

### **2.3. RP-HPLC COM A TÈCNICA SEPARATIVA PER A SEGUIR DERIVATS DE L'ESQUALÈ DURANT LA VULCANITZACIÓ**

En els apartats anteriors s'han presentat i descrit tècniques de caracterització que en aquest treball s'han usat com a tècniques d'anàlisi superficial del negre de carboni. Després s'ha presentat la tècnica de ToF-SIMS com a eina útil per al seguiment de la vulcanització a la superfície del negre de carboni. En aquest capítol es proposa una nova metodologia d'HPLC per al seguiment de la vulcanització, en aquest cas a la matriu polimèrica i no a la superfície de la càrrega.

En el procés de vulcanització utilitzant accelerants s'observa la descomposició de l'accelerant i la evolució de l'estructura de l'accelerant generant els agents sulfurants actius, responsables de l'aportació del sofre a la cadena. Totes aquestes molècules, de pes molecular relativament baix, poden ser analitzades per HPLC després de ser extretes de la mescla. D'altra banda les molècules de polímer també sofreixen transformacions de la cadena durant el procés d'unió. Per analitzar aquest tipus de productes s'ha utilitzat la cromatografia d'exclusió molecular HPSEC.

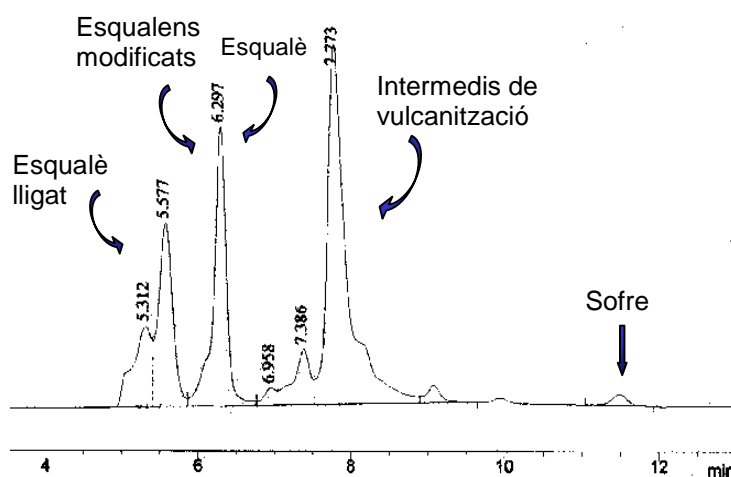
Tanmateix, les mostres de goma vulcanitzada esdevenen una xarxa reticulada de polímer de difícil o impossible manipulació. Per aquest motiu l'estudi de les reaccions que tenen lloc a la cadena no és un objectiu fàcil d'assolir <sup>1-6</sup>. Com s'ha comentat en capítols anteriors, per facilitar aquest estudi s'utilitzen molècules, o en aquest cas cadenes d'oligòmer, d'estructura química similar al polímer que estudiem. El que s'anomena Model Compound Vulcanization (MCV) <sup>7-11</sup>. Un d'aquests oligòmers és l'esqualè i s'utilitza com a model del polisoprè. En aquest cas és possible eluir mitjançant HPSEC les molècules d'esqualè i els derivats que es generen durant la vulcanització <sup>12</sup>.

Tot i la elevada resolució de les columnes d'HPSEC per a pesos moleculars baixos, la seva resolució no és suficientment elevada per a diferenciar pesos moleculars tant propers. Per aquest motiu i per a un anàlisi més exhaustiu dels derivats de l'esqualè es vol preparar una nova metodologia que aportí informació complementària a aquesta etapa del procés. La tècnica separativa escollida ha estat l'HPLC ja que té una capacitat de separació indiscutible en fase líquida.

Estudis recents presenten un mètode per analitzar triglicèrids utilitzant HPLC on es solventen els problemes de baixa polaritat d'aquests compostos al ser analitzats per RP-HPLC <sup>13</sup>. Ja que la baixa polaritat de l'esqualè i els seus derivats és una de les limitacions bàsiques a l'hora de treballar amb RP-HPLC, es pren la fase mòbil del treball anteriorment citat com a base de partida del present mètode.

