

Ediciones Zorro Siglo XXI

"Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis"

QUÍMICA ORGÁNICA

Fundamentos teórico-prácticos
para el laboratorio

VERSION AMPLIADA

Lydia Galagovsky Kurman

MANUALES



EUDEBA

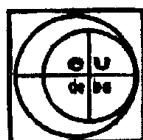
Ediciones Zorro Siglo XXI
"Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis"

QUÍMICA ORGÁNICA

FUNDAMENTOS
TEÓRICO-PRÁCTICOS
para el
LABORATORIO

Dra. Lydia R. Galagovsky Kurman
Departamento de Química Orgánica,
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad de Buenos Aires.

- Texto adaptado a los programas de
Química Orgánica de la siguientes Facultades:
- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA
 - Facultad de Agronomía y Veterinaria - UBA
 - Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA



EDITORIAL UNIVERSITARIA DE BUENOS AIRES

PRÓLOGO DE LA 1a. EDICIÓN

La literatura existente que trata los temas desarrollados en este Manual es, sin duda, valiosísima, y pueden encontrarse desde libros con enfoques de físico-química avanzada, hasta textos de divulgación.

Sin embargo, muchos de estos manuales de Química Orgánica exceden ampliamente el temario requerido para un curso básico, y otros son muy prácticos y presentan numerosas experiencias, pero tratan algún tema específico y no abarcan la totalidad del temario. Además, la mayoría de las referencias bibliográficas, se presentan en idioma inglés.

Es por esto, que la presentación de este Manual responde a la necesidad de llenar un vacío en la posibilidad de adquirir la bibliografía pertinente y en castellano, que satisfaga la necesidad del alumnado de un curso básico de Laboratorio de Química Orgánica.

Confío en que el hecho de contar con un texto accesible, permitirá al alumno reencontrarse con el tiempo suficiente como para entender, preparar y aprovechar las clases de Laboratorio; tiempo que, de otra forma, se invertía en traducir textos, copiar apuntes, o simplemente, conseguir información acerca de cuáles son, y dónde se pueden buscar, los contenidos importantes para el curso.

Este Manual responde al programa de Laboratorio de Química Orgánica I para la Licenciatura en Química y comprende al temario de Química Orgánica para la Licenciatura en Ciencias Biológicas.

Cada capítulo ha sido diagramado en dos secciones: Consideraciones Teóricas y Consideraciones Experimentales.

Las primeras incluyen definiciones, manejo de variables y conceptos fundamentales que rigen a los comportamientos físico-químicos de sustancias puras y/o mezclas, así como a las técnicas separativas explicadas.

En las Consideraciones Experimentales, se detallan los aspectos prácticos de las técnicas a seguir y la descripción de equipos simples.

Dentro del texto aparecen "Sugerencias", que son problemas o preguntas propuestas. En la mayoría de los casos no figura en el Manual la respuesta a tales sugerencias, y el objetivo de formularlas es propiciar un diálogo con el lector, estimulando la búsqueda de otros ejemplos, el logro de asociaciones entre conceptos aparentemente distintos, o simplemente la profundización del tema en libros específicos.

Deseo agradecer la colaboración permanente que he recibido por parte del equipo docente de Química Orgánica, así como del estímulo vigoroso de la Profesora Titular, Dra. Inge M. E. Thiel.

Lydia R. Galagovsky de Kurman

PRÓLOGO DE LA 5TA. EDICIÓN

Hace 9 años apareció la primera versión de este libro que, luego de varias reediciones, aparece hoy, en su 5ta. edición, totalmente renovado gráficamente y ampliado.

Desde su primera edición, el texto llenó una faltante en la bibliografía en castellano acerca de los temas básicos que todo estudiante de Química necesita aprender para dar sus primeros pasos en el trabajo de laboratorio.

Hoy en día, merced a su utilidad, es un libro ampliamente conocido en el ámbito de las universidades que tienen escuelas de Química, Bioquímica y Farmacia, así como en escuelas secundarias técnicas, con especialidad en Química.

Confío en que esta renovada versión continúe brindando su aporte a la formación científica de las nuevas generaciones de estudiantes de esta fascinante disciplina, desde su contenido básico, su organización clara, sus ejemplos prácticos y su estilo sencillo y cordial.

Dra. Inge M. E. Thiel
Profesora Titular de Química Orgánica
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires

SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

El laboratorio de Química es un lugar de trabajo que presenta ciertos riesgos; sin embargo, conociéndolos y trabajando con cuidado, este espacio puede ser igual de peligroso que una casa donde hay remedios, insecticidas, blanqueadores, solventes, garrafas, cuchillos, equipos a gas y eléctricos, etc., etc.

La *seguridad en el laboratorio* es mucho más que una serie de advertencias: es una forma de trabajo, es un respeto por los reactivos peligrosos, es un conocimiento sobre reactividades explosivas y es la responsabilidad con que cada individuo encara su tarea.

Reglas esenciales para la seguridad en el laboratorio

Siempre

- Use protección para los ojos.
- Use ropa adecuada.
- Lave sus manos antes de dejar el laboratorio.
- Conozca las normas y procedimientos de seguridad para cada acción a realizar.
- Asegúrese que su aparato esté bien ensamblado.
- Manipule los reactivos cuidadosamente.
- Mantenga prolija su área de trabajo.
- Esté atento a eventualidades.
- Pregunte a su instructor si tiene alguna duda.

Nunca:

- fume en el laboratorio.

Nunca:

- coma en el laboratorio.

Nunca:

- inhale, deguste o huela imprudentemente reactivos.

Nunca:

- vagabundee o distraiga a sus vecinos.

Nunca:

- corra dentro del laboratorio.

Nunca:

- debe quedarse trabajando solo.

Nunca:

- lleve a cabo experiencias no autorizadas.

Muchas de estas reglas no necesitan explicación adicional. Simplemente, use su *sentido común* (a veces, el menos común de los sentidos).

Señales de peligro más comunes



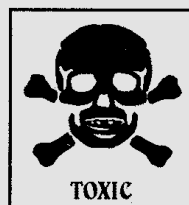
CORROSIVO



EXPLOSIVO



IRRITANTE



TOXICO



NOCIVO



INFLAMABLE



LIQUIDO
INFLAMABLE



ALTAMENTE
INFLAMABLE



OXIDANTE



BIONOCIVO



RADIOACTIVO



CORROSIVO

PROCEDIMIENTOS BÁSICOS EN CASO DE ACCIDENTES

Es responsabilidad del instructor tener a mano dispositivos de primeros auxilios, saber cómo usarlos y tener los números telefónicos de centros de asistencia médica especializados. En caso de accidente, avise inmediatamente a su instructor y, si Ud. no puede, asegúrese de que alguien le avise.

Fuego

El foco del fuego deberá ser aislado: cortar el gas, alejar reactivos y solventes. No entrar en pánico, y si oye la orden de evacuar el laboratorio no se torne inquisidor: váyase.

Incendio de reactivos

Los solventes orgánicos son los reactivos más proclives a tomar fuego. Si el incendio está aislado —en un tubo de ensayos, un vaso de precipitados, un erlenmeyer, etc.— se lo puede ahogar con un vidrio de reloj. Si el fuego se expandió en la mesada se puede apagar cubriéndolo con arena o con una tela de amianto.

Nunca le eche agua, pues los solventes inflamables suelen ser menos densos que el agua, y lo único que logrará es expandir la zona de fuego.

Si el incendio fuera mayor deberán utilizarse extinguidores. El fuego se ataca desde las zonas periféricas al centro; una manipulación inadecuada puede expandir el fuego en lugar de concentrarlo.

Incendio de ropas

Si sus ropas se encendieran nunca corra. Pida ayuda gritando y arrójese al piso rodando sobre sí mismo para apagar las llamas.

No corra hasta la ducha de seguridad, a menos que esté realmente cerca. Al correr, el aporte de aire avivará el fuego.

Si las ropas de su colega se encienden no lo deje correr, envuélvalo en una tela de amianto. Si él se resistiera e intentara correr, arrójelo al suelo: su deber es salvarle la vida. Nunca utilice extinguidores sobre una persona.

Una vez apagado el fuego haga que la persona permanezca quieta, recostada y protegida del frío hasta que llegue la ayuda especializada.

Quemaduras en piel

Si son de pequeño tamaño sólo requieren dejar la zona bajo agua corriente fría durante 10 a 15 minutos. Si la quemadura fue con reactivos, debe limpiarse muy bien la zona afectada.

Use la ducha de seguridad si la extensión de la quemadura es grande. Quite la ropa afectada inmediatamente y llame por atención especializada.

Quemaduras en los ojos

La rapidez con que se elimine el reactivo de los ojos es vital para la recuperación y/o para minimizar el daño posible. Tenga a mano fuentes para lavado de ojos, o simplemente, eche a la persona al suelo y vierta agua en sus ojos, lave bien debajo de los párpados. Siempre acuda al especialista luego de un accidente en los ojos; sin importar lo leve que le parezca.

Cortes

Si se produjera una herida cortante de consideración, además de lavar para eliminar reactivos y/o trocitos de vidrio, deberá recostar al afectado, manteniendo elevada la zona afectada. Puede vendar y aplicar presión directamente sobre la herida, pero nunca aplicar un torniquete. Mantenga a la persona protegida del frío hasta que llegue la asistencia especializada.

Envenenamiento

Es necesario prevenirlo. No se pueden generalizar recomendaciones. Llame con urgencia al especialista.

CAPÍTULO I

Punto de fusión

PUNTO DE FUSIÓN

Consideraciones Teóricas

I.1 ¿Qué es el punto de fusión?

El punto de fusión (PF) normal de un sólido cristalino es la temperatura a la cual el sólido se transforma en líquido bajo presión atmosférica. Para sustancias puras el cambio de estado sólido al líquido ocurre en un rango pequeño de variación de temperatura (aproximadamente 0.5°C), y de allí su relativo valor para identificar a una sustancia por su PF. Si ahora el líquido se enfría, comenzará la solidificación a la misma temperatura, por lo tanto, el PF y el punto de solidificación son idénticos para una sustancia pura (pequeñas diferencias obedecen a fusión y solidificación en distintas formas cristalinas.)

I.2 ¿Cuándo funde un cristal?

El pasaje del estado sólido al líquido implica un desorden del sistema. En el sólido, cada partícula se encuentra ubicada en el cristal de tal forma de tener un mínimo de energía potencial (máxima estabilidad) con respecto a las partículas vecinas. Pero no están inmóviles, aun a bajas temperaturas existe una vibración, alrededor de dicho “nódulo” de mínima energía potencial. Al entregarle calor (energía térmica) al sistema, aumentarán las amplitudes vibratorias, con el consecuente incremento total de energía, que se manifestará como un aumento en la temperatura del sistema.

Llegará un momento, entonces, en que la amplitud vibratoria de las partículas dentro del cristal será tal, que el mismo comience a “deformarse”, hasta que finalmente algunas partículas adquieran una energía suficiente como para lograr movilidad. En este punto comenzará el proceso de fusión del cristal y aparecerá fase líquida. Toda entrega de calor que se suministre al sistema a partir de este punto, será consumida por las restantes partículas que aún requieren energía para superar las fuerzas que las mantienen fijas a la estructura reticular.

Es por esto que, **durante la fusión, la temperatura del sistema se mantiene constante.**

Una vez que fundió el cristal, existe fase líquida. Todo suministro de calor impli-

cará un aumento en la energía cinética de las moléculas, que se manifestará nuevamente como un incremento en la temperatura del sistema.

Sugerencia: Construya un gráfico cualitativo de temperatura del sistema versus tiempo, para una muestra pura que funde a 60°C , y que se calienta con una velocidad de 10° por minuto.

Tanto un sistema sólido como uno líquido tienen presión de vapor. Esto puede visualizarse como la tendencia de las moléculas a "escaparse" del seno de la masa sólida o líquida, respectivamente. Si midiéramos la variación de dichas presiones de vapor con la temperatura (bajo la presión total de una atmósfera), y las representáramos en un sistema de coordenadas cartesianas, obtendríamos las curvas (a) para el sólido y (b), para el líquido, del Gráfico 1.

Como se ve, las curvas de equilibrio de presión de vapor del sólido y del líquido tienen distintas pendientes, y por lo tanto al superponer ambos gráficos, existirá un punto de intersección (Gráfico 1 (c)), que llamaremos F. **Dicho punto tiene la característica fundamental de mostrar una única presión de vapor y la presencia de fases sólida y líquida en equilibrio.** El dato correlativo de la temperatura correspondiente sobre el eje de abscisas es el Punto de Fusión del sistema (PF).

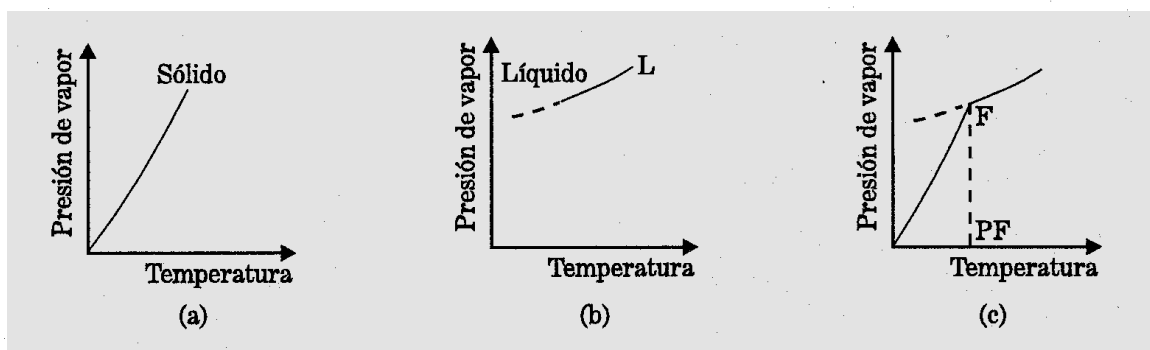


Gráfico 1. Variación de la presión de vapor del sólido y del líquido con la temperatura, a una presión total externa constante.

I.3 ¿Varía el punto de fusión con la presión externa?

Si trabajamos a una presión total distinta de una atmósfera se modificaría la posición del punto F, por haber variado las curvas de equilibrio (esta variación la podríamos observar si construyéramos en el Gráfico 1 (c), un tercer eje, perpendicular al plano de la hoja, y cuya variable sería la **presión total** del sistema). Sin embargo, **el PF no varía apreciablemente con cambios de presión externa**, y esto se debe a que la variación del volumen de la sustancia, ocurrido durante la fusión, es pequeño. En cambio, en la transición de estado líquido a gaseoso (que estudiaremos en el Capítulo III: Punto de Ebullición), la variación del volumen de la sustancia es consi-

derable y, por lo tanto, un cambio en la presión externa implica un cambio notorio en el Punto de Ebullición de la sustancia.

I.4 ¿Depende el punto de fusión de la masa de la muestra?

NO, el punto de fusión es una característica de cada sustancia pura, y tiene que ver con las fuerzas de unión entre las moléculas, pero no con la cantidad de muestra.

Las sales inorgánicas tienen PF muy altos debido a que se deben vencer uniones iónicas para fundir los cristales. En las sustancias orgánicas las fuerzas de unión entre moléculas son del tipo Van der Waals, dipolos transitorios y puentes de hidrógeno, y los PF son menores.

Sin duda podemos imaginar que debemos entregar más calor si queremos fundir un kilogramo de sustancia, que para fundir un miligramo de la misma. Y esto se debe a que hay más uniones intermoleculares que vencer. Pero **durante la fusión la temperatura del sistema será la misma** y la energía que se entrega al sistema se consume como **calor de fusión**. Una vez fundido, el sistema aumentará su temperatura, al entregársele más calor.

I.5 ¿Nos acordamos de la Ley de Raoult?

Raoult observó que la **presión de vapor de un líquido disminuye si se disuelve en él un soluto no volátil** (por ejemplo sal en agua). A mayor cantidad de soluto disuelto, menor será la presión de vapor en equilibrio (**siempre** consideramos que el resto de las variables permanecen constantes: presión total externa y temperatura).

Podríamos "visualizar" la ley de Raoult en el Gráfico 2 siguiente:

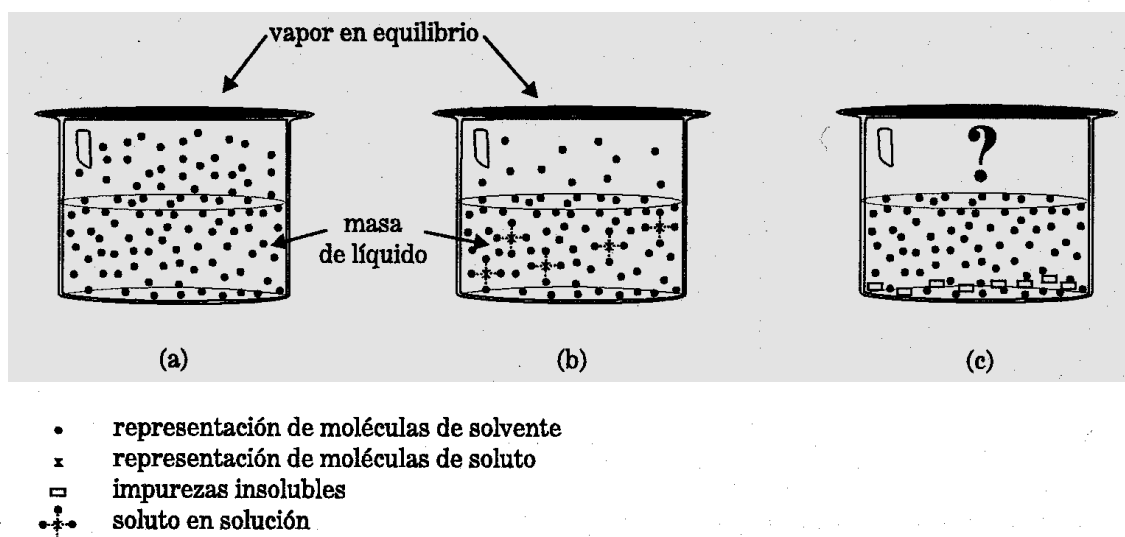


Gráfico 2. Visualización de la Ley de Raoult.

En el dibujo (a) vemos un recipiente con un líquido puro que está en equilibrio con su Presión de Vapor. Hemos representado las moléculas como esferitas. Si a esa masa de líquido le agregamos ahora la impureza que representamos con una "X", y ésta se disuelve, es decir, se solvata y puede mantenerse en solución, podemos imaginar que una cantidad dada de "esferitas" ya no contribuye a la presión de vapor del sistema (están involucradas en la solvatación y ha cambiado la composición del sistema). Por lo tanto, la presión de vapor en equilibrio en (b) es **menor** que en (a).

Como se ve, la condición para que esto ocurra es que la **impureza se disuelva en el líquido**.

Sugerencia ¿Qué ocurriría con la presión de vapor en el caso (c) si la impureza, representada con "rectángulos", no se disuelve? (Por ejemplo arena en agua).

Esta ley de Raoult se utilizará en los capítulos II y III, pero ahora...

I.6 ¿Cómo se relaciona la ley de Raoult con el Punto de Fusión?

Cuando un sólido puro funde, se convierte en un líquido puro y éste cumple las propiedades mencionadas en I.5. Esto quiere decir que, si en el sistema que funde hay presente una impureza (que se disolverá en la fase líquida fundida de la muestra), la presión de vapor del líquido que representamos en el Gráfico 1 (c) será menor que el valor anterior para cada temperatura. Podríamos construir, entonces, el Gráfico 3, en el cual denominamos L-F a la curva para el líquido puro, y L'-F' a la curva de presión de vapor cuando está presente la impureza. Si la impureza aumentara en su concentración, la curva sería L"-F".

Del Gráfico 3 se desprende que la nueva intersección entre las curvas de equilibrio se ha desplazado con respecto a la original. La nueva temperatura a la que comienza la fusión, es ahora PF' o PF" respectivamente.

Se observa entonces que, **una impureza soluble en la fase fundida de la muestra hace descender el punto de fusión de una sustancia pura**. (Experimentalmente se ve, además, un rango de temperatura de fusión mayor que 2°C). Es decir, cuando hay una impureza presente, el punto de fusión aparece a menor temperatura y no se puede determinar con precisión mayor que 1 ó 2°C.

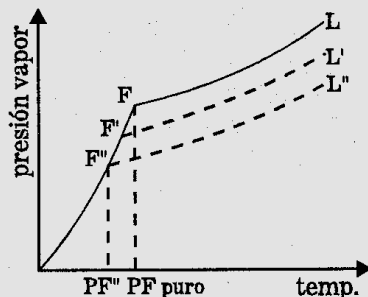


Gráfico 3. Descenso del punto de fusión debido a la presencia de impurezas solubles en la fase fundida de la muestra.

Sugerencia ¿Se acuerda del ascenso ebulloscópico y del descenso crioscópico?
¿Puede hacer alguna analogía con lo aquí expuesto?

I.7 ¿Solutos o impurezas?

En Química Orgánica decimos "una impureza hace descender el punto de fusión de una sustancia pura". Por supuesto, como vimos en I.5 y I.6, la impureza debe actuar como soluto, es decir, disolverse en la fase fundida de la muestra. Se trata, en general, de otra sustancia orgánica que se encuentra en pequeña proporción.

Aplicamos aquí el criterio de que "lo similar disuelve a lo similar" (que utilizaremos también en el Capítulo II, Sección II.3 (a)), es decir, que un compuesto fuertemente iónico (una sal), o un material inerte (carbón), no serán solutos y, por lo tanto, no descenderán el Punto de Fusión de una muestra orgánica.

I.8 Conclusiones

El punto de fusión de una sustancia es una propiedad física que nos permite utilizarla como criterio de pureza y aun de identificación:

i) Punto de fusión como criterio de pureza:

Cuando una sustancia es pura, el rango de temperaturas entre las cuales se produce su fusión es muy pequeño (usualmente 0.5 a 1°C), y el punto de fusión se mantiene constante después de varias purificaciones. Si la muestra es impura, ese rango es muy amplio y está por debajo del verdadero punto de fusión. Por ello, las sucesivas purificaciones de una sustancia orgánica pueden controlarse por su punto de fusión, ya que cuanto más nítido y estrecho sea el rango de fusión, más pura puede considerarse la sustancia.

ii) Punto de fusión como criterio de identificación:

Si después de varias purificaciones el punto de fusión de una sustancia se mantiene nítido y no varía, puede razonablemente suponerse que dicha sustancia es **Pura**. Se recurrirá, a continuación, a libros con tablas de compuestos orgánicos con puntos de fusión análogos. Para poder distinguir unívocamente de cuál de las sustancias con idéntico PF se trata, recurrimos a la experiencia denominada **Punto de Fusión Mezcla**.

El Punto de Fusión Mezcla consiste en mezclar la sustancia (en proporción 9 : 1 u 8 : 2), con muestras puras de los distintos compuestos que poseen idéntico punto de fusión. Sólo se mantendrá la constancia del punto de fusión en el caso de que se trate de la misma sustancia, **pues las que son diferentes actuarán como impurezas** al determinar los puntos de fusión, y éstos serán más bajos.

Puede haber excepciones al comportamiento descrito, por lo cual el **punto de fusión mezcla** es un buen indicio, pero no una prueba absoluta de la identidad de sus dos componentes.

Sin embargo, las mezclas que no se comportan como lo hasta aquí descrito, son **casos excepcionales**.

¿Podríamos imaginar que una mezcla de dos sustancias en una proporción dada, funde neta en un rango de $0.5 - 1^\circ\text{C}$?...

I.9 ¿Qué es una mezcla eutéctica?

Si a una sustancia pura que llamamos A le agregamos cantidades crecientes de otra sustancia B, sabemos que descenderá su PF (Gráfico 4 (a)). Ocurre lo mismo si tomamos el PF de B puro y luego hacemos nuevas determinaciones con cantidades crecientes del sólido A como impureza (Gráfico 4 (b)). Es natural preguntarse, entonces, hasta cuánto se puede deprimir el punto de fusión de una sustancia por agregado de una segunda sustancia. Esa temperatura límite se conoce como **temperatura eutéctica** (T_E); en el Gráfico 4 (c), podríamos visualizarla como la intersección de los gráficos 4 (a) y 4 (b).

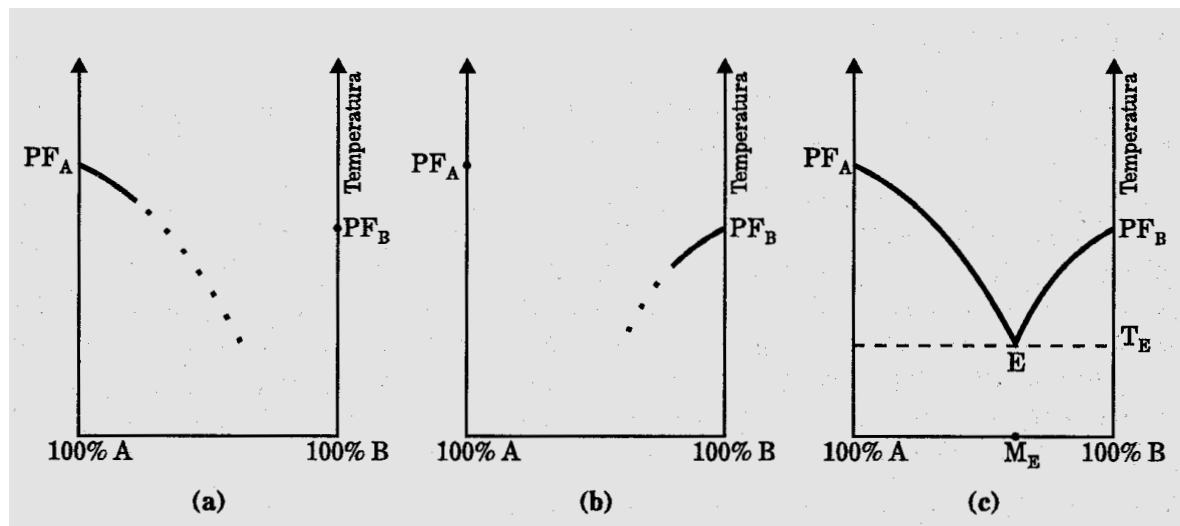


Gráfico 4. Descenso del punto de fusión de una sustancia por agregado de otra sustancia, que actúa como impureza.

Este punto (E) se llama también **punto eutéctico** (del Griego= de fácil fusión; F. Guthrie, 1884), y representa el único punto de la mezcla A-B que tiene 3 fases en equilibrio, a saber: **sólido A puro (100%)**; **sólido B puro (100%)**, y **líquido A-B de composición M_E (mezcla eutéctica)**.

Si calentamos una muestra con dicha composición M_E , veremos que funde, a la temperatura T_E en forma neta, es decir, en un rango de 0.5 a 1°C (¡Como una sustancia pura!), y también T_E será el punto de congelación, si empezamos a enfriar la mezcla M_E fundida.

¿Podemos considerar a la mezcla eutéctica como un compuesto químico definido?:

NO. Si miramos la mezcla eutéctica sólida con un microscopio, veremos los cristales de A y de B, perfectamente separados (**no** forman una solución sólida).

La mezcla eutéctica es en realidad una mezcla íntima, un conglomerado de las dos fases sólidas que la componen.

En la Tabla I.9 se dan ejemplos de mezclas eutécticas.

Tabla I.9: Ejemplos de mezclas eutécticas de compuestos orgánicos.

Sustancia A	PF _A (°C)	Sustancia B	PF _B (°C)	PF Eutéctico (°C)
α naftol	95,5	naftaleno	80	61
alcanfor	179	naftaleno	80	32,3
difenilbutano	27	naftaleno	80	14
ácido benzoico	122	ácido cinámico	133	82
o-nitrofenol	44	o-toluidina	43	15,5
d-pineno	- 64	l-pineno	- 64	- 120

I.10 ¿Puede distinguirse entre una sustancia pura y una mezcla eutéctica?

Para diferenciar entre una sustancia pura y una mezcla eutéctica se podría aplicar lo aprendido en I.8.(ii). Otra solución es recrystalizar, o, de alguna forma, purificar el sistema. Ambos métodos modifican la composición del sistema inicial.

Sugerencia: ¿Qué se observará al determinar el nuevo PF después de la recrystalización de una mezcla eutéctica?

I.11 Análisis del Gráfico 4(c).

Ya sabemos qué ocurre si calentamos una muestra de A puro (100% A), o de B puro (100% B) (repasar la sección I. 1).

También vimos qué ocurre si calentamos una muestra de composición M_E, sección I.9.

¿Qué ocurre en los restantes puntos del eje de concentraciones al ir aumentando la temperatura del sistema?

Supongamos los siguientes datos: PF_A 180°C; PF_B 140°C; T_E 100°C; M_E 60% B y 40% A representados en el Gráfico 5.

Analizaremos los puntos O, P, Q, R, S y T del Gráfico 5 como si pudiéramos observar “ultramicroscópicamente” lo que ocurre. Imaginemos, entonces, que dibujamos como “A” las moléculas de la sustancia A pura; y como “B” las de la sustancia B pura; y “miramos” dentro de los capilares (ver sección I. 16) donde estamos determinando el PF de la mezcla de composición 20% de B, 80% de A (Gráfico 6).

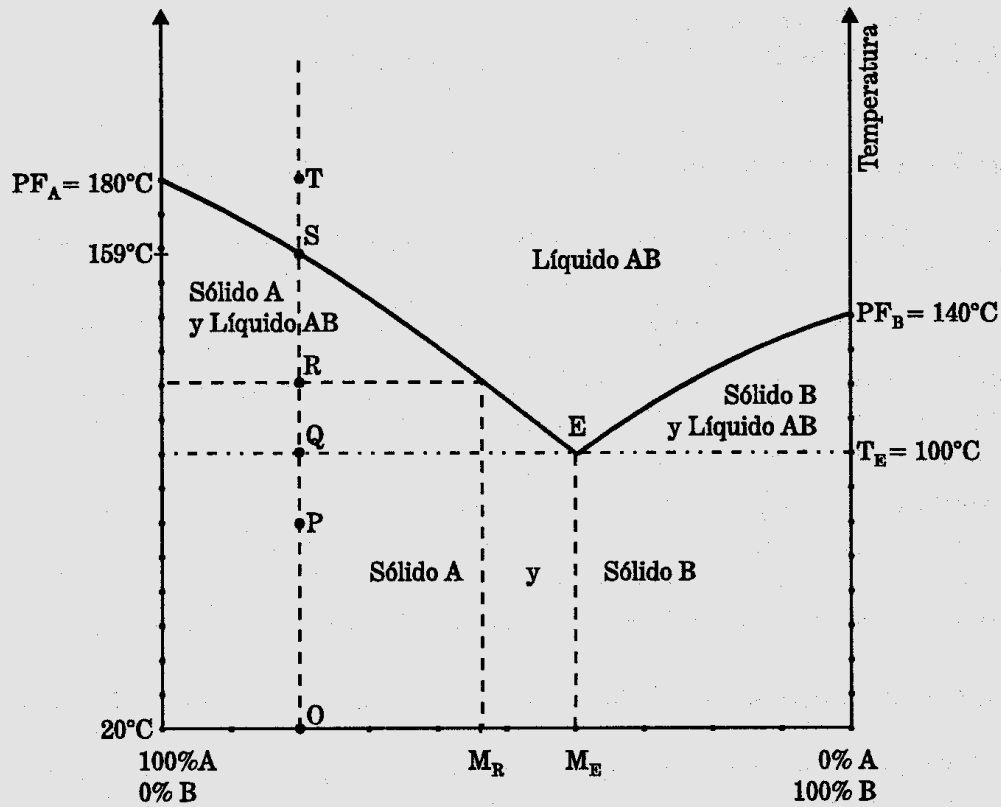
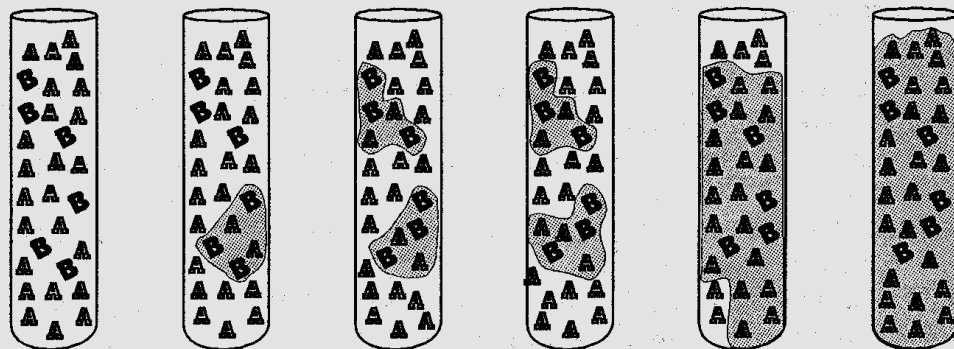


Gráfico 5. Gráfico de temperatura *versus* composición para un sistema de compuestos A y B, tal que: $PF_A = 180^\circ\text{C}$; $PF_B = 140^\circ\text{C}$; $T_E [A(40\%), B(60\%)] = 100^\circ\text{C}$.



Estado
del capilar

a.

b.

c.

d.

e.

f.

Gráfico 6. Visualización del proceso de fusión de una mezcla de A (80%) y B (20%) del sistema A-B del Gráfico 5.

El sistema representado por el punto O presenta 2 fases sólidas a 20°C, es lo que vemos en el capilar (a) del Gráfico 6.

Cuando la temperatura se eleva a 80°C, el sistema representado por el punto P, es "microscópicamente" idéntico al del punto O, es decir, dos fases sólidas presentes (capilar (a)).

Cuando se alcanzan los 100°C de temperatura, punto Q, **comenzará a fundir parte de la mezcla**, exactamente en la proporción del eutéctico. Por lo tanto, la primera fase líquida que aparece en el sistema, tiene la composición M_E (60%B; 40%A). En el Gráfico 6 está representada por el capilar (b), siendo el líquido la zona rayada. **Aún quedan B y A como dos fases sólidas puras.**

El sistema se mantendrá a 100°C mientras quede eutéctico por fundir y, en un "diferencial" sobre el punto Q, se observaría el capilar (c); es decir una fase líquida de composición eutéctica (M_E) y una fase sólida (A puro).

Tabla I.11

Entrada	Gráfico 5	Gráfico 6	Temperatura	Composición total	Nº fases	Composición total	Composición total
1	Punto O	a)	20°	80%A; 20%B	2	100%A 100%B	—
2	" P	a)	80°	"	2	100%A 100%B	—
3	" Q	b) c)	100°	"	3	100%A 100%B	40,0%A; 60,0%B
4	" R	d)	120°	"	2	100%A —	54,5%A; 45,5%B
5	" S	e)	159°	"	2	100%A —	~80,0%A; 20,0%B
6	" T	f)	180°	"	1	— —	80,0%A; 20,0%B

A medida que va subiendo la temperatura del sistema (entre Q y R del Gráfico 5), vemos que en el capilar lo único que puede seguir fundiendo es A, pues la fase **B como sólido, desapareció al fundir el eutéctico**. Por lo tanto, la fase líquida se va enriqueciendo en el componente A.

En el punto R (120°C) tenemos una fase sólida A y una fase líquida de composición M_R (54,5%A; 45,4%B), es decir, lo que se observaría es el capilar (d).

A 159°C (punto S del Gráfico 5) termina de fundir el sólido A. En un diferencial de tiempo antes, se observaría el capilar (e), y aún habría 2 fases presentes.

En el punto T, a 180°C, existe sólo una fase líquida de composición 80%A , 20%B (igual a la inicial).

Lo que se explicó hasta aquí, se resume en la Tabla I.11.

Como conclusión se observa un rango de fusión teórico entre 100 y 159°C, para una mezcla 80%A, 20%B.

Observaciones

- i) Las abscisas de los gráficos de temperatura *versus* composición están dados en fracción molar o porcentaje molar.
- ii) Para conocer la composición de cada una de las fases presentes a una dada temperatura (por debajo de la curva PF_A-E-PF_B ; en el Gráfico 5) se debe buscar la recta horizontal que pasa por dicho punto; las composiciones se encontrarán en el eje de abscisas correspondientes a los puntos de intersección entre dicha recta y el eje de ordenadas o la curva de equilibrio sólido-líquido.

Sugerencias

- Construya una tabla similar a la I.11, partiendo de 25°C y una mezcla de composición B (80%) y A (20%), para el sistema del Gráfico 5.
- Analice lo que observaría si se parte del punto T y se enfría el sistema hasta el punto O.

I.12 Regla de las Fases

Un estudio profundo de cambios de estado y condiciones de equilibrios en distintos sistemas termodinámicos, condujeron a J. Gibbs a deducir (1876) y a H. Roozeboom (1884) a aplicar en físicoquímica, la llamada "Regla de las fases".

Se define como **fase** (F) a cualquier parte homogénea y físicamente distinta de un sistema separada de las otras partes del mismo por superficies límites definidas. Por ejemplo: agua-hielo-vapor, son 3 fases.

La Regla de las Fases se cumplirá, siempre que el equilibrio o proceso ocurriente entre cualquier número de fases esté influido únicamente por la presión, temperatura y concentración.

Precisamente estas variables (V) mencionadas, son los "grados de libertad o varianza" del sistema. El número de grados de libertad de un sistema se define como el número de variables que necesitan ser fijadas para que se pueda definir completamente la condición o estado de un sistema en equilibrio.

La regla de las fases dice que: $V = C - F + 2$

"el número de grados de libertad es igual al número de componentes del sistema, menos el número de fases presentes, más dos".

Al hablar de componente (C), se habla del menor número de componentes puros mediante los cuales se pueda expresar la composición de cada fase existente, ya sea directamente, o a través de una ecuación química. Un ejemplo sencillo es el del sistema agua-hielo-vapor: el componente es $1 = H_2O$. En cambio, si se trata de un sistema como $CaCO_3$ (sólido) $\rightleftharpoons$ CaO (sólido) + CO_2 (g), podría suponerse que son 3 componentes distintos; sin embargo, desde el punto de vista de la termodinámica, son dos (cualesquiera) ya que el tercero lo podemos "deducir" químicamente y escri-

birlo en función de los otros dos. (Sería algo así como: dada una ecuación matemática con una incógnita, despejar ésta en función de los otros términos conocidos.)

Para el caso presentado en el Gráfico 5 y teniendo en cuenta que el mismo fue construido a presión constante, por lo tanto una de las 3 variables ya está fijada "a priori", el análisis de cada punto será el que se muestra en la Tabla I.12.

Tabla I.12

Gráf. 5 puntos	Gráf. 6 capilar	Nº de fases F	Nº de componentes C	Nº grados de libertad V	Tipo de sistema (a una dada presión)	Para definir el sistema se requiere fijar:
O y P	a	2	2	2	monovariante	Temperatura
						Debido a la presencia de 3 fases quedan definidas el resto de las variables y viceversa.
R	d	2	2	2	monovariante	Temperatura o composición de la fase líquida.
						Temperatura y composición de la fase líquida.

I.13 Curvas de calentamiento

Es interesante observar la variación de la **temperatura** del sistema sólido que funde y pasa a estado líquido, **con el tiempo**.

Dado un gráfico con punto eutéctico, se observaría una correspondencia como la que se muestra en el Gráfico 7.

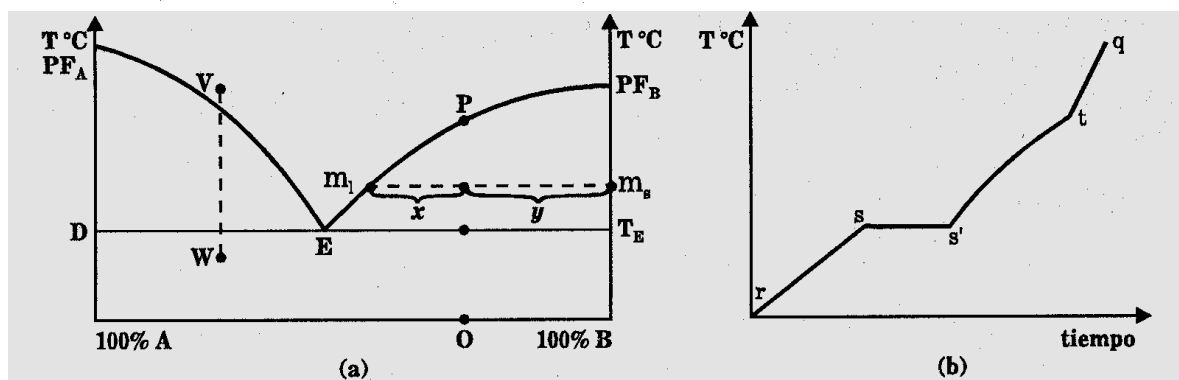


Gráfico 7. a. Curva de equilibrio Temperatura vs. Composición. b) Curva de calentamiento para una mezcla con eutéctico.

Durante el calentamiento del sistema sólido (punto O hasta debajo del segmento D-E- T_E), el suministro de calor al sistema hace que se eleve la temperatura del mismo, correspondiendo el tramo r-s de la curva de calentamiento.

Cuando se alcanza la temperatura eutéctica T_E , todo el sólido eutéctico fundirá lentamente, y en este tiempo no aumentará la temperatura del sistema (tramo s-s' de la curva).

Al salir del segmento invariante (con 3 fases), todavía hay sólido B por fundir, la temperatura del sistema se elevará gradualmente si se suministra calor (tramo s'-t de la curva).

Al llegar al punto P, termina de fundir el sólido, habrá entonces sólo una fase líquida, que aumentará su temperatura si se la calienta (tramo t-q de la curva), pero con una pendiente (velocidad) diferente a la anterior.

Sugerencia 1: Compare este gráfico con el sugerido en el ítem I.2.

Sugerencia 2: Analice la forma que tendrá una curva de enfriamiento, para un sistema AB desde V hasta W (Gráfico 7a).

I.14 Regla de la palanca

A veces puede ser interesante conocer, para un sistema dado, a una temperatura dada, cuál es la cantidad de sólido y/o de líquido presente.

En gráficos de equilibrio este nuevo dato se calcula mediante la "regla de la palanca", que surge de la siguiente igualdad:

$$m_l \cdot X = m_s \cdot Y$$

Como se observa en el Gráfico 7(a), m_l es la masa de líquido, m_s es la masa del sólido en equilibrio, X e Y, son los segmentos allí indicados. Si el gráfico está hecho a escala correcta, los datos de X e Y, son los cm. que se miden en el gráfico.

La otra ecuación necesaria para resolver el problema es la que surge de la conservación de la masa durante la fusión: $m_l + m_s = \text{gr. de masa original}$.

Veamos un ejemplo numérico que se corresponde con el Gráfico 7(a):

Se tienen 10 g del sólido A+B de composición 71,6% de B, 28,4% de A, (punto O) $PF_A = 160^\circ$; $PF_B = 148^\circ$; $T_E = 80^\circ$ ¿Cuánta masa de líquido y de sólido coexisten a 100°C ?

Del gráfico: $X = 1,1 \text{ cm}$
 $Y = 1,7 \text{ cm}$

$$\frac{m_l}{m_s} = \frac{Y}{X} = 1,54$$

$$m_l + m_s = 10 \text{ g}$$

$$\therefore m_l = 10 - m_s = 1,54 \cdot m_s$$

$$\therefore m_s (1,54 + 1) = 10$$

$$\therefore m_s = 3,95 \text{ g}$$

$$\therefore m_l = 6,05 \text{ g}$$

Como se sabe que el sólido es B puro, en el líquido habrá 2,84 g de A (todo lo que había está fundido) + 3,21 g de B fundidos. Esta proporción llevada a porcentual coincide con la que surge del gráfico.

Es importante no confundir estos conceptos:

Composición global original = 71,6% de B; 28,4% de A (es la cantidad relativa de ambas fases sólidas.

Composición de cada fase original = 100% de B; 100% de A.

Composición de cada fase a 100°C = sólido 100% de B, líquido 53% de B; 47% de A.

Cantidad relativa de fases a 100°C: $1,54 m_s = m_l$

I.15 Otros sistemas sólidos

Todo lo visto hasta este punto se refiere a sistemas de dos sólidos, que **son inmiscibles en el estado sólido y miscibles al estado líquido**.

Tales sistemas, al solidificar, dan lugar a cristales puros de cada componente, separados entre sí por sus superficies cristalinas.

Un caso especial dentro de estos sistemas es el de mezclas eutécticas (sección I.9).

En la naturaleza se presentan otros sistemas de dos sólidos, cuyas curvas de Temperatura de Fusión *versus* composición, se complican.

Tales sistemas pueden clasificarse así:

i) Dos sólidos inmiscibles al estado sólido y miscibles al estado líquido, pero **uno de los sólidos tiene puntos de transición**, por tener más de una forma cristalina.

Ejemplo: agua-nitrato de amonio (PF 140°).

Puntos de transición del nitrato amónico:

Cúbico $\rightleftharpoons$ Romboédrico $\rightleftharpoons$ α Rómbico $\rightleftharpoons$ β Rómbico $\rightleftharpoons$ Tetragonal.
125° 84° 32° -18°

ii) Los **componentes son sólo parcialmente miscibles** en el estado líquido, y las fases sólidas siguen siendo componentes puros. Ejemplo: fenol-agua; resorcina-benceno.

iii) Los **componentes A y B son inmiscibles en el estado sólido**, pero a su vez, forman compuestos de PF definido, llamado **Punto de Fusión congruente**. (AB; A₂B; AB₂; etc.) Ejemplo:

A	PF _A	B	PF _B	Compuesto	PF congruente
Oro	1064°C	Estaño	232°C	AB	425°C
Urea	132°C	Fenol	43°C	AB ₂	61°C
Difenilamina	53°C	Benzofenona	48°C	AB	40°C

iv) Los dos componentes son inmiscibles al estado sólido y forman un compuesto, pero que se descompone antes de llegar a su PF (**Punto de fusión no congruente.**)

Ejemplo:

A	B	Compuesto con PF no congruente
Oro	Antimonio	AB ₂
Ácido Pícrico	Benceno	AB
Acetamida	Ácido Salicílico	AB

v) Los **compuestos son solubles en el estado sólido y líquido.** En estos casos las curvas de PF *vs.* composición pueden:

a) No presentar máximo ni mínimo (son del tipo mostrado en la Sección III.8).
Ejemplo: naftaleno-β-naftol; d y l-alcanfor.

b) Presentan un PF máximo o mínimo (son del tipo mostrado en la sección III.9).
Ejemplo: d y l-carvoxima (máximo); *p*-cloriodobenceno-*p*-diclorobenceno (mínimo).

vi) Los dos **componentes son sólo parcialmente miscibles en el estado sólido.**

Ejemplo 1: naftaleno-ácido monocloroacético (con eutéctico).

Ejemplo 2: cloriodobenceno-*p*-di-iodobenceno (sin eutéctico).

vii) Los **componentes son miscibles al estado sólido y forman un compuesto.**

Ejemplos: iodo-bromo

magnesio-cadmio.

PUNTO DE FUSIÓN

Consideraciones experimentales

I.16 ¿Cómo se puede medir un PF?

a) Método del Tubo Capilar

El método más usado para determinar el punto de fusión es el del tubo capilar, para lo cual se emplea tubo de vidrio neutro (los vidrios alcalinos alteran el punto de fusión de las sustancias orgánicas) que previamente se ha lavado con agua destilada y secado.

Los tubos capilares se preparan de la siguiente manera: se calienta un tubo de vidrio blando, limpio, (de paredes finas) de 6 a 8 mm de diámetro, o bien un tubo de ensayos, rotando el mismo en la llama de un mechero hasta que el vidrio se ablande. Entonces se lo retira del fuego y se lo estira, de modo que resulte un capilar de 1-2 mm de diámetro externo.

Una vez frío el tubo, se corta en trozos de 8-10 cm de largo y se cierra por un extremo, colocándolo horizontalmente en la misma llama, cuidando de no formar un bulbo de vidrio demasiado grueso. Los capilares preparados se guardan en un tubo de ensayos limpio y cerrado.

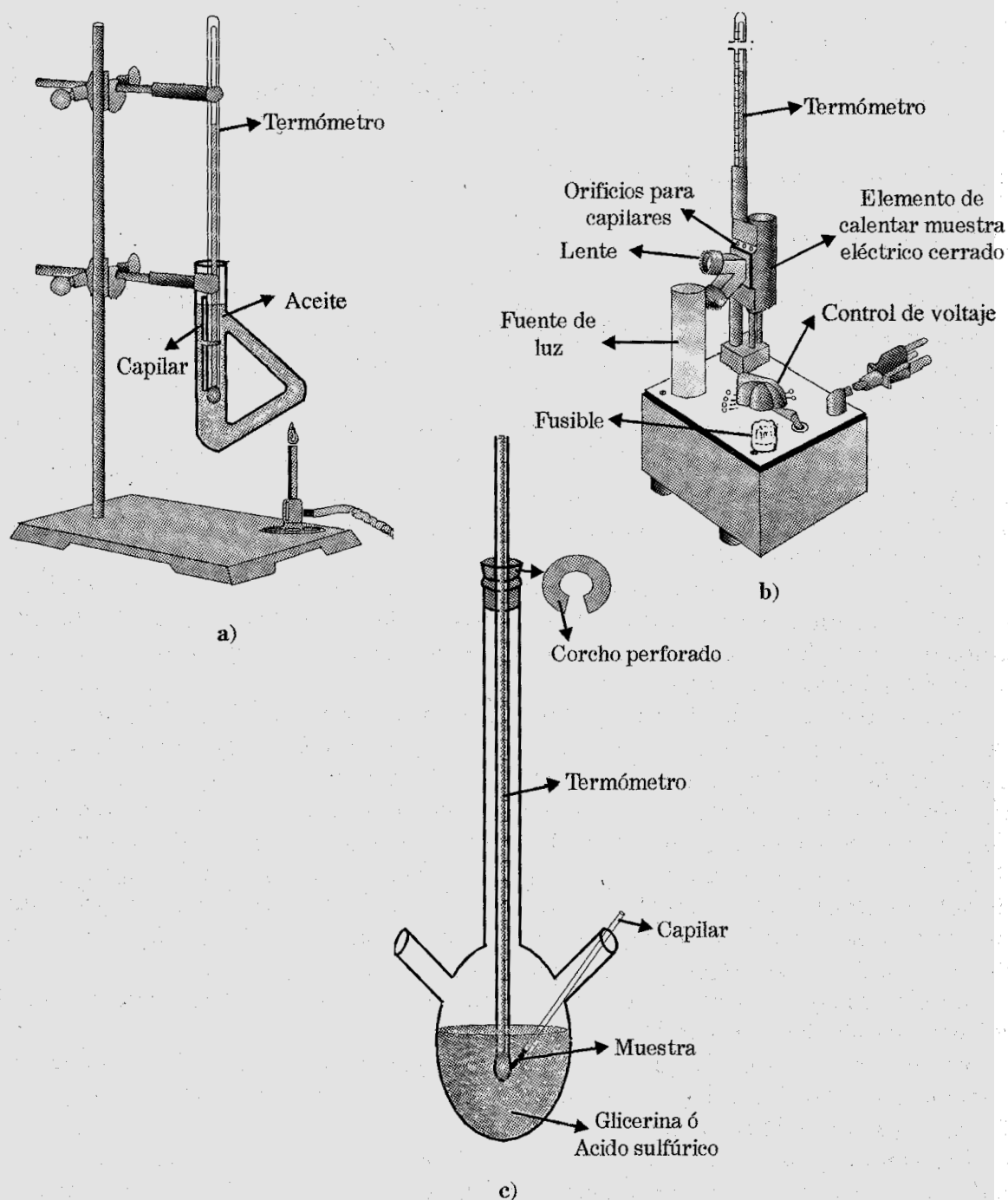
Para el llenado de los tubos capilares se coloca una pequeña porción de la sustancia seca en un vidrio de reloj o plato poroso y se pulveriza con la ayuda de una espátula, formando finalmente un montículo. Se introduce en el mismo el extremo abierto del capilar y el sólido se hace bajar golpeando suavemente el extremo cerrado del tubo en la mesa, permitiendo al mismo tiempo que se deslice el tubo entre los dedos para impedir su rotura. Este proceso se repite hasta que se forme en el fondo del capilar una masa compacta de 2-3 mm de altura. La sustancia que queda adherida a la parte externa del capilar debe limpiarse para impedir que arruine el baño en el cual se determinará el punto de fusión.

En el Gráfico 8 se observan diseños de tres aparatos que permiten determinar el PF por método del tubo capilar.

El aparato más sencillo para tomar el PF consiste en un balón de 100 ml de capacidad con tubos laterales y el cuello largo, lleno hasta las 3/4 partes con ácido sulfúrico (o con glicerina) (Gráfico 8(c)).

Los capilares se introducen por los tubos laterales y se ponen en contacto con el bulbo del termómetro. El termómetro se fija por medio de un tapón de corcho, al cual se le ha practicado una ranura para permitir ver la escala íntegra, así como permitir la libre expansión del aire en el aparato.

Luego se calienta rápidamente en una primera determinación con el objeto de establecer aproximadamente el punto de fusión. En una segunda determinación, con un nuevo capilar, se efectúa un calentamiento rápido hasta unos 20° por deba-



- a) Tubo de Thiele.
 b) Aparato Büchi, modelo Dr. Tottoli.
 c) Balón Kjeldhal modificado para Punto de Fusión.

Gráfico 8. Distintos aparatos que permiten la determinación del Punto de Fusión por el método capilar.

jo del punto de fusión encontrado en la primera determinación, siguiendo con una velocidad de calentamiento de aproximadamente 2°/ minuto, hasta que la sustancia funde.

Es conveniente observar la fusión con ayuda de una lupa y una lámpara ubicada lateralmente. Se anota la temperatura en que la sustancia comienza a fundir y aquella en la que la fase sólida ha desaparecido totalmente.

El baño de ácido sulfúrico no debe calentarse por encima de 220° pues corre el riesgo, sobre todo si se trata de ácido ya usado, de que hierva y salte violentamente. Cuando el baño se ennegrece por el uso, se puede aclarar agregando un cristallito de nitrato de potasio y calentando a 200°. Esto no debe hacerse más de 2 ó 3 veces.

Si es necesario determinar temperaturas más elevadas de las que permite un baño de ácido sulfúrico (220°), se puede emplear una mezcla de ácido sulfúrico y sulfato de potasio (7:3), con lo que se llega a 325°. El baño de glicerina puede usarse hasta temperaturas de 160°C.

El punto de fusión de una mezcla puede presentar características que merezcan ser mencionadas. Generalmente suele describirse dentro de un rango de temperaturas que, como se ha dicho para sustancias puras, es muy estrecho. Pero algunas sustancias puras pueden presentar ablandamientos previos a temperaturas más bajas que la de fusión propiamente dicha y en estos casos se indica de la siguiente manera: PF=115°(abl.), funde a 142°. Algunas sustancias se descomponen al fundir, y esto se indica así: PF= 134°(d).

Una causa de error en la determinación del punto de fusión reside en la dilatación desigual de la columna de mercurio del termómetro a medida que se aleja de la zona caliente del baño. La temperatura de fusión leída, se corrige debido a la columna de mercurio emergente. Esta corrección es aplicable a los puntos de fusión altos.

Se aplica la siguiente fórmula: $C = 0,000158 (Tt)n$ donde, T= Temperatura leída; t= temperatura media de la columna emergente (que se determina con otro termómetro colocado en la parte media de la columna emergente); n= número de grados de la columna emergente; 0,000158= coeficiente de dilatación aparente del mercurio para temperaturas inferiores a 150°. Esta corrección a la temperatura leída se suma y el punto de fusión se indica así: PF 221°(corr).

b) *Método de Fisher-Johns.*

Este método utiliza un aparato como el del Gráfico 9(a).

Consiste en un disco de metal (A) sobre el que se colocan entre 2 cubreobjetos (B), unos cristallitos de la muestra. El disco se calienta eléctricamente, con velocidad regulable (C). Se observa la fusión con ayuda de una lupa (D), y se lee la temperatura en el termómetro del aparato (T) (generalmente se puede leer hasta 280° ó 300°C).

