

Práctica No 1

Separación de Cationes por Cromatografía de Papel

La **cromatografía** es un técnica de separación basada en el principio de retención selectiva, que permite separar los distintos componentes de una mezcla facilitando su identificación y cuantificación. El nombre de la técnica se debe al botánico ruso Mikhail Semenovich Tswett, quien usó columnas de vidrio rellenas de carbonato de calcio para separar pigmentos vegetales.

Las técnicas cromatográficas son muy variadas, sin embargo, en todas el fenómeno de separación ocurre al hacer pasar una **fase móvil** fluida (gas, líquido o fluido supercrítico), que arrastra a la mezcla, a través de una **fase estacionaria** constituida por un sólido finamente dividido o un líquido fijado en un sólido. En este proceso los componentes de la mezcla interaccionan de diversa manera con la fase estacionaria y debido a esto atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades, por lo cual se van separando.

De acuerdo a cómo esté dispuesta la **fase estacionaria** las técnicas cromatográficas se pueden dividir en:

1. **Cromatografía plana:**

La fase estacionaria se sitúa sobre una placa plana o sobre un papel. Las principales técnicas son:

- Cromatografía en papel
- Cromatografía en capa fina

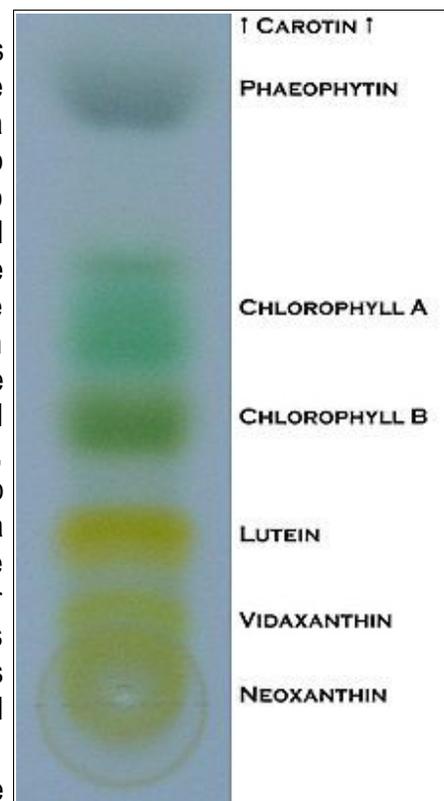
2. **Cromatografía en columna:**

La fase estacionaria se sitúa dentro de un tubo o columna. Según el tipo de fluido empleado como fase móvil se distinguen:

- Cromatografía de líquidos
- Cromatografía de gases y
- Cromatografía de fluidos supercríticos

La **cromatografía en papel** es un proceso muy utilizado en los laboratorios para realizar análisis cualitativos ya es sencilla de implementar y no requiere de equipamiento sofisticado. En esta técnica la fase estacionaria está constituida simplemente por una tira o círculo de papel de filtro. La muestra se deposita en un extremo colocando pequeñas gotas de una solución de la muestra y evaporando el disolvente luego de cada aplicación. Luego el disolvente o mezcla de disolventes empleada como fase móvil (eluyente o eluyente) se hace ascender por capilaridad. Para esto se coloca una porción del papel en contacto con la fase móvil dentro de un recipiente que la contiene (cámara de desarrollo). Después de unos minutos, cuando el disolvente deja de ascender o ha llegado al borde extremo del papel, se retira el papel y seca. Es importante que la cámara de desarrollo permanezca bien tapada durante el proceso de ascenso capilar de la fase móvil (desarrollo cromatográfico), pues de lo contrario no se alcanza el equilibrio necesario entre el líquido (fase móvil) y el vapor del líquido. Si el disolvente elegido fue adecuado y las sustancias tienen color propio se deberán ver manchas de distinto color separadas a lo largo del papel. Cuando los componentes no tienen color propio el papel se somete a procesos de revelado.

