

Aplicación de herramientas tecnológicas en el desarrollo de una investigación científica

(Recibido: 10/04/2015; Aceptado: 21/05/2015)

A. Escudero, J. M. Belchí-Parra, F. Mateo-Ramírez, F. J. Hernández-Fernández, A. P. de los Ríos
 Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.
 Universidad Politécnica de Cartagena. Campus Muralla del Mar.
 C/Doctor Fleming s/n, Cartagena, Murcia, España. Teléfono: 968325548
 Email: alfonso.es@live.com

Resumen. El desarrollo de métodos analíticos más adecuados en lo que respecta a rapidez y economía y el posterior tratamiento de los datos obtenidos, tienen una importancia clave en el progreso de una investigación; no solo para conseguir unas conclusiones claras sino también para transmitir de la forma más diáfana posible los objetivos conseguidos. Con este fin, se ha expuesto el desarrollo de un método cromatográfico y el tratamiento estadístico y gráfico, usando como software SPSS y Mathematica, de los datos obtenidos en un reactor discontinuo equipado con un catalizador biológico diseñado a partir de membranas de inclusión polimérica (PILM) basadas en líquidos iónicos.

Palabras clave. Cromatografía de gases, Líquido iónico, Mathematica, PILM, SPSS.

Abstract. Developing analytical methods in terms of time and economy and post-treatment of the obtained data have a key role in the progress of research; not only for conclusions but also to convey in the clearest possible way the objectives. Thus, the development of a chromatographic method and the statistical and graphical treatment of the data obtained in a batch reactor equipped with a biological catalyst designed from polymeric membranes including (PILM) based on ionic liquids has been exposed using SPSS and Mathematica software

Keywords. Gas Chromatography, Ionic Liquid, Mathematica, PILM, SPSS.

1. Introducción

Durante el transcurso de un proyecto de investigación se hace necesario recurrir a diferentes herramientas tecnológicas que pueden ir desde el uso de un dispositivo de análisis químico como un cromatógrafo de gases hasta software de cálculo como SPSS o Mathematica. Un uso adecuado de estas herramientas incide en el resultado final de la investigación; no exclusivamente en su desarrollo interno en el grupo de investigación sino también en la forma en la que se exponen posteriormente estos proyectos.

Se va a mostrar el desarrollo del método de análisis cromatográfico seguido en la identificación y cuantificación de los componentes químicos que intervienen en los procesos que se producen en reactores discontinuos equipados con catalizadores biológicos diseñados a partir de membranas de inclusión poliméricas basadas en líquidos iónicos. También se va a mostrar un ejemplo de tratamiento posterior de los datos con SPSS y Mathematica.

2. Materiales y métodos

El proceso químico considerado es la transesterificación de butirato de vinilo y 1-butanol, obteniéndose como productos butirato de butilo y alcohol vinílico que evoluciona a acetaldehído mediante un proceso de tautomerización casi irreversible [1, 2]. Los perfiles de reacción pueden observarse en la Fig. 1.

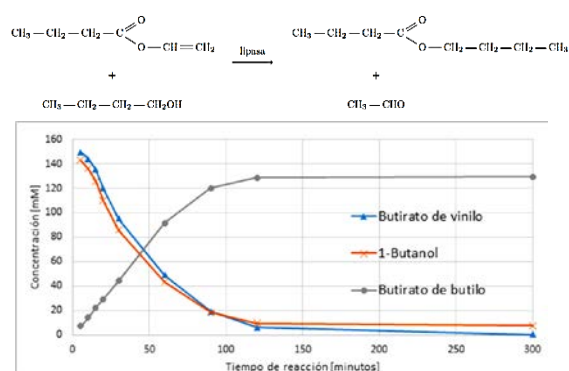


Fig. 3. Perfil de reacción.

2.1. Condiciones de operación del cromatógrafo

El análisis de las muestras se lleva a cabo mediante cromatografía de gases (GC) en un aparato modelo Varian 450 GC (Bruker) que cuenta con un detector de ionización de llama (FID), un inyector de muestras automático y una columna capilar de la casa J&W Scientific, Agilent Technologies, modelo HP-INNOWAX de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro nominal y 0,25 µm de espesor de película.