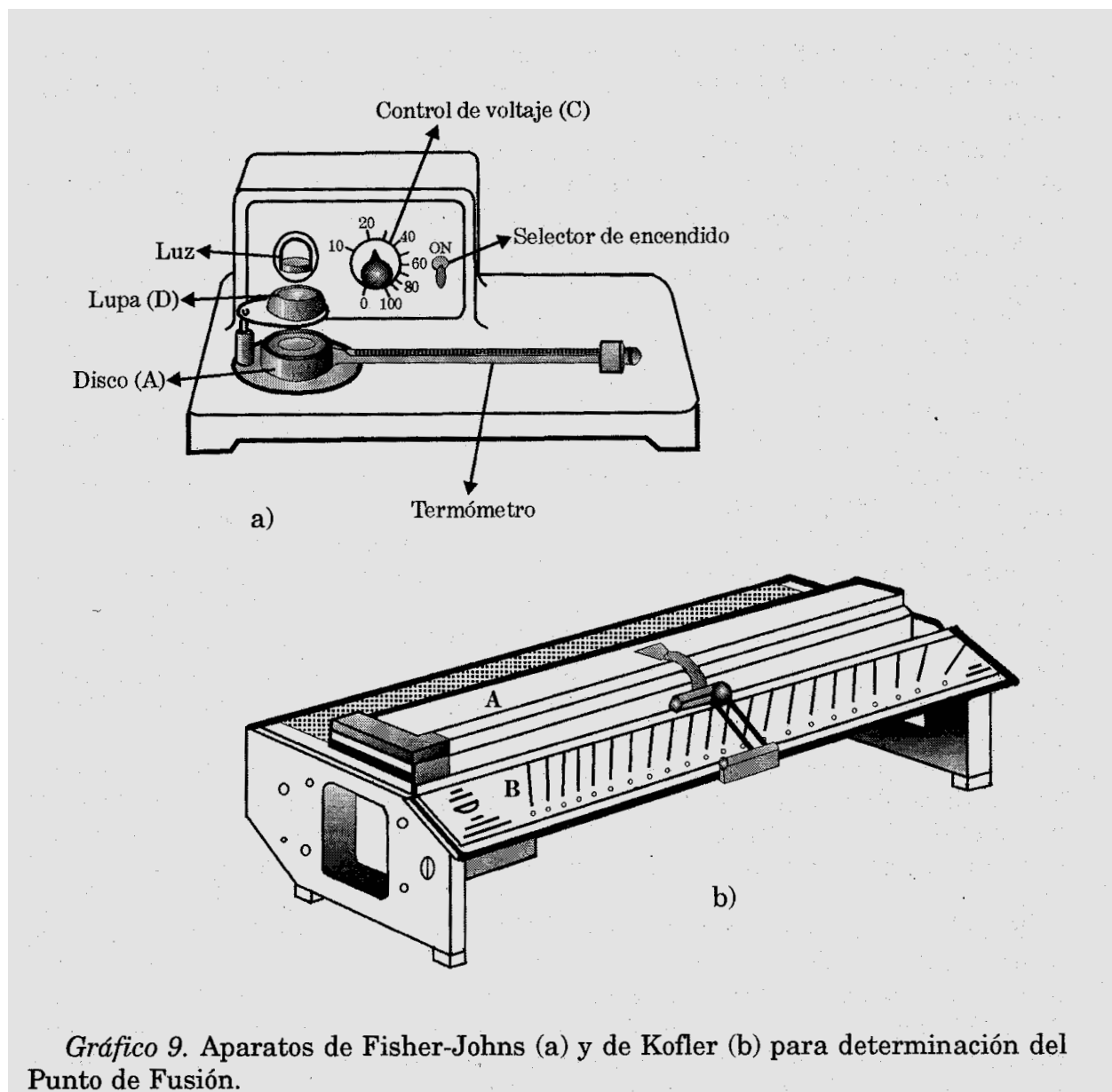


Gráfico 9. Aparatos de Fisher-Johns (a) y de Kofler (b) para determinación del Punto de Fusión.

c) Método de Kofler

En el Gráfico 9(b) se observa el aparato de Kofler para determinaciones de Punto de Fusión. Se emplea en general para sustancias que se descomponen por calentamiento gradual con el método del tubo capilar. Consiste en una determinación rápida. La muestra se deposita en la superficie del banco caliente (A), el que presenta un gradiente de temperaturas constante y calibrado. Se mueve la zapata desplazando a la muestra a lo largo del banco hasta empezar la fusión y se lee su valor sobre la escala (B). La superficie del banco debe estar siempre limpia.

CAPÍTULO II

Recristalización

PURIFICACIÓN DE UNA SUSTANCIA ORGÁNICA POR EL MÉTODO DE RECRISTALIZACIÓN

Consideraciones teóricas

II.1 ¿Qué se entiende por recristalización?

Los compuestos orgánicos obtenidos por síntesis o por aislamiento a partir de sustancias naturales, no son puros ya que usualmente están mezclados con menores cantidades de otros compuestos (impurezas) que es necesario eliminar. Por lo tanto, los productos brutos obtenidos se someterán a repetidas purificaciones hasta llegar a las constantes físicas cuyo valor registra la literatura (punto de fusión, de ebullición, poder rotatorio, etc.) o, en el caso de sustancias no descritas con anterioridad, hasta constancia en el valor de dichas propiedades y en el análisis cuantitativo de sus elementos (C, H, N, halógenos, etc.).

La tendencia general, si la sustancia aislada es sólida, es la de buscar disolventes de los cuales la sustancia cristalice, pues la obtención de una sustancia al estado cristalino puede ser un método para purificarla y describir sus propiedades. Esto no es rigurosamente cierto en todos los casos, puesto que hay sustancias amorfas y aún siruposas que dan excelentes análisis elementales.

Recristalización: Es el procedimiento utilizado para separar un compuesto sólido de sus impurezas, basándose en la diferencia de solubilidades de ambos, en algún solvente, o mezcla de solventes.

II.2 Factores que afectan la solubilidad de una sustancia

a) La solubilidad de un soluto en un solvente particular varía con la temperatura. La mayoría de los compuestos orgánicos son más solubles en solventes calientes que en el mismo solvente frío. Algunos ejemplos se ven en la Tabla II.2.

b) Otro factor que modifica la solubilidad de un soluto, es el "efecto de ion común", basado en el principio de Le Chatelier.

Tabla II.2 Efecto de la temperatura sobre la solubilidad.

Soluto	Solvente	Temp. °C	Solubilidad g/100mL
Acetamida	Etanol	20	25,0
		60	257,0
Acetanilida	Agua	25	0,56
		100	5,0
Ácido Benzoico	Agua	18	0,27
		75	2,2
Colesterol	Etanol	17	1,0
		78	11,0
Iodoformo	Etanol	18	1,3
		78	7,8
Ácido Succínico	Agua	20	6,8
		100	121,0

II.3 Relación entre la estructura molecular y la solubilidad

Para **predecir** la solubilidad de un soluto en un solvente dado, es necesario tener presente las características de ambos.

Para el soluto tendremos en cuenta su carácter iónico o la polaridad de la molécula, su peso molecular, la relación entre éste y los grupos polares presentes y su capacidad para formar puentes hidrógeno.

En lo que respecta al solvente, deben considerarse su polaridad, posibilidad de formar puentes hidrógeno, carácter ácido o básico, y su constante dieléctrica. En la Tabla II.3(a) se detallan características de los disolventes más utilizados en el laboratorio.

Uno de los factores principales que hay que tener en cuenta al considerar la solubilidad de un soluto en un solvente dado, es la **polaridad** de ambos compuestos. Las uniones interatómicas exhiben distintos grados de polaridad y la suma vectorial de estos dipolos locales puede determinar que en la molécula los centros de carga positiva y negativa no coincidan, es decir, que sea polar.

Ediciones Zorro Siglo XXI
"Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis"

Tabla II.3 (a). Disolventes usuales

Disolvente	Constante dieléctrica	Punto de ebullición	Comentario
Éter de petróleo	1,9	Variable	Inflamable
Hexano	1,9	69°C	Inflamable
Ciclohexano	2,0	81°C (PF 7°C)	Inflamable
Dioxano	(2,2) ^a	101°C (PF 12°C)	Completamente miscible con H ₂ O
Benceno	2,3	80°C (PF 5,5°C)	Inflamable
Sulfuro de carbono	2,6	46°C	Con olor, inflamable
Éter Dietílico	4,3	35°C	Inflamable
Cloroformo	5,0	61°C	
Acetato de Etilo	6,4	77°C	
Ácido Acético	(7,1) ^{a,b}	118°C (PF 16°C)	Completamente miscible con H ₂ O; ácido
Tetrahidrofurano	(7,6) ^a	65°C	Completamente miscible con H ₂ O
Piridina	(12,5) ^a	115°C	Completamente miscible con H ₂ O; básica
Alcohol Isopropílico	15,7 ^b	82°C	Completamente miscible con H ₂ O
Acetona	21,4	56°C	Completamente miscible con H ₂ O
Etanol	24,3 ^b	78°C	Completamente miscible con H ₂ O
Metanol	33,1 ^b	65°C	Completamente miscible con H ₂ O
Acetonitrilo	33,9	81°C	Completamente miscible con H ₂ O
Dimetil-formamida	36,7 ^b	153°C	Completamente miscible con H ₂ O
Sulfóxido de Dimetilo	48,9	189°C	Completamente miscible con H ₂ O
Agua	80 ^b	100°C	Completamente miscible con H ₂ O

a) La constante dieléctrica se afecta enormemente con trazas de agua. Estos disolventes, como se obtienen ordinariamente, son mucho más polares debido a la presencia de agua.

b) Solventes que presentan uniones del tipo puente de hidrógeno.

Los solventes fuertemente polares disuelven solutos iónicos, o altamente polares, pero no sustancias de baja polaridad.

Análogamente, los solventes poco polares no disuelven eficazmente a las sustancias iónicas o muy polares, pero sí, a las poco polares.

En este principio general se basa la regla que dice que "lo similar disuelve lo similar", que ya habíamos enunciado en la sección I.7.

Otro factor importante es la posibilidad de **formación de uniones puente hidrógeno**. En el caso de agua, metanol, etc. la posibilidad de formar puentes hidrógeno soluto-solvente, facilita la disolución de aquellos solutos que puedan participar en este tipo de unión.

Así, las sustancias con grupos hidroxilos son generalmente muy solubles en agua y metanol, un poco menos en etanol y así en orden decreciente a medida que crece el peso molecular del alcohol; estos casos son ejemplos típicos en los que la solubilidad se favorece por formación de uniones hidrógeno entre el soluto y el solvente. Los grupos -COOH y $\text{-SO}_3\text{H}$ aumentan la solubilidad de un compuesto en agua.

Desde el punto de vista general, los disolventes pueden clasificarse en polares y no polares, existiendo además algunos de polaridad intermedia.

Entre los disolventes polares se tiene el agua, los alcoholes, la dimetilformamida (DMF), el dimetilsulfóxido (DMSO) y algunos ácidos de bajo peso molecular (fórmico y acético).

La polaridad del agua y los alcoholes está vinculada a la presencia del grupo -OH .

A medida que aumenta el peso molecular de los alcoholes, se observa prácticamente una disminución de la polaridad, la que puede atribuirse a que en la molécula la parte no polar, o sea la cadena hidrocarbonada, va preponderando y la influencia del -OH disminuye.

Por ello, el agua tiene una polaridad máxima y el n-butanol mínima, en la serie de los solventes hidroxilados normales más usados.

Entre los disolventes poco polares podemos citar el éter de petróleo (hexano), tetracloruro de carbono, ciclohexano, benceno y tolueno.

La constante dieléctrica de un líquido nos puede indicar, aproximadamente, la polaridad del mismo para su empleo como solvente.

Sin embargo, la **polaridad real** de cualquier líquido y su potencialidad como solvente, es una combinación de constante dieléctrica, posibilidad de formación de puentes hidrógeno y presencia de agua, o no, en dicho solvente.

Resumiendo, podemos establecer un orden práctico en cuanto a la polaridad de los solventes que se utilizan comúnmente en el Laboratorio. Como se ve en la Tabla II.3 (b), la llamamos "serie eluotrópica" ya que la necesitaremos nuevamente al estudiar el Capítulo de Cromatografía, haciendo referencia al poder "eluyente" de los solventes, que aquí utilizamos para disolver.

Tabla II.3 (b). Serie eluotrópica de solventes.



Éter de Petróleo
Ciclohexano
Sulfuro de Carbono
Tetracloruro de Carbono
Benceno
Tolueno
Diclorometano (cloruro de metileno)
Cloroformo
Eter Etílico
Tetrahidrofurano (THF)
Acetato de Etilo
Acetona
n-butanol
Etanol
Metanol
Agua
Ácido Acético

Sugerencia: Compare las Tablas II.3 (a) y II.3 (b).

I.4 Algunos ejemplos prácticos

Para poder disolver y así lograr extraer polisacáridos de tejidos vegetales, usualmente se hierva repetidas veces con agua el vegetal previamente pulverizado. La solución acuosa contiene el polisacárido, el que se precipita de la misma mediante una disminución de la polaridad del medio por agregado de cantidades crecientes de etanol.

Las grasas y ceras (no polares), se extraen con éter o cloruro de metileno, a partir de los tejidos animales o vegetales.

El empleo de ácidos como disolventes ya sea para extraer o para recrystalizar debe ser encarado con cuidado, debido a su reactividad química, pues un disolvente debe ser químicamente inerte, es decir, que no debe haber peligro de que reaccione con las sustancias que se quieren extraer o purificar.

El efecto salino (salting out), se basa en aumentar la fuerza iónica de una solución acuosa (para hacerla más polar) y lograr una disminución de la solubilidad de la sustancia orgánica disuelta.

RECRISTALIZACIÓN

Consideraciones experimentales

Generalidades

Una recrystalización se lleva a cabo disolviendo al sólido impuro en el solvente caliente, permitiendo luego que la solución se enfríe; de esta forma, el sólido se separará de la misma como precipitado cristalino.

El manipuleo de solventes requiere el uso de pipetas. Estas pueden ser graduadas o aforadas, y antes de utilizarlas debe verificarse si tienen aforo inferior, o únicamente superior. Para cargar las pipetas, se hace vacío en las mismas, desde su extremo superior con ayuda de una perita de goma. Una vez cargada con solvente, se tapa el extremo superior con el dedo índice, y se lleva al volumen deseado permitiendo la entrada de aire, con el consecuente drenaje de solvente.

Sugerencia: analice por qué los solventes muy volátiles serán difíciles de retener en la pipeta.

En el comercio pueden adquirirse adaptadores de seguridad para llenado y drenaje de pipetas (Propipetas), de goma inerte, que se utilizan para muestras líquidas tóxicas o corrosivas (Gráfico 10).

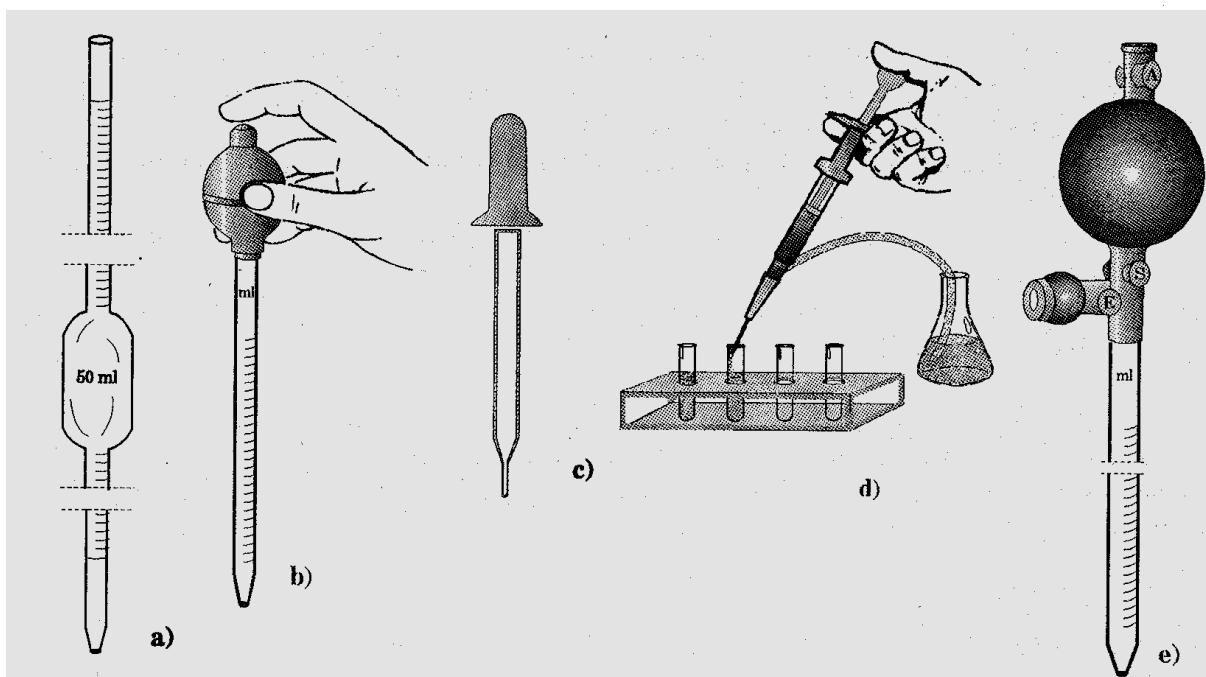
Para medición exacta de volúmenes pequeños (hasta 1 ml), se consiguen dosificadores automáticos.

II.5 ¿Cómo se recrystaliza?

El método de purificación de una sustancia por recrystalización, comprende los siguientes pasos:

- 1) Selección del solvente adecuado.
- 2) Disolución del sólido impuro en el solvente caliente.
- 3) Decoloración de la solución.
- 4) Separación de las impurezas insolubles por filtración en caliente.
- 5) Cristalización del sólido.
- 6) Recolección de los cristales, por filtración en frío.
- 7) Secado de los cristales obtenidos.
- 8) Determinación de la pureza del sólido obtenido.
- 9) Cálculo del rendimiento logrado.

Para que las impurezas se eliminen en forma definitiva, se necesita que éstas sean **totalmente insolubles** en el solvente caliente (la muestra está disuelta), o



- a. Pipeta aforada y graduada.
- b. Carga de una pipeta, con ayuda de un bulbo de goma.
- c. Pipeta capilar con gotero.
- d. Dosificador automático para pequeños volúmenes.
- e. Propipeta: constituida con 3 válvulas que se accionan por presión. Puede manejarse con una sola mano.
 1 Se presiona el bulbo y la válvula A, expulsando el aire interior. 2 Se presiona la válvula inferior S, para cargar la pipeta por succión. 3 Se presiona la válvula E para dosificar el drenaje necesario.

Gráfico 10. Elementos para dosificar solventes.

bien, que sean **totalmente solubles** en el solvente frío (la muestra está como sólido cristalino). En ambas situaciones la muestra se separa de las impurezas por filtración, pero en caliente o en frío, según corresponda.

El paso n° 3, se lleva a cabo únicamente, cuando la solución (muestra + solvente) es coloreada, y el color se debe a impurezas, no a la muestra solubilizada.

Veamos en detalle cada uno de los pasos mencionados:

II.5.1 Selección del solvente adecuado

El punto clave para el éxito de la recristalización es la elección del solvente apropiado. Un solvente ideal para purificar un sólido por recristalización debe reunir las siguientes características:

- a) No debe reaccionar con el soluto.
- b) Debe disolver, al producto a purificar, mucho más a alta temperatura (normal-

mente a P. de Ebullición del solvente), que a bajas temperaturas (en general temperatura ambiente o baño de hielo); es decir, el **cociente entre la solubilidad en caliente y en frío debe ser grande.**

- c) La solubilidad de la sustancia a purificar debe ser lo más baja posible en el solvente frío.
- d) Debe disolver los contaminantes a bajas temperaturas o no disolverlos a alta temperatura.
- e) Debe tener un punto de ebullición relativamente bajo para facilitar el secado de los cristales húmedos.

Los solventes que se utilizan comúnmente están en la Tabla II.3 b).

Cuando dos o más solventes resulten igualmente indicados para una recristalización, se usará el de más fácil purificación, menor inflamabilidad y menor toxicidad y costo.

¿Cómo se elige el solvente adecuado para cristalizar una muestra?

El criterio para elegir un solvente para recristalización no puede ser el mismo que para efectuar una extracción. En este último caso debe procurarse una solubilidad máxima de la sustancia a extraer en el solvente a elegir, aun a temperatura ambiente.

Por ejemplo, si bien el agua es un solvente útil para extraer sustancias que poseen gran número de hidroxilos en su molécula (por ejemplo polisacáridos), como disolvente de recristalización no es el más adecuado, debiéndose usar otros menos polares como son los alcoholes o mezclas de alcoholes con agua.

Cuando se trata de una sustancia conocida, se pueden consultar directamente sus datos de solubilidad en un manual de Laboratorio. Pero, cuando la sustancia es desconocida se debe recurrir a la determinación experimental para seleccionar el solvente adecuado.

Si bien las generalizaciones antes descriptas en lo que se refiere a polaridad de sustancias y disolventes sirven como criterio orientador, no pueden sustituir a la determinación experimental para seleccionar el disolvente más adecuado.

Esta determinación se efectúa con unos pocos miligramos de muestra (10-20) en un tubo de ensayos pequeño (10 x 75 mm) a los que se agrega gota a gota (agitando con una varilla) y calentando, el disolvente que se considere apropiado. Si el compuesto se disuelve a temperatura ambiente, el solvente elegido no sirve para la recristalización.

Si la sustancia no se disuelve después de agregar 1,5-2 ml en caliente se considerará poco soluble y se hará un ensayo similar con otro solvente. Si esta vez se disuelve totalmente en caliente, se enfriará el tubo y se comprobará la aparición de cristales (espontánea o inducida por raspado con varilla de vidrio). Si la precipitación es masiva, se ha encontrado el solvente correcto para la recristalización.

De no producirse la cristalización en frío, se seguirá buscando otro disolvente, empleando siempre tubos de ensayo limpios y secos para cada ensayo.

Puede ocurrir que queden partículas de impureza sin disolver, y esto se comprueba por filtración en caliente y ensayo de solubilidad de esas partículas en el mismo solvente a ebullición. Si no se disuelven, son impurezas insolubles que deben separarse por filtración en caliente.

En estos ensayos es necesario tener en cuenta que la buena disolución de los cristales depende, además de su solubilidad, de su tamaño. Por ello es necesario usar la sustancia preferentemente molida y agitar eficientemente con una varilla.

A menudo una sustancia es demasiado soluble en un disolvente y lo es muy poco en otro, por lo que **se usan para recristalización ambos solventes** conjuntamente, siempre que ellos sean **totalmente miscibles** entre sí.

La técnica a seguir en estos casos es la de disolver la sustancia en caliente, en la mínima cantidad posible de solvente en el cual sea más soluble y luego agregar gota a gota el otro solvente, agitando hasta ligera turbidez permanente; finalmente se agrega una pequeña cantidad del primer solvente gota a gota hasta total disolución, siempre en caliente. Luego se enfría para comprobar la cristalización.

Frecuentemente ocurre que al agregar el solvente en el que la sustancia es menos soluble, el grado de sobresaturación obtenido es demasiado alto y el precipitado es coloidal o aceitoso. En estos casos la recristalización se hará mediante el agregado lento del solvente en el que la sustancia es menos soluble, y se enfriará lentamente raspando las paredes del recipiente con varilla de vidrio.

Los alcoholes de bajo peso molecular son frecuentemente usados en combinación con un solvente no polar. Pares de solventes muy útiles son: alcohol-agua; éter étlico-pentano; cloroformo-hexano; benceno-éter de petróleo; alcohol absoluto-éter étlico.

Conviene que los solventes del par tengan puntos de ebullición cercanos, para evitar variaciones en la composición de la mezcla al calentar o filtrar por succión (evaporación del más volátil).

II.5.2 Disolución del sólido impuro en el solvente (o mezclas de solventes) caliente

El sólido impuro debe disolverse en la **mínima cantidad** de solvente caliente para facilitar un máximo de recuperación de la muestra, cuando se enfríe la solución.

Si la cantidad de sustancia a recristalizar supera a la que cómodamente se puede tratar en un tubo de ensayo, y el solvente a utilizar es inflamable o muy volátil, se armará un aparato de reflujo, como se muestra en el gráfico 11. En el caso en que el solvente es inflamable debe utilizarse una plancha calefactora —en vez de mechero— (Gráfico 11b) y un baño de aceite, glicerina o agua, dependiendo de la temperatura final deseada.

El disolvente se agrega al sólido depositado en el recipiente en pequeñas cantidades por la parte superior del refrigerante (**retirando, previamente, el mechero!**), y calentando unos minutos después de cada agregado. Con el reflujo nos aseguramos de que no se pierda solvente por evaporación durante la disolución en ca-

liente. Esto resulta fundamental cuando se agrega una **mezcla de solventes**, ya que si el sistema fuera sin reflujo, se perdería el solvente más volátil, modificándose continuamente la relación de los mismos, que se había considerado como óptima, en los ensayos preliminares (selección del solvente).

Esta característica de mayor evaporación del solvente más volátil, lo estudiaremos en detalle en el Capítulo III: Punto de Ebullición.

II.5.3 Decoloración de la solución

Cuando la muestra a recrystalizar es coloreada, al ser disuelta dará una solución coloreada. Algunas veces ocurre que la muestra no es coloreada, pero la solución sí, debido a la presencia de impurezas coloreadas.

Estos contaminantes solubles se eliminan por **adsorción** selectiva sobre la superficie del carbón activado.

El carbón se agrega en pequeña cantidad a la solución caliente, previo al paso de filtración.

Como en la superficie del carbón también se puede adsorber algo del compuesto que se intenta purificar, es esencial agregar poco (no más de un 2%).

Es importante que la solución no se encuentre sobrecalentada antes del agregado del carbón por lo que generalmente se saca el recipiente del fuego durante un breve lapso, y luego se agrega una punta de espátula de carbón cada 50 ml de solvente, aproximadamente.

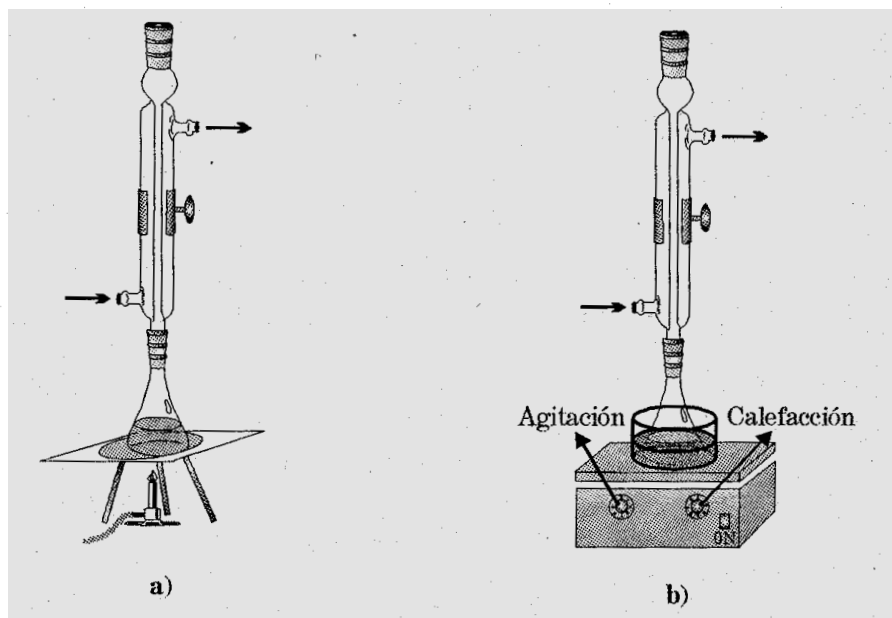


Gráfico 11. Aparatos para reflujo sistemas líquidos de solventes inflamables. (a) con mechero; (b) con manta calefactora regulable.

II.5.4 Separación de las impurezas, filtración en caliente

La filtración es una técnica en la cual el líquido se hace pasar por una barrera porosa, tal como un papel de filtro o un vidrio sinterizado.

Cuando se está llevando a cabo una recrystalización, a menudo se requiere filtrar en caliente. Esto ocurre cuando se observan impurezas insolubles en la solución a ebullición de la muestra a recrystalizar, o bien, cuando se ha agregado carbón decolorante.

La filtración en caliente puede realizarse por gravedad o por succión. La elección del método se hará en función de la disponibilidad del material de laboratorio necesario.

Las impurezas insolubles y el carbón decolorante se deben eliminar estando la solución caliente (en frío precipitarían también los cristales deseados), y el punto clave es que durante este proceso de filtración, no se enfríe la solución.

En muchos casos la filtración puede hacerse simplemente por **gravedad** utilizando un papel de filtro plegado, como se muestra en el Gráfico 12.

El plegado del papel tiene dos propósitos: por un lado, aumenta la superficie de contacto entre el papel y el líquido; y, por otro lado, disminuye el área de contacto entre el embudo y el papel de filtro. Ambos hechos mejoran la velocidad de filtrado.

Otra forma de filtración es la que utiliza *succión*, técnica que permite una filtración rápida, pero que requiere material de laboratorio especial.

Para la filtración por succión se utiliza un embudo Büchner o un embudo Hirsch, perfectamente adaptados (con tapón de goma perforado) a un Kitasato frasco o tubo, a través del cual se hace succión (generalmente con una trompa de vacío conectada a una canilla).

Sobre la placa perforada del embudo Büchner se coloca un papel de filtro circular que no toque las paredes del embudo, y que no tenga pliegues que impidan el buen cierre.

El aparato que se utiliza se muestra en la Gráfico 13 (a).

Siempre deben sostenerse a un soporte los equipos de filtración para evitar que vuelquen.

La filtración en caliente por succión, puede tener algunas complicaciones.

Por ejemplo, solventes muy volátiles como acetona —o mezclas de solventes como éter etílico-éter de petróleo—, podrán evaporarse por efecto de la succión, modificando la proporción de solventes en la mezcla, o enfriando al embudo, generando en él la prematura formación de cristales. Estos cristales precipitados en el embudo, junto con las impurezas que se querían eliminar, conducen a la disminución del rendimiento de la cristalización.

Para evitar esto, es conveniente agregar a la solución una pequeña cantidad de solvente caliente en exceso, previo a su filtrado y realizar la filtración en pequeñas porciones manteniendo a la solución en constante ebullición durante el proceso.

En todos los casos, antes de filtrar, se calienta el embudo y se moja el papel de filtro con el solvente caliente que se está utilizando, para lograr adherencia perfecta sobre la placa filtrante.

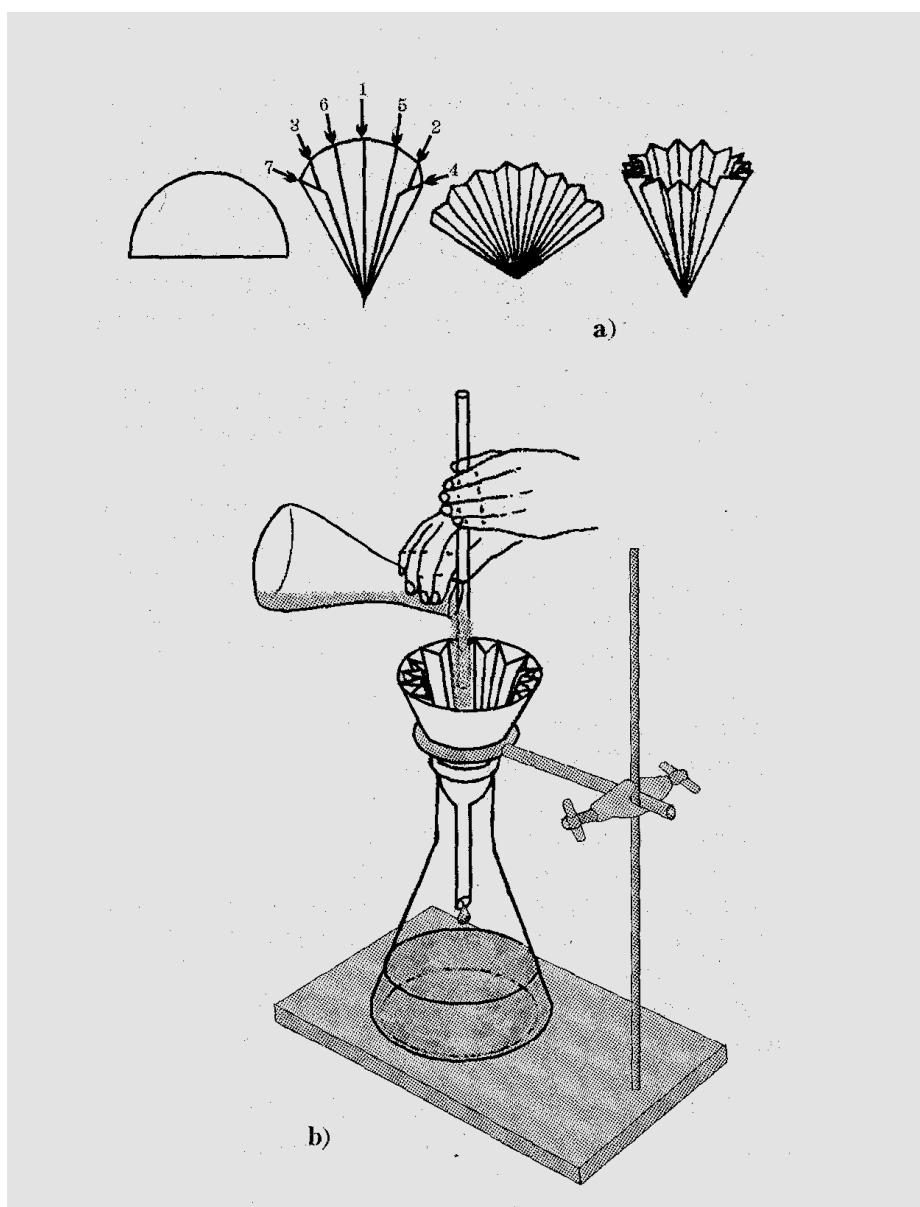


Gráfico 12: Filtración con papel de filtro. a) Plegado del papel de filtro: orden de dobleces. b) Filtración por gravedad con papel de filtro plegado.

Si se quieren separar impurezas insolubles en caliente, cuyo tamaño de partícula sea tan pequeño que atravesase el papel de filtro, deberá emplearse un **lecho de Celite** (= tierra de diatomeas = filtercel).

Si el volumen a filtrar en caliente es pequeño, esta operación se realizará en un embudo de Hirsch (Gráfico 13 (b)), teniendo también la precaución de que el pequeño círculo de papel de filtro que se va a emplear, ajuste perfectamente sobre el fondo perforado y no se pliegue sobre las paredes del embudo. Estos dispositivos se armarán sujetándolos a un soporte para evitar que se puedan volcar.

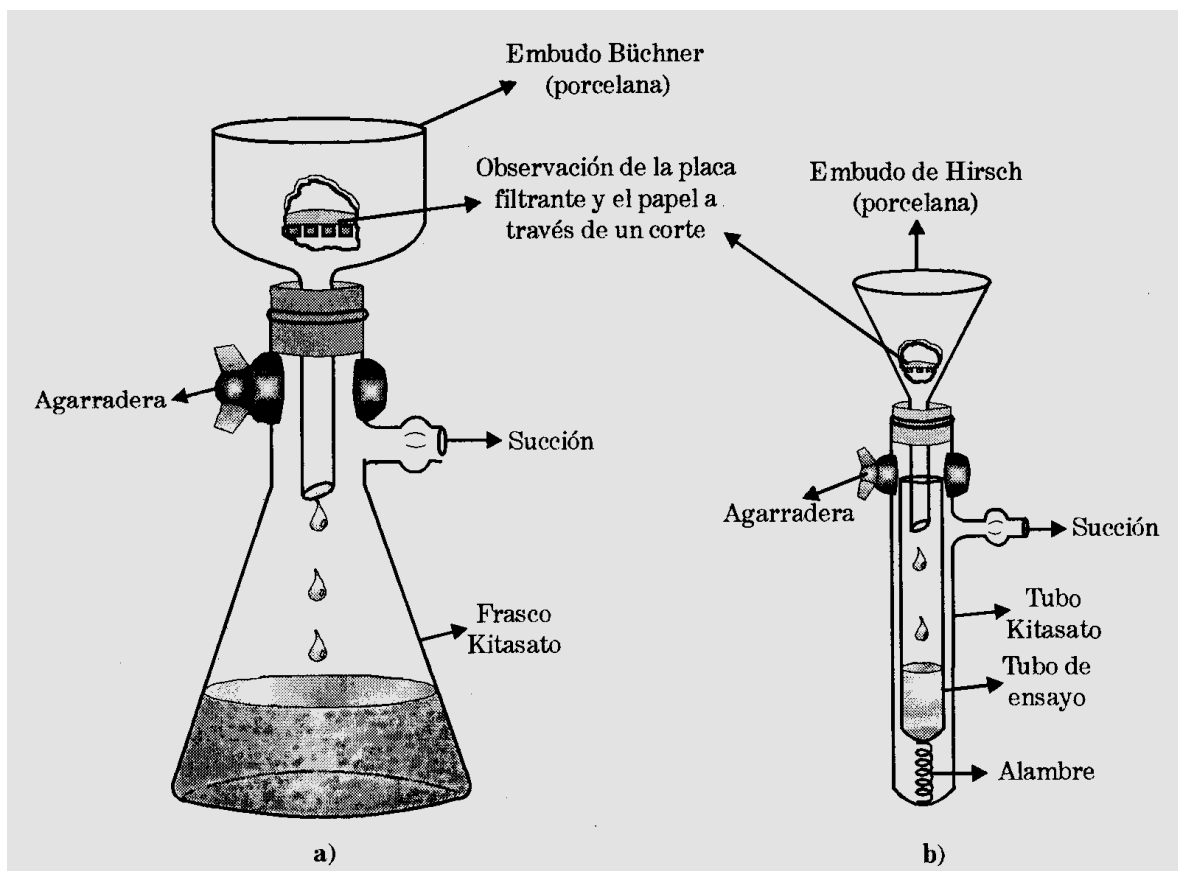


Gráfico 13: Aparatos para filtración por succión. (a) con embudo Büchner; (b) Hirsch.

¿Cómo armar el lecho de tierras diatomeas?

Se suspende la cantidad necesaria de Celite en el **mismo solvente caliente** que se está utilizando. Se vuelca sobre el Büchner o Hirsch ya preparado (y entibiado), y se hace succión. El lecho deberá cubrir todo el fondo del embudo y tener un espesor de 2 a 3 mm. Antes de que se seque el Celite se filtrará la solución, evitando así que se formen grietas en el lecho, lo que disminuiría su eficacia.

En ciertas ocasiones, es conveniente agregar Celite a la solución caliente que contiene carbón. Se vuelca luego sobre el embudo, inmediatamente después de aplicar succión.

La filtración por lecho de celite siempre demanda más tiempo y cuidados que una filtración por gravedad o succión sin él. Esta demora, a menudo conduce al enfriamiento parcial del aparato y el riesgo consecuente de una cristalización masiva prematura en el embudo. Para evitar esto, es conveniente agregar un pequeño exceso del solvente en el que se recrystaliza; de esta forma, la solución no estará tan críticamente cerca de su valor de saturación a ebullición.

Mientras tiene lugar la filtración, se va colocando la solución en pequeñas por-

ciones sobre el embudo y el volumen restante a filtrar se mantiene caliente hasta el final de la filtración.

Una vez que se ha hecho pasar toda la solución se lava el recipiente original con un poco de solvente caliente y se pasa por la capa filtrante.

Si en el filtrado recogido, se formaron cristales, debido al contacto con las paredes frías del Kitasato, dicho contenido se vuelve a calentar. Se disuelven así, los cristales y se pasa la solución a un Erlenmeyer limpio para su cristalización definitiva.

La solución se cubre y se deja enfriar.

Sugerencia: ¿Cómo procedería para recuperar los cristales de muestra que se formaron en el embudo, por enfriamiento de la solución, durante la filtración en caliente?

II.5.5 Cristalización del sólido

Una vez que se ha efectuado la filtración en caliente, se enfría al mismo tiempo que se raspan las paredes internas del recipiente con una varilla de vidrio de punta redondeada.

Esta operación, que debe efectuarse suavemente, permite la formación de pequeñas partículas, que actuarán como núcleos de cristalización. El enfriamiento de la solución debe hacerse a una velocidad moderada para obtener cristales medianos. Conviene evitar la formación de cristales muy pequeños (por enfriamiento rápido), pues, en conjunto, poseen una gran superficie de adsorción, en la que queda fijada una mayor cantidad de impurezas.

Si el sólido no cristaliza, se pueden utilizar los siguientes pasos para inducir la cristalización:

- i) Raspar durante más tiempo las paredes del recipiente, con una varilla de vidrio de punta redondeada, y por debajo del nivel de la solución.
- ii) Agregar un cristal del compuesto puro (siembra). (Si tales cristales no se tienen, se pueden lograr por evaporación de una alícuota de solvente, o por enfriamiento drástico de una porción de solvente).
- iii) Enfriamiento de la solución a una temperatura inferior a 0°C (mezclas frigoríficas de hielo-sal, etc.).
- iv) Evaporar parte de la solución y reenfriar (se debe tener cuidado de no impurificar la sustancia deseada, por descomposición de la misma durante un calentamiento prolongado).

A veces la sustancia se separa de la solución como un jarabe que cristaliza con dificultad o no cristaliza. En estos casos es conveniente diluir un poco la solución y dejarla evaporar espontáneamente a temperatura ambiente, raspando en cuanto empiece a enturbiarse.

Cuando este método fracasa se puede enfriar varios días en la heladera o intentar directamente una segunda recrystalización del jarabe depositado en el fondo del recipiente previa decantación del líquido sobrenadante. En ocasiones, se necesita recuperar mayor cantidad de muestra, y, por ejemplo, se concentran las aguas madres de cristalización, para luego enfriar y recoger una nueva cosecha de cristales.

Sugerencia: ¿Qué puede decir acerca de la pureza de los cristales de esta nueva cosecha?

II.5.6 Recolección de los cristales, filtración en frío

Una vez producida la cristalización en frío, se separan los cristales mediante filtración al vacío. Para cantidades grandes del producto se emplea un embudo Büchner del tamaño adecuado, mientras que para pequeñas cantidades se usa un embudo Hirsch. Ambos se preparan como se indicó para la filtración en caliente; obviamente, en este caso no debe emplearse celite, debiendo estar la superficie del papel de filtro perfectamente limpia, lisa y adherida la placa perforada. Se vuelca a continuación la suspensión de cristales sobre el centro del papel de filtro con ayuda de una varilla de vidrio mientras se aplica succión.

Frecuentemente parte de los cristales quedan en el recipiente, siendo conveniente pasar una parte del líquido filtrado o líquidos madres al recipiente original para poder trasvasar con su ayuda los cristales.

Luego los cristales deben ser lavados con el objeto de eliminar los líquidos madres que los impregnan, los cuales, por secado, depositarán sobre las superficies de los cristales las impurezas que llevan disueltas. El solvente de lavado es generalmente igual al empleado para la recrystalización y debe usarse la menor cantidad posible para evitar pérdidas por disolución.

Sugerencia: ¿Cuándo lavarías los cristales con un solvente distinto del utilizado en la recrystalización?

Para efectuar los lavados se interrumpe la succión y se humedecen los cristales que se hallan en el embudo con el solvente frío. Con la ayuda de una espátula o varilla de vidrio con la punta redondeada, se agita cuidadosamente para que el solvente impregne toda la masa cristalina y lave así los líquidos madres.

Se aplica nuevamente succión y se ayuda al drenado de los líquidos madres, presionando el precipitado con un tapón chato de vidrio o con una espátula curva. Este lavado conviene repetirlo dos veces más, a menos que se observe una apreciable disolución de los cristales en el líquido de lavado.

II.5.7 Secado de los cristales

Los cristales obtenidos por recrystalización tienen solvente absorbido. La evapo-

ración del solvente de la superficie de los cristales se conoce como secado, y se realiza según la técnica general de secado de sólidos, que se discute en la sección II.6.

Si el solvente de recrystalización es volátil, los cristales pueden secarse al aire, en lugar cálido y debidamente protegidos del polvo del ambiente.

Si el solvente fuera difícil de evaporar por exposición al aire, puede utilizarse un desecador con conexión al vacío (ver Gráfico 14).

En el caso en que los cristales estuvieran húmedos y su secado requiriera condiciones más drásticas puede utilizarse una pistola secadora (sección II.6).

II.5.8 Determinación de la pureza del sólido obtenido

Una forma de determinar la pureza del sólido consiste en tomar su punto de fusión, como se vio en la sección I.8 (i).

Los métodos experimentales para determinar el punto de fusión, fueron descritos en la sección I.16.

Otro método de controlar la pureza es el de cromatografía en capa delgada, cuyas consideraciones teóricas y experimentales se verán en el Capítulo de Cromatografía

II.5.9 Cálculo del Rendimiento de una recrystalización

a) Cálculo experimental.

Una vez realizado el proceso de recrystalización, interesa calcular el rendimiento del mismo, es decir, la recuperación de masa respecto de la masa inicial sometida a recrystalización.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final obtenida}}{\text{masa inicial}} \times 100$$

Los datos de la ecuación son experimentales.

Sugerencia: ¿Cómo afecta el rendimiento una gran cantidad de impureza? (masa inicial= muestra + impureza).

Sugerencia: Si la muestra está inicialmente pura, ¿puede lograr un 100% de rendimiento?

b) Cálculo teórico

Si la muestra es conocida y se cuenta con los datos de solubilidades en frío y en

caliente, se podrá calcular qué cantidad exacta de solvente se requerirá para la disolución total en caliente, y qué masa de muestra precipitará al enfriar (será la masa final que se recupere).

Veamos un ejemplo numérico:

El ácido benzoico tiene los siguientes datos de solubilidades en agua: a 0°C = 1,7 g/litro (solubilidad en frío = S_F); y a 100°C = 68,5 g/l (solubilidad en caliente S_{θ}).

Si se parte de 10 g de ácido benzoico, indicar:

- Mínima cantidad de solvente caliente para recrystalizar.
- Masa solubilizada al enfriar. (masa_{sol. frío})
- Rendimiento teórico.

Respuesta

- Cantidad mínima de solvente para disolver los 10 g en caliente:

$$V = \frac{\text{masa inicial}}{S_{\theta}} = \frac{10}{68,5} = 0,146 \text{ l}$$

- Masa que queda soluble en el volumen V, al enfriar:

$$m_{\text{sol. frío}} = V \cdot S_{\text{frío}} = 0,146 \times 1,7 = 0,248 \text{ g}$$

- El cálculo de rendimiento, suponiendo que no hubo pérdidas experimentales. será:

$$\frac{\text{masa inicial} - m_{\text{sol. frío}}}{\text{masa inicial}} \times 100 = \frac{10 - 0,248}{10} \times 100 = 97,5\% \quad (1)$$

Se observa que factorizando en (1) =

$$\text{Rendimiento} = \left(1 - \frac{\text{masa}_{\text{sol. frío}}}{\text{masa inicial}}\right) \times 100 \quad \text{es decir,}$$

$$\text{Rendimiento} = \left(1 - \frac{S_F \cdot V}{S_{\theta} \cdot V}\right) \times 100 = \left(1 - \frac{S_F}{S_{\theta}}\right) \times 100 = \left(1 - \frac{1,7}{68,5}\right) \times 100 = 97,5\%$$

Como S_F nunca es cero, el rendimiento, nunca será del 100 %. Pero, cuanto **menor** sea el cociente S_F / S_{θ} , mejor será la recuperación de masa lograda.

(Releer la sección II.5,1 (b)).

Sugerencia: Dado que el cálculo de rendimiento teórico se pudo expresar en función de parámetros tabulados, ¿cómo calcularía el rendimiento teórico para una segunda recristalización?

II.6 Consideraciones generales del secado de sólidos en el laboratorio

El secado de sólidos se puede realizar en la estufa a temperaturas elevadas en el caso de sustancias no sensibles al calor. Mejor y más delicado es, sin embargo, el secado en el desecador o a temperatura elevada en la pistola de secado (Gráfico 14). La mayoría de las veces, puede aumentarse la eficacia de secado si se utiliza un agente desecante y se aplica, además, el vacío. Para secar al vacío son inadecuados los desecantes de acción física como el ácido sulfúrico, la sílica, la alúmina y los tamices moleculares. Los desecantes más utilizados cuando se utiliza vacío son pentóxido de fósforo o hidróxido de sodio sólido.

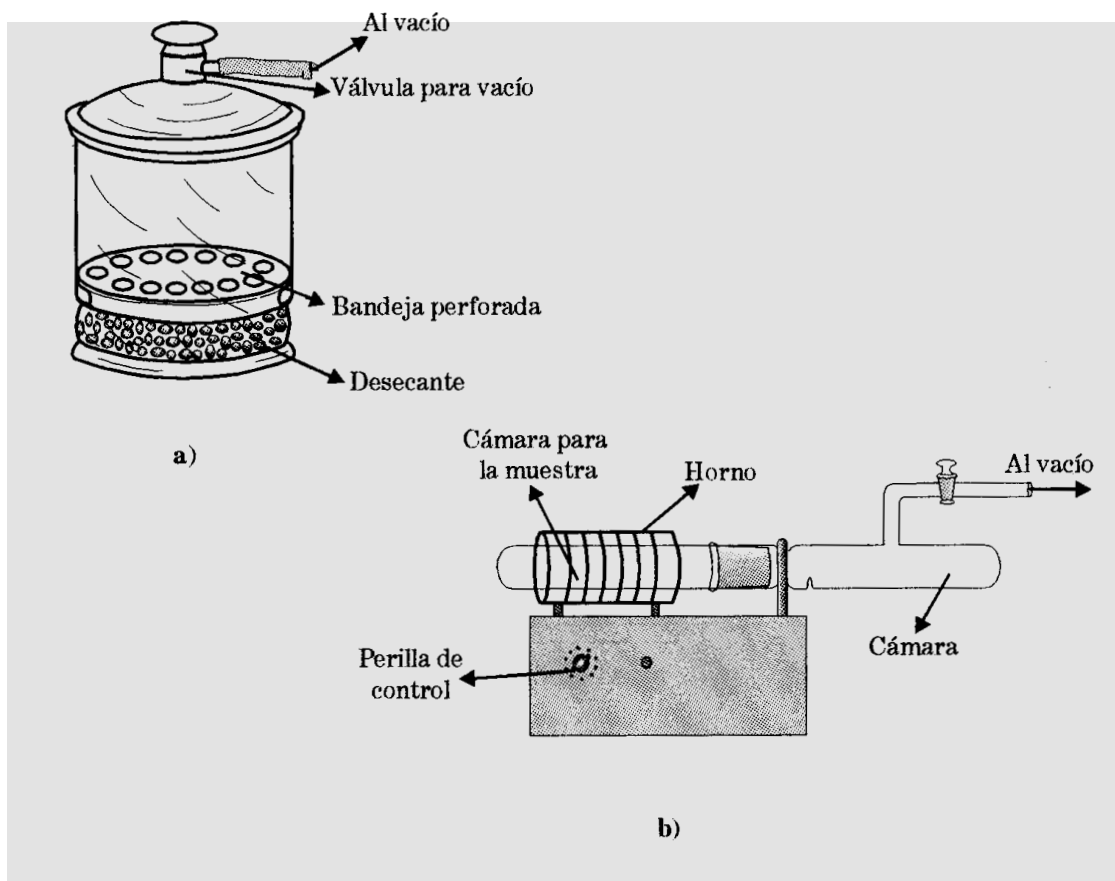
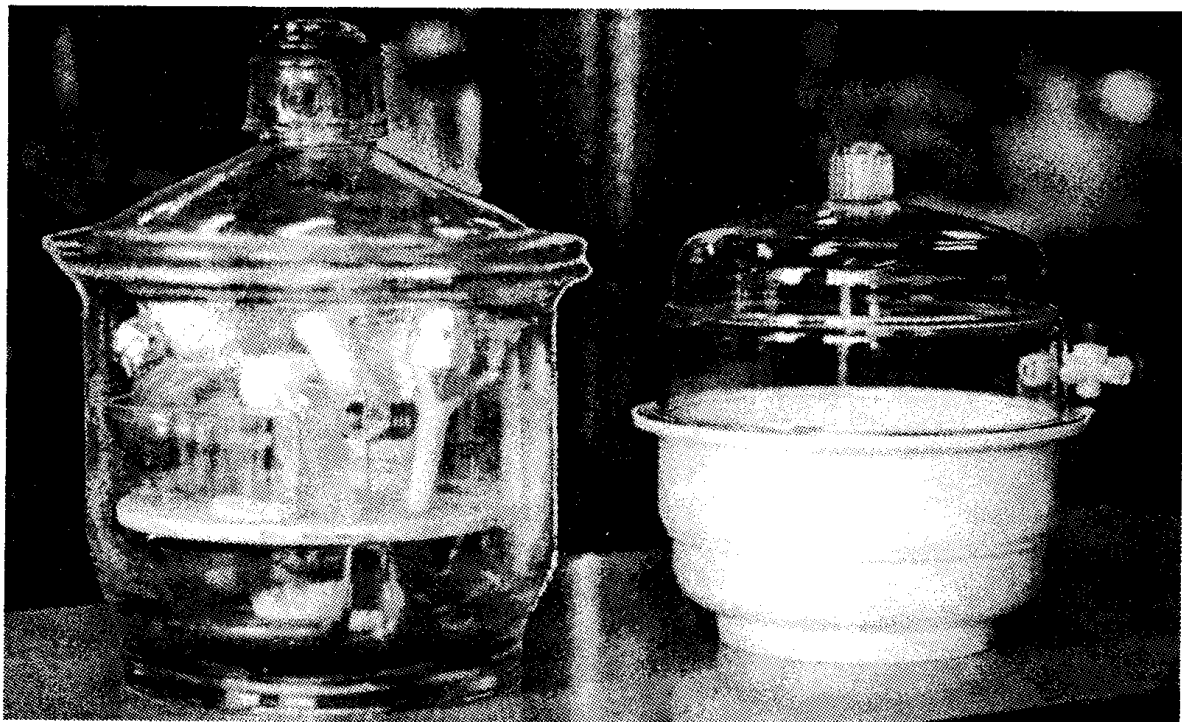
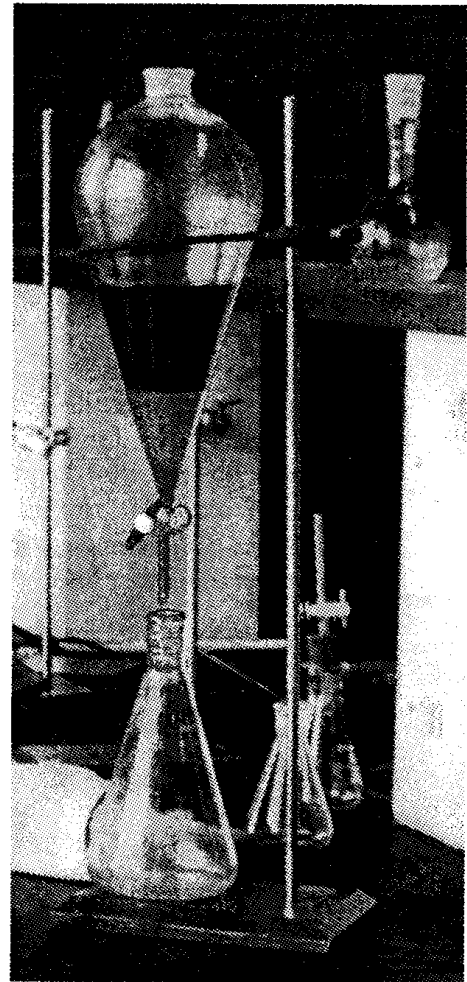


Gráfico 14.: Equipos para secado de sólidos. (a) en desecador; (b) en pistola de vacío.

CAPÍTULO III

Punto de ebullición

Ediciones Zorro Siglo XXI
"Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis"



PUNTOS DE EBULLICIÓN

Consideraciones Teóricas

PARTE A

LÍQUIDOS TOTALMENTE MISCIBLES

III.1 ¿Qué es la presión de vapor de un líquido?

Si se deja un líquido en un recipiente abierto, se evaporará.

La evaporación es el escape de las moléculas de la fase líquida a la fase vapor (si el recipiente está abierto, no hay condiciones de equilibrio líquido-vapor).

Si se coloca un líquido en un recipiente cerrado, en el que se ha hecho vacío, el líquido se evaporará hasta que su vapor llegue a una **presión**, cuyo valor será característico de dicho líquido, para cada temperatura (**Presión de vapor en equilibrio**).

Se dice, entonces, que el ambiente está **saturado** de ese vapor.

III.2 ¿De qué variables depende?

Las experiencias demuestran que **a una dada temperatura la presión de vapor** de una sustancia líquida (en contacto con dicho líquido) **tiene un valor constante**, e independiente de la cantidad total de líquido o de vapor, presentes en el sistema. (Aclaración: el valor de la presión de vapor de un líquido puro no depende de la cantidad del mismo. En el caso de soluciones líquidas, la presión de vapor dependerá también de la concentración, pero esta variable la tendremos en cuenta más adelante, a partir de la sección III.6).

La presión de vapor, que se mide generalmente en mm de Hg (mercurio), aumenta con el incremento de la temperatura del sistema, como se observa en el Gráfico 15.

Cuando el Servicio Meteorológico señala, por ejemplo, una temperatura de 25°C con 40 % de humedad relativa ambiente, está diciendo que para esa temperatura la atmósfera tiene el 40 % del valor de presión de vapor que le correspondería en es-

tado de saturación (25 mm de Hg, aproximadamente, según la curva de equilibrio del Gráfico 15), es decir, 10 mm de Hg.

Sugerencia: asocie cualitativamente este Gráfico 15 con el I.1.

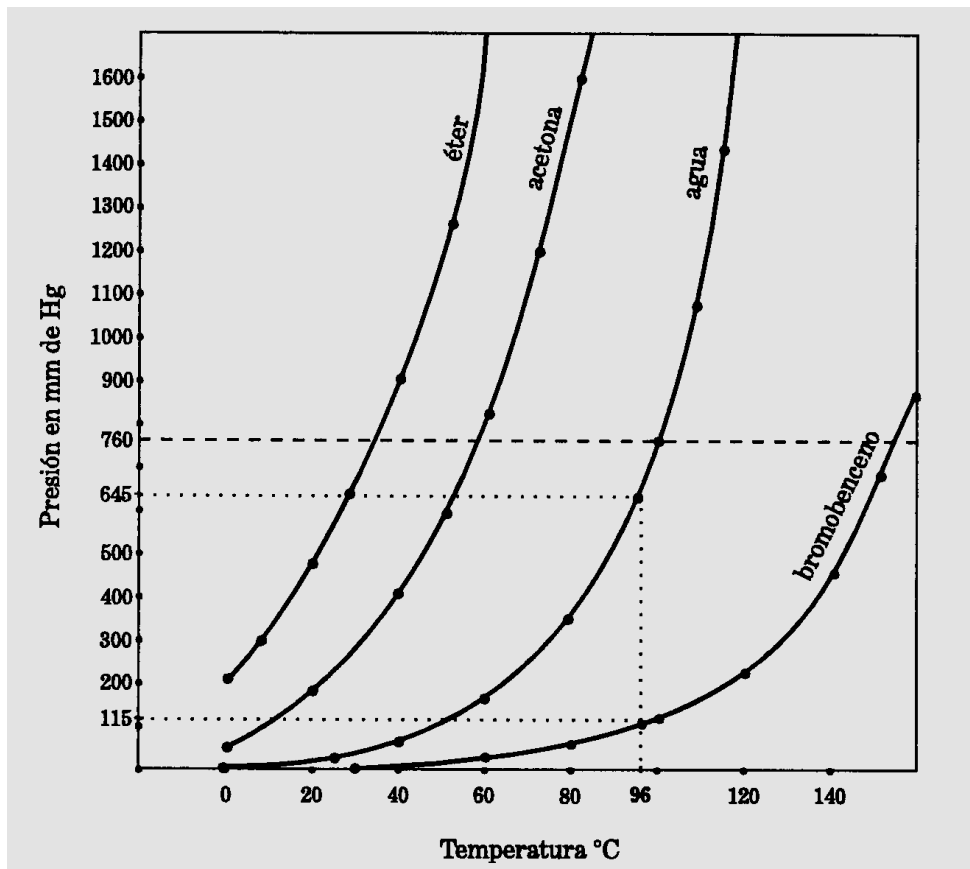


Gráfico 15. Curvas de Presión de Vapor *versus* Temperatura para líquidos puros

III.3 ¿Qué es el Punto de Ebullición de un líquido?

