella la curva corresponde a los valores teóricos calculados mediante la ec.(2.17) y los puntos a los valores experimentales para PS/BEN a las tres temperaturas. Como se puede apreciar la concordancia es casi perfecta a pesar de que en el modelo original de Giddings y col.³⁷, ec.(2.17), no se recomienda en general el uso del radio hidrodinámico como el mejor "parámetro separador". Las pequeñas diferencias que aparecen pueden achacarse a la existencia de poros "tapados" en los que el soluto no puede penetrar, irregularidades en su forma, etc. La magnitud s (area superficial por unidad de volumen libre), ver(2.17), se ha calculado dividiendo el area total para el gel (suministrado por el fabricante) por el volumen de poros obtenido de la diferencia entre los volúmenes de un soluto totalmente excluido (W 2700000) y uno totalmente permedado.

Por lo que respecta a los sistemas PS/BEN-MET y PS/MEC-HEP es de señalar que al aumentar la temperatura los calibrados tienden a acercarse al de los sistemas de referencia, es decir, a la exclusión estérica pura, resultado de acuerdo con el obtenido para PS con geles de poliestireno entrecruzado¹⁶.

Una vez definidos los sistemas de referencia se puede pasar a discutir los resultados para aquellos sistemas en los que además de exclusión estérica pueden existir efectos secundarios, es decir, los sistemas PS/BEN-MET y PS/MEC-HEP.

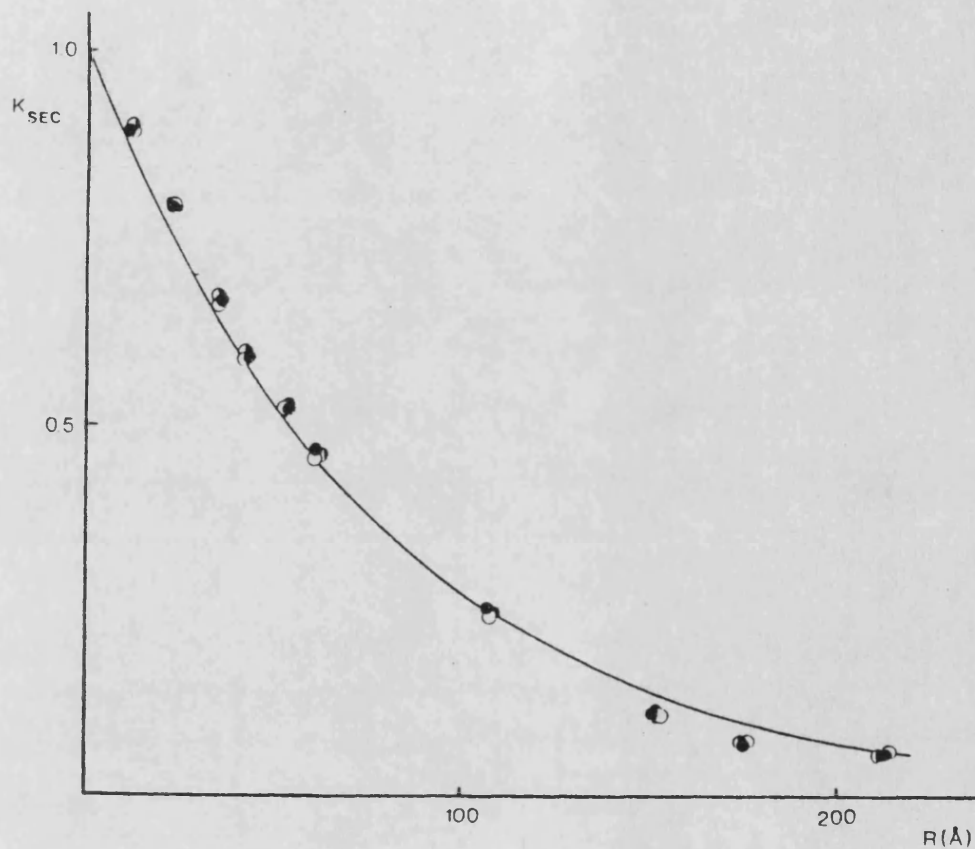


Figura 4.4.- Variación del coeficiente de distribución, K_{SEC} con el radio hidrodinámico, R , para el sistema PS/BEN, (○) 20°C; (◐) 35°C; (●) 50°C; (—) calculado con la ec. (2.17) con un valor de $s = 1,304 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$.

4.1.1.- Efectos secundarios.

Se van a estudiar paralelamente la posible adsorción y/o partición de los solutos mediante la influencia de la temperatura en los coeficientes k_p , que según se ha visto en fundamentos engloban a todos los posibles efectos secundarios.

De acuerdo con Dawkins y Hemming¹⁵ el cálculo cuantitativo de k_p a partir de la representación gráfica de la ec.(2.33) no es posible debido a las aproximaciones realizadas en su obtención. Sin embargo, según proponen Campos y Figueruelo²⁴ la ec.(2.33) será válida para la obtención de unos k_p relativos. Así, la ordenada en el origen de la representación de $\ln(V_e - V_0)$ vs. R para un sistema dado, I_0 , será, según dicha ecuación:

$$I_0 = \ln \frac{2k_{p0}}{\bar{r}_0} \quad (4.2)$$

donde k_{p0} y \bar{r}_0 son los valores de k_p y \bar{r} para ese sistema particular. De la misma forma para un sistema distinto, p. ej. sistema 1, la nueva ordenada en el origen será:

$$I_1 = \ln \frac{2k_{p1}}{\bar{r}_1} \quad (4.3)$$

de las dos ecuaciones anteriores, (4.2) y (4.3), se llega dividiendo una por otra a:

$$\frac{k_{p1}}{k_{p0}} = \frac{\bar{r}_1}{\bar{r}_0} \exp (I_1 - I_0) \quad (4.4)$$

ecuación que da la relación entre los coeficientes de distribución de dos sistemas como una función de las ordenadas en el origen de las representaciones $\ln (V_e - V_0)$ vs. R y del radio promedio de poro, \bar{r} ²⁵ (las pendientes de las anteriores representaciones). Dado que ya se han seleccionado los sistemas de referencia adecuados (en los que se toma $k_p=1$)

se podrá calcular mediante la ec. (4.4) los k_p para los restantes sistemas, aunque también se puede eliminar este inconveniente haciendo²⁵:

$$k_{p1} = f \cdot k_{p0} \quad (4.5)$$

y por tanto:

$$f = \frac{\bar{r}_1}{\bar{r}_0} \exp(I_1 - I_0) \quad (4.6)$$

donde f será un coeficiente que muestra la desviación en k_p del sistema 1 con respecto al sistema de referencia, 0.

En la figura 4.5 se trazan las representaciones de $\ln(V_e - V_0)$ vs. R para todos los sistemas a las tres temperaturas de medida. De nuevo aquí es de resaltar como coinciden prácticamente las representaciones a las tres temperaturas para el sistema PS/BEN, tomado como el de referencia. El sistema PS/MEC-HEP está por encima (volúmenes de elución mayores) y el sistema PS/BEN-MET por debajo (volúmenes de elución menores) y tienden a la representación del PS/BEN al aumentar la temperatura.

Si ahora la ec. (4.6), tomando $f=1$ para el sistema PS/BEN a 20°C, se obtienen los valores de f que se detallan en la tabla 4.5. Como se observa en dicha tabla los valores de f (k_p relativo) para el sistema PS/BEN-MET son inferiores a 1. Según la interpretación termodinámica dada en fundamentos correspondería a una incompatibilidad entre el soluto y el "gel". Este aspecto se ve reforzado por los valores de \bar{r} , que también aparecen en la tabla, y que son inferiores a los obtenidos para el sistema PS/BEN, lo que parece indicar una reducción en el radio medio de los poros. Este hecho se puede explicar teniendo en cuenta la fuerza por el gel del metanol, que hace que la fase "cuasiestacionaria" que recubre el gel sea más rica en metanol que la fase móvil y por tanto muy mal disolvente para el PS que

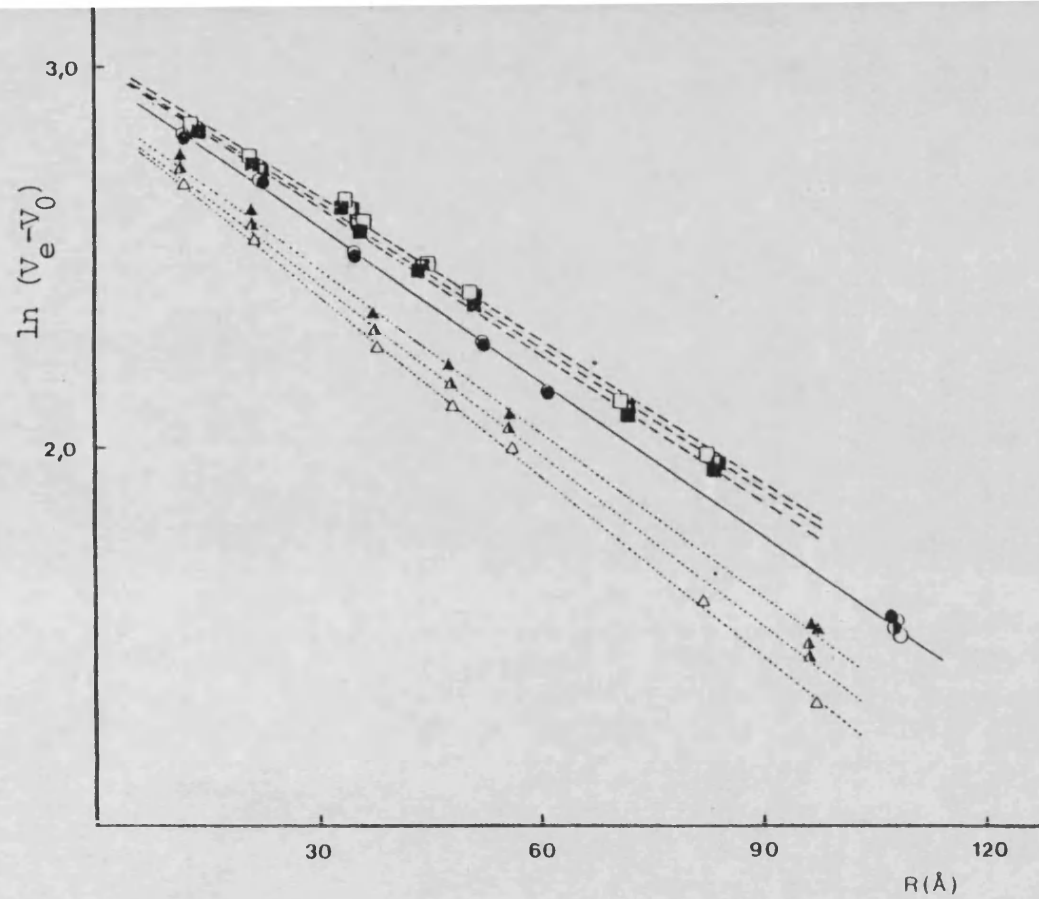


Figura 4.5A.- Representación de la ec. (2.33) para los sistemas: PS/BEN, (○) 20°C; (◐) 35°C; (●) 50°C; PS/BEN-MET, (△) 20°C; (◐) 35°C; (▲) 50°C; PS/MEC-HEP, (□) 20°C; (◐) 35°C; (■) 50°C.

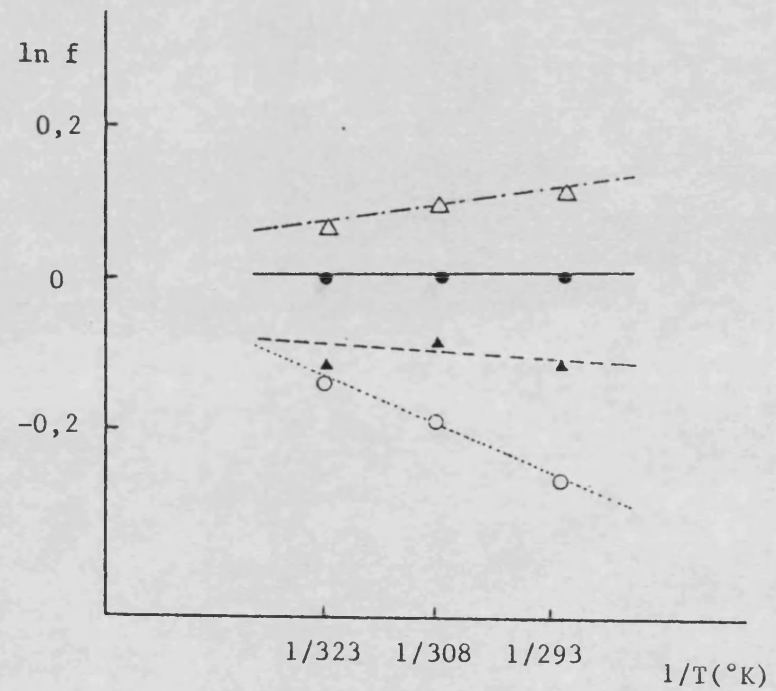


Figura 4.5B.- Dependencia de los coeficientes relativos "f" con la temperatura para los sistemas: PS/BEN (●); PS/MEC (▲); PS/BEN-MET (○); PS/MEC-HEP (△).

TABLA 4.5

Valores de f para todos los sistemas a las tres temperaturas obtenidos aplicando la ec. (4.6), tomando $f=1$ para PS/BEN a 20°C.

Sistema	Temperatura								
	20°C			35°C			50°C		
	\bar{r}	I	f	\bar{r}	I	f	\bar{r}	I	f
PS/BEN	74,63	2,98	1,00	75,08	2,98	1,00	76,04	2,97	1,01
PS/MEC	62,81	3,03	0,89	65,40	3,03	0,92	63,21	3,02	0,88
PS/BEN-MET	63,21	2,88	0,77	67,57	2,89	0,83	69,44	2,91	0,87
PS/MEC-HEP	79,68	3,03	1,12	77,46	3,04	1,11	74,85	3,05	1,08

preferirá la fase móvil. Como resultado global el PS se verá "expulsado" del volumen de los poros resultando menores volúmenes de elución. Para el sistema PS/MEC-HEP ocurre al contrario. En este caso la butanona (buen disolvente) tiene más fuerza por el gel haciendo que la fase cuasiestacionaria sea mejor disolvente que la fase móvil por lo que el PS "preferirá" la anterior. Como resultado global el PS es "retenido" en el volumen de poros resultando mayores volúmenes de elución.

La interpretación termodinámica, ec. (2.39) sugiere por tanto $\Delta H^\circ > 0$ para PS/BEN-MET y $\Delta H^\circ < 0$ para el sistema PS/MEC-HEP, por lo que al aumentar la temperatura los coeficientes relativos f han de aumentar para PS/BEN-MET y disminuir para PS/MEC-HEP.

Si se toman logaritmos en la ec. (2.40) resulta

$$\ln k_p = - \frac{\Delta H^\circ}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (4.7)$$

luego representando los valores de los coeficientes relativos, $\ln f$, dados en la tabla 4.5 frente a $1/T$ se podrá cal-

cular los valores de ΔH° de los efectos secundarios para los sistemas PS/BEN-MET y PS/MEC-HEP. En la figura 4.5 se representa $\ln f$ vs. $1/T$ para los cuatro sistemas. De las pendientes de las gráficas se deducen unos valores de $\Delta H^\circ \approx 800$ cal/mol para el sistema PS/BEN-MET, $\Delta H^\circ \approx -270$ cal/mol para el sistema PS/MEC-HEP y $\Delta H^\circ \approx 0$ para PS/BEN y para PS/MEC, aunque el comportamiento de este último es errático. Estos valores de ΔH° confirman las previsiones para los distintos sistemas. Así, en el caso de PS/BEN y PS/MEC se confirma que el mecanismo de separación es fundamentalmente la exclusión estérica mientras que en el caso de PS/BEN-MET, $\Delta H^\circ > 0$, $f < 1$, se confirma un efecto de incompatibilidad con la fase estacionaria que disminuye al aumentar la temperatura^{15,41,50}. En el caso del sistema PS/MEC-HEP, $\Delta H^\circ < 0$ y $f > 1$ que ratifica un mecanismo secundario mezcla de partición (al ser la fase "cuasiestacionaria" mejor disolvente para el polímero) y adsorción. De nuevo aquí este efecto es menor según aumenta la temperatura.

Una vez alcanzados estos resultados conviene, sin embargo, hacer hincapié en un punto que el modelo de Dawkins y Hemming¹⁵ no contempla quizá con la importancia, que como se indicará a continuación tiene, cual es el volumen interno de poros, V_i , en la columna. Así, en el desarrollo de su modelo, k_p (o f en nuestra terminología) es independiente de V_i que se considera constante en el desarrollo del modelo. O, dicho de otra forma, en los cálculos hasta ahora realizados no se ha tenido en cuenta la posible variación en V_i con el cambio de eluyente y/o temperatura. Como ya se ha mencionado anteriormente un cambio en el vode poros al variar la temperatura parece improbable ya que se trata de un gel rígido. Sin embargo, un análisis detallado de los datos de volumen de elución para una muestra con elución total, $V_e = V_0$, y para otra con permeación total, $V_e = V_0 + V_i$, sí parece indicar una variación en dicho volumen de poros. Así, en la tabla 4.6 se recogen los datos de dichos volúmenes para todos los sistemas a las tres tempera-

TABLA 4.6

Datos de V_0 y V_0+V_i para los cuatro sistemas eluyentes a las tres temperaturas de medida.

Eluyente	20°C		35°C		50°C	
	V_0	V_0+V_i	V_0	V_0+V_i	V_0	V_0+V_i
BEN	17,91	36,73	18,06	36,78	18,16	36,92
MEC	18,01	37,15	17,86	37,07	17,96	37,16
BEN-MET	17,77	35,67	17,83	36,68	17,97	37,10
MEC-HEP	18,61	36,82	18,36	36,56	18,28	36,46

turas. Un análisis detallado de los datos de dicha tabla parece indicar que, pese a cierta conducta errática en el valor del volumen de poros, V_i , éste parece mantenerse constante con la variación de la temperatura para los sistemas PS/BEN y PS/MEC, mientras que para el sistema PS/BEN-MET aumenta y para PS/MEC-HEP disminuye ligerísimamente. De cualquier forma los valores de V_i para cada sistema eluyente sí difieren notablemente.

En §2.1.1., se ha visto que si el parámetro separador es el volumen hidrodinámico, los coeficientes K_{SEC} pueden representarse³³ mediante la ec.(2.5), que es idéntica a (2.22) haciendo intervenir V_i y cuando $k_p=1$. Una representación de K_{SEC} vs. $\lg M|\eta|$ tendrá en cuenta por tanto las posibles variaciones de V_i . En la figura 4.6 se ilustra tal representación para los sistemas PS/BEN-MET, PS/MEC-HEP y para el sistema tomado como referencia PS/BEN. Se ha eliminado la representación de PS/MEC para no hacer excesivamente densa tal figura. Como se puede apreciar, en este caso las curvas para PS/BEN-MET coinciden a las tres temperaturas, igual que para el caso del sistema PS/MEC-HEP (aunque parece que en este sistema se separan ligeramente para valores altos de K_{SEC}), lo que indica que no hay variaciones con la temperatura y por tanto conduce a un mecanismo gobernado por la exclusión estérica en cada caso. También coinci

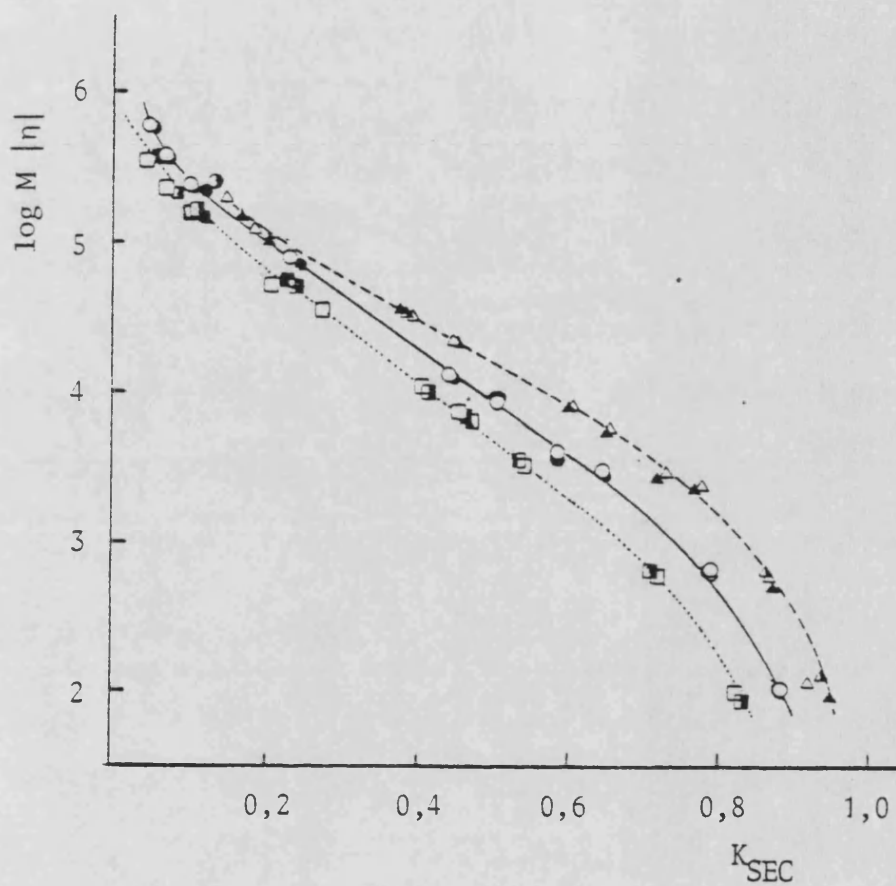


Figura 4.6.- Dependencia del volumen hidrodinámico, $\log M|\eta|$, con el coeficiente de partición, K_{SEC} , para los sistemas: PS/BEN, (○) 20°C; (●) 35°C; (●) 50°C. PS/BEN-MET, (□) 20°C; (■) 35°C; (□) 50°C. PS/MEC-HEP, (△) 20°C; (▲) 35°C; (▲) 50°C.

den las representaciones a las tres temperaturas para PS/BEN. El hecho de que los tres sistemas no sigan la misma curva indicaría que las columnas son distintas, es decir, que el hecho de variar los sistemas eluyentes hace variar las características del juego de columnas a pesar de la "rigidez del gel". Dicho de otra manera, si se tiene en cuenta la variación en el volumen de poros parece que se elimina la contribución de efectos secundarios en el mecanismo global de separación.