En el cromatógrafo se analizan muestras con varios componentes, de modo que los picos de cada sustancia deben aparecer con tiempos de retención bien diferenciados, pero optimizado el tiempo de duración total del análisis. Para ello, se actúa sobre la temperatura inicial y final a la que se encuentra la columna y su variación a lo largo del tiempo, así como sobre el flujo del gas portador y el resto de

condiciones de operación, hasta conseguir que los picos aparezcan lo suficientemente separados.

Tras consultar la bibliografía y después de algunas pruebas, se fijan las condiciones de operación y el perfil de temperatura del horno del cromatógrafo.

La temperatura en el inyector fue de 210°C, se trabaja con un flujo constante de 1 mL/min en la cabeza de la columna y la relación de split es de 1:10. En el detector la temperatura es de 220°C.

El perfil de temperaturas para obtener una buena separación de los componentes del sistema butirato de vinilo, 1-butanol, butirato de butilo y ácido butírico es el que aparece en la Fig. 2.

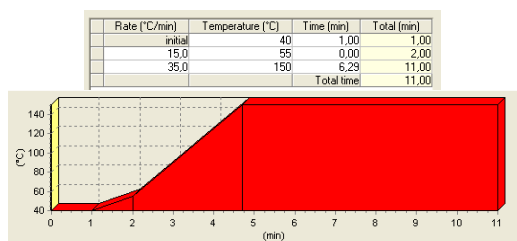


Fig. 2. Perfil de temperatura del horno.

Con estas condiciones de trabajo se obtienen cromatogramas como el que se muestra en la Fig. 3. Todos los picos están perfectamente separados, aislados e identificados. De esta forma el pico correspondiente al butirato de vinilo aparece en primer lugar a 4 minutos de la inyección de la muestra y después de varios picos grandes que corresponden al disolvente orgánico usado (hexano). A 4,6 minutos se encuentra el pico del 1-butanol; a 5 minutos, el que corresponde a butirato de butilo; el ácido butírico aparece a 7,9 minutos y, por último, el patrón interno, ácido valérico, a 9,4 minutos.

2.2. Calibración del método de GC

Debido a que el cromatógrafo no presenta la misma sensibilidad respecto a todas las sustancias analizadas, se hace necesario un calibrado del aparato. La misma concentración de distintas sustancias puede dar lugar a señales con diferente área de pico.

El calibrado se realiza preparando disoluciones de concentración conocida y dentro del rango en el que se va a trabajar. Teniendo en cuenta las diluciones que sufren las muestras antes del análisis, el calibrado

se ha realizado con disoluciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 mM en cada una de las especies químicas que intervienen en nuestra reacción. La concentración del estándar interno es de 5 mM en todas ellas.

Las disoluciones anteriores se analizan en el cromatógrafo de gases. Con los resultados de los análisis, se representa la relación de concentración de cada sustancia y del estándar interno frente a la relación de áreas de cada sustancia y del estándar interno. Dicha representación se ajusta a una recta obtenida por el método de mínimos cuadrados. Se han realizado estos cálculos mediante el software estadístico SPSS.

En la Fig. 4 se muestra el diagrama de dispersión y la recta de regresión obtenida para el butirato de vinilo. Con el resto de especies químicas que intervienen en el proceso se sigue el mismo tratamiento. Las pendientes y los coeficientes de regresión obtenidos se recogen en la tabla.

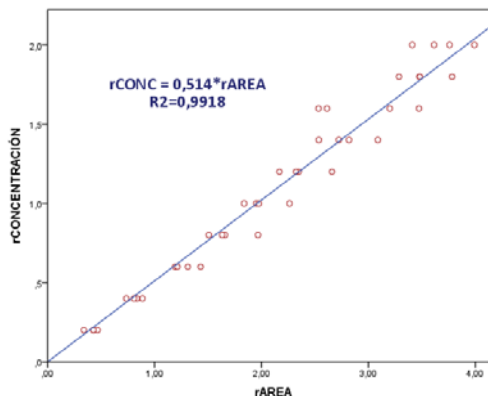


Fig. 4. Recta de calibrado para butirato de vinilo.