Cuando la presión de vapor de un líquido aumenta, por incremento de la temperatura, llega un momento en que ésta alcanza el valor de la presión externa que está soportando el sistema. En el Gráfico 15 se observa que, bajo una presión de una atmósfera, la curva de equilibrio del agua alcanza el valor de 760 mm de Hg de presión de vapor, a una temperatura de 100°C. Se dice, entonces, que el agua ebulle.

Se define el punto de ebullición (PEb) de un líquido como la temperatura a la cual la presión de vapor del mismo es igual a la presión total que soporta el sistema (si la presión total es 760 Hg, se lo llama PEb normal).

Cuando el líquido ebulle la evaporación ya no es un fenómeno superficial y ocurre también por formación de burbujas dentro del seno de la solución.

Si a un líquido que ha alcanzado su punto de ebullición, se le sigue entregando

energía, su temperatura no aumentará, pero podrá alcanzarse el calor de vaporización sostenidamente en toda la masa del líquido, de tal forma de mantenerse la generación de burbujas y, por lo tanto, la ebullición y la evaporación.

III.4 ¿Cómo varía el PEb con la presión externa?

Análogamente a lo que se vio para el punto de fusión (sección I.3), la variación del PEb con la presión está relacionada con el cambio de volumen asociado a la transición entre el estado líquido y el gaseoso. Dicho cambio de volumen (V) es grande y, por lo tanto, cambios en la presión externa afectarán notablemente al punto de ebullición de una sustancia.

Se comprende, además, por la definición de punto de ebullición (sección III.3), que al disminuir la presión externa, disminuye el punto de ebullición del líquido. Esta característica es de gran utilidad cuando se deben destilar líquidos que se descomponen en su punto de ebullición normal. Por ejemplo el β -pineno destila a 164°C a 760 mm de Hg, con descomposición, lo que disminuye el rendimiento; en cambio ebulle a 57°C a 20 mm de Hg (para referencias experimentales ver sección IV.10.ii).

El uso del evaporador rotatorio (sección IV.11) también aprovecha esta propiedad. Este aparato permite evaporar un solvente, en general de extracción (Capítulo VI), con el objeto de recuperar lo que está disuelto en él, y que podría ser afectado por la temperatura, en una destilación común.

III.5 ¿Cómo varía el PEb con la estructura molecular?

Que una sustancia se encuentre en estado sólido, líquido, o gaseoso, depende de la fuerza de atracción entre sus moléculas.

Los líquidos cuyas moléculas se atraen poco mutuamente, tendrán una presión de vapor alta (las moléculas tendrán gran tendencia a “escaparse” del seno del líquido). Las fuerzas intermoleculares más fuertes son las de puente de hidrógeno, luego dipolos permanentes, transitorios y de fuerzas Van der Waals (con el incremento del peso molecular aumentan las dos últimas).

Conociendo, entonces, la estructura de los compuestos, puede organizarse un orden aproximado de sus puntos de ebullición.

Hasta aquí, no se tuvo en cuenta la variable “concentración”. Es decir, todo lo precedente es aplicable tanto a un líquido puro, como a una solución de una concentración dada. A continuación, se discutirá cómo varía la presión de vapor de un líquido con la concentración del mismo en una solución con otro líquido.

III.6 Presión de vapor de una mezcla de líquidos miscibles

a) Como ya se vio en la sección I.5, la presión de vapor de un líquido disminuye con la presencia de un **soluto**. La expresión de la ley de Raoult es:

$$P_A = P_A^\circ \cdot X_A, \text{ donde}$$

P_A = presión de vapor del líquido A, en la solución.
 P_A° = es la presión de vapor del líquido A puro.
 X_A = es la fracción molar de dicho líquido.

Como se observa, la ecuación de Raoult es representada por una recta, si se grafica P_A versus X_A ; cuando el líquido está puro ($X_A=1$), la presión de vapor del sistema es P_A° (Gráfico 16).

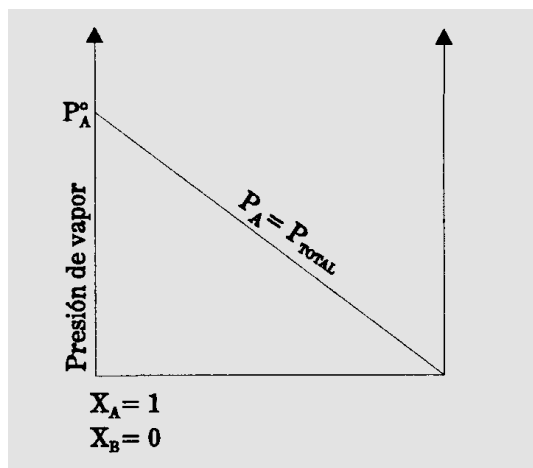


Gráfico 16. Ley de Raoult. Variación de la presión de vapor de un líquido A (P_A) con su fracción molar (solución ideal de un soluto B en el líquido A).

Esta proporcionalidad directa, entre la presión de vapor del líquido y su concentración molar, **no se cumple** para todo el rango de concentraciones, en las **soluciones reales**.

Definimos entonces como solución ideal a aquella que cumple con la ley de Raoult en todo el rango de concentraciones.

Si el soluto no presenta presión de vapor propia apreciable (es un sólido que se disuelve), la P_A será en cada momento (Gráfico 16) la presión total del sistema, y dará lugar a fenómenos como el ascenso ebullioscópico y descenso crioscópico.

b) ¿Y si el soluto tiene presión de vapor propia?

En general, se nombra como soluto a un sólido que se disuelve y cuya contribución a la presión de vapor del sistema es despreciable.

Si, en cambio, se agrega un líquido a otro líquido, ambos presentarán presiones de vapor apreciables, y a ambos podría aplicárseles la ecuación de Raoult.

Se define, entonces, una **solución ideal** de dos líquidos miscibles cuando:

i) no hay calor de disolución cuando se mezclan.

ii) los volúmenes de los componentes son aditivos.

iii) la presión de vapor de cada componente, cumple con la ley de Raoult para todo el rango de concentraciones.

Para una solución ideal, entonces, podría construirse un gráfico como el 17, donde se cumple la ley de Raoult para cada líquido componente y la presión total del sistema es la suma de las presión de vapor de ambos líquidos en cada punto.

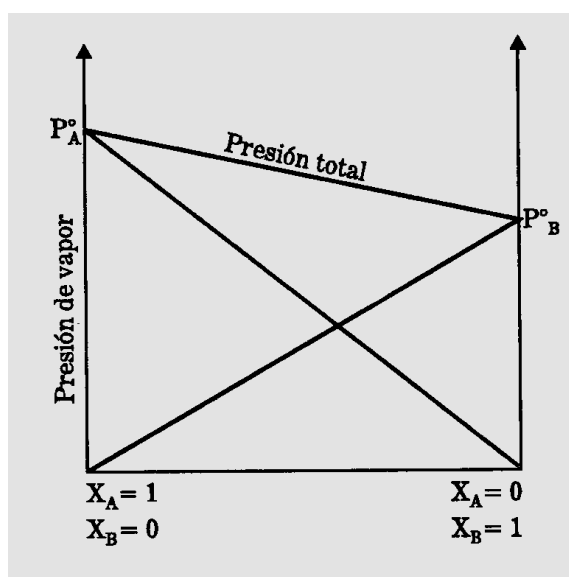


Gráfico 17: Variación de la presión de vapor con la fracción molar, para una solución ideal de dos líquidos miscibles A y B.

Sólo un número limitado de soluciones se comporta idealmente, por ejemplo, *n*-hexano *n*-heptano, a 30°C; bromuro de etilo-ioduro de etilo, a 30°C; cloruro de *n*-butilo-ioduro de *n*-butilo, a 50°C; etc.

Vemos que todos estos pares de compuestos tienen polaridades muy semejantes entre sí.

c) Si los dos componentes A y B de una mezcla líquida tienen características diferentes (presión interna, polaridad, longitud de cadena o agrupación análoga, o alguno de los componentes está asociado en el estado líquido), las fuerzas moleculares entre las moléculas de A diferirán de las que actúan entre las moléculas de B. Como consecuencia de esto, la presencia de B afectará la tendencia de escape de las moléculas de A y viceversa; entonces la ley de Raoult no será aplicable. Puede esperarse, pues, que una mezcla de dos líquidos de propiedades diferentes se comporte de un modo no ideal, lo que ha sido confirmado. Si la atracción entre las moléculas de B es mucho mayor que la que existe entre las moléculas de A, el efecto es desplazar a estas últimas del líquido al vapor; en otras palabras, la presencia de B aumen-

tará la tendencia de escape de las moléculas de A. Por consiguiente, la presión de vapor de A será mayor que la que resultaría en base a la ley de Raoult. Tal comportamiento se conoce como **desviación positiva** de la ley ideal. Teóricamente se deduce que cuando un componente de una mezcla presenta desviaciones positivas, el otro debe hacerlo también; se dice entonces que el sistema no ideal, como un todo, presenta desviaciones positivas de la ley de Raoult. En el Gráfico 18 (a) se muestran los tipos de curvas de presión de vapor obtenidas a una temperatura dada para mezclas de esta índole, donde las líneas punteadas indican comportamiento ideal. Si las desviaciones positivas son grandes, y especialmente si las presiones de vapor de los líquidos puros no son muy diferentes, la curva para la presión de vapor total de la mezcla presenta un máximo. Es decir, habrá una composición tal que tenga una presión de vapor mayor que cualquier otra mezcla de dichos componentes. Este comportamiento no es raro, y es importante en relación a la destilación, ya que una mezcla con la mencionada composición se comportará como una sustancia pura al ser destilada, originando lo que se conoce como **azeótropo de punto de ebullición mínimo** (se verá con más detalle en la sección III.9).

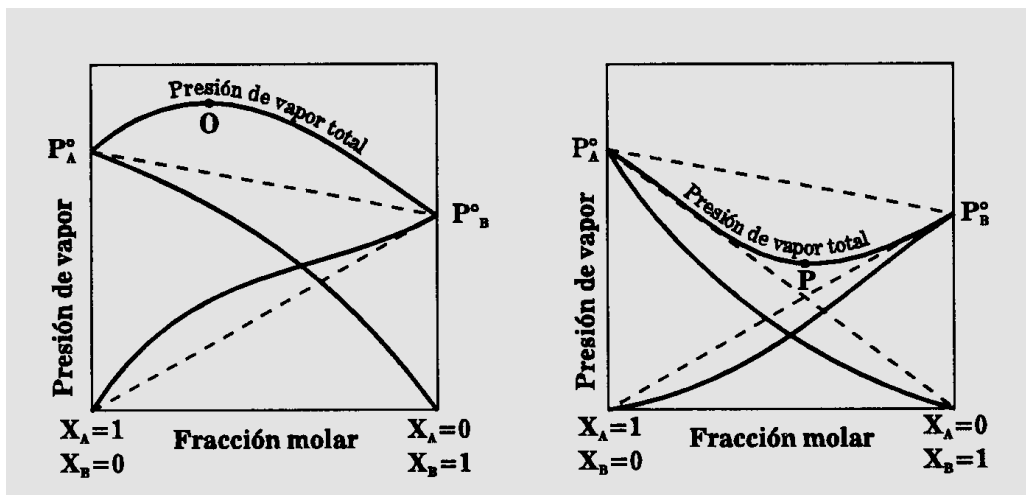
Si los dos componentes de una mezcla son tales que las moléculas de A y B se atraen fuertemente entre sí, y en particular, si se forma en el líquido una cierta cantidad de un compuesto de asociación entre A y B, la presión de vapor de cada componente será menor que la requerida por la ecuación de la ley de Raoult.

Este tipo de comportamiento no ideal se conoce como **desviación negativa de la ley de Raoult**. Las curvas de presión de vapor a temperatura constante son de la forma indicada en el Gráfico 18 (b) donde, como antes, las líneas punteadas indican comportamiento ideal. Se observa que **la curva de presión de vapor puede tener un mínimo** (como sucede en una minoría de mezclas líquidas), para una composición determinada. Algunos sistemas que presentan desviaciones negativas de la ley de Raoult son piridina y ácido acético, cloroformo y éter etílico, y haluros de hidrógeno y agua; en cada caso existen muy buenas razones para creer que las moléculas de los dos componentes se atraen fuertemente entre sí, llegando aun hasta la interacción o sea hasta la formación de un compuesto parcial en el estado líquido.

Este comportamiento es interesante en relación a la destilación, ya que una mezcla con la composición tal que la presión de vapor sea mínima, se comportará **como una sustancia pura** al ser destilada, **originando lo que se conoce como azeótropo de punto de ebullición máximo** (se verá en la sección III. 9).

Vimos hasta ahora cómo varía la presión de vapor de una solución ideal y/o real.

¿Será posible ahora calcular la composición del vapor (en términos de fracciones molares de sus componentes) conociendo la fracción molar de la fase líquida?



(a) Presión de vapor a temperatura constante en un sistema que presenta desviaciones positivas a la ley de Raoult

0= Punto de máxima presión de vapor total

(b) Presión de vapor a temperatura constante en un sistema que presenta desviaciones negativas de la ley de Raoult.

P= Punto de mínima presión de vapor total

Gráfico 18. Curvas de presión de vapor *versus* fracción molar para soluciones de dos líquidos miscibles con desviaciones de la idealidad.

III.7 ¿Cómo resulta la composición del vapor con respecto a la composición del líquido con el cual se equilibra?

i) **La composición de la fase vapor** se calcula de la siguiente forma:

La ley de Dalton establece que la presión total (P_T) de un sistema es la suma de las presiones parciales de sus componentes (como si estuvieran puros): $P_T = P_A + P_B$

Si aceptamos que las mezclas binarias de gases son siempre ideales, se cumple que: $P_A = X_A^{\text{vapor}} \cdot P_{\text{Total}}$ es decir, la presión parcial de cada componente en la fase vapor es proporcional a su concentración. Despejando y escribiendo P_T en función de las presiones parciales queda:

$$X_A^{\text{vapor}} = \frac{P_A}{P_A + P_B} \quad (1) \quad \text{y} \quad X_A^{\text{líquido}} = \frac{P_A}{P_A^{\circ}} \quad (2) \text{ por Raoult}$$

ii) ¿Cómo resulta X_A^{vapor} , con respecto a $X_A^{\text{líquido}}$?

Veamos un ejemplo:

Supongamos tener una solución ideal de componentes líquidos totalmente miscibles A y B, cuyas presiones de vapor estando puros son:

$P_A^\circ = 100 \text{ mm Hg}$ y $P_B^\circ = 60 \text{ mm Hg}$ y la composición de la solución es $0,75 X_A^{\text{líquido}}$ y $0,25 X_B^{\text{líquido}} \Rightarrow$ aplicando Raoult:

$$P_A = 0,75 \times 100 = 75 \text{ mm Hg}$$

$$P_B = 0,25 \times 60 = 15 \text{ mm Hg}$$

$$P_T = 75 + 15 = 90 \text{ mm Hg}$$

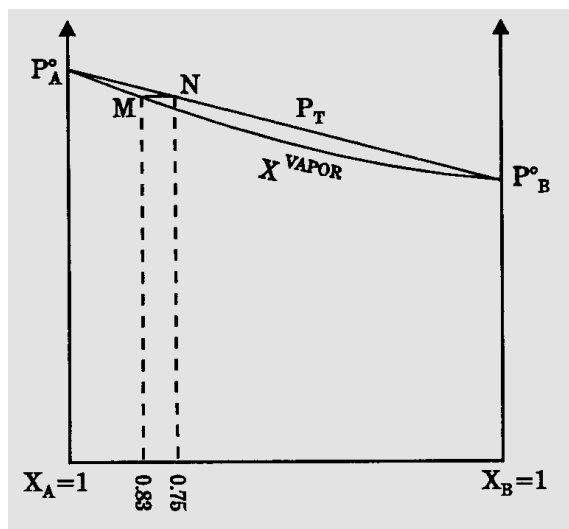
$$\text{Aplicando (1), se ve que } X_A^{\text{vapor}} = \frac{75}{90} = 0,833 ; X_B^{\text{vapor}} = \frac{15}{90} = 0,167$$

El componente A (de mayor P° es decir, el más volátil), está presente en la fase vapor en mayor concentración que B, el componente menos volátil (en el líquido también X_A es mayor que X_B , para este ejemplo elegido).

Pero, a su vez X_A^{vapor} **resulta mayor** que $X_A^{\text{líquido}}$, es decir: $0,833 > 0,75$.

Esto implica que la fase vapor está enriquecida en el componente más volátil, respecto de la fase líquida que la originó.

La ubicación de estos puntos (N y M), se muestra en el Gráfico 19.



$P_A = 100 \text{ mm Hg}$; $P_B = 60 \text{ mm Hg}$
 $N =$ valor de la presión total del sistema ideal para una concentración de $X_A^{\text{líquido}} = 0,75$
 $M =$ valor de la concentración de A en la fase vapor que está en equilibrio a la $P_T = N$. $X_A^{\text{vapor}} = 0,83$

Gráfico 19. Composición de la presión total de un sistema ideal de dos líquidos (A y B) miscibles.

Para saber si esta situación es general (es decir en todo el rango de concentraciones del líquido), se podría calcular el dato para cada punto ... y para cada sistema binario... O bien, se puede buscar alguna generalización matemática. Veamos:

Haciendo el cociente entre (1) y (2) queda:

$$\frac{X_A^{\text{vapor}}}{X_A^{\text{liquido}}} = \frac{P_A}{P_A + P_B} \cdot \frac{P_A^{\circ}}{P_A} \Rightarrow$$

simplificando P_A y dividiendo miembro a miembro por P_A° queda:

$$\frac{X_A^{\text{vapor}}}{X_A^{\text{liquido}}} = \frac{1}{X_A^{\text{liquido}} + \frac{P_B^{\circ}}{P_A^{\circ}} \cdot X_B^{\text{liquido}}} \quad (3)$$

Esta ecuación tiene la particularidad de expresar X_A^{vapor} en función de la variable X_A^{liquido} , ya que P_A° y P_B° son datos de tablas.

La representación gráfica de la ecuación (3) corresponde a la curva P_A° , M , P_B° , que se muestra en el Gráfico 19.

Sugerencia: Piense en algún método experimental para el cálculo de X_A^{vapor} .

Para generalizar el comportamiento de la variable X_A^{vapor} , respecto de X_A^{liquido} , se pueden analizar en tres casos límites:

- 1) Si $P_A^{\circ} = P_B^{\circ}$, es decir, los dos líquidos tienen la misma presión de vapor, la relación es 1 (igual composición de ambas fases).
- 2) Si la P_B° fuera mayor que P_A° , la composición de A en el vapor ser menor que su proporción en el líquido.
- 3) Si la P_B° fuera menor que P_A° , entonces la fase vapor sería más rica en A (es el caso del Gráfico 19).

III.8 Punto de ebullición de la mezcla de líquidos miscibles

En el Gráfico 17 se estudió la variación de las presiones de vapor parciales y total en función de la composición de las mezclas.

En el Gráfico 19 se muestra composición del vapor y composición del líquido para cada presión de **vapor total**. Dichos gráficos se realizaron a temperatura constante.

Un análisis similar de estas mezclas, puede realizarse midiendo como ordenada a la temperatura, como abscisa a la composición, y manteniendo la presión constante. Este tipo de gráfico se denomina de Temperatura de Ebullición versus composición, y un ejemplo general se muestra en el Gráfico 20.

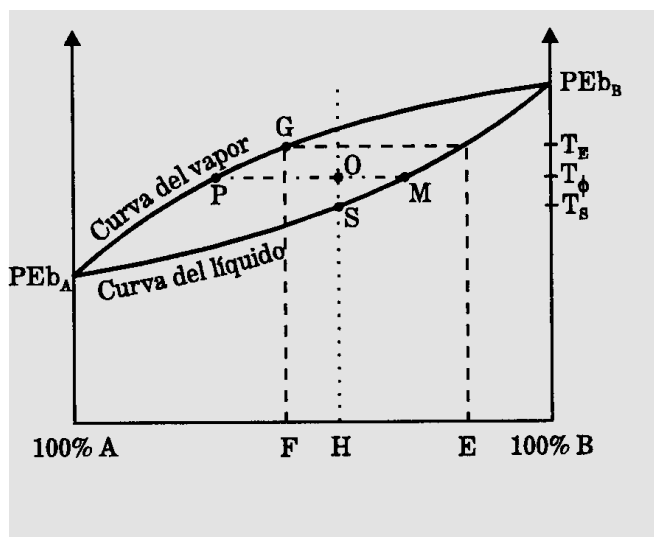
- i) La forma de las curvas parece invertida con respecto a las del Gráfico 19; esto

i) La forma de las curvas parece invertida con respecto a las del Gráfico 19; esto obedece a que en las ordenadas se registra el valor de Temperatura de Ebullición y, a mayor presión de vapor, menor PE_b y viceversa.

ii) La curva del líquido se determinó tomando experimentalmente la temperatura de ebullición de **cada solución inicial**.

iii) La curva del vapor se determinó **experimentalmente**, midiendo las concentraciones de A y B en la fase vapor, que están en equilibrio con su correspondiente líquido.

Tal como se sabe, cada fase vapor en el equilibrio, esta enriquecida en el componente más volátil respecto del líquido que la originó.



Una solución de composición E, llega a ebullición a la temperatura T_E . A esa temperatura, la composición de la fase vapor en equilibrio es F.

Gráfico 20. Variación de la temperatura de ebullición con la fracción molar para una solución ideal.

a) Comparación de los Gráficos 19 y 20.

- En el Gráfico 17 el segmento de Presión Total, se calcula simplemente conociendo P_A° y P_B° (solución ideal). La curva P_A° -M- P_B° del Gráfico 19, se construyó representando la ecuación (3). Ambos son "Gráficos Teóricos".

- En cambio, en el Gráfico 20 la curva del líquido se obtuvo **experimentalmente**, midiendo la temperatura de ebullición para cada punto sobre la abscisa y para cada par de líquidos A-B. A su vez, la curva del vapor, se obtuvo determinando la composición de la fase vapor en equilibrio con cada punto de la curva del líquido.

Se trataría de gráficos de origen netamente empírico, y esto se debe a que no existen ecuaciones termodinámicas que relacionen la composición de la solución con su temperatura de ebullición.

b) ¿Qué sentido físico tiene la zona incluida entre ambas curvas?

Por abajo de la curva del líquido hay sólo fase líquida. Por arriba de la curva del vapor hay sólo fase vapor.

Cualquier punto, dentro de la zona incluida entre ambas curvas está formado por dos fases en equilibrio: una líquida y otra vapor, cuyas composiciones se encuentran intersectando ambas curvas con un segmento horizontal (es decir de temperatura constante) que pase por el punto en cuestión.

Por ejemplo: ¿Cómo está formado un sistema global representado por el punto O del Gráfico 20?

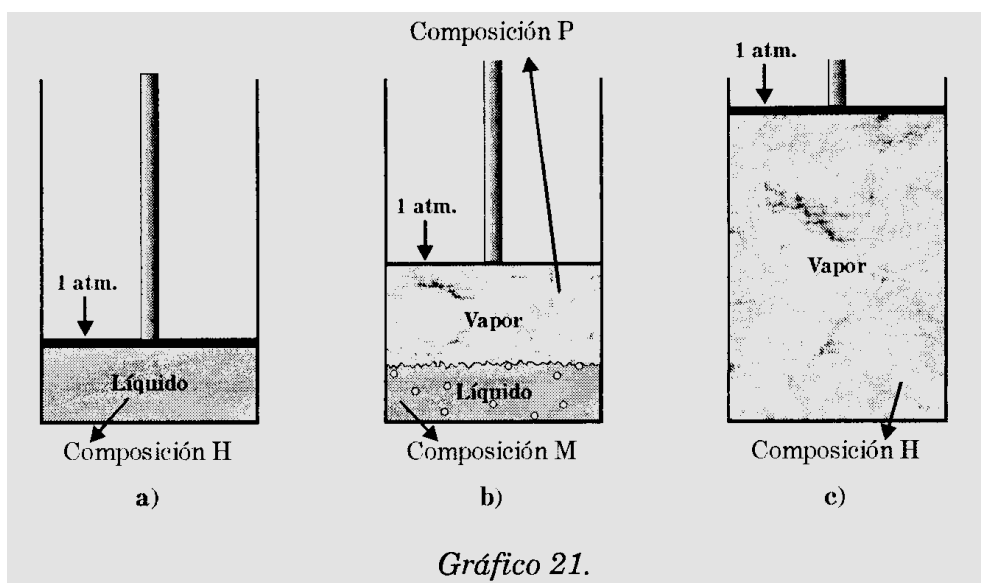
Respuesta: Está formado por una fase líquida de composición M, en equilibrio a la temperatura T_0 , con una fase vapor de composición P. La proporción relativa de ambas fases será tal que la composición total sea O (puede aplicarse la regla de la palanca, mencionada en la sección I.14).

c) ¿Cómo se logra experimentalmente alcanzar un sistema como el del punto O?

Supongamos partir del punto de composición H, sobre el eje de abscisas. El líquido está en un recipiente cilíndrico, tapado con un émbolo (móvil), que siempre mantendrá el sistema interior a una presión constante (por ej.: 1 atm.) y tal como se muestra en el Gráfico 21 (a).

A medida que se calienta el sistema, se elevará su temperatura (desplazamiento sobre el segmento HS del Gráfico 20).

Cuando se alcance la temperatura T_S , el líquido empezará a ebullicar, y aparecerá fase vapor (¿de qué composición?).



Como seguimos entregando calor al sistema, habrá más conversión de líquido en vapor, y el émbolo deberá subir para que la presión interna y externa se mantengan idénticas. De aquí en más, entonces, *continuará la ebullición*.

Cada vez habrá más vapor y la temperatura ascenderá por el segmento SO.

Al llegar al punto O se tienen las fases que se muestran en el Gráfico 21 (b).

Si el sistema continuara recibiendo calor, llegaría un momento en el que sólo habrá vapor (marque dicho punto en el Gráfico 20); tal como lo muestra el Gráfico 21(c).

III.9 Variación de la temperatura con la composición, para soluciones binarias que forman a azeótropos

En la sección III.6,c se presentaron casos particulares de soluciones reales en las que la presión de vapor total pasaba por un máximo, o por un mínimo.

¿Cómo son los gráficos correspondientes de Temperatura de Ebullición *vs.* Composición para esos casos?

a) Si la **presión de vapor pasa por un máximo**, la solución tal que presenta esta propiedad, se podrá llevar a ebullición más fácilmente que el resto, y presentará un punto de **ebullición menor** que cualquiera de las otras posibles soluciones.

Se llama **azeótropo de punto de ebullición mínimo**, a la composición tal que presente dicha propiedad, y **temperatura azeotrópica** a dicha temperatura de ebullición (azeótropo= del griego: hervir sin variar).

La forma de las curvas de equilibrio líquido-vapor se muestra en el Gráfico 22 (a).

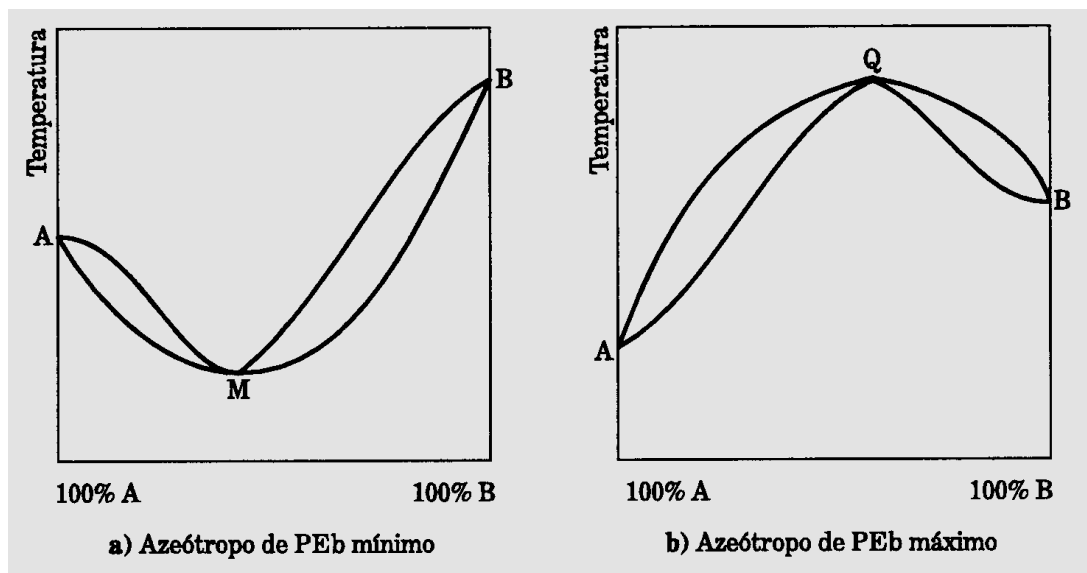


Gráfico 22: Curvas cualitativas de Punto de Ebullición versus Composición, para mezclas que contienen azeótropos.

b) Si la presión pasa por un mínimo, la solución que presenta esta propiedad, requerirá más temperatura para ebulir, y presentará un punto de ebullición mayor que cualquiera de las otras posibles soluciones.

Se llama **azeótropo de punto de ebullición máximo**, a la composición tal que presente dicha propiedad.

La forma de las curvas de equilibrio líquido-vapor, se muestra en el Gráfico 22 (b).

c) **El azeótropo se comporta como un líquido puro**, es decir, cuando entre en ebullición, la fase vapor tendrá la misma composición que la fase líquida (¡las curvas se tocan en ese punto, Gráfico 22 (a) y (b)).

Sugerencia: Aplique para un azeótropo un esquema como el del Gráfico 21 .

Se debe recordar que los gráficos de temperatura *versus* composición se realizan a presión constante.

Si se varía la presión externa, variarán los puntos de ebullición de los líquidos puros que forman el azeótropo y también variará la temperatura de ebullición del azeótropo. En realidad hay una modificación de las curvas de equilibrio líquido-vapor que, en general, conducen al desplazamiento de la composición azeotrópica.

Es decir, si a 1 atmósfera un azeótropo tiene composición 1:1, en general, no será ésta la composición del nuevo azeótropo que se registre a 2 ó a 0,5 atm., trabajando, claro, con el mismo par de líquidos.

Se dice que el azeótropo se "rompe", variando la presión. En general es muy difícil que desaparezca totalmente la formación de azeótropo para una solución binaria, por variación de la presión. Dos ejemplos se muestran en la Tabla III.9.

Tabla III.9. Composiciones y Puntos de Ebullición de mezclas azeotrópicas.

Presión (mm Hg)	Acetato de etilo-agua		Acetato de etilo-alcohol	
	PEb(°C)	Agua*	PEb(°C)	Alcohol*
200	37,6	5,79	38,4	20,5
300	46,8	6,56	23,2	
500	59,4	7,54	60,6	27,2
760	70,4	8,43	71,8	31,0
900	75,1	8,80	76,6	32,7
1500	90,3	10,04	91,9	39,1

*Las composiciones son en peso por ciento

Todo lo visto hasta aquí, resulta del estudio de estados de equilibrio, es decir, fases líquidas en equilibrio con sus fases vapor, a una dada temperatura o a una dada presión. Hemos visto, también, cómo varía dicho equilibrio con la temperatura

(sección III.2); con la presión (sección III.4) y con la concentración relativa de sus componentes (sección III.6, III. 7 y III.8).

¿Qué ocurriría si retiramos del equilibrio a esa fase vapor? Por supuesto, se formará una nueva y este proceso, que no es de equilibrio, puede ser muy bien estudiado como **destilación**.

Sugerencia: analice el comportamiento de un sistema de líquidos miscibles ideales y no ideales, frente a una destilación simple y a una fraccionada (ver sección IV. 1 y IV. 2).

PARTE B

LÍQUIDOS TOTALMENTE INMISCIBLES

III.10 Comportamiento fisicoquímico de mezclas líquidas de dos componentes inmiscibles entre sí

Los temas expuestos en las secciones III.1 a III.9, tratan sobre el comportamiento fisicoquímico de soluciones de dos líquidos totalmente miscibles entre sí. Como vimos, estas soluciones podrán ser ideales, reales, y hasta presentar azeótropos.

Un tratamiento aparte, merece el estudio del comportamiento fisicoquímico de mezclas de dos líquidos que son inmiscibles entre sí. En este caso, una mezcla ideal, sería aquella en que ambos componentes son **inmiscibles** entre sí, en **todo el rango de composiciones**.

III.10.1 ¿Raoult o Dalton? Presión de vapor de un sistema de líquidos inmiscibles

Si los componentes de la mezcla líquida en estudio son inmiscibles, habrá, en todo momento, dos fases (ambas líquidas).

¿Qué ocurre **en el vapor** que está en equilibrio con dicha mezcla?

Al igual que en la sección III.7 se **cumple para el vapor la ley de Dalton**.

$P_T = P_A + P_B + \dots + P_i$ y, a su vez, $P_A = X_A \cdot P_T$ (y así para cada componente).

La diferencia con un sistema de 2 componentes **miscibles** es que en aquellos se cumplía Dalton en el vapor y la ley de Raoult en el líquido y, en consecuencia, se **alteraba** el valor de la presión total del sistema para cada composición del líquido (ver Gráfico 17).

El Gráfico 23 representa la “variación” de la presión total de un sistema de dos líquidos inmiscibles. Se observa claramente que, por no disolverse cada componente en el otro, **no cumplen con la ley de Raoult en el líquido** y no varían sus pre-

siones de vapor parciales (ej.: $P_A = P_A^\circ$) para cualquier composición. Por lo tanto, la presión total es la misma, independientemente de la composición molar de la mezcla original.

Haciendo una simple deducción matemática, se puede calcular para cada punto (es igual en todos), cuál es la relación entre los moles de vapor en equilibrio de cada una de las fases líquidas (o líquida y sólida) presentes en el sistema.

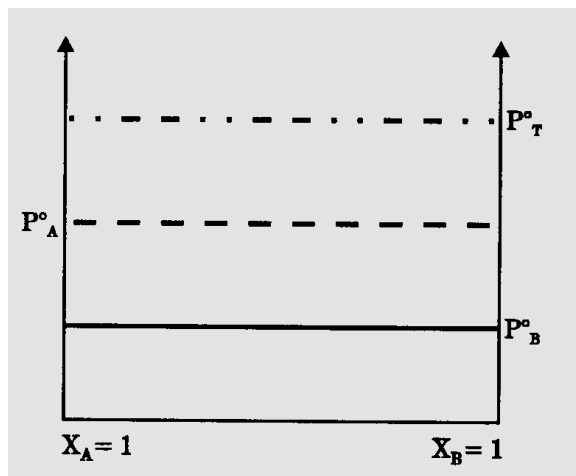


Gráfico 23: La Presión Total es invariante en un sistema de dos líquidos totalmente inmiscibles.

Veamos:

$$P_A^\circ = P_A = P_T \cdot X_A = P_T \cdot \frac{\text{n}^\circ \text{ moles A}}{\text{n}^\circ \text{ moles totales}}$$

$$P_B^\circ = P_B = P_T \cdot X_B = P_T \cdot \frac{\text{n}^\circ \text{ moles de B}}{\text{n}^\circ \text{ moles totales}}$$

Dividiendo miembro a miembro:

$$\frac{P_A^\circ}{P_B^\circ} = \frac{\text{n}^\circ \text{ moles A}}{\text{n}^\circ \text{ moles de B}} = \frac{\text{masa de A}}{\text{P. molecular de A}} \cdot \frac{\text{P. molecular de B}}{\text{masa de B}} \Rightarrow$$

$$\frac{\text{masa de B}}{\text{masa de A}} = \boxed{\frac{\text{P. Molec. de B}}{\text{P. Molec. de A}} \cdot \frac{P_B^\circ}{P_A^\circ}} \Rightarrow \begin{array}{l} \text{son datos de Tablas, y sólo} \\ \text{depende la } P_i^\circ \text{ de la temperatura.} \end{array}$$

III.10.2 Punto de Ebullición de un sistema de líquidos inmiscibles

i) Si se calentara un sistema como el del Gráfico 23 llegaría a ebullición cuando la Presión Total, alcance el valor de la presión que soporte el sistema.

Supongamos que se trabaja a una atmósfera, y que uno de los componentes es agua (por ej. A, que tiene mayor presión parcial).

Si una mezcla cualquiera de dicho sistema agua-compuesto B se calienta, ésta **ebullirá como un todo, cuando P_T alcance los 760 mm de Hg.** Es decir, **ebullirán las dos fases** (ebullición y destilación en fase heterogénea).

Como el agua pura ebulle a 100°C ($P^\circ_{\text{Agua}} = 760 \text{ mm Hg}$ a 100°C), es claro que si $P_T = 760 \text{ mm Hg} = P^\circ_{\text{Agua}} + P^\circ_B$, al ebulir el sistema el agua no alcanzó los 100°C ; y por lo tanto **el sistema ebulle y destila a menos de 100°C .**

PARTE C

LÍQUIDOS PARCIALMENTE MISCIBLES

III.11. Comportamiento fisicoquímico de sistemas binarios de líquidos parcialmente miscibles

Entre los extremos de miscibilidad e inmiscibilidad completas, hay un tipo muy importante de sistemas compuestos por dos líquidos que son parcialmente miscibles.

Por ejemplo:

Si se agregan unas gotas de benceno sobre un litro de agua se observará que, a temperatura ambiente, éstas se disolverán completamente. Si se continúa agregando más cantidad de benceno, se alcanzará un punto a partir del cual no se verificará ya la disolución, y se formarán dos capas líquidas. Una capa será de agua saturada con benceno, y la otra, será de benceno saturado con agua. A tales fases se las denomina **disoluciones conjugadas**.

Del mismo modo, unas gotas de agua se disolverán inicialmente en un litro de benceno, y llegará un momento en que se observará la aparición de una nueva fase líquida, por agregado de más cantidad de agua. Estas “nuevas” disoluciones conjugadas, tienen exactamente la misma **composición** que las anteriores, si la **temperatura** de ambos sistemas (agua-benceno) es la misma. La única diferencia será la masa relativa de las fases (cantidad de fase acuosa *vs.* cantidad de fase orgánica).

III.11.1 Curvas de solubilidad

i) Si se presenta en un gráfico la variación de la composición de las disoluciones conjugadas con la temperatura, se obtendrá un Gráfico como el 24. Allí se observa

que, a 20°C c_A y c_B son las concentraciones de las disoluciones conjugadas del sistema de líquidos A-B. En general, al aumentar la temperatura, aumentan las solubilidades mutuas, de tal forma que c_A y c_B , se aproximan hasta confluir en el punto C, al que se lo llama **Temperatura de disolución o de codisolución**.

Por encima y afuera de la curva c_A -C- c_B , el sistema A-B presentará una sola fase líquida. Dentro de dicha curva hay dos fases líquidas presentes. Según la regla de las fases (sección I.12): $V=C - F + 2$, es decir, 2 componentes y 2 fases implican 2 grados de libertad. Uno es la presión, si la fijamos en 1 atm., se observa que con el sólo dato de la temperatura, se puede saber del gráfico la composición de cada fase.

No ocurre así en la zona de una fase líquida. Allí hay 3 grados de libertad y, por lo tanto, además de la temperatura y la presión, se requiere el dato de la composición de dicha fase, para definir termodinámicamente al sistema.

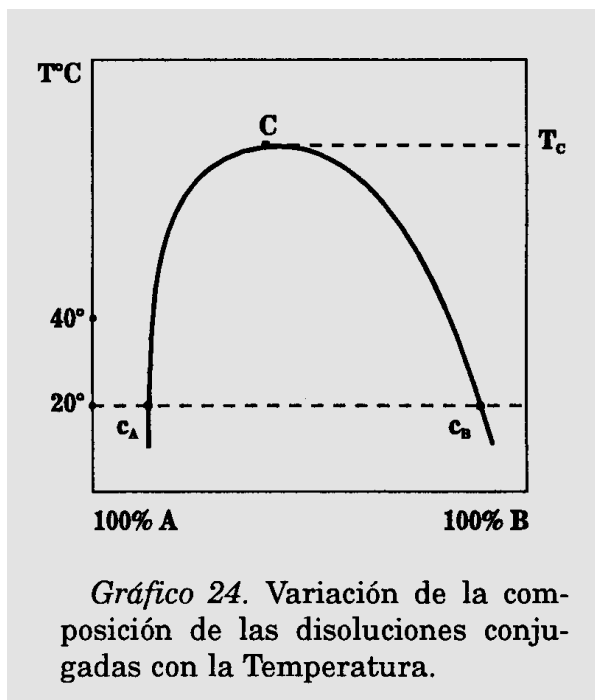
Sugerencia: ¿Cuántos sistemas de dos fases líquidas conjugadas, y cuántos de una fase líquida, pueden existir para el sistema A-B a 40°C ?

Sugerencia: Si se parte de una composición global de 40% de A, indique la proporción relativa de las fases en equilibrio a 40°C (aplique la regla de la palanca como en la sección I.14).

ii) Existen algunos casos, como trietilamina-agua, y γ -colidina-agua, cuyas solubilidades mutuas aumentan al **disminuir** la temperatura. Estas desviaciones parecen ser debidas a la formación de compuestos entre los dos componentes del sistema, o, al menos, a la formación de asociaciones por presencia de enlaces puente de hidrógeno, que se ven favorecidos al descender la temperatura.

Puede darse el caso en el que un sistema tenga temperatura de codisolución inferior. Un ejemplo interesante es el sistema nicotina-agua, que presenta a 208°C su temperatura de codisolución superior, y a $60,8^{\circ}\text{C}$, su temperatura de codisolución inferior. En este caso, el Gráfico 24 se convierte en una curva cerrada, dentro de la cual coexisten las dos fases conjugadas.

iii) No todos los sistemas de líquidos parcialmente miscibles presentan temperaturas de codisolución: algunos, al elevarse la temperatura, alcanzan el punto de **ebullición** antes de alcanzar la temperatura crítica de disolución superior. Otros,



al descender la temperatura, **congelan antes** de alcanzar la temperatura crítica de disolución inferior.

III.12 Variación de la presión total del sistema binario con la composición

En lo analizado en la sección III.11.1, no se tuvo en cuenta la presión del sistema.

¿Cómo es la presión de vapor de un sistema que tiene alternativamente una o dos fases líquidas?

Como se vio en la sección III. 6, cuando los dos líquidos son miscibles, la presión de vapor de cada uno cumple con la ley de Raoult (en la situación ideal); y, como se vio en la sección III.10.1, cuando los líquidos son totalmente inmiscibles, la presión de vapor de cada fase es independiente de la presencia de la otra fase. En ambos casos la presión total es la suma de las presiones parciales de ambos componentes (ver Gráficos 17 y 23).

Para un sistema de líquidos parcialmente miscibles, ocurrirán, por lo tanto, ambas situaciones. Veamos sobre el Gráfico 24: entre las concentraciones 100% de A- c_A y c_B -B, la solución presenta una sola fase, se cumplirá por lo tanto Raoult. En el intervalo de concentraciones c_A - c_B , existen dos fases líquidas, y se cumplirá Dalton para la fase vapor.

Un diagrama general de **Presión de vapor vs. composición**, para tal sistema a una temperatura dada, se muestra en el Gráfico 25. Se observa que, tanto el líquido A, como el B, presentan individualmente grandes desviaciones positivas a la ley de Raoult (línea punteada y más gruesa). Se ve claramente que: entre c_A y c_B las presiones de vapor se mantienen constantes e independientes de la concentración, además, hay que notar, que dichas presiones de vapor P_{cA} y P_{cB} , están muy próximas a las de los respectivos líquidos puros P_A° y P_B° , pero no son idénticas: $P_{cA} < P_A^\circ$.

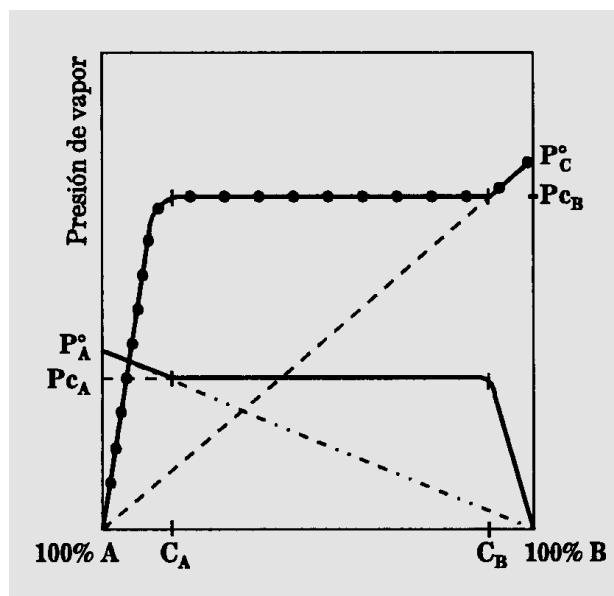


Gráfico 25. Variación de la Presión de vapor con la Composición de un sistema de dos líquidos parcialmente miscibles (las líneas cortadas corresponden a la ley de Raoult).

III.13 Variación de la temperatura de ebullición con la composición

Cuando cualquier mezcla líquida entre A y B del Gráfico 25 se caliente de tal forma que la presión total iguale a la que soporta el sistema, éste entrará en ebullición.

Experimentalmente se obtiene un Gráfico como el 26(a), cuando se mide la variación de la temperatura de ebullición con la composición, a una dada presión externa, para un sistema de líquidos parcialmente miscibles.

Para entender mejor el Gráfico 26(a), puede considerarse como una superposición de un gráfico de ebullición con azeótropo de mínima (Gráfico 22(a)), y un gráfico de curvas de solubilidad (Gráfico 24). Esto es lícito, pues los sistemas de líquidos parcialmente miscibles presentan presiones de vapor con desviaciones positivas de la ley Raoult; además, al calentar, la presión total se iguala con la presión externa (y, por lo tanto el sistema ebulle), antes de que se llegue a la temperatura de codisolución superior.

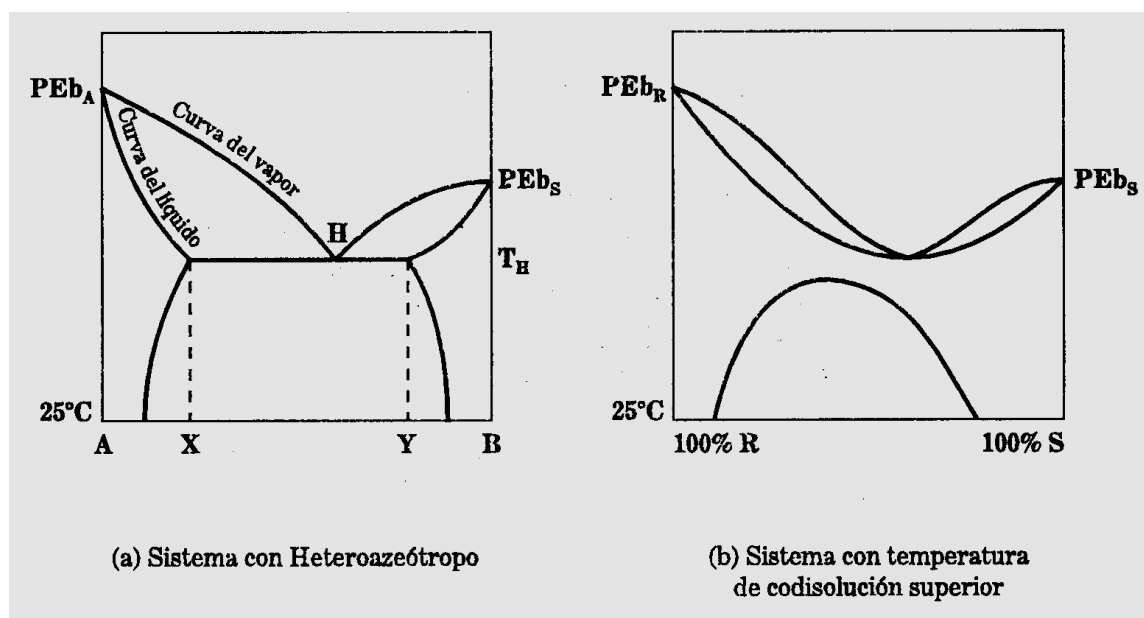


Gráfico 26: Curvas de variación de equilibrio líquido-vapor para un sistema de dos líquidos parcialmente miscibles con y sin heteroazeótropo.

En el Gráfico 26(b), se muestra un sistema de líquidos parcialmente miscibles a temperatura ambiente, pero que **alcanza** la temperatura de codisolución superior **antes** de ebullición; por lo tanto, da curvas de azeótropo de mínima como las ya estudiadas para líquidos totalmente miscibles. Los mencionados son casos generales, pero pueden darse sistemas con gráficos algo distintos.

En el Gráfico 26(a) se observa que:

i) La curva superior da la composición del vapor en equilibrio con el líquido en ebullición. La curva inferior es la de la composición del líquido en ebullición.

ii) **El punto de ebullición varía** con la composición, (entre A-X y entre Y- B), **el sistema está formado por una sola fase líquida**. En cambio, el PEB permanece invariante (entre X e Y), cuando hay presentes dos fases líquidas. X e Y, son las disoluciones conjugadas a la temperatura de ebullición.

Sugerencia: aplicar la regla de las fases en cada situación.

iii) Cualquier composición original que esté dentro del rango XY, entrará en ebullición a la temperatura T_H , y la composición de la fase vapor será H .

El vapor de composición H, si es condensado, dará lugar a dos fases conjugadas, y por ser un sistema heterogéneo, se lo llama **Heteroazeótropo**.

Sugerencia₁: ¿Cuál es la diferencia o la similitud entre la composición del líquido heteroazeótropo y de su vapor en equilibrio?

Sugerencia₂: Analice el comportamiento de mezclas de líquidos parcialmente miscibles frente a una destilación simple y a una fraccionada (sección IV.6).

El heteroazeótropo es, entonces, un líquido que tiene dos fases en su punto de ebullición, y que está en equilibrio con un vapor que tiene, también, dos fases al ser condensado.

PUNTO DE EBULLICIÓN

Consideraciones Experimentales

III.14 Determinación experimental de presiones de vapor

Para determinar las presiones de vapor parciales de un sistema de dos líquidos, se emplea generalmente el método de medir la presión total y la composición del vapor en equilibrio con dicho líquido, a una temperatura definida. Luego se asume que se cumple la ley de Dalton en la fase vapor, y se calcula a partir de estos datos, las presiones parciales.

Por Dalton: $P_{\text{total}} = P_{pA} + P_{pB}$

$$P_{pA} = \frac{n_A}{n_A + n_B} \cdot P_t \quad \text{y} \quad P_{pB} = \frac{n_B}{n_A + n_B} \cdot P_t$$

por lo tanto, se deben medir P_t , n_A y n_B para calcular P_{pA} y P_{pB} .

Los procedimientos seguidos para la determinación de los datos pueden clasificarse en: métodos estáticos, métodos dinámicos y métodos de transpiración.

El método más sencillo (estático), consiste en colocar el líquido, de composición conocida, en un recipiente en el que se ha efectuado vacío, permitir que se alcance el equilibrio a una temperatura dada, y medir la presión resultante (p_t) con un manómetro; en ese momento, se extrae una porción del vapor y se analiza su composición (n_A y n_B)

III.15 Determinación experimental del Punto de Ebullición

i) Si se tiene suficiente cantidad de líquido, el método para determinar el Punto de Ebullición de un sistema líquido es la destilación simple, que se verá con detalle en la sección IV. 7. Pero la destilación no es un proceso de equilibrio, ya que la fase vapor se condensa y retira del sistema continuamente.

Por lo tanto, sólo es útil para determinar puntos de ebullición de líquidos puros a distintas presiones.

ii) Si se tiene muy poca cantidad de líquido, debe emplearse un micrométodo. El más conocido es el de Sibolowoff (1886). Este método consiste en un tubo capilar cerrado en un extremo, que se sumerge invertido en otro tubo angosto, que contiene 0,5 a 1 ml. del líquido del que se desea determinar su PEb. Ambos tubos se sujetan al bulbo de un termómetro y se sumergen en un baño, que se calentará. El aparato se muestra en el Gráfico 27.

Al calentar el baño, comenzará una lenta emisión de burbujas de aire desde el pequeño capilar hacia el exterior. Cuando se alcance el punto de ebullición, el flujo de burbujas será continuo. Mejor aún, si se suspende el calentamiento, se observará que la evolución de burbuja decrece. El punto más preciso de ebullición se leerá cuando la última burbuja que aparezca tienda a succionarse nuevamente hacia el interior del pequeño capilar, pues será justo el momento en el que las presiones dentro y fuera del capilar se igualen.

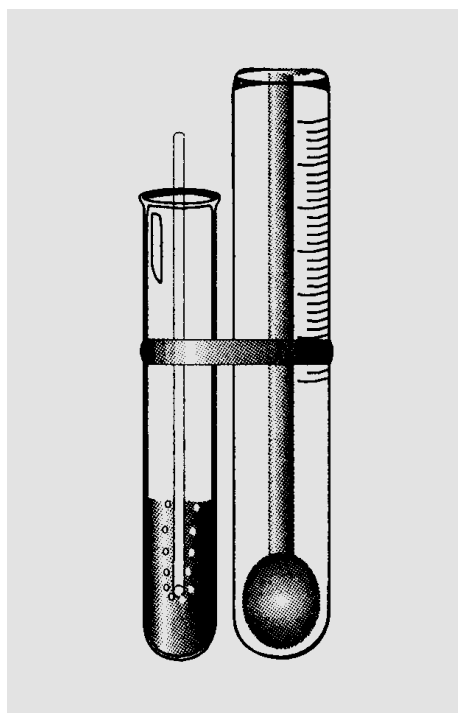


Gráfico 27: Método de Sibolowoff para determinación del Punto de Ebullición.

CAPÍTULO IV
Destilación

PURIFICACIÓN DE LÍQUIDOS POR DESTILACIÓN

Consideraciones teóricas

Destilación es el proceso de calentar un líquido hasta su PE_b , condensar los vapores formados, retirar y recolectar dichos vapores como líquido destilado.

La destilación **no es un proceso de equilibrio**, ya que continuamente se retira masa del sistema. Sin embargo, se fundamenta en estados de equilibrio líquido-vapor, a la temperatura de ebullición, pues sólo se retira la fase vapor cuando se ha alcanzado dicho equilibrio. Podría pensarse entonces, en la destilación como una secuencia infinita de estados de equilibrio, que se suceden unos a otros debido a que cambia, continuamente, la composición del líquido original.

El proceso de destilación se aplica con dos utilidades principales:

- Determinación del punto de ebullición.
- Purificación.

Tanto desde el punto de vista teórico como experimental pueden considerarse dos tipos de destilación: **SIMPLE** y **FRACCIONADA**.

En el presente capítulo se analizará cada tipo de destilación para sistemas binarios de líquidos total y parcialmente miscibles, e inmiscibles.

Destilación de un sistema binario de líquidos totalmente miscibles.

Las variaciones de presiones de vapor y puntos de ebullición con la composición, para este tipo de mezclas líquidas binarias, se analizaron en la Parte A del Capítulo III. Veamos separadamente cómo resulta el proceso de destilación simple y fraccionada, para el caso ideal.

IV.1 Destilación simple de un sistema ideal

- a) Para un líquido, o una solución de un soluto (no volátil) en un líquido, se pue-

de aplicar una destilación simple, empleando un aparato como el descrito en el Gráfico 33.

Al comenzar el calentamiento, aumentará la presión de vapor del líquido a destilar, hasta que alcance a la presión atmosférica y entre en ebullición.

Entonces, comenzará a fluir suficiente vapor caliente como para lograr un nuevo equilibrio líquido-vapor a la altura del bulbo del termómetro, y, entonces, se podrá leer dicha temperatura de ebullición, simultáneamente con la recolección del destilado. (Se recomienda leer la sección IV.9 antes de proseguir)

Aclaración: el anillo de líquido del que se habla en la sección IV.9, en realidad, es un **reflujo** del líquido, que se debe al contacto del vapor caliente con las superficies frías del equipo, y esto **no debería ocurrir en una destilación simple ideal**, pero no se puede evitar en la práctica.

b) Una destilación simple **no resultará satisfactoria para separar una mezcla de líquidos miscibles**. Como ya vimos (sección III.8), cuando una mezcla de dos líquidos entra en ebullición, el vapor será más rico en el componente más volátil (es decir, el de menor punto de ebullición). Así, el primer destilado, también estará enriquecido en el componente de menor punto de ebullición. Pero un enriquecimiento no es una separación. En todo caso, el componente de mayor punto de ebullición es el que se obtendrá puro hacia el final de la destilación.

c) El proceso de la destilación simple puede verse claramente utilizando el Gráfico 28 (similar al de la sección III.8).

Dicho gráfico representa una solución **ideal** de A y B, líquidos miscibles, cuyas curvas de temperatura de ebullición versus composición porcentual molar para las fases líquidas y vapor han sido calculadas.

Análisis de situaciones deducibles del Gráfico 28:

i) Si partimos de una solución inicial de composición **R** (28% de A, 72% de B), ésta entrará en ebullición a la temperatura T_E . Como vemos, **para cualquier composición inicial la temperatura de ebullición será menor que el PE_b de B puro**.