La cromatografía es un sistema de separación dinámica, porque



continuamente se producen equilibrios entre los componentes de la mezcla a separar y las fases móvil y estacionaria. El proceso de separación se produce a causa de las interacciones entre los componentes de la mezcla con la fase móvil y la fase estacionaria; lo cual causa la distribución de los componentes de la mezcla entre las dos fases. A este proceso se le denomina partición de los componentes. Las interacciones mencionadas pueden tener su origen en dos fenómenos :

1. **La adsorción**, que es un fenómeno de interacción superficial por el cual átomos, iones o moléculas son retenidas en la superficie de un material. Puede ser de dos tipos: a) *Fisisorción*, debida a fuerzas atractivas débiles, generalmente fuerzas de Van der Waals; es la forma más simple de adsorción. b) La *quimisorción* ocurre cuando se forma un enlace químico
2. **La absorción**, es un fenómeno de retención que incluye la penetración de una especie química en todo el volumen del material por lo cual se la considera como un fenómeno másico y no superficial. Un ejemplo de absorción es la disolución de una especie en un disolvente.

Principales parámetros cromatográficos.

- **Coefficiente de partición o de reparto de un componente (K)**: Se define como el cociente entre la concentración de componente presente en la fase estacionaria y la concentración de componente presente en la fase móvil.
- Frente del eluyente: máximo recorrido de la fase móvil
- Frente del analito: máximo recorrido del analito; entendiéndose por analito cada uno de los componentes individuales de la mezcla.
- Relación de recorridos o frentes (Rf): Cociente entre el frente de cada analito y el frente del eluyente.

Objetivos de la práctica

El objetivo general de la práctica es introducir los parámetros y conceptos fundamentales de las técnicas cromatográficas y su aplicación para la separación de mezclas de cationes.

Los objetivos específicos incluyen:

1. El aprendizaje de los términos, conceptos y fundamentos de la cromatografía;
2. Aprendizaje de las destrezas necesarias para realizar separaciones cromatográficas;
3. Realizar la separación e identificación por cromatografía de papel de una mezcla de cationes;
4. Identificar las limitaciones y ventajas del uso de reveladores.
5. Identificar las interacciones y reacciones de los iones estudiados y su efecto sobre el desarrollo cromatográfico.
6. Predecir en base a los fenómenos observados el comportamiento de otras mezclas de iones durante un proceso cromatográfico.

Sección Experimental

Equipos:

Plancha de calentamiento

Materiales:

- 2 Capsulas de petri
- Capilares de vidrio
- Papel de filtro
- Tijeras

Reactivos:

- Mezcla de solventes (eluentes):
- Eluyente 1: Alcohol:agua (70:30)
- Eluyente 2: Alcohol:agua (70:30) + dimetilgloxima + NH_4OH
- Solución de cationes: Soluciones 0,05 M de nitratos de Cu(II) , Fe(III) , y Ni(II)
- Solución de reveladores: Solución de dimetilgloxima y solución de NH_4OH

Procedimiento:

Experiencia 1.- Se toman dos capsulas de petri (ver figura 1), identifíquelas con los números 1 y 2. Agregue a la capsula 1 15 mL del eluyente 1. Haga lo mismo con la capsula marcada con el 2. Tape ambas capsulas y deje que se equilibren (temperatura y presión de vapor) a temperatura ambiente. Seguidamente se enciende la plancha de calentamiento, cuidando que la temperatura no se eleve más de $40\text{ }^\circ\text{C}$. Luego de esto se toman dos filtros de papel, tomando la previsión de manipularlos con extremo cuidado por los bordes. Empleando las tijeras se recortan en ambos una tira hasta cerca del centro, tal como se muestra en la figura 2. Hecho esto, con un tubo capilar se hacen tres aplicaciones de cada una de las soluciones patrón de Cu(II) , Fe(III) y Ni(II) , tal como se muestra en dicha figura. Luego de cada aplicación se debe permitir la evaporación de la solución; para esto se lleva a la plancha de calentamiento. Evite calentar demasiado; el desarrollo de un color pardo-oscuro es indicativo de esto último.

