

CROMATOGRAFIA SOBRE PAPEL

Por IGNACIO RIOS CHACON
Catedrático del Instituto
"Gabriel y Galán" de Pla-
sencia

DADO el creciente interés que ofrecen los métodos cromatográficos, fundamentados en los fenómenos de reparto, en el análisis químico, tanto orgánico como inorgánico, creemos necesario considerar la conveniencia de utilizar alguno de estos métodos dentro de un ciclo general de prácticas a nivel medio. En este caso, y dada su sencillez instrumental, recomendamos utilizar el método cromatográfico sobre papel en su forma ascendente, cuya descripción vamos a realizar.

Consiste este método en depositar una microgota (aproximadamente una división de una micropipeta) de la mezcla de sustancias que se desea cromatografiar, en un papel de filtro muy puro y colocar este papel verticalmente en un recipiente cerrado o cuba cromatográfica (también puede utilizarse un tubo de ensayo de tamaño suficiente) que contenga un disolvente orgánico o una mezcla de éstos, parcial o totalmente solubles en agua, de forma que el extremo del papel más cercano a donde se depositó la sustancia, quede próximo al disolvente, pero sin tocarlo. Cuando el recipiente esté saturado del vapor del disolvente y de vapor de agua, para lo cual debe transcurrir cierto tiempo, según la cuba y el disolvente, por medio de un mecanismo cualquiera se deja caer el papel, que habrá absorbido el vapor de agua de la atmósfera de la cuba, dada la afinidad que las fibras celulósicas del papel tienen por el agua. Ahora el papel actuará como soporte de la fase acuosa y al ponerse en contacto con el disolvente, avanzará éste por capilaridad y tendrá lugar un verdadero fenómeno de reparto de las sustancias depositadas entre el solvente orgánico y el agua. El recipiente debe estar también saturado del vapor del disolvente para evitar la evaporación de éste en su avance por el papel. Las sustancias fácilmente solubles en la fase orgánica avanzarán con ésta proporcionalmente a su solubilidad, mientras que las fácilmente solubles en el agua avanzarán muy poco. La mezcla así se resolverá en sus componentes, que se depositarán formando manchas a lo largo del papel de filtro. Si estas sustancias son coloreadas, serán visibles directamente y si no lo son, habrá que buscar una reacción coloreada para detectarlas, y se llama R_f a la relación:

$$R_f = \frac{\text{distancia del centro de la mancha al punto de partida}}{\text{distancia límite de avance del disolvente al punto de partida}}$$

El R_f de cada sustancia es prácticamente constante para cada disolvente a una temperatura determinada y con un mismo papel y, por tanto, resultará de gran interés en el análisis.

El papel ha de ser muy puro, utilizándose normalmente el llamado Watman número 1 como papel corriente y el Watman número 3 como papel rápido, aunque también puede utilizarse el Schleider Schull 2043. Aún así, y para evitar impurezas, podría recurrirse a un lavado con EDTA. El tamaño del papel es función del tamaño de la cuba que queremos utilizar, pero las medidas aconsejables son 15 x 60 centímetros, si se cuelga en la cuba en forma de tira, y de 60 x 70 centímetros, si se coge con grapas para darle forma cilíndrica, en cuyo caso conviene doblar el borde inferior así como los laterales para que el frente del disolvente sea más regular (véase fig. 1).

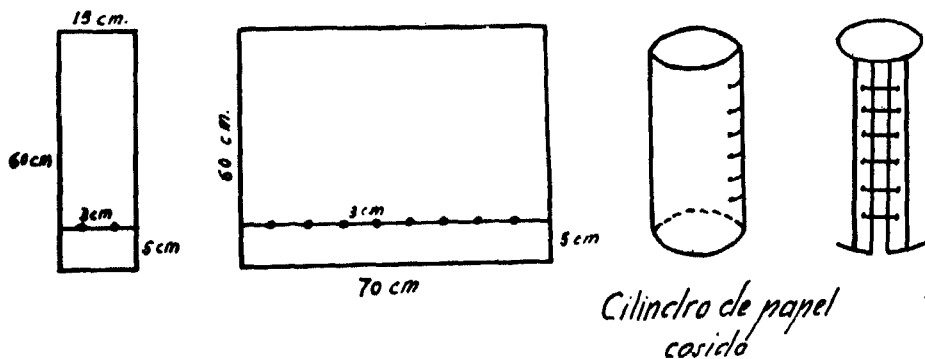


Fig. 1

La cantidad de sustancias depositadas con la micropipeta debe ser muy pequeña. Conviene para ello utilizar disoluciones de aproximadamente el 1 por 100 en cada componente y así, al depositar una división de la micropipeta (graduada de uno a diez microlitos), se depositarán entre diez y veinte gamas de cada uno (1 gama = 10^{-6} gr.). Las manchas que se forman al hacer estos depósitos no deben tener tamaños superiores a los 5 mm. de diámetro, para lo cual conviene hacer estos depósitos lentamente, es decir, de media en media división de la micropipeta y esperando a que las cantidades depositadas con anterioridad hayan secado previamente; podría utilizarse también para esta operación un secador de mano para el pelo. Con este procedimiento pueden colocarse todas las manchas que permita el tamaño del papel distanciadas 2 ó 3 cm. aproximadamente del extremo del papel.