### 2.3.1. SEPARACIÓ DE L'ESQUALÈ DELS SEUS DERIVATS

Com s'ha comentat, per estudiar la part reticulada i altres modificacions de l'esqualè s'utilitza la cromatografia d'exclusió molecular (HPSEC o GPC) <sup>14</sup>. A la figura següent 2.3.1.a s'observa un cromatograma de GPC amb detecció d'UV a 273 nm. És possible observar diferents tipus d'esqualè lligat (inclou dimers i oligòmers d'esqualè) entre 5 i 5.6 minuts; i un mínim de dos tipus d'esqualens modificats (inclou esqualè amb modificacions de cadena) entre 6.1 i 6.3 minuts que es troben superposats a l'esqualè sense reticular. Aquest pic d'esqualè no s'observa a 273 nm, però sí a 210 nm al realitzar mesures en paral·lel. A temps superiors es troben els intermedis de reacció, doncs tenen un volum molecular menor, el seu temps d'elució dependrà del sistema de vulcanització (accelerant) utilitzat. Finalment s'elueix el sofre a 11.5 minuts.



**Figura 2.3.1.a** Cromatograma de GPC

Com que l'HPLC en fase reversa té major resolució que la cromatografia de GPC, es vol separar la fracció reticulada i la modificada de l'esqualè, mitjançant una separació per HPLC utilitzant una columna de fase reversa.

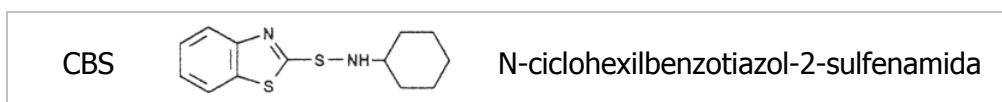
L'esqualè, les molècules d'esqualè unides per ponts de sofre i els seus derivats són estructures molt apolars i la seva solubilització no és possible amb les mescles d'elució per a la separació del sistema d'acceleració i el sofre, dissolent només parcialment aquestes estructures. Els triglicèrids són també apolars i existeix una metòdica per a la seva separació. S'ha pensat que seria també capaç de dissoldre productes tant apolars com l'esqualè <sup>14</sup>. Es decideix realitzar l'extracció amb la següent mescla, on la totalitat de la mèscla de reacció es dissol:

- 72% d'acetonitril
- 17% d'isopropanol
- 11% d'hexà

Per realitzar la separació s'escull una columna de fase reversa C18 i com a fase mòbil la mescla utilitzada per a la dissolució del producte doncs altres proporcions d'aquests tres dissolvents no solubilitzen el producte a separar. Es treballa a un flux d'un ml·min<sup>-1</sup> i detecció d'ultraviolat a 273 nm.

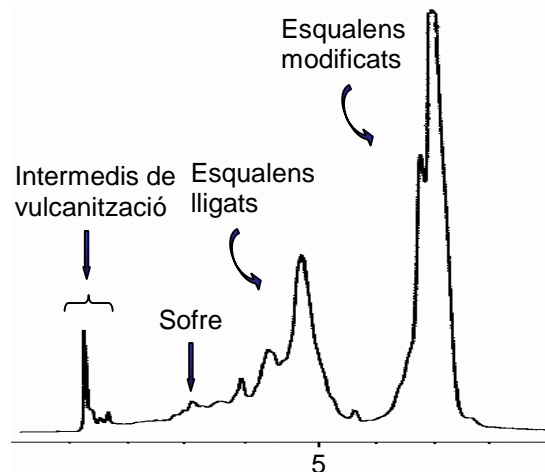
Per al desenvolupament del mètode és necessari disposar de mostres representatives per tal de realitzar la separació. Amb aquest objectiu es prepara una mescla amb major quantitat de sofre per observar un major nombre de compostos derivats de l'esqualè (taula 2.3.1.b) que es vulcanitzarà a 140°C i d'on s'extrauran mostres a diferents temps de vulcanització.

Producte	Quantitat / phr
Esqualè	100
Òxid de zinc	5
Àcid esteàric	2
Sofre	4
CBS	1.2



**Taula 2.3.1.b** Composició de la mescla de reacció.

En aquestes condicions experimentals s'obtenen cromatogrames com el presentat en la figura 2.3.2.b. Es treballa a 273 i 210 nm. A la longitud de treball habitual no és possible detectar l'esqualè, a l'igual que succeïa amb la detecció de GPC, però en el seguiment a 210 nm l'esqualè s'elueix als 10 minuts.