El vapor que se encuentra próximo a condensar (y que está en equilibrio con el líquido del balón), tendrá la temperatura T_E y por lo tanto, la composición de ese vapor estará dada por la intersección del valor de T_E con la curva del vapor (punto **S**). Sobre el eje de abscisas se lee el valor **V** de composición de dicha fase vapor.

Por lo tanto, **la primera gota de destilado (Punto V) nunca será A puro, y la temperatura a la que se obtiene (T_E) será siempre mayor que el PE_b de A puro**.

ii) Una vez retiradas las primeras gotas de destilado, la composición de la solución que está en ebullición en el balón ya no es **R**. Ya que se retira masa, la solución tendrá una nueva composición dada, por ejemplo, el punto **W**. Analizando el Gráfico 28 como en el ítem i) tendremos una temperatura de ebullición T'_E para la com-

posición **W**. **X** es el punto de la curva de vapor en equilibrio con **W** en ebullición, y la consiguiente composición de la gota condensada, estará dada por el punto **Z**.

Como se ve, **a lo largo de una destilación la composición del líquido que ebulle, se desplaza por la curva inferior** (desde **M** hasta **N**) y si continuara la destilación, podría llegar un momento en que desapareciera el componente **A**, y se llegara a destilar **B** puro.

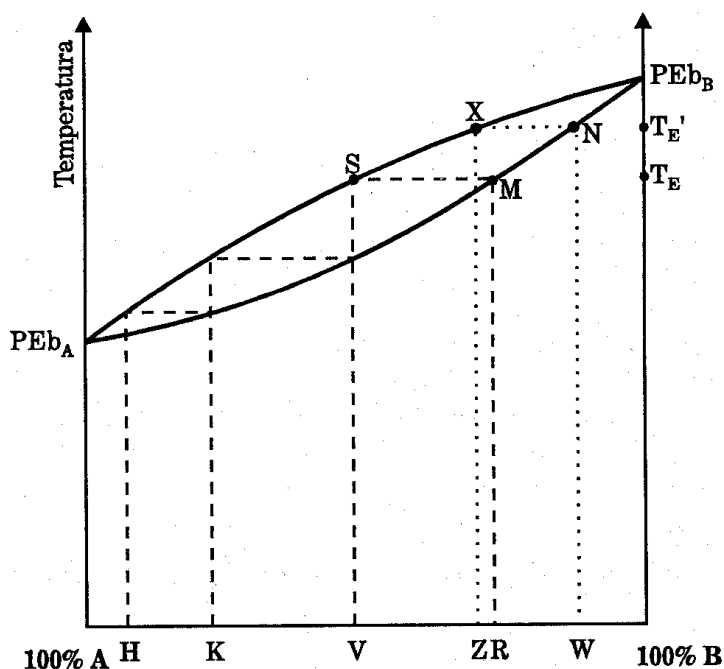


Gráfico 28. Composiciones del líquido y el vapor en una destilación simple.

También se ve que la **composición de la fase vapor, a lo largo de la destilación simple se desplaza, sobre la curva superior, desde S hasta X**, y podría alcanzar la composición de **B** puro. (Volver a leer el punto IV.1(b)).

iii) Si analizamos sobre el Gráfico 28, qué ocurriría al calentar hasta ebullición una solución de composición inicial **V**, se ve que los primeros vapores tendrán una composición **K** (más rica en **A**). Si estos vapores son condensados y nuevamente llevados a ebullición, la nueva primera gota tendrá composición **H**. Si este proceso lo repitiéramos una vez más (o más) llegaríamos a destilar ¡**A** puro!

Cada proceso de "ebullición-condensación" es equivalente a una destilación simple. Por ejemplo: ebulle **W** - condensa **Z**.

En el Gráfico 28 se ve que el par de composiciones líquido-vapor en equilibrio correspondientes a cualquier mezcla inicial, está dado por las intersecciones entre ambas curvas de líquido y vapor, a la temperatura de ebullición (casos puntos **N** y **X**; **M** y **S**; etc.)

El segmento $\overline{NX}$ se denomina "plato teórico".

Sugerencia₁: Relacionar el concepto de destilación simple con el plato teórico.

Sugerencia₂: Dibuje un gráfico de temperatura de destilación *versus* ml de destilado, para una destilación simple ideal.

iv) ¿Cuál es el sentido físico de la zona interior a las curvas de equilibrio líquido-vapor?

Sugerencia: releer la sección III.8.b).

Cuando se calienta una solución de composición dada, como por ejemplo la **R**, del Gráfico 28, ésta presentará una fase líquida, hasta alcanzar la temperatura T_E ; entonces comenzará a ebullición. La fase vapor en equilibrio con **M**, tiene composición **S**, se condensa en el refrigerante y se elimina masa del sistema.

Como se dijo antes, la composición del líquido se desplaza sobre la curva **MN** y, por lo tanto, no se podrá lograr un sistema, como el **O** del Gráfico 20.

Debe recordarse pues, que **la destilación no es un proceso de equilibrio**.

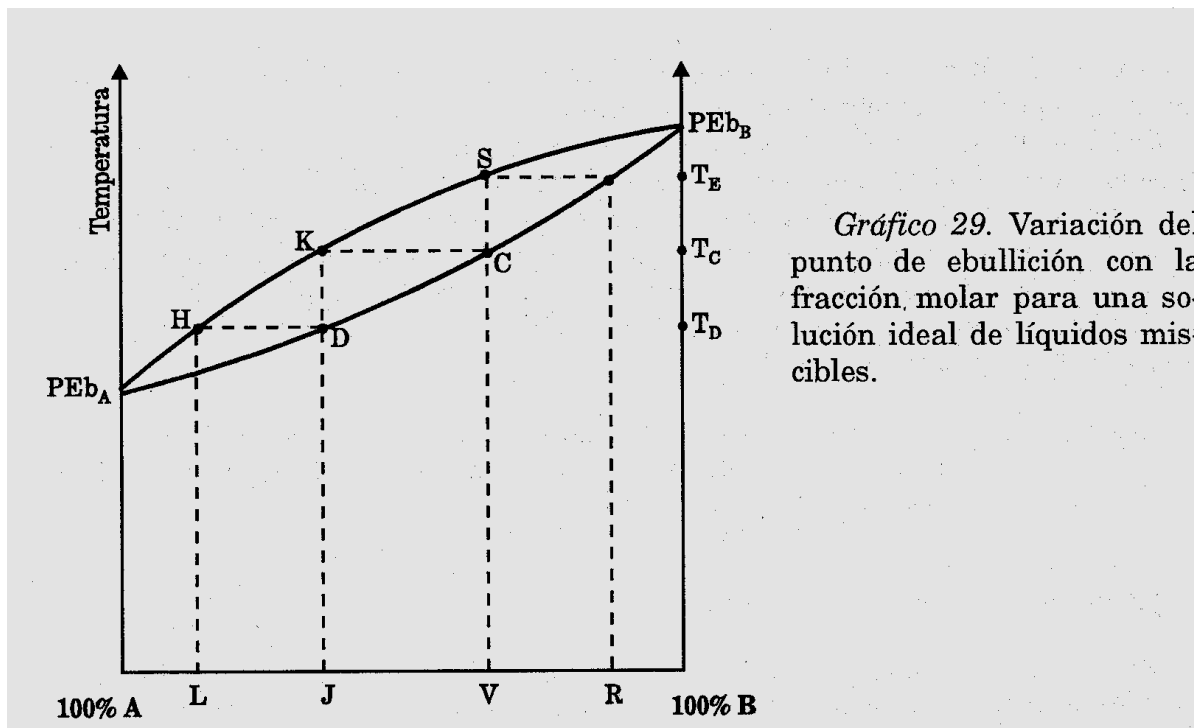
La zona interior a las curvas de equilibrio no tiene sentido físico para el caso de una destilación simple.

IV.2 Destilación fraccionada, para un sistema de dos líquidos ideales totalmente miscibles

a) La necesidad de recurrir a numerosas destilaciones simples para obtener puro el componente más volátil de una mezcla de líquidos ideales puede evitarse utilizando una columna de fraccionamiento. Este dispositivo se coloca según se muestra en el Gráfico 34 (leer la sección IV.9, antes de continuar). La columna está construida de tal forma que la mayor parte de los vapores que penetran en ella son condensados y vuelven al balón. Debe tener una gran superficie de contacto entre los vapores ascendentes y el líquido que retorna.

En la superficie entre ambas fases, la parte menos volátil del vapor condensa con liberación de calor que produce, a su vez, vaporización de la parte más volátil del líquido. El proceso se repite continuamente a medida que el vapor atraviesa la columna. El sistema líquido que llega al extremo superior de la columna se halla altamente concentrado en el componente más volátil de la mezcla, mientras que el condensado que constantemente refluye dentro del balón de destilación está empobrecido en el componente más volátil y enriquecido en el componente de punto de ebullición más alto.

b) El proceso que ocurre dentro de una columna de fraccionamiento, durante una destilación fraccionada (o rectificada), se puede observar en el Gráfico 28; pero simplemente por cuestiones de claridad, lo mostraremos en el Gráfico 29. Nuevamente el sistema ideal de líquidos A-B totalmente miscibles, y una composición inicial **R**.



i) La solución de composición **R** entrará en ebullición a la temperatura T_E . Los vapores formados, de composición **S**, se toparán con el relleno de la parte inferior de la columna, y condensarán dando un **líquido** de composición **V** (observar que **S=V**, sólo que **S** es composición de vapor y **V** es composición de dicho vapor *condensado*).

ii) Al entrar nuevos vapores ascendentes en la columna, ocurrirá un intercambio de calor, y parte del líquido condensado **V**, entrará en ebullición, punto **C**, a la temperatura T_C . Este nuevo proceso producirá vapores de composición **K** sobre la curva del vapor), que ascenderán por la columna de fraccionamiento y condensarán (punto **J**).

iii) Al continuar el calentamiento en el balón, nuevos vapores calientes repetirán los procesos i) e ii) y ahora evaporarán al líquido **J** hasta ebullición (punto **D**, a la temperatura T_D) y se producirán vapores **H**, que condensarán a una solución de composición **L**.

iv) Podemos decir que en la columna de nuestro ejemplo se han realizado hasta ahora 3 equilibrios ebullición-condensación (3 platos teóricos); y que con 1 ó 2 más lograríamos obtener el líquido A puro saliendo por el tope de la columna hacia el refrigerante.

Obsérvese que $T_E > T_C > T_D > PEB_A$

Sugerencia: construya un gráfico de temperatura de la columna *versus* altura de la misma.

c) Conclusiones

1) Si contamos con una columna de **fraccionamiento** ideal (tantos platos teóri-

cos como necesitamos), tendremos que las primeras gotas de destilación corresponderán el líquido más volátil (de menor PEb) puro.

2) Al sacar masa del sistema (destilado) la composición que ebulle en el balón, será más rica en el componente de mayor Punto de Ebullición.

3) Para cualquier mezcla inicial se puede aplicar en análisis gráfico hecho en b) y, por lo tanto, se recogerá todo el líquido componente más volátil primero, y luego,

4) se recogerá todo el líquido de mayor punto de ebullición, puro.

5) Si no contamos con una columna ideal, habrá una fracción intermedia en que aparecerá una mezcla de A y B.

Sugerencia: Construya un gráfico de temperatura de destilación *versus* ml de destilado para la destilación fraccionada ideal. Compárelo con la *sugerencia*, del punto IV.1.iii).

d) ¿Columna de fraccionamiento ideal?

Para lograr la separación ideal entre los líquidos A y B, deberemos saber cuántos platos teóricos de separación se necesitan. Este número dependerá de la forma de las curvas líquido vapor de la mezcla en cuestión, y de la composición inicial de la que se parte.

La columna que necesitaremos deberá tener como mínimo esa cantidad de platos teóricos, y además deberá ser eficiente.

La eficiencia de una columna mejora si se regula la cantidad de líquido que vuelve a la misma. La **razón de reflujo interna**, en una sección de la columna, es el cociente entre el número de moles de líquido que descienden de dicha sección y el número de moles de vapor que ascienden de la misma. Los factores que influyen en la eficiencia de una columna son: a) longitud, b) razón de reflujo (ver sección IV.10. iii), c) material de relleno y d) control de calentamiento.

Aumentando la longitud de la columna o la razón de reflujo se obtiene una separación más eficiente aunque más lenta. En la práctica ambos factores están limitados, además, por el anegamiento.

El material de relleno debe poseer una gran superficie y dejar aún espacio libre para permitir al líquido y al vapor fluir en sentidos contrarios. La presencia en la columna de excesiva cantidad de líquido provocará anegamiento y el espacio libre se llenará con líquido que será forzado a subir por la presión de los vapores que ascienden. El anegamiento puede producirse por una longitud excesiva de la columna o por pobre aislamiento de la misma. También por manipulación inadecuada, en particular cuando se quiere operar a razón de reflujo muy alta o destilar rápidamente.

IV.3 Un error muy común

Es frecuente leer en los libros que se pueden separar dos líquidos miscibles por destilación simple, si sus puntos de ebullición están "suficientemente separados".

Ahora sabemos que una destilación, equivale a un plato teórico (en la destilación simple **real** existe **reflujo** como se dijo en la aclaración de la sección IV.1; y esto resulta en algo más que un plato teórico de separación). Por lo tanto, podríamos decidir entre usar una destilación simple o una fraccionada según el número de platos teóricos de separación que necesitamos lograr.

Sugerencia: En el Gráfico 30, se dan curvas de sistemas de dos líquidos miscibles e ideales y una mezcla original (dada por el punto X), indicar a cuál mezcla separaría por destilación simple y a cuál por destilación fraccionada; indique el número de platos teóricos necesarios, y cuál de los líquidos obtendría puro.

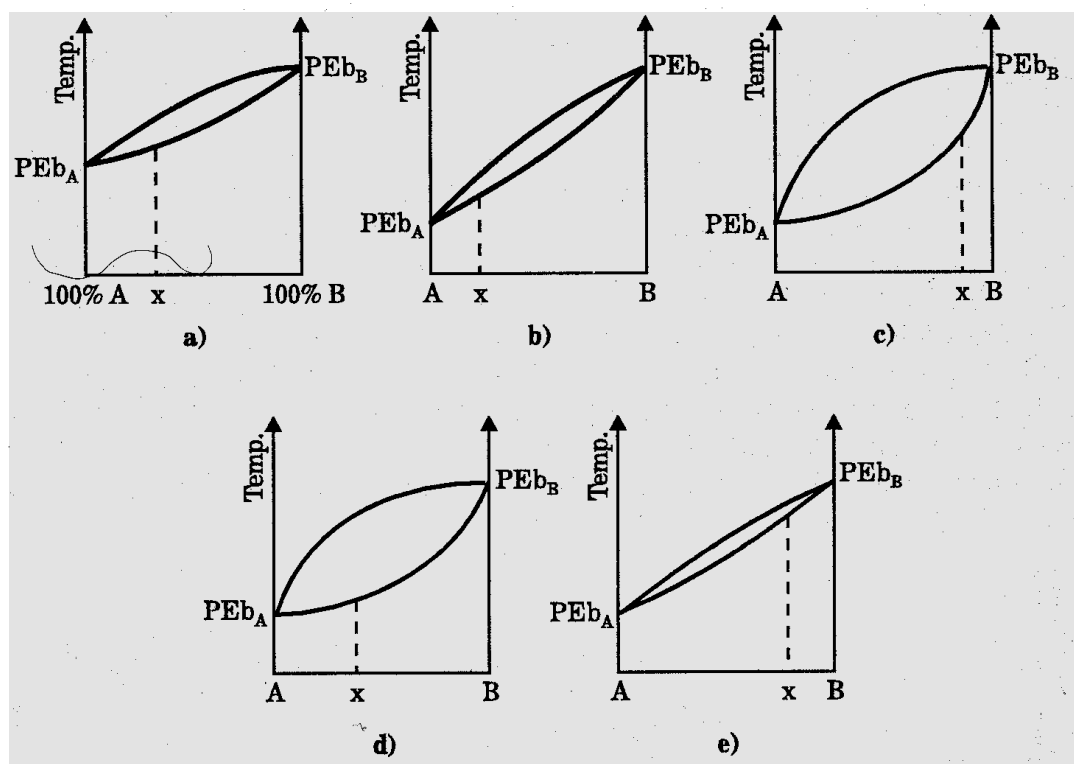


Gráfico 30: Distintos tipos de curvas de equilibrio líquido vapor para líquidos miscibles en solución ideal.

Supongamos que en el Gráfico 30(e) los PEb de los líquidos puros son 100 y 180°C: están "suficientemente separados", y sin embargo, no pueden separarse por destilación simple. En cambio en el Gráfico 30(d), suponiendo que los PEb de los líquidos puros son 34 y 80°C, podría intentarse una destilación simple para obtener puro el componente de mayor PEb, aunque con una columna de dos platos teóricos, la separación está asegurada.

El error viene de generalizar ya que, en la mayoría de los casos, las curvas de equilibrio de líquidos de PEb distantes entre sí son del tipo (d), donde sí sería facti-

ble una separación por destilación simple. Recordemos entonces, lo dicho en las secciones IV.1 (a) y (b) y IV.2 (a).

IV.4 Destilación de soluciones reales de líquidos totalmente miscibles que presentan azeótropos

En el Gráfico 31(a), se dan los resultados que son de esperar cuando se destila un sistema que tiene una curva de puntos de ebullición con un mínimo. Cuando el líquido l hierve a la temperatura t el vapor primeramente desprendido tiene la composición v , o sea, es más rico en B; al proseguir la destilación la composición del líquido se mueve hacia el 100% de A y el punto de ebullición se eleva.

Siempre que se elimine continuamente el vapor, como se hace en la práctica, la composición del líquido remanente en el balón tenderá a ser puro. Si se redestila el condensado, sin embargo, el vapor se aproximará a la composición del sistema de punto de ebullición mínimo, como se puede ver en el diagrama. La destilación fraccionada dará, por consiguiente, un destilado de composición M, aunque el residuo final se aproximará a A; la separación en los dos constituyentes puros es así imposible. Similarmente, si un líquido l' , que se encuentra a la derecha del mínimo, hierve a t' ; el destilado tenderá hacia la composición de M, mientras que el residuo se aproximará a la composición de 100% de B. Para sistemas que tienen un punto mínimo de ebullición será únicamente posible, por lo tanto, obtener en **estado puro** por destilación fraccionada el componente que se encuentre en exceso respecto del azeótropo de punto de ebullición mínimo.

La mezcla azeotrópica se comporta en la destilación como si fuera una sustancia pura.

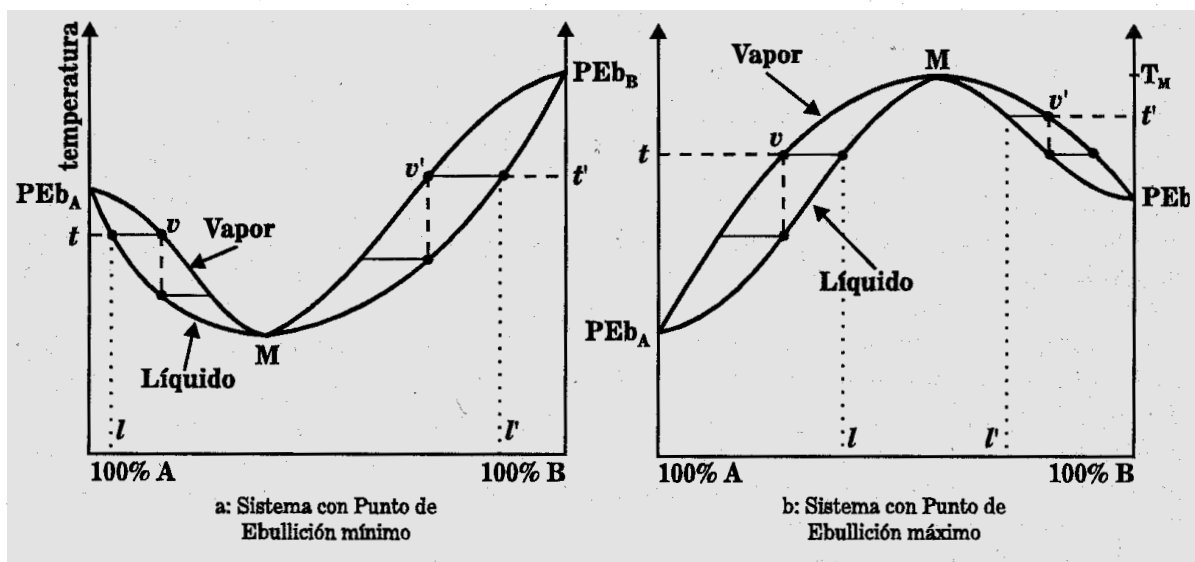


Gráfico 31: Curvas de PEb vs. composición de sistemas líquidos con azeótropos.

Cuando la curva de puntos de ebullición tiene un máximo, como en el Gráfico 31(b) las dos curvas de equilibrio líquido-vapor se encuentran en el máximo M, donde de nuevo el líquido y el vapor tienen la misma composición M, que es una mezcla azeotrópica —destilará como un líquido puro—. Aunque los sistemas con un punto de ebullición máximo no son corrientes (corresponden a los que tienen curva de presión de vapor con un mínimo, esto es, presentan desviaciones negativas a la ley de Raoult) fue precisamente una mezcla azeotrópica de este tipo, la de agua y cloruro de hidrógeno, la primera descubierta (J. Dalton, 1832) y completamente investigada.

Resulta evidente del Gráfico 31(b), que, como en el caso anterior, no será posible la separación de ambos componentes puros (A y B) por destilación fraccionada. Cuando el líquido l hierve a t el vapor v que destila primero es más rico en A; el líquido residual se enriquecerá en B y su punto de ebullición se elevará.

El líquido que se recogería como destilado sería A puro, en una destilación fraccionada ideal. Una vez que destiló A, se destilará el líquido azeotrópico de composición M, a la temperatura T_M **constante**, como si se tratara de un líquido puro. Similarmente, si se destila el líquido l' , que hierve a t' , el vapor contendrá relativamente más cantidad de B, este componente podrá obtenerse como primer destilado. El residuo del balón de destilación tenderá de nuevo a la mezcla azeotrópica de ebullición constante y destilará sin cambio en la composición (M). **Resulta así posible obtener en estado puro por destilación únicamente al constituyente que se encuentra en exceso en relación con lo exigido por la mezcla azeotrópica.** Obsérvese que a lo fines de determinar temperaturas y composiciones para la ebullición de estos sistemas, puede simplificarse el análisis, dividiendo el gráfico correspondiente en dos sectores, por trazado de una vertical que pase por el punto M. Bastará, entonces, trabajar como se vio en las secciones IV.1 y IV.2, sobre el sector que incluya a la composición inicial en estudio.

IV.5 Destilación de líquidos totalmente inmiscibles

Como se ha visto en la Parte B del Capítulo III, en un sistema de dos líquidos inmiscibles, sus presiones de vapor se mantienen constantes e independientes de la cantidad relativa de ambos líquidos. Cuando la suma de las presiones de vapor parciales, iguale a la presión que soporta el sistema, éste entrará en ebullición como un todo (ambas fases).

Esta situación se mantendrá constante durante toda la destilación, pues en todo momento habrá dos fases líquidas en equilibrio. El PE_b para cada sistema binario será constante, y menor que el PE_b del componente más volátil.

En general, este tipo de destilación se utiliza con agua como uno de los componentes y, el otro componente, es un compuesto inmiscible en agua, pero con una cierta presión de vapor, que se encuentra mezclado con otras sustancias que no son "arrastrables".

IV.5.1 Arrastre con vapor

i) Así como la destilación fraccionada resulta un procedimiento muy eficiente para separar líquidos miscibles entre sí (por ejemplo la destilación industrial de petróleo), la técnica de arrastre con vapor tiene una enorme aplicación para la resolución de las siguientes situaciones:

1) Separación de un componente algo volátil, a partir de una mezcla alquitranosa, o sólida en suspensión.

2) Separación de algún componente inmiscible en agua, a partir de una mezcla (la condición es que el resto de los componentes sean solubles en agua a ebullición y no presenten presión de vapor apreciable).

3) Destilación a menos de 100°C de sustancias lábiles al calor (es como destilar a menor presión, sin tener que recurrir a un equipo de vacío. ¿Por qué?).

Se puede calcular cuánta agua se necesita destilar para que ésta "arrastre" a la totalidad del componente que se desea purificar.

ii) Un ejemplo numérico

Para cualquier sistema binario de solventes inmiscibles, de los cuales se conozcan sus curvas de presión de vapor *vs* temperatura, puede encontrarse el valor de temperatura a la cual la suma de ambas presiones de vapor alcancen los 760 mm de Hg. Éstas serán las presiones parciales que importarán para el cálculo de la masa teórica de agua necesaria para el arrastre.

Si el sistema binario es agua-bromobenceno, puede deducirse de sus respectivas curvas de presión de vapor *vs* temperatura (ver el Gráfico 15) que a 96°C sus presiones parciales son 645 mm de Hg y 115 mm de Hg, respectivamente. A esa temperatura el sistema heterogéneo entrará en ebullición normal (a presión atmosférica):

$$760 \text{ mm Hg} = P_T = P^{\circ}_{\text{Bromobenceno}} + P^{\circ}_{\text{Agua}} = 115 \text{ mmHg} + 645 \text{ mmHg}.$$

Por lo tanto, las relaciones de las masas de agua y bromobenceno serán:

$$\frac{\text{masa de Bromobenceno}}{\text{masa de Agua}} = \frac{157}{18} \cdot \frac{115}{645} = 1,565$$

es decir, que por cada 1,565 partes en peso de Bromobenceno, destilará una parte de agua.

Si suponemos ahora tener 30 g de bromobenceno que se quieren separar, a partir de una mezcla alquitranosa, ¿cuánta masa de agua deberemos pasar como vapor, para aislar totalmente al Bromobenceno?

$$X = \frac{30}{1,565} = 19,17 \text{ g de agua "arrastrarán" a los 30 g de Bromobenceno.}$$

Para realizar este cálculo supusimos una eficiencia de 100% en el proceso de arrastre.

iii) La eficiencia de un arrastre

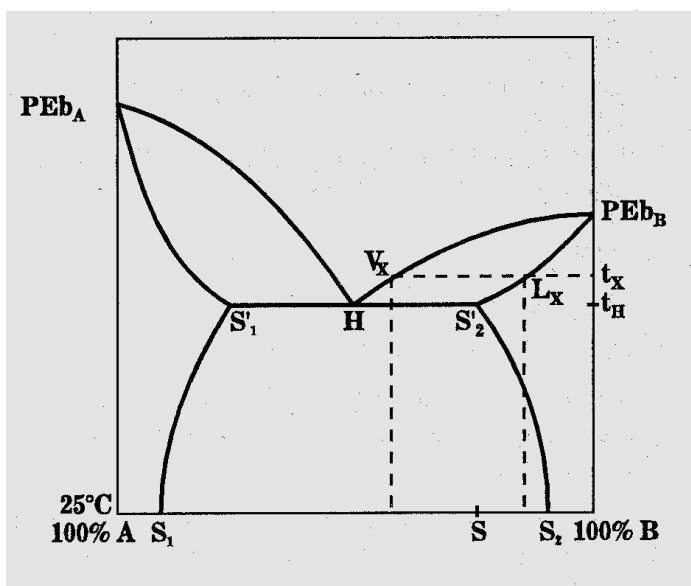
En los casos reales de destilación por arrastre, se requiere generalmente una masa mayor de agua que la calculada teóricamente para lograr el arrastre completo. Se calcula, entonces, el porcentaje de eficiencia logrado, conociendo la masa de agua teórica y real

$$\% \text{ eficiencia} = \frac{\text{masa de agua teórica}}{\text{masa de agua real empleada}} \times 100$$

IV. 6 Destilación de un sistema de dos líquidos parcialmente miscibles.

En la Parte C del Capítulo III, se analizó la variación de las presiones de vapor de líquidos parcialmente miscibles, a temperatura fija. Para una dada presión externa, el diagrama de Temperatura de Ebullición *vs.* Composición, para un sistema de líquidos parcialmente miscibles A y B, tiene la forma que muestra el Gráfico 32.

Gráfico 32: Equilibrio líquido-vapor para un sistema de dos líquidos parcialmente miscibles.



Analicemos separadamente lo que ocurre en una destilación simple y una fraccionada.

IV.6.1 Destilación simple

i) Si se parte de una composición global S , sabemos que, a temperatura ambiente, este sistema presentará dos fases: S_1 y S_2 , que son entre sí disoluciones conjugadas. Al elevar la temperatura, las solubilidades mutuas aumentarán hasta tomar los valores S'_1 y S'_2 , que son las concentraciones de las disoluciones conjugadas a la Temperatura de Ebullición (t_H). El sistema completo de dos fases, está, entonces, en ebullición.

El vapor en equilibrio con S'_1 y S'_2 , tiene composición H , y es el llamado heteroazeótropo.

Como la composición inicial S es más rica en el líquido B, la cantidad relativa de disolución conjugada S'_2 , será mayor que la disolución conjugada S'_1 (puede calcularse la proporción aplicando la regla de la palanca).

Además, se observa que H contiene mayor porcentaje molar del líquido A que el que tiene la fase S'_2 ; por lo tanto, la masa de vapor que irá destilando, se formará a expensas de consumir a la fase S'_1 (rica en A), mucho mas rápidamente que a la fase S'_2 .

Llega un momento, entonces en que la fase S'_1 se consume totalmente. **Hasta ese punto toda la solución ya destilada tiene composición H y destiló a la temperatura t_H constante.**

ii) Una vez consumida la fase S'_1 , el sistema a destilar presenta una sola fase, y se analiza como se vio en la sección IV.1.

Es decir que:

- La temperatura de destilación aumentará paulatinamente, tendiendo al valor PEb_B .
- La composición del líquido que ebulle se enriquecerá en B, siguiendo la curva S'_2-PEb_B .
- La composición del vapor que destila se enriquecerá en B, siguiendo la curva $H-PEb_B$.

Por ejemplo:

A la temperatura t_x la composición del líquido que ebulle en el balón es L_x y la composición del vapor en equilibrio es V_x .

Aclaración: obsérvese que, al condensar V_x , se formarán las dos disoluciones conjugadas, cuya composición dependerá de la temperatura a la cual se mantenga el destilado.

A su vez, si se detiene la destilación a esta temperatura t_x y se enfría el contenido del balón, el líquido L_x que consistía en una sola fase, se desdoblará en dos fa-

ses, a medida que descende su temperatura. Esto no ocurriría, si el valor de L_X estuviera dentro de la zona $S_2 - 100\% B$.

IV. 6.2 Destilación fraccionada

i) Si se parte nuevamente, de la composición inicial S , el análisis del proceso de destilación fraccionada es idéntico al descrito para la destilación simple. Este resultado era esperable, ya que al haber dos fases presentes, la presión de vapor total, y las parciales se mantienen constantes independientemente de la masa relativa de ambas fases (ver sección III.13.iii)). Puede compararse esta destilación en fase heterogénea, a lo visto en arrastre con vapor (sección IV.5).

ii) En cambio, a partir de que el sistema a destilar presenta una única fase, por ejemplo S'_2 , la destilación fraccionada será mas eficiente que la destilación simple.

Veamos sobre el mismo Gráfico 32:

Si se parte de una composición L_X al llegar a t_x , el sistema alcanzará la ebullición, los vapores en equilibrio tendrán composición V_X . Estos vapores serán condensados en el primer plato teórico de la base de la columna de fraccionamiento. Al ser seguidamente "revaporizados", se repite la situación en la cual el líquido que ebulle presenta dos fases (sección IV.6.i)). Es decir, que, los nuevos vapores en equilibrio con ambas fases (S'_1 y S'_2) tendrán la composición H , del heteroazeótropo.

Si la columna es ideal, tendrá suficiente cantidad de platos teóricos como para separar totalmente el heteroazeótropo, dejando, como segundo líquido a destilar, al componente B puro.

Sugerencia: Analice el proceso de destilación simple y fraccionada, para un sistema inicial de composición global S_1 .

IV.7 Secado de líquidos orgánicos

A menudo, el agua es uno de los líquidos que impurifican a los solventes orgánicos. En muchos casos la destilación es una forma apropiada de eliminarla.

Sin embargo, cuando la miscibilidad entre el agua y el solvente es grande y las curvas de equilibrio líquido-vapor de sus soluciones son parecidas (ver sección IV.3), la eliminación del agua debe hacerse por medio de desecantes. Agentes desecantes específicos se describen en la sección V.10 A continuación se describen consideraciones generales.

IV.7.1 Acción de los desecantes

La acción de un desecante depende en primera línea de dos factores: la *capaci-*

dad de secado, que es una medida de la cantidad máxima de agua fijada, y la *intensidad de secado*, que viene determinada por la presión parcial de vapor de agua del medio.

La capacidad del desecante se define por la siguiente ecuación:

$$K = \frac{P_{H_2O} \cdot 100}{P_{(desec.)}}$$

Donde K es la capacidad, P_{H_2O} es el peso de la cantidad máxima de agua fijable y $P_{(desec.)}$ es el peso del desecante anhidro.

Para el secado de aire la intensidad de secado se define por la presión de vapor de agua en equilibrio sobre el desecante o por la cantidad de agua en **mg por litro de aire seco**. Puede también indicarse por el **punto de rocío**, que es la temperatura a la que tiene lugar la condensación del vapor de agua en el aire.

La eficacia de un desecante depende también de la velocidad de la fijación de agua. En esta velocidad intervienen parámetros como tamaño de partícula, distribución de éste, desactivación de la superficie durante el proceso de secado y por el método experimental.

Al utilizar desecantes deben tenerse en cuenta sus peligros, como la posibilidad de corrosión cáustica con los desecantes ácidos o básicos; o el peligro de explosión (como con el perclorato de magnesio o con el sodio, cuando se ponen en contacto con sustancias orgánicas, agua o hidrocarburos clorados); con desecantes que liberan hidrógeno durante el proceso de secado (debe procurarse que el secado tenga lugar bajo una campana extractora que funcione bien).

IV.7.2. Tipos de desecantes más utilizados

Los desecantes pueden clasificarse en:

- 1) desecantes de acción química y
- 2) desecantes de acción física.

Los desecantes de acción química actúan de una de las maneras siguientes:

- a) Fijan el agua como agua de cristalización y son regenerables por calentamiento. Ejemplos: cloruro de calcio, sulfato de sodio, perclorato de magnesio.
- b) Reaccionan con el agua, no siendo posible la regeneración simple, y pueden formarse productos secundarios; estos desecantes son adecuados para secar sustancias al vacío. Ejemplos: pentóxido de fósforo, metales, hidruros de metales o compuestos organometálicos.

Los desecantes de acción física se caracterizan porque retienen agua por adsorción en los poros de su superficie. Pueden regenerarse por calentamiento o mediante vacío. Por ello, estos desecantes son inadecuados para secar sustancias al vacío. Ejemplos: gel de sílice, óxido de aluminio y tamices moleculares.

Los desecantes frecuentemente usados, como cloruro de calcio, carbonato de potasio, sulfato de sodio o sulfato de calcio, son sólo medianamente eficaces. Otros son mejores desecantes, como el sodio o bien óxido de metales alcalinotérreos, pero no son 100% eficaces. Por otra parte, el sodio puede provocar accidentes en el laboratorio.

Con los adsorbentes como silicagel, óxido de aluminio y tamices moleculares de 3 y 4 Å se alcanza, en la mayoría de los solventes, un contenido de agua de ~ 0,01%.

El secado clásico de líquidos consiste en agregarles a éstos el desecante, dejando en reposo y agitando de vez en cuando, o bien en calentar el líquido a reflujo sobre el desecante (sistema estático). Luego se filtra, se separa por decantación o se destila. La destilación es indispensable en aquellos casos en que durante el secado se han formado compuestos por reacción del agua con el desecante, los cuales se disuelven en el solvente.

DESTILACIÓN

Consideraciones experimentales

IV.8. Destilación simple

En el Gráfico 33 se observa el diseño de un aparato para destilación simple.

El líquido en el balón de destilación (A) se calienta hasta ebullición y el vapor que asciende va calentando el cuello del balón, siendo a su vez condensado por la parte fría, formando un anillo de líquido. Lentamente el anillo de líquido va ascendiendo por el cabezal de destilación (B) hasta alcanzar el termómetro. En ese momento los vapores salen por el vástago lateral y condensan en el refrigerante (C), por el cual circula agua fría en la dirección indicada por las flechas. Este líquido condensado cae al recipiente colector (E), con ayuda de la alargadera de destilación (D) y es el llamado **destilado**. El residuo que queda en el balón no debe llevarse a sequedad ya que numerosos compuestos orgánicos dejan residuos explosivos.

La temperatura de destilación se leerá correctamente cuando el bulbo del termómetro (colocado justo debajo del anillo de reflujo) se encuentre inmerso en una "situación de equilibrio". Esta situación se manifiesta por la presencia de una gota de líquido en la parte inferior del bulbo.

Si la energía térmica suministrada al sistema fuera exagerada, la gota sobre el bulbo desaparece y la temperatura que se leería corresponde a la de un vapor sobrecalentado.

Cuando se destilan líquidos que hierven a temperaturas elevadas se pueden calentar los balones a fuego directo paseando continuamente la llama por el fondo del balón.

Cuando se destilan mezclas de líquidos con sólidos, en las que se forman pastas, no debe calentarse a llama directa por el peligro de la rotura del balón.

Para líquidos que hierven entre 120-150°C, no se suele usar refrigerante con agua corriente por el peligro de la rotura de éste. Se procede entonces al cerrado de la entrada de agua.

Si la temperatura de ebullición es superior a 150°C, se utiliza refrigerante de aire, que bien puede ser el mismo refrigerante vacío.

Cuando la temperatura máxima alcanzada se mantiene aproximadamente constante (PEb) se cambia el recipiente colector que contiene la **cabeza de la destilación**, por otro de tamaño adecuado, donde se recogerá el producto principal que se espera obtener. La sustancia, si es pura o es un azeótropo, debe destilar en un intervalo de 1-2°C.

Si la temperatura de ebullición se eleva mucho quedando bastante líquido por destilar, se cambia el recipiente colector y se recoge una fracción superior (**cola de la destilación**). Tanto la cabeza como la cola de la destilación, contienen cantidades apreciables del producto principal. Si ambas constituyen una proporción notable del total de la operación, conviene someterlas a una nueva destilación separadamente.

Precauciones: en la práctica, tanto durante una destilación simple, como durante una fraccionada, deberán tenerse en cuenta los siguientes aspectos, que podrían ocasionar problemas:

- i) No calentar un sistema cerrado. Esto acarrearía un aumento de la presión dentro del aparato y la lógica explosión del mismo.
- ii) Abrir la circulación de agua por el refrigerante antes de comenzar la destilación, de lo contrario el destilado no condensará.
- iii) Verificar que las uniones entre las partes del aparato ajusten perfectamente, de lo contrario habrá pérdidas en el rendimiento de la destilación, y también incendios, si se destila un solvente inflamable.
- iv) Para favorecer una ebullición regular, se suelen colocar trozos de plato poroso, perlas de vidrio, etc. , los que al emitir burbujas de aire mantienen en agitación la masa líquida y evitan los sobresaltos provocados por el sobrecalentamiento. Estas piedras porosas nunca deben agregarse al líquido caliente ya que ello provocaría una evolución violenta de burbujas, con posibles salpicaduras.

Si no se agrega este material poroso puede ocurrir que, por los sobresaltos, se contamine el destilado (ya puro) con líquido que aún no destiló y, además, hará imprecisa la lectura del punto de Ebullición.

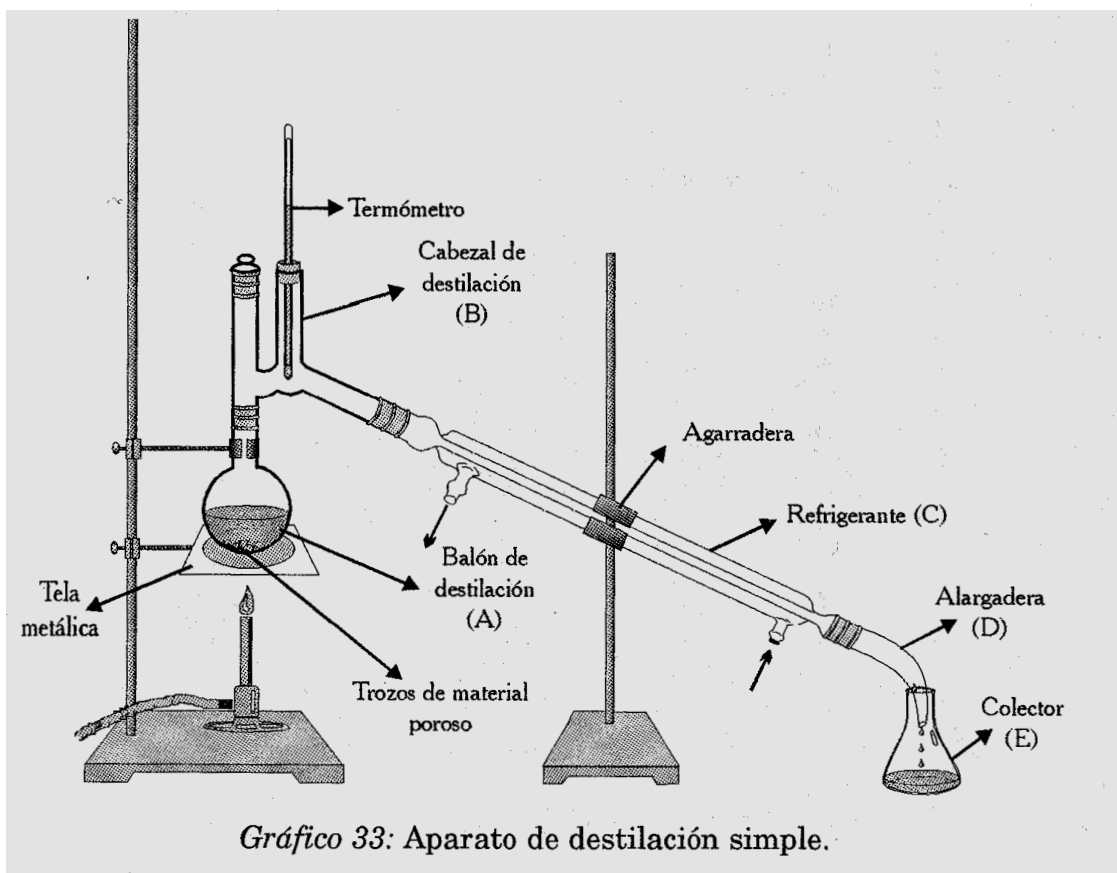


Gráfico 33: Aparato de destilación simple.

IV.9 Destilación fraccionada

En el Gráfico 34 se observa el diseño de un aparato de destilación fraccionada.

La separación de líquidos por destilación fraccionada se basa en que cuando una mezcla líquida (distinta de una mezcla azeotrópica) se vaporiza parcialmente, los vapores resultantes se enriquecen en el componente más volátil respecto del líquido original. Si este nuevo vapor es condensado y nuevamente vaporizado parcialmente, y si el proceso es repetido suficiente número de veces, el vapor finalmente obtenido será el líquido puro de menor punto de ebullición.

Esta operación puede realizarse rápidamente y sin pérdidas por medio de una columna de fraccionamiento que se inserta entre el balón y la salida de destilación.

Los materiales de relleno más comunes son hélices de vidrio, esponja de acero inoxidable y anillos cerámicos. Para lograr una máxima eficiencia la columna debe hallarse completamente aislada. Tal aislación completa es difícil de obtener. En la destilación de líquidos de PEB por debajo de los 100°C , es suficiente envolver la columna con tela o hilo de amianto. Para líquidos de alto punto de ebullición, o en el caso de columnas muy largas, se aplica a la columna una camisa con calentamiento eléctrico.

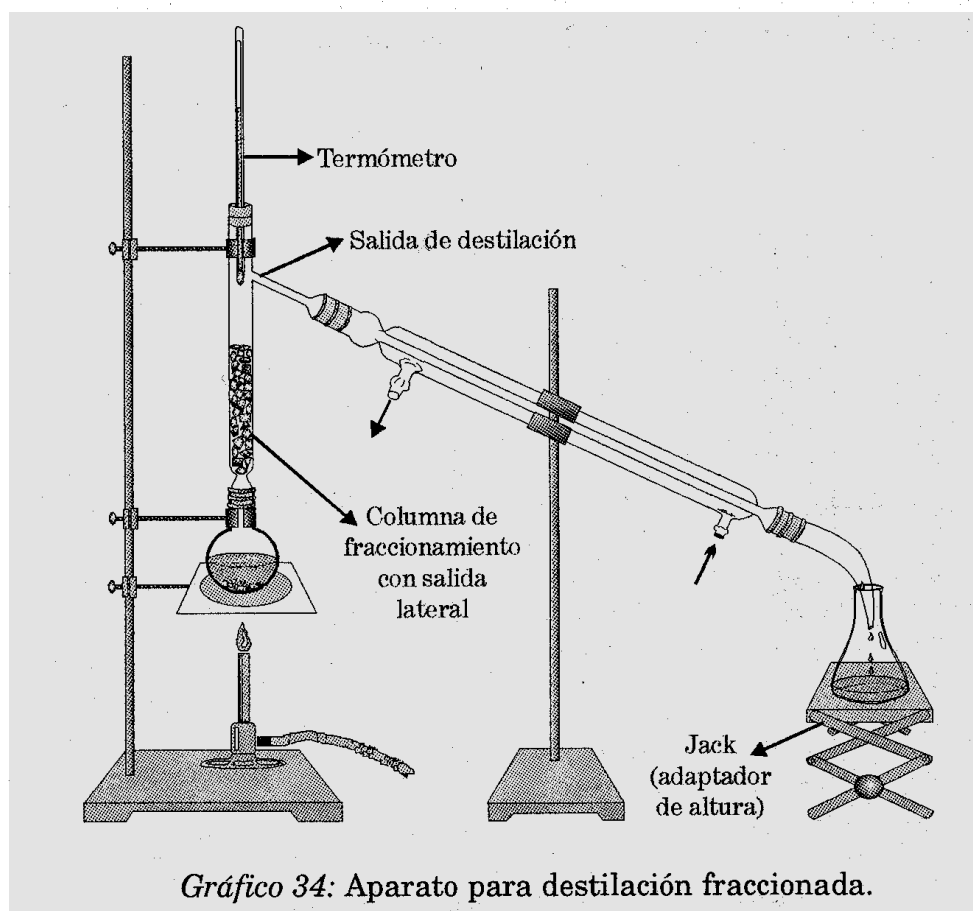


Gráfico 34: Aparato para destilación fraccionada.

IV.10 Modificaciones más comunes a los aparatos de destilación descriptos

i) Cuando deben destilarse **líquidos inflamables**, se evitará la presencia cerca de una llama. El 10se realizará con mantas calefactores, o planchas calefactoras y baños de aceite y/o glicerina.

ii) Cuando deben destilarse líquidos de **punto de ebullición muy alto, o drogas que descompongan durante** el calentamiento prolongado, se reducirá la presión interna del sistema, destilándose al **vacío**. Para lograrlo basta engarzar perfectamente la alargadera de destilación a un kitasato al que se ha conectado una bomba de succión.

iii) Cuando se quiera **aumentar la relación de reflujo** (como se vio en la sección IV. 2.d)), se modificará el cabezal de destilación como, por ejemplo, se muestra en el Gráfico 35. El cabezal consta de una entrada para el termómetro (T); un dedo frío, o refrigerante vertical, (R) por donde circula agua en el sentido que indican las flechas; una terminal de aguja (P), que permite medir como número de gotas por unidad de tiempo la cantidad de líquido que refluja o que sale del sistema a través de la llave (S), hacia el balón B. Con estos datos se puede calcular la relación de reflujo. Por ejemplo: si se saca una gota de destilado por cada nueve que se reflujan, la relación es 9 a 1. Para fraccionamientos eficientes normalmente se requiere una relación de reflujo de 100 a 1. La columna de fraccionamiento (F) puede estar calefaccionada mediante una resistencia eléctrica (E).

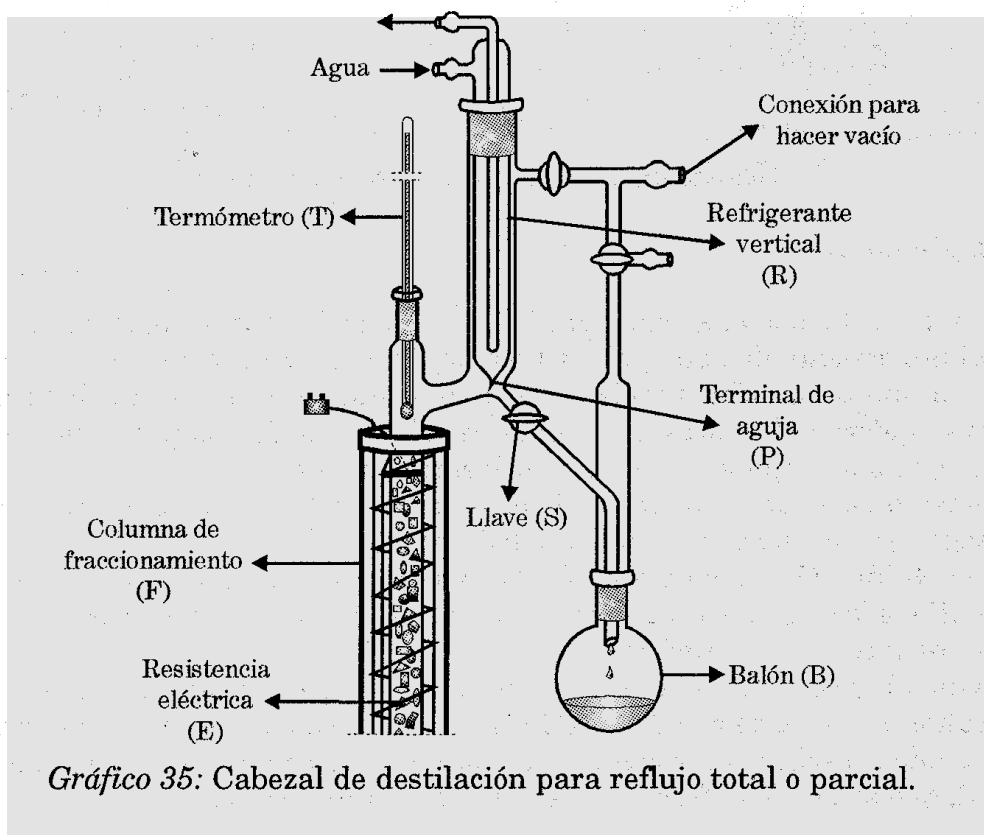
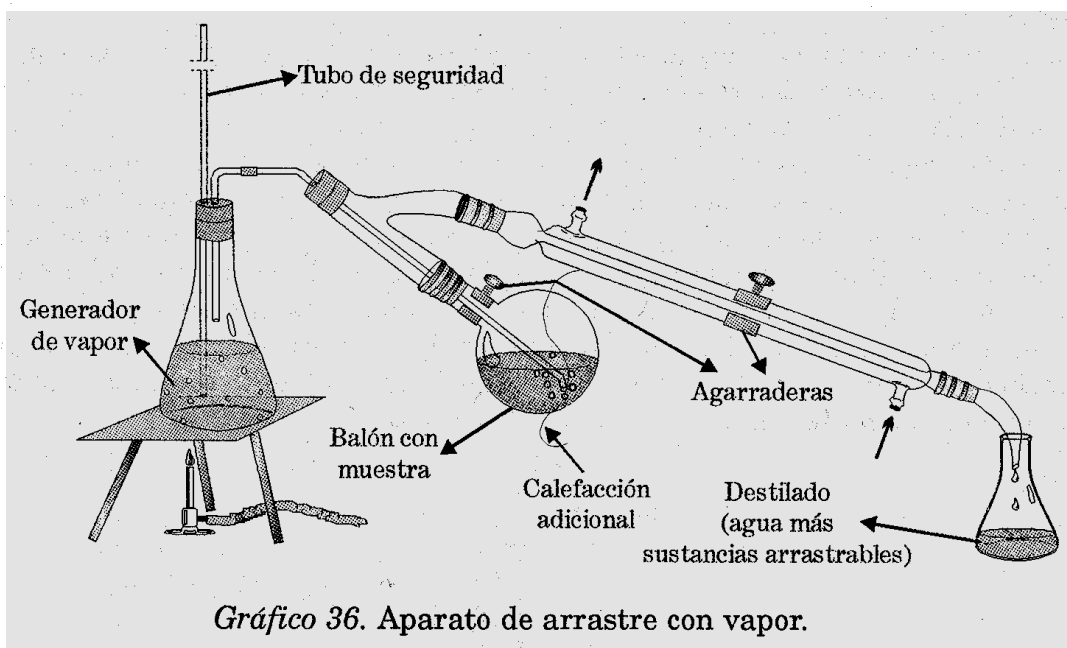


Gráfico 35: Cabezal de destilación para reflujo total o parcial.

iv) Existe una amplia variedad en tamaños de destiladores.

Desde microdestiladores; (para 2 ó 3 ml), hasta instalaciones industriales (destilación de petróleo).

v) Cuando se desea efectuar un arrastre con vapor, puede emplearse un equipo de destilación simple, donde el balón que se calienta contenga el agua (para generar el vapor) y la segunda fase. O bien, se puede armar un aparato como el que se muestra en el Gráfico 36 en el que el vapor se genera en otro recipiente; es decir, el arrastre se produce por una corriente de vapor de agua, que se inyecta al recipiente que contiene la muestra a separar.



IV.11 Rotavapor

Es un aparato diseñado para permitir la rápida eliminación de un disolvente (en general proveniente de extracciones (ver Capítulo V). Se asemeja, en su funcionamiento, a una destilación simple al vacío. Resulta, entonces, particularmente útil cuando se quieren concentrar soluciones de solutos que descomponen con la temperatura (y no para separar mezclas de solventes entre sí).

Existen muchos modelos comerciales y, en general son muy eficientes, a menos que tengan pérdidas por los anillos selladores.

En el Gráfico 37 se muestra un Rotavapor que consta de: un balón de entrada D (que contiene la solución a concentrar); un tubo C, cuya parte superior A está conectada a una llave B a la atmósfera.

El balón D se calienta por medio de un baño de agua, el vacío se logra conectando la salida H a una bomba de succión. El solvente caliente destila a presión reducida y condensa sobre el refrigerante F (por donde circula agua), desagotando en el balón E, que se puede enfriar (incluso con baños refrigerados).

El balón D gira continuamente a velocidad regulable por el motor G, logrando un calentamiento homogéneo de la solución a concentrar.

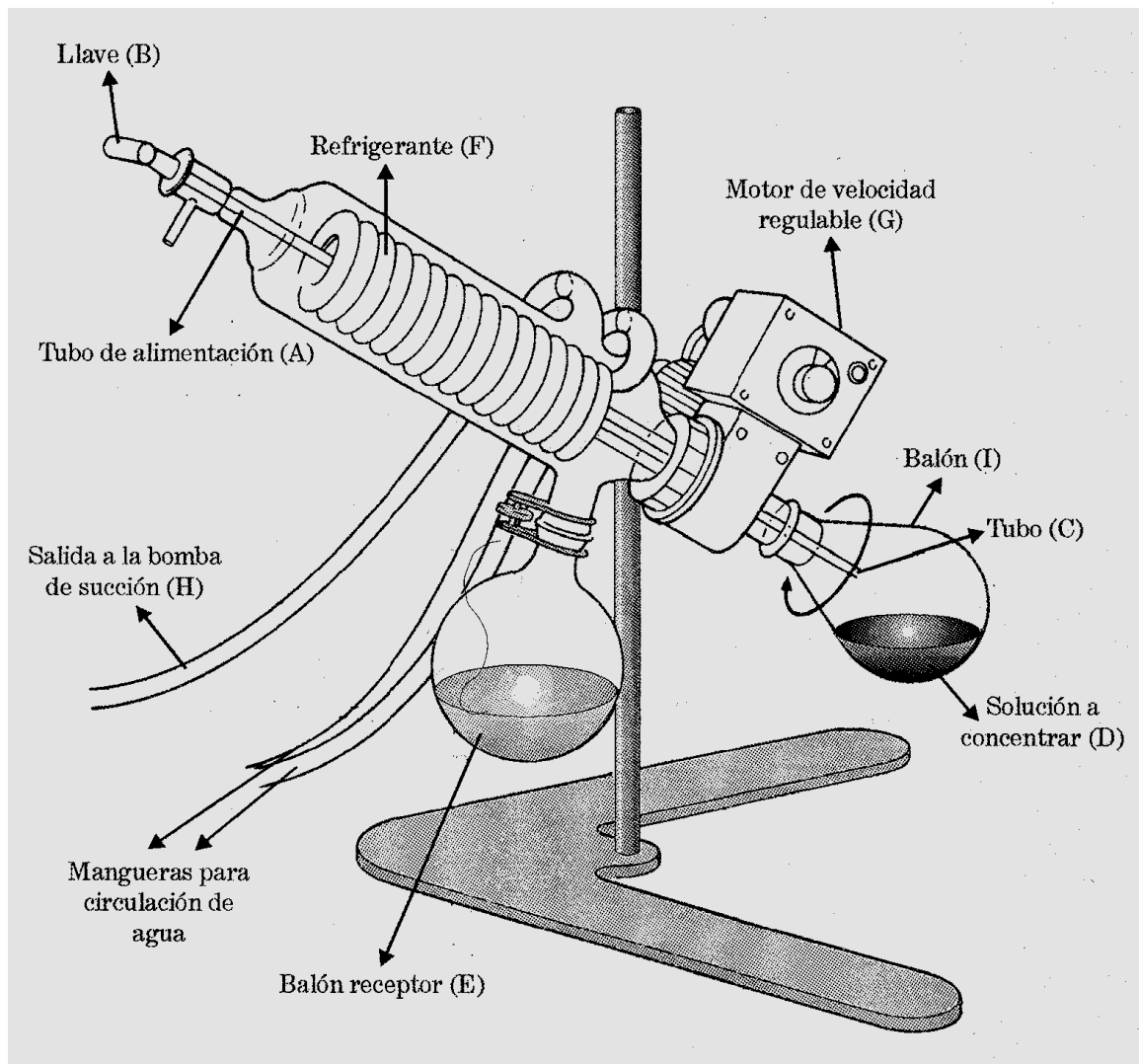


Gráfico 37. Rotavapor: equipo para evaporar líquidos a presión reducida.