Se puede abordar la problemática anterior desde otro punto de vista. Ya que se ha aplicado el modelo de Giddings y col.³⁷ para la obtención de los coeficientes K_{SEC} , si se dispone de datos de éstos puede invertirse el proceso y calcular datos del gel suponiendo que la separación se ha llevado a cabo según un proceso de exclusión estérica únicamente. Este procedimiento ya se ha utilizado y se le conoce como SEC inversa¹¹⁵⁻¹¹⁸. Si se toman logaritmos en la ec.(2.17) se llega a:

$$\ln K_{SEC} = -s.R \quad (4.8)$$

donde se toma el radio hidrodinámico, R , como parámetro separador, L (ver (2.17)). Una representación de $\ln K_{SEC}$ frente al radio hidrodinámico permitirá el cálculo de s (área superficial por unidad de volumen libre) y mediante el volumen de poros se podrá evaluar el área superficial del gel.

En la figura 4.7 se muestra tal representación para los diferentes sistemas. La parte A de dicha figura recoge las representaciones para los sistemas PS/MEC Y PS/MEC-HEP y la parte B las correspondientes a los sistemas PS/BEN Y PS/BEN-MET. Como puede apreciarse coinciden, en cada caso, las representaciones a las tres temperaturas para todos los sistemas y difieren entre sistema y sistema, lo

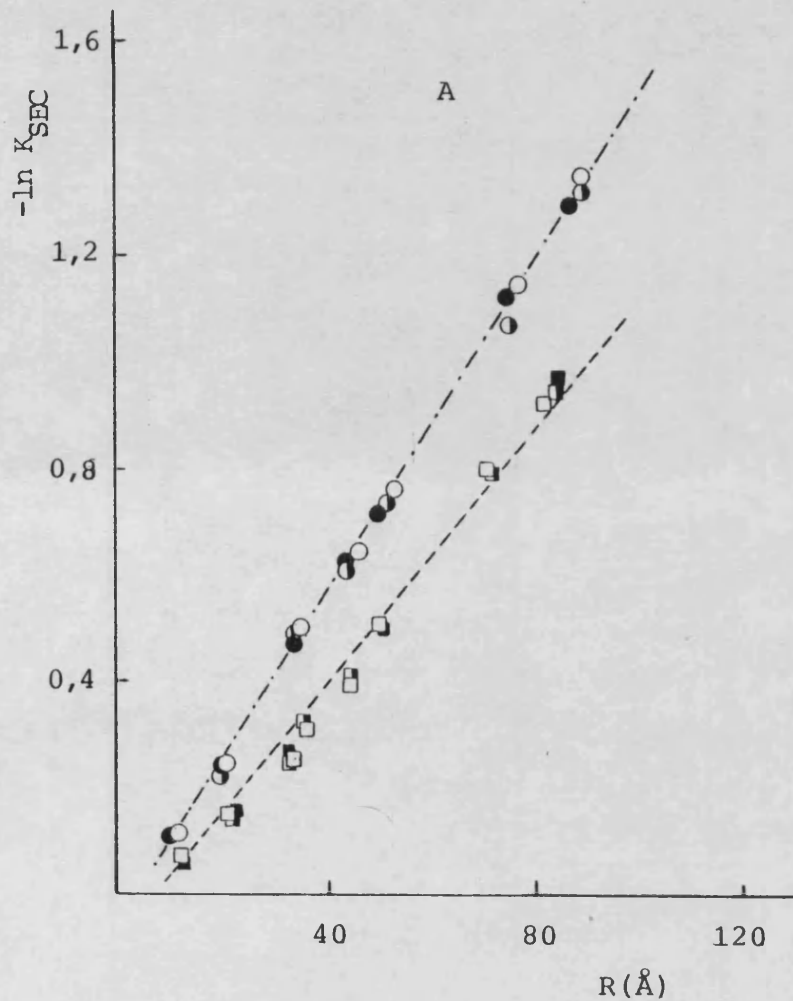


Figura 4.7A.- Representación de $-\ln K_{SEC}$ vs. R para los sistemas: PS/MEC, (○) 20°C; (◐) 35°C y (●) 50°C, y PS/MEC-HEP, (□) 20°C; (◑) 35°C y (■) 50°C.

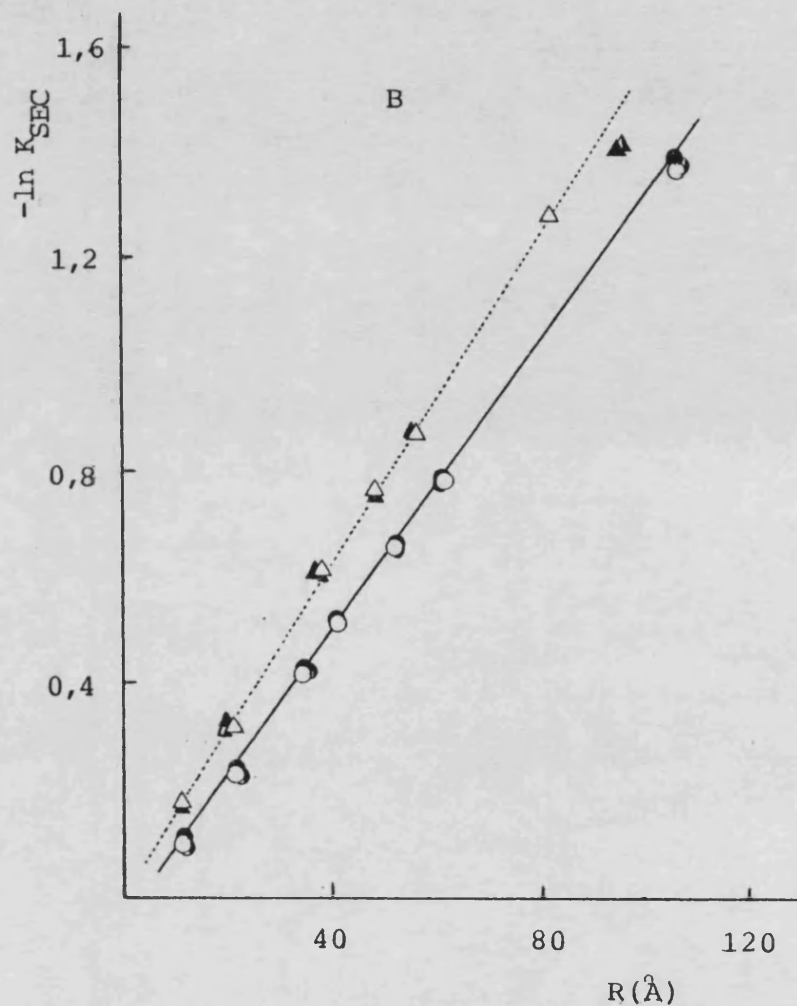


Figura 4.7B.- Representación de $-\ln K_{SEC}$ vs. R para los sistemas: PS/BEN, (○) 20°C; (◐) 35°C y (●) 50°C, y PS/BEN-MET, (△) 20°C; (▲) 35°C y (▲) 50°C.

TABLA 4.6b

Valores de la superficie total del relleno obtenidos aplicando SEC inversa.

<u>SISTEMA</u>	<u>SUPERFICIE TOTAL (S, m²)</u>		
	<u>20 °C</u>	<u>35 °C</u>	<u>50 °C</u>
PS/BEN	2526	2497	2517
PS/MEC	3043	2939	3034
PS/BEN-MET	2828	2750	2778
PS/MEC-HEP	2291	2348	2425

que parece indicar que las características del juego de columnas ha variado.

Los valores obtenidos de las gráficas para la superficie interna total del relleno (S, m^2) al realizar el ajuste por mínimos cuadrados, se detalla en la tabla 4.6b. Como se puede comprobar, los valores son muy cercanos entre sí (ver figura 4.7) para cada sistema en particular, a las tres temperaturas.

Como se desprende de la figura 4.7 y la tabla 4.6b la temperatura parece no influir en absoluto en los sistemas ya que coinciden las representaciones, así como los valores de S a las tres temperaturas de medida. Los valores medios que resultan son: $2.513 m^2$ para el sistema PS/BEN, $3.005 m^2$ para PS/MEC, $2.785 m^2$ para PS/BEN-MET y $2.354 m^2$ para PS/MEC-HEP.

A modo de resumen puede concluirse que al cambiar los sistemas eluyentes varían las características internas del gel. Es de resaltar que los datos obtenidos con el sistema PS/BEN coinciden prácticamente con los calculados a partir de los datos suministrados por el fabricante.

4.2.- EFECTO DE CONCENTRACION

La primera parte de esta discusión se centra en los resultados obtenidos al aplicar la ec. (2.93) deducida como se ha visto en §2.2.4.1., en condiciones de máxima simplificación. En todos los casos, y a pesar de las dificultades que se mencionan más adelante, se han utilizado valores bibliográficos de la constante de Huggins, k_A .

En la segunda parte, se comprueban y discuten los resultados obtenidos con la ec. (2.89) en cuya obtención no se hizo ninguna simplificación en beneficio de la exactitud. Para evitar la subjetividad en los valores de k_A procedentes de la bibliografía se unifica en esta parte el criterio de cálculo de dicha constante, al igual que para el coeficiente del término cuadrático de la concentración, k'_A , utilizándose una expresión que como se verá proporciona valores de k_A para sistemas poliméricos de forma generalizada.

4.2.1.- Disoluciones muy diluidas

A la hora de comparar cuantitativamente las predicciones de las expresiones obtenidas con los resultados experimentales surgen una serie de dificultades. Por un lado, la escasez de referencias bibliográficas en las que se den simultáneamente datos de los volúmenes de elución, $V_e(C_D)$, y constantes de Huggins, k_A , del soluto polimérico. Por otro, cuando se consideran datos de $V_e(C_D)$ y k_A de forma independiente existen dificultades con la exactitud de estos valores por las siguientes razones:

i) Aunque los datos del efecto de concentración en SEC son abundantes, la mayoría de ellos se exponen de forma gráfica y generalmente una figura recoge datos de varias muestras de diferentes pesos moleculares. Como las diferencias en el volumen de elución de diferentes polímeros suelen ser bastante mayores que las diferencias de volumen de elución causadas por el efecto de concentración, la incertidumbre de los valores numéricos de $V_e(C_D)$ extraídos de estas fi

guras es grande.

ii) La posibilidad de encontrar valores de k_A apropiados para un sistema disolvente-polímero a un determinado peso molecular-temperatura es remota. k_A no depende sólo del sistema polímero-disolvente, sino del peso molecular del polímero, de su grado de entrecruzamiento y de su velocidad de gradiente¹¹⁹. Aunque en el presente contexto se pueden despreciar los dos últimos efectos, la influencia del peso molecular, M , en k_A es importante. Normalmente k_A disminuye con el aumento de M hasta un cierto valor de éste, en el cual k_A permanece constante^{119,120}. Por otro lado, y afortunadamente, la distribución de pesos moleculares no influye de forma significativa en k_A . Además de todo lo anterior hay que tener en cuenta los importantes errores relativos que generalmente afectan a los valores bibliográficos de k_A que pueden llegar al 10-20%¹¹⁹.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, las referencias bibliográficas sobre el efecto de concentración pueden agruparse en tres categorías:

1) Referencias en las que se dan simultáneamente valores de $V_e(C_D)$ (generalmente en gráficas) y k_A para un soluto polimérico.

2) Aquellas referencias en las que hay valores tabulados de $V_e(C_D)$ pero no se indican los valores de k_A de los polímeros medidos. En este caso es necesario obtener los valores de k_A de otras fuente bibliográficas. Tres posibilidades en orden decreciente de preferencia, se han utilizado en la presente discusión:

- a) Interpolación de valores de k_A cuando existían datos de ésta frente al peso molecular para un sistema dado.
- b) Valores bibliográficos de k_A para el sistema con peso molecular y temperatura más cercanos al ejemplo cromatográfico a resolver.
- c) Evaluación experimental de k_A en este laboratorio

para el sistema estudiado.

3) Referencias en las que los valores de $V_e(C_D)$ se dan en forma gráfica. Cuando en la misma referencia existían valores de k_A , éstos fueron utilizados, cuando no, se operó en la forma detallada en el apartado anterior.

La mayor parte de la bibliografía consultada se puede encuadrar en el grupo 3).

Independientemente de los anteriores problemas bibliográficos los sistemas a discutir se han dividido, por ser más ilustrativo, en dos clases: aquellos en que el eluyente es un buen disolvente del polímero y aquellos otros en que es "theta" o mal disolvente.

4.2.1.1.- Buenos disolventes

Recordando la ec. (2.93), deducida para disoluciones de polímero muy diluídas, se observa que dos términos influyen en el efecto de concentración: uno lineal y otro cuadrático en C_D . En buenos disolventes, $k_A=0,2-0,4$, por lo que $(1-2k_A) > (3k_A-1)$. Además, en las condiciones usuales de medida, $|\eta|_A C_D < 1$ y, por tanto, $|\eta|_A C_D > |\eta|_A^2 C_D^2$. De la combinación de estas desigualdades se deduce que $(1-2k_A) |\eta|_A C_D >> (3k_A-1) |\eta|_A^2 C_D^2$, lo que indica que cualitativamente la ec. (2.93) prevé una variación de $V_e(C_D)$ con C_D prácticamente lineal. Por otro lado, cuando M aumenta, k_A disminuye por lo que $(1-2k_A)$ aumenta. Como $|\eta|_A$ aumenta también con M , la ec. (2.93) también cualitativamente predice un mayor efecto de concentración al aumentar el peso molecular.

Ya se han mencionado las dificultades existentes para la comprobación cuantitativa de las expresiones, sin embargo, hay un sistema en la bibliografía que cae dentro del apartado 1). Este sistema es poliestireno, PS, ($M=867.000$), tetrahidrofurano, THF, medido por Janca⁶⁵ y utilizado por él para comprobar su propio modelo de concentración. En la tabla 4.7 se recogen los efectos de concentración experimentales junto con los predichos por el modelo de Janca (ΔV_J) y por

la ec. (2.93) de esta Memoria en forma de incrementos de volumen, es decir, la diferencia entre el volumen de elución a concentración C_D , $V_e(C_D)$, y a dilución infinita, $V_e(0)$.

Como se desprende de la tabla 4.7, la ec. (2.93) repro

TABLA 4.7

Efecto de concentración en el sistema PS3(867000)/THF
comparación entre valores experimentales y valores
calculados por el modelo de Janca y la ec. (2.93).

C_D g/100ml	$V_e(C_D)^{exp}$ cuentas	$\Delta V_e(C_D)^{exp}$ cuentas	ΔV_J cuentas	$\Delta V(65)^*$ cuentas
0,4	22,8	1,3	0,2	0,9
0,2	22,3	0,8	0,07	0,4
0,1	21,8	0,3	0,00	0,2
0,05	21,7	0,2	-0,05	0,1
0,025	21,6	0,1	-0,07	0,04
0	21,5			

* Los datos necesarios para el cálculo proceden de ref.
(65) y se especifican en la tabla 4.9.

duce bien los resultados experimentales observándose desviaciones según aumenta C_D lo que era de esperar ya que está diseñada para concentraciones bajas.

En la tabla 4.8 se comparan los resultados obtenidos utilizando la ec. (2.93) con resultados experimentales de tres sistemas que pueden encuadrarse en el grupo 2). Los dos primeros sistemas fueron utilizados respectivamente por Janca ⁶⁵ y Rudin y col. ⁶¹ para comprobar sus propios modelos. Aunque la ec. (2.93) está desarrollada para concentraciones bajas predice tres conductas diferentes para $V_e(C_D)$ en buenos disolventes al aumentar la concentración, una

TABLA 4.8

Efecto de concentración para diferentes sistemas polímero/disolvente/gel. Comparación entre valores del volumen de elución experimentales y valores calculados ec.(2.93). Datos necesarios para el cálculo en tabla 4.9.

a) PS/THF/gel de vidrio poroso a 25°C⁶⁵.

Muestra	C _D (%)	V _{CD} cuentas	V _{CD} , ec.(2.93) cuentas	V _{CD} (Janca) cuentas
	0,8	25,8	25,3	24,5
	0,4	25,2	24,7	24,4
PS 4	0,2	24,7	24,4	24,3
498.000	0,1	24,4	24,2	24,2
	0,05	24,2	24,2	24,2
	0,025	24,1	24,1	24,2
	0,0	24,1	--	--

	0,4	29,2	29,1	28,9
	0,2	28,9	29,0	28,8
PS 6	0,1	28,9	28,9	28,8
200.000	0,05	28,9	28,9	28,8
	0,025	28,9	28,9	28,8
	0,0	28,8 ₅		

b) PMMA/THF/styragel a 25°C¹²¹.

Muestra	C _D 10 ³ g/ml	V _{CD} ml	V _{CD} , ec.(2.93) ml
	0	102,8	
	1,13	103,5	103,5
Fracc. A1	3,13	104,5	104,6
$\bar{M}_w = 246 \cdot 10^4$	6,46	106,0	106,5
	9,74	108,0	108,2
	12,70	111,0	109,8

	0	114,9	
	1,64	115,5	115,3
Fracc. B2	3,28	116,0	115,7
$\bar{M}_w = 596 \cdot 10^3$	6,58	117,0	116,5
	9,55	118,0	117,3
	13,15	119,5	118,4

continuación tabla 4.8.

	0	117,1	
	1,59	117,5	117,4
Fracc. B1	3,15	118,0	117,7
$\bar{M}_w = 440 \cdot 10^3$	6,66	119,0	118,4
	9,77	120,0	119,1
	13,20	121,0	119,9

	0	123,0	
	1,61	123,0	123,2
Fracc. C2	3,21	123,5	123,4
$\bar{M}_w = 240 \cdot 10^3$	6,35	124,0	123,8
	9,66	124,5	124,2
	13,15	125,0	124,7

c) PS/THF/μstyragel a 25°C¹²².

Muestra	$c \cdot 10^3$ g/ml.	V_{CD} cuentas	V_{CD} , ec. (2.93) cuentas
	0	26,18	
PS	1,4	26,27	26,29
620.000	2,2	26,34	26,36
	3,4	26,43	26,48

	0	27,04	
	1,1	27,10	27,11
PS	1,3	27,12	27,13
412.000	2,1	27,15	27,17
	2,9	27,20	27,23

prácticamente lineal, otra con curvatura creciente y la última con curvatura decreciente, como puede apreciarse en la figura 4.8. Estas predicciones coinciden bastante bien con resultados experimentales de varios sistemas de la bilio-grafía que se encuadran en el grupo 3).