Las cubas cromatográficas (fig. 2), pueden fabricarse en vidrio, acero inoxidable, materias plásticas, etc. Lo importante es que no se ataquen por los disolventes. Su tamaño más conveniente es de unos 70 a 80 cm., para poder colocar en ellas papeles de unos 60 cm., que hemos dicho podían ser los más aconsejables. Sin embargo, pueden utilizarse también en estos desarrollos, tubos de ensayo gruesos de unos 25 a 30 cm. de longitud, con tiras de papel de grosor conveniente y de unos 20 cm. de longitud, siendo este procedimiento el más aconsejable en la enseñanza media por su gran sencillez.

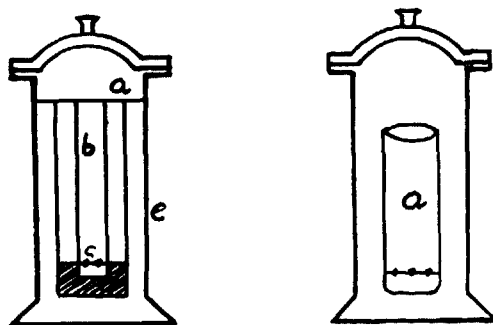
Los disolventes hemos visto que tenían que ser parcial o totalmente miscibles en agua, con el fin de que el papel se sature de ésta; si sólo son miscibles parcialmente, se agitan con el agua en un embudo separador y la capa acuosa saturada de materia orgánica, es la que se usa para saturar la atmósfera del recipiente, siendo necesarias aproximadamente 24 horas con cubas como las descritas en esta operación. Para lo cual se colocará en una cápsula en el fondo de la cuba, rodeada de la fracción orgánica saturada de agua que es la que ascenderá por el papel y desarrollará las manchas depositadas. Con disolventes totalmente solubles en el agua no será necesario saturar la cuba, con el consiguiente ahorro de tiempo. Entre los disolventes más frecuentes de solubilidad total en agua, citaremos: los alcoholes, acetona, piridina, etcétera. Entre los de solubilidad limitada, citaremos: el fenol, butanol, y la colidina. Pero de uso muy frecuente son mezclas de la forma butanol-acético-agua en

la proporción de 40-10-50 respectivamente; o butanol-ácido fórmico-agua en la proporción de 75-15-10, con el único inconveniente de que como estas mezclas se esterifican fácilmente, es preciso no demorar su utilización. Debe dejarse que el disolvente avance por el papel hasta llegar a unos centímetros del límite superior del papel, para lo que serán precisas unas diez horas; entonces es el momento de sacarlo, marcar el límite de avance del disolvente y ponerlo a secar. El secado del papel puede hacerse al aire libre o en vitrina para acelerar éste y para evitar los vapores del disolvente.

Una vez seco el papel, debe procederse al revelado de las manchas, si no son visibles, probando también a la luz ultravioleta por si se hiciesen fluorescentes bajo esta luz, cosa bastante frecuente.

El revelado se realiza colgando verticalmente el papel, para lo cual habrá que extenderlo si se le había dado forma cilíndrica y haciéndole llegar una fina lluvia de un reactivo mediante un pulverizador; este reactivo será, por ejemplo, la ninhidrina para los aminoácidos (dando con ellos color violeta), el ácido sulfhídrico para determinados cationes (Cu, Ni, Co, etc.), los que forman sales coloreadas, etc.

Una vez reveladas las manchas, se marca su contorno con un lápiz y como también habremos marcado el límite de avance del disolvente, será ya fácil calcular el



a = varilla de vidrio
b = tira de papel
c = manchas
d = disolvente
e = cuba cromatográfica

a = cilindro de papel

Fig. 2

Rf de las mismas. Hemos dicho que el Rf es constante para cada compuesto, para un disolvente dado, un mismo papel y una misma temperatura; sin embargo, no se opera siempre en las mismas condiciones y son frecuentes distintos Rf para una misma sustancia, aún operando en las mismas condiciones; por tanto, la seguridad ante un

análisis es mucho mayor si junto a la sustancia desconocida se cromatografían sustancias conocidas que permitan comprobar la igualdad del Rf.

Pueden presentarse muchos incidentes, según los casos: formación de colas, frecuentes coloreados, etc., para cuya solución, así como para una más amplia información, deberá recurrirse a autores especializados, entre los que citaremos a E. Lederer, Durrum, etc.

Este método cromatográfico también puede ser de utilidad para determinaciones cuantitativas, pero no ha sido éste el propósito de este artículo.

Nuevos Libros de Texto autorizados para Bachillerato

De acuerdo con lo preceptuado en las Ordenes de 4 de junio de 1957 (*Boletín Oficial del Estado*, del 20 de julio) y de 4 de junio de 1963 (*Boletín Oficial del Estado*, de 27 de julio) y previo asesoramiento e informe del Centro de Orientación Didáctica y de acuerdo con el dictamen de la Comisión Delegada del Consejo Nacional de Educación el Ministerio ha resuelto que se autoricen como libros de texto para el Bachillerato:

Our English Book, de J. G. Brutton. Editorial Mangold.

Segundo libro de inglés, de don Adolfo Alvarez Casado. Editorial Casalva

(Orden de 7 de diciembre de 1965. *Boletín Oficial del Ministerio*, de 16 de diciembre).

* * *

Griego, método de quinto y sexto cursos. Ediciones "Bruño".

Inglés, tercer curso, Ediciones "Bruño".

El inglés por la imagen, II, de P. M. Richard. Ediciones "Mangold".

Gramática latina, del Rvdo. P. Eduardo Gancedo. Ediciones "Mater et Magistra".

Lengua española, primer curso, de D. José María Antón Andrés, Ediciones "Autor".

(Orden de 5 de enero de 1966. *Boletín Oficial del Ministerio* de 13 de enero).