**Figura 2.3.1.b** Cromatograma d'HPLC amb detecció d'UV a 273 nm.

En els temps de retenció més alts, entre 6 i 8 minuts, s'observen els pics assignables a esqualè modificat. Per tant, com que l'esqualè l'elueix als 10 minuts, aquests pics no es troben superposats a l'esqualè com en el cas de GPC i es possible separar l'esqualè dels esqualens modificats amb aquesta mètode.

Acomplert l'objectiu bàsic, en el mateix cromatograma s'observen molts altres compostos extrets i separats. En els temps de retenció més baixos, entre 1.5 i 2.5 minuts, es situen l'accelerant i intermedis d'acceleració amb una resolució incompleta. Ha estat possible identificar els pics corresponents al CBS, MBTS i MBT.

Finalment, en la zona de 3 a 5 minuts, apareixen els pics assignables a l'esqualè lligat. Dins d'aquest marge de temps de retenció també s'elueix el sofre, observant-se un pic agut a 4 minuts.

Aquest mètode cromatogràfic permet separar l'esqualè, esqualens modificats, esqualens lligats intermedis de reacció i sofre, es a dir la pràctica totalitat dels productes que s'analitzen per a l'estudi de la vulcanització.

### **2.3.2. APLICACIÓ DEL DETECTOR MÀSSIC AL SEGUIMENT DE LA PART RETICULABLE D'UNA VULCANITZACIÓ PER HPLC**

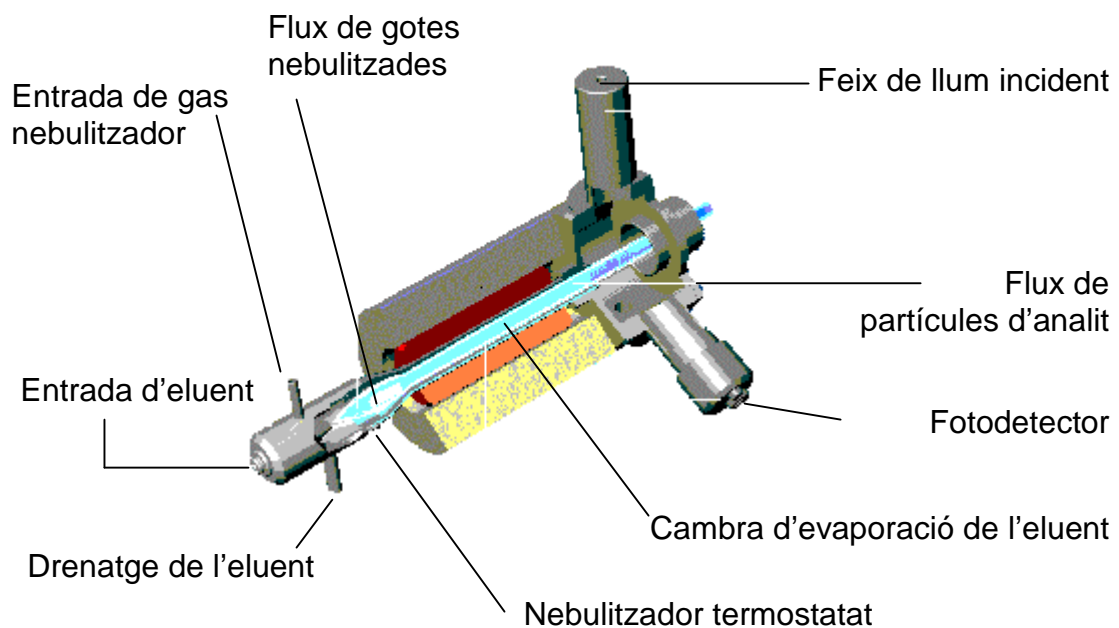
El mètode cromatogràfic presentat a l'apartat anterior permet la separació dels compostos d'interès, però presenta problemes de selectivitat degut a l'ús del detector

d'ultraviolat, que lliga la resposta del detector a la capacitat d'absorció de cada analit. Per tant, productes en quantitats molt petites però amb alta absorció a l'ultraviolat generaran pics cromatogràfics que es superposaran a pics propers de productes amb una proporció major però menor absorció a l'ultraviolat.

En aquest treball es proposa la utilització d'un detector màssic o de *light scattering*. Aquest detector, PL-ELS 1000, quantifica la massa present a l'interior de la cel·la a partir de la mesura de la intensitat de llum dispersada.

A la sortida de la columna el flux d'eluent s'uneix a un flux d'aire per realitzar una nebulització de la fase mòbil dins de la cambra de nebulització, que es troba termostatada per tal d'afavorir una nebulització estable.