En las figuras 4.8b) y 4.8c) se representan los volúmenes de elución calculados con los modelos de Rudin y col.⁷² y Bleha y col.⁷³. Desde un punto de vista cuantitativo no hay diferencias significativas, en buenos disolventes, entre los resultados obtenidos mediante la ec. (2.93) y los otros modelos como puede observarse en las figuras. De hecho, si se despreja el término cuadrático de la ec. (2.93) ya que no juega un papel importante en los ejemplos de la figura, la nueva ecuación que describiría el efecto de concentración¹²⁵, ec. (4.9) tiene una funcionalidad similar a las obtenidas por Bleha y col., ec. (4.10) y Rudin y col., ec. (4.11).

$$V_e(C_D) = V_e(0) + \frac{0,4343}{P} (1-2k_A) |\eta|_A C_D \quad (4.9)$$

$$V_e(C_D) = V_e(0) + \frac{1,303}{P} A_{2MFC} \quad (4.10)$$

$$V_e(C_D) = V_e(0) + \frac{0,352}{P} \left(1 - \frac{|\eta|^\theta}{|\eta|}\right) |\eta| C \quad (4.11)$$

Las pequeñas diferencias entre los tres modelos pueden analizarse a través del coeficiente de la variable C_D/P y pueden ser debidas a las magnitudes experimentales de las que éste depende. El modelo de Bleha y col.⁷³ está basado en la teoría de Yamakawa⁷⁷ al igual que el de Rudin y col.⁷², modelo que pese a haber sido primeramente deducido de una forma semiempírica⁶¹, también concuerda con la teoría de Yamakawa que relaciona la concentración y el volumen hidrodinámico efectivo de los polímeros solvatados en disoluciones moderadamente concentradas.

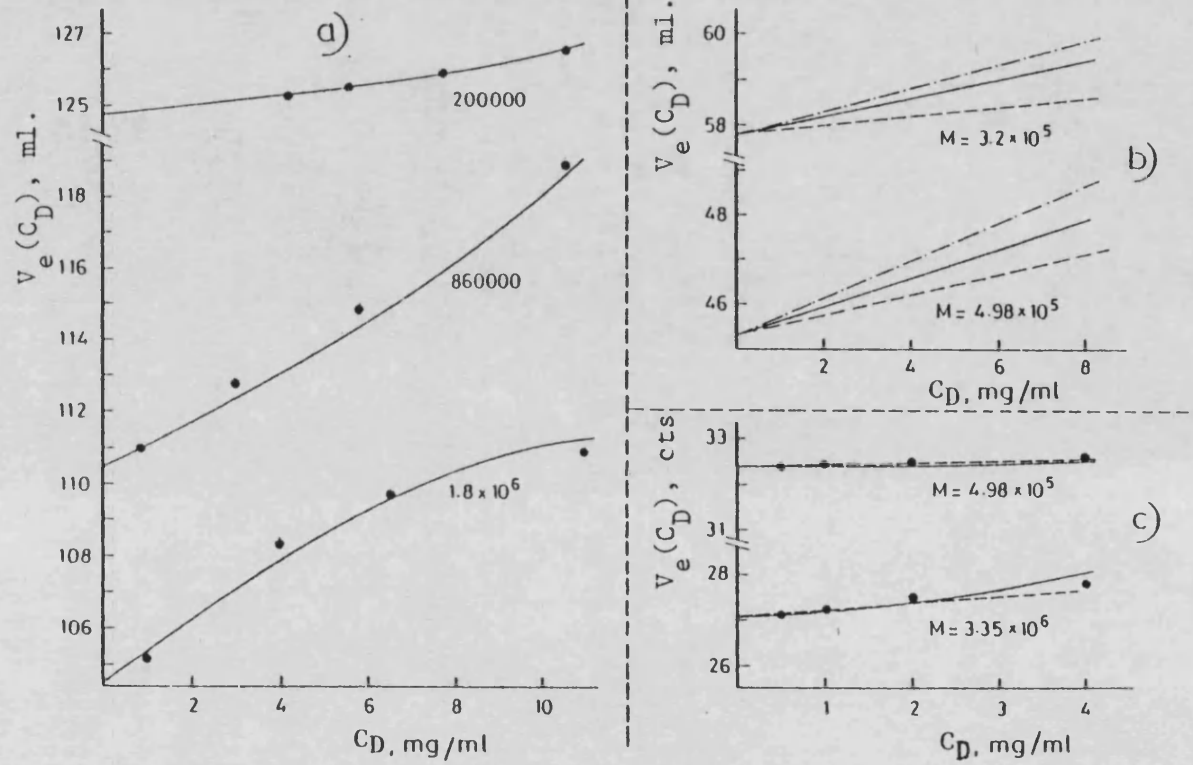


Figura 4.8.- Efectos de concentración experimental y calculados para los sistemas: a) PS/THF; (•) valores experimentales¹²³; (—) valores calculados con la ec. (2.93). b) PS/tolueno; (—•) valores experimentales⁷³; (—) valores calculados con la ec. (2.93); (---) valores calculados con el modelo de Bleha y col.⁷³. c) PS/butanona; (•) valores experimentales; (—) valores calculados con la ec. (2.93); (---) valores calculados con el modelo de Rudin y col.⁷²

TABLA 4.9

Parámetros utilizados para la evaluación del efecto de concentración en buenos disolventes.

Sistema	Muestra	P	$ \eta _A$ (ml.g ⁻¹)	k_A
PS/THF ⁶⁵ tabla 4.7	PS 3	0,145 cuentas ⁻¹	212	0,365
PS/THF ⁶⁵ tabla 4.8	PS 4		142	0,366 ^a
	PS 6	0,145 cuentas ⁻¹	74	0,367 ^b
	Fracción A1		329	0,33 ^c
PMMA/THF ¹²¹ tabla 4.8	Fracción B2		124	0,35 ^c
	Fracción B1	0,079 ml. ⁻¹	100	0,36 ^c
	Fracción C2		66	0,36 ^c
PS/THF ¹²² tabla 4.8	PS 620.000		185	0,366 ^a
	PS 412.000	0,30 cuentas ⁻¹	150	0,367 ^a
	PS 1.800.000	0,068 cuentas ⁻¹	422	0,325 ^c
PS/THF ¹²³ figura 4.8	PS 860.000	0,068 cuentas ⁻¹	240	0,365 ⁶⁵
	PS 200.000	0,075 cuentas ⁻¹	78	0,367 ^b
PS/TOL ⁷³ figura 4.8	PS 498.000		141	0,33 ¹¹⁹
	PS 320.000	0,068 ml. ⁻¹	88	0,35 ¹¹⁹
PS/MEC ¹²⁴ figura 4.8	PS 498.000		81	0,55 ^c
	PS 3.350.000	0,256 cuentas ⁻¹	271	0,48 ^c

TOL = Tolueno

^a Valores interpolados a partir de datos de k_A vs. M^{65} .

^b Valores extrapolados a partir de datos de k_A vs. M^{65} .

^c Medidas realizadas en este laboratorio.



Ambos modelos son, pues, formas diferentes de presentar la teoría de Yamakawa. Así, mientras el modelo de Bleha y col. da los volúmenes de elución en función de propiedades de equilibrio ($A_2 \equiv$ segundo coeficiente del virial), el de Rudin y col., a su vez, los da en función de propiedades de transporte ($|\eta| \equiv$ viscosidad intrínseca). A pesar de la coincidencia cuantitativa entre los resultados del presente modelo y los basados en la teoría de Yamakawa existe un desacuerdo cualitativo de fondo entre ellos. Así, mientras que en los modelos basados en la teoría de Yamakawa, el encojamiento del ovillo debido a la concentración es el resultado de interacciones termodinámicas que incluyen efectos de volumen excluido inter e intramolecular, nuestro modelo depende de k_A , constante que tiene en cuenta interacciones termodinámicas, pero también hidrodinámicas y de otros tipos, aunque las termodinámicas y las hidrodinámicas son las más importantes^{98,91,119}. Esta diferencia conceptual no se refleja de modo importante en los resultados predichos para buenos disolventes, como se ha visto, pero sí en condiciones "theta", sistemas que tratamos a continuación.

4.2.1.2.- Disolventes "theta".

En condiciones "theta" las interacciones termodinámicas se anulan, el cociente $|\eta|/|\eta|_\theta$ y el factor de expansión se hacen igual a la unidad y F se hace cero, por lo que, ver ecs. (4.10) y (4.11), los modelos de Bleha y col. y Rudin y col. predicen un comportamiento general: los volúmenes de elución son independientes de la concentración en condiciones "theta". Esta conducta no es la predicha por nuestro modelo, en él los volúmenes de elución dependen de k_A por lo que mientras no exista un valor universal de k_A en condiciones "theta" ya sea desde un punto de vista teórico o experimental, no se podrá esperar una dependencia general de los volúmenes de elución con la concentración. Entre otras predicciones teóricas, Yamakawa concluye que $(k_A)_\theta = 0.5$ teniendo sólo en cuenta la dependen-

cia con la concentración de las dimensiones moleculares⁸². Petterson y Fixman¹²⁶ predijeron que $(k_A)_\theta = 0,833$ encarando el problema hidrodinámico, mientras que Sakai¹²⁷ propone $(k_A)_\theta = 0,757$. Por otro lado, los resultados experimentales proporcionan valores para $(k_A)_\theta$ comprendidos entre 0,5 y 0,7^{87,128,20} y muestran que, además, dependen del peso molecular. En este contexto, es obvio que al aplicar nuestro modelo no debe esperarse una conducta general de independencia de V_e con la concentración en sistemas "theta". Antes de presentar resultados cuantitativos en sistemas "theta" puede hacerse un análisis cualitativo de los resultados predichos por nuestro modelo. Para un hipotético valor de $(k_A)_\theta = 0,5$, de acuerdo con la predicción de Yamakawa, el término de la ec. (2.93) que es lineal, se anula al igual que las interacciones termodinámicas⁸³, pero no así el término cuadrático. En este contexto, el término cuadrático parece tener en cuenta interacciones hidrodinámicas y de otros tipos las cuales serían responsables de la dependencia residual, en condiciones "theta", de los volúmenes de elución con la concentración. De hecho el factor $(3k_A - 1)$ es mayor ahora que en buenos disolventes mientras que $|\eta|_A^\theta$ es menor que $|\eta|_A$. El aumento del primer factor es neutralizado por el descenso del segundo resultando un valor pequeño del término cuadrático y aproximadamente del mismo orden que en buenos disolventes. Por tanto, en aquellos sistemas "theta" en que $(k_A)_\theta = 0,5$ cabe esperar una variación pequeña y positiva de $V_e(C_D)$ con C_D . Por otro lado, $(k_A)_\theta$ aumenta fuertemente al disminuir el peso molecular^{128, 120} por lo que para bajos pesos moleculares es de esperar una dependencia negativa de $V_e(C_D)$ con C_D . Sin embargo, en estos sistemas de bajo peso molecular $|\eta|_A^\theta$ es muy pequeña y la dependencia prevista, si existe, será despreciable. En todo caso y como resumen, en condiciones "theta" y para polímeros de alto peso molecular cabe esperar una dependencia pequeña y positiva, si la hay, de $V_e(C_D)$ con C_D . Esta dependencia disminuirá gradualmente

conforme disminuya el peso molecular del polímero y para pesos moleculares muy bajos puede hacerse negativa.

Cuando se intenta comparar cuantitativamente los resultados del modelo para sistemas "theta" con los resultados experimentales de la bibliografía surgen las mismas dificultades que en el caso de buenos disolventes. En este caso, no existen por lo general valores tabulados de $V_e(C_D)$ frente a C_D y por tanto los datos bibliográficos pertenecen al grupo 3). Debido a esto y a las pequeñas diferencias encontradas en $V_e(C_D)$, del orden del error experimental de medida, los resultados aparecen generalmente en forma de líneas rectas horizontales enmascarando los puntos experimentales de acuerdo con la opinión generalizada de que $V_e(C_D)$ es independiente de C_D en condiciones "theta". La incertidumbre en los valores numéricos extraídos de estas figuras puede ser mayor que el efecto de concentración esperado.

Las tres condiciones predichas por la ec. (2.93) en condiciones "theta", esto es, dependencia de $V_e(C_D)$ con C_D positivas, nulas o ligeramente negativas (conforme aumenta $(k_A)_\theta$), se representan en la figura 4.9 en la que se comparan valores experimentales y valores calculados de $V_e(C_D)$ para poliestirenos, PS, en diferentes mezclas "theta". Para $(k_A)_\theta \approx 0,5$ como ocurre en el sistema PS/benceno-metanol (78/22, v/v) se observa experimentalmente²¹ una pequeña y positiva dependencia de $V_e(C_D)$ con C_D como explícitamente confirman los autores y de acuerdo con las predicciones teóricas de la ec. (2.93). Para valores intermedios de $(k_A)_\theta$ ($(k_A)_\theta \approx 0,6$) la ec. (2.93) predice una dependencia nula como se confirma experimentalmente, figura 4.9c), con el sistema PS/butanona-heptano (50/50, v/v)²⁰. Los datos necesarios para la aplicación de la ec. (2.93) se recogen en la tabla 4.10.

4.2.2.- Disoluciones diluidas (moderadamente concentradas)

La expresión propuesta para el efecto de concentración

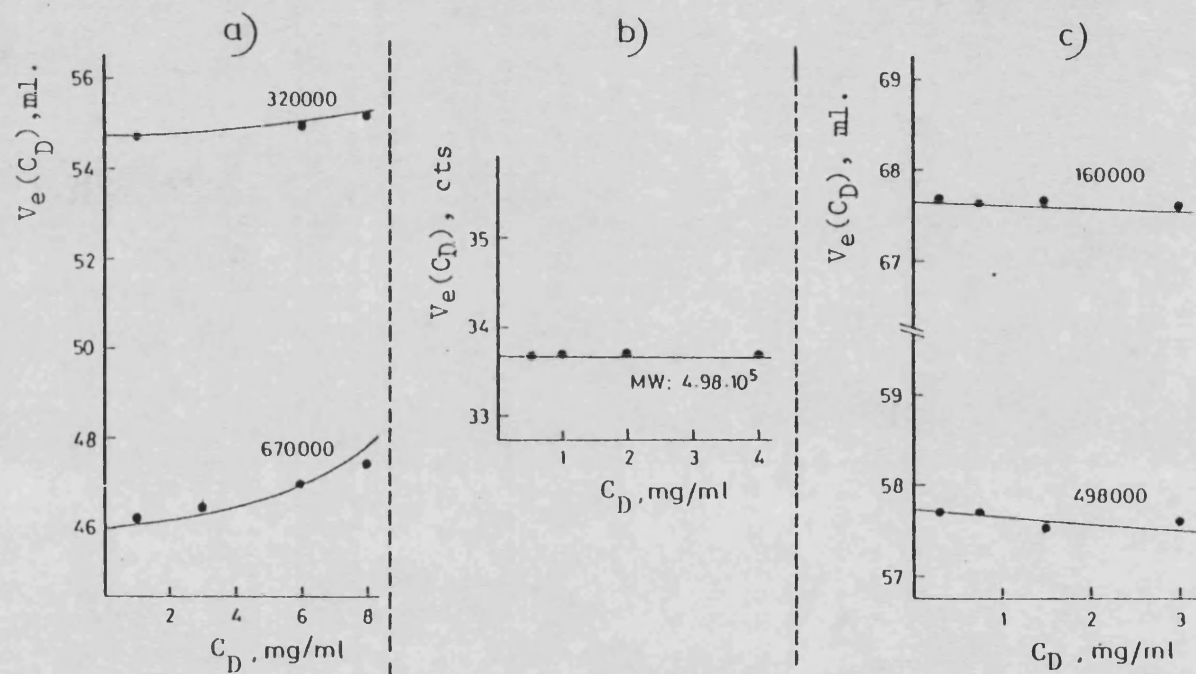


Figura 4.9.- Efectos de concentración experimentales y calculados para PS en mezclas "theta"; (●) valores experimentales; (—) valores calculados con la ec. (2.93). a) benceno-metanol (78/22)²¹. b) butanona-metanol (88,8/11,3)¹²⁴. c) butanona-heptano (50/50)²⁰.

TABLA 4.10

Parámetros utilizados para la evaluación del efecto de concentración en mezclas "theta".

Sistema	Muestra	P	$ \eta _A \text{ ml. g}^{-1}$	k_A
PS/benceno-metanol (78/22, v/v) ²¹	670.000	0,069 ml. ⁻¹	93*	0,50*
Figura 4.9a)	320.000		60*	0,51*
PS/butanona-metanol (88,7/11,3, v/v) ⁶⁷	498.000	0,261 cuentas ⁻¹	51*	0,63*
Figura 4.9b)				
PS/butanona-heptano (50/50, v/v) ²⁰	498.000	0,074 ml. ⁻¹	59,5*	0,73*
Figura 4.9c)	160.000		33,7*	0,70*

* Medidas realizadas en este laboratorio.

en SEC, en el caso de disoluciones diluídas es la ec. (2.89). Es fácil ver que dicha ecuación es una extensión de la discutida anteriormente y apropiada a un rango superior de concentración. Recordando su obtención y comparándola con la ec. (2.93) resaltan dos diferencias: en primer lugar, no se ha introducido en ella ninguna simplificación por lo que se conserva el logaritmo en perjuicio de la simplicidad, pero en beneficio de la exactitud. En segundo, la introducción de k'_A (coeficiente del término cuadrático de la concentración para la viscosidad específica reducida, ec. (2.87)). Debido a ello la ec. (2.89) ha de servir no solo para disoluciones diluídas, sino también para disoluciones muy diluídas. Es de esperar, pues, una mejoría en los resultados anteriores que, a veces, sobre todo a concentraciones muy bajas no será detectable.

Por otro lado, el que la ec. (2.89) dependa no sólo de la constante de Huggins, sino, además, de k'_A conduce a que a las dificultades anteriormente mencionadas respecto

a los valores de k_A se añadan ahora las relativas a los valores de k'_A , escasísimos o inexistentes en la bibliografía, para los sistemas estudiados. A fin de eliminar, pues, las incertidumbres en los valores de k_A y k'_A , se propone a la hora de aplicar el modelo el empleo de valores "objetivos" y generalizados para ambos parámetros, lo que conlleva a una simplificación apreciable de la ec. (2.89) y a una aplicabilidad universal.

Así pues, antes de pasar a discutir los resultados predichos por el modelo, se trata el cálculo de k_A y k'_A .

4.2.2.1.- Cálculo de k_A

Repasando la bibliografía especializada parece que, al menos, existen dos expresiones generales que relacionan la constante de Huggins, k_A , con el factor de expansión viscosimétrico, α_η . Una de ellas puede escribirse¹²⁹ :

$$k_A = \frac{1}{2} - \frac{3}{4} \cdot \frac{\alpha_\eta^2 - 1}{\alpha_\eta^4} \quad (4.12)$$

mientras que la otra, propuesta por Imai¹³⁰, viene dada por:

$$k_A = k_1^0 \alpha_\eta^{-4} + C(1 - \alpha_\eta^{-2}) \quad (4.13)$$

donde k_1^0 y C son parámetros con valores empíricos de 0,5 y 0,3 respectivamente, como muestra un análisis de resultados para varios sistemas polímero-disolvente¹³¹, aunque para ciertos polímeros (p. ej. policloruro de vinilo) se hayan encontrado valores un poco superiores¹³¹.

En ambas expresiones, α_η se define como:

$$\alpha_\eta = \frac{|\eta|}{|\eta|_\theta} \quad (4.14)$$

El valor de $|\eta|_\theta$ puede ser fácilmente calculado a través de

K_θ , de la que existe abundante información bibliográfica, mediante:

$$K_\theta = |\eta|_\theta / M^{1/2} \quad (4.15)$$

En la figura 4.10 se representan las ecuaciones (4.12) (curva discontinua) y (4.13) (curva continua) junto con los valores experimentales. Como se puede apreciar la ec. (4.13) reproduce muy bien los valores experimentales en todo el rango de α_η^3 , mientras que la ec. (4.12) lo hace sólo para valores pequeños y medianos (0,9-2,7) desviándose para $\alpha_\eta > 2,7$. La ec. (4.13) fue, por tanto, la adoptada para el cálculo de k_A a partir de valores de α_η^3 para sistemas binarios polímero-disolvente.