CAPÍTULO V
Extracción

EXTRACCIÓN

Consideraciones Teóricas.

V.1 ¿Qué se entiende por extracción?

Cuando una sustancia está en contacto con dos fases líquidas, inmiscibles entre sí, se establece un equilibrio de distribución de la misma entre dichas fases. La sustancia puede ser sólida, líquida o gaseosa.

En general, el proceso de distribución de una sustancia entre dos fases en contacto depende de una de estas dos variables: Partición o Adsorción.

La Partición indica una disolución selectiva, con solubilidades diferentes para una sustancia, entre las fases de dos solventes inmiscibles.

La adsorción indica una adherencia selectiva, con desorciones diferentes, para una sustancia entre la fase sólida del adsorbente y la fase líquida del eluyente.

Las distintas técnicas cromatográficas (Capítulos VI y VII), se basan en una u otra variable, mientras que la **Extracción se basa sólo en el fenómeno de partición.**

Se puede definir, entonces, a la **Extracción**, como la separación de un componente (del seno de una mezcla), por acción de un solvente que lo disuelve selectivamente. Se llama, en cambio, **lavado** cuando lo que se extrae es la impureza, permaneciendo el compuesto deseado en su fase original (ver sección V.8).

V.2 La Constante de Partición

La teoría del proceso de extracción puede ilustrarse considerando la operación de extraer un compuesto orgánico que se encuentra en solución acuosa, con un solvente orgánico, inmiscible con agua.

Se aplica en este proceso la llamada Ley de Distribución o Ley de Partición, que establece que:

"si a un sistema de dos fases líquidas inmiscibles o muy poco miscibles, se le agrega una cantidad de un tercer componente, soluble en ambas fases, éste se distribuirá en cada fase, de tal forma que el cociente que resulta de dividir las concentraciones logradas en cada fase será una constante, que sólo dependerá de la temperatura."

Se asume que el estado molecular de la sustancia en cuestión es el mismo en ambas fases (no se consideran asociaciones ni disociaciones).

Si C_A y C_B son las concentraciones de la sustancia en las fases líquidas A y B, entonces, a una dada temperatura, se cumple que:

$$\frac{C_A}{C_B} = \text{Constante Kd (cualquiera de las dos fases puede ser la fase acuosa, y se debe aclarar).}$$

K_d es el llamado **coeficiente de partición o distribución**

Una aproximación al valor de K_d estaría dado por la razón de los valores de solubilidad que presenta la sustancia en cada uno de los solventes.

Por ejemplo: a 25° la solubilidad del ácido acetilsalicílico (aspirina) es 4,27 g/100 ml de éter etílico, y 1,22 g/100 ml de agua.

Cuando se agrega aspirina sólida (pulverizada) a una mezcla de iguales volúmenes de agua y éter etílico, la concentración de aspirina en el éter será, aproximadamente 3,5 veces mayor que en la fase acuosa:

$$K_d = \frac{\text{masa/100 ml de éter}}{\text{masa/100 ml de agua}} = \frac{4,27}{1,22} = 3,5 = K_d \frac{\text{éter}}{\text{agua}}$$

V.3 ¿En base a qué parámetros se elige el mejor solvente de extracción?

Los compuestos orgánicos son generalmente más solubles en solventes orgánicos que en agua y, por lo tanto, pueden extraerse de soluciones acuosas.

La elección del solvente de extracción depende de la solubilidad del compuesto a extraer, de la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad de los posibles solventes a emplear.

Nuevamente aplicamos la regla que dice "lo similar disuelve lo similar", mencionada en las secciones I.7 y II.3., de los Capítulos I y II, respectivamente.

Cuanto mayor sea la afinidad de la muestra orgánica por el solvente de extracción elegido, más fácilmente se extraerá.

Si la solubilidad del compuesto en agua es grande, se puede recurrir al efecto "salting out" (sección II.4). Esto es, por agregado de electrolitos a la fase acuosa, se aumentará la fuerza iónica de la misma, haciendo descender el valor de la solubilidad de la muestra orgánica en dicha fase, lo cual favorecerá el pasaje de la misma a la fase del solvente orgánico de extracción.

V.4 ¿Cuánto se extrae?

En general, la extracción consiste en agitar la solución acuosa y la fase de solvente orgánico en una ampolla de decantación.

Luego de dejar reposar unos minutos, se separan nuevamente las fases y se separan, drenando la fase inferior por la llave de la ampolla (Ver sección experimental V.7).

Pero... ¿es suficiente realizar una vez el proceso, o debe repetirse algunas veces más?

Supongamos que se desea extraer 100 ml de una solución acuosa que contiene 1,0 g de aspirina con 60 ml de éter etílico, con el objeto de recuperar la mayor cantidad de aspirina posible en la fase etérea.

Si los 100 ml de solución acuosa se agitan con los 60 ml de éter, la concentración de aspirina remanente en la solución acuosa puede calcularse de la expresión de Kd (sección V.2). Si llamamos X al número de gramos de aspirina que se extraerán con éter, será 1-X el número de gramos que permanecerá en la fase acuosa, luego de la extracción.

Entonces:

$$3,5 = \frac{Xg/60 \text{ ml de éter}}{(1-X) g/100 \text{ ml de agua}}$$
$$X = 0,68 \text{ g}$$

Por lo tanto, una extracción con 60 ml de éter remueve 0,68 g de aspirina de la fase acuosa.

Supongamos ahora que, en vez de extraer 1 vez con 60 ml de éter, se extrae en 2 pasos, con 30 ml cada vez.

Nuevamente, podemos expresar la cantidad de aspirina remanente.

Primera Extracción:

$$3,5 = \frac{Xg/30ml \text{ de éter}}{(1-X) 100 \text{ ml de agua.}}$$
$$X = 0,51 \text{ g}$$

quedan entonces 0,49 g en la fase acuosa.

Segunda Extracción:

$$3,5 = \frac{X/30 \text{ ml de éter}}{(0,49-X)/100 \text{ ml de agua}}$$
$$X = 0,25 \text{ g}$$

Los extractos etéreos reunidos sumarán 0,76 g de aspirina, lo que representa 0,08 g más que la cantidad separada al realizar un sólo paso de extracción (un 8% más eficiente resulta la doble extracción).

Sugerencia: Calcule la cantidad de aspirina extraída en 3 pasos con 20 ml de éter cada vez.

Generalizando, se observa que los mejores resultados se obtienen dividiendo el solvente de extracción en algunas porciones antes que hacer una extracción única con la totalidad del volumen del solvente de extracción.

Si el par de solventes empleados es absolutamente inmiscible, se podría aplicar una descripción matemática rigurosa en cada extracción, arribándose a la fórmula siguiente:

$$G_n = G_o \cdot \left(\frac{K_d \cdot V}{K_d \cdot V + S} \right)^n$$

donde: G_o = gramos del soluto en la solución acuosa original.

V = volumen de la solución acuosa original.

S = volumen de solvente orgánico de extracción.

G_n = gramos del soluto que quedan en la fase acuosa luego de n extracciones.

K_d = constante de distribución, definida como $\frac{\text{masa disuelta en la fase acuosa}}{\text{masa disuelta en la fase orgánica}}$

n = número de extracciones.

De la fórmula se deduce que, por ser $\frac{K_d \cdot V}{K_d \cdot V + S}$ menor que la unidad, cuanto más

veces se extraiga (mayor n), menor será el remanente del soluto en la fase acuosa, esto implica mayor eficiencia en la extracción.

V.5 ¿Debe ser inerte un solvente de extracción?

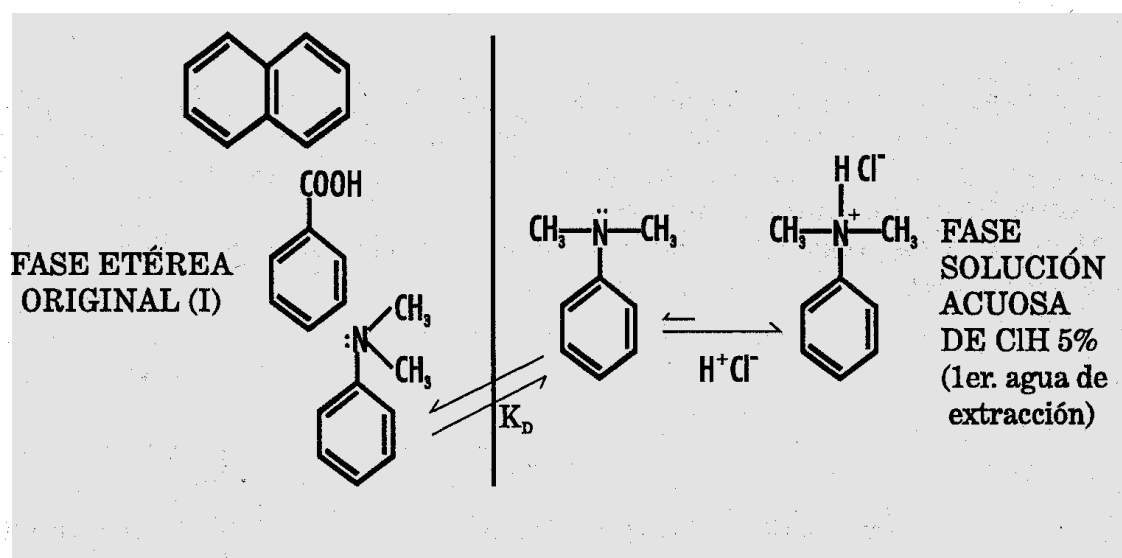
El solvente utilizado en la extracción no debe alterar la estructura del compuesto a extraer. Sin embargo, las reacciones de tipo ácido-base (que son reversibles) son muy frecuentemente utilizadas para realizar lavados secuenciales.

Para entender mejor el fundamento de este tipo de extracción ácido-base, debe analizarse las tablas IX.1 a IX.7 del Capítulo IX en lo referente a solubilidades frente a ácidos y/o a bases, de los compuestos allí utilizados.

V.6 Extracción ácido-base

Se tiene una **solución etérea de naftaleno**, impurificada con **ácido benzoico** y **N, N-dimetilanilina** ¿cómo lograr, mediante extracción ácido-base, tener los compuestos **separados**?

- a) **Primer paso:** se pone en contacto la solución etérea de la mezcla con porciones frescas de ácido a ClH 5%. Se extrae cada vez, una dada cantidad de N,N-dimetilanilina, pues la pequeña proporción de la amina que se disuelve en agua (y daría lugar a un $K_d^{\text{éter}}_{\text{agua}}$ grande), se protona, formándose una nueva especie: Cloruro de N,N-dimetilanilinio, muy soluble en agua.

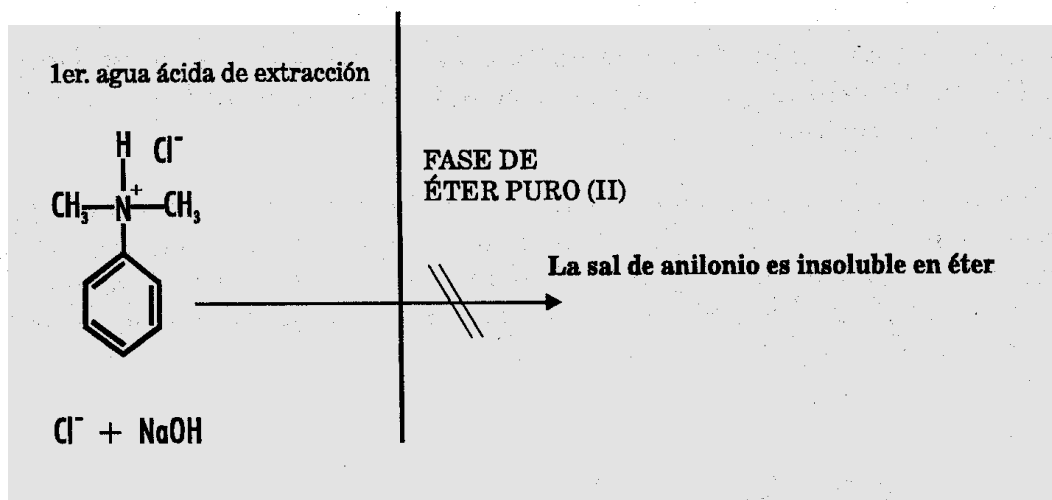


Esto implica la "desaparición" de la N,N-dimetilanilina **disuelta como tal**, y por lo tanto, el pasaje de más moléculas de amina libre a la fase acuosa (ya que K_d es una constante por el Principio de Le Chatelier el equilibrio se desplaza hacia la derecha).

Este paso se repite algunas veces, para asegurar una extracción eficiente, hasta la desaparición de la N,N-dimetilanilina de la fase etérea original (I).

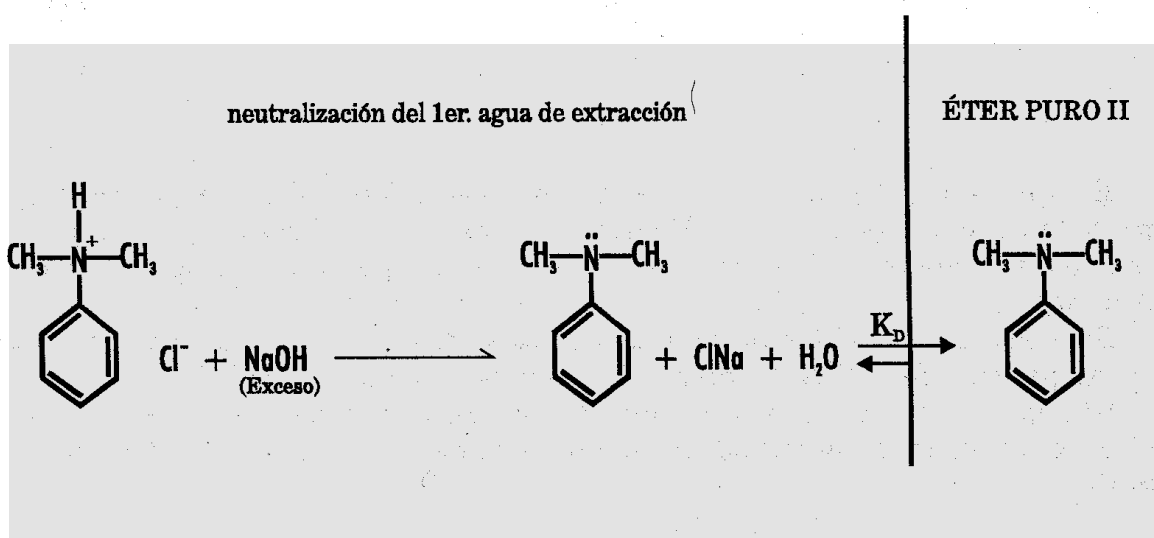
Se tienen entonces, varias fracciones de **solvente acuoso de extracción** y, reunidos, **contienen la totalidad de la amina como cloruro de N,N-dimetilanilinio**.

- b) **Segundo paso:** Se reúnen las fases acuosas ácidas unificando la primera extracción. La fase acuosa ácida total se pone en contacto con una fase etérea pura (II). La **sal** de anilinio es insoluble en éter. Se agrega entonces una base, como NaOH 8% para alcalinizar la fase acuosa (clorhídrica), y ocurre el próximo paso.

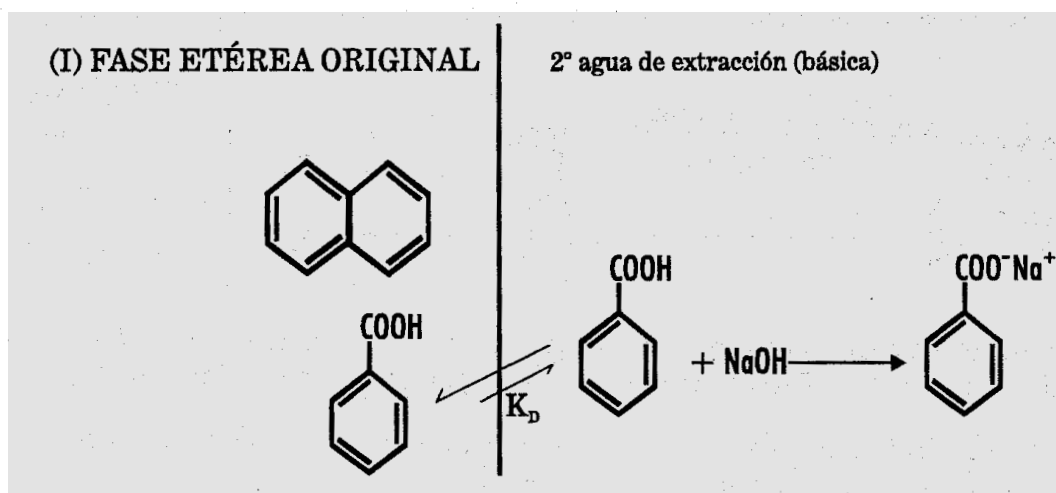


c) **Tercer paso:** La base desplaza el equilibrio hacia la liberación de la amina (Principio de Chatelier). La amina ahora es insoluble en el agua alcalina (ver Tabla IX.7) y, por lo tanto, se disolverá prontamente en la fase etérea (II) que tendrá **N,N-dimetilanilina como único soluto**.

Mediante estos tres pasos se ha logrado la separación de la N,N-dimetilanilina de la mezcla inicial.



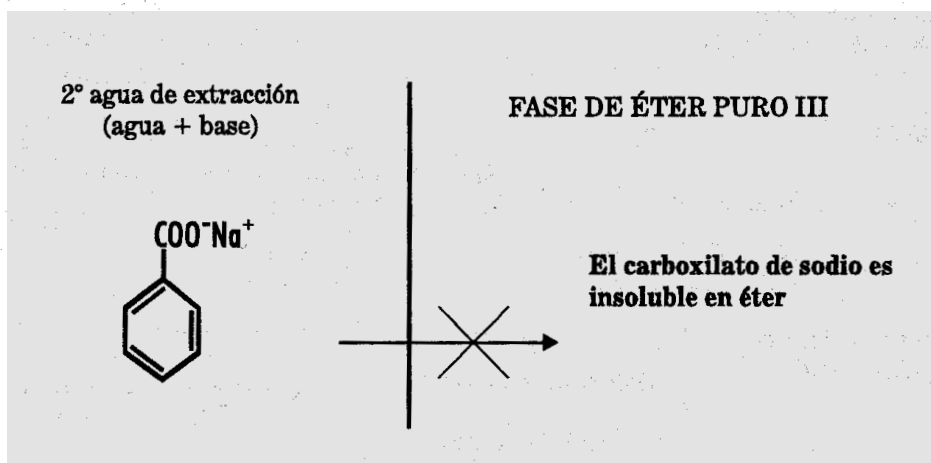
d) **Cuarto paso:** Se pone en contacto la solución etérea original (I) (que ahora sólo contiene naftaleno y ácido benzoico) con solución de NaOH 5%. Se extraerá ahora el **ácido benzoico**, pues:



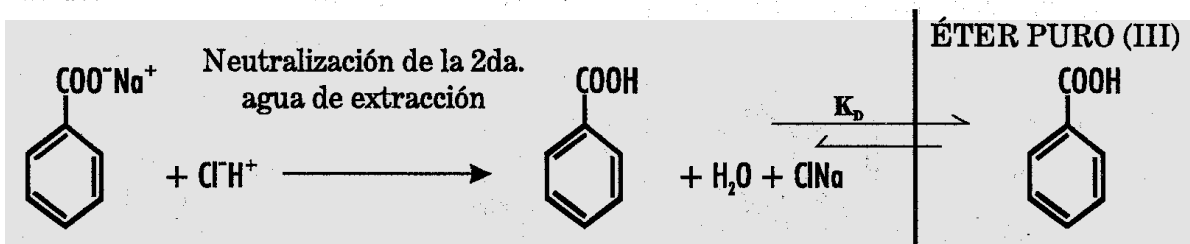
la pequeña proporción de ácido que se disuelve en el agua (daría lugar a un $K_d^{\text{éter/agua}}$ grande), **se ioniza, formándose la sal del anión carboxilato**. Esto implica la "desaparición" de la "especie ácido benzoico disuelto en agua como tal y, por lo tanto, el pasaje de más moléculas de ácido benzoico a la fase acuosa ($K_d = \text{cte}$; Principio de Le Chatelier).

Este paso se repite algunas veces, con alícuotas nuevas de solución alcalina, para asegurar una extracción eficiente; hasta la desaparición del ácido benzoico de la fase etérea (I). Dicha fase **etérea original (I)**, quedó, por lo tanto, con **naftaleno como único soluto**.

e) **Quinto paso:** Se pone en contacto el **agua básica** unificada de la segunda extracción, con una **fase etérea pura (III)**. La sal es insoluble en éter. Se agrega entonces ácido para neutralizar la fase alcalina.



f) **Sexto paso:** El ácido agregado desplaza el equilibrio hacia la liberación del ácido.

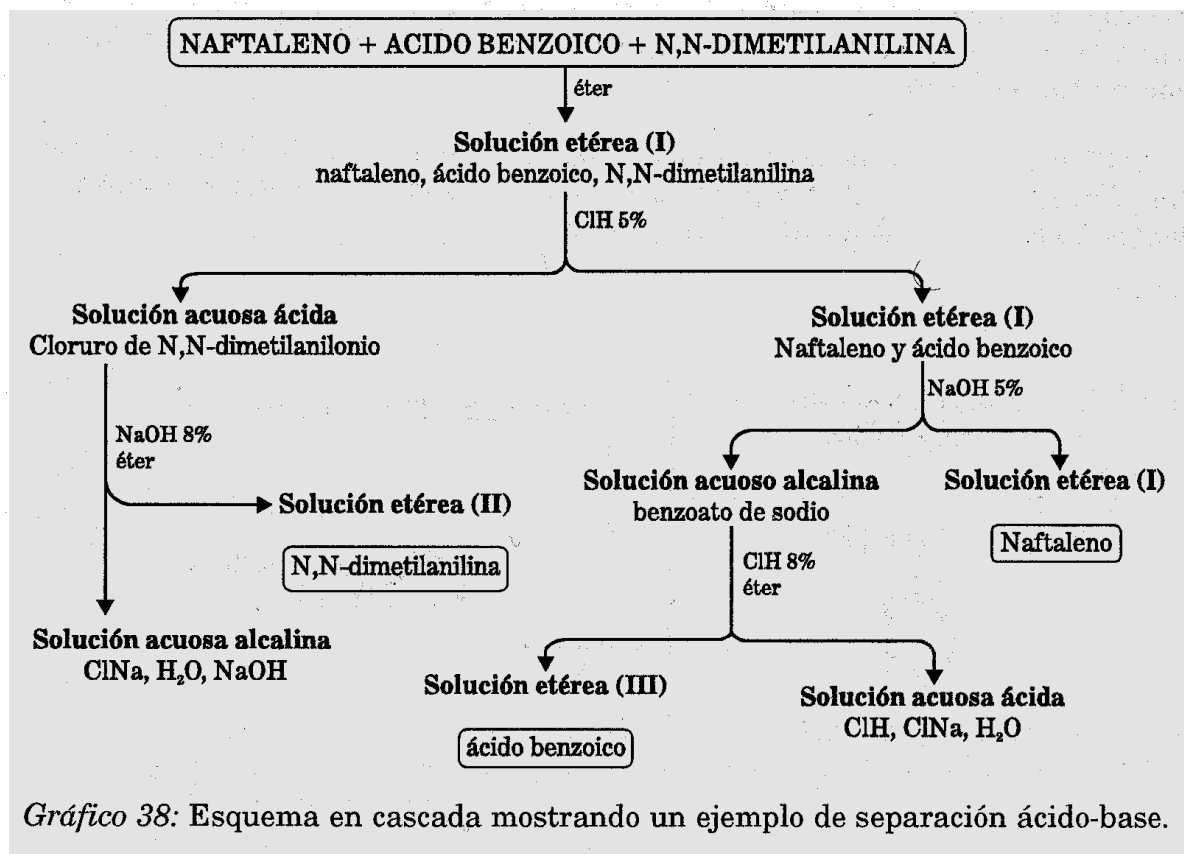


El **ácido benzoico** es muy poco soluble en agua, y, por lo tanto se disolverá espontáneamente en la **fase etérea (III)** que lo tendrá **como único soluto**.

FINALMENTE: se han separado por sucesivas extracciones ácido-base los tres componentes de la mezcla original, quedando:

- (I) Fase etérea original con el naftaleno.
- (II) Fase etérea con la N,N-dimetilanilina.
- (III) Fase etérea con el ácido benzoico.

g) La forma más sintética y sencilla de expresar la secuencia descripta, es la que se observa en el Gráfico 38.



V.7 Comentarios

i) La metodología presentada hasta aquí, es de aplicación absolutamente general. Frente a una mezcla de sustancias a separar hay que reconocer primero, los grupos funcionales ácidos, básicos o neutros presentes. Seguidamente se debe analizar la solubilidad en agua o en fase orgánica de los componentes de dicha mezcla. Si se encuentran presentes compuestos solubles en agua, éstos deberán **separarse antes** de extraer con soluciones ácidas o básicas.

ii) Es posible diferenciar entre grupos ácidos y débilmente ácidos:

Los fenoles se extraen sólo con solución de NaOH.

Los ácidos orgánicos se pueden extraer con solución de bicarbonato de sodio. A este pH los fenoles no pasan a fenóxidos, exceptuando aquellos que presenten grupos atrectores de electrones en el anillo aromático (ej.: nitro-fenoles).

iii) Es frecuente que después de una síntesis, los productos de reacción estén contaminados con alcoholes (utilizados como reactivos o solventes). Los alcoholes son solubles en agua y también en la fase orgánica, y su extracción es, por lo tanto, difícil. Se recurre, entonces a la propiedad que presentan los compuestos con oxígeno (también éteres) de protonarse en medio ácido fuerte. Se agita la mezcla orgánica con ClH concentrado y frío, y luego se separan las fases; el alcohol, protonado pasa a la fase clorhídrica. Debe cuidarse que un medio tan ácido no afecte al compuesto que se desea aislar.

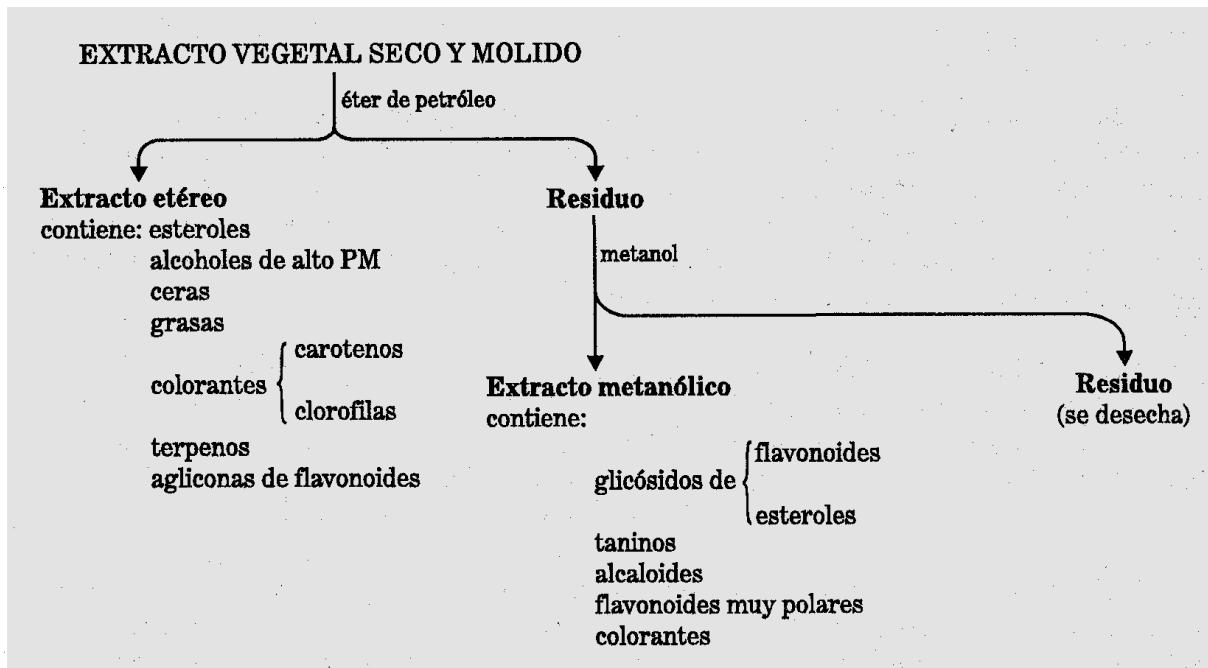
V.8 ¿Cómo se extraen secuencialmente los componentes de una planta?

El análisis químico de los componentes de una planta se denomina *screening* de la misma.

Generalmente se parte del material vegetal previamente deshidratado (en estufa y corriente de aire a 40-45°C) y finamente pulverizado. Este polvillo vegetal se extrae con fracciones del solvente elegido, o bien con extracción continua en SOXHLET (ver sección experimental V.10.c).

El tipo de compuestos orgánicos extraídos, variará con la polaridad del solvente elegido. Normalmente, para un estudio sistemático, se elige como primer solvente de extracción, uno poco polar (ej. éter de petróleo). Luego de la extracción, el residuo sólido se separa del solvente, y se somete al sólido a una nueva extracción, con otro solvente más polar, extrayendo, esta vez, los componentes más polares presentes en el material vegetal.

Un esquema muy general de extracción de material vegetal sería el siguiente:



Aclaración: si se hiciera sobre el polvillo vegetal original un extracto inicial con metanol, muchos de los compuestos no polares serán extraídos, por efectos de co-disolución.

La presencia de cada uno de estos grupos de compuestos se puede detectar por reacciones de caracterización específicas (muchas veces empíricas, de estequiometría y mecanismos desconocidos).

También es posible aislar estos grupos de compuestos, a través de nuevas secuencias de "llevado a seco-extracción"; ya sea con distintos solventes, o con extracción ácido-base (ver sección V.6).

EXTRACCIÓN

Consideraciones experimentales

La técnica de extracción se emplea muy frecuentemente para lograr el aislamiento de productos naturales, o para purificar el producto sintetizado en una reacción.

Algunas posibles situaciones de extracción son:

- 1) Aislamiento de productos orgánicos de una solución acuosa, por extracción con un solvente orgánico.
- 2) Purificación del compuesto orgánico deseado, separando sales y ácidos o bases formados en la reacción, por extracción con agua ("lavados").
- 3) Separación de ácidos o bases orgánicas, de otros compuestos orgánicos presentes en una fase orgánica, por extracción con ácidos o bases diluidas (Sección V.6).

En todos estos casos se puede aplicar una extracción simple, con la ayuda de una ampolla de decantación.

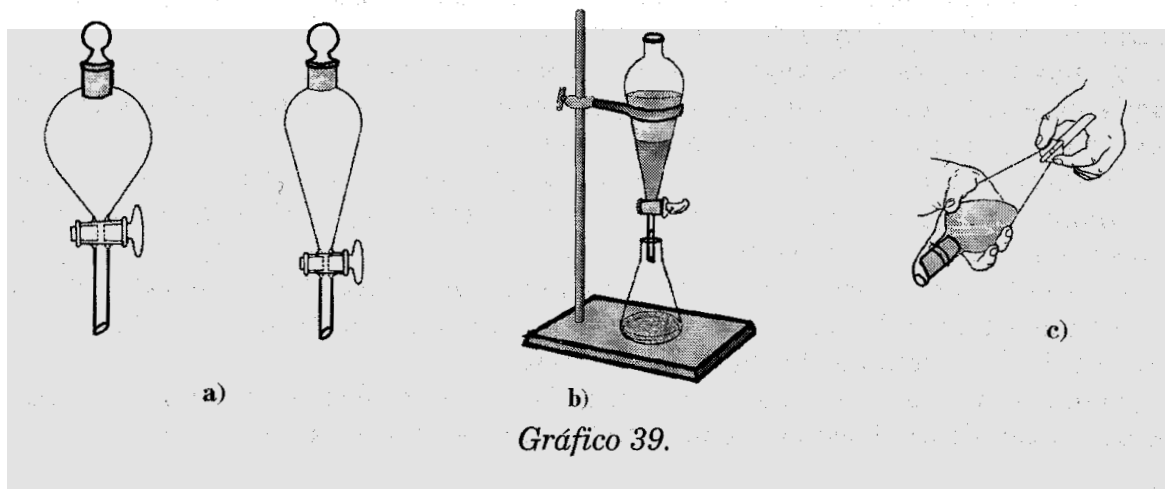
V.9 ¿Cómo se manipula la ampolla de decantación?

a) Las ampollas de decantación se consiguen comercialmente en distintas formas, desde esféricas, hasta elongadas en forma de pera. Las ampollas elongadas permiten observar mejor la zona de separación de fases, cuando se está decantando (Gráfico 39(a)).

Las ampollas tienen un robinete en su parte inferior, por donde drenará el contenido al vástago.

b) Para llevar a cabo la extracción, se coloca la solución dentro de la ampolla con el robinete cerrado. La ampolla se encuentra soportada por un aro, y con un recipiente colector por debajo. (Gráfico 39(b)).

Se agrega, entonces, el volumen del solvente de extracción elegido, de tal forma de no llenarla más allá de $3/4$ de su volumen.



El orificio superior de la ampolla se cierra con un tapón de Teflón o esmeril.

c) Para agitar el contenido, se toma la ampolla como se muestra en el Gráfico 39.c); de tal forma de presionar el tapón con la palma de la mano. Se debe agitar vigorosamente para lograr que los dos líquidos inmiscibles se mezclen íntimamente, tanto como sea posible. Es decir, el propósito es aumentar la superficie de contacto entre los dos solventes, para que la distribución del soluto se equilibre en el menor tiempo posible.

Durante la agitación, aumenta la temperatura del contenido de la ampolla, ya sea por el calor de disolución liberado, o por el contacto con las manos; de tal forma que aumenta la presión en su interior. **Es necesario liberar la presión formada.**

d) Para liberar la presión que se desarrolló dentro de la ampolla, se debe invertir la misma (con el robinete para arriba), manteniendo la tapa bien cerrada, y entonces abrir cuidadosamente el robinete.

Este procedimiento es particularmente importante cuando los solventes tienen bajo PEB, o se extrae una solución ácida con bicarbonato de sodio (se libera CO_2), etc. Si no se realizara esta operación, puede desprenderse violentamente el tapón, o eventualmente, estallar la ampolla, perdiéndose el contenido de la misma y pudiendo ocasionar lesiones (de piel, oculares, etc).

e) Luego se dejan separar las fases y, cuidadosamente, se drena la fase inferior al recipiente colector (si la ampolla está tapada no drenará el líquido, ¿por qué?).

Como regla general las fases se separarán de tal forma que el solvente más denso va al fondo. Sin embargo, a veces ocurre que la concentración de solutos presentes, puede alterar la densidad de alguna fase hasta el punto de invertir las densidades relativas de los solventes (a veces esto se debe al efecto "salting out").

Aclaración: Es muy común que los estudiantes descarten la fase equivocada y lo verifiquen demasiado tarde. Como prevención, se sugiere guardar ambas fases, hasta que no quede duda sobre la identidad de cada una.

f) Ocasionalmente, después de la agitación, los dos líquidos inmiscibles no se separan nítidamente, formando una **emulsión**.

Si una de las fases es agua, la emulsión se puede "romper" agregando una solución salina saturada. Este agregado disminuye la tensión superficial del agua y permite que las gotas colapsen, formándose una capa.

También se puede drenar el contenido emulsionado, gota a gota, sobre las paredes limpias de un erlenmeyer o un vaso de precipitados, lográndose la formación de las dos capas.

Otra forma de recuperar las capas es centrifugar la totalidad de la solución.

En casos muy 'rebeldes', será necesario probar con otro par de solventes, o evitar el agitado violento de las fases inmiscibles.

Si quedaron restos de sólidos en la interfase (a veces forman una tercera capa), es necesario filtrar el sistema heterogéneo antes de la separación.

g) Luego de la extracción, la fase orgánica está saturada con agua, y es necesario secarla, antes de evaporarla.

El agua es una impureza que siempre hay que sacar antes de evaporar el solvente (o antes de destilar).

Normalmente se utilizan sales que forman hidratos, como agentes desecantes. La eficiencia del secado dependerá del grado del desplazamiento del equilibrio $\text{sal} \rightleftharpoons \text{sal hidratada}$, hacia la derecha (**intensidad**); del grado de hidratación (**capacidad** de incorporar una o más moléculas de agua en el hidrato), y de la velocidad con que se llegue al equilibrio citado.

V.10 Secado de solventes orgánicos

El secado de soluciones orgánicas consiste en agregar el desecante, dejando en reposo el sistema unos minutos luego de agitarlo de vez en cuando. Luego se filtra.

Los agentes desecantes más comunes son aquellos que no afectan o reaccionan con la mayoría de los compuestos orgánicos. Algunos ejemplos son:

1) MgSO_4 = alta capacidad, mediana intensidad, rápida acción, barato. Es uno de los más usados.

2) Na_2SO_4 = alta capacidad, baja intensidad, rápida acción. Muy usado.

3) CaCl_2 = alta intensidad; se lo utiliza principalmente con hidrocarburos y halogenuros de alquilo, porque forma complejos con la mayoría de los compuestos que tienen O y N.

4) CaSO_4 = (Drierite) = muy alta intensidad, baja capacidad, rápido. Se lo utiliza para secado de gases.

5) K_2CO_3 = se lo utiliza para secar alcoholes, por ser muy insoluble en ellos. Tiene capacidad e intensidad intermedias.

6) Tamices moleculares (*molecular sieves*) son complejos de silicatos con una estructura porosa tal que atrapa selectivamente moléculas de agua. Muy buen agente desecante.

La cantidad de agente desecante a utilizar es aproximadamente una décima o vigésima parte del volumen a secar. Se permite el contacto líquido-desecante durante 10 a 20 minutos y luego se elimina por filtración rápida.

V11 ¿Qué es una extracción continua?

Un problema experimental bastante común es el que involucra la separación de un componente que es **poco soluble** en el solvente de extracción, a partir de una mezcla con otros componentes, esencialmente insolubles en dicho solvente.

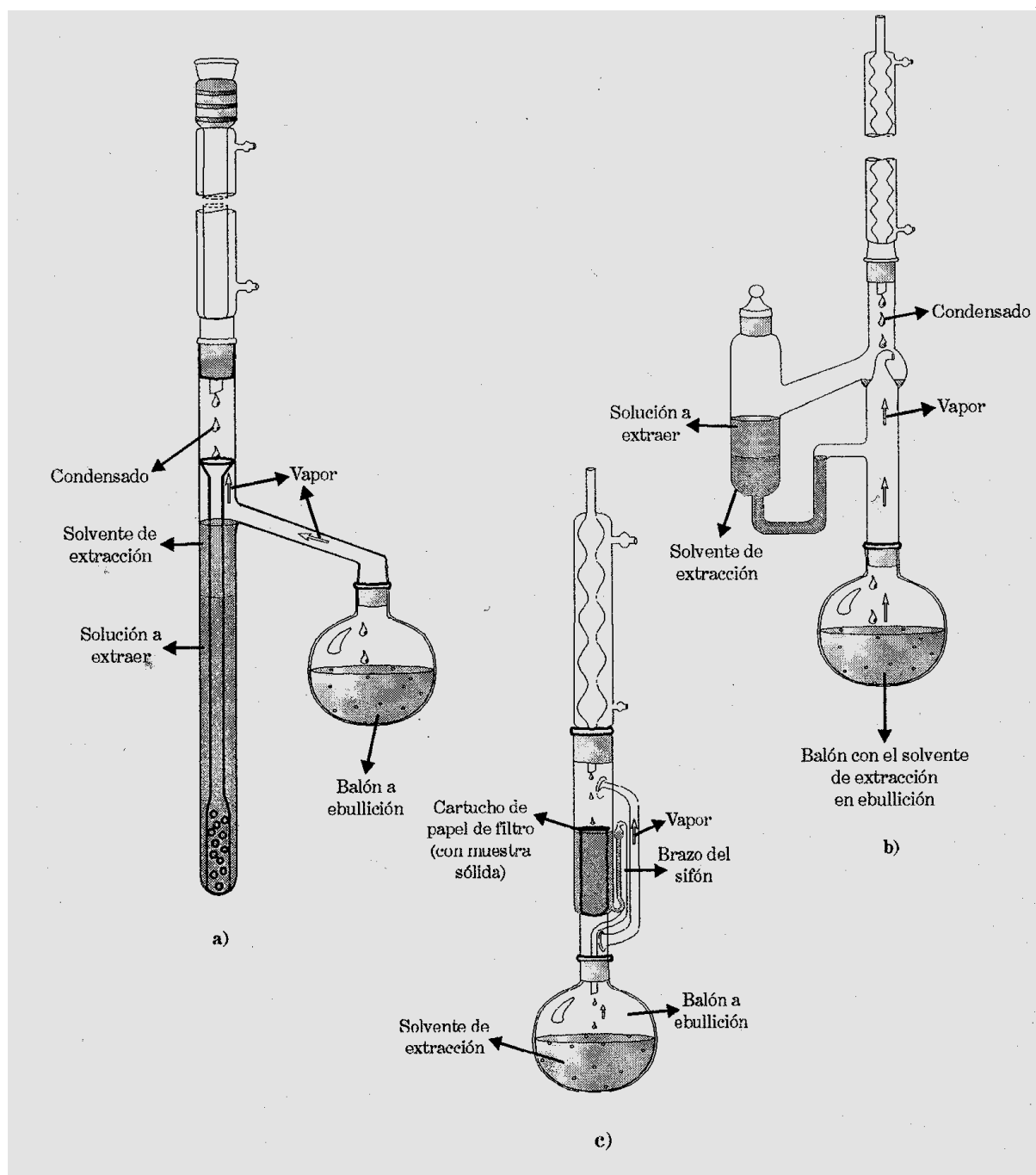
Para efectuar una extracción eficiente, se requerirán grandes volúmenes del solvente extractor y el costo y el manipuleo de tales cantidades hace impráctica la operación. Además sería muy tedioso pretender hacer un gran número de extracciones.

La extracción continua utiliza aparatos que, por su diseño, solucionen el problema planteado.

Existen tres diseños básicos de aparatos para extracción continua, como se observa en el Gráfico 40:

- a) Aparato para extracción continua con un solvente menos denso que la solución original .
- b) Aparato para extracción continua con un solvente más denso que la solución original.
- c) Aparato "SOXHLET" para extracción continua de un polvo sólido.

Sugerencia: analice cuidadosamente el funcionamiento de cada aparato del Gráfico 40.



- a) Diseñó que permite extraer con un solvente menos denso que la solución inicial.
- b) Diseñó que permite extraer con un solvente más denso que la solución inicial.
- c) Equipo SOXHLET de extracción sólido-líquido.

Gráfico 40. Aparatos de extracción continua.

CAPÍTULO VI

Cromatografía de adsorción

CROMATOGRAFÍA

VI.1 Introducción:

La técnica de Cromatografía se basa en el principio general de distribución de un compuesto entre dos fases, una fija y otra móvil.

Reducida a su fundamento, se la puede ver como la remoción selectiva de los componentes de una mezcla por acción de la fase móvil que fluye a través de la fase estacionaria, donde se encuentran.

Esta técnica se emplea no sólo para separar los componentes de una mezcla, sino también como criterio de pureza e identificación, bajo ciertas circunstancias (se discutirán en la sección VI.4).

Existen varios tipos de cromatografía. Entre otros citamos:

- 1) Cromatografía de adsorción.
- 2) Cromatografía de partición.
- 3) Cromatografía de filtración con geles (o tamices moleculares).
- 4) Cromatografía de intercambio iónico.

Existen también varias técnicas que se aplican a algunos de los tipos mencionados:

- a) Cromatografía en **capa delgada** (C.C.D.).
- b) Cromatografía en **capa preparativa** (C.C. Preparativa).
- c) cromatografía en **columna**.
- d) Cromatografía en **papel**.
- e) Cromatografía **gaseosa** —se analiza separadamente por tener métodos y técnicas propias—.

La técnica de capa delgada es para uso analítico y la columna es siempre preparativa.

Las técnicas de papel y gaseosa pueden utilizarse como recursos analíticos o preparativos.

Según la técnica empleada habrá consideraciones especiales para los distintos pasos en el proceso cromatográfico. Pero se puede decir, que dicho proceso consta de cinco etapas principales (todas ellas serán explicadas con detalle en la sección experimental):

1) **Armado de la placa o columna:** implica la disposición espacial que adoptará la fase estacionaria.

2) **Siembra:** se refiere al contacto inicial de la mezcla a separar con la fase estacionaria, para su posterior desarrollo.

3) **Desarrollo:** es el pasaje de la fase móvil a través de la fase estacionaria.

4) **Revelado:** implica la localización de las zonas en que se encuentran los compuestos ya separados, cuando éstos no poseen color intrínseco.

5) **Elución:** se utiliza cuando se intenta remover los solutos de la fase estacionaria

En este capítulo, nos ocuparemos de la Cromatografía de Adsorción, en sus técnicas de capa delgada, preparativa y columna.

CROMATOGRAFÍA DE ADSORCIÓN

Consideraciones Teóricas

VI.2 Definición y visualización del proceso cromatográfico

El proceso de cromatografía de adsorción se basa en la separación de un soluto entre una fase sólida **de adsorbente** y una fase móvil.

El fenómeno de adsorción ocurre en la superficie del gránulo de fase fija, y se fundamenta en la atracción entre el soluto y el adsorbente por formación de uniones dipolo y formación de puentes hidrógeno.

Esta cromatografía sólido-líquido depende de:

- a) El equilibrio establecido en la interfase entre el sólido adsorbido y la solución aplicada como fase móvil.
- b) La solubilidad relativa del soluto en la fase móvil.

El soluto es **adsorbido** en la superficie del adsorbente y luego desorbido por el solvente de fase móvil.

Si se trata de una mezcla de solutos, el más fuertemente atraído por el adsorbente, será el más difícil de eluir y será el que “corre” o se desplaza menos.

Este tipo de cromatografía se utiliza en tres de las técnicas mencionadas en la introducción, a saber: capa delgada, capa preparativa y columna.

Las capas presentan al adsorbente cubriendo la superficie de un soporte, que puede ser, entre otros, una placa de vidrio.

En el Gráfico 41 puede visualizarse el proceso cromatográfico, con el siguiente ejemplo:

Se ha sembrado la muestra mezcla y el patrón de un posible componente, a una corta distancia del borde inferior de la capa de adsorbente, a la derecha e izquier-

da respectivamente; luego se sumerge el borde inferior en el solvente de desarrollo, que asciende por capilaridad, desorbiendo selectivamente a los distintos componentes de la mezcla, pasando por los estados a), b), c) y d).

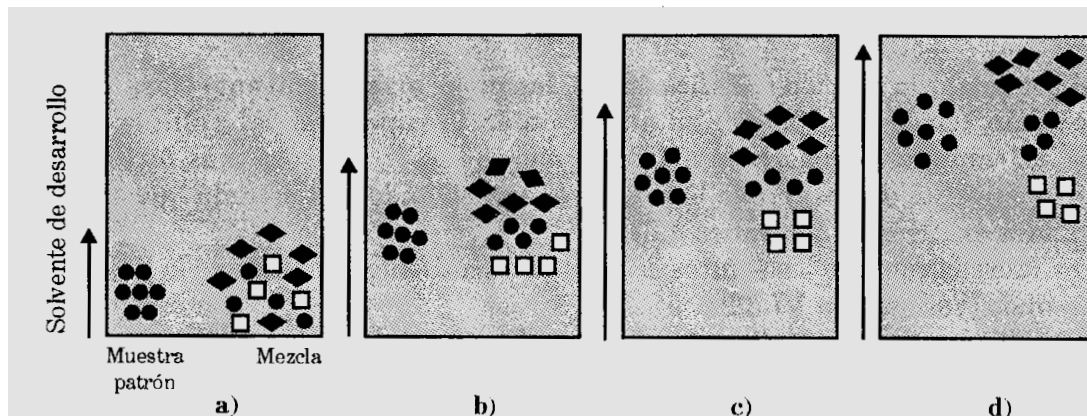
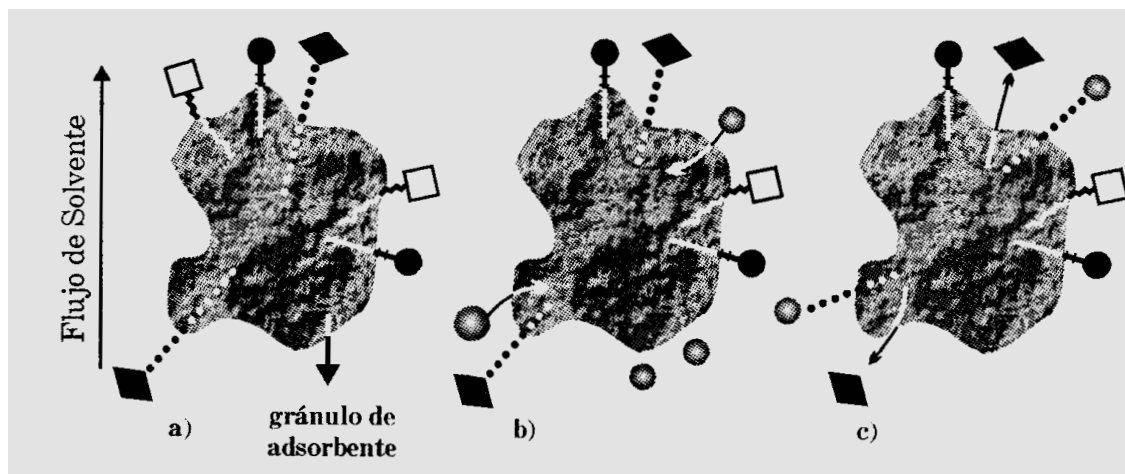


Gráfico 41. Esquema del proceso cromatográfico en capa delgada.

De la observación de la C.C.D. (cromatografía en capa delgada) del Gráfico 41(d), en la que el solvente ha llegado al tope permitido, se puede concluir que la sustancia más “retenida” fue □, y la que más “corrió” fue ◆. Los círculos negros se desplazaron en forma intermedia y podría tratarse de la muestra que sembramos como patrón (comparar con el desplazamiento del patrón).

Un “análogo microscópico” del mismo proceso nos mostraría la competencia entre las fuerzas de adsorción y desorción, como se muestra en el Gráfico 42.



□ ◆ ● sustancias que se adsorben con diferente fuerza sobre la superficie del gránulo de adsorbente.
 ● solvente que compete con la fuerza de adsorción de los solutos, forzando equilibrios adsorción-desorción.

Gráfico 42: “Análogo microscópico” del proceso cromatográfico.

En el Gráfico 42(a), vemos un gránulo de adsorbente, en el lugar de la siembra, al que se le han ligado (adsorbido), con fuerzas diferentes los tres compuestos de la mezcla. Las fuerzas serían, de mayor a menor:



Al comenzar la elución (Gráfico 42(b)), las moléculas de solvente (fase móvil ●) competirán con los solutos por su adsorción en la superficie del gránulo de adsorbente. El compuesto adsorbido más débilmente (◆) será más fácil de desorber, y el solvente de desarrollo lo remueve, arrastrándolo, a medida que avanza sobre la fase estacionaria (Gráfico 42(c)).

Las fuerzas con que los solutos se fijan al adsorbente resultan de la polaridad de los mismos (ver sección VI.3.2).

Un solvente de desarrollo muy polar, tiene una fuerza de elución grande, y remueve a su paso a la muestra, que ya no queda ligada al adsorbente. Un desarrollo en el que dos o más componentes corren con el frente del solvente, no sirve a los fines separativos.

Para poder medir el desplazamiento alcanzado por cada componente de la mezcla y por el patrón, con una medida que resulte independiente del tiempo y de las dimensiones de la placa, se utiliza el concepto de **Relación de frente** (R_f); y se lo define como el cociente entre la distancia recorrida por el compuesto y la distancia recorrida por el solvente de desarrollo. Esto se muestra en el Gráfico 43.

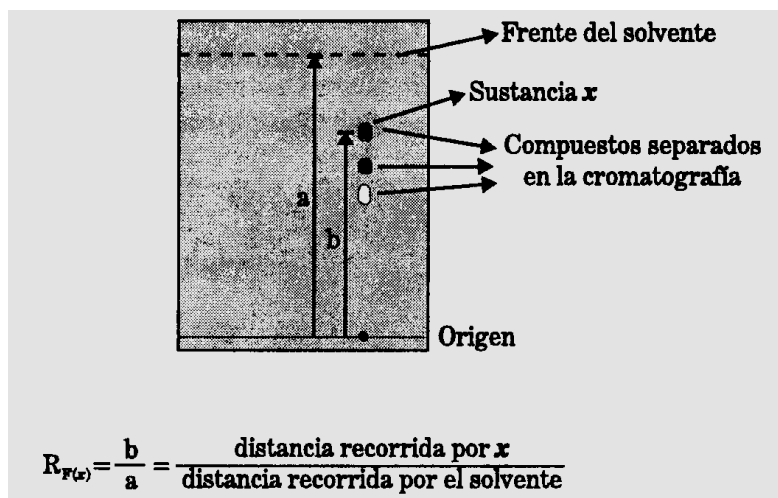


Gráfico 43. Cálculo del R_f en una cromatografía en capa delgada.

De la definición se desprende que el valor de R_f es siempre menor o igual a la unidad.

En la técnica de columna, donde el solvente se deja gotear por el robinete inferior (Ver sección VI.8.3), este R_f carece de sentido (no se puede medir el frente) y, por lo tanto, se lo utiliza para las técnicas de placas.

Intuitivamente se percibe que a mayor distancia recorrida por el solvente, mejor será la resolución lograda (siempre y cuando el proceso de difusión no supere el cromatográfico). ¿Implica una mejor resolución en placa la modificación del valor del R_f durante la recorrida?

Veamos:

Si dos sustancias de una muestra tienen R_f 0,7 y 0,9 respectivamente, la separación entre ambas será de 2 mm si el frente del solvente corriera 1 cm; mientras que, si el frente corriera 10 cm la separación real será de 2 cm. El R_f no cambió, pero hubo más superficie y, por lo tanto, más cantidad de equilibrios adsorción-desorción, con una mejora en la resolución.

VI.3 ¿De qué variables depende la movilidad del soluto (R_f)?

Hablar de R_f , es hablar de **movilidad** de un compuesto en un proceso cromatográfico. Todas las variables que se discutirán a continuación, influyen tanto en las técnicas de capa (donde se puede medir el R_f), como en las de columna. La técnica de columnas tiene además, algunas variables adicionales, que se discutirán en las siguientes secciones.

Las **variables generales** que afectan la movilidad, en una experiencia de cromatografía de adsorción son:

- a) **Adsorbente**
- b) **Estructura del Solute**
- c) **Solvente de desarrollo**
- d) **Temperatura**
- e) **Saturación de la cuba**

VI.3.1 *El adsorbente*

Existen muchos tipos de fase fija. Un orden decreciente de poder adsorbente podría generalizarse así:

- | | |
|--|------------------------|
| —Carbón activado (de menor utilidad, ver aclaración final) | —Hidróxido de aluminio |
| —Silicato de magnesio | —Hidróxido de calcio |
| —Óxido de aluminio (alúmina) | —Carbonato de calcio |
| —Sílica gel | —Talco y Almidón |

Características de la fase fija:

i) **La actividad** (o poder adsorbente) de las fases estacionarias, depende de su preparación. Los adsorbentes para capa delgada tienen cantidades variables de **ligante** (por ejemplo la sílica tiene un 13 % de CaSO_4 = yeso), que permite mayor adherencia al soporte. Este agregado puede alterar el poder adsorbente.

Los adsorbentes para columna **no** tienen agregado de ligante. Los dos adsorbentes más ampliamente utilizados, es decir, la alúmina (Al_2O_3) y la sílica gel (óxido de silicio y sus hidratos), son especialmente sensibles al contenido de humedad. Sus características generales son:

Alúmina: Se consigue comercialmente con tamaños de partícula que oscilan entre 50 y 200 micrones. Se presenta en tres tipos: básica ($\text{pH}=10$), neutra ($\text{pH}=7$) y ácida ($\text{pH}=4$); y es importante asegurarse el empleo del tipo correcto, para evitar la catálisis de ciertas reacciones sobre los grupos funcionales de la muestra a separar.

La alúmina presenta cinco grados de actividad según la fuerza de atracción que ejerza sobre grupos polares de la muestra, y según el número de sitios activos. El Grado I es el más activo y se obtiene al calentar la alúmina entre 300 y 400°C varias horas. Grados de menor actividad (de II a V) se obtienen por adición de determinadas cantidades de agua (II: 3-4%; III: 5-7%; IV: 9-11% y V: 15-19%). El grado se controla por el comportamiento cromatográfico de determinados pigmentos en estrictas condiciones de reproducibilidad.

Sílica: También se la clasifica en grados según el porcentaje de agua incorporada. El Grado I se obtiene calentando varias horas la sílica a poco menos de 300°C (II: 5%; III: 15%; IV: 25%; V: 38%). Si bien el pH de la sílica es 7, puede en ocasiones actuar como catalizador ácido.

La disminución de la actividad o poder adsorbente frente a muestras orgánicas se debe a que numerosos "sitios activos" de su superficie están bloqueados por moléculas de agua. Por otro lado, la excesiva presencia de agua, implicará fenómenos de partición (se verá en Capítulo VII) simultáneos a los de adsorción, y esto complicará y restará eficacia al proceso cromatográfico.