Les partícules d'analit i eluent són arrossegades pel flux de gas travessant la cambra d'evaporació de l'eluent, que es troba termostatada, i on s'acaba d'evaporar l'eluent. Finalment, les partícules d'analit entren a la cel·la de mesura on intercepten un feix de llum. Com a resultat de la interacció llum-matèria es generarà llum dispersa que serà quantificada per un fotodetector situat perpendicularment al feix de llum incident a l'analit. A la figura 2.3.2.a es presenta l'esquema d'aquest detector.

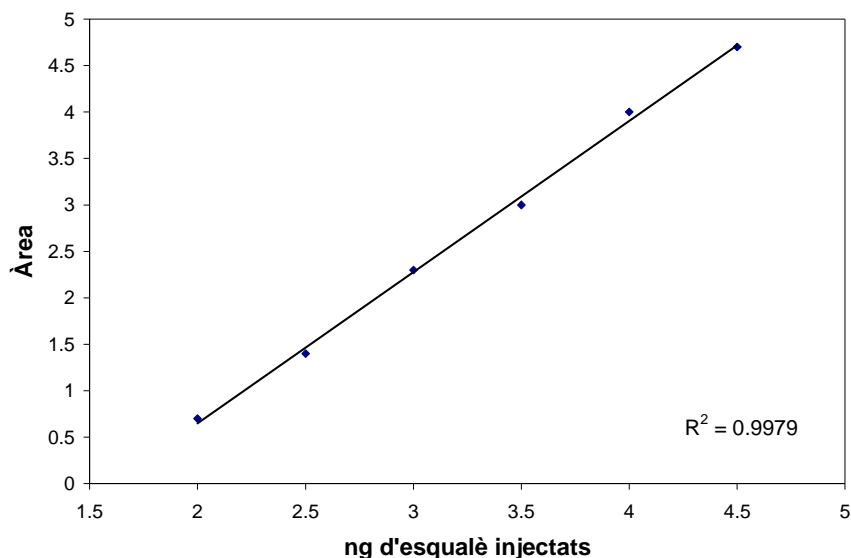


**Figura 2.3.2.a** Esquema del detector màssic.

Aquest detector ha estat utilitzat anteriorment tant per a la detecció de molècules de baix pes molecular com el bisfenol-A com per l'anàlisi de polímers. Dins del camp dels cautxús, es troben aplicacions utilitzant aquest detector, en tots els casos es tracta de la determinació de pesos moleculars del polímer mitjançant GPC acoblat al detector màssic.