Por lo que respecta a sistemas ternarios polímero/mezcla de disolventes el cálculo de α_η^3 se complica ya que K_θ deja de ser una constante para un polímero dado y depende de la mezcla disolvente, obteniéndose valores de K_θ superiores en general a los obtenidos en disolventes puros^{132, 133}. Además, la información similar a la figura 4.10 para estos sistemas es escasa. Por todo ello, se realizaron cuidadosas medidas de $|\eta|$ y por lo tanto de k_A para ocho muestras de PS de pesos moleculares comprendidos entre 48.000 y 234.000 en benceno, butanona y mezclas benceno-metanol y butanona-heptano a 20, 35 y 50°C¹⁰⁹. Los valores de K_θ obtenidos para los sistemas "theta" PS/benceno-metanol (78/22, v/v) a 20°C y PS/butanona-heptano (50/50, v/v) a 35°C son, respectivamente $90,1 \cdot 10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$ y $70,73 \cdot 10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$, acordes con las teorías de volumen excluido y los valores bibliográficos¹³⁴ de $92 \cdot 10^{-3}$ y $73 \cdot 10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$ respectivamente. Teniendo en cuenta estos últimos valores, el primero para los datos en mezclas benceno-metanol y el segundo para los resultados en mezclas butanona-heptano, se calcularon valores de α_η y se hizo la representación de k_A vs. α_η^3 de la figura 4.11. En ella, como puede observarse, se han trazado

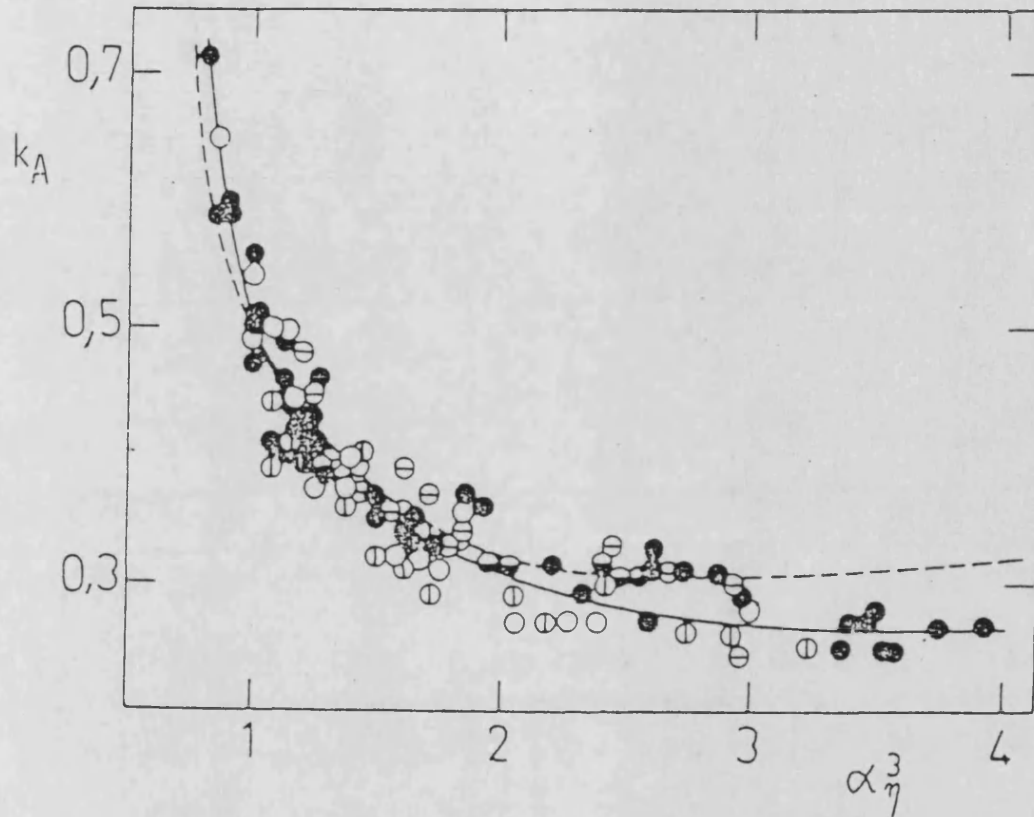


Figura 4.10.- Dependencia de k_A con el factor de expansión α_η^3 . Poli-estireno (●); poliisobutileno (○); poli 2-hidroxietil metacrilato (⊙); polihidroxiisopropil metacrilamida (⊕); poliacrilamida (⊖). La curva continua está calculada mediante la ec. (4.13) con $k_1^0 = 0,5$ y $C = 0,30$, la curva discontinua con la ec. (4.12). La figura está tomada de la ref. 92.

tres curvas. La curva ① procede de ajustar k_A vs. α_η^3 para todas las muestras y a todas las temperaturas en todos los sistemas disolventes, obteniéndose:

$$k_A = 0,1149(\alpha_\eta^3)^2 - 0,6688\alpha_\eta^3 + 1,2916 \quad (4.16)$$

mientras que la curva ② corresponde a un ajuste a una función de segundo grado para el sistema butanona-heptano a todas las temperaturas con ecuación:

$$k_A = 0,0967(\alpha_\eta^3)^2 - 0,6525\alpha_\eta^3 + 1,2977 \quad (4.17)$$

la curva ③, por último, representa el ajuste para el sistema benceno-metanol a todas las temperaturas, que da como resultado:

$$k_A = 0,0423(\alpha_\eta^3)^2 - 0,2950\alpha_\eta^3 + 0,8259 \quad (4.18)$$

Es de resaltar que de las ecuaciones (4.17) y (4.18) se obtienen valores de k_A en condiciones "theta", ($\alpha_\eta^3=1$), de 0,74 y 0,57 respectivamente, valores muy cercanos a los dados en la tabla 4.10 para distintas muestras de PS en las mezclas butanona-heptano y benceno-metanol respectivamente.

4.2.2.2.- Cálculo de k'_A

El problema que se plantea ahora es el cálculo de k'_A bien de forma independiente o bien en función de k_A , ya que de esta última se han dado expresiones que permiten su cálculo.

Recordando las ecs. (2.75) y (2.87) el cálculo de k_A y k'_A es similar al problema del segundo y tercer coeficiente del virial en la evaluación de datos de presión osmótica o difusión de la luz. Sin embargo, mientras la contribución del tercer coeficiente del virial puede ser aproximada me-

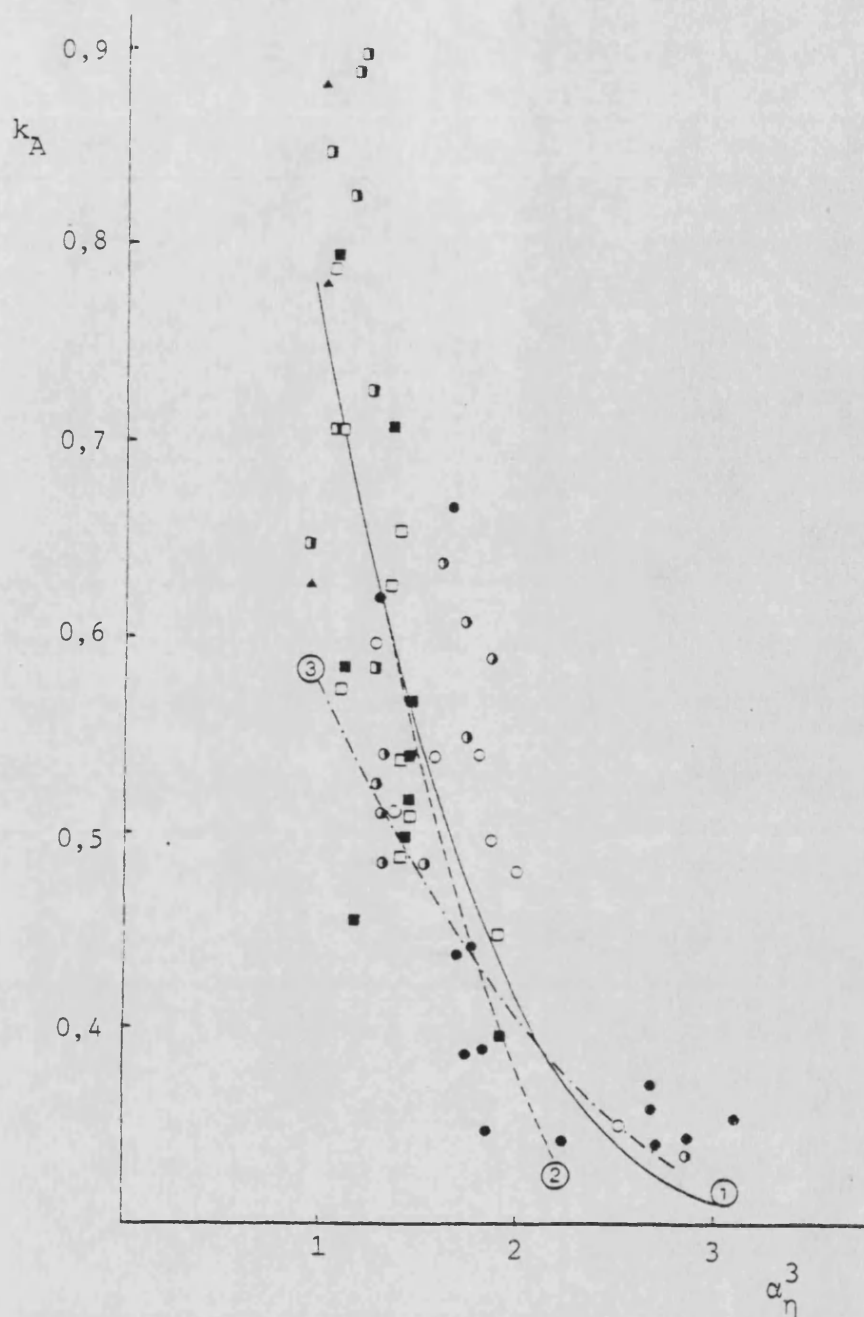


Figura 4.11.- Representación de valores de k_A vs. α_n^3 obtenidos en este laboratorio para PS en distintas mezclas disolventes: (●) benceno; (○) benceno-metanol (80/20); (◐) benceno-metanol (78/22); (■) butanona; (□) butanona-heptano (75/25); (◑) butanona-heptano (60/40); (▲) butanona-heptano (50/50).

diante consideraciones teóricas, no existen dichas consideraciones para estimar k'_A en cadenas macromoleculares.

Cuando la macromolécula es una esfera rígida no interpenetrable la teoría predice¹³⁵ que:

$$k'_A/k_A^2 = 1 \quad (4.19)$$

ecuación que ha sido utilizada a veces para estimar la contribución del término cuadrático de la concentración en la ec. (2.87). Sin embargo y a pesar de la poca atención prestada al problema de relacionar k_A y k'_A , parece que $k'_A/k_A^2 \neq 1$ para cadenas poliméricas¹³⁶. Un análisis realizado por Sakai¹³⁷ sugiere que:

$$k'_A/k_A^2 \ll 1/2 \quad (4.20)$$

ecuación en la que la igualdad es apropiada para un desarrollo en serie de potencias de la ecuación de Martin¹³⁸ y ha sido utilizada por Norrby¹³⁸ para relacionar k_A y k'_A midiendo en condiciones "theta". La relación comprobada por Norrby¹³⁸ equivale a escribir:

$$\frac{k'_A + A}{k_A^2} = 1 \quad (4.21)$$

con $A=0,125$. Maron y Reznik¹³⁶, basándose en resultados experimentales obtenidos con PS y polimetacrilato de metilo, PMMA, en benceno y tolueno, confirman la relación anterior con un valor para A de 0,09, valor muy similar al deducido por Baker¹³⁹, mediante un modelo semiempírico, de $A=0,08$ en un gran intervalo de valores de k'_A . En orden a asegurar el valor más apropiado de A entre los anteriores escasos valores bibliográficos, se realizaron medidas de k_A y k'_A para PMMA en p-dioxano y 1,2-dicloroetano a 20,0°C. Los valores

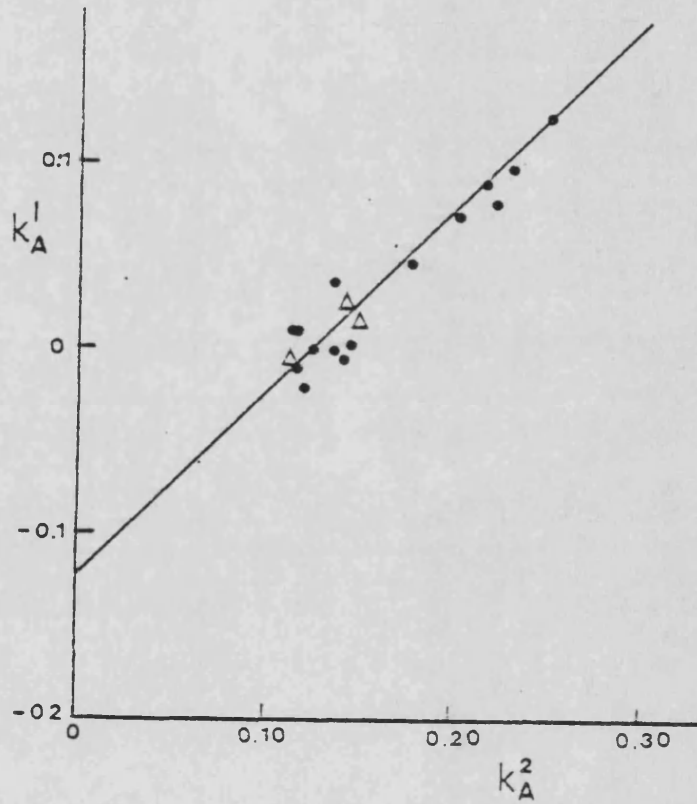


Figura 4.12.- Correlación empírica entre datos de k_A y k_A' para los sistemas PMMA/dioxano (●) y PMMA/1,2-dicloroetano (Δ) a 20°C. (pesos moleculares comprendidos entre 15.000 y 150.000).

obtenidos confirman la validez de la ec. (4.20), como se muestra en la figura 4.12, obteniéndose para $A=0,122$, intermedio entre los anteriormente citados y que es el valor que utilizaremos para el cálculo de k'_A .

Una vez dadas las expresiones para el cálculo de k_A y k'_A sólo queda aplicar la ec. (2.89). La presentación de resultados se hace, como en el caso anterior, dividiéndola en buenos disolventes y disolventes "theta".

4.2.2.3.- Buenos disolventes.

Se comienza por aplicar la ec. (2.89) a los mismos sistemas estudiados en disoluciones muy diluídas para ver si se produce mejoría en los resultados que se desviaban, continuando con otros sistemas polímero-buen disolvente seleccionados de la bibliografía dado su interés.

En la figura 4.13 se representan los resultados experimentales del efecto de concentración dados por Janca para tres muestras de PS en THF⁶⁵ junto con los resultados de su propio modelo y los obtenidos con la ec. (2.93) (tablas 4.7 y 4.8) y la ec. (2.89). Los datos necesarios para aplicar estas ecuaciones se dieron parcialmente en la tabla 4.9 siendo ahora necesario el conocimiento de K_θ , para la que se ha tomado el valor de $74,5 \cdot 10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$, valor promedio en contrado en la bibliografía para el PS¹³⁴. Como se desprende de la figura 4.13, los resultados calculados con la ec. (2.89) son mejores que los anteriores, ec. (2.93) y muy cercanos a los experimentales.

En la figura 4.14 se representan resultados del efecto de concentración para el sistema PS/THF.¹²² junto con los calculados con las ecuaciones (2.89) y (2.93), observándose en este caso valores calculados con ambas ecuaciones igualmente buenos.

En la figura 4.15 se comparan los resultados obtenidos con las ecuaciones (2.89) y (2.93) con los experimentales para el sistema PS/TOLUENO medido por Bleha y col.⁷³

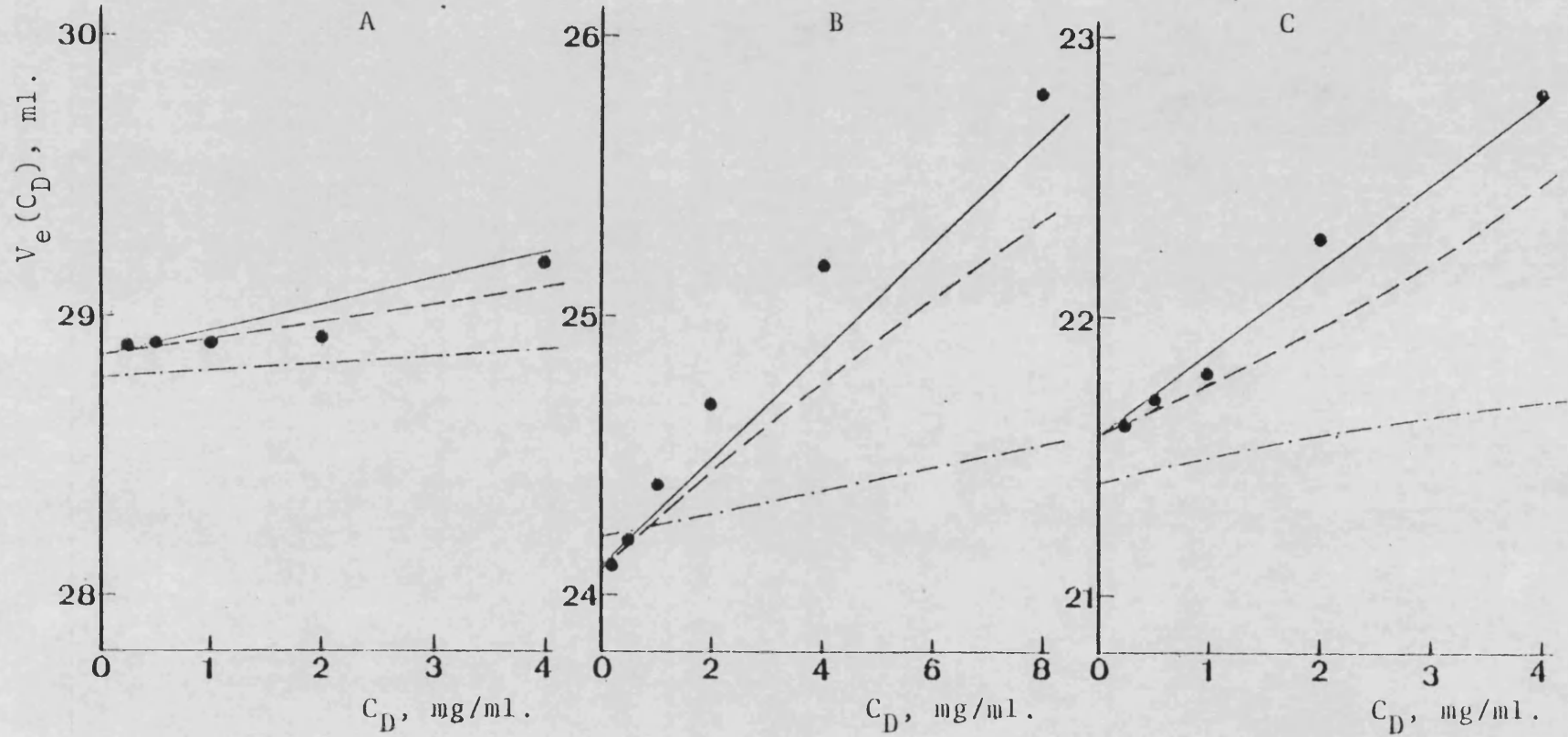


Figura 4.13.- Valores experimentales⁶⁵ (●) del efecto de concentración y calculados mediante las ecs. (2.93) (---); (2.89) (—) y mediante el modelo de Janca⁶⁵ (-·-·-) para los sistemas: A) PS-867.000; B) PS-498.000; C) PS-200.000 en THF.

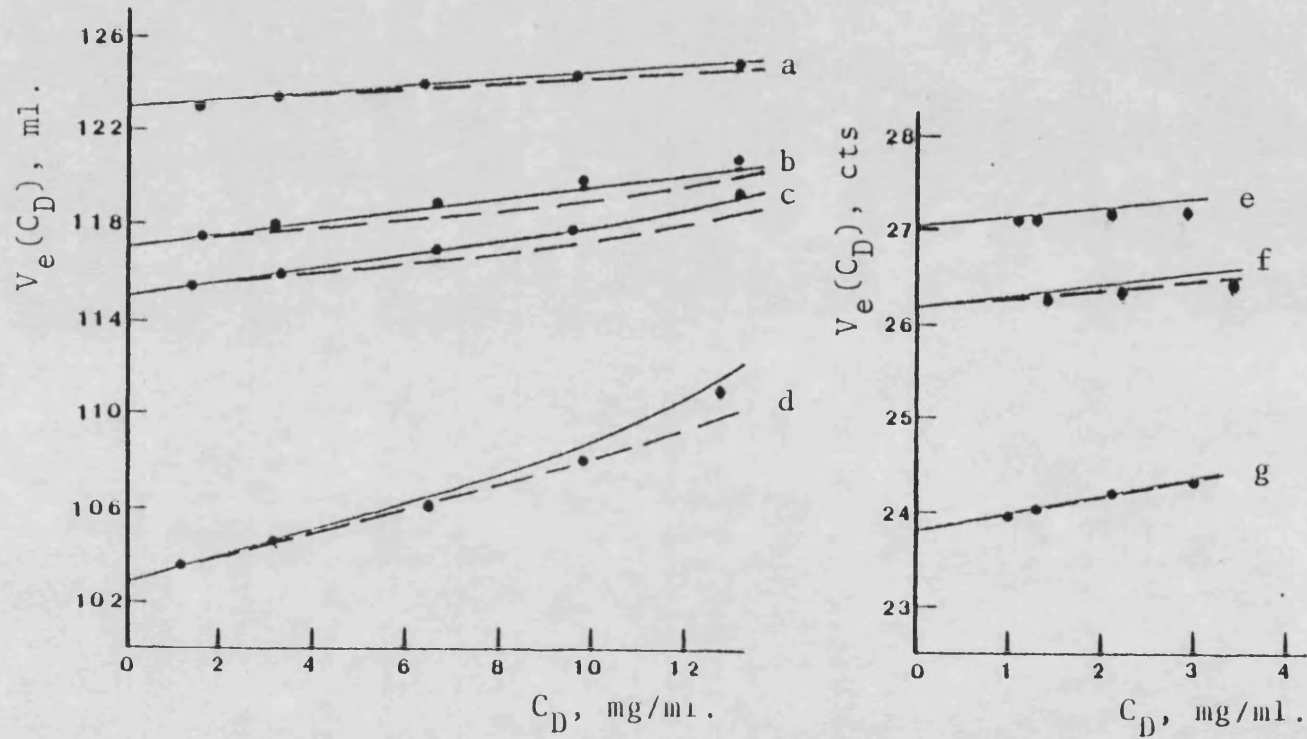


Figura 4.14.- Volúmenes de elución experimentales (●) y calculados mediante las ecuaciones (2.93) (----) y (2.89) (—) para los sistemas: a) PMMA-240.000/THF; b) PMMA-440.000/THF; c) PMMA-516.000/THF; d) PMMA-2.460.000/THF; e) PS-412.000/THF; f) PS-620.000/THF y g) PS-2.800.000/THF.