Tabla 1. Pendientes y R² de los componentes químicos

Especie química	Pendiente	R ²
Butirato de vinilo	0.514	0.9918
CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -COO-CH=CH ₂		
1-Butanol	0.717	0.9899
CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ OH		
Butirato de butilo	0.326	0.9880
CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -COO-CH ₂ -CH ₃		
Acido butírico	1.357	0.9962
CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -COOH		

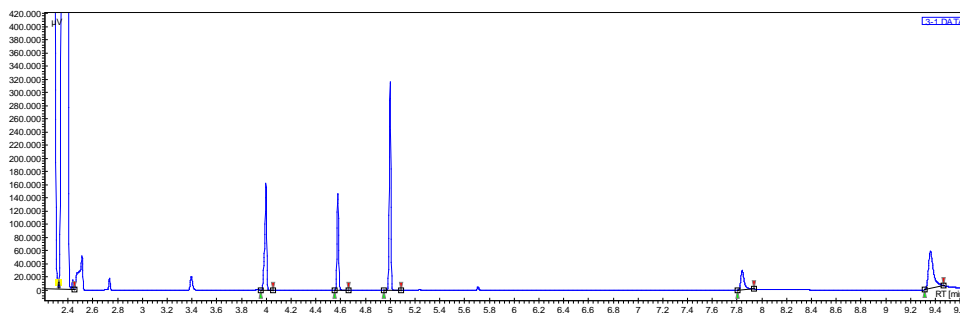


Fig. 3. Aspecto de un cromatograma con todos los componentes a una concentración 3 mM

2.3. Determinación de la pendiente inicial de butirato de butilo

Para la determinación de la actividad específica de un enzima, la pendiente inicial del perfil del producto de reacción es decisiva. Con el propósito de ser lo más objetivo posible, se ha desarrollado un pequeño procedimiento con el software Mathematica [3] que permite realizar varias regresiones rápidamente, proporcionando los datos y las representaciones gráficas necesarias para justificar una elección acertada de la pendiente inicial de la curva de reacción en cada proceso.

El procedimiento superpone en un mismo gráfico los puntos experimentales correspondientes a tiempo y concentración así como las gráficas de cuatro rectas de regresión obtenidas de los datos experimentales. Las rectas se pueden dividir en dos parejas; cada una de ellas formada por la recta de regresión con intercepto y a través del origen. Y entre parejas difieren en que una efectúa la regresión con un punto menos que la otra pareja. En cada prueba se va eliminando un punto si se consigue mejorar el coeficiente de determinación de la regresión. También se atiende al análisis de la varianza (tabla ANOVA) y a la significatividad individual de la constante. Como regla general, se elige el valor de la pendiente al que tienden las cuatro regresiones una vez alcanzado un R^2 razonablemente elevado. Para ilustrar el procedimiento se muestra un recorte de la pantalla que ofrece los resultados comentados (Fig. 5). En el gráfico de dicha figura se observan los puntos experimentales en verde y las cuatro rectas de regresión prácticamente superpuestas. El valor elegido en este caso sería de 1,46.

Introduciendo el código siguiente en Mathematica se crea una animación donde es posible comprobar visualmente todo el proceso llevado a cabo.

```

data = {{0, 0}, {5, 22}, {15, 40}, {20, 48}, {30, 66}, {60, 93},
        {90, 100}, {120, 102}, {300, 108}, {1440, 218}, {2880, 276}};
data1 = {{0, 0}, {5, 22}, {15, 40}, {20, 48}, {30, 66}, {60, 93}};
data2 = {{5, 22}, {15, 40}, {20, 48}, {30, 66}};
data3 = {{5, 22}, {15, 40}, {20, 48}, {30, 66}, {60, 93},
        {90, 100}, {120, 102}, {300, 108}};

Manipulate[
Show[ListPlot[data3, PlotStyle -> {Green, PointSize[0.02]},
PlotRange -> {0, 130}], Lista = Take[data3, m];
R1 = LinearModelFit[List1a, x, x, IncludeConstantBasis -> False];
Plot[R1[x], {x, 0, 300}, PlotStyle -> Orange,
PlotLegends -> "Expressions"], R2 = LinearModelFit[List1a, x, x];
Plot[R2[x], {x, 0, 300}, PlotStyle -> Red,
PlotLegends -> "Expressions"], Lista2 = Take[data3, m - 1];
R3 = LinearModelFit[List2a, x, x, IncludeConstantBasis -> False];
Plot[R3[x], {x, 0, 300}, PlotStyle -> Green,
PlotLegends -> "Expressions"], R4 = LinearModelFit[List2a, x, x];
Plot[R4[x], {x, 0, 300}, PlotStyle -> Blue,
PlotLegends -> "Expressions"]], {m, 3, 8, 1}]