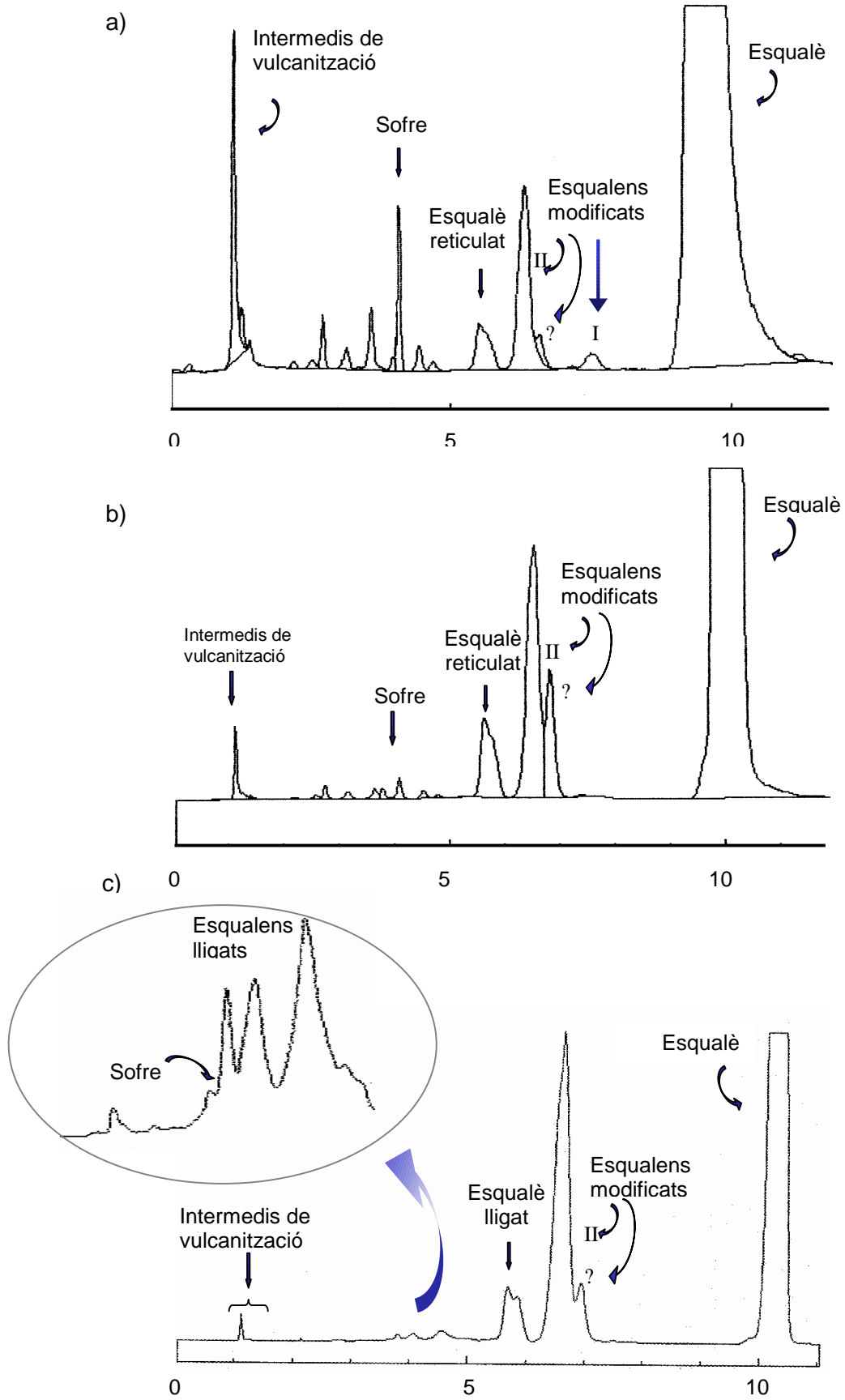
Els límits de detecció es troben entre els ng i  $\mu\text{g}$ , segons la molècula a estudiar; i presenta una resposta amb bona linealitat. Un estudi compara la dependència de la resposta del detector amb el pes molecular respecte el detector d'índex de refracció <sup>15</sup>. S'observa per ambdós una resposta independent del pes molecular, tanmateix la sensibilitat és major per al detector màssic.

Per a la posterior implementació d'aquest detector a la quantificació d'esqualè i dels seus derivats, s'estudia la seva linealitat. Per aquest motiu s'injecten dissolucions d'esqualè en un marge de concentració entre 200 i 450  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .



**Figura 2.3.2.b** Estudi de la linealitat del detector màssic front a l'esqualè.

Com es comprova a la figura 2.3.2.b, s'ajusta una recta amb un coeficient de correlació proper a 1, sent excel·lent la linealitat en aquest marge de concentració. Tenint en compte l'estudi de dependència de la resposta del detector amb el pes molecular, aquest resultat es farà extensible als derivats de l'esqualè.



**Figura 2.3.2.c** Cromatograma d'HPLC amb detecció massica als 25, 35 i 120 minuts de vulcanització.

---

Realitzant la mateixa separació però utilitzant aquest detector, s'obtenen cromatogrames com els de la figura 2.3.2.b, corresponents a l'extracció a 25 (a), 35 (b) i 120 (c) minuts de vulcanització.

Al no modificar-se el sistema de separació els pics productes s'elueixen en el mateix temps de retenció que a l'utilitzar el detector d'ultraviolat. Però, l'aspecte que presenten els cromatogrames anteriors no és el mateix que amb l'altre detector al quantificar-se en aquest cas la massa. D'una banda es detecten compostos que no absorben en l'ultraviolat. Així, es pot apreciar la gran quantitat d'esqualè sense reaccionar després de la vulcanització. D'altra banda, el menor efecte de productes amb alta absorció en l'ultraviolat genera una millora important de la línia de base.