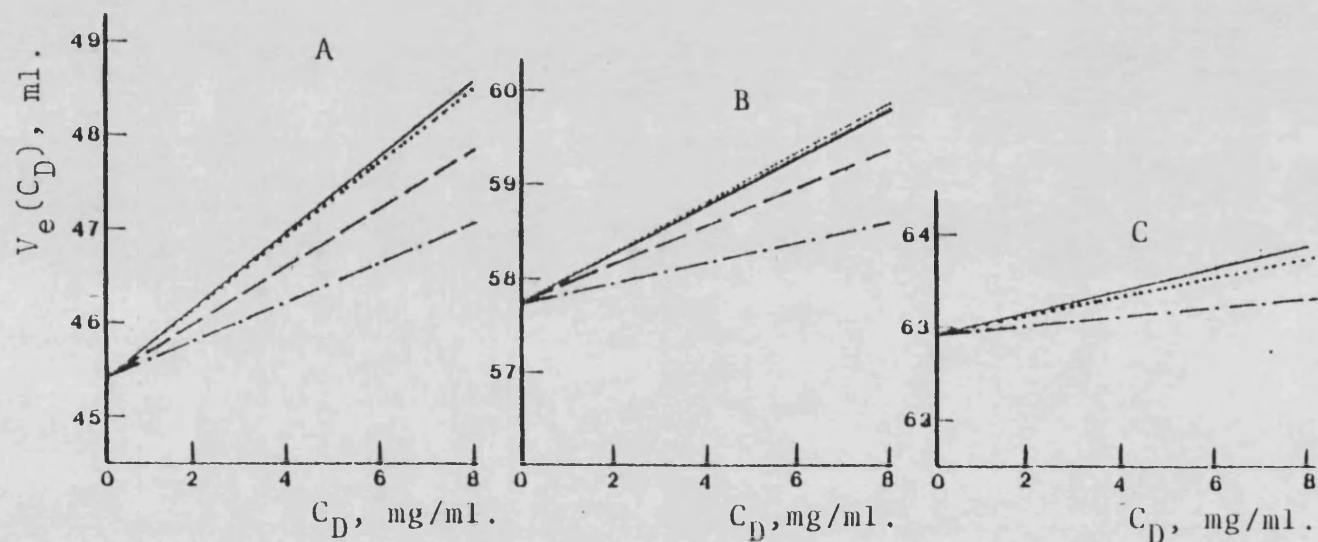


Figura 4.15.- Volúmenes de elución experimentales⁷³ (.....) y calculados mediante el modelo de Bleha y col.⁷³ (-.-.-) y las ecuaciones (2.93) (- - - -) y (2.89) (—) para los sistemas: A) PS-498.000; B) PS-320.000 y C) PS-97.200 en tolueno.

incluyéndose, además de las muestras de peso molecular 498.000 y 320.000, la muestra 97.200 con $|\eta|=42,75 \text{ ml.g}^{-1}$ ⁷³. Como puede observarse la ec. (2.89) reproduce perfectamente los resultados experimentales. El último sistema estudiado con la ec. (2.93) (figura 4.8), esto es, PS/butanona aparece en la figura 4.16 comparado con los resultados obtenidos con la ec. (2.89) que, como se puede apreciar, reproduce perfectamente los resultados experimentales.

TABLA 4.11

Parámetros utilizados en la evaluación del efecto de concentración en buenos disolventes.

SISTEMA	Muestra	$P/\text{ml.}^{-1}$	$ \eta _A/\text{ml.g}^{-1}$	$K_\theta/\text{ml.g}^{-1}$
PS/benceno, 20°C Figura 4.17	PS200.000	0,4	80,7	$74,5 \cdot 10^{-3}$
	PS270.000			
PS/butanona, 20°C Figura 4.17	PS160.000	0,18 ₂	37,6	$74,5 \cdot 10^{-3}$
	PS200.000		48,9	
	PS270.000		52,3	
	PS867.000		218,7	
PS/tolueno, 25°C Figura 4.18	PS670.000	0,108	181,7	$74,5 \cdot 10^{-3}$
	PS498.000		146,7	
	PS392.000		123,5	
	PS318.000		106,2	
PS/triclorobenceno, 130°C Figura 4.18	PS200.000	0,081	76,1	$74,5 \cdot 10^{-3}$
	PS 97.200		38	
	PS245.000		74	
	PS780.000		142	

La tabla 4.11 recoge los datos necesarios para poder calcular el efecto de concentración en los sistemas PS/benceno y PS/butanona a 20°C, PS/tolueno a 25°C y PS/triclorobenceno

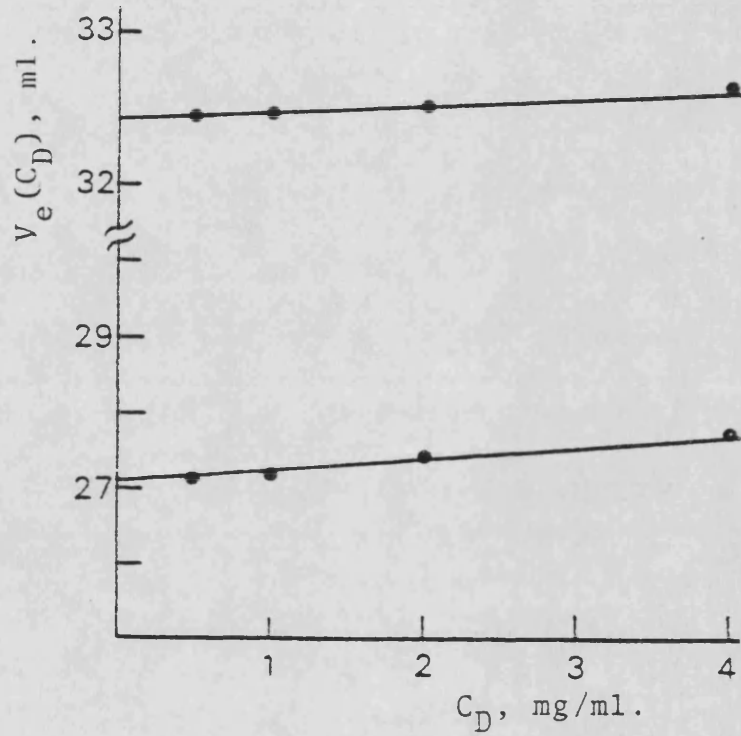


Figura 4.16.- Volúmenes de elución experimentales⁷² (●) y calculados mediante la ec. (2.93) (—) para los sistemas: a) PS-335.000 y b) PS-498.000 en butanona.

no a 130°C ¹⁴⁰. Los resultados experimentales y calculados mediante la ec. (2.89) se muestran en las figuras 4.17 y 4.18, donde puede apreciarse la buena concordancia entre resultados teóricos y experimentales en general.

Finalmente puede concluirse que en lo que respecta a buenos disolventes la ec. (2.89) mejora los resultados obtenidos con la ec. (2.93) o, lo que es lo mismo, es necesario incluir k'_A sobre todo a concentraciones grandes y cuando la muestra polimérica es de alto peso molecular.

4.2.2.4.- Disolventes "theta".

Como se ha mencionado antes (disoluciones muy diluídas) es interesante estudiar las expresiones cuando se aplican al cálculo del efecto de concentración en condiciones "theta" ya que aunque este efecto sea considerado nulo o despreciable por la mayoría de autores ^{57,61,73} puede haber pequeñas influencias de la concentración que las ecuaciones prevean. Los resultados experimentales del efecto de la concentración en sistemas "theta" escogidos para comprobar los resultados teóricos han sido los mismos que se estudiaron en disoluciones muy diluídas, es decir, PS/benceno-metanol (78/22, v/v) a 25°C , PS/butanona-metanol (88,7/11,3, v/v) a 22°C y PS/butanona-heptano (50/50, v/v) a 35°C . En el caso del sistema PS/butanona-metanol se ha estudiado una muestra adicional, PS 3.350.000 ⁷³.

Debido a la influencia del valor escogido para k_A en las expresiones teóricas y teniendo en cuenta los pequeños efectos de concentración, en estos casos se han adoptado varios valores de k_A en cada sistema polímero/mezcla de disolventes. Para las mezclas "theta" benceno-metanol se ha tomado para k_A , o bien el valor experimental correspondiente (tabla 4.10), o bien el calculado con la expresión general de Sakai ¹²⁹, ec. (4.12), utilizando para el cálculo de α_{η}^3 el valor de $K_{\theta} = 92.10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$. También para estas mezclas se ha evaluado k_A a partir de α_{η}^3 según las ecuaciones (4.16) y (4.18) es decir a partir de medidas propias de k_A vs. α_{η}^3 empleando en un caso $K_{\theta} = 73.10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$ (valor que creemos improcedente para

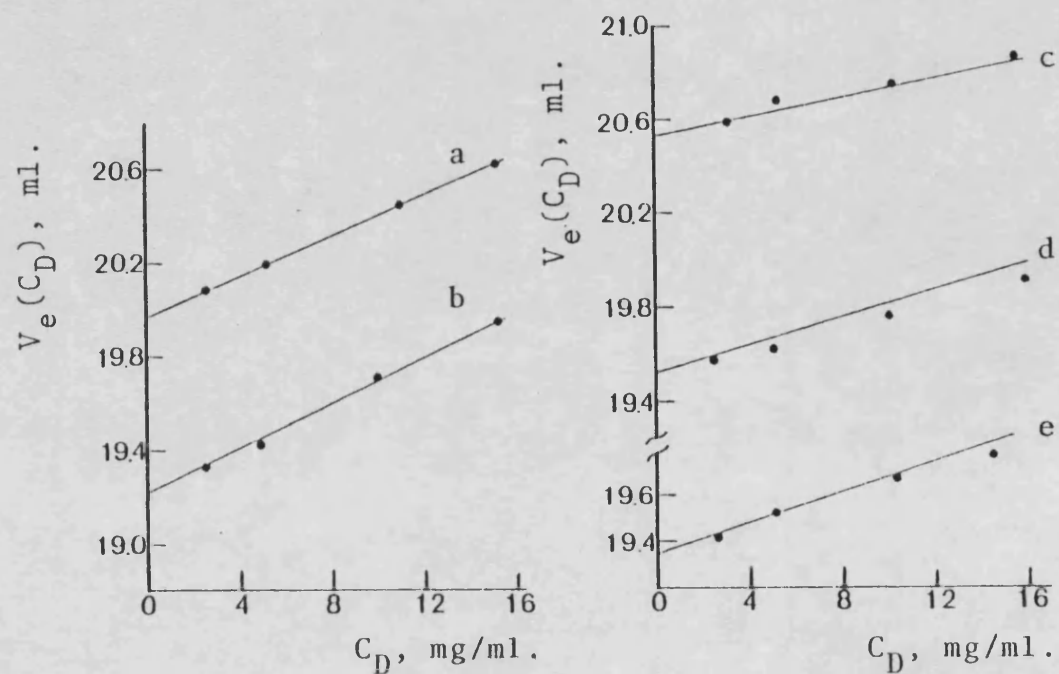


Figura 4.17.- Volúmenes de elución experimentales* (•) y calculados mediante la ec. (2.89) (—) para los sistemas: a) PS-200.000/benceno; b) PS-270.000/benceno; c) PS-160.000/butanona; d) PS-200.000/butanona y e) PS-270.000/butanona. (* resultados obtenidos en este la boratorio).

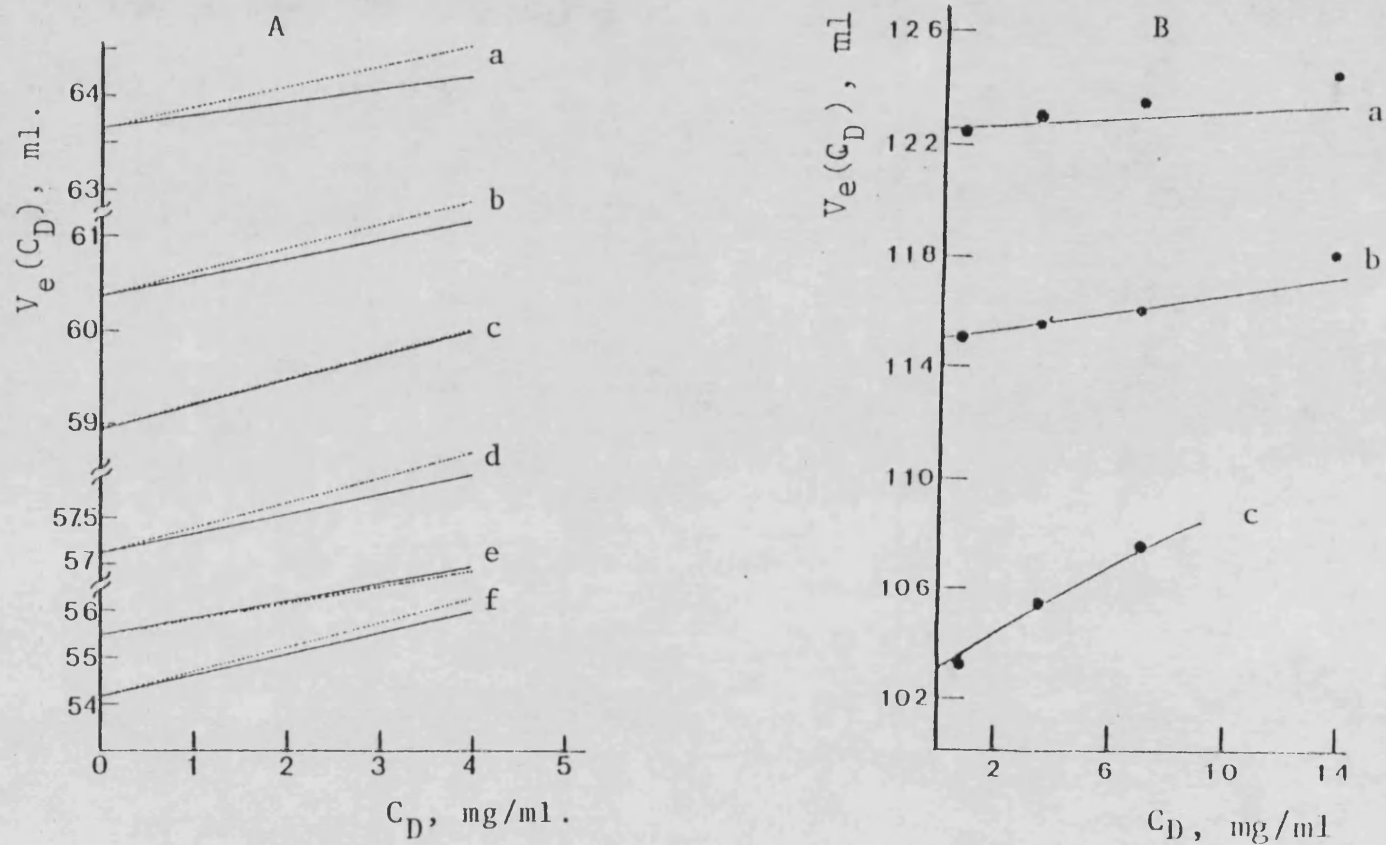


Figura 4.18.- A) Volúmenes de elución experimentales⁶⁶ (.....) y calculados mediante la ec. (2.89) para los sistemas: a) PS-200.000; b) PS-318.000; c) PS-392.000 d) PS-498.000; e) PS-670.000 y f) PS-867.000 en tolueno a 25°C. B) Volúmenes de elución experimentales (●) y calculados mediante la ec. (2.89) para los sistemas: a) PS-97.200; b) PS-245.000 y c) PS-780.000 en triclorobenceno a 130°C.

este sistema) y en otro $K_{\theta} = 92.10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$, respectivamente. Los valores de k_A obtenidos en cada caso se detallan en la tabla 4.12 y los valores de $V_e(C_D)$ vs. C_D obtenidos para cada valor de k_A se muestran en la figura 4.19 junto con los valores experimentales⁷³ para las muestras PS 670.000 y PS-320.000. Como se puede ver los resultados teóricos que coinciden mejor con los experimentales son los que se obtienen a partir de un valor de k_A calculado con la expresión de Sakai utilizando $K_{\theta} = 92.10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$. De todas formas, cualquiera que sea el valor de k_A utilizado, la ec. (2.89) proporciona ligeros aumentos del volumen de elución al aumentar la concentración análogamente a lo que ocurre con las medidas experimentales⁷³.

En el caso de la mezcla "theta" butanona-metanol se ha tomado para k_A , al igual que antes, o bien el valor experimental correspondiente o bien los calculados con la expresión de Sakai ($K_{\theta} = 73.10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$) y con la ecuación (4.15) ($K_{\theta} = 73.10^{-3} \text{ ml.g}^{-1}$). Los valores de k_A para este sistema se recogen en la tabla 4.12. Los resultados de $V_e(C_D)$ vs. C_D obtenidos con la ec. (2.89) para cada valor de k_A se representan en la figura 4.19 junto con los valores experimentales⁷³ para las muestras PS 498.000 y PS 3.350.000. Como puede verse en dicha figura los resultados teóricos que mejor coinciden con los experimentales, igual que en el caso anterior, vuelven a ser los que proceden de un valor de k_A obtenido a partir de la ecuación de Sakai, ec. (4.12). Para cualquier valor de k_A utilizado, la ec. (2.89) no prevé prácticamente ningún cambio del volumen de elución con la concentración, como ocurre experimentalmente⁷³.

Finalmente, se ha escogido en este estudio de mezclas "theta" el sistema PS/butanona-heptano (50/50, v/v) a 22°C, sistema que está en condiciones algo por debajo de "theta" ya que, como se ha mencionado, las condiciones "theta" medidas por nosotros eran PS/butanona-heptano (50/50, v/v) a 35°C. Para este sistema se han vuelto a emplear valores de k_A procedentes de medidas experimentales (tabla 4.10), así

TABLA 4.12

Parámetros utilizados para el cálculo del efecto de concentración en mezclas "theta".