```

3. Conclusiones

Se ha desarrollado un método cromatográfico para la determinación de las especies químicas que intervienen en el proceso investigado. Asimismo se ha mostrado el tratamiento de los datos obtenidos desde un punto de vista estadístico y gráfico mediante el uso de SPSS y Mathematica.

Referencias

- [1] Hernández, F. Desarrollo de nuevos procesos biotecnológicos basados en el uso de líquidos iónicos. Tesis doctoral. 2008.
- [2] P. de los Ríos y col. Synthesis of esters in ionic liquids. The effect of vinyl esters and alcohols. Process Biochemistry, 43 (2008) 892-895.
- [3] Wolfram, Stephen. The Mathematica book. Fifth edition. 2003.

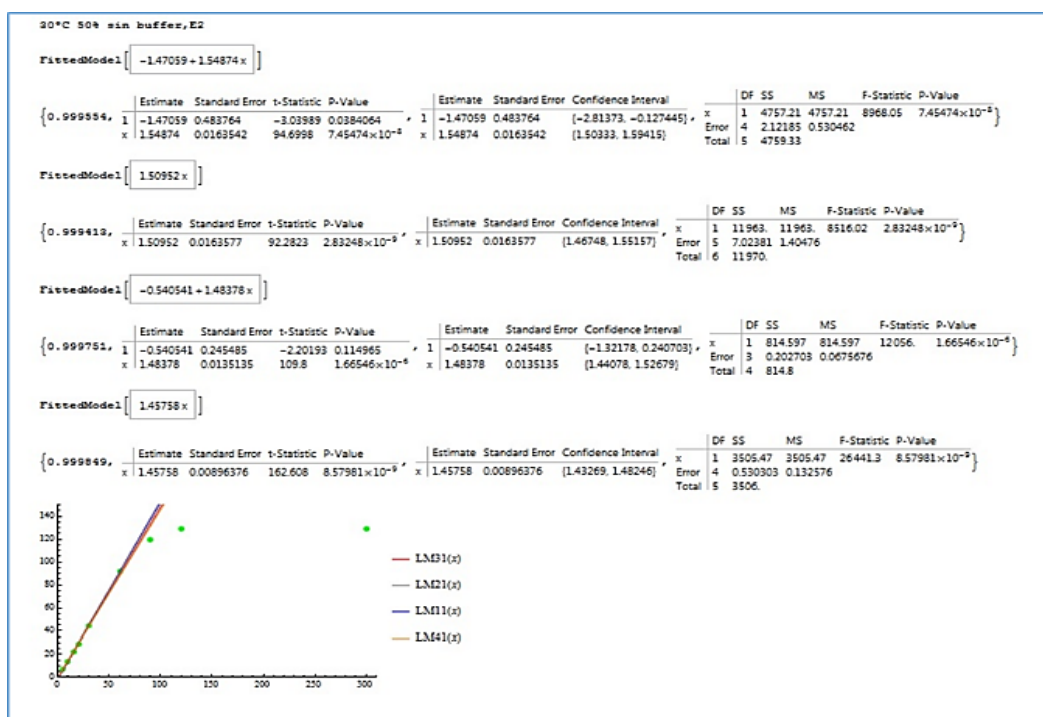


Fig. 5. Resultados proporcionados por Mathematica.