Estos dos adsorbentes mencionados, pueden servir para adsorber prácticamente a todas las moléculas que presenten algún grupo funcional. Además, por ser blancos, permiten distinguir las zonas donde se localizan los compuestos, luego del desarrollo y revelado.

ii) **La inercia química.** Debe tenerse cuidado con respecto a probables reacciones químicas entre los compuestos y el adsorbente.

La alúmina, por ejemplo, puede tener propiedades básicas y la sílica, ácidas. Si las muestras sembradas tienen algún componente ácido o básico, respectivamente, podrían quedar demasiado adsorbidas, debido a una interacción eléctrica (formación de las sales). Además, puede haber reacciones, como hidrólisis de ésteres, y condensaciones aldólicas (en alúmina), y lactonizaciones en sílica.

También hay que tener en cuenta que los adsorbentes de grado I, pueden **deshidratar** grupos funcionales lábiles de la muestra y, consecuentemente, modificar su estructura. El adsorbente debe ser inerte con respecto a la muestra.

iii) **El tamaño del gránulo del adsorbente** es importante, porque una gran superficie implica una mayor adsorción, es decir, mejor resolución. Cuando se utiliza el adsorbente de grano más fino el espacio entre los gránulos es más pequeño, el equilibrio **adsorción-desorción** se establece rápido. Este equilibrio, nunca llega a establecerse completamente durante el proceso cromatográfico práctico, pero siempre se debe trabajar de tal forma de tender lo más posible a lograrlo. Cuanto más difícil resulte separar algunas sustancias, tanto más se deberá aproximar a dicho equilibrio para mejorar la resolución.

Si el tamaño del gránulo es grande, el equilibrio adsorción-desorción-adsorción, será lento, debido a la lejanía entre sitios activos de los sucesivos gránulos de adsorbente. Esto implicará que el soluto necesitará estar solubilizado un cierto tiempo en el solvente de desarrollo o elución (hasta que se encuentre con el siguiente sitio activo) y en ese lapso puede **difundir**. El resultado de esta **difusión** del soluto es el ensanchamiento de las manchas observadas en la capa (respecto de sus puntos de siembra), y la formación de bandas en las cromatografías en columna.

Nota: volver a mirar el Gráfico 41.

Debido a este fenómeno, resulta importante que los puntos o zonas de siembra, sean pequeños (tanto en técnicas de capa como de columna).

En las técnicas de capa pueden emplearse adsorbentes con distintos tamaños de gránulos (entre 5 y 40 micrones). Las capas más eficientes en su resolución son las de adsorbente más homogéneo, y finamente pulverizado (5 micrones). Esto quiere decir, que se necesita menos recorrido del frente del solvente para lograr la separación deseada. Este tamaño de granulosis es el que se utiliza para armar columnas de alta resolución (cromatografía líquida de alta resolución H.P.L.C.= High Performance Liquid Chromatography).

La granulosis más utilizada en las técnicas de capa (C.C.D. y C.C.P.), es aquella cuyo grano tiene entre 10 y 40 micrones de diámetro.

En las técnicas de columna el adsorbente más utilizado es aquél cuyo tamaño de gránulo oscila entre 60 y 200 micrones. Esto implica una **resolución separativa menor en la columna, que en la capa**.

Si se arman columnas con el adsorbente de grano más fino (entre 10 y 40 micrones, igual que el de capa, pero sin ligante), se obtendrá un empaçado muy denso. El pasaje del solvente de elución se tornará extremadamente lento, y será necesario forzar este flujo con presión (ver sección VI.6.1.caso 2).

iv) Otro factor importante es el **empaquetamiento**, es decir la homogeneidad en el armado de la fase fija.

a) En las técnicas de capa, es primordial un espesor parejo de la capa adsorbente. Para lograrlo se concibieron distintas técnicas de armado, que se discuten en la sección VI.8.1 y VII.8.2.

Una capa irregular ocasionará recorridos más rápidos (en zonas delgadas), o más lentos (en zonas de mayor espesor), implicando un valor de R_f aleatorio e irreproducible.

b) En la técnica de columna, la homogeneidad está dada por un asentamiento parejo de su relleno.

Es por este motivo que, luego de armada la columna (ver sección VI.8.3), se la deja unas horas goteando lentamente con el solvente de armado, o bajo una presión hidrostática tal que logre un buen apisonamiento o empaquetamiento de la fase fija.

Las inhomogeneidades implicarán un descenso rápido de las bandas, por las zonas menos densas del relleno, y, en consecuencia, el frente de elución será desparejo y los compuestos saldrán mezclados, como se observa en el Gráfico 44.

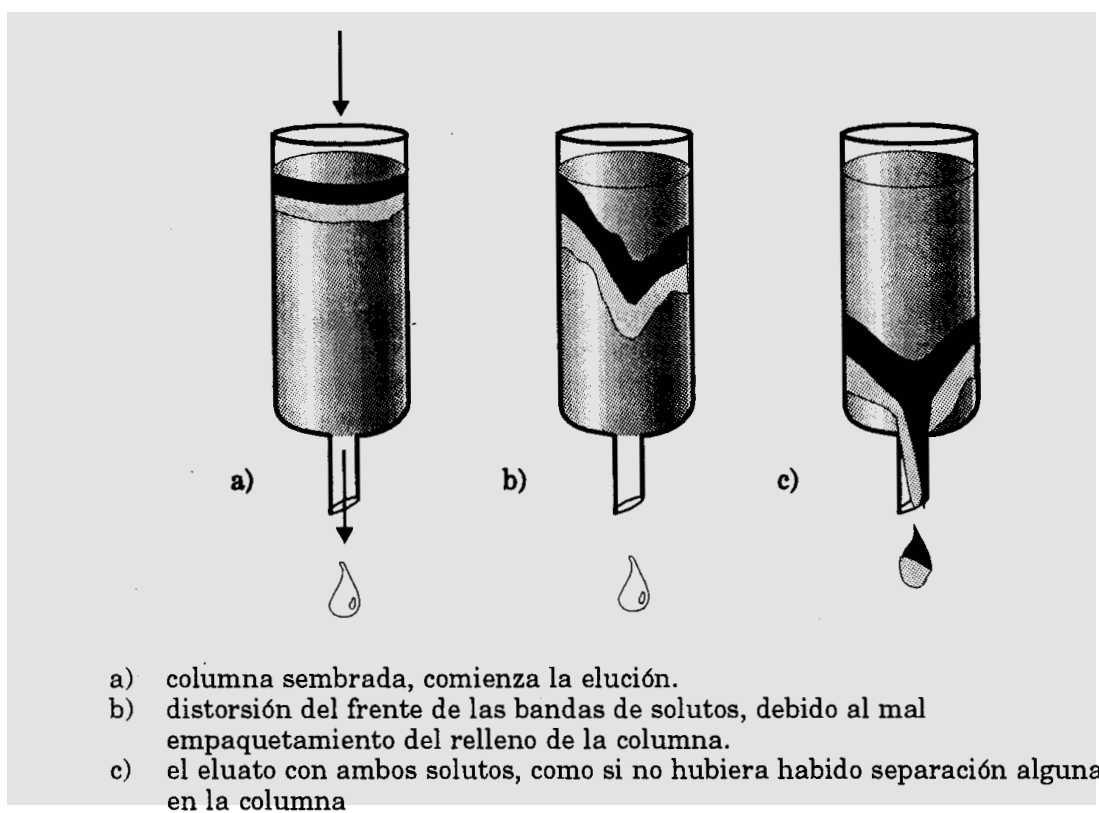


Gráfico 44. Problemas separativos debidos al mal empaquetamiento del adsorbente, en cromatografía en columna.

Con la técnica moderna de cromatografía líquida de alta presión (C.L.A.R o HPLC en inglés), se han logrado excelentes resultados separativos. El éxito de esta cromatografía sólido-líquida radica en la utilización de una fase fija de gránulo muy fino (alta resolución) y un empaquetamiento perfecto.

Aclaración final: El **carbón activado** difiere de los otros adsorbentes porque no tiene grupos polares en su estructura y, por lo tanto, no participa de la formación de puentes hidrógeno. La capacidad de adsorción sobre el carbón dependerá, entonces, de la polarizabilidad del compuesto. La polarizabilidad aumenta con el incremento de dobles o triples enlaces y grupos aromáticos. Los solventes de elución para desorber estos compuestos, son aquellos que compiten en la formación de estas uniones polarizables (tolueno, benceno, etc.), y no aquellos de alta polaridad (como metanol, agua, etc.) debida a la presencia de puentes hidrógeno.

Nota: las sustancias orgánicas coloreadas, deben su color, en general, a alta conjugación y aromaticidad presentes en su estructura. Esto las hace altamente polarizables y, por lo tanto, selectivamente adsorbidas en la superficie del carbón. Es por esta propiedad que se utiliza el carbón activado como decolorante durante la recristalización (Capítulo II).

El color negro del carbón impide el uso de este adsorbente en las técnicas de capa, debido a la difícil localización de las zonas con sustancia. Se lo utiliza generalmente en columna, y su uso más destacado es como relleno de columnas para cromatografía gaseosa.

VI.3.2 Estructura del soluto

La habilidad de un soluto para ser adsorbido depende de su polarizabilidad (temporaria y permanente), y de su capacidad para formar puentes hidrógeno.

Los grupos más polares son los adsorbidos más fuertemente. La lista siguiente de grupos funcionales, está ordenada según su poder decreciente, de ser adsorbidos en alúmina:

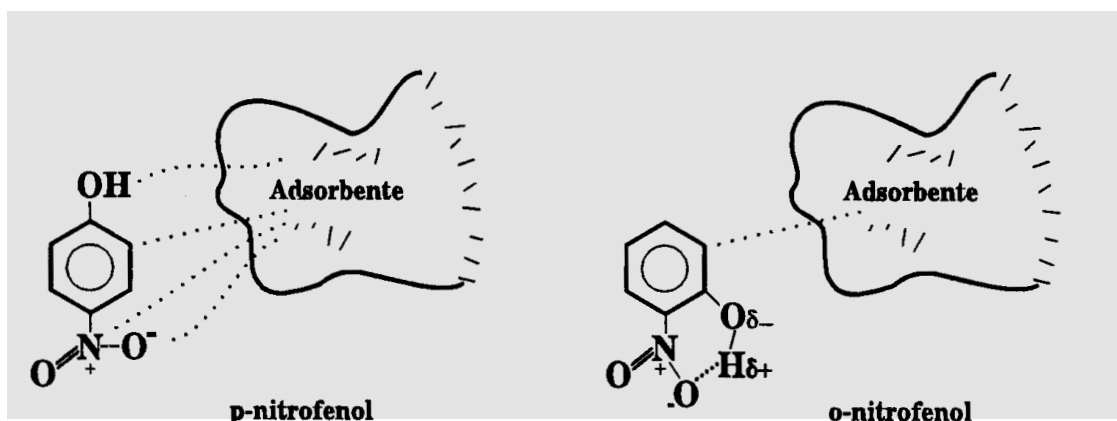
- Ácidos y bases
- Alcoholes y tioles
- Aldehídos y cetonas
- Halogenuros de alquilo y ésteres
- Hidrocarburos insaturados
- Hidrocarburos saturados

Para olefinas, la adsorción aumenta con el incremento del número de dobles enlaces (aumenta la polarizabilidad).

El efecto de numerosos grupos funcionales no es siempre aditivo.

En general, el poder de ser adsorbido aumenta con el incremento de grupos funcionales unidos a la misma molécula, pero, existen casos en los cuales dos grupos funcionales presentes pueden formar uniones hidrógeno intramoleculares, y de esta forma, adsorberse menos.

Un ejemplo sería el caso de los nitrofenoles.



La fuerza con que se adsorbe cada grupo funcional sobre el adsorbente, depende de su habilidad para formar los siguientes tipos de uniones.

Grupo funcional	Fuerza de unión al adsorbente	Relación con el Gráfico 42
Soluto donante de H, ó ácidos de Lewis.	Uniones fuertes	
Soluto aceptor de H, ó bases de Lewis.	(Puente de hidrógeno; interacción entre dipolos permanentes)	
Soluto con grupos funcionales polares o polarizables.	Uniones más débiles	
	(Interacciones entre dipolos permanentes y transitorios y entre dipolos transitorios)	

VI. 3.3 Solvente de desarrollo

i) La elección correcta de los **solventes de elución**, es vital para el éxito del proceso separativo.

La mezcla a separar se siembra a partir de una solución muy concentrada, es decir, disuelta en un solvente donde es muy soluble.

Cuando se siembra en placa, se deja evaporar el solvente de siembra (ver sección VI.9.1 y VI.9.2). El solvente (o mezcla) de desarrollo puede ser, o no, el mismo de siembra. En general no lo es.

Cuando se utiliza la técnica de columna, la siembra puede efectuarse con un solvente que será también el primer solvente de desarrollo y de elución. Si no lo es, debe recurrirse a la técnica del sembrado en pastilla (ver sección VI.9.3). En columna, siempre los solventes de desarrollo se utilizan como eluyentes. El primer solvente de elución puede utilizarse para separar más de un soluto de la mezcla inicial, pero, generalmente se recurre a una secuencia de solventes de elución, con polaridades crecientes.

Una secuencia general de solventes, basados en su polaridad creciente, es decir,

mayor poder eluyente, se mostró en la Tabla II.3(b) del Capítulo II. Es la llamada serie elutrópica.

Si el solvente es muy polar, será fuertemente adsorbido por los gránulos de fase fija y el desplazamiento o desorción de los componentes adsorbidos será inmediato.

El resultado de esta desorción indiferenciada será que la mayoría de los solutos correrán con el frente del solvente, y no se logrará separación alguna.

Por lo tanto, es una condición general empezar el desarrollo de la columna con solventes de baja polaridad, para luego aumentarla lentamente. Aún solventes poco polares logran eluir a sustancias más polares que ellos, debido a que el eluyente siempre está presente en gran exceso con respecto a la muestra y compite con ella por los sitios activos.

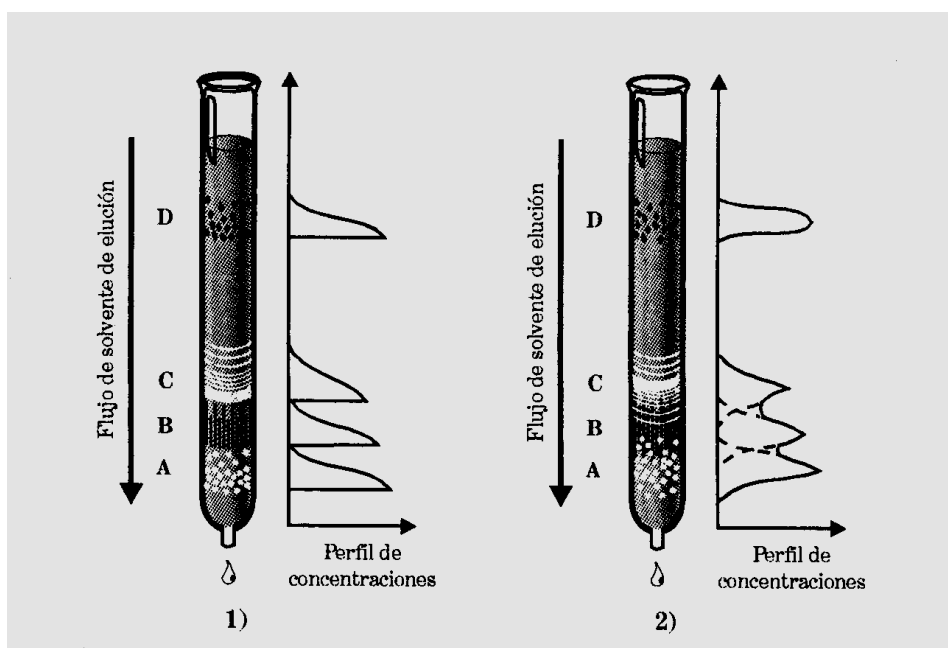
Es fundamental, además, que se utilicen **solventes anhidros y miscibles** entre sí, de lo contrario, se afecta la resolución y las experiencias resultan no reproducibles.

ii) **La velocidad de elución** de una columna, debe ser lenta, para permitir que tienda a alcanzar el equilibrio adsorción-desorción. De esta forma, se lograrán bandas netas. El Gráfico 45(a), demuestra un desarrollo óptimo (sin difusión) para cuatro componentes de una mezcla dentro de la columna cromatográfica, y la correspondiente curva de concentraciones, que se obtendría durante la elución.

Sin embargo, si las bandas permanecen demasiado tiempo dentro de la columna, por aplicarse una velocidad de flujo muy lenta, el fenómeno de difusión se hace importante. Esto se muestra en el Gráfico 45(b), con la correspondiente superposición de las curvas de concentraciones de elución.

Sugerencia: marque en los perfiles de concentración del Gráfico 45 dónde debería cambiar los recipientes colectores, para recoger A, B y C puros.

Si la velocidad de flujo es demasiado rápida, no se logran los equilibrios adsorción-desorción, y el frente de las bandas aparece deformado. El inconveniente que esto plantea tiene la misma índole que el planteado para el mal empaquetamiento del adsorbente (ver Gráfico 44).



a) Desarrollo que permite la separación de cuatro componentes. Para la situación ideal, se requeriría mayor separación entre las bandas A, B y C.

b) Efecto de la difusión en la separación de los mismos compuestos. Por la superposición de las curvas de concentración se complica la posibilidad de purificación.

A la derecha, se muestran las curvas de concentración correspondientes, que se detectarán en el eluato.

Gráfico 45. Perfiles de elución planteados para una mezcla de sustancias A,B,C y D.

VI.3.4 Temperatura

Como el proceso cromatográfico no es de equilibrio, se deben ajustar lo más posible todas las variables, para que dicho proceso resulte reproducible.

La temperatura afecta volatilidades y solubilidades, por lo tanto, debe mantenerse constante en el tiempo de la experiencia y homogénea a lo largo de columnas o placas cromatográficas.

VI.3.5 Saturación de la cuba

En las técnicas de placas (y en papel para cromatografía de partición), el desarrollo se realiza dentro de una cuba, saturada con el solvente (o mezcla de solventes) de desarrollo (ver sección VI.10).

Si la cuba no está debidamente saturada, el solvente, en vez de ascender por

capilaridad continuamente, tenderá a evaporarse de la capa de adsorbente, para equilibrar al líquido con su presión de vapor. Esto implicará un ascenso inhomogéneo del frente del solvente. Como la evaporación es superficial, las zonas más internas de la capa de adsorbente estarán más enriquecidas en el solvente, determinando un avance irregular de las zonas o bandas de solutos que se desplazan desde la zona de siembra.

Cuando se utilizan mezclas de solventes, el problema se agrava, ya que las volatilidades relativas de los solventes, pueden ser distintas. Esto implica la evaporación preferencial del más volátil y una inhomogeneidad en la polaridad del solvente mezcla de desarrollo.

Para lograr una perfecta saturación de la cuba, ésta se **recubre** en, por lo menos, dos paredes con papel de filtro cuyo borde inferior está sumergido en el solvente de desarrollo. Se deja que el solvente ascienda por el papel y, después de un tiempo puede considerarse que la cuba está saturada.

VI.4 R_F ¿Criterio de identificación o de pureza?

Como se vio en la sección VI.3, las variables que afectan al valor de R_F son muchas. Sin embargo, elegidos el adsorbente y el solvente de elución, pueden lograrse valores de R_F reproducibles, para cada soluto. Aún así, esta reproducibilidad no es lo suficientemente confiable, y siempre que se tengan, se **siembran los patrones en la misma capa** cromatográfica en que se corre la muestra.

Puede ocurrir que sustancias de estructuras distintas, tengan el mismo valor de R_F , cuando se las siembra en la misma placa, aún probando en distintos solventes de desarrollo. Es por esto que, como **criterio de identificación**, se lo utiliza por su valor negativo.

Es decir: **si la sustancia incógnita y el patrón con que se la compara en la misma corrida cromatográfica dan valores de R_F distintos, seguro no se trata del mismo compuesto**. En cambio, si dan el mismo valor de R_F , no se puede asegurar que sean idénticas.

Aclaración: existen algunos casos excepcionales, como el de muestras cuyos R_F varían algo si están más o menos concentradas; o cuando hay presente en la mezcla algún otro soluto que modifique el desplazamiento, respecto del que tendrían estando puros.

En general, con el avance de las técnicas espectroscópicas, sólo puede garantizarse la identidad de un compuesto cuando, además de datos de propiedades físico-químicas y cromatográficas, coincidentes con un testigo, pueden analizarse y asignarse los datos espectroscópicos del mismo.

Hasta aquí se consideró la utilización de la CCD para la **investigación** de la identidad de una sustancia incógnita de la que no se tienen otros datos. Sin embargo, hay un uso rutinario de la técnica de CCD: **el control del progreso de una reacción**, donde se conocen reactivos, o productos, o ambos. En este caso, y en al-

gún otro en el cual se tenga más información sobre la muestra, será posible utilizar —con precaución— a la CCD como criterio de identidad.

Frecuentemente se utiliza a la cromatografía en capa delgada (C. C.D.) para verificar la pureza de un compuesto.

Si la sustancia en cuestión proviene de una mezcla que se separó por columna cromatográfica, se verifica por C.C.D. la pureza de cada fracción.

Nuevamente, como **criterio de pureza**, se lo considera por su valor negativo. Es decir:

Si luego de un desarrollo cromatográfico un compuesto se presenta como varias manchas, se puede asegurar que dicho compuesto no está puro. En cambio, si aparece como una mancha única, puede haber ocurrido que en ese sistema elegido (adsorbente-solvente de desarrollo) no se haya logrado separar la sustancia de sus impurezas.

Existe, además un límite de resolución. La mejor separación (C.C. D. de gránulo muy fino), detecta hasta diastereoisómeros.

La mayor resolución en cromatografía de adsorción se logra con la técnica de cromatografía gaseosa (C.G.), y con cromatografía de alta presión (HPLC) que se discutirán en el Capítulo VIII.

VI.5 Usos de la técnica de cromatografía en capa

VI.5.1 Cromatografía en capa delgada (C.C.D.)

La técnica de C.C.D. es de aplicación analítica. Se la utiliza comúnmente para seguir el desarrollo de una reacción (aparición de productos y desaparición de reactivos), para analizar el número aproximado de componentes de una muestra (NOTA= el número cierto de componentes se detecta por cromatografía gaseosa o de alta presión (ver Capítulo VIII), y por su valor como criterio de pureza e identificación.

También es fundamental su utilización para determinar el solvente de desarrollo adecuado para una cromatografía en capa preparativa, o para elegir la secuencia de solventes apropiados para la elución de los componentes de la mezcla en una columna.

Puede llevarse a cabo C.C.D., en microplacas (el soporte es un portaobjetos), o en placas más grandes (el soporte es una placa de vidrio de 10 x 20 cm).

Ambas formas de placas se preparan con adsorbente de tamaño de gránulo entre 10 y 40 micrones. Para cubrir el soporte con la capa se puede: suspender el adsorbente en un solvente volátil (cloroformo-metanol 9:1), donde se sumerge la placa, y luego se seca al aire; o b) suspender el adsorbente en agua, aplicarlo con extendedor y, luego activar las placas (ver sección experimental VI.8.1 y VI.8.2).

El primer sistema de armado es rápido, pero da menor resolución que el segundo método, ya que el adsorbente no está activado, y la capa de adsorbente resulta delgada e inhomogénea.

También es posible conseguir en el comercio capas de adsorbente ya preparadas,

sobre una lámina de poliéster resistente a la acción de los solventes, o sobre una lámina de aluminio.

Las ventajas de este material son que puede cortarse del tamaño deseado; y, luego de usarse y revelarse, puede ser guardado (su almacenamiento es más sencillo que el de las placas de vidrio). Tiene el inconveniente de su alto costo.

La elección del adsorbente es experimental, a menos que se conozca la estructura de los compuestos de la muestra, o por reactividad de algún grupo funcional se descarte algún tipo de adsorbente.

En general, se prueba con sílica gel y/o alúmina, en primera instancia.

Luego se prepararán solventes de desarrollo de polaridades bajas e intermedias (ver serie eluotrópica, Tabla II,3(b)) en distintas cubas, y se correrá una C.C.D. en cada solvente.

Una vez localizadas las manchas de los compuestos (revelado), se determinará el **solvente óptimo** de desarrollo.

Este solvente (o mezcla de solventes), será **aquel que produzca un R_F de 0,5 para el componente único, o que separe el mayor número de componentes de la muestra.**

¿Por qué un R_F de 0,5?

Si el análisis de la mezcla muestra la presencia de un solo componente, podría haber ocurrido que:

- Si el R_F es 0,7-0,9, pudo haberse superpuesto la mancha principal con alguna otra de una impureza poco polar. El solvente elegido habría resultado demasiado polar, y no pudo desorberlas selectivamente (distinguir las).
- Si el R_F es 0,2-0,3, pudo haberse superpuesto la mancha principal con alguna otra de una impureza más polar. El solvente elegido, habría resultado poco polar para distinguir las y no se habría alcanzado la desorción selectiva.
- Si el R_F es de aproximadamente 0,5, en distintos solventes o mezclas de solventes, puede inferirse que la muestra tiene un sólo componente, pero la confirmación se hará por cromatografía gaseosa o por HPLC.

Generalmente, las sustancias no son visibles, siendo necesario hacerlas evidentes mediante el *revelado* (ver sección VI.11) de la C.C.D.

VI.5.2. Cromatografía en capa preparativa (C.C.P.)

Cuando se tienen menos de 300 mg de muestra y quieren separarse por cromatografía de adsorción, puede emplearse una cromatografía en capa preparativa.

Una vez elegido el adsorbente, deberá recurrirse a la C.C.D. para la elección del solvente apropiado a emplear en la escala preparativa.

Si cuando se analizó el solvente óptimo, la C.C.D. estaba suficientemente activada y la relación masa de muestra a masa de adsorbente era correcta, se puede esperar reproducibilidad en los R_F obtenidos tanto en C.C.D. como en C.C.P.

La relación $\frac{\text{masa de muestra}}{\text{masa de adsorbente}}$, es $\frac{1}{100}$ (aproximadamente), en C.C.P.

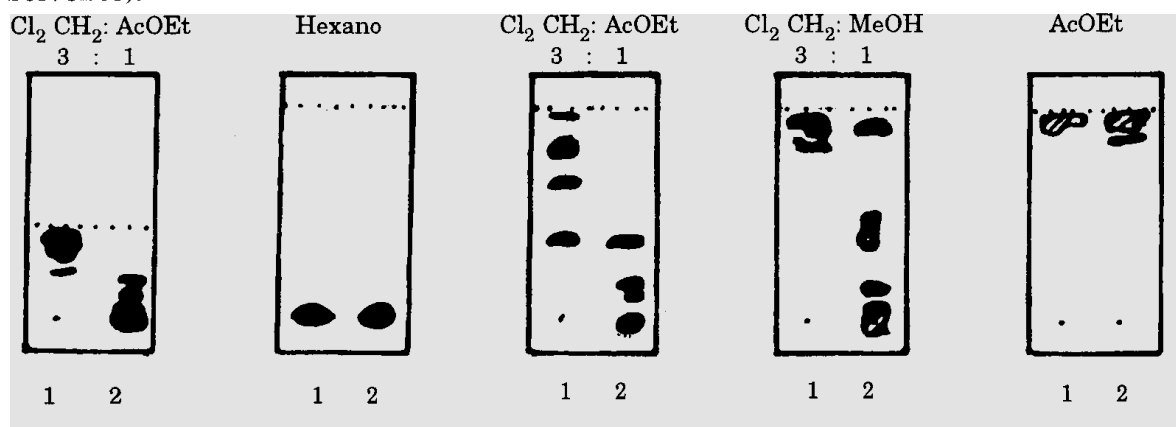
Para armar una placa preparativa de 20 x 20 cm x 2-3 mm de espesor, se utilizan unos 30 g de sílica o unos 50 g de alúmina (ver sección experimental VI.8.2).

La localización de las sustancias en C. C. P. se realiza mediante el revelado de una zona marginal de la placa (ver sección VI.11.2).

VI.5.3 Dos problemas experimentales tipo

Problema 1: El ayudante de un investigador debe analizar las hojas de una planta, en busca de un principio activo con propiedades alucinógenas. Seca las hojas, las muele y extrae con cloroformo primero y luego con metanol.

Su objetivo será el aislamiento de cada componente de los extractos vegetales; para ello, primero realiza las siguientes experiencias en C.C.D. con distintos solventes de desarrollo, como se muestra en la figura adjunta (siembra 1 = extracto clorofórmico y siembra 2 = extracto metanólico; la línea de puntos señala el frente del solvente).



Con las placas reveladas a la vista hace las siguientes conclusiones, **cuya veracidad Ud. deberá discutir.**

- i) El extracto clorofórmico tiene cuatro componentes.
- ii) Uno de los componentes del extracto clorofórmico también está presente en el extracto metanólico.
- iii) El solvente Cl_2CH_2 : AcOEt (3:1) no da resultados reproducibles.
- iv) El solvente de desarrollo Cl_2CH_2 : MeOH (en alguna proporción) es mejor que el Cl_2CH_2 : AcOEt para el extracto metanólico.
- v) Una mezcla hexano: AcOEt (1:1) es la ideal.

Respuestas con explicación:

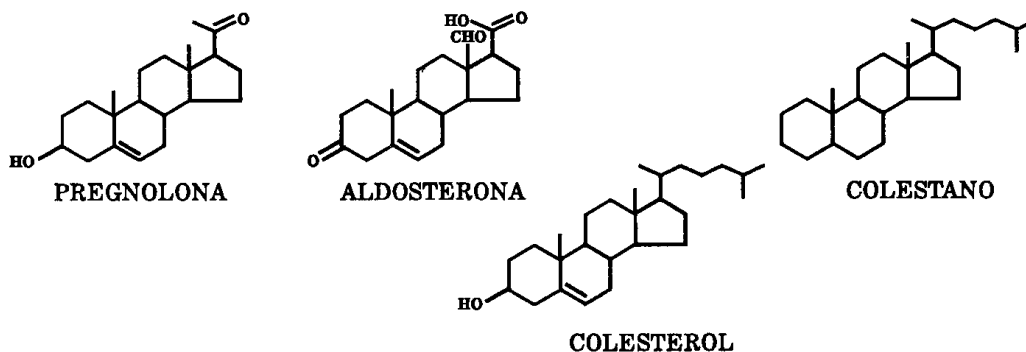
- i) Por lo visto en la sección VI.4, no puede utilizarse la C.C.D. como único criterio de pureza. Cada mancha puede estar formada por más de un compuesto. Lo que sí se puede afirmar es que el extracto clorofórmico tiene **por lo menos** cuatro compuestos. Para el extracto metanólico no podría asegurarse dicha afirmación, pues con Cl_2CH_2 : MeOH (3:1) las manchas parecen sugerir la presencia de varios componentes no bien resueltos en esta cromatografía.
- ii) También por lo visto en VI.4 no puede identificarse un compuesto por C.C.D., cuando el universo de posibilidades está en investigación; más aún, el compuesto más polar del extracto —que supuestamente es similar al menos polar del extracto metanólico— se comporta cromatográficamente diferente en Cl_2CH : MeOH (3:1).
- iii) Por lo visto en la sección VI.2, si el solvente de desarrollo recorre una distancia pequeña desde la siembra, la resolución cromatográfica se ve afectada. Para comparar corridas deben respetarse idénticas condiciones experimentales, y éstas deben ser óptimas.
- iv) Es evidente que a igual proporción (25%) con respecto al Cl_2CH_2 , el metanol resuelve mejor que el acetato de etilo, porque diferenció cuatro manchas en vez de tres.

También se observa que esta mezcla, mucho más polar, afecta más al desarrollo del extracto clorofórmico que al extracto metanólico. Tal parece que no se encontró aún el solvente de desarrollo óptimo para el extracto metanólico.

- v) Pensar que una mezcla 50:50 de acetato de etilo y hexano sería la óptima, porque con hexano los compuestos no corren en C.C.D., y con acetato de etilo corren con el frente, es una generalización absurda. Obsérvese que con un 25% de AcOEt todos los componentes del extracto clorofórmico corren con R_f mayor que 0,5.

Muchas veces pequeñas variaciones en la proporción de solventes producen grandes diferencias de resolución; y otras veces, el reemplazo de un solvente por otro mejora la resolución por hacer más nítidas las manchas (aumento de las etapas adsorción-desorción *vs* las de difusión).

Problema 2: Se cuenta con una muestra proveniente de un extracto de origen animal. Por conocimientos previos se sabe que está compuesta por las siguientes sustancias:



Ediciones Zorro Siglo XXI
"Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis"

El análisis en C.C.D. de la muestra dio los siguientes resultados:

	R_F1	R_F2	R_F3	R_F4
Tolueno	0,00	0,00	0,06	0,36
Tolueno: AcOEt (9:1)	0,00	0,10	0,25	0,73
Tolueno: AcOEt (7:3)	0,15	0,30	0,50	1,00
Tolueno: AcOEt (1:1)	0,30	0,55	0,90	1,00
AcOEt	0,30	0,80	1,00	1,00

- i) Identifique cada compuesto en alguna de las corridas. Justifique.
- ii) Dibuje una C.C.D. ideal donde pudiera "identificar" contra patrones, a cada componente.
- iii) Sugiera un solvente de desarrollo posible para dicha C.C.D. ideal (ítem ii).

Respuestas

La movilidad de las sustancias en C.C.D. de fase adsorbente polar (sílica o alúmina) dependerá de las polaridades relativas de los compuestos, de tal forma que a menor polaridad está asociada una mayor movilidad.

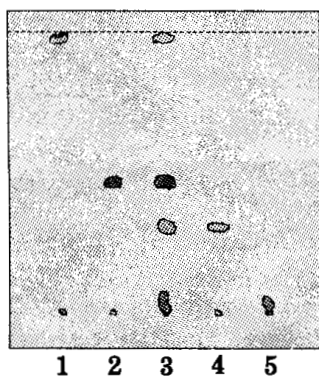
Debido a la presencia de grupos funcionales el orden de movilidad será:

colestano > colesterol > pregnenolona > aldosterona

En la corrida con tolueno: AcoEt (7:3) la asignación de la R_F sería:

R_F	sustancia
1	colestano
0.50	colesterol
0.30	pregnenolona
0.15	aldosterona

Para este mismo sistema, la C.C.D. contra patrones tendría el siguiente aspecto:



Siembra	Referencia
1	colestano
2	colesterol
3	muestra
4	pregnenolona
5	aldosterona

VI. 6 Cromatografía de adsorción en columna

La cromatografía clásica en columnas se prefiere para separaciones a escala preparativa. Mientras las separaciones analíticas se refieren a cantidades de sustancias de hasta aproximadamente 20 mg, las capas preparativas hasta 0,5 g, las columnas se pueden utilizar para separar gramos, y aún a grandes escalas en preparaciones industriales.

La columna tiene como ventaja, sobre el uso de la capa preparativa, el hecho de contar con dos nuevas variables separativas: 1) **el cambio secuencial de la polaridad del solvente de elución**; 2) **el desplazamiento ilimitado del frente del solvente** (se deja gotear tanto como se desee).

Los adsorbentes para cromatografía en columna no contienen para su uso normal, ni aglutinantes, ni indicadores.

Un proceso cromatográfico en columna será ideal si permite separar secuencialmente cada componente de la mezcla en estado puro, y espaciado del siguiente componente por una alícuota de solvente puro.

El tamaño de la partícula y la distribución del tamaño de la partícula son índices importantes para los materiales de relleno de las columnas, ya que la resolución y el volumen de elución al que aparecerán los solutos, dependen de ellos directamente.

(Antes de leer las secciones VI.6 y VI.7, se recomienda entender las secciones VI.8 a VI.12.)

VI.6.1 Adaptaciones de la cromatografía en columna según el tamaño de la partícula de adsorbente

Se pueden considerar dos casos generales: cuando el tamaño de la partícula de adsorbente está entre 60 y 200 micrones, o, cuando se utiliza adsorbente con granulosis entre 10 a 40 micrones.

Caso 1. Para mantener la velocidad de elución, resolución y difusión dentro de límites aceptables, se utiliza para la cromatografía en columnas material de relleno **de grano más grueso que el utilizado en capa fina** (600-200 micrones).

La menor eficacia en la separación lograda por columna con adsorbente de grano grueso se debe a que la muestra tiene poca superficie para desarrollar los equilibrios de adsorción-desorción necesarios (es análogo a correr poco el frente del solvente de una C.C.D.).

¿Cómo compensar esta menor eficiencia separativa?

- a) Utilizando columnas más largas, con el inconveniente de tiempos de elución grandes, difusión importante y posible alteración de muestras lábiles.

- b) Utilizar en la elución de la columna solventes menos polares que los considerados óptimos en c.c.d.(sección VI.5.1):

Teniendo en cuenta esta diferencia de resolución entre la C.C.D. y las columnas de granulosidad más grande, se pueden inferir las siguientes situaciones si se utilizara, para la elución **en la columna**, el solvente de desarrollo que en **cromatografía en capa delgada** diera:

i) Compuestos con R_F entre 0,8 y 0,9. Estos compuestos prácticamente correrán con el frente del solvente y se eluirán sin separarse.

ii) Compuestos con R_F entre 0,2-0,3 en C.C.D., se desplazarán aproximadamente por la mitad de la columna, cuando el "frente" del solvente llegue a la zona de elución (robinete). Por lo tanto, el **primer solvente ideal de desarrollo de una columna deberá ser aquél con el que se logre, en C.C.D., un R_F de 0,3 a 0,5 para el primer componente**, y que no provoque el desplazamiento del segundo componente de la zona de siembra.

Dicho solvente se hará fluir por la columna hasta la elución total del primer componente, tras lo cual, se podrá cambiar a otro solvente, de polaridad levemente mayor, que tenga en C.C.D. el mismo efecto descrito en ii), para el segundo componente.

iii) De no encontrarse experimentalmente un solvente (puro o mezcla) óptimo, se empleará aquél que por C.C.D. logre una diferencia de R_F de no menos de 0,2 entre los dos componentes consecutivos, y que el menos polar no supere un valor de R_F de 0,5.

iv) Excepcionalmente, se utilizará un solvente en el que por C.C.D. el menos polar de los dos compuestos consecutivos, tenga un R_F de 0,6-0,7, a condición que el otro esté separado en un valor de más de 0,3 en ΔR_F .

Caso 2. Puede utilizarse como relleno de columnas un adsorbente de granulosidad igual que el de capa fina (10 a 40 micrones). No debe tener ligante.

La siembra de la muestra se realiza en la mínima cantidad de sílica de grano más grueso.

La **resolución**, en este caso es similar a la lograda en C.C.D. y, por lo tanto puede aplicarse directamente el solvente óptimo de C.C.D. como **primer eluyente de la columna**.

Debido a la gran densidad del relleno (empaquetamiento), se hace necesario aplicar presión, para que el solvente fluya a través de la fase fija. La presión puede ser de aire, de nitrógeno, o hidrostática, con el mismo solvente (J. Org. Chem. **47**, 1351 (1982)).

Nota: Una técnica de columna muy utilizada es la llamada "Cromatografía Flash" (J. Org. Chem. **43**, 2923 (1978)), que utiliza sílica de grano de 40 a 60 micrones y presión. Tiene la ventaja de ser muy rápida (15 a 20 minutos) y ofrecer buena resolución utilizando un solvente de elución tal que en el desarrollo de una

C. C. D. hubiera logrado que las sustancias contiguas difieran, por lo menos, en un valor de $R_F = 0,1$.

VI.7 Un problema experimental tipo

Un alumno quiere separar los componentes de 5 g de un extracto vegetal metanólico.

Una alícuota de dicho extracto se derivatizó y analizó por cromatografía gaseosa, en distintas condiciones, y resultó ser cuatro (4) el número de sus componentes (los llamaremos A, B, C y D con polaridad creciente).

Un estudio del extracto por C.C.D. en sílica, arrojó los siguientes resultados:

Solventes de desarrollo en C.C.D.	R_F Obtenido, luego del revelado
1- Éter de petróleo	0,0
2- Cloruro de metileno	0,0 0,4
3- Cloruro de metileno: metanol (5%)	0,05 0,25 0,6 0,8
4- Cloruro de metileno: metanol (10%)	0,15 0,4 0,85 0,95

Conteste:

a) i-¿Por qué hizo una cromatografía gaseosa y para qué derivatizó la muestra?

ii-¿Pensaría que las manchas con R_F 0,4 son la misma sustancia?

Si debe atenerse a la utilización exclusiva de los solventes 1, 2, 3 y 4 indique:

b) ¿Con qué solvente armaría usted la columna cromatográfica?

c) ¿Cómo sembraría la muestra?

d) ¿Cómo encararía la secuencia de solventes de elución, para lograr separar los componentes uno a uno, con máxima recuperación de cada uno en estado puro?

VI.7.1 Respuesta con explicación

a) La muestra se debe cromatografiar en un sistema de resolución muy confiable para determinar el número de componentes con certeza.

Puede utilizarse cromatografía gaseosa (C.G.) o de alta presión (HPLC). Para utilizar C.G., es necesario que todos los solutos presenten presión de vapor apreciable. Como el extracto es metanólico, seguramente los compuestos serán polares, y por eso, se los derivatiza bloqueando dichos grupos, es decir, transformándolos en grupos menos polares (Ej.: esterificación de alcoholes y ácidos, aminas, etc.).

Nota: este procedimiento se explicará en el Capítulo VIII.

b) Si la muestra provenía de un **extracto metanólico**, se disolverá bien en me-

tanol; por lo tanto, **no podrá sembrarse directamente**, sino haciendo una pastilla con el adsorbente (ver sección experimental VI.9.3).

c) Como se concluyó en la sección VI.3.3, deberá comenzarse la elución con el solvente de menor polaridad. Pero, a su vez, el primer solvente de elución debe cumplir lo visto en la sección VI.6.1.ii).

Resulta claro, entonces, que el cloruro de metileno puro debe ser el primer solvente de elución.

No tendría sentido, entonces, armar la columna con éter de petróleo, y estabilizarla, para luego cambiar el solvente. Se armará, entonces, con cloruro de metileno (Sección VI.8.3), se sembrará en pastilla y se comenzará a eluir con el mismo solvente.

Aclaración: La elución se realiza controlando la salida de solutos, como se indica en la sección VI.10.2.

Al eluir una columna se recogerán en Erlenmeyers subfracciones que se irán numerando. Cada 5 ó 6 subfracciones, una de ellas será concentrada y analizada por C.C.D. También se puede sembrar directamente la subfracción sin concentrar, aplicando sobre el mismo punto de siembra numerosas alícuotas y dejando evaporar el solvente de la placa, entre gota y gota. Este procedimiento es más rápido, pero solutos muy diluidos no se detectan.

Si dos subfracciones secuenciales, resultan idénticas al ser analizadas por C.C.D., implica que los Erlenmeyers numerados entre ambas, pueden reunirse en una **Fracción**.

Si los solutos que se detectan, recién empiezan o apenas terminan de salir, presentarán una concentración débil. Estas subfracciones se reúnen en una **Fracción distinta**, de la que reunirá al "cuerpo" de la gaussiana de concentración, aunque se trate del mismo soluto. Esto se realiza para evitar reunir con el soluto puro, alguna impureza diluida presente en la "cabeza" o en la "cola" del perfil de concentraciones.

d) i) Para el caso que plantea el problema, un análisis por C.C.D. de las cinco primeras **Fracciones**, se muestra en el Gráfico 46.

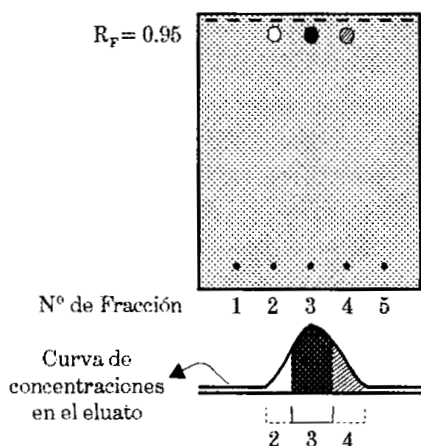


Gráfico 46. Análisis por C.C.D. (solvente de desarrollo Cl_2CH_2 : 10% metanol) de las cinco primeras fracciones.

○●● : Símbolos de concentraciones (crecientes según indica la flecha).

Nota: Observar que la fracción 3, corresponde al "cuerpo" de la gaussiana; la fracción 2 corresponde a la "cabeza", y la 4 a la "cola" del perfil de concentraciones.

Se observa en la C.C.D. una separación perfecta del primer componente, correspondiendo a una distribución gaussiana de la concentración del componente A dentro de la columna.

Sería entonces el momento de cambiar la polaridad del solvente de elución (observar en el enunciado del problema que con Cl_2CH_2 no corre ningún otro soluto).

ii) Ahora deberá cumplirse lo visto en la sección VI.6.1 para la elución del segundo componente.

iii) El solvente apropiado es cloruro de metileno con 5% de metanol (en realidad por los datos del enunciado, este solvente implica el caso excepcional VI. 6. 1. iv).

Con este solvente, se podrán eluir secuencialmente los dos siguientes solutos B y C (de polaridades crecientes).

Al finalizar la elución total, se hace una C.C.D. amplia, donde se comparan las composiciones de cada fracción (Gráfico 47).

Se observa que:

El compuesto menos polar **A**, se eluyó totalmente en las fracciones 2, 3 y 4. El compuesto **B**, se obtendrá juntando las fracciones 6, 7 y 8; y el compuesto **C** se recogió totalmente en las fracciones 10, 11 y 12.

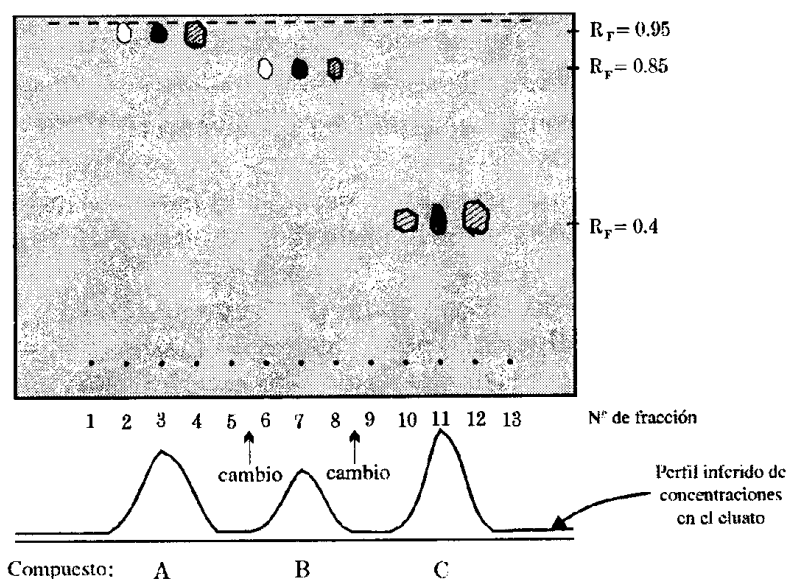


Gráfico 47. Análisis total del eluato de la columna, por C.C.D.

El compuesto más polar (D), todavía permanece en la columna y sólo se eluirá con Cl_2CH_2 :10% Metanol, es por esto que no aparece en el análisis de los eluatos. En la alícuota inicial, si aparece (con R_F 0,15), porque corresponde a una siembra del extracto metanólico, sin purificación.

Abreviando, la secuencia de solventes empleados, sería:

Armado: Cl_2CH_2
eluyente del primer componente: Cl_2CH_2
eluyente del segundo componente: $\text{Cl}_2\text{CH}_2 - 5\%\text{MeOH}$
eluyente del tercer componente: $\text{Cl}_2\text{CH}_2 - 5\%\text{MeOH}$
eluyente del cuarto componente: $\text{Cl}_2\text{CH}_2 - 10\%\text{MeOH}$

Nota

En la realidad, la elección de solventes no es tan rígida como se planteó en el enunciado.

Una solución real implicaría la búsqueda de un solvente de polaridad intermedia entre cloroformo, y cloroformo 5% de metanol (es decir 3 ó 4 % de metanol), de tal forma de lograr un caso como el relatado en la sección VI.6.1.iii).

Por último, una vez que se detectó la salida de la columna del tercer componente, se puede aumentar la polaridad a 10% de metanol (no más), para acelerar la elución del cuarto componente.

Con fines exclusivamente didácticos, conviene continuar con la condición del enunciado (de utilizar sólo los cuatro solventes mencionados), en el análisis de las siguientes resoluciones erróneas:

VI.7.2 Algunas respuestas erróneas al problema planteado en VI.7.

Caso 1. Un alumno poco experimentado, escuchó la respuesta abreviada (recuadro) del orden de solventes en la secuencia de elución, y realizó la siguiente experiencia:

Decidió recoger fracciones de 100 ml cada una (siete en total).

Como primer solvente de elución, utilizó cloruro de metileno.

Luego de eluir los 100 ml previstos, y llamar 1 a esta fracción, cambió el solvente de elución, por cloruro de metileno: 5% de metanol. Recogió así seis fracciones más de 100 ml cada una. **Después** de lo cual, analizó por C.C.D. la composición de las fracciones obtenidas (previa concentración de las mismas). La C.C.D. desarrollada con Cl_2CH_2 10% de metanol presentó el aspecto del Gráfico 48.

Conclusiones

a) La separación de A y B fue mala. Sólo las fracciones 5 y 6, tienen componentes puros (el C), el resto deberán ser concentradas y recromatografiadas (con excepción de 1,4 y 7 que son solvente puro).

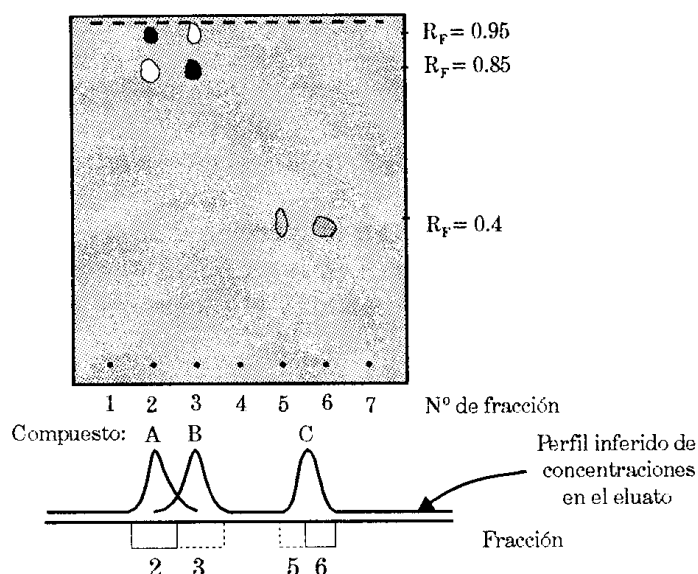


Gráfico 48. Análisis por C.C.D. de las siete fracciones de 100 ml c/u, eluidas de la columna, en el **Caso 1** (sección VI.7).

La fracción 2 está enriquecida parcialmente en el compuesto A; pero el caso es que, para purificar nuevamente por cromatografía, será el mismo trabajo purificar la fracción 2 que la 3. Será conveniente entonces, juntarlas y recromatografiarlas reunidas en un extracto.

b) ¿Cómo se compara el perfil de concentraciones que se detecta en la C.C.D. del Gráfico 48 con el correspondiente perfil que se lograba en la columna?

En el Gráfico 49 se muestra lo ocurrido como si pudiéramos ver la evolución de cada banda dentro de la columna.

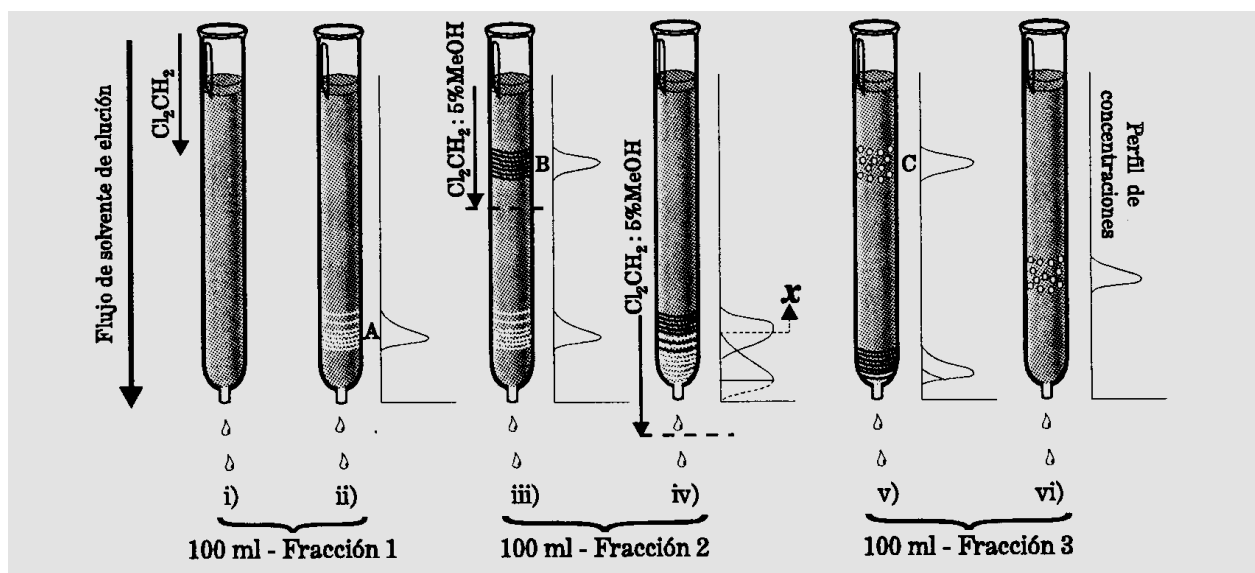


Gráfico 49. Desplazamientos de las bandas y los perfiles de concentración correspondientes, durante la experiencia cromatográfica del **Caso 1** (sección VI.7).

Ediciones Zorro Siglo XXI
“Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis”

Interpretación del Gráfico 49:

i) En este punto se observa la columna armada, y sembrada, a partir de aquí comienza la elución con Cl_2CH_2 .

ii) En este punto, han pasado unos 100 ml de Cl_2CH_2 y correspondería a la fracción 1 del alumno.

Si observamos la C.C.D. del Gráfico 47 veremos que en la fracción 2 comienza a aparecer el compuesto A. Esto implica que la banda de A (con su perfil gaussiano de concentración), podría estar próxima a salir. Pero, se cambió el recipiente colector, y el solvente de elución **antes** de la elución de la banda.

iii) A medida que avanza el frente del solvente más polar, el compuesto B es desplazado con un R_F grande (mayor de 0,6, debido a la menor resolución de la columna); mientras, el compuesto A, sigue saliendo a su velocidad inicial, pues todavía no se vio afectado por el cambio de solvente. El resultado es un acercamiento de la segunda banda, **perdiéndose la separación entre ambas**, lograda hasta el momento.

iv) cuando el frente del solvente más polar alcanza a la gaussiana de concentración del componente A, la “aplata” y lentamente se superponen en forma parcial ambas curvas de concentración, mientras continúa la elución. Como ahora las dos bandas están parcialmente superpuestas, al llegar a los 100 ml de **eluato** de la fracción 2, también se eluyó algo de componente B.

Nota: ésta es una situación ideal, en la realidad, el frente del solvente no es parejo, lo que distorsiona aún más la separación.

v) En esta fracción se recoge mucho componente A y casi todo el B. Nuevamente, el hecho de no analizar a intervalos más cortos, el contenido del eluato, hizo que se impidiera recoger algo de B puro. Obsérvese en el Gráfico 48 que, por el perfil de concentraciones, se podría haber logrado una fracción “X” compuesta por B puro.

vi) Aquí se está desplazando el componente C. Este presentará, a lo largo de su elución por la columna, el típico perfil gaussiano. Sin embargo, en la placa, se detectará como dos fracciones de igual composición, porque, casualmente, se cambió el colector en la mitad de la gaussiana.

Como **corolario**, puede decirse que los **errores cometidos** fueron esencialmente:

- **No esperar la elución total del componente A, antes de aumentar la polaridad del solvente.**
- **Recoger directamente fracciones grandes**, en vez de seguir la evolución de la separación de cada componente, más de cerca, es decir, con análisis por C.C.D., de alícuotas o subfracciones.

Caso 2. Otro alumno, por estar apurado, decidió que, aplicando desde el comienzo el solvente Cl_2CH_2 : 5% de metanol, podría eluir uno a uno rápidamente los componentes A, B y C (volver a leer los datos del enunciado del problema). Pensó también recoger fracciones pequeñas, para lograr mejor purificación, aunque esto le im-

plicara un tiempo extra, en el análisis por C.C.D., ya que recogería, por ejemplo, el doble del número de fracciones.

Luego del análisis por C.C.D., de una de cada 5 ó 6 subfracciones, reunió las alícuotas eluidas en **26 fracciones** distintas. El análisis final de dichas fracciones por C.C.D., se muestra en el Gráfico 50.

Conclusiones

i) Dada la polaridad del solvente inicial, no se logró desorción selectiva eficiente de los compuestos A y B, debido a la forma casi gaussiana de las curvas de distribución de concentraciones, resultaron fracciones mezclas, aunque los máximos estaban separados.

ii) Sólo las fracciones 3 y 4, contienen al compuesto A puro (y en muy baja cantidad). Las fracciones 11 y 12, reunidas, contienen el compuesto B puro (también en baja cantidad).

iii) Las fracciones 18 a 24 contienen la totalidad de C puro.

iv) Se observa que con esta experiencia no se repitió la purificación lograda en la respuesta correcta. Y, aunque pretendió ser más rápida, requerirá de una nueva experiencia para separar los componentes A y B en cantidad suficiente.

Corolario: Puede decirse que el error cometido fue suponer que los compuestos A y B, que tenían R_F de 0,6 y 0,8 respectivamente, por C.C.D., iban a **mantener** esta diferencia de R_F en columna al utilizar cloruro de metileno con 5 % de metanol.