Sistema (v/v)	$ \eta _A$ ml/g	P	$V_e(0)$	k_A
				0,41 ¹
PS (670.000)/BEN-MET(78/22)				0,50 ²
Figura 4.19 A	93*	0,069 ml. ⁻¹	46 ml.	0,52 ⁴
				0,53 ⁶
				0,433 ¹
PS (320.000)/BEN-MET(78/22)				0,51 ²
Figura 4.19 A	60*	0,069 ml. ⁻¹	54,7ml.	0,535 ⁴
				0,56 ⁶
				0,505 ⁵
PS (498.000)/MEC-MET(88,7/11,3)				0,63 ²
Figura 4.19 B	51*	0,261 cts ⁻¹	33,7cts	0,76 ⁶
				0,51 ⁵
PS (3.350.000)/MEC-MET(88,7/11,3)				0,76 ⁶
Figura 4.19 B	136**	0,261 cts ⁻¹	28,35cts	
				0,44 ⁵
PS (160.000)/MEC-HEP (50/50)				0,70 ²
Figura 4.19 C	33,7*	0,074 ml. ⁻¹	67,65ml.	0,67 ³
				0,44 ⁵
PS (498.000)/MEC-HEP (50/50)				0,73 ²
Figura 4.19 C	59,5*	0,074 ml. ⁻¹	57,73ml.	0,67 ³

cts \equiv cuentas

* Tabla 4.10

** Evaluados a partir de medidas propias en el mismo sistema

¹ Valor calculado con la ec.(4.12) con α_{η}^3 procedente de $|\eta|_A$ y $|\eta|_{\theta}$ ($k_{\theta}=92.10^{-3}$)

² Valor experimental, tabla 4.10

³ Valor calculado con la ec.(4.17) con α_{η}^3 procedente de $|\eta|_A$ y $|\eta|_{\theta}$ ($k_{\theta}=73.10^{-3}$)

⁴ Valor calculado con la ec.(4.18) con α_{η}^3 procedente de $|\eta|_A$ y $|\eta|_{\theta}$ ($k_{\theta}=92.10^{-3}$)

⁵ Valor calculado con la ec.(4.12) con α_{η}^3 procedente de $|\eta|_A$ y $|\eta|_{\theta}$ ($k_{\theta}=73.10^{-3}$)

⁶ Valor calculado con la ec.(4.16) con α_{η}^3 procedente de $|\eta|_A$ y $|\eta|_{\theta}$ ($k_{\theta}=92.10^{-3}$)

k_{θ} en ml./g

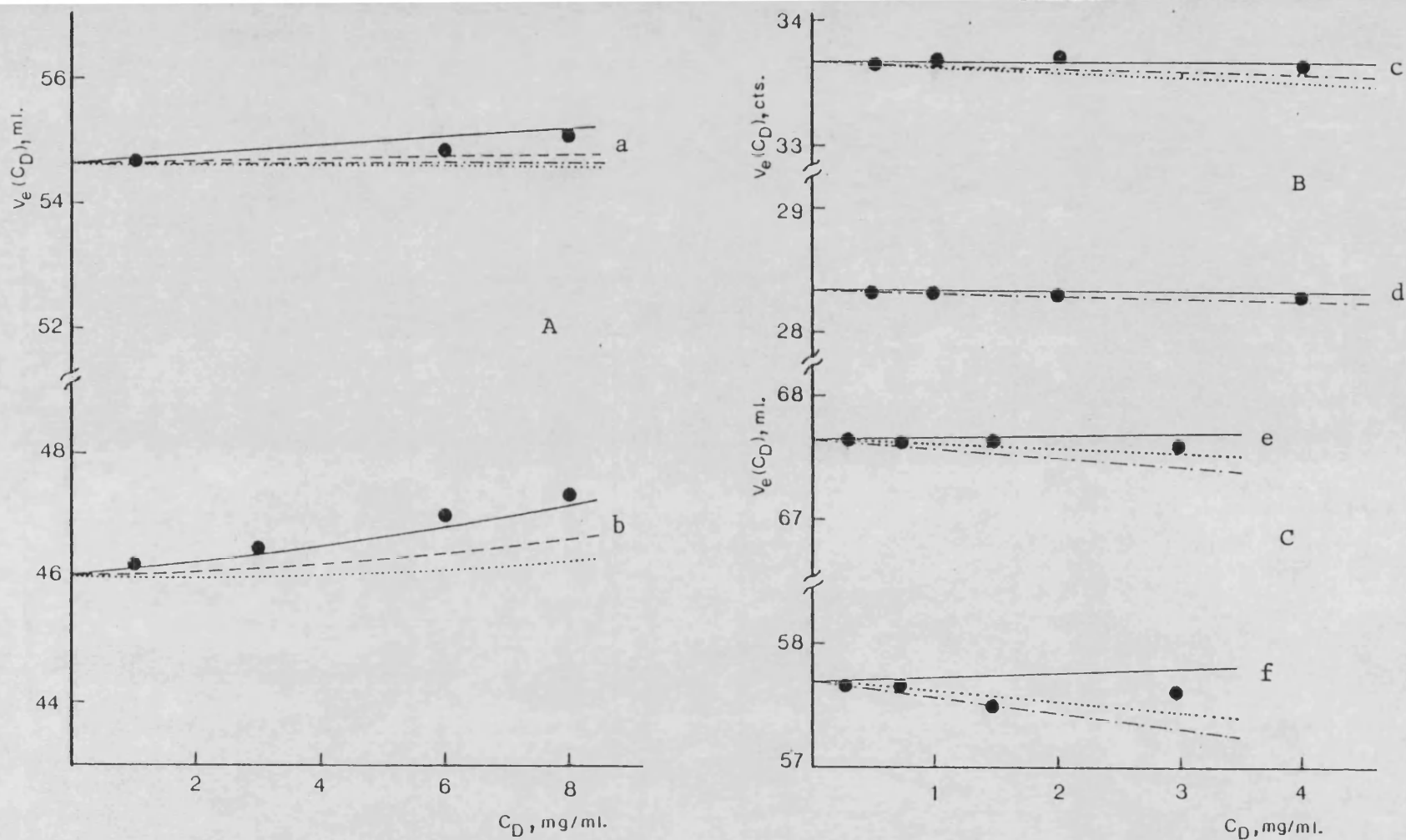


Figura 4.19.- Volúmenes de elución experimentales (●) y calculados mediante la ec. (2.89) para varias mezclas "theta" con distintos valores de k_A (ver tabla 4.12). A) Benceno-metanol(78/22), a) PS-670.000, (—) $k_A=0,41$; (----) $k_A=0,5$; (---·) $k_A=0,52$ y (·····) $k_A=0,53$. b) PS-320.000, (—) $k_A=0,43$; (----) $k_A=0,51$; (---·) $k_A=0,535$ y (·····) $k_A=0,56$. B) Butanona-metanol (88,7/11,3), c) PS-498.000, (—) $k_A=0,505$; (---·) $k_A=0,63$ y (·····) $k_A=0,76$. d) PS-3.350.000, (—) $k_A=0,51$ y (---·) $k_A=0,76$. C) Butanona-heptano (50/50), e) PS-160.000, (—) $k_A=0,44$; (---·) $k_A=0,7$ y (·····) $k_A=0,67$. f) PS-498.000, (—) $k_A=0,44$; (---·) $k_A=0,73$ y (·····) $k_A=0,67$.

como valores calculados con la ecuación de Sakai ($K_\theta = 73 \cdot 10^{-3}$ ml.g⁻¹) y con la ec. (4.16) realizada ex-profeso con medidas en mezclas butanona-heptano con $K_\theta = 73 \cdot 10^{-3}$ ml.g⁻¹. Al igual que en los casos anteriores los valores de k_A se detallan en la tabla 4.12 y los resultados de $V_e(C_D)$ vs. C_D se representan en la figura 4.19c) junto con los valores experimentales ⁷³ para las muestras PS 160.000 y PS 498.000. Como puede verse en dicha figura, en este caso los resultados del volumen de elución procedentes de la ec. (2.89) con valores de k_A calculados con la ecuación de Sakai aumentan con la concentración, mientras que si se utilizan valores de k_A experimentales o procedentes de la ec. (4.16) descienden con la concentración. En ningún caso, sobre todo en el PS 498.000, los resultados calculados se ajustan a los experimentales, que parece que disminuyen suavemente con la concentración. Este comportamiento anómalo puede interpretarse en función de los valores de $|\eta|$ para las muestras de este sistema (tablas 4.10 y 4.12), que parecen algo superiores a lo que cabría esperar. En efecto, el sistema estudiado está por debajo de condiciones "theta", mientras que α_η^3 para estas dos muestras resulta algo superior a 1, con el valor de K_θ tomado. Como consecuencia de este valor de α_η^3 los valores de k_A calculados por cualquiera de los métodos son ligeramente menores de lo que cabría esperar, resultando valores de $V_e(C_D)$ vs. C_D con pendiente ligeramente positiva cuando debería ser nula o ligeramente negativa y ligeramente negativa cuando debería ser más pronunciadamente negativa. En esta situación se vuelve a encontrar, como en los sistemas anteriores, que la ec. (2.89) con valores de k_A procedentes de la ecuación de Sakai reproducen mejor los resultados experimentales que cualquier otra combinación. En definitiva y como conclusión a este estudio del efecto de concentración para sistemas poliméricos ternarios en condiciones "theta" o cercanos a "theta", puede decirse que la ecuación propuesta, ec. (2.89) reproduce bien los resultados experimentales, con valores de k_A procedentes de la ecuación de Sakai siempre que utilicemos para el cálculo

lo de α_{η}^3 los valores de K_{θ} del polímero en la mezcla de disolventes correspondientes que, como es bien conocido, puede diferir bastante del valor de K_{θ} del polímero medido en un disolvente "theta"¹³².

El que las ecuaciones (4.15), (4.16) o (4.17) en cada caso proporcionen valores de k_A que sustituidos en la ec. (2.89) reproduzcan algo peor los resultados experimentales del efecto de concentración, puede ser debido a que sean necesarias más medidas de k_A vs. α_{η}^3 para igualar en exactitud al método de Sakai. En cualquier caso, también se hace necesario disponer de más medidas del efecto de concentración en mezclas "theta" para tener seguridad en las pequeñas variaciones experimentales encontradas y tener así una referencia experimental más sólida.

4.2.3.- Efecto de concentración para sistemas polímero/polímero/disolvente.

Como se ha visto en la parte teórica de esta Memoria, el hecho de calcular teóricamente el efecto de concentración en SEC cuando en el eluyente va disuelto otro polímero^{122,93} o se inyecta el primer polímero junto con otro de concentración fija^{123,141} se basa fundamentalmente en admitir que la viscosidad de un polímero en presencia de sí mismo¹²⁵ sigue las mismas leyes que la viscosidad de un polímero en presencia de un polímero extraño. En otras palabras, el hecho de que ahora en el eluyente exista otro polímero a concentración constante se traduce únicamente en un aumento de la complejidad de las expresiones al aparecer parámetros de interacción viscosimétrica interpolímeros sin abandonar por ello la idea base del modelo ya expuesta.

Si anteriormente se admitía que $M|\eta|_{A,C_D}$ ¹²⁵ representaba el volumen hidrodinámico de la macromolécula cuando su concentración era C_D , no resultará extraño admitir ahora que $M|\eta|_{A,C_D+C_B}$ representa el volumen hidrodinámico de la macromolécula cuando su concentración es C_D , si en el disolvente existe otro polímero disuelto a concentración C_D . De hecho

TABLA 4.13

Sistemas polímero/polímero/disolvente estudiados.

<u>Ejemplo</u>	<u>Soluto / Eluyente*</u>			
1	PS- 620000/PS-620000	(1,5 mg/ml)	+ THF	
2	PS-2280000/	" "	+ "	
3	PS- 620000/PS- 12500	(2,0 mg/ml)	+ "	
4	PS- 412000/	" "	+ "	
5	PS-2280000/PS- 4000	(2,0 mg/ml)	+ "	
6	PS-2280000/	" "	+ "	
7	PS- 620000/	" "	+ "	
8	PS- 412000/	" "	+ "	
<hr/>				
9	PS- 498000/PS- 43000	(10 mg/ml)	+ THF	
10	" "	(7,5 ")	+ "	
11	" "	(5,0 ")	+ "	
12	" "	(0,0 ")	+ "	
13	PS- 160000/	" (10 ")	+ "	
14	" "	" (7,5 ")	+ "	
15	" "	" (5,0 ")	+ "	
16	" "	" (0,0 ")	+ "	
17	PS- 97200/	" (10 ")	+ "	
18	" "	" (7,5 ")	+ "	
19	" "	" (5,0 ")	+ "	
20	" "	" (0,0 ")	+ "	
21	PS- 670000/	" (5,0 ")	+ "	
22	PS- 51000/	" "	+ "	
23	PMMA-34800/	" "	+ "	
24	PMMA-420000/	" "	+ "	
25	PMMA-34800	" "	+ "	



Tabla 4.13 continuación.

<u>Ejemplo</u>	<u>Soluto / Eluyente*</u>
26	PS-1800000+PS- 20400 (4,0 mg/ml) / THF
27	" +PS-200000 (") / "
28	PS- 860000+ " (") / "
29	PS- 200000+PS-860000 (") / "
30	PS-1800000+PMMA-130000(") / "
31	" +PBD-170000(2,0 mg/ml) / "
32	PS- 390000+PBD-170000(0,0 mg/ml) / THF
33	" + " (2,0 ") / "
34	" + " (4,0 ") / "

* Los números entre paréntesis indican la concentración de polímero. El primer polímero es siempre el polímero A, el segundo, obviamente, el polímero B.

la ec. (2.79) que representa la viscosidad ternaria del polímero A en presencia de un polímero B ha sido utilizada con frecuencia ^{86,87}.

De acuerdo con la bibliografía especializada parece que cuando en el eluyente va disuelto un polímero, se producen respecto al calibrado universal polímero-disolvente, desviaciones hacia volúmenes de elución mayores ²⁰ que pueden ser debidas a efectos secundarios ajenos a la exclusión ^{21,23}. Estas desviaciones se han observado cuando el relleno de las columnas era un gel separador activo de "Spherosil". Sin embargo, cuando los geles eran inertes, "μStyragel" se observan desviaciones hacia volúmenes de elución ligeramente inferiores ¹²², lo que indica la importancia de la naturaleza del gel en los mecanismos secundarios, al igual que ocurre cuando el polímero eluye en una mezcla de disolventes ^{20,21,23}. En cualquier caso, la pendiente de calibrado apenas varía (o no varía) respecto a la pendiente del calibrado universal ⁹³.

Cuando se inyectan dos polímeros A y B a la vez, variando la concentración C_D de A y manteniendo constante la concentración, C_B , del polímero B y siendo el eluyente disolvente puro, el producto de la masa molecular de A, M_A , por la viscosidad intrínseca ternaria, $|\eta|_{A,C_B}$ representa el volumen hidrodinámico del polímero A. La representación de este volumen hidrodinámico frente al volumen de elución extrapolado a concentración nula no se aparta prácticamente del calibrado universal, como es fácil comprobar ⁹³.

La presentación del estudio del efecto de concentración de sistemas polímero A/polímero B/disolvente, se ha dividido en dos partes que merecen discusión independiente. En la primera, se exponen y discuten los resultados concernientes a aquellas pruebas experimentales en que el segundo polímero, es decir el B, está disuelto en el eluyente y por tanto su presencia es constante frente al polímero A, mientras que en la segunda, se tratan aquellos resultados en que el polímero B se inyecta junto con el A, siendo el eluyente di

solvente puro y la presencia mutua a lo largo de la columna dependerá de sus respectivos volúmenes hidrodinámicos.

4.2.3.1.- Polímero A disuelto e inyectado en una disolución binaria formada por disolvente puro y polímero B a concentración C_B .

En la tabla 4.14 se muestran los resultados obtenidos para poliestirenos (PS) inyectados a distintas concentraciones cuando en el eluyente va disuelto, a concentración constante, otro PS de menor peso molecular que el inyectado¹²². El que el peso molecular del que va en el eluyente sea inferior asegura la presencia mutua a lo largo de la columna cromatográfica. La tabla 4.14 recoge también los valores de las magnitudes necesarias para aplicar las ecuaciones (2.101) y (2.104).

Como se puede observar en dicha tabla los resultados teóricos obtenidos, indistintamente con las ecuaciones (2.101) (sin k') y (2.104) (con k'), concuerdan bien con los resultados experimentales, como era de esperar debido a las bajas concentraciones utilizadas. Las pequeñas diferencias alternantes que aparecen entre ambas ecuaciones teóricas y los resultados experimentales pueden achacarse a los errores experimentales.

En la figura 4.20 se representan los resultados experimentales del efecto de concentración para distintas muestras de PS y polimetacrilatos de metilo (PMMA), en un eluyente binario, constituido por una disolución de PS ($M = 43.000$) en THF a distintas concentraciones⁹³. En la parte a) de dicha figura se muestra, a distintas C_D , el efecto de concentración para un PS ($M=498.000$) con distintas concentraciones de PS ($M=43.000$) en el eluyente de los cuatro ejemplos. Los resultados teóricos aparecen representados con trazo continuo los obtenidos con la ec. (2.104) y con trazo discontinuo los obtenidos con la ec. (2.101). Es de resaltar como, para esta pareja de polímeros, los resultados teóricos de ambas ecuaciones empiezan a separarse a partir de

TABLA 4.14

Resultados del efecto de concentración para PS inyectados a distintas concentraciones cuando en el eluyente hay otro PS a concentración constante. Las características de los ejemplos se detallan en la tabla 4.13.

EJEMPLO	$ n _A$ ml/g	$ n _B$ ml/g	k_A	k_B	P cts ⁻¹	C_A mg/ml	V_e^{exp} cts	$V_e(C_D)$ ec.(2.101)	$V_e(C_D)$ ec.(2.104)
1	185,0	185,0	0,268	0,268	0,389	3,0	27,31	27,37	27,31
						2,0	27,24	27,27	27,24
						1,2	27,19	27,20	27,18
						0,0	27,08		
2	413,1	185,0	0,262	0,268	0,389	3,0	25,30	25,34	25,17
						2,0	25,00	25,13	25,03
						1,0	24,90	24,91	24,87
						0,0	24,69		
3	185,0	9,475	0,268	0,446	0,290	2,9	26,40	26,42	26,38
						2,0	26,28	26,30	26,28
						1,2	26,20	26,20	26,19
						0,0	26,04		

continua en pág. siguiente...

Tabla 4.14 continuación

						3,1	27,32	27,17	27,13
4	150,2	9,475	0,269	0,446	0,290	2,4	27,20	27,09	27,06
						1,0	27,00	26,95	26,93
						0,0	26,83		
						2,9	25,00	24,83	24,71
5	413,1	9,475	0,262	0,446	0,418	2,0	24,75	24,65	24,59
						1,2	24,50	24,49	24,46
						0,0	24,24		
						3,0	24,14	24,36	24,23
6	413,1	4,224	0,262	0,556	0,414	2,0	24,00	24,16	24,09
						1,2	23,83	23,93	23,91
						0,0	23,74		
						3,0	26,26	26,31	26,27
7	185,0	4,224	0,268	0,556	0,258	2,0	26,10	26,15	26,13
						1,0	26,00	26,02	26,02
						0,0	25,89		
						3,0	26,96	27,13	27,10
8	150,2	4,224	0,269	0,556	0,258	2,1	26,93	27,03	27,02
						1,1	26,87	26,93	26,92
						0,0	26,81		

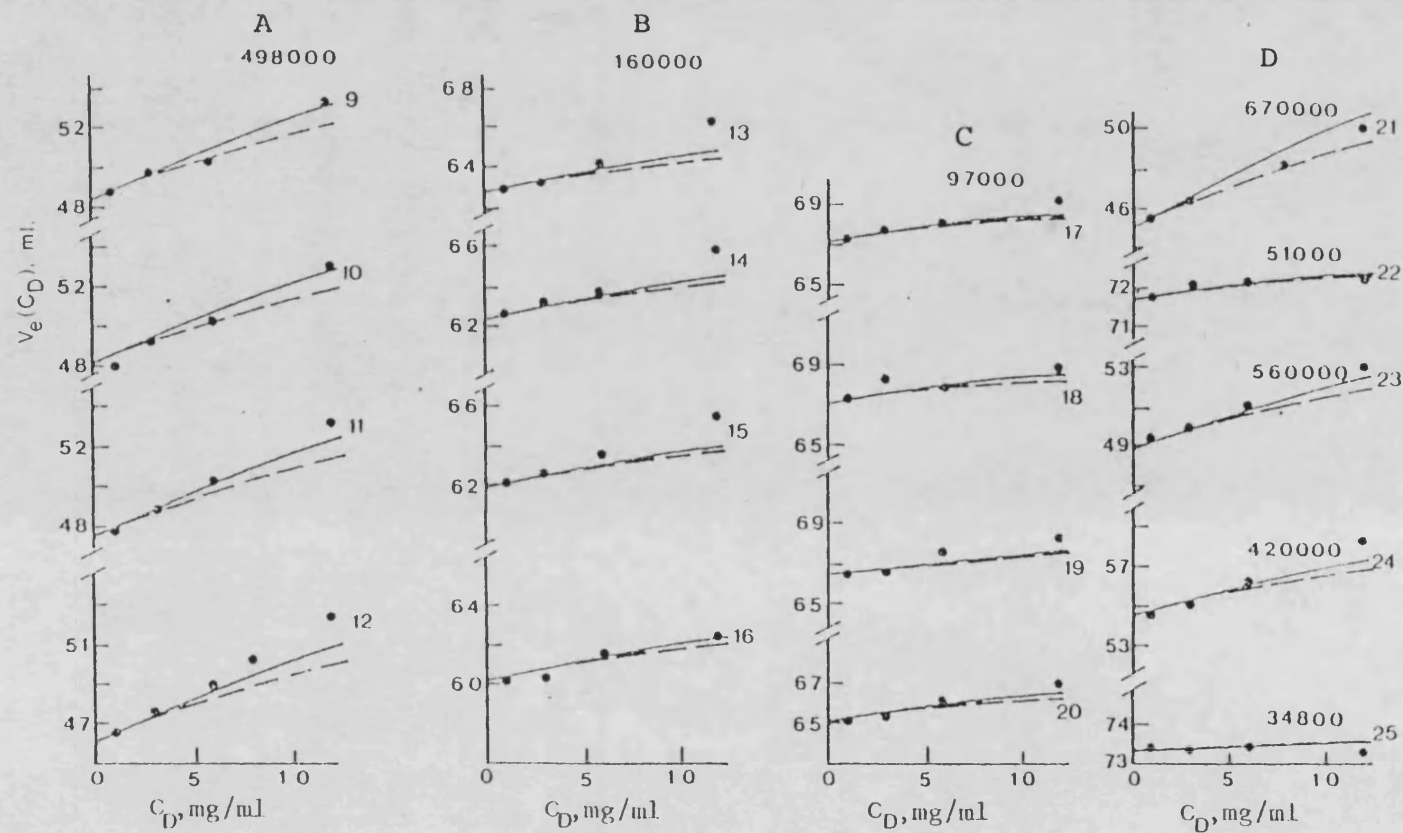


Figura 4.20.- Volúmenes de elución experimentales⁹³ (●) y calculados mediante la ec. (2.104) (—) y (2.101) (---) para distintas muestras de PS y PMMA en un eluyente binario constituido por una disolución de PS-43.000 en THF a distintas concentraciones. Las características de los distintos ejemplos (9 a 25) se detallan en la tabla 4.13.