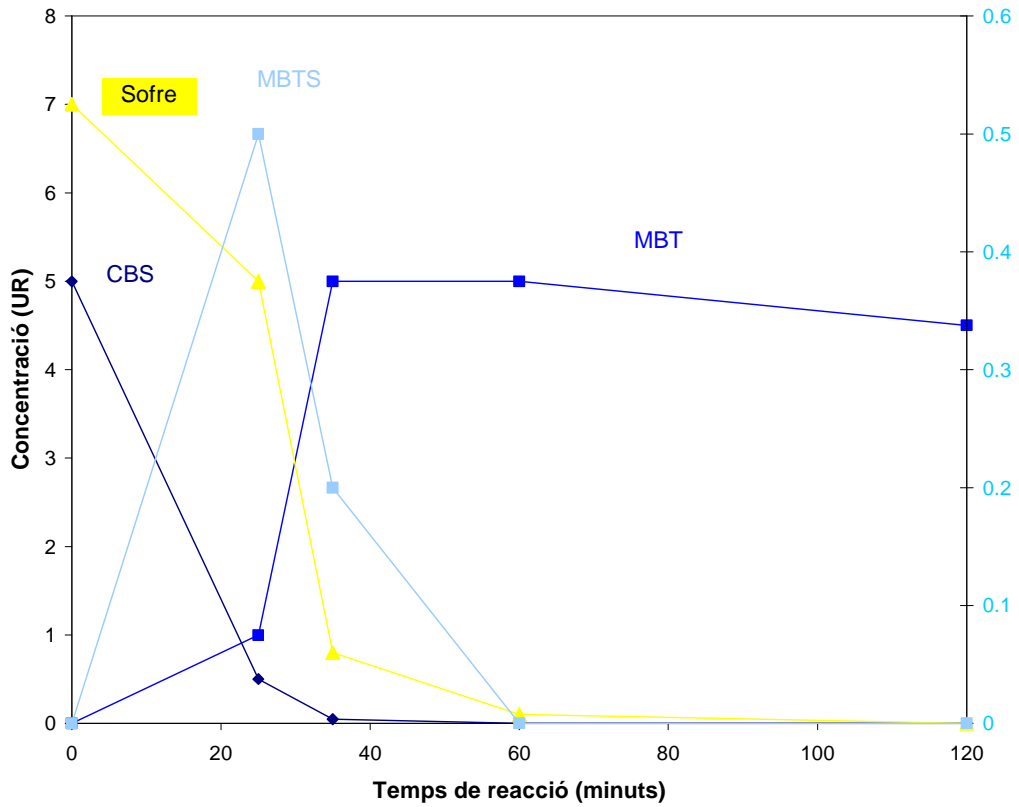
Per a la resta de pics s'han realitzat certes correspondències a partir de l'evolució en la reacció de vulcanització i de la seva abundància relativa en massa. És a dir, els pics amb àrea major han de correspondre a l'esqualè o a derivats d'aquest, ja que la massa relativa dels productes del sistema de vulcanització és baixa.

Finalment, i amb l'aplicació de la nova metodologia a la resta de mostres, es vol realitzar un seguiment als intermedis de reacció (CBS, MBTS, MBT i sofre) i de les diferents fraccions d'esqualè modificat i lligat.