Esta disminución en la resolución de la columna respecto de la C.C. D., como ya se explicó, se debe al mayor tamaño del gránulo de adsorbente.

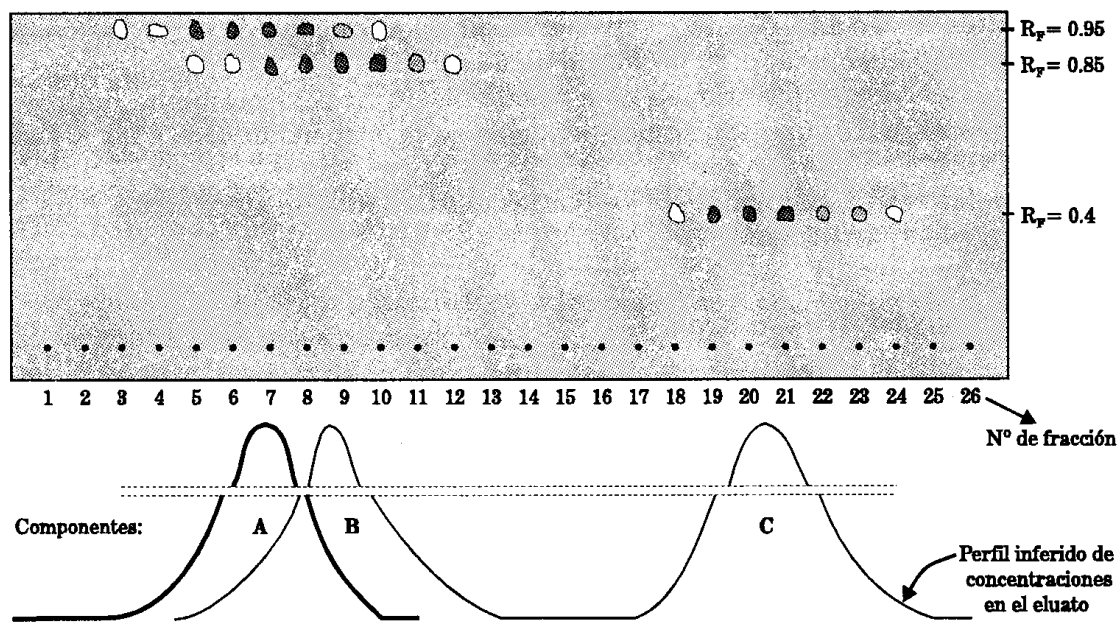


Gráfico 50. Análisis por C.C.D. de las fracciones recogidas en la experiencia de la sección VI.7. **Caso 2.**

CROMATOGRAFÍA DE ADSORCIÓN

Consideraciones Experimentales

Se discutirán en esta sección los pasos del proceso cromatográfico, mencionados en la Introducción, para las técnicas de cromatografía en placa delgada (CCD) y preparativa (CCP) y cromatografía en columna.

VI.8 Armado

VI.8.1 Armado para C.C.D.

a) Técnica para uso inmediato.

Las cromatoplasmas listas para su utilización se preparan aplicando una capa de adsorbente, en forma de papilla, sobre portaobjetos o placas de vidrio, que hacen de soporte.

La papilla se logra suspendiendo el adsorbente en una mezcla de cloruro de metileno-metanol (9:1), en un recipiente apropiado y con buen cierre (para guardar lo que no se utilice, sin que se seque o hidrate el adsorbente). El cloruro de metileno se elige por ser volátil y tener una densidad tal que permita formar la suspensión. El metanol se agrega para disolver el ligante (CaSO_4 = yeso), el cual al fraguar (por presencia de pequeña cantidad de agua o humedad), impedirá que la capa de adsorbente se desmorone al manipular la placa.

Las cantidades de adsorbente y solvente serán tales que quede sobre las cromatoplasmas una capa delgada, pero uniforme de adsorbente.

Las placas de vidrio se sostienen de a dos (deben estar perfectamente limpias) y se sujetan por la parte superior, sumergiéndolas en la suspensión hasta las 3/4 partes de su altura.

Luego se las retira, limpiando de los bordes el excedente de adsorbente. Una vez seca la capa se puede utilizar.

b) Técnica de suspensión con agua.

Se suspende la papilla en agua, como se indica para el caso de preparación de placas con capa preparativa, (sección VI.8.2), variando simplemente el espesor (haciéndolo más delgado).

c) Cromatoplasmas preparadas

Para emplear la técnica de cromatografía en capa delgada pueden utilizarse las placas con soporte de vidrio, de celuloide o de aluminio que se adquieren comercial-

mente. Estas placas son fabricadas en condiciones de estandarización controladas en cuanto al tamaño de la partícula, el espesor de la capa y la activación del adsorbente, brindando resultados más reproducibles que las placas preparadas manualmente. Pueden adquirirse con o sin indicador fluorescente y, en general, tienen un tamaño de 20 cm x 20 cm, que permite recortarlas al tamaño final adecuado.

d) Cromatografía en dos dimensiones

En algunos casos las mezclas de compuestos analizadas por C.C.D. son complejas, y los R_F obtenidos pueden no diferenciarse claramente. En estos casos, podrá utilizarse nuevamente la placa ya desarrollada con un solvente, y volver a desarrollarla —con el mismo sistema de solventes o no— rotándola 90°C, previo secado. Cada sustancia estará, entonces, caracterizada por dos valores de R_F . Las placas para este tipo de cromatografía son cuadradas.

VI.8.2 Armado de placas preparativas.

Existen varios equipos para preparar capas de espesor parejo. Algunos de ellos se describen a continuación:

a) En el Gráfico 51(a) se ilustra un extendedor, que es básicamente un receptáculo que se llena por la parte superior con la papilla de adsorbente en suspensión con agua y que, por acción de una palanca, se inclina permitiendo el drenaje de dicha suspensión.

El extendedor se acomoda sobre una plataforma plástica con guías donde se han colocado las placas de vidrio (Gráfico 51(b)) y que permite el rápido deslizamiento sobre las mismas (Gráfico 51(c)).

Las placas de vidrio (usualmente de 5x20; 10x20 y 20x20 cm) deben ser planas, de modo de asegurar un espesor de capa adsorbente parejo, y todas de un espesor uniforme de modo de evitar que al pasar el extendedor de una a otra se produzcan saltos.

Las placas deben estar perfectamente limpias y desengrasadas, de otra forma, la capa de adsorbente no se adhiere bien.

Al preparar la suspensión del adsorbente en agua (papilla), debe agitarse enérgicamente, para destruir los grumos y asegurar máxima homogeneidad, y rápidamente ya que el adsorbente tiene ligante, que fragua en pocos minutos. Una vez lista la suspensión se vuelca en el extendedor y se gira su manija 180°C. De esta forma, la papilla se escurre por la ranura inferior del extendedor, mientras el operador lo desliza sobre las placas, sin hacer mucha presión.

El extendedor tiene un dispositivo de tornillo que permite regular la abertura de la ranura por donde escurre la papilla. Se pueden lograr así, espesores para C.C.D. desde 250 micrones, hasta capas preparativas de 2 mm de espesor.

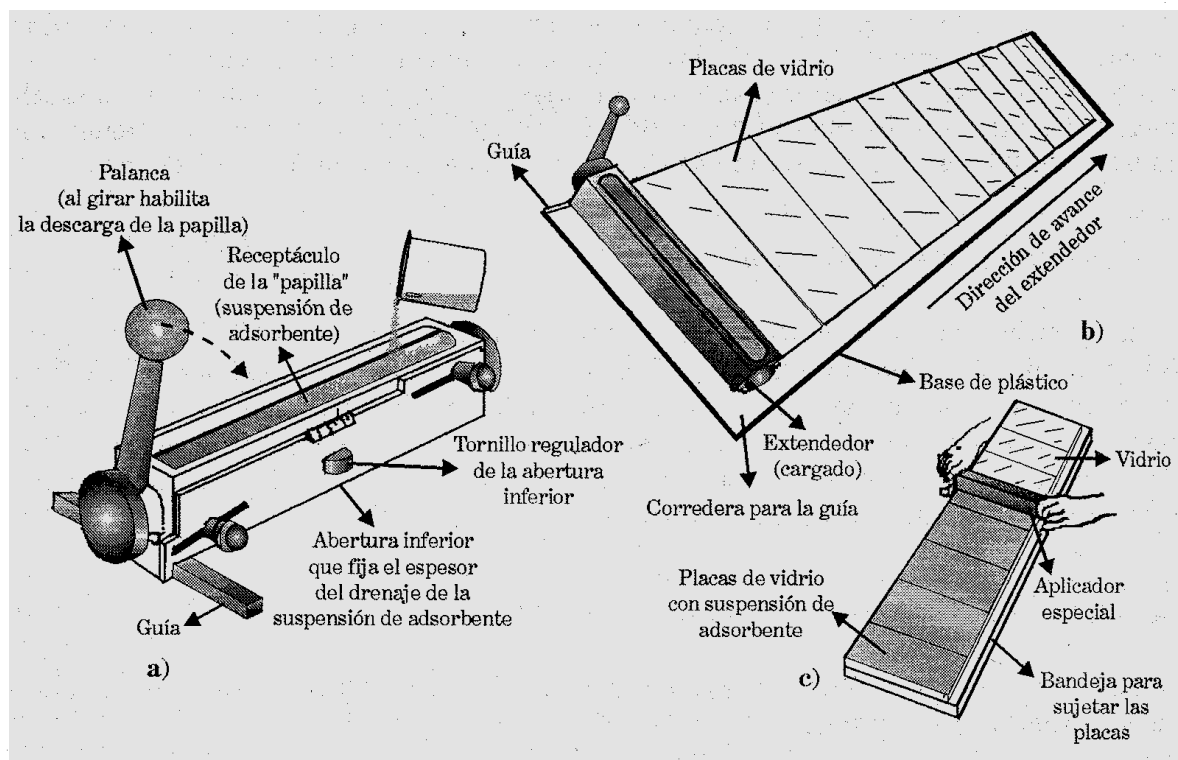


Gráfico 51. Armado de placas preparativas.

Una vez extendida la capa, se retiran las placas de los extremos (que generalmente no quedan muy perfectas), y las restantes se dejan secar unas horas al aire (cuidando que no caiga polvillo sobre ellas). Para guardarlas se las coloca en un portaplacas, dentro de un desecador (ver Gráfico 52).

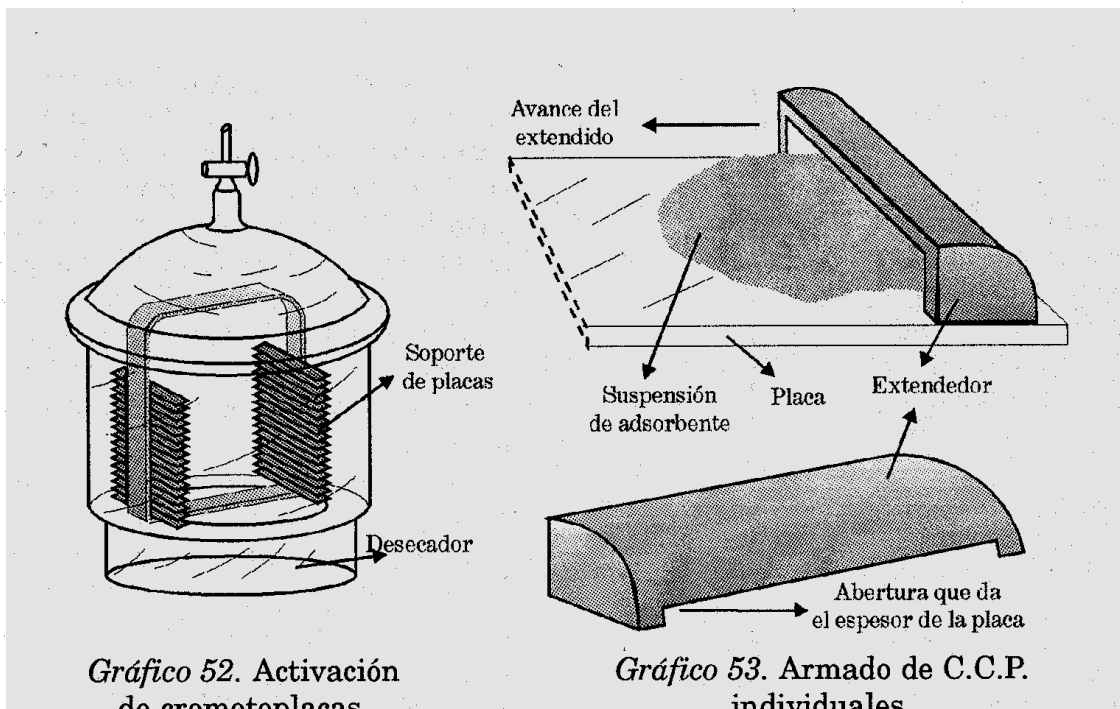
Antes de usarlas, es necesario activarlas, por calentamiento en estufa a 120°C durante unas horas. Al tratarlas de esta forma, pierden el agua fuertemente unida, resultando una mayor actividad del adsorbente y evitando un posible fenómeno de cromatografía de partición simultáneo con el de adsorción.

Si se colocaran en estufa, estando aún mojadas (para acelerar el secado), sólo se lograría que se resquebrajen, debido a la rápida evaporación superficial. La capa quebrada ya no se puede utilizar.

b) Sin el equipo mencionado, pueden prepararse placas individuales, con un extensor metálico, que tiene una abertura que le da el espesor fijo a la capa (ver Gráfico 53).

c) También la capa puede prepararse volcando sobre una placa la cantidad necesaria de papilla de adsorbente y distribuyéndola por toda la superficie de la placa, inclinando ésta con la mano. Estas placas pueden ser de vidrio (sin borde), o de aluminio, con un pequeño borde que facilita la formación de la capa.

Las cantidades requeridas para preparar la papilla que cubrirá una placa de 20×20 cm con un espesor de 2 mm son:



Sílica gel= 30 g y 60 a 70 ml de agua

Alúmina= 50 g y 40 ml de agua

Si el adsorbente es alúmina básica, no pueden utilizarse placas de aluminio como soporte. (Recuerde que deben ser activadas antes de su uso).

Aclaración: antes de sembrar o desarrollar placas analíticas o preparativas, debe eliminarse de los bordes todo excedente de adsorbente. De lo contrario el frente del solvente puede correr inclinado, haciendo irreproducible los valores de los R_F .

VI.8.3 Armado de columnas

El tamaño de la columna está determinado por la cantidad de mezcla que se va a separar.

La relación de masa de muestra a masa de adsorbente es de 1:100 a 1:500. La relación de longitud a diámetro es de 5:1, hasta 25 a 1.

Una vez armada la columna, el equipo cromatográfico tiene el aspecto que se observa en el Gráfico 54.

El primer paso en el armado de la columna, es colocarla en posición vertical, y sostenerla con una agarradera. A continuación se coloca un pequeño tapón de algodón o lana de vidrio, justo en la salida a la llave y, por encima, arena. Este dispositivo retiene el material de relleno de las columnas, mientras que el líquido eluyente puede circular libremente.

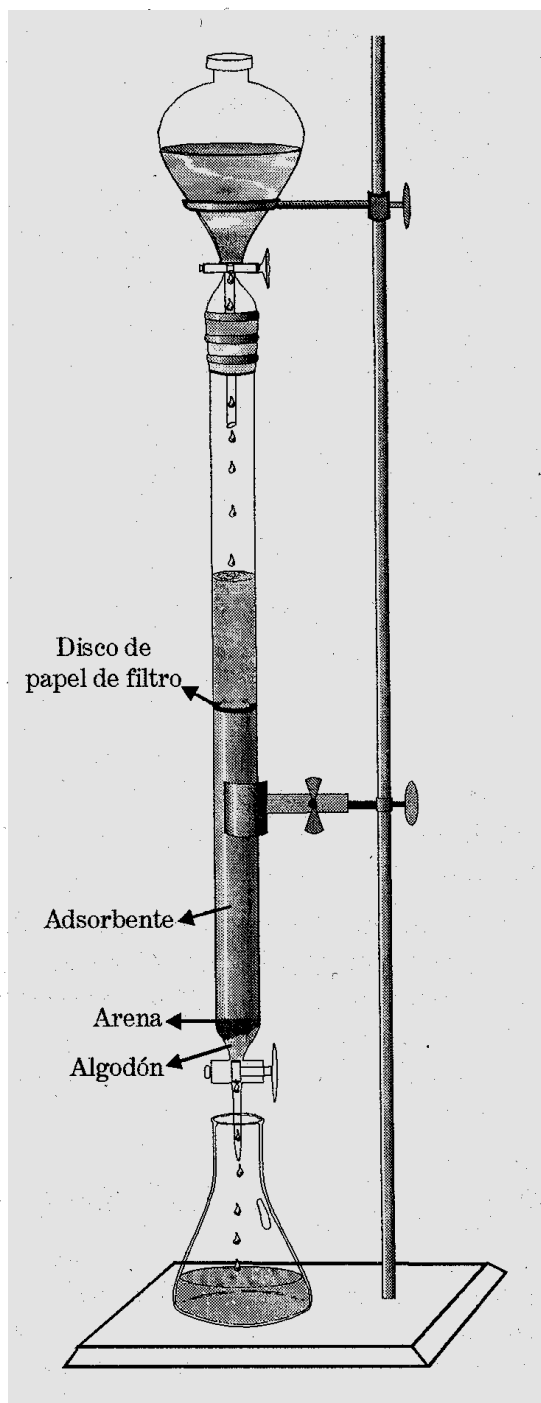


Gráfico 54: Equipo de cromatografía en Columna.

El adsorbente puede introducirse en seco, pero lo más frecuente es echarlo en forma de una papilla con el eluyente. Antes de introducir el adsorbente se echa en el interior de la columna un poco de disolvente puro (2 a 4 cm por encima de la lana de vidrio), y se elimina el aire que puede permanecer retenido en el algodón, agitando por medio de una varilla larga de vidrio.

La papilla formada por el adsorbente y el disolvente se remueve cuidadosamente para que no contenga burbujas de aire, y luego se agrega lentamente en porciones a la columna.

El adsorbente decanta lentamente. Una vez formado un lecho de 3 a 4 cm de altura, se abre el robinete y se permite el lento escurrido del solvente. Continúa agregándose en porciones la papilla, cuidando de que el relleno nunca se seque, ya que el aire dentro de la fase fija es difícil de eliminar y las burbujas alterarán los perfiles de concentración de las bandas de solutos.

Es interesante golpear la columna durante el llenado con un tubo de goma para favorecer el buen empaquetamiento del lecho adsorbente.

Una vez alcanzada la altura conveniente de relleno, y antes de sembrar, se dejará gotear solvente unas horas para asegurar la estabilización del empaquetamiento del relleno (éste proceso no es necesario si se utilizará la técnica de cromatografía flash, o bien, puede acelerarse, usando presión de nitrógeno, de aire, o hidrostática con el mismo solvente).

VI.9 Sembrado.

¿Qué cantidad de muestra se debe sembrar?

La solución que contiene los solutos a sembrar debe ser concentrada. Cuando esta solución se pone en contacto con el adsorbente, los sitios más activos adsorberán inmediatamente soluto y solvente, en una relación que dependerá de sus respectivas estructuras. A medida que los sitios más activos se vayan saturando, la adsorción disminuirá, y se hará nula cuando toda la superficie se haya saturado. Este hecho es el que da la relación máxima de sustancia a adsorbente, necesaria para obtener buenos resultados.

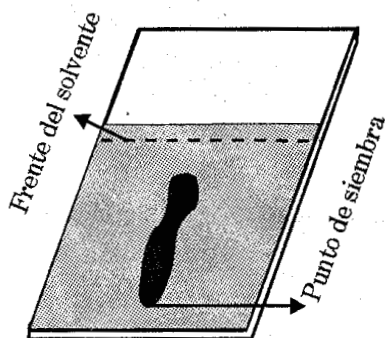


Gráfico 55. Aspecto de una C.C.D. con sobresaturación en la zona de siembra.

Si se sobresatura el adsorbente en la zona de siembra, habrá solutos que están **desorbidos** desde el primer momento. Por lo tanto, no participarán del equilibrio **adsorción-desorción-adsorción** secuencial.

Si esto ocurre en una placa, se observarán manchas deformadas, que dificultarán su interpretación (ver Gráfico 55).

Si lo dicho ocurre al sembrar una columna, se obtendrá una zona de siembra demasiado ancha, o si se siembra en pastilla, se tapará la columna al pretender eluir con un solvente poco polar, en el cual la muestra es insoluble.

VI.9.1 Sembrado de placas para C.C.D.

Una vez preparadas las placas para C.C.D., se siembran los productos a cromatografiar por medio de un capilar cargado, abierto de ambos extremos, en puntos ubicados sobre una línea imaginaria situada a 1,5 cm del borde inferior.

Los puntos estarán suficientemente separados como para evitar que durante el desarrollo, y debido al fenómeno de difusión, dos manchas contiguas se superpongan.

VI.9.2 Sembrado de C.C. Preparativa.

Una vez preparadas las placas para C.C. Preparativa, se siembra la solución a cromatografiar, por medio de un capilar, o una pipeta capilar, regulando gota a gota su drenaje. La siembra se realiza colocando puntos de solución contiguos, en varias pasadas, de tal forma que quede una **línea de siembra**, a 1,5 cm del borde inferior de la placa. Entre cada secuencia de siembra se debe dejar evaporar el solvente que está saturando el adsorbente en esa zona. De lo contrario, la zona de siembra se hace muy ancha y se pierde resolución al desarrollar (agravando el problema de difusión, que siempre existe).

La línea de siembra se concluye en uno de los extremos a unos 4 cm del borde de la placa, y en ese espacio se siembra un punto concentrado de la solución a cromatografiar. Esta siembra, luego del desarrollo, dará origen a una secuencia de manchas correspondientes a los solutos, que podrán hacerse evidentes por revelación (si los solutos no fueran coloreados). Ver la sección VI.11 y Gráfico 56.

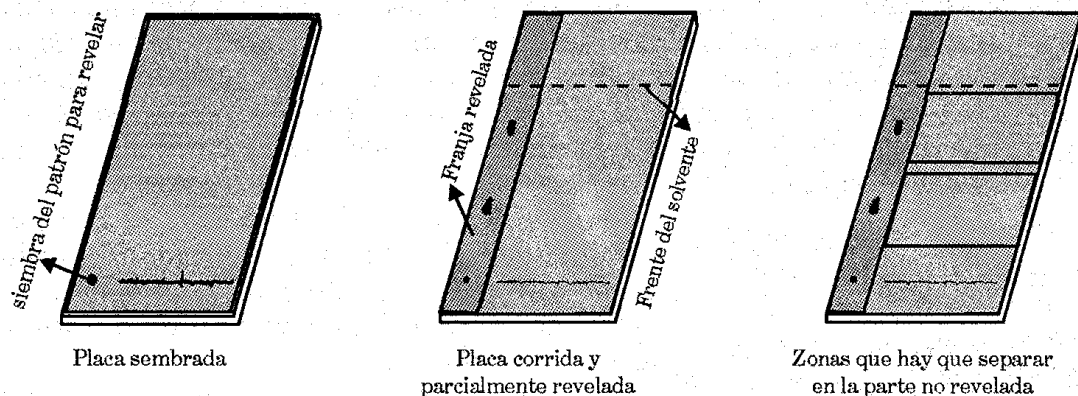


Gráfico 56. Siembra, revelado del patrón y zonas marcadas para la elución, en cromatografía en capa preparativa.

VI.9.3.- Sembrado de una columna

Una vez armada la columna y empacado su relleno se deposita sobre el tope del adsorbente un disco de papel de filtro y se drena el solvente hasta que queden 2 ó 3 mm sobre la superficie del adsorbente. Luego se deja gotear una solución concentrada de la muestra a separar. Las gotas se dejan caer con una pipeta capilar ubicada prácticamente a 3 ó 4 mm sobre la fase adsorbente, cuidando de distribuir las lo más homogéneamente posible.

La zona de siembra deberá presentar un aspecto de disco de espesor delgado y uniforme.

El solvente con que se disolvió el extracto de la muestra para ser sembrado, DEBE ser el mismo con que se comenzará la elución. Si la muestra es polar y no se disuelve bien en dicho solvente, se recurrirá a la técnica de sembrado en pastilla.

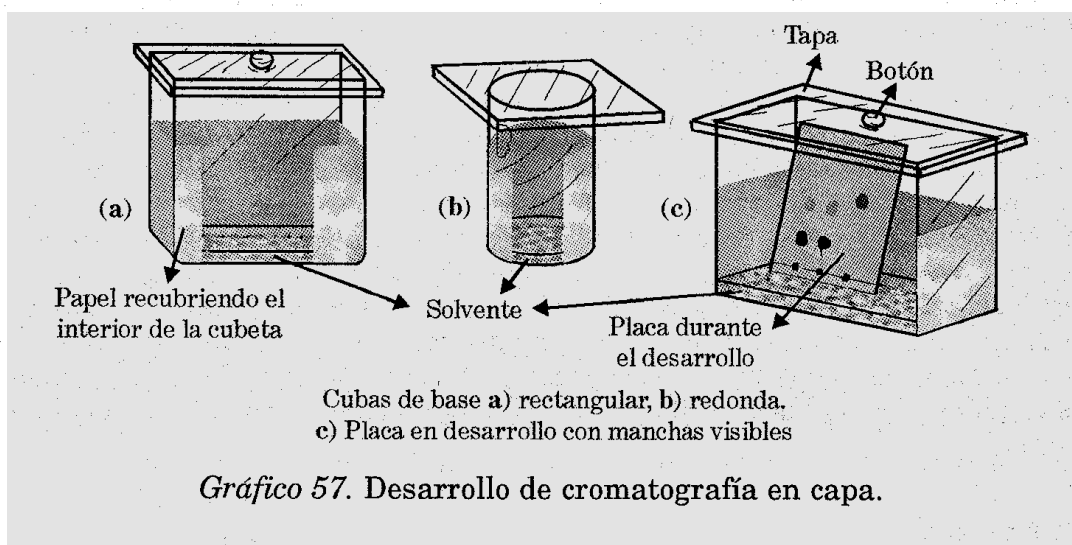
Pastilla.

Se disuelve la muestra en el solvente en el que es soluble y se agrega adsorbente de columna (tanto como dos veces el peso de la muestra). Se deja evaporar la suspensión en Rotavapor. De esta forma, queda la muestra adsorbida homogéneamente en la superficie de una cierta cantidad de adsorbente. Este polvillo se agrega como tal al tope de la columna de adsorbente. Se logra así un anillo de siembra, y se continúa el flujo del solvente con que se había armado la columna, o con el primero de elución, sin haberse afectado el sistema con un solvente más polar.

VI.10 Desarrollo

VI.10.1 Desarrollo de cromatografía en placas (Capa delgada y preparativa)

El desarrollo de los cromatogramas se lleva a cabo sumergiendo las placas en cubas, de modo tal que el nivel del solvente, alcance la capa de adsorbente, y pueda ascender por capilaridad, pero cuidando que no llegue hasta la altura donde están sembradas las sustancias. Las cubas cromatográficas pueden presentar distintas formas y tamaños, pero es imprescindible asegurar la máxima saturación de las mismas (ver sección VI.3.5). Los solventes deben estar anhidros y, si son mezclas, deberán ser todos miscibles entre sí. De lo contrario, se registrará más de un frente de solvente, haciendo ininteligible el cromatograma, y malogrando la separación.



Cuando el frente del solvente ha llegado hasta casi al borde superior del adsorbente, se retira la placa de la cuba y se marca esta altura del frente (para cálculos de R_F). Se deja evaporar el solvente y se observan las manchas coloreadas, o se revela las sustancias incoloras, para lograr su detección (ver sección VI.11).

VI.10.2 Desarrollo de columnas

a) El desarrollo de una columna, implica también su elución.

La regla general es que siempre debe comenzarse la elución desde el solvente menos polar hasta el más polar. (Repasar la sección VI.3.3).

b) **El criterio para elección de los solventes eluyentes**, está descrito en la sección VI.6.1, y se refiere a un análisis previo del comportamiento de la muestra en C.C.D.

c) Cuando los compuestos que se cromatografían son coloreados es sencillo determinar el momento apropiado para el cambio de solvente. El caso más general, es el

de sustancias incoloras. Aquí se hace imprescindible un seguimiento por C.C.D., de las fracciones que se van recogiendo de la columna (eluatos).

Resulta claro, entonces que los procesos de desarrollo, elución y revelado, en la técnica de columna, están totalmente interrelacionados. No se puede explicar uno de estos pasos, sin tener en cuenta el otro.

De esta forma, con los datos previos del comportamiento de la muestra en C.C.D., y de los eluatos drenados de la columna, se puede inferir sobre el comportamiento separativo de los solutos, acaecido dentro de la columna. Un ejemplo claro, se explicó en las secciones VI.6.2 y VI.7.

d) Con los solventes de elución se deben tener ciertos cuidados o **precauciones**:

i) En general no se utiliza como solvente de elución éter etílico: primero porque es sumamente inflamable, y la elución de una columna requiere volúmenes variables, pero, en general, importantes (más de 200 ml). Segundo, porque es muy volátil (PEb 34°C), y pueden formarse burbujas en el seno del adsorbente por calores de dilución localizados, o aumento de la temperatura ambiente. Estas inhomogeneidades en la fase estacionaria, traen los problemas de resolución explicados en la sección VI.3.1.iv). Tercero, porque si se lo utiliza en mezcla de solventes, es difícil mantener la composición relativa constante (nuevamente debido a su gran volatilidad), y las separaciones resultarán poco reproducibles.

ii) No deben utilizarse solventes húmedos, pues desactivarán a la fase estacionaria, en forma desordenada, tornando los resultados irreproducibles.

iii) No deben utilizarse mezclas de solventes inmiscibles entre sí. Lo que se espera de una mezcla es lograr una polaridad diferente a la de cada solvente puro. Si al mezclarse, forman dos capas, no se logró el objetivo. Además, la formación de dos fases líquidas afecta el desarrollo de una columna, bloqueando el flujo del eluyente (se tapa).

VI.11 Revelado

VI.11.1 Revelado de C.C.D.

Para el revelado con iodo, se sumerge la placa en una cuba que tiene cristallitos de iodo en su fondo. Es un método sensible y no destructivo. Al exponer al aire las placas reveladas, se observa que las manchas se desvanecen con el tiempo.

Otro tipo de revelado consiste en la pulverización con algún reactivo que genere con los componentes de la muestra productos coloreados.

A veces se prefiere sumergir las placas en dicho reactivo (de base alcohólica).

Todos los cromatogramas pulverizados o sumergidos deben someterse a un tratamiento posterior, que puede ser la desecación a temperatura ambiente o elevada, según el caso.

Algunos ejemplos de reveladores son:

- Aluminio cloruro, para flavonoides.

Solución pulverizable: Solución etanólica al 1% de aluminio cloruro.

Técnica: Pulverizar el cromatograma y observar a la luz UV filtrada.

- o-Aminofenol-Ácido fosfórico, reactivo para azúcares.

Solución pulverizable: Poco antes del uso, se disuelve 0,15 g de o-aminofenol en 20 ml de alcohol etílico absoluto. La solución se mezcla con 10 ml de ácido fosfórico al 50%.

- Anilina ftalato para azúcares reductores.

Solución pulverizable: Se disuelven 0,93 g de anilina y 1,66 g de ácido o-ftálico en 100 ml de 1-butanol saturado de agua.

Tratamiento ulterior: Los cromatogramas se calientan 10 min. a 105°C.

- Anisaldehído-Ácido sulfúrico para la reacción de Kagi-Mischer modificada frente a esteroides.

Solución pulverizable: Solución recién preparada de 0,5 ml de anisaldehído en 50 ml de ácido acético glacial, con adición de 1 ml de ácido sulfúrico.

Tratamiento ulterior: Calentar 2-3 min. a 90°C.

- Hierro (III) cloruro para ácidos hidroxámicos y fenoles.

Solución pulverizable: Solución acuosa al 1% de hierro (III) cloruro.

Tratamiento ulterior: Calentar.

- Reactivo de Dragendorff según Munier y Macheboeuf para alcaloides.

Solución a: Se disuelve 0,85 g de bismuto (III) nitrato básico en una mezcla de 10 ml de ácido acético glacial y 40 ml de agua.

Solución b: Se disuelven 8 g de yoduro potásico en 20 ml de agua.

Solución pulverizable: En caso necesario, se mezclan 5 ml de la Solución a y 5 ml de la Solución b, y se añaden 20 ml de ácido acético glacial. La solución se completa con agua hasta 100 ml.

Tratamiento ulterior: Calentar.

- Ditizona para iones de plomo y otros metales pesados.

Solución pulverizable I: Solución al 0,05% de ditizona en tetracloruro de carbono.

Solución pulverizable II: Amoníaco líquido al 25%.

- Sales de Cesio y Molibdeno como revelador general

1 g de sulfato de Cesio

2 g de ácido fosfomolibdico

10 ml de ácido sulfúrico concentrado.

90 ml de agua.

- Pueden conseguirse o construirse cromatoplasmas con adsorbentes que contienen sustancias fluorescentes y permiten detectar las manchas por acción de la luz ultravioleta (254 ó 366 nm).

VI.11.2 Revelado de C.C. Preparativa

El empleo de estas capas tiene por objeto recuperar las muestras sembradas, una vez separadas. Si las bandas de solutos son coloreadas se detectan a simple vista. Si no lo son, no se puede revelarlas en toda la extensión de la placa, porque el revelado implica modificarlas (irreversiblemente, en general). Se procede entonces, a revelar la zona corrida por el patrón interno, sembrado con este fin (ver sección VI.9.2 y Gráfico 56). A la altura de cada mancha observada, se marca una zona (que le corresponde en distancia), sobre la parte no revelada. Si el frente del solvente fue parejo, allí estarán los compuestos esperados.

Una forma mucho más sencilla es haber armado la capa con un adsorbente que tuviera agregado un indicador fluorescente.

Las bandas se localizan luego al U.V. por contraste con el fondo fluorescente de la placa. Estas bandas serán luego eluidas para recuperar los solutos adsorbidos (sección VI.12).

VI.11.3 Revelado de una cromatografía en columna

La técnica de revelado más utilizada consiste en analizar el eluato, por C.C.D., con el revelador apropiado. En cada separación por columna, se tiene un gran número de fracciones de eluato (generalmente del mismo volumen).

Cuando se conoce la composición de cada eluato, pueden unirse algunas de las fracciones que se concentran, mientras que otras se eliminan por no contener ningún compuesto utilizable. Algunas fracciones pueden contener varios componentes, y es necesario recromatografiarlas en otra columna.

La toma de un número grande de fracciones es una labor muy ardua y exige mucho tiempo, por lo que en la práctica se emplea algún tipo de aparato colector automático. En el Gráfico 58 se representa un colector de fracciones. Consiste en un disco en el que se coloca una serie de tubos. El disco gira mediante un sistema eléctrico, que en la forma más sencilla desplaza los tubos a intervalos de tiempo regulares. Es más conveniente, sin embargo, recolectar fracciones conteniendo un volumen conocido o un número fijo de gotas.

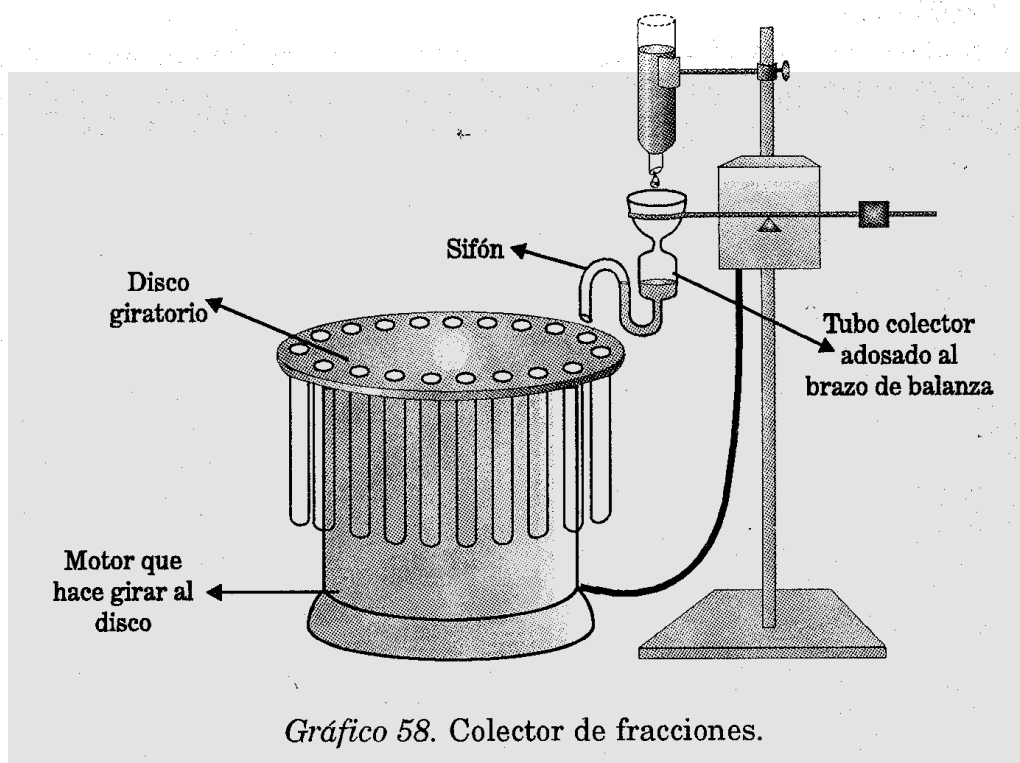
El Gráfico 58 presenta un tubo sifón que se usa para recolectar volúmenes fijos de eluyente. En este aparato el tubo es el brazo de una balanza, que actúa como control de muestras. Cuando el tubo está por la mitad aproximadamente se ladea la balanza, con lo que activa un sistema eléctrico que gira el disco, colocando un tubo vacío debajo del sifón. Cuando se ha recolectado el volumen correcto de líquido, el sifón vuelve a su posición habitual y comienza a llenarse de nuevo. Este proceso se repite hasta que se han recolectado suficientes fracciones.

Hay otro tipo de aparato, llamado contador de gotas, en el que las gotas de eluyente pasan a través de un rayo de luz, que activa una célula fotoeléctrica. El aparato puede ajustarse de tal manera que pase un número fijo de gotas antes del cambio de tubo. Los contadores de gotas son muy apropiados cuando se trata de recoger pequeñas fracciones, aunque también pueden utilizarse para fracciones

mayores. Si el disolvente, al pasar por la columna, sufre cambios o emerge algún compuesto en el eluato, entonces cambia el tipo de gota, por lo que muchas veces los volúmenes eluidos no permanecen constantes.

Cuando se ha recogido una serie de fracciones, existe todavía el problema de analizar el contenido de cada uno de los tubos. Con cientos de tubos, que es lo habitual en ciertas separaciones, esto supone un trabajo formidable. En estos casos se analiza el eluyente en forma continua, antes de entrar en el colector de fracciones.

Para el análisis continuo se conduce el eluyente a través de un aparato que mide alguna propiedad de los compuestos que han de separarse. Muchos compuestos, por ejemplo, que son incoloros, absorben luz en la región del ultravioleta. Se mide entonces, la absorción de luz U.V. en las gotas de eluato y, si existe alguna variación respecto de un haz patrón, se cambia automáticamente, al siguiente tubo colector.



Una técnica de revelado poco utilizada en Química Orgánica y muy usada en Química Biológica, es la de extrusión, que implica vaciar el contenido de la columna, sin romper la fase fija y revelar una pequeña sección longitudinal de la misma, para localizar los solutos. Obviamente, si se utiliza este sistema, los solutos han sido separados **dentro** de la columna y **no han sido eluidos** de la misma.

VI.12 Elución

Como la técnica C.C.D., es analítica, no requiere elución de los compuestos. La elución en la técnica de columna fue descrita en VI.10.2 y VI.11.3.

Elución de capas preparativas

Cada una de las zonas donde se encuentran adsorbidos los solutos (ver sección VI.11.2), se raspa cuidadosamente y se desprende del soporte.

Para recuperar los solutos, se los extrae con algún solvente en el cual sean muy solubles, filtrando el adsorbente remanente.

Esta operación se repite varias veces, para lograr un máximo de recuperación del material sembrado.

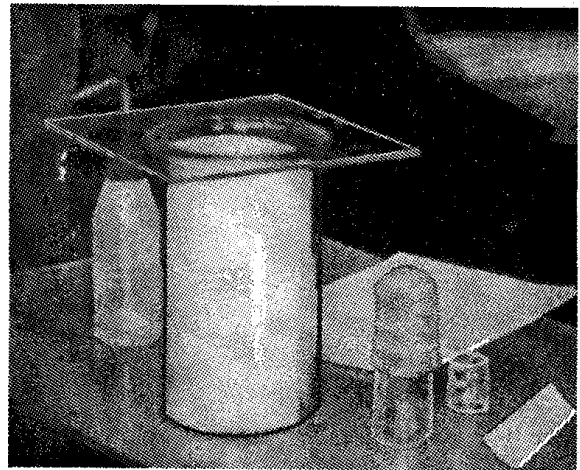
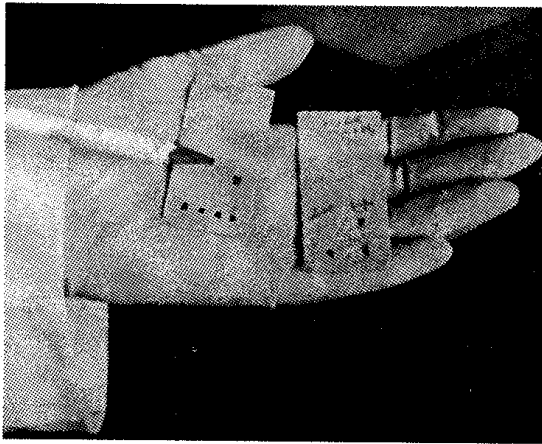
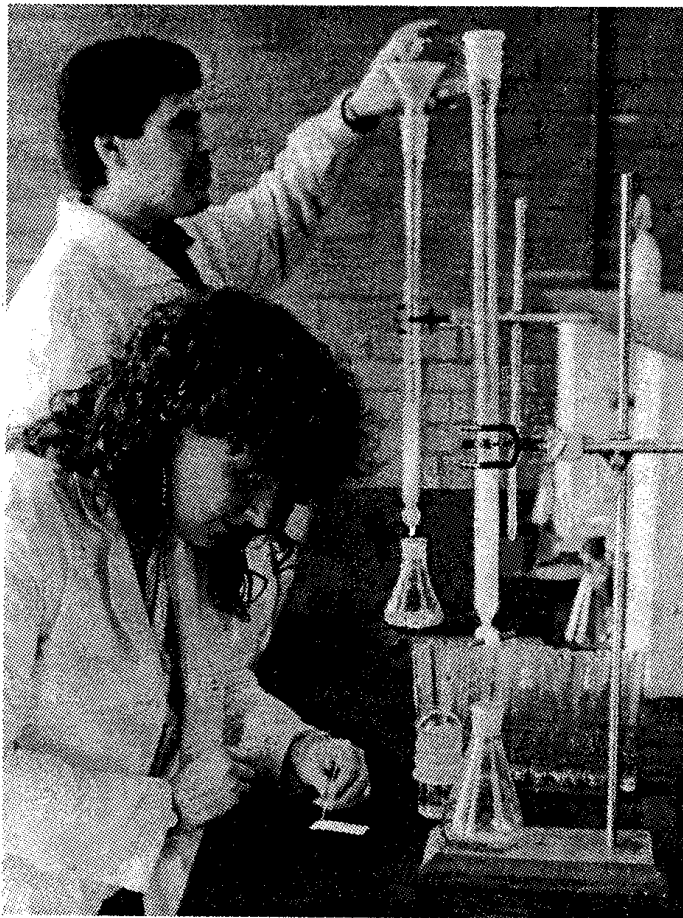
Debe cuidarse de no extraer con un solvente con más de 15% de metanol, pues con mayor polaridad, también se disolverá algo del adsorbente, y de revelador fluorescente.

CAPÍTULO VII

Cromatografía de partición

Ediciones Zorro Siglo XXI

“Porqué pagar por lo que se puede conseguir gratis”



CROMATOGRAFÍA DE PARTICIÓN

Consideraciones Teóricas

VII.1 Definición

Cuando se agita la solución de una sustancia con un disolvente inmiscible, el soluto se distribuye entre las dos fases, y cuando se llega al equilibrio, la relación

$$\frac{\text{concentración en el disolvente A}}{\text{concentración en el disolvente B}}$$

es una constante, que se denomina coeficiente de partición (o de reparto).

En este principio se basa la técnica separativa de Extracción, como vimos en el Capítulo V

A. Martin y L. Syorge, demostraron en 1941 que, para distinguir amino-ácidos entre sí, era posible una separación más eficaz mediante columnas de silicagel que contenían 50% de agua, colocando en ellas la solución de la mezcla y eluyendo con disolventes inmiscibles con el agua, como, por ejemplo, el cloroformo con pequeñas cantidades de butanol. El líquido retenido en la columna se denomina fase estacionaria y el eluyente fase móvil. Existen otros materiales capaces también de retener el agua como fase estacionaria; entre ellos, el almidón, el polvo de celulosa, papel de filtro, algodón y el amianto.

Este procedimiento ha recibido el nombre de **cromatografía de partición**, y es esencialmente diferente a la cromatografía de adsorción.

La característica fundamental de la cromatografía de partición es que la **fase estacionaria es agua**, retenida sobre diferentes tipos de soporte. La **fase móvil es un líquido inmiscible con agua** (pero saturado de agua). La **separación se basa en la distribución selectiva de los solutos en las fases, según sus constantes de partición particulares**.

Dado que ambas fases (móvil y estacionaria) son líquidas, se denomina a la cromatografía de partición, cromatografía líquido-líquido.

Actualmente, para las técnicas de cromatografía gas-líquido y cromatografía líquida de alta resolución, se han desarrollado fases líquidas estacionarias distintas de agua, que se detallarán en el Capítulo VIII.

En el presente capítulo, se profundizará sobre la cromatografía líquida de partición sobre papel o polvo de celulosa.

VII.2 Fase fija: ¿el agua del papel?

El papel de filtro colocado en una atmósfera saturada con vapor acuoso absorbe aproximadamente un 22% de agua.

En 1946, Consden y Martin consideraron al papel de filtro como un soporte inerte de una fase acuosa estacionaria, explicando las separaciones que se observaban, como una partición continua de las sustancias entre la fase acuosa estacionaria y el disolvente orgánico, inmiscible con el agua, que fluía por el papel.

Esta interpretación fue criticada posteriormente por numerosos investigadores.

Algunos imaginaron que no podía establecerse un equilibrio lo suficientemente rápido en un sistema sin agitación y, por lo tanto, que las separaciones no podían ser explicadas a base de la simple extracción de disolvente-disolvente. Martin destacó, sin embargo, que cuando se calcula la eficacia de los cromatogramas sobre papel, basándose en las constantes de difusión conocidas, los resultados son correctos.

Otra objeción importante fue la siguiente: si las separaciones obtenidas se debieran a la partición entre dos disolventes, resultaría imposible emplear disolventes miscibles con el agua, pues en ellos solamente existe una fase y, por lo tanto, no sería posible la partición. Sin embargo, numerosos investigadores han efectuado separaciones de aminoácidos y otras sustancias con disolventes hidrosolubles tales como el propanol, la acetona, el etanol y aún el agua pura. Antes de poder tomar partido por alguna de estas teorías, es necesario examinar detalladamente el estado en que se encuentra el papel de filtro saturado con agua.

Martin compara la fase acuosa en el papel con una solución concentrada de un hidrato de carbono: "La fase estacionaria en un cromatograma de celulosa debe compararse con una solución concentrada de glucosa o, mejor aún, de algún polisacárido soluble, más bien que el agua saturada con la fase orgánica. No es sorprendente, por lo tanto, que puedan utilizarse solventes miscibles con el agua. Una solución concentrada de glucosa formará dos fases con propanol acuoso; la fase rica en hidratos de carbono contendrá una proporción relativamente mayor de agua, mientras que la otra fase, contendrá una proporción realmente mayor de disolvente orgánico".

Hanes e Isherwood han adoptado un punto de vista análogo a la teoría de Martin; consideran la fase estacionaria como un complejo agua-celulosa. Una sustancia en solución se retendrá más o menos fuertemente en este complejo según sus propiedades hidrofílicas.

Se concluye, entonces, que el **agua retenida por el papel es la fase fija**, y que tiene un poder de disolución **distinto que el agua pura**, frente a los solutos. Por esto es posible una partición entre el 'agua' de la fase estacionaria, y otro solvente inmiscible o no que, inclusive, puede ser agua pura.

VII.3 Relación entre estructura y movilidad

Nuevamente se define la relación de frente R_F , de las técnicas en capa, como una medida de la movilidad registrada durante la cromatografía.

Los valores de R_F , dependen del **coeficiente de partición** y de las cantidades relativas de las dos fases en contacto. Para una columna dada o un papel, el R_F de un compuesto depende solamente del coeficiente de partición, que es una propiedad termodinámica, tan específica y característica como otros puntos de transición, tales como el punto de ebullición y el punto de fusión.

Mientras que para la identificación mediante el punto de fusión o el de ebullición es necesaria una muestra pura, el valor de R_F no se ve influido por la presencia de impurezas, y, además, son necesarias solamente cantidades microscópicas para una detección en cromatografía sobre papel.

Similarmente a lo visto en adsorción, el solvente de desarrollo y **la naturaleza de los grupos funcionales** presentes en los solutos, son las variables más importantes que determinan las movilidades relativas entre ellos.

Como la fase móvil es un solvente orgánico saturado en agua, la polaridad de esta fase, será **siempre menor** que la de la fase fija (agua). Resultarán por lo tanto, **más retenidas las sustancias más polares, y mas desplazadas, de la zona de siembra, las sustancias menos polares.**

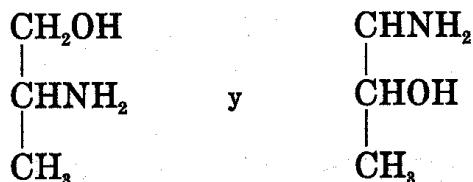
Sugerencia: Compare las movilidades en partición, con las correspondientes en adsorción.

La reproducibilidad de los valores de movilidad, dependerán, como en adsorción, de la temperatura durante el desarrollo, y la correcta saturación de la cuba.

VII.4 Relación Frontal: ¿Criterio de pureza y/o de identificación?

Se emplea el mismo razonamiento que el visto para adsorción (sección VI.4). Se lo utiliza por su valor negativo en cuanto a criterio de pureza y de identificación.

Para identificar una sustancia se mide generalmente su valor R_F con un número de disolventes adecuados, y se lo compara con el valor de R_F de sustancias de referencia que se cromatografían en el mismo papel al mismo tiempo. No es posible, sin embargo, identificar una sustancia desconocida por el valor de R_F . Numerosas mezclas de isómeros, por ejemplo:



producen solamente una mancha con todos los disolventes utilizados.

Cuando los solutos a cromatografiar, son de estructura similar (tendrán un K_d similar), se requiere una larga distancia recorrida por el solvente para visualizar una separación aceptable entre los compuestos. En estos casos, no se emplean las técnicas de placa (que establecen un tope al frente del solvente), sino columnas de celulosa o papel (ver sección experimental) en las que es posible dejar gotear el frente del solvente.

En estos casos las movibilidades relativas se miden en relación a la movilidad de una sustancia que se siembra en la misma corrida, como patrón interno.

$$R_x = \frac{\text{distancia recorrida por una sustancia}}{\text{distancia recorrida por el soluto patrón (X)}}$$

De la definición surge que el valor de R_x puede ser mayor o menor que 1.

Por ejemplo, en cromatografía de partición de azúcares, se utiliza como patrón interno, generalmente glucosa.

Se define entonces:

$$R_g = \frac{\text{distancia recorrida por un azúcar}}{\text{distancia recorrida por glucosa}}$$

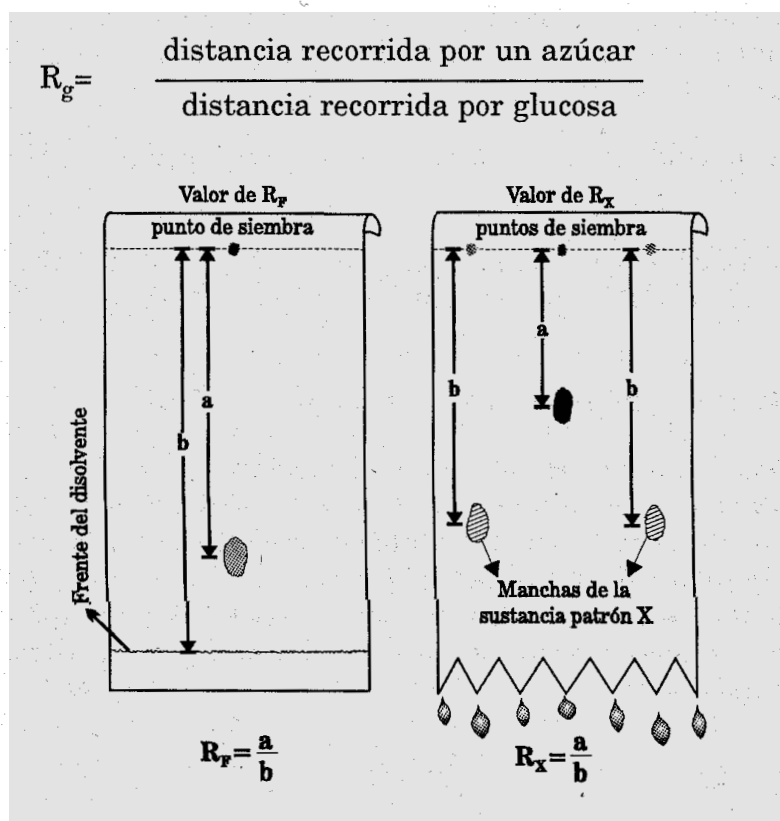


Gráfico 59. Cálculo de R_F y R_X para una cromatografía de partición descendente.

En el Gráfico 59 se muestra el cálculo de R_F y R_X para sendas cromatografías en papel descendente

VII.5 Cromatografía líquido-líquido: ¿Siempre agua como fase fija?

Las sustancias que son escasamente solubles en agua no se podrían separar por los métodos cromatográficos ordinarios de cromatografía sobre papel, ya que la sustancia avanzaría con el frente del disolvente. Sin embargo, la técnica puede extenderse a compuestos de este tipo, secando el papel e impregnándolo con aceite de oliva, silicona, parafina o goma látex.

El papel así impregnado, se siembra y desarrolla.

El reparto entre la fase fija líquida (no polar), y el solvente de desarrollo, determinará las separaciones de los compuestos sembrados.

Esta técnica recibe el nombre de **cromatografía sobre papel en fase invertida**.

El material líquido no polar que impregna el papel, es la fase estacionaria.

Los solventes de desarrollo más comunes, para este tipo de cromatografía líquido-líquido, son líquidos orgánicos que contienen una pequeña cantidad de agua.

CROMATOGRAFÍA DE PARTICIÓN

Consideraciones Experimentales

Las técnicas empleadas comúnmente para cromatografía de partición son:

a) **C.C.D.**, con fase fija de celulosa. Puede utilizarse celulosa microcristalina. A diferencia de las fases fijas adsorbentes, no podrán utilizarse reveladores agresivos (por ejemplo H_2SO_4). El tamaño de la partícula es de 8 micrones, y puede tener o no agentes ligantes.

Para preparar la capa se suspende la celulosa en agua en relación 1:2 (gr/ml) y se deja secar.

También se consiguen en el comercio cromatoplasmas de fase reversa, para cromatografía de partición (líquido-líquido). En este caso, las partículas son de sílica gel y han sido tratadas, por ejemplo, con un reactivo de octadecil sililo (Rp-18), que las cubre formando una película no polar unida químicamente a ellas (ver sección VIII.2.8.iii)).

b) **Columnas**, con fase fija celulosa. La fase fija es también polvo de celulosa. Se puede armar la columna directamente con el polvillo, y luego continuar con la siembra y la elución; o bien, preparar una papilla de celulosa en el solvente de elución. En este último caso, se procede para el armado, como se indicó en la sección VI.8.3.

c) **Papel**, en sus variantes, analítica o preparativa. La técnica de cromatografía de partición en papel, merece una descripción particular. El resto, se enmarca en lo descripto para las técnicas de adsorción, del capítulo VI.

VII.6 Cromatografía analítica de partición en papel

VII.6.1 Muestras para cromatografía

Las muestras se aplican siempre sobre el papel en forma de solución. Para esto, los sólidos se disuelven en una pequeña cantidad de disolvente adecuado.

Las sustancias puras pueden aplicarse directamente, pero los extractos preparados de tejidos biológicos requieren, frecuentemente, una purificación preliminar. La razón es la gran cantidad de proteínas o sales en el extracto, que, al ser extraídas por el agua del disolvente pueden interferir con el proceso de reparto dando lugar a la formación de "colas" en el cromatograma. Gran cantidad de impurezas pueden solapar también a los productos separados.

Hay varios métodos para eliminar las sustancias indeseables. Los lípidos pueden extraerse con disolventes orgánicos, las proteínas pueden precipitarse con alcohol y las sales se eliminan con resinas de intercambio iónico o por métodos electrolíticos.

A menudo es útil el fraccionamiento preliminar de extractos biológicos sobre columnas de intercambio iónico, de pequeño tamaño.

Eligiendo un tipo de resina y unas condiciones cromatográficas adecuadas, pueden separarse las sustancias iónicas de las que no lo son, pudiendo fraccionarse estas últimas posteriormente. De este modo es posible obtener muestras que contienen sólo uno o dos tipos de moléculas.

Otra alternativa de purificación previa incluye la utilización de columnas de geles, que logran separar compuestos de pesos moleculares diferentes.

VII.6.2 Tipos de papeles

Según las necesidades, se pueden adquirir varios tipos de papel cromatográfico, en los que varían el espesor y la velocidad de flujo. Generalmente se usan Whatman número 1 o número 3, para separaciones, y Whatman número 3 o Whatman 3MM, para trabajos preparativos.

VII.6.3 Siembra de la muestra sobre el papel

El tamaño del papel, estará de acuerdo con el tamaño de la cuba a utilizar. Para el caso en que la cuba tenga 60 x 25 x 25 cm aproximadamente, el papel Whatman N 1, se recortará de 14 x 46 cm. Luego, se traza **con lápiz** una recta transversal a 5 cm de un borde extremo del papel. Sobre una línea imaginaria, a 6,5 cm del mismo borde y paralela a la anterior, se marcan 6 puntos que disten 2 cm entre sí y 2 cm de borde longitudinal a los puntos extremos.

Como se observa en el Gráfico 60, el borde inferior se corta de forma dentada, para lograr un goteo parejo del frente del solvente, cuando se emplea la técnica descendente (sección VII.6.5 *i*). Sobre cada uno de los puntos marcados, se siembran con capilar gotas de las muestras y los patrones. Se anota con lápiz el nombre de cada sustancia contiguo a su siembra.

Las manchas de las muestras sobre el papel deben ser de un diámetro máximo de 5 mm, ya que manchas mayores conducen a peores separaciones. Aplicando el capilar en un punto se consiguen manchas de pequeño tamaño. Cuando la mezcla de sustancias está muy diluida hay que hacer varias aplicaciones, secando la siembra después de cada aplicación. Esta misma operación se hace cuando interesa que haya varias muestras en cada mancha. La mejor manera de secar las manchas es con un secador de aire ya que este aparato produce una corriente de aire caliente que ayuda a la evaporación del disolvente. Cuando se hace una cromatografía preparativa se aplican las muestras en forma de raya, mejor que en forma de punto. Una vez que se han secado las manchas sobre el papel, ya está éste listo para el desarrollo (nombre que se da al proceso en el que un disolvente fluye a través del papel, produciendo la separación).

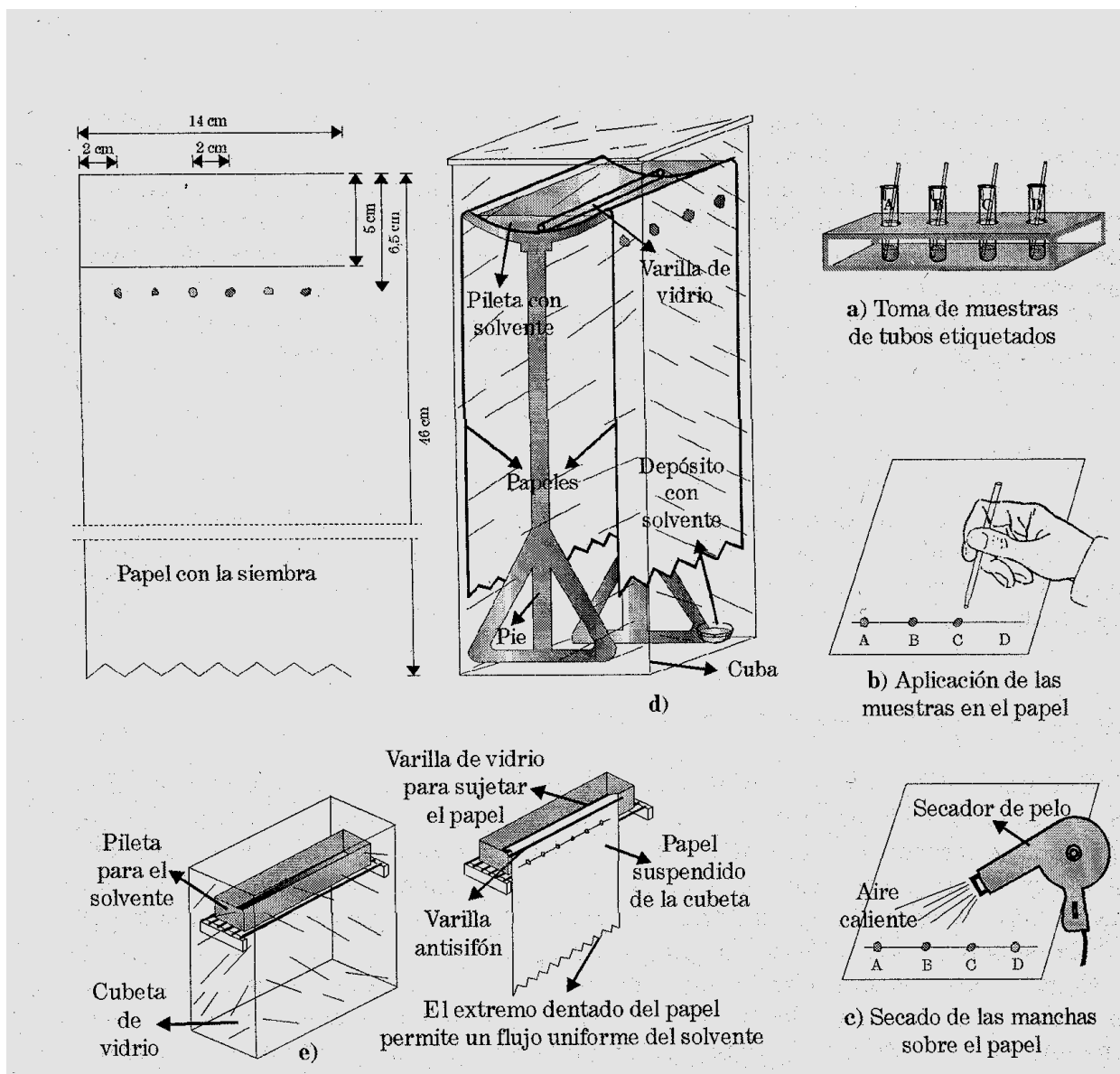


Gráfico 60. Sembrado en papel y dispositivos para desarrollo con técnica descendente.

VII.6.4- Elección del disolvente

Es obvio que el disolvente para el desarrollo depende de las sustancias que hemos de separar; la elección de éste proviene de la experiencia. En casi todos los textos que tratan cromatografía de partición, se indican diferentes mezclas de solventes, para lograr la separación óptima de distintos tipos de sustancias. Los disolventes para la cromatografía de reparto sobre papel se pueden preparar por simple saturación con agua de un disolvente orgánico, tal como el n-butanol. Muchos de los

disolventes empleados son de este tipo, pero ocurre que la cantidad de agua necesaria para la saturación del solvente orgánico de desarrollo, es demasiado pequeña. Por ej., en la separación de aminoácidos, azúcares, o compuestos fenólicos (compuestos muy polares), un solvente como butanol saturado en agua, no los "mueve" demasiado, porque no los solubiliza lo suficiente. Para superar esto, se adiciona un tercer solvente a la mezcla de desarrollo. Éste puede ser un ácido, o una base, como por ejemplo, ácidos acético o fórmico, piridina o solución de amoníaco, o solución de ácido clorhídrico. Este agregado tiene dos funciones: permite incorporar más agua al disolvente, con lo que aumenta la solubilidad de algunas sustancias, mientras que disminuye la de otras además de influir por su polaridad intrínseca. Los disolventes ternarios (tres componentes), se utilizan ampliamente.

La dosificación de los disolventes usados debe ser tal que en la mezcla se formen dos capas. La capa orgánica se separa y se utiliza para el desarrollo. La fase acuosa se descarta, la ventaja de esto estriba en que el disolvente se satura bien con agua, pero la desventaja es que se pierde material y tiempo.

La práctica moderna consiste en conocer la composición de la capa orgánica mencionada anteriormente. Para preparar este disolvente es esencial emplear exactamente las cantidades especificadas y agitarlo muy bien antes de su uso.

VII.6.5 Desarrollo del papel

El desarrollo puede llevarse a cabo permitiendo que el disolvente suba por el papel (técnica ascendente) o que descienda por él (técnica descendente).

i) Técnica descendente

El disolvente que ha de eluir el cromatograma se pone en un depósito (pileta) de un material inerte (por ejemplo, vidrio) que está colocado en la cubeta cromatográfica, como indica el Gráfico 60.

En el fondo de la cubeta se pone también un poco de disolvente, para asegurar que la atmósfera del interior esté saturada de vapor.

La parte superior del papel, preparado como se indica en la sección VII.6.3 se sumerge en el disolvente y se tapa herméticamente la cubeta. (El papel se sujeta en el fondo de la pileta mediante una varilla de vidrio).

ii) Técnica ascendente

En esta técnica el disolvente se coloca en el fondo de la cubeta y el papel se suspende mediante algún artificio colocado en la parte superior de ésta (Gráfico 61).

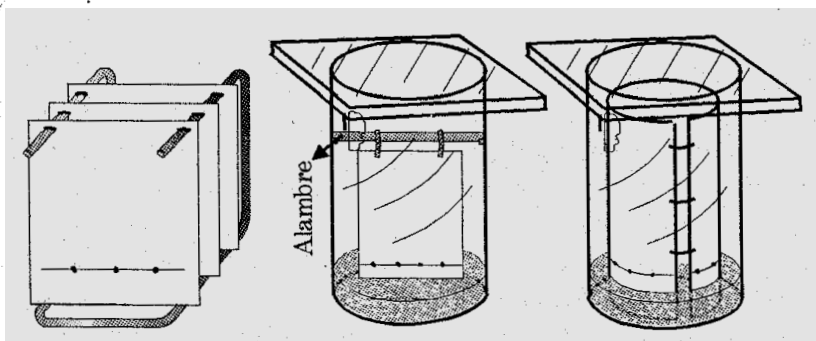


Gráfico 61. Aparatos empleados en la cromatografía ascendente.

El papel también puede enrollarse en forma de cilindro, cosiendo los extremos mediante "clips", y empaparse con el disolvente del fondo de la cubeta. En cualquiera de los métodos, la cubeta debe cerrarse herméticamente.

Nota: Con la técnica ascendente, considerando que la atmósfera en la cubeta está saturada con el vapor del eluyente, el disolvente sólo puede ascender hasta el extremo superior del papel, cesando en este momento el flujo del líquido. Así, todos los compuestos permanecen sobre el papel y la distancia recorrida por el disolvente es fija. Esta técnica tiene particular interés para separaciones en dos dimensiones. El método ascendente da también mejores resultados con disolventes muy volátiles. Una desventaja de esta técnica es que los compuestos con R_E muy bajos se separan, muy a menudo, incompletamente. Con la técnica de descenso se le permite al disolvente correr fuera del papel (debido a la gravedad), con lo que es posible aumentar considerablemente la longitud del recorrido y, de esta manera, conseguir mejores separaciones.

Sugerencia: Analice cómo varía el R_x con:

- i) El largo del papel
- ii) El tiempo de corrida
- iii) El solvente de desarrollo

Una vez que el frente del solvente recorrió la distancia deseada, o que transcurrió un tiempo especificado (técnica descendente), se sacan los papeles de la cuba y se los seca.

VII.6.6 Revelado de las sustancias sobre el cromatograma

Cuando ha terminado la separación interesa, naturalmente, localizar la posición de las sustancias en el papel. Si las sustancias son coloreadas, esto no presenta dificultad, pero muchos compuestos, principalmente aquellos que tienen interés biológico, son incoloros y, por consiguiente, invisibles. En este caso se puede hacer uso de varios métodos: métodos físicos, que utilizan propiedades particulares de los compuestos, tales como la fluorescencia y la radiactividad; o

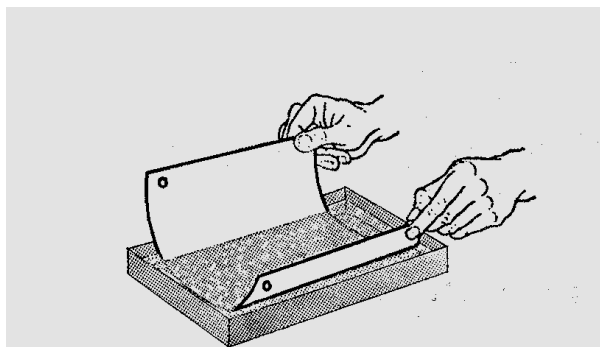
métodos que consisten en hacer reaccionar a las sustancias a revelar con algún agente químico con el que formen algún compuesto coloreado.

Los compuestos que son incoloros sobre el papel pueden colorearse mediante el empleo de algún agente de revelado. El revelador puede tratarse, en el caso más sencillo, de un gas (por ejemplo, el sulfuro de hidrógeno que se utiliza para revelar iones metálicos con los que forma sulfuros coloreados), pero la mayoría de las veces los reveladores son líquidos o sólidos que se emplean en solución.

Hay dos métodos para aplicar el revelador: sumergiendo el papel en una solución de éste o pulverizando la solución sobre el papel:

i) Técnica de bañado.

El material que requiere esta técnica es una bandeja poco profunda, fabricada de material inerte, en donde se coloca la solución reveladora y se sumerge el cromatograma, teniendo cuidado de que éste no toque las paredes laterales de la bandeja, tal y como se indica:



Muchas separaciones pueden estropearse por el empleo de soluciones descompuestas del revelador o por no ser cuidadosos en su aplicación. Es esencial que el compuesto cromatografiado, y el ya revelado sean insolubles en el solvente del baño de revelado, de lo contrario las manchas se disolverán y eluirán del papel.

ii) Técnica de pulverización.

Esta técnica consiste en pulverizar uniformemente el revelador sobre la superficie del cromatograma por medio de un "atomizador", que puede ser un pulverizador o una botella "spray" especial para cromatografía. En el primer caso se insufla aire mediante una pera o una corriente de un gas inerte a presión. La técnica del pulverizado se indica en el Gráfico 62.

Si se emplean dos o más reveladores se aplicará, sencillamente, uno detrás del otro. En este caso es menos importante el secado del papel después de cada aplicación.

En el caso en que sea necesario un revelado múltiple, algunos reveladores pueden aplicarse por la técnica de bañado, y otras por pulverizado.

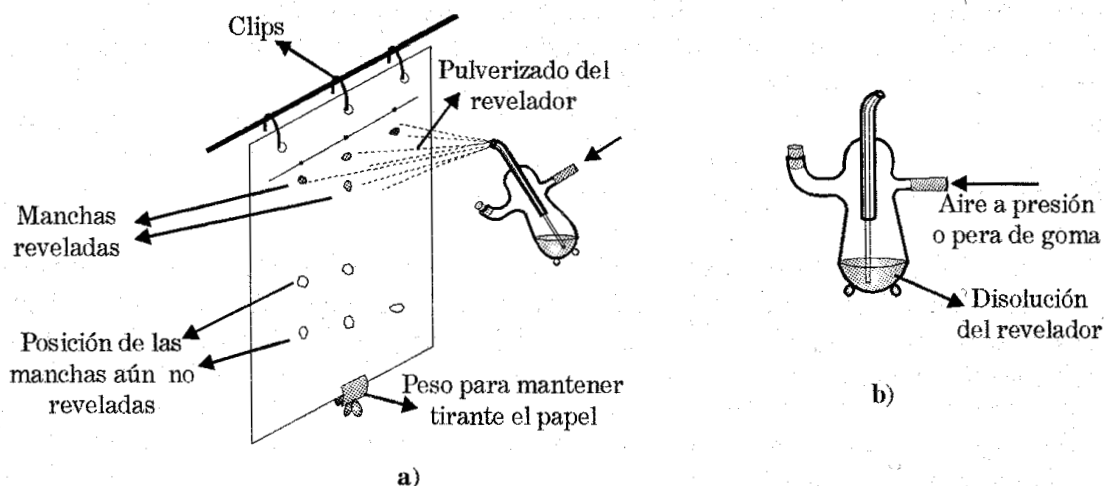


Gráfico 62. Revelado por pulverización.

VII.7 Cromatografía preparativa sobre papel

La cromatografía preparativa de papel se lleva a cabo sobre tiras de papel de filtro de un grosor adecuado. Los componentes separados pueden sacarse del papel con el disolvente apropiado; la solución se concentra y cristaliza el compuesto.

La solución conteniendo la mezcla se aplica en la línea base del papel, tal y como se indica en el Gráfico 63(a). En los lados del papel se aplica una solución de los compuestos a separar, que nos sirva de referencia. Se desarrolla el papel con el disolvente elegido y, después del tiempo suficiente, se retira y se seca. Si el revelado de las franjas laterales requiere pulverizador, se cortan dichas franjas. Una vez revelados los compuestos patrón se vuelven a colocar en la posición original (Gráfico 63(b)), permitiendo delinear los trozos de papel que contienen a los componentes separados. Las áreas dibujadas con lápiz, se cortan con tijeras, y se extraen dichos recortes con el solvente apropiado (Gráfico 63(c)).

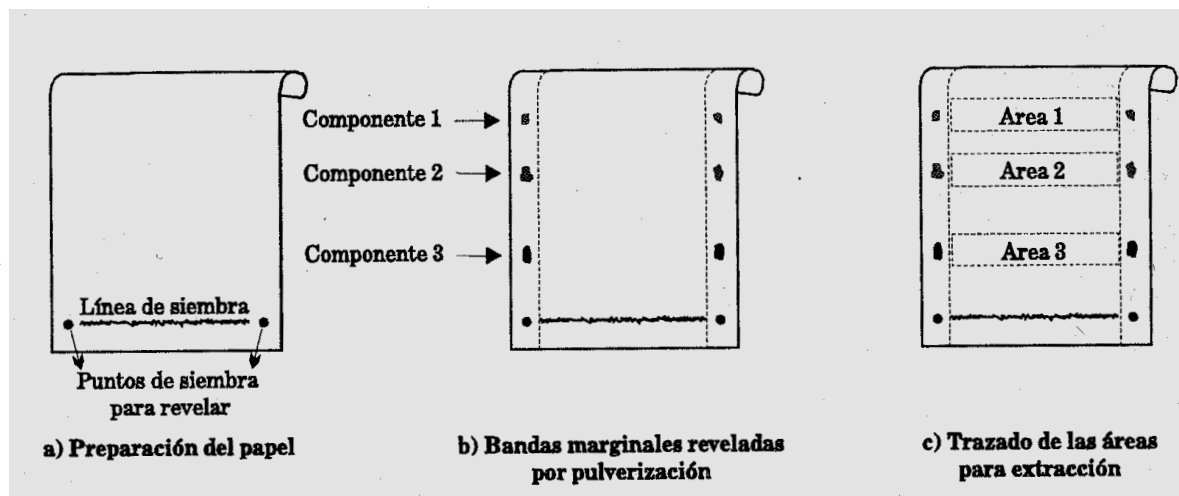


Gráfico 63. Técnica de revelado para la cromatografía de partición preparativa sobre papel.

CAPÍTULO VIII

Cromatografía gaseosa

Cromatografía líquida de alta resolución

Resinas de intercambio iónico

Filtración con tamices moleculares

VIII. 1 CROMATOGRAFÍA GASEOSA

Consideraciones teóricas

VIII.1.1 Definición y aplicaciones

La cromatografía gas-sólido (c.g.s.), o gas-líquido (c.g.l.) es un método para separar componentes de mezclas de compuestos volátiles. En la mayoría de sus aplicaciones las separaciones se hacen para identificar y determinar el número de componentes de una mezcla.

Para fines analíticos se utilizan entre 0.1 y 10 microlitros de solución de la muestra en un solvente apropiado.

En la actualidad la cromatografía de gases a escala preparativa se aplica fundamentalmente en laboratorios de Química Orgánica, donde es muy grande su utilidad como método de separación o purificación de sustancias desconocidas, para su posterior estudio estructural, o de patrones de alta pureza. De todas formas, los volúmenes de muestra que se manejan en estas operaciones, inducen a calificarla más exactamente como "semipreparativa".

A escala industrial, la cromatografía gaseosa, se utiliza excepcionalmente, en escala preparativa, para la obtención de productos muy puros y que serán utilizados en cantidades pequeñas. Tal es el caso de productos farmacéuticos y de perfumería.

La aplicación analítica, es, sin duda, la más desarrollada, conjuntamente con el sistema de espectrometría de masa, acoplado a cromatografía gaseosa (C.G.L.-masa).

El término cromatografía gaseosa se aplica a los procesos en los cuales la fase móvil es un gas y en los que la distribución de los componentes de una mezcla se logra mediante cualesquiera de los procesos cromatográficos de adsorción selectiva o partición.

Si el principal mecanismo que produce la distribución es la adsorción en un sustrato sólido, el método se denomina "cromatografía gas-sólido". Si el mecanismo principal involucra la partición entre la fase gaseosa y una fina película de un líquido depositado sobre un sólido inerte, el método es una cromatografía de partición "gas-líquido".

Mediante esta técnica pueden separarse docenas de constituyentes empleando muestras de menos de un microgramo. Se aplica a un amplio rango de sustancias variando la fase fija y la temperatura que puede llegar a los 500°C para la separación de sustancias de alto peso molecular.

Los aparatos que se emplean en la cromatografía gas-líquido y gas-sólido son básicamente iguales en su construcción. Difieren en la naturaleza del material de relleno a través del cual pasa la muestra.

VIII.1.2 Retenciones relativas

La muestra a cromatografiarse se introduce líquida en la cámara inyectora del equipo (ver sección experimental), donde se vaporiza y toma contacto con el relleno de la columna cromatográfica.

Esta columna consiste en un tubo que puede ser cilíndrico, de vidrio o bien metálico, en espiral, el que se ha relleno con el adsorbente sólido (finalmente pulverizado), o con el soporte recubierto por la fase líquida que actuará como fase fija. La muestra vaporizada se adsorbe, entonces, en el material de relleno de la columna, y al mismo tiempo se establece un equilibrio entre ese material y el gas en los intersticios de la columna, de manera que una parte de la muestra permanece siempre en la fase gaseosa. Esta porción, sigue avanzando a lo largo de la columna, en la corriente de gas portador, donde de nuevo se equilibra con el adsorbente. Al mismo tiempo, el material ya adsorbido en la columna, vuelve a la fase gaseosa, de manera de restablecer el equilibrio con el gas portador puro, que empuja la zona de vapor.

La velocidad a la cual se mueve la sustancia depende, en principio, de dos factores:

- 1- la velocidad de flujo del gas portador y
- 2- la medida en que el vapor de la sustancia es retenido.

A mayor flujo de gas portador la zona (perfil de concentración) se mueve más rápido; y cuanto más retenido (adsorbido o disuelto) sea el compuesto vaporizado, más lentamente se moverá dicha zona.

Cuando dos o más componentes están presentes en la muestra, cada uno se comporta independientemente de los otros.

La condición esencial, para poder analizar una mezcla por C.G., es que sus componentes sean vaporizables. Si las sustancias a cromatografiar tienen presiones de vapor despreciables, se fijarán, a la fase estacionaria, pero difícilmente podrán ser eluidas por el gas portador.

Para evitar este tipo de inconvenientes, se realiza una **derivatización** de la muestra. Este proceso consiste en convertir grupos funcionales polares en sus derivados de menor polaridad. Por ejemplo, alcoholes y fenoles, se esterifican o eterifican por acetilación o sililación; dando acetatos o éteres de trimetil sililo = $R-O-Si(CH_3)_3$.

Si los grupos polares son ácidos, se convierten en sus ésteres metílicos (por acción del diazometano). Las aminas generalmente se acetilan.

VIII.1.3 Tiempo y volumen de retención

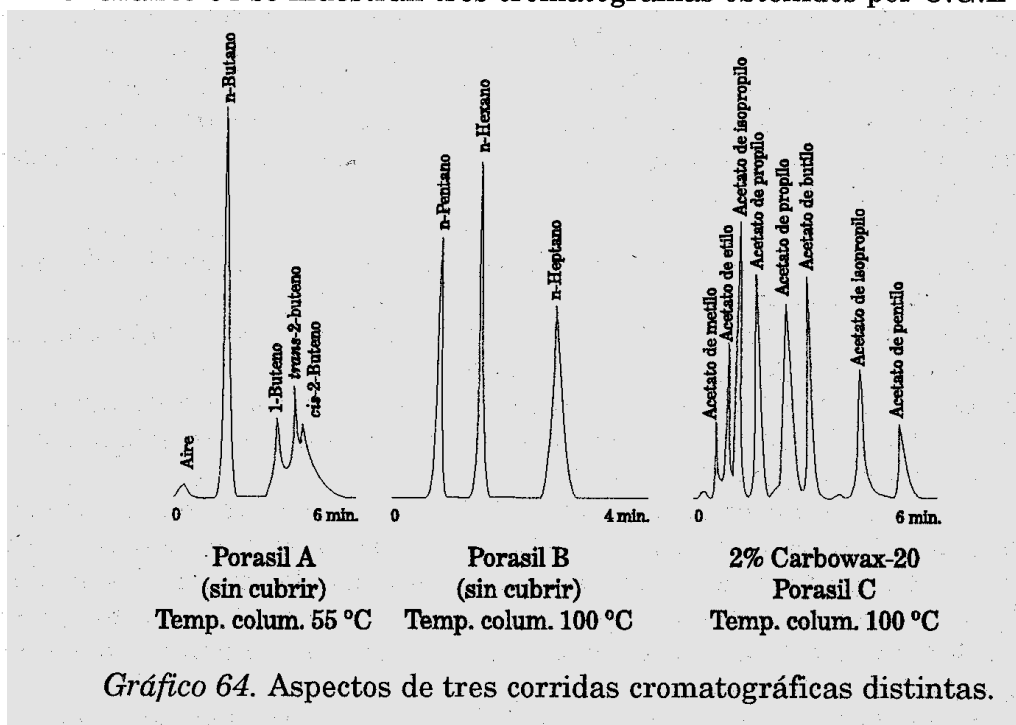
El modo característico de interacción entre una determinada carga de columna, y los componentes que se cromatografían, se expresa en términos de **tiempo de retención**, que es el tiempo que transcurre entre el instante en que la mezcla se introduce en la columna y el momento en que se detecta su aparición.

Cuanto mayor sea la interacción entre el soluto y la fase estacionaria, mayor será su tiempo de retención.

Si se realizan dos corridas cromatográficas en condiciones reproducibles, el tiempo de retención es un parámetro también reproducible; y puede servir para caracterizar a cada sustancia. **Con fines de identificación se requiere la coinyección de la muestra con el patrón supuesto**, y sirve por su valor negativo, tal como ocurría con el R_F y el R_g (Capítulos VI y VII, respectivamente).

Como el tiempo de retención depende de la velocidad de flujo de gas carrier o portador (fase móvil), se prefiere emplear el "volumen de retención", que es, el volumen de gas empleado para transportes el soluto en cuestión, a través de la columna.

En el Gráfico 64 se muestran tres cromatogramas obtenidos por C.G.L



Separaciones sobre Porasil. El Porasil (esferillas porosas de sílice) tiene muchas ventajas sobre los soportes inorgánicos empleados generalmente. Su inercia química y la posibilidad de elegir el tamaño de poro y el área superficial, hacen que pueda emplearse con cobertura líquida o sin ella. En el diagrama se representan varias separaciones típicas. Elijiendo adecuadamente el tipo de Porasil, es posible conseguir separaciones óptimas.

VIII.1.4 Resolución en cromatografía gaseosa.

De las técnicas cromatográficas vistas, la cromatografía gaseosa presenta la máxima resolución; es decir, el mejor poder separativo.

Es por este motivo que, cuando se desea conocer con certeza el número de componentes de una muestra, se la analiza, en distintas condiciones (y mediando o no derivatizaciones) de cromatografía gaseosa.

Esta resolución óptima resulta de:

- a) Tamaño pequeño del adsorbente (en caso de C.G.S.).
- b) gran relación $\frac{\text{masa de fase estacionaria}}{\text{masa de muestra}}$ lo que implica una separación con numerosos equilibrios.
- c) utilización de la temperatura como nueva variable

Como se vio en los Gráficos 1 y 15 (de los Capítulos I y III, respectivamente) la presión de vapor de sólidos y líquidos varía con la temperatura de una forma particular para cada sustancia. Este hecho implica que las diferentes volatilidades de diferentes sustancias, se modifiquen relativamente con el incremento de la temperatura, lográndose una nueva variable que está determinando la posibilidad de separación de dichas sustancias en C.G.

La temperatura, durante un proceso de cromatografía gaseosa, puede mantenerse constante (corrida isotérmica), o puede programarse con un gradiente de temperaturas en un dado tiempo.

También pueden utilizarse ambas situaciones (isotérmica y programada) para regular la temperatura de una corrida cromatográfica.

En el Gráfico 65 puede apreciarse que la operación isotérmica restringe el análisis cromatográfico de hidrocarburos o parafinas normales, con respecto a la operación a temperatura programada.

Se observa que, a temperatura constante (150°C), los primeros picos, correspondientes a las parafinas de menor punto de Ebullición, emergen tan rápidamente que se superponen sus perfiles de concentración; en tanto que, los materiales de puntos de Ebullición más altos, emergen como picos anchos, y en algunos casos no son eluidos de la columna. Estos compuestos no eluidos, aparecerán en análisis posteriores como picos "fantasmas" de otras muestras.

En el caso de la temperatura programada, se parte de una temperatura inicial más baja, y los primeros picos aparecen bien separados. A medida que la temperatura aumenta, cada componente de mayor punto de ebullición es eluido de la columna.

Los compuestos de alto punto de ebullición tardan menos en ser eluidos durante la corrida con temperatura creciente programada y, al igual que los primeros picos, tienen forma pronunciada. Los componentes que se hallan presentes en pequeña cantidad, también salen como picos agudos, y resulta más sencillo diferenciarlos de la línea de base.

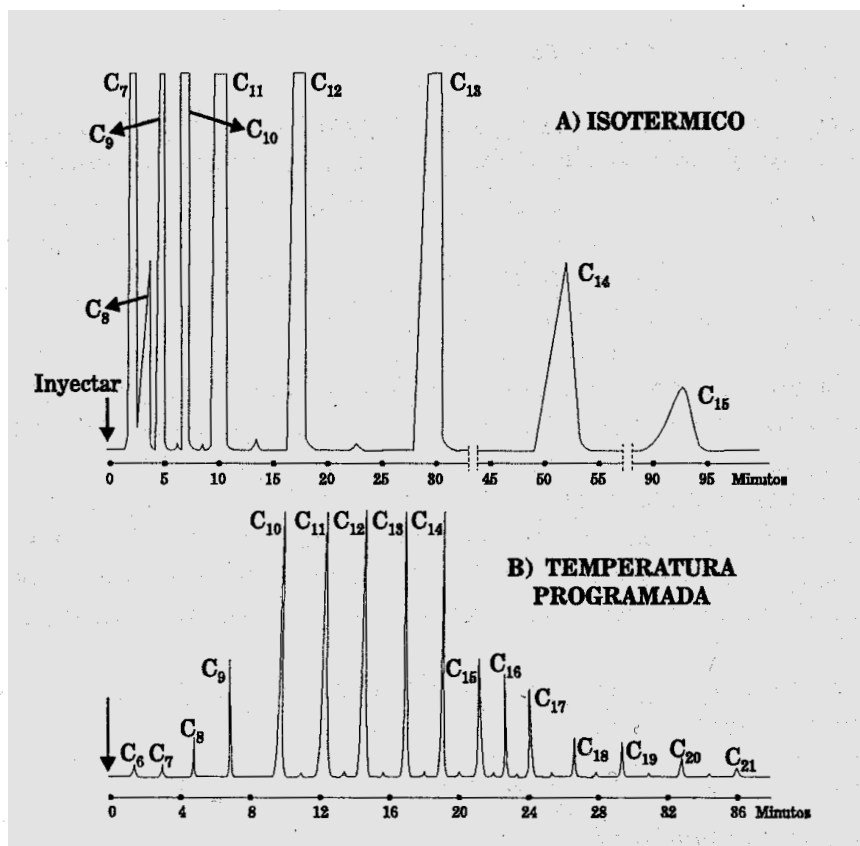


Gráfico 65. Cromatografía gaseosa: Comparación entre cromatogramas obtenidos para la separación de hidrocarburos con técnicas isotérmica y de temperatura programada.

CROMATOGRAFÍA GASEOSA

Consideraciones experimentales

Un esquema general de un equipo de cromatografía gaseosa, se muestra en el Gráfico 66.

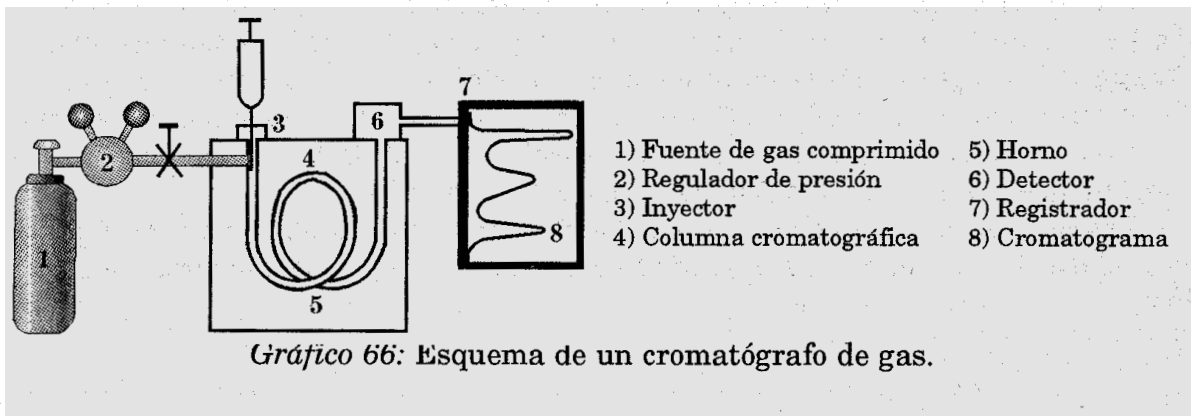


Gráfico 66: Esquema de un cromatógrafo de gas.

VIII.1.5 Fuente de gas carrier o portador

El gas está comprimido en tubos, y puede emplearse He_2 , N_2 , H_2 , Argón y CO_2 . Antes de ingresar al aparato de cromatografía, pasa por reguladores de presión (y flujo).

VIII.1.6 Inyector

Permite la introducción de la muestra en la corriente de gas portador. Normalmente se trata de un inyector de líquidos, que puede ser utilizado para sólidos (en disolución), y gases.

Se trata de una cámara situada a la entrada de la columna y calentada independientemente de ésta a temperatura superior al punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra. Si se trata de una corrida con temperatura programada, la temperatura del inyector será, como mínimo, la temperatura final programada.

La muestra se inyecta por medio de una microjeringa, a través de una membrana de caucho que hace de cierre.

VIII.1.7 Columna cromatográfica

Es un tubo de vidrio o metal (acero inoxidable, cobre, aluminio, etc.), de longitud que generalmente oscila entre 1 y 50 m, y cuyo diámetro interior puede ser desde 0,1 a 50 mm, según el tipo de columna.

La naturaleza de la columna es fundamental en la realización de una cromatografía gaseosa. Actualmente se conocen dos clases de columnas:

- a) Columna con carga
- b) Columna capilar (Golay)

Una columna con carga consiste en un tubo en forma de U, o en espiral que está llena uniformemente con un polvo bien empacado que actúa como adsorbente. También la carga puede ser un sólido inerte (perlas de vidrio) conteniendo una película en la cual se va a efectuar la partición de la sustancia arrastrada por el gas.

Una columna Golay consiste en una espiral de 0,25-0,50 mm de diámetro interno, que puede tener una longitud de tubería de 30 a 100 m.

Las paredes internas de este capilar están cubiertas con una fina capa líquida no volátil con la cual se va a producir la partición de la sustancia arrastrada por el gas.

VIII.1.8 Fase fija

La fase fija, o carga de la columna, puede ser un polvo inerte, donde ocurrirá la adsorción de la muestra a separar, o bien un soporte inerte, revestido con una película líquida delgada, de baja viscosidad y alta capacidad diferencial para disolver a los componentes de la muestra.

Si se utiliza fase fija líquida, ésta debe ser estable a la temperatura máxima de funcionamiento de la columna. Si se excede la temperatura límite, se produce una vaporización de la fase líquida, alterándose la línea de base del cromatograma.

La materia prima para la mayoría de los soportes de cromatografía de gases, es la tierra de diatomeas (celite, que está formada por esqueletos de diatomáceas, algas unicelulares microscópicas, fundamentalmente compuestos por sílice, hidratada y microamorfa.

En los catálogos de las empresas que comercializan fases líquidas y soportes, se detallan las utilidades y limitaciones de los mismos, como se muestra en la siguiente Tabla (VIII.2.4).

Tabla VIII.2.4. Algunos tipos y usos de columnas de cromatografía gaseosa

Fase estacionaria tipo	Propiedad	Temperatura máxima de uso (°C)	Aplicaciones
Escualeno (hidrocarburo)	no polar	150	general, hidrocarburos e hidrocarburos halogenados
Apiezon (hidrocarburo)	no polar	280 a 200	general, hidrocarburos
SE-30 (metilsilicona)	no polar	350	compuestos no polares de alto peso molecular. Derivados sililados.
OV-1, OV-101 (dimetilsilicona)	no polar	300-350	compuestos no polares de alto peso molecular
Carbowax 20M (poliglicol)	polar	225	compuestos polares de bajo peso molecular
Pega (polietilenglicol adipato)	polar	180	compuestos polares de bajo peso molecular
Degs (dietilenglicol succinato)	polar	190	compuestos polares de bajo peso molecular
DC-550 (aceite de silicona)	polaridad intermedia	275	compuestos polares de bajo peso molecular. Compuestos no polares de alto peso molecular

VIII.1.9 Sistema de detección y registro

El detector es un dispositivo que permite medir de manera continua una propiedad física del gas portador, que se modifique sensiblemente con la presencia de muy pequeñas concentraciones de la sustancia a analizar (conductividad térmica; corriente de ionización; afinidad electrónica; etc.) y que dé por registro gráfico una curva que sea una función simple de la concentración.

Está situado a la salida de la columna.

El detector está acoplado a un sistema electrónico de amplificación y medida de la señal eléctrica enviada, que, a su vez, regula a un aparato registrador, con el cual se grafica la variación de la propiedad medida en función del tiempo.

El área cubierta por el pico de cada sustancia en el gráfico que se obtiene en el aparato, da una medida de la proporción en que la misma se encuentra en la mezcla.

Los detectores, pueden ser de respuesta universal, es decir, que generan respuesta para todos los componentes de la mezcla (exceptuando el gas portador, que funciona de referencia); o bien, de respuesta selectiva, es decir que detecta sólo determinados tipos de compuestos.

Ejemplos de detectores:

i) Celda de conductividad térmica (detector universal)

Un esquema de una celda de conductividad térmica (C.T.), se muestra en el Gráfico 67. El gas portador atraviesa un canal de flujo donde hay un par de filamentos metálicos (generalmente platino o wolframio) que está calentado eléctricamente.

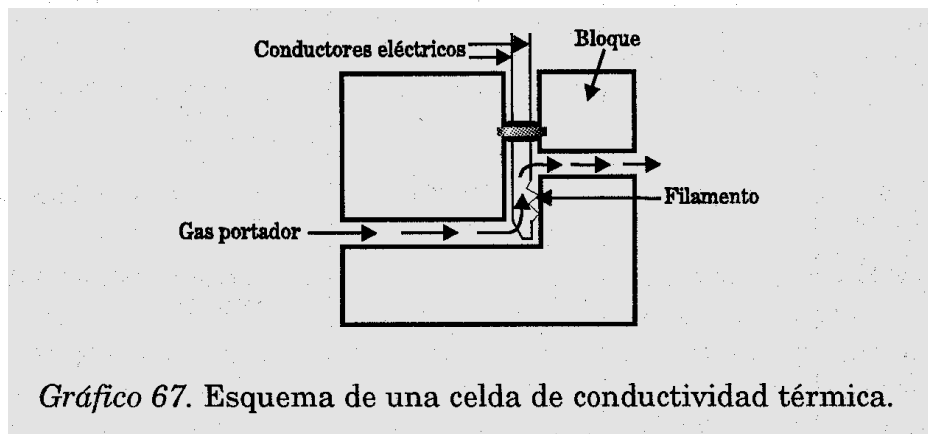


Gráfico 67. Esquema de una celda de conductividad térmica.

Dicho canal de flujo, es la referencia y ha sido taladrado dentro de un bloque metálico, que contiene al otro canal de flujo similar para el gas que sale de la columna.

La temperatura que alcanzan los filamentos es cercana a los 100°C. Este valor se logra luego de permitir el equilibrio térmico entre la fuente eléctrica que ca-

lenta a los filamentos, y las moléculas del gas portador que, al chocar con ellos, reciben instantáneamente su calor, enfriándolos. Resulta claro entonces, que la temperatura de los filamentos depende del caudal. Si no hay caudal, los filamentos se queman.

Cuando salen de la columna moléculas de la muestra, de mayor tamaño y menor movilidad que las moléculas del gas portador, y chocan con los filamentos, se produce una disminución en la transmisión de calor (el efecto sería como de "bajar" el caudal de gas). Sucede entonces, un cambio en las conductividades, que se convierte en una señal eléctrica, por medio de un puente de Wheatstone.

Este detector resulta ser no destructivo (se utiliza en cromatografías preparativas), es moderadamente sensible y requiere un buen control del flujo.

ii) **Detector de ionización de llama** (selectivo)

Un esquema del detector se muestra en el Gráfico 68.

El gas portador fluye desde la columna hasta la llama, la cual ioniza algunas de las moléculas orgánicas presentes en la corriente gaseosa. La presencia de partículas cargadas (iones positivos, iones negativos y electrones), en el espacio entre los electrodos origina una corriente que fluye en éste, a través de una resistencia que la mide. La disminución del potencial resultante se amplifica y alimenta a un registrador. La conductividad eléctrica de un gas es directamente proporcional a la concentración de partículas cargadas dentro del gas.

Este detector ioniza a compuestos orgánicos, y no da respuesta con aire, agua, gases inertes, CO, CO₂, CS₂, NO, SO₂ y SH₂. Es resistente, puede soportar cambios extremos de temperatura y moderados de caudal. Es destructivo, no puede emplearse para cromatografía a escala preparativa.

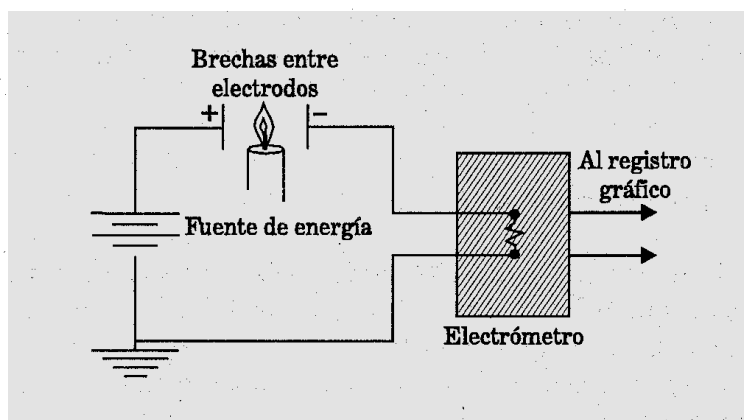


Gráfico 68. Esquema del circuito de un detector de ionización de llama.

VIII. 2 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Consideraciones teóricas

VIII.2.1. Definición, aplicaciones y generalidades

La Cromatografía Líquida de Alta Presión es, conceptualmente, similar a la cromatografía líquida tradicional. La diferencia fundamental radica en que el soporte (sobre el que se deposita la película de fase fija) es de material especialmente pulverizado, cuyas partículas tienen un tamaño homogéneo, que puede ser de hasta sólo 5-10 micrones de diámetro. Este tipo de fase fija es muy eficaz, pero, por estar densamente empaquetada, ofrece gran resistencia al flujo de la fase móvil, es decir, que se requiere hacer presión (hasta 400 atm), para que el solvente fluya a una velocidad razonable a través de la columna (generalmente entre 0,1 a 5 cm/seg de flujo lineal).

La cantidad de fase estacionaria dentro de la columna es pequeña, por lo que se requiere que la muestra también sea pequeña (menos de 50 mg). Dada la eficiencia separativa de esta técnica, se la conoce también con el nombre de Cromatografía líquida de Alta Resolución (C.L.A.R., o, en inglés HPLC= High Performance Liquid Chromatography).

En cromatografía gaseosa, se requiere que la muestra sea volátil, o debe incrementarse su presión de vapor, mediante derivatizaciones o corridas a altas temperaturas. En contraste, la C.L.A.R., sólo requiere que la muestra sea algo soluble en la fase móvil, y esto hace posible el análisis de compuestos de muy alto peso molecular: orgánicos o inorgánicos, iónicos o covalentes. El inconveniente práctico es encontrar un par de fases (fija y móvil) que separe selectivamente a los componentes de la muestra.

VIII.2.2 Teoría del proceso cromatográfico

Debido a que el método C.L.A.R., es el más eficiente en lo referente a posibilidades separativas, es también el más sensible a la pérdida de resolución si no se controlan perfectamente las variables que lo afectan. Es por este motivo que resulta conveniente un estudio un poco más detallado de los parámetros más importantes que rigen al fenómeno cromatográfico.

VIII.2.2 a) ¿Por qué el perfil de concentración en el eluato, tiene forma de campana?

La forma de gaussiana del perfil de concentraciones, es la situación ideal, es sólo

lo en estos casos en que experiencias idénticas resultan con valores reproducibles de tiempos o volúmenes de retención para las distintas muestras.

El perfil de concentraciones tiene forma de gaussiana, siempre y cuando la isoterma de adsorción sea lineal.

¿Qué es una isoterma de adsorción?

Dicha isoterma es la representación gráfica de la medida de adsorción que se logra con un adsorbente para una dada concentración de un soluto, a una temperatura fija. Es decir, indica cuánto se adsorbe una sustancia, por unidad de masa de adsorbente.

Se la determina experimentalmente de la siguiente forma:

Se preparan soluciones con distintas concentraciones de una muestra. Se agita bien cada solución con una cantidad conocida de adsorbente puro, durante unos 15 minutos aproximadamente. Una vez que se llegó al equilibrio de adsorción se filtra el adsorbente y se determina la concentración de cada componente remanente de la solución. Se calcula, entonces, la cantidad de sustancia adsorbida en el equilibrio, a varias concentraciones iniciales, y se grafica por unidad de masa de adsorbente.

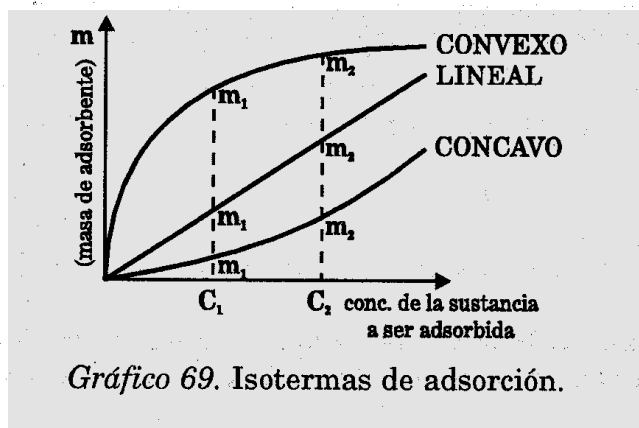
Hay tres formas principales de isotermas, como se muestran en el Gráfico 69.

Por la forma de la isoterma, puede saberse cómo la velocidad de desplazamiento de cada sustancia a través de la columna variará con la concentración de dicha sustancia en la solución.

Analicemos el Gráfico 69. Consideremos que C_1 y C_2 , son dos concentraciones de un componente y, para simplificar, asumiremos que $C_2 = 2C_1$. Además m_1 y m_2 son las cantidades de masa de dicho componente que se adsorbió por unidad de masa de adsorbente cuando llegó al equilibrio.

i) En el caso de la isoterma lineal, es obvio que $m_2 = 2m_1$; esto indica que $\frac{m_2}{C_2} = \frac{m_1}{C_1}$

es decir, que la relación entre la cantidad de sustancia adsorbida y su concentración inicial es constante. Esta razón es el **coeficiente de distribución** en el que se basa el fenómeno cromatográfico. La sustancia que da una isoterma de adsorción de este tipo, viaja a través de la columna de adsorción con una velocidad independiente de la concentración de dicha sustancia en la solución.



Esto dará origen a un perfil de concentraciones en el eluato con forma de campana de Gauss (Gráfico 70(a)).

ii) En el caso en que la isoterma sea convexa $m_2 < 2m_1$, se observa que, a mayores concentraciones de sustancia ($C_2 > C_1$), se adsorbe una **proporción** menor de dicha muestra. Esto implica que la sustancia viajará por la columna más rápidamente en las altas concentraciones. Este fenómeno dará origen a un perfil de concentraciones en el eluato con una forma asimétrica, con aparición de "colas", como se observa en el Gráfico 70(b). Estas formas asimétricas con elongaciones, causarán un efecto adverso en la resolución, ya que dos bandas adyacentes podrán no separarse totalmente.

iii) Finalmente, en una isoterma cóncava será $m_2 > 2m_1$. Esto implica que a concentraciones mayores, habrá mayor adsorción de la sustancia. Esto sugiere que la zona de mayor concentración se desplazará mas lentamente a través de la columna, dando un perfil de elución como el que se muestra en el Gráfico 70(c). Este caso es el opuesto al (b).

Lamentablemente, en la mayoría de los casos las isotermas no son lineales. A veces, es posible trabajar en un rango de concentraciones en el que se cumple la isoterma lineal de adsorción.

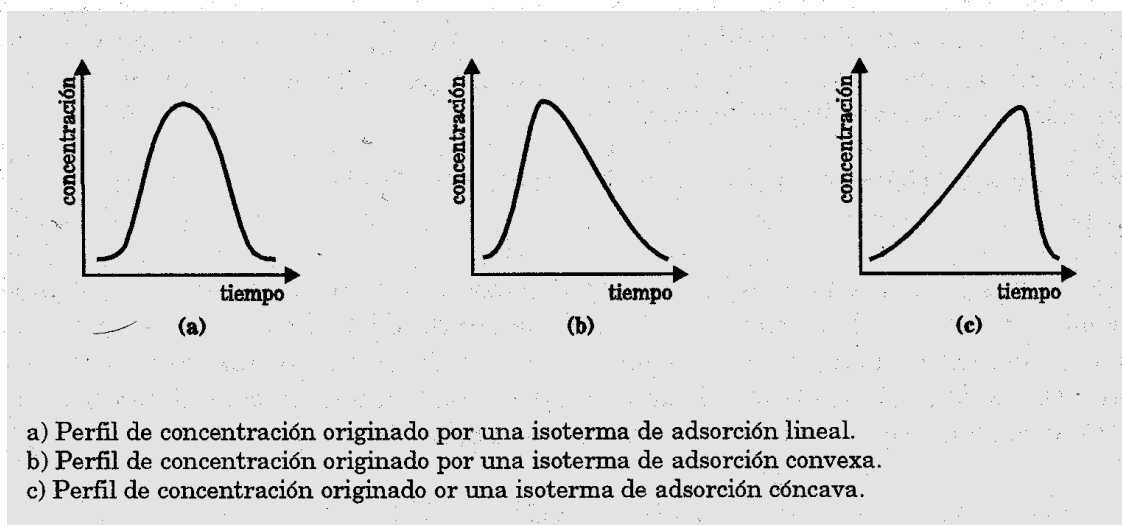


Gráfico 70: Efecto de la isoterma de adsorción en la forma del pico y su tiempo de retención.

VIII.2.2. b) *Parámetros teóricos fundamentales en Cromatografía*

Tres parámetros se utilizan para caracterizar la eficiencia de una separación cromatográfica: la Resolución, la Retención Relativa y el número de Platos Teóricos.

A. Resolución.

Este parámetro depende de dos factores que se ponen en juego al elegir el par fase fija-fase móvil para cada muestra: el tiempo de retención y el factor de capacidad.

La elución diferencial para la separación cromatográfica de dos sustancias en una columna es posible de lograr si el tiempo que requiere cada sustancia para llegar al final de la columna es diferente.

Este retardo depende de los obstáculos que dichas sustancias encontraron **sobre o dentro** de la fase estacionaria. El **tiempo de retención total** para cada sustancia (t_R) es la suma del tiempo de retención neto en la fase estacionaria (t'_R) y el tiempo transcurrido en la fase móvil (t_o), también llamado tiempo muerto.

$$t_R = t_o + t'_R$$

El tiempo muerto es el mismo para todas las sustancias, y depende de las dimensiones de la columna. Es también el tiempo de elución de las moléculas del solvente.

En el Gráfico 71 se muestran los tiempos de retención característicos en un típico cromatograma de tres sustancias que tienen muy buena separación.

Se observa la forma gaussiana ideal para la concentración de muestra en el eluato, esto indica una isoterma lineal de adsorción.

El **factor de capacidad** (K') es una medida de la distribución de cada sustancia entre la fase estacionaria y la móvil. Es la relación entre la cantidad de la muestra en las dos fases (también se lo llama relación de partición o de distribución).

$$K' = \frac{\text{g en la fase estacionaria}}{\text{g en la fase móvil}}$$

La posición del pico en el cromatograma relaciona ambos parámetros, ya que

$$t'_R = t_o \cdot K'$$

El factor de capacidad K' , se relaciona proporcionalmente con el coeficiente de partición K (visto en el capítulo de Extracción).

Como el tiempo de retención depende del flujo de la fase móvil, a veces se prefiere utilizar el parámetro **volumen de retención**, multiplicando el tiempo por el flujo (F) de la fase móvil.

$$V_R = F \cdot t_R = \text{volumen de retención}$$

$$V_R^o = F \cdot t_o = \text{volumen de retención del gas}$$

$$V'_R = F \cdot t'_R = \text{volumen neto de retención.}$$

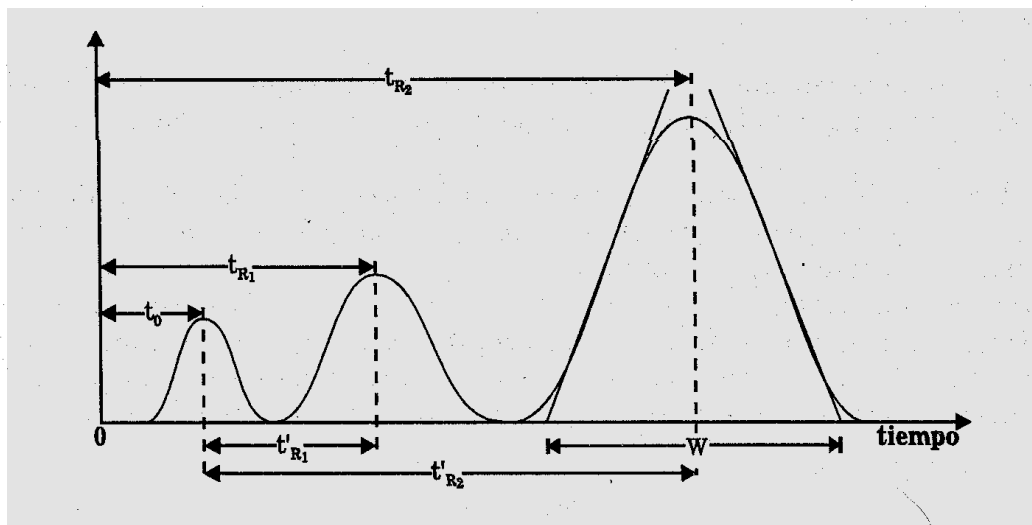


Gráfico 71. Presentación de los parámetros más importantes para la caracterización de las separaciones cromatográficas.

B. Retención relativa

La retención relativa (α) es la relación entre los factores de capacidad de dos sustancias para la misma fase estacionaria, y todas las otras variables fijas.

$$\alpha = \frac{K'_2}{K'_1}$$

Es una **medida de la selectividad** de la separación.

Si α es 1, los dos componentes tienen la misma relación de distribución ($K'_2=K'_1$), por lo tanto los picos coincidirán, no habrá separación; la resolución es nula.

Mientras más elevados sean los valores de α , mayor será la selectividad de la fase estacionaria.

C. Platos Teóricos

La banda de la muestra, se va ensanchando a medida que atraviesa la columna cromatográfica, debido a procesos de difusión. Los fenómenos de difusión dependen de la viscosidad, la densidad y el coeficiente de difusión de la fase móvil.

El **plato teórico** (P.T.) nos da una medida del ensanchamiento de la banda. En contraste con el concepto de plato teórico en Destilación, se define para un **único** componente, para una dada velocidad de eluyente y temperatura.

Se lo define matemáticamente así:

$$n^{\circ} \text{ de P.T.} = 16 \cdot \frac{(t_R)^2}{W}$$

t_R : es el tiempo de retención y W es la anchura del pico en su base, como muestra el Gráfico 71.

Muchos factores afectan al número de platos teóricos, entre ellos el tiempo de retención, la longitud de la columna, temperatura, soluto, caudal, concentración de la muestra, técnica de inyección, etc.

El número de platos teóricos puede cambiarse variando estas condiciones. Sin embargo una columna con 10.000 platos teóricos, no podrá separar dos componentes cuyo α sea la unidad.

También se define la altura equivalente de plato teórico (AEPT) que es la longitud de la columna dividida por el número de P.T. logrado para un dado componente.

$$AEPT = \frac{\text{long. de columna}}{n^{\circ} \text{ de platos teóricos}}$$

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Consideraciones experimentales

VIII.2.3 El equipo

En el Gráfico 72 se muestra un esquema del equipo necesario en HPLC.

Desde el reservorio del solvente la bomba entrega un flujo continuo que, según el tipo de bomba, puede necesitar un **amortiguador de pulsos**. Desde allí, la fase móvil fluye a través de la cámara de inyección hacia la columna. A partir de la salida de la bomba el sistema ya tiene alta presión y sus válvulas deben ser de seguridad.

La presión interna de la columna se mide con un manómetro. La salida de los componentes de la muestra se hace sensible con el uso de un detector, el que está conectado al registrador y a un colector de fracciones.