$C_D \approx 5 \cdot 10^{-3} \text{ g.ml}^{-1}$, independientemente del valor de C_B en el eluyente, que va decreciendo desde $C_B = 10 \cdot 10^{-3} \text{ g.ml}^{-1}$ (experimento 9) hasta $C_B = 0$ (experimento 12). En este último caso es indiferente para la obtención de los resultados teóricos la aplicación de las ecuaciones (2.101) y (2.104), si se tiene en cuenta en ellas que $C_B = 0$, $|\eta|_B = 0$ y $k_B = 0$, o la aplicación de las ecuaciones (2.89) y (2.93).

En general, puede decirse que para toda la serie mostrada en la figura 4.20 A, los resultados obtenidos con la ecuación (2.104) (donde se incluye k') concuerdan bien con los experimentales, excepto a concentraciones C_D altas ($10 \cdot 10^{-3} \text{ g.ml}^{-1}$) en que los resultados teóricos son inferiores a los experimentales. En estos casos (C_D altas y a veces, C_B altas también) fenómenos no previstos por nuestro modelo como "viscous fingering"⁶⁴, "column overloading"⁶⁶, exclusiones secundarias⁷¹, etc. pueden ser los responsables de los excesivamente altos valores de $V_e(C_D)$.

Por lo que respecta a las figuras 4.20B y 4.20C, análogas a la 4.20A excepto en el polímero A inyectado, pueden hacerse los mismos comentarios e interpretaciones. Obsérvese como al pasar en cada serie (A,B,C) del ejemplo superior al inferior, es decir, al disminuir C_B para el mismo polímero A, es como si eludiendo de momento posibles compatibilidades o incompatibilidades entre ambos polímeros, mejorase la calidad termodinámica del disolvente-eluyente, respecto al polímero A.

Tomando como ejemplo lo que ocurre en los sistemas polímero-disolvente, la pendiente de la representación $V_e(C_D)$ vs. C_D debe aumentar conforme el disolvente mejora su calidad termodinámica. En la figura 4.20A,B,C se puede observar como las previsiones teóricas tienen en cuenta esta evolución, de acuerdo con los resultados experimentales. En cualquier caso, las posibles discrepancias teórico-experimentales pueden achacarse a que las previsiones teóricas se basan en expresiones que utilizan parámetros de interacción

TABLA 4.15

Parámetros usados para la evaluación del efecto de concentración con las ecs. (2.101) y (2.104). Las características de los ejemplos se detallan en la tabla 4.13.

EJEMPLO	$ n _A$ ml/g	$ n _B$ ml/g	k_A	k_B	P ml^{-1}	$V_e(0)$ ml.
9	137,2	24,70	0,281	0,348	0,064	48,3
10	"	"	"	"	"	48,0
11	"	"	"	"	"	47,4
12	"	--	"	--	"	46,0
13	61,96	24,70	0,304	0,348	0,064	62,5
14	"	"	"	"	"	62,2
15	"	"	"	"	"	61,7
16	"	--	"	--	"	60,0
17	43,71	24,70	0,318	0,348	0,064	67,1
18	"	"	"	"	"	66,9
19	"	"	"	"	"	66,3
20	"	--	"	--	"	65,0
21	168,8	24,70	0,276	0,348	0,065	45,0
22	27,83	"	0,341	"	"	71,7
23	106,6	"	0,286	"	"	48,9
24	86,38	"	0,292	"	"	54,4
25	15,22	"	0,376	"	"	73,3

26	422,0	13,64	0,258	0,436	0,068	103,8
27	"	78,41	"	0,290	"	103,0
28	240,0	"	0,264	"	"	111,1
29	78,41	240,0	0,290	0,264	0,075	125,5
30	422,0	43,23	0,258	0,331	0,068	103,0
31	"	192,6	"	0,275	"	104,0
32	130,8	--	0,274	--	0,086	136,7
33	"	192,6	"	0,255	"	137,6
34	"	"	"	"	"	139,8

viscosimétricos binarios o ternarios que son medias geométricas de los parámetros de interacción individuales, cuando es sabido que los parámetros de interacción binarios experimentales difieren de los teóricos⁹⁰, porque tienen en cuenta compatibilidades e incompatibilidades específicas entre polímeros que teóricamente las medias no prevén.

En la figura 4.20D se muestran los resultados del efecto de concentración de dos PS de $M = 670.000$ y $M = 51.000$ y de dos PMMA, $M = 560.000$ y $M = 42.000$, cuando en el eluyente va disuelto un PS de $M = 43.000$ a una concentración $C_B = 5 \cdot 10^{-3} \text{g.ml}^{-1}$. Como puede observarse en dicha figura los resultados teóricos de las ecuaciones (2.101) y (2.104) reproducen bien los resultados experimentales, aunque la ec. (2.104) conduce a resultados generalmente mejores. Todos los datos necesarios para aplicar las ecuaciones aparecen en la tabla 4.15.

4.2.3.2.- Polímeros A y B disueltos e inyectados en un disolvente puro que circula como eluyente en la columna cromatográfica.

En este segundo caso, dos polímeros de igual o distinta naturaleza química, pero de distinto peso molecular se inyectan juntos, disueltos en el eluyente que es un disolvente puro (THF en todos los casos estudiados). Generalmente, se hace variar la concentración C_D del polímero A, a lo largo de distintas inyecciones, manteniendo constante la concentración C_B del polímero B. Así pues, los dos polímeros A y B entran en la columna al mismo tiempo, teniendo el polímero A el volumen hidrodinámico correspondiente a su concentración en presencia del polímero B. Si el polímero A mantuviera el volumen hidrodinámico constante a lo largo de la columna, indicaría que viaja continuamente acompañado del polímero B.

Por otro lado, como los polímeros pueden tener gran diferencia en su peso molecular, sus tamaños hidrodinámicos diferirán lo suficiente como para pronosticar su separación,

por lo que es de esperar una interacción mutua transitoria y presumiblemente corta a lo largo de la columna.

Si se comparan los efectos de concentración cuando el polímero A se inyecta solo y cuando se inyecta junto al polímero B se observan diferencias^{72,73}. Estas diferencias son sólo en el volumen de elución extrapolado a dilución infinita, $V_e(0)$, mientras que la pendiente del efecto de concentración ($V_e(C_D)$ vs. C_D) permanece prácticamente constante.

En la tabla 4.15 se muestran los datos necesarios para el cálculo teórico del efecto de concentración mediante las ecs. (2.101) y (2.104) para los ejemplos que aparecen en la figura 4.21 que corresponden a medidas experimentales de Rudin y col.¹²³. En la figura 4.21 se representan dichos ejemplos junto con los resultados teóricos. Como puede observarse en dicha figura los resultados obtenidos con la ec. (2.104) (que tiene en cuenta k'_A y k'_B) se ajustan bien a los experimentales, prácticamente en todos los casos. En la figura 4.21 se han representado los resultados de una muestra de PS de $M = 860.000$ inyectada a distintas C_D junto a una muestra de PS de $M = 200.000$ a concentración constante y viceversa. Junto a ellos se representa también la inyección en solitario de cada una de las muestras. Como puede verse los resultados obtenidos con la ec. (2.104) coinciden prácticamente con los experimentales. La pendiente del efecto de concentración parece no variar tanto en el caso experimental como en el teórico. A la vista de estos resultados puede decirse, como resumen, que la presencia del segundo polímero no parece afectar a los resultados teóricos ni a los experimentales del efecto de concentración, salvo en lo que se refiere a $V_e(0)$.

Una vez alcanzado este punto de la discusión se puede tener en cuenta otro factor. En los sistemas estudiados hasta ahora tanto el polímero A como el polímero B son PS, sin incompatibilidad marcada que pueda provocar alguna diferencia entre inyectar el polímero A solo o acompañado por el B.

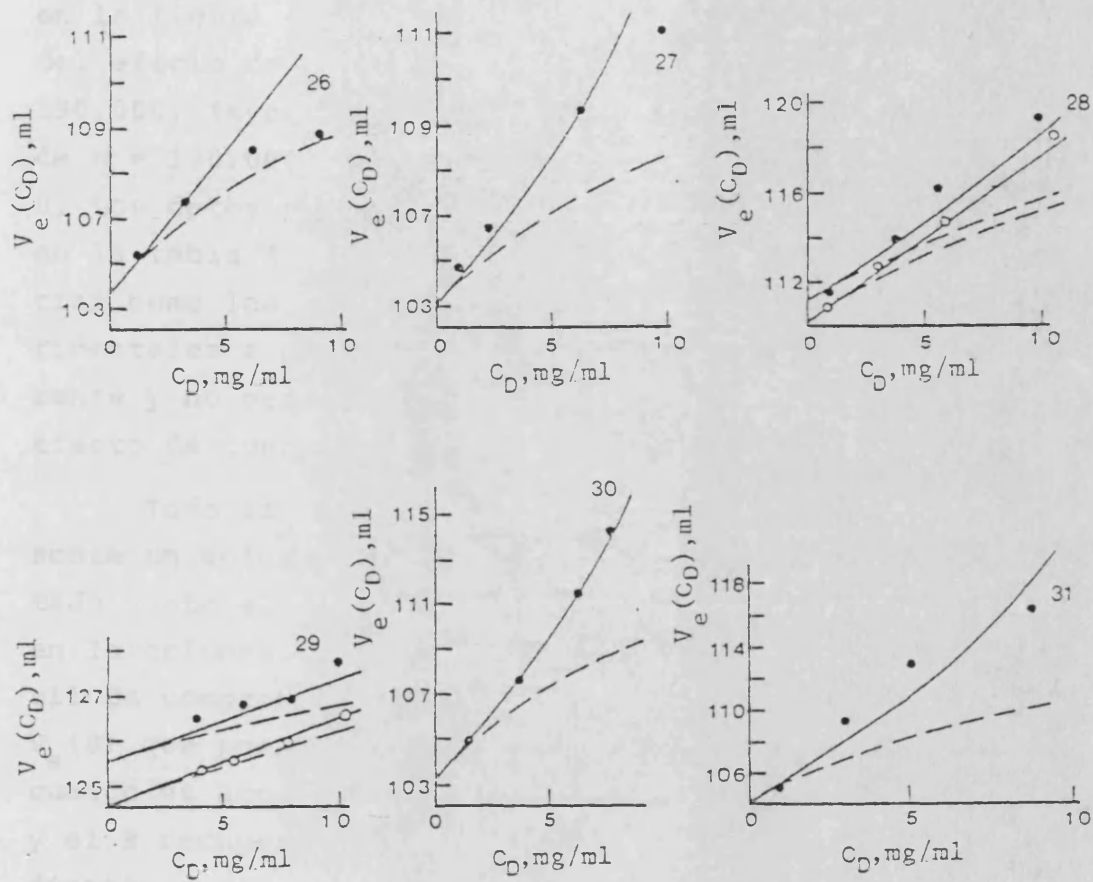


Figura 4.21.- Comparación entre volúmenes de elución experimentales¹²³ (●,○) y calculados con las ecs. (2.104) (—) y (2.101) (---) a diversas concentraciones de PS en THF. Muestras inyectadas: Ej. 26) PS-1.800.000 + 4 mg/ml. de PS-20.400; Ej. 27) PS-1.800.000 + 4 mg/ml. de PS-200.000; Ej. 28) PS-860.000 + 4 mg/ml. de PS-200.000 (●); PS-860.000 en THF puro (○); Ej. 29) PS-200.000 + 4 mg/ml. de PS-860.000 (●); PS-200.000 en THF puro (○); Ej. 30) PS-1.800.000 + 4 mg/ml. de PMMA-130.000; Ej. 31) PS-1.800.000 + 2 mg/ml. de polibutadieno (PBD).

Con el fin de dilucidar la posible influencia de este factor en la figura 4.22 se muestran los resultados experimentales del efecto de concentración para un polímero A, PS de $M = 390.000$, inyectado junto a un polímero B, polibutadieno, PBD de $M = 170.000$ a $C_B = 4.10^{-3} \text{ g.ml}^{-1}$, $C_B = 2.10^{-3} \text{ g.ml}^{-1}$ y $C_B = 0$. Los datos necesarios para aplicar las ecuaciones se dan en la tabla 4.15. De nuevo, en la figura 4.22, se puede apreciar como los resultados teóricos se ajustan bien a los experimentales a pesar de ser A y B de naturaleza química diferente y no parece que la presencia del polímero B afecte al efecto de concentración del polímero A.

Todo lo anterior parece indicar que el polímero A presenta un volumen hidrodinámico, en el momento de ser inyectado junto al B, que no abandona a lo largo de su recorrido en la columna. Esta suposición es de dudosa lógica y difícil de comprobar, pero a favor de ella están los diferentes $V_e(0)$ que presenta el polímero A cuando se inyecta solo o cuando va acompañado por otro polímero B. Si el polímero A y el B recuperaran los volúmenes hidrodinámicos correspondientes a su concentración al separarse en la columna, su inyección conjunta equivaldría a su inyección por separado y no se observarían esas diferencias en el $V_e(0)$. La variación de $V_e(0)$ también se produce cuando el polímero B va disuelto en el eluyente.

En la figura 4.22 se representan los ejemplos correspondientes a resultados experimentales⁷² de dos polímeros A y B, de igual o distinta naturaleza química, inyectados a la vez, junto con los resultados obtenidos con la ec. (2.104), datos necesarios en la tabla 4.15. En todos los casos los resultados teóricos se ajustan bien a los experimentales.

No se ha querido terminar esta discusión sin tener en cuenta un último factor que parece importante a la hora de interpretar tan complejos resultados experimentales en SEC. A menudo, en los trabajos experimentales^{72,73,140}, se alter-

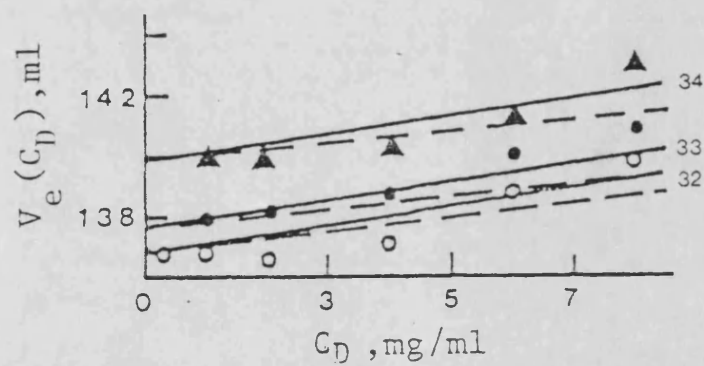


Figura 4.22.- Volúmenes de elución experimentales¹⁴⁰ (▲,●,○) y calculados mediante las ecs. (2.104) (—) y (2.101) (---) para diversas concentraciones de PS en THF. Muestras inyectadas: (▲) PS-390.000 + 4 mg/ml de PBD-170.000; (●) PS-390.000 + 2 mg/ml. de PBD-170.000; (○) PS-390.000 en THF puro.

na la inyección de dos polímeros juntos y uno solo a gran des concentraciones, pudiendo perder la columna poder de se paración transitoriamente (disminución del número de platos) lo que daría lugar a resultados anómalos de difícil interpretación. Como ejemplo, se representa en la figura 4.23 el efecto de concentración para un PS de $M = 1.800.000$ en THF puro procedente de Rudin y col.⁷². Este polímero fue inyectado varias veces a un largo período de tiempo obteniéndose resultados dispares, sobre todo si se quiere comparar con resultados análogos de este mismo polímero acompañado por otro. A pesar de todo, puede observarse en la figura como, hasta una concentración de $6.10^{-3} \text{g.ml}^{-1}$, la ecuación (2.104) predice los resultados experimentales bien mientras que a concentraciones superiores (que son más fácilmente alcanzables cuando hay otro polímero en el eluyente) se produce una mayor dispersión de resultados, presumiblemente debido a efectos ajenos a la exclusión.

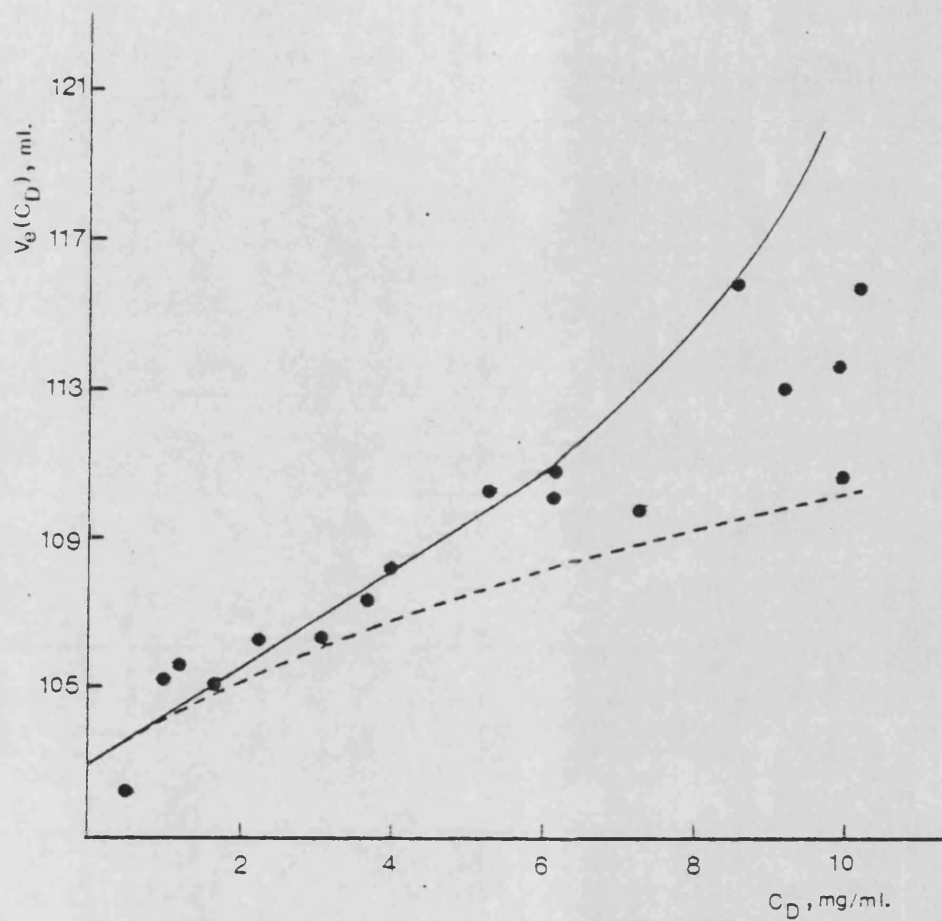


Figura 4.23.- Volúmenes de elución experimentales⁷² (●) y calculados mediante las ecs. (2.104) (—) y (2.101) (---) para PS-1.800.000 en THF puro. Los puntos experimentales proceden de distintas inyecciones de la muestra separadas entre sí por un largo período de tiempo.

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES

5.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

El objetivo de la presente Memoria era el estudio en profundidad de dos importantes variables operacionales en SEC como son la temperatura y la concentración de muestra inyectada. Mediante la influencia de la temperatura en los volúmenes de elución se ha tratado de evaluar la participación de efectos secundarios en el mecanismo global de separación. Por lo que respecta al efecto de concentración se propone un nuevo modelo semiempírico que reproduce los volúmenes de elución de una muestra en función de la concentración de la disolución inyectada.