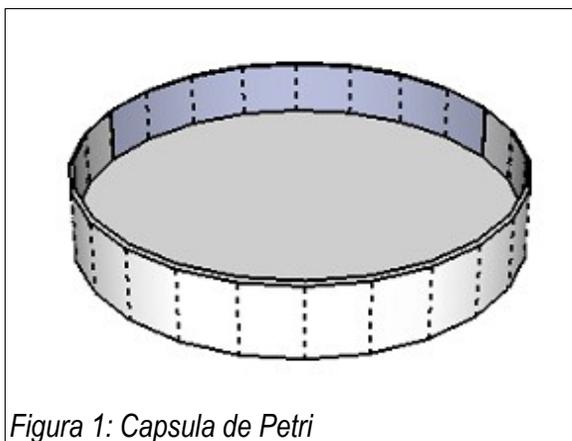


Figura 1: Capsula de Petri

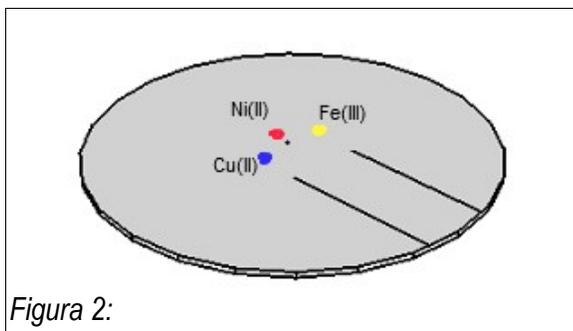


Figura 2:

Realizadas las tres aplicaciones de cada una de las soluciones, se dobla hacia el centro la tira recortada, se retira la tapa de la cámara de desarrollo y se coloca el papel sobre los bordes cuidando que la tira quede sumergida en el eluyente (ver figura 3). Inmediatamente se tapa de nuevo la cámara de desarrollo y se deja que el eluyente fluya (debido al fenómeno de capilaridad) a través del papel hasta que recorra una distancia no menor al 90 % (8/9) de su radio.

Mientras avanzan los desarrollos cromatográficos anteriores, prepare una nueva experiencia (**Experiencia 2**) aplicando las tres soluciones patrón (soluciones de los cationes) en un nuevo papel, pero esta vez aplique todas en el mismo punto de aplicación; tal como se indica en la figura 4.

Cuando el recorrido del frente del eluyente alcance un 90%, se retira el papel e inmediatamente se marca, con un lápiz de grafito, el frente del solvente y el de cada una de las manchas visibles de cada componente separado. Cuando ambos papeles se sequen completamente, se

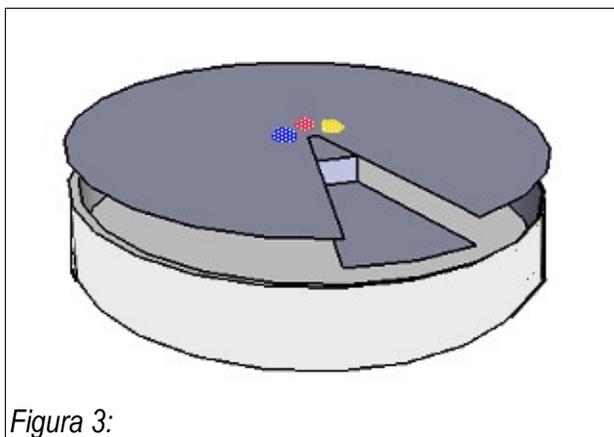


Figura 3:

toma nota de las características de las manchas observadas, si las hubiere, y se miden las distancias recorridas por el frente del eluyente y cada una de las manchas de los cationes.

Revelado posterior al desarrollo. Tome el papel de filtro con el cromatograma desarrollado en la cámara con el eluyente 1, lleve a la campana de extracción de gases y pídale a su instructor que la someta a revelado con vapores de amoníaco. Marque con un lápiz de grafito el contorno de la mancha desarrollada. Seguidamente, proceda a esparcir la solución de dimetilgloxima sobre el papel. Tome nota de sus observaciones y de las distancias recorridas por las manchas reveladas. Calcule las relaciones de frente correspondiente a cada catión y asiente los valores de distancia y Rf en una tabla diseñadas para tal fin. A partir de las observaciones decida cuál de los dos eluyentes produce la mejor separación. En este momento usted estará en capacidad de seleccionar el mejor eluyente para la siguiente experiencia en base a sus observaciones. Inicie la experiencia 2 empleando la cámara de desarrollo más adecuada y prepare la experiencia siguiente. Concluido el desarrollo de la experiencia 2, tome nota de sus observaciones y datos numéricos pertinentes y asíntelos en una nueva tabla.

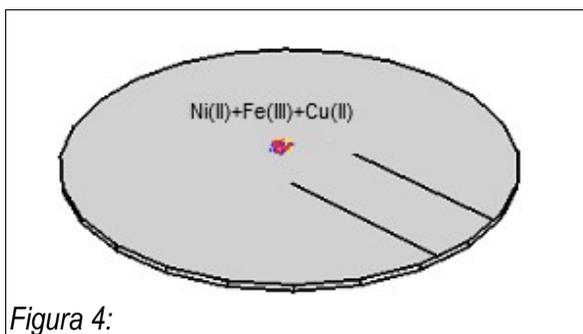


Figura 4:

Experiencia 3: Separación cromatográfica de los cationes de una mezcla problema.

Tome un nuevo papel de filtro y prepárelo como antes. Pida a su profesor la solución de la mezcla problema y tomando en consideración los resultados obtenidos en las experiencias anteriores proceda a separar e identificar mediante un desarrollo cromatográfico los cationes presentes en la muestra. Compare los resultados con los obtenidos anteriormente reportando la identidad de los cationes presentes en la mezcla problema.

Discusión

Basándose en los fundamentos generales de la cromatografía, y específicamente en los fundamentos de la cromatografía en papel, explique sus resultados. Explique las posibles razones de las diferencias de recorrido de los iones. Explique las diferencias observadas en los recorridos de la experiencia 1 (aplicaciones separadas de los patrones en puntos de aplicación diferentes – figura 2) y la experiencia 2 (aplicaciones separadas de los patrones en un mismo punto de aplicación -Figura 2). Explique en qué consiste el revelado y las reacciones involucradas en cada uno de los procedimientos de revelado. Explique los resultados encontrados por usted en la experiencia 3, reportando la identidad de los cationes presentes y explicando qué argumentos le permiten hacer tales afirmaciones.

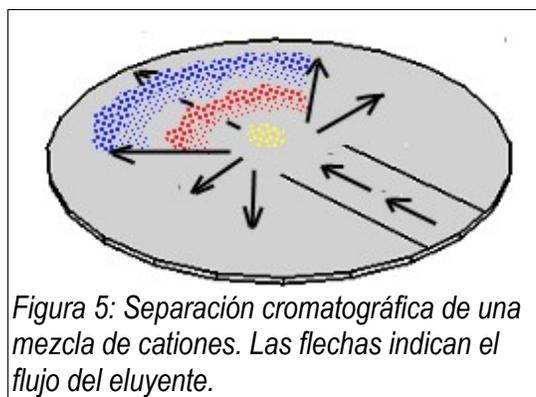


Figura 5: Separación cromatográfica de una mezcla de cationes. Las flechas indican el flujo del eluyente.

Referencias

1. Olga Pérez de Márquez, Guía de Análisis Químico Cualitativo, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes.
2. David Abott y R. S. Andrews, "Introducción a la Cromatografía", traducción de Miguel Fernández Braña, Colección Exedra, Editorial Alhambra, S.A. 1966, Madrid, España.