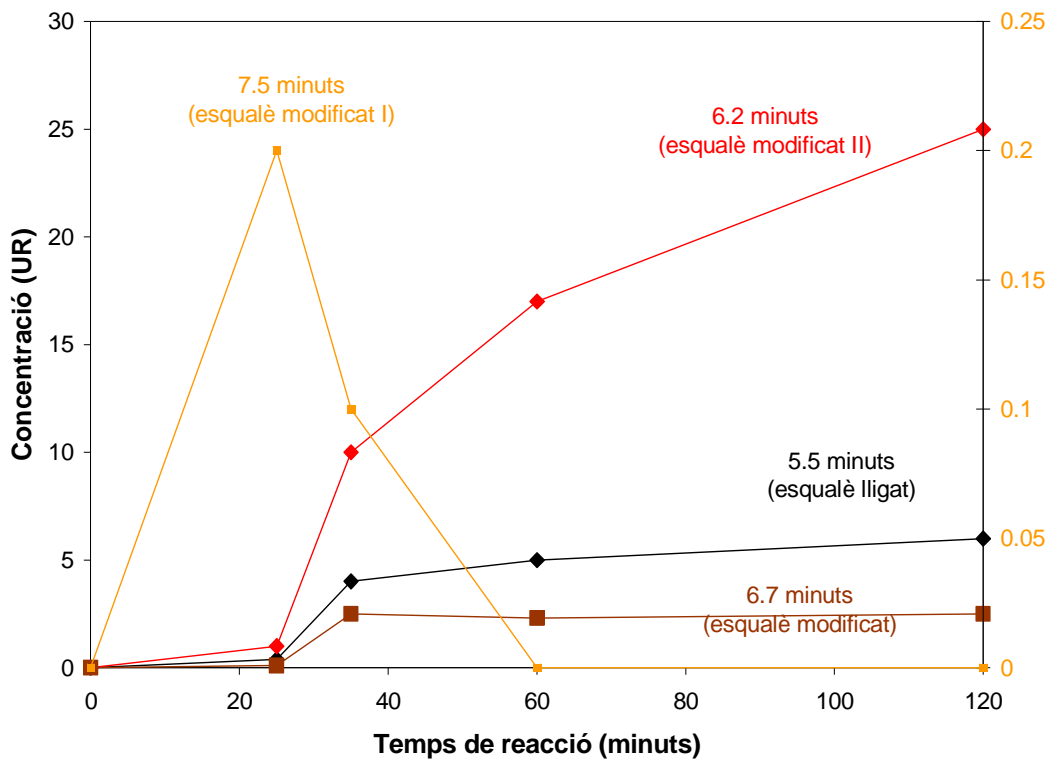
Com s'observa a la figura 2.3.2.c, l'evolució de l'accelerant i de la resta de compostos (MBTS, MBT i sofre) és paral·lela a la descrita quan s'utilitza la separació tradicional d'HPLC. Per tant, malgrat no ser l'objectiu d'aquesta metodologia, aquesta permet la separació i seguiment dels intermedis de reacció.

Per a l'esqualè lligat i l'anomenat esqualè modificat I i II (figura 2.3.2.d) l'evolució és molt similar a la que subministra l'anàlisi de GPC.





**Figura 2.3.2.c** Seguiment de CBS, MBT, MBTS i sofre.



**Figura 2.3.2.d** Seguiment de derivats de l'esqualè (lligat i esqualè modificat).

En qualsevol cas s'han separat diversos derivats de l'esqualè que, al aplicar-se aquesta tècnica a nous estudis, permetran comprendre millor els processos que es donen i estudiar-se l'efecte de l'activitat superficial sobre aquests.

Resumint, s'ha aconseguit separar l'esqualè dels seus derivats mitjançant HPLC en fase reversa, millorant-se la línia de base i podent-se quantificar i comparar els pics a l'existir una relació entre l'àrea i la massa d'analit. Les millores aconseguides amb aquesta separació permeten seguir el procés de vulcanització.

## REFERÈNCIES

1. K. Isama, M. Kaniwa, A. Nakamura, *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 44(2), 99-106 (1998)
2. J. Barat, N. Broyon, *Ann. Falsif. Expert. Chim. Toxicol.*, 84(903), 431-445 (1991)
3. V.S. Gaiind, K. Jedrzejczac, *J. Anal. Toxicol.*, 17(1), 34-37 (1993)
4. E. Brandsteterova, M. Stubna, J. Lehotay, D. Dernesschova, *J. Chromatogr.*, 545(1), 205-213 (1991)
5. N. Asada, H.Hosozawa, A. Toyoda, H.Sato, *Rubber Chem. & Technol.*, 63(2), 181-190 (1990)
6. W. Mueller, A. Zergiebel, R. Sourisseau, *Plaste Kautsch.*, 35(7), 249-251 (1988)
7. E.C. Greg and S.E. Katrenick, *Rubber Chem. & Technol.*, 42, 549 (1969)
8. F.K. Lautenschlaeger and K. Edwards, *Rubber Chem. & Technol.*, 53, 27 (1980)
9. P. Verlot, M. Van Duin et al., *Rubber Chem. & Technol.*, 65, 595 (1992)
10. J. Hann et al., *Tetrahedron*, 50, 11187 (1994)
11. P. Verlot, J. Reedijk et al., *Rubber Chem. & Technol.*, 65, 206 (1992)
12. Borros, S., and Agullo, N., *Kautsch. Gummi Kunstst.*, 53, 131 (2000)
13. M. Moragas, M.S. Thesis, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull
14. Chaler, N. A., Study of Sulfenamide and Sulfenamide-thiuram accelerating systems for natural rubber vulcanization using the modeling approach, Ph.D. Thesis, Institut Químic de Sarrià, Barcelona, Spain (1998)
15. Polymer Laboratories, *Technical Bulletin*, TB1003, 65 (1999)