Las siguientes conclusiones-resumen expresan los logros alcanzados:

1) Se han medido los volúmenes de elución de un juego de muestras de poliestireno en benceno, butanona y mezclas volumen-volumen de benceno-metanol y butanona-heptano a 20, 35 y 50°C. Con estos datos se obtuvieron los correspondientes calibrados $\log M|\eta|$ vs. V_e , observándose que mientras los correspondientes a los sistemas PS/BEN y PS/MEC quedaban muy cercanos, los correspondientes a mezclas de disolventes, es decir, PS/BEN-MET y PS/MEC-HEP se desviaban hacia menores volúmenes de elución en el primer caso y hacia mayores en el segundo.

2) Comparando los calibrados obtenidos se concluye que en el caso de los sistemas PS/BEN y PS/MEC el único mecanismo que parece existir en el proceso de separación es la exclusión estérica, a pesar de cierto comportamiento errático en el segundo sistema. Para PS/BEN-MET existe un fenómeno de incompatibilidad con la fase cuasiestacionaria que se superpone al mecanismo fundamental de exclusión estérica, mientras que en el sistema PS/MEC-HEP aparecen fenómenos de partición/adsor

ción con la fase cuasiestacionaria.

3) Se ha determinado ΔH° para los efectos secundarios resultando un valor de $\Delta H^\circ \approx 800$ cal./mol para el sistema PS/BEN-MET y de $\Delta H^\circ \approx -270$ cal./mol para el sistema PS/MEC-HEP. Valores ambos que confirman la naturaleza de los efectos secundarios expuesta en la conclusión anterior.

4) Un aumento de la temperatura provoca una disminución en tales efectos secundarios, acercando ambos calibrados (PS/BEN-MET y PS/MEC-HEP) al calibrado PS/BEN que se toma como referencia.

5) En los cálculos del modelo de Dawkins y Hemming con el que se han alcanzado las anteriores conclusiones, se supone que el volumen interno del gel no varía. Sin embargo, cuidadosas medidas de este volumen parecen indicar que sí varía. Si en los cálculos se tiene en cuenta esta variación parecen eliminarse los efectos secundarios, dando como resultado un mecanismo de exclusión estérica para todos los sistemas. Aplicando SEC inversa se obtienen características del relleno distintas en cada caso, lo que indica que el hecho de variar los sistemas eluyentes hace variar las características del juego de columnas. Para el caso del sistema PS/BEN las características obtenidas coinciden con las suministradas por el fabricante.

6) Por lo que respecta a la concentración, basándonos en las expresiones de la viscosidad intrínseca de un polímero en presencia de otro se ha propuesto, en una primera etapa una expresión que permite calcular la compresión de una macromolécula en presencia de otra. Dicha expresión es función de k_A que tiene en cuenta interacciones hidrodinámicas y de otros tipos. Esta expresión aplicada al efecto de concentración en SEC permite calcular los volúmenes de elución de una muestra en función de la concentración de la muestra inyectada. Los volúmenes de elución calculados coinciden

prácticamente con los experimentales hasta un cierto rango de concentración (5-8 mg./ml.).

7) Para ampliar el rango de aplicación de la expresión se hacen intervenir más términos en el desarrollo de la viscosidad específica reducida en función de la concentración, resultando una nueva expresión en la que además de la constante de Huggins, k_A , influye el coeficiente del término cuadrático de la concentración en el anterior desarrollo, k'_A . La expresión resultante reproduce mejor los volúmenes de elución de las muestras, sobre todo a concentraciones altas.

8) Ante la incertidumbre existente en los valores de k_A para los sistemas estudiados se propone utilizar la expresión de Imai que proporciona valores de k_A de una forma objetiva y generalizada. Para el cálculo de k'_A y debido a la escasa información bibliográfica respecto a sus valores se propone una expresión para su cálculo en función de k_A .

9) En una siguiente etapa del desarrollo de las anteriores expresiones se amplían a sistemas polímero/polímero/disolvente haciendo intervenir las constantes de Huggins y los coeficientes de los términos cuadráticos del desarrollo de la viscosidad específica reducida de ambos polímeros (k_A , k_B , k'_A y k'_B), alcanzándose, finalmente, una expresión general que calcula el efecto de concentración para todos los sistemas, ya que aplicando las simplificaciones necesarias esta expresión reproduce todas las anteriores.

10) Los volúmenes de elución calculados con esta expresión general coinciden prácticamente con los experimentales en la mayoría de los sistemas estudiados, a pesar de las oscilaciones inherentes en tales determinaciones experimentales.

6. BIBLIOGRAFIA

6.- BIBLIOGRAFIA

- 1 J. Janca, en "Steric Exclusion Chromatography". Chromatographic Science Series, Vol. 25, Marcel Dekker Inc., New York, 1984.
- 2 G.L. Hagnauer, *Anal. Chem.*, 54, 265R (1982).
- 3 L.R. Snyder y J.J. Kirkland, en "Introduction to liquid chromatography", John Wiley & Sons, New York, 1974.
- 4 J.C. Moore, *J. Polym. Sci.*, A2, 835 (1964).
- 5 J. Aurenge, Z. Gallot, A.J. de Vries y H. Benoit, *J. Polym. Sci.*, Symp n°53, 1 (1975).
- 6 J. Cazes y D.R. Gaskill, *Sep. Sci.*, 4, 15 (1969).
- 7 Z. Grubisic, P. Rempp y H. Benoit, *J. Polym. Sci.*, B5,573 (1967).
- 8 M. Ambler y D. McIntyre, *J. Polym. Sci.*, B13, 589 (1975).
- 9 E. Casassa, *J. Phys. Chem.*, 75, 3929 (1971).
- 10 E. Casassa, *J. Polym. Sci.*, B5, 773 (1967).
- 11 E. Casassa e I. Tagami, *Macromolecules*, 2, 14 (1969).
- 12 E. Casassa, *Macromolecules*, 9,182 (1976).
- 13 K. Altgelt, *Sep. Sci.*, 5, 777 (1970).
- 14 J.V. Dawkins y M. Hemming, *Makromol. Chem.*,176, 1777 (1975).
- 15 J.V. Dawkins y M. Hemming, *Makromol. Chem.*,176, 1795 (1975).
- 16 J.V. Dawkins y M. Hemming, *Makromol. Chem.*,176, 1815 (1975).
- 17 J.V. Dawkins, *J. Chromatog.*, 135, 470 (1977).
- 18 P. Dubin, *Ind. Res.*, 56 (1976).
- 19 W. Asche y H. Oelert, *J. Chromatog.*, 106, 490 (1975).

- 20 D. Berek, D. Bakos, T. Bleha y L. Soltes, *Makromol. Chem.*, 176, 391 (1975).
- 21 D. Berek, D. Bakos, L. Soltes y T. Bleha, *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.*, 12, 277 (1974).
- 22 G. Longman, G. Wignall, M. Hemming y J.V. Dawkins, *Colloid. Polym. Sci.*, 252, 298 (1974).
- 23 Y. Eltekov y A. Nazansky, *J. Chromatog.*, 99 (1976).
- 24 A. Campos y J.E. Figueruelo, *Makromol. Chem.*, 178, 3249 (1977).
- 25 A. Campos, V. Soria y J.E. Figueruelo, *Makromol. Chem.*, 180, 1961 (1979).
- 26 J.E. Figueruelo, V. Soria y A. Campos, *J. Liq. Chromatog.*, 3(3), 367 (1980).
- 27 J.E. Figueruelo, V. Soria y A. Campos, *Makromol. Chem.*, 182, 1525 (1981).
- 28 K.H. Altgelt, *Adv. Chromatog.*, 7, 3 (1978).
- 29 D.D. Bly, "Physical Methods in Macromolecular Chemistry", Vol.2, Marcel Dekker, New York 1972.
- 30 M.E. Van Kreveld y N. Van Der Hoed, *J. Chromatogr.*, 83, 111 (1973).
- 31 P. Flodin, Tesis Doctoral, Universidad de Uppsala, Suecia, 1962.
- 32 P.J. Flory, "Principles of Polymer Chemistry", Cornell Univ. Press. 1953.
- 33 D.M.W. Anderson y J.F. Stoddart, *Anal. Chim. Acta*, 34, 401 (1966).
- 34 E.F. Casassa, *Polym. Lett.*, 5, 773 (1967).

- 35 J.C Giddings, *Anal. Chem.*, 40, 2143 (1968).
- 36 M.E. Van Kreveld y N. Van Der Hoed, *J. Chromatog.*, 125, 219 (1976).
- 37 J.C. Giddins, E.Kucera, C.P. Russell y M.N. Myers, *J. Phys. Chem.*, 72, 4397 (1968).
- 38 J.C. Giddins, "Dynamics of Chromatography. Parte 1, Principles and Theory", Marcel Dekker, New York 1965.
- 39 E.P. Otocka y M.Y. Hellman, *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.*, 12, 331 (1974).
- 40 P.L. Dubin y K.L. Wright, *Polym. Prepr., Amer. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.*, 15, 673 (1974).
- 41 J.V. Dawkins, *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.*, 14, 569 (1976).
- 42 H.A. Swenson, M.H. Kaustinen y K.E. Almin, *J. Polym. Sci., Parte B*, 9, 261 (1971).
- 43 D. Berek y D. Bakos, *J. Chromatog.*, 91, 237 (1974).
- 44 D. Bakos, T. Bleha, A. Ozima y D. Berek, *J. Appl. Polym. Sci.*, 23, 2244 (1979).
- 45 P.L. Dubin, S. Koontz, K.L. Wright, III, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, 15, 2047 (1977).
- 46 W. Heitz y W. Kern, *Angew. Makromol. Chemie*, 1, 150 (1967).
W. Heitz, *Ber. Bunsenges, Physik-Chem.*, 77, 210 (1973).
- 47 J.J.Kirkland, "Modern Practice of Liquid Chromatography", Wiley-Interscience, New York 1971.
- 48 Yu.A. Eltekov y A.S. Nazansky, *J. Chromatogr.*, 116, 99 (1976).
- 49 D.H. Everett, "Structure and Properties of porous Materials" Ed. D.H. Everett y I.S. Stone. Proceeding Tenth Symposium of the Colston Research Society, Butterworths, Londres 1958, pag.95.



- 50 N.V.B. Marsden, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 125, 428 (1965).
- 51 J.L. Waters, *J. Amer. Chem. Soc., Div. Polym. Sci. Chem. Prep.*, 6, 1061 (1965).
- 52 M.J.R. Cantow, R.S. Porter y J.F. Johnson, *J. Polym. Sci., Parte B*, 4, 707 (1966).
- 53 A. Lambert, *Polymer*, 10, 231 (1969).
- 54 K. Helsing, *J. Chromatog.*, 36, 170 (1968).
- 55 R. Giddins y Pahlgren, *Separ. Sci.*, 5, 717 (1970).
- 56 J. Brewer y Soclerberg, "Chromatography of Synthetic and Biological Polymers", Vol.I, R. Epton Ed., Ellis Horwood Chichester, 1978, p.285.
- 57 T. Bleha, D. Bakos y D. Berek, *Polymer*, 18, 897 (1977).
- 58 W.L. Eldson, J.M. Goldwasser y A. Rudin, *J. Polym. Sci., Polym. Let. Ed.*, 19, 483 (1981).
- 59 Y. Kato y T. Hasimoto, *J. Appl. Polym. Sci.*, 18, 1239 (1974).
- 60 K.A. Boni, F.A. Sliemers y P.B. Stickney, *J. Polym. Sci., Parte A*, 6, 1567 (1968).
- 61 A. Rudin, *J. Polym. Sci., A-1*, 9, 2587 (1971).
- 62 A. Rudin y R.A. Wagner, *J. Appl. Polym. Sci.*, 20, 1483 (1976).
- 63 E.G. Bartick y J.F. Johnson, *Polymer*, 17, 455 (1976).
- 64 K.P. Goetze, R.S. Porter y J.F. Johnson, *J. Polym. Sci., A-2*, 9, 2251 (1971).
- 65 J. Janca, *J. Chromatog.*, 134, 263 (1977).
- 66 C.V. Linden y R.V. Leemput, *Macromolecules*, 11, 1237 (1978).

- ⁶⁷ Y. Kato y T. Hashimoto, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, 12, 813 (1974).
- ⁶⁸ S. Mori, *J. Appl. Polym. Sci.*, 20, 2157 (1976).
- ⁶⁹ J. Lesec, *Chromatog. Sci. Serv.*, 13, 10 (1980).
- ⁷⁰ J. Janca y J. Pokorny, *J. Chromatog.*, 148, 31 (1978).
- ⁷¹ J. Janca, *J. Chromatog.*, 170, 309 (1979).
- ⁷² A. Rudin y M.K. Mahabadi, *Polym. J.*, 11, 123 (1979).
- ⁷³ T. Bleha, J. Mlýnek y D. Berek, *Polymer*, 21, 798 (1980).
- ⁷⁴ R. Simha y J.L. Zakin, *J. Chem. Phys.*, 33, 1791 (1960).
- ⁷⁵ E.Yu. Eizner, *Vysokomol. Soed.*, 3, 748 (1961).
- ⁷⁶ M. Fixman y J.M. Peterson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 86, 3524 (1964).
- ⁷⁷ H.J. Yamakawa, *J. Chem. Phys.*, 43, 1334 (1965).
- ⁷⁸ A. Rudin y H.L.W. Hoegy, *J. Polym. Sci.*, A-1, 10, 217 (1972)
- ⁷⁹ J. Janca, *Anal. Chem.*, 51, 637 (1979).
- ⁸⁰ S. Mori, *J. Appl. Polym. Sci.*, 21, 1921 (1977).
- ⁸¹ J. Janca y S. Pokorny, *J. Chromatog.*, 156, 27 (1978).
- ⁸² H. Yamakawa, *J. Chem. Phys.*, 34, 1360 (1961).
- ⁸³ H. Yamakawa, en "Modern Theory of Polymer Solutions". Harper and Row. New York 1971.
- ⁸⁴ O.B. Ptitsyn y Yu.E. Eizner, *Soviet Phys-Tech. Phys. (Engl. Transl.)*, 4, 1020 (1960).
- ⁸⁵ H. Morawetz, en "Macromolecules in Solution", Wiley, New York 1961.

- 86 A. Dondos y H. Benoit, *Makromol. Chem.*, 176, 3441 (1975)
- 87 D. Straszewska, J. Kovar y M. Bohdanecky, *Colloid. Polym. Sci.*, 258, 600 (1980).
- 88 W.R. Krigbaum y F.W. Wall, *J. Polym. Sci.*, 5, 505 (1950).
- 89 L.H. Cragg y C.C. Bigelow., *J. Polym. Sci.*, 16, 177 (1955)
- 90 B. Bohmer, D. Berek y S. Florian, *Europ. Polym. J.*, 6, 471 (1970).
- 91 D. Straszewska y M. Bohdanecky, *Europ. Polym. J.*, 17, 245 (1981).
- 92 M. Bohdanecky y J. Kovar, en "Viscosity of Polymer Solutions", Ed. A.D. Jenkins, Elsevier, Amsterdam, 1982, p. 168.
- 93 D. Bakos, D. Berek y T. Bleha, *Europ. Polym. J.*, 12, 801 (1976).
- 94 S .T. Sie y N. Van Der Hoed, *J. Chromatogr. Sci.*, 7, 257 (1969).
- 95 J.N. Done, J.H. Knox y J. Loheac, en "Applications of High Speed Liquid Chromatography". John Wiley, Londres. 1974.
- 96 T.J.N. Webler y E.H. McKerrel, *J. Chromatog.*, 122, 243 (1976).
- 97 P.A. Bristow, P.N. Brittain, C.M. Riley y B.F. Williamson, *J. Chromatog.*, 131, 57 (1977).
- 98 R.E. Majors, *Anal. Chem.*, 44, 1722 (1972).
- 99 W. Strubert, *Chromatographia*, 6, 50 (1973).
- 100 J. Asshauer e I. Halasz, *J. Chromatogr. Sci.*, 12, 139 (1974).
- 101 R.M. Cassidy, D.S. Le Gay y R.W. Frei, *Anal. Chem.*, 46, 340 (1974).

- 102 J.J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, 10, 593 (1972).
- 103 J.J. Kirkland, en "Gas Chromatography 1972 Montreux", Ed. S.G. Perry, Applied Science Publishers, Barking 1973, p.39.
- 104 M. Caude, Le X. Phan, B. Terlain y J.P. Thomas, *J. Chromatogr. Sci.*, 13, 390 (1975).
- 105 J.H. Knox y A. Pride, *J. Chromatogr.*, 112, 171 (1975).
- 106 B. Coq, C. Gonnet y J.L. Roca, *J. Chromatogr.*, 106, 249 (1975).
- 107 C. Gonnet y J.L. Roca, *J. Chromatogr.*, 109, 297 (1975).
- 108 R.E. Majors, *J. Chromatogr. Sci.*, 18, 488 (1980).
- 109 B. Calabuig, *Tesis de Licenciatura.*, Universidad de Valencia. Valencia. 1984.
- 110 M.J.R. Cantow, R.S. Porter y J.F. Johnson, *J. Polym. Sci.*, A-5, 987 (1967).
- 111 S. Mori y T. Suzuki, *Anal. Chem.*, 52, 1625 (1980).
- 112 H. Vink, *J. Chromatogr.*, 15, 488 (1964).
- 113 H. Brown, G. Kloow, K. Chitumbo y T. Amu, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 72, 485 (1976).
- 114 K. Raju y F. Blanks, *J. Polym. Sci.*, B-17, 583 (1979).
- 115 D.H. Freeman e I.C. Poinescu, *Anal. Chem.*, 49, 1183 (1977).
- 116 I. Halasz y K. Martin, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 17, 901 (1978).
- 117 W. Werner e I. Halasz, *J. Chromatogr. Sci.*, 18, 277 (1980).
- 118 S.B. Schram y D.H. Freeman, *J. Liq. Chromatogr.*, 3, 403 (1980).

- 119 N. Sutterlin, en "Polymer Handbook", Eds. J. Brandrup y H. Immergut, 2 ed., John Wiley, New York, 1975. Cap IV, p. 135.
- 120 K.K. Chee, *J. Appl. Polym. Sci.*, 27, 1675 (1982).
- 121 C. Berger y G.B. Schultz, *Makromol. Chem.* 136, 221 (197).
- 122 J.E. Figueruelo, V. Soria y A. Campos, *Makromol. Chem.*, 180, 1069 (1971).
- 123 C.M. Kok y A. Rudin, *Makromol. Chem.*, 182, 2801 (1981).
- 124 Y. Kato y T. Hashimoto, *Kobunsi Kagaku.*, 30, 107 (1973).
- 125 J.E. Figueruelo, A. Campos, V. Soria y R. Tejero, *J. Liq. Chromatogr.*, 7(6), 1061 (1984).
- 126 J.M. Peterson y M. Fixman, *J. Chem. Phys.*, 39, 2516 (1963).
- 127 T. Sakai, *J. Polym. Sci.*, 6, 1535 (1968). *Macromolecules*, 3, 96 (1970).
- 128 Y. Einaga, Y. Miyaki y H. Fujita, *J. Polym. Sci.*, B-17, 2103 (1979).
- 129 T. Sakai, *Makromol. Chem.*, 114, 284 (1968).
- 130 S. Imai, *Proc. Roy. Soc. London, Ser. A*, 308, 497 (1969).
- 131 M. Bohdanecky, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 35, 1972 (1970).
- 132 A. Dondos y H. Benoit, *Macromolecules*, 6, 242 (1973).
- 133 A. Dondos y H. Benoit, *Macromolecules*, 4, 279 (1971).
- 134 *Polymer Handbook*, Eds. J. Brandrup y H. Immergut, John Wiley, New York, 1967. Cap. IV, p. 11-13.
- 135 L.H. Frisch y R. Simha, en "Rheology", Ed. F.R. Eirich,

Academic Press, New York, 1956, Vol. 1, p. 525.

- 136 S.H. Maron y R.B. Reznik, *J. Polym. Sci.*, A-2, 7, 309 (1969).
- 137 T. Sakai, *J. Polym. Sci.*, A-2, 6, 1659 (1968).
- 138 S. Norrby, *Tesis Doctoral*, Universidad de Uppsala. Uppsala 1975.
- 139 F. Baker, *J. Chem. Soc.*, 103, 1653 (1913).
- 140 R. Narasimhan, M. Huang y C.M. Burns, *J. Appl. Sci.*, 26, 1295 (1981).

Reunido el Tribunal que suscribe, en el día de la fecha, acordó otorgar, por unanimidad, a esta Tesis doctoral de

D. Roberto Tejero Toquero
la calificación de Apdo "Cum laude"

Valencia, a 11 de Octubre de 1985

El Secretario,



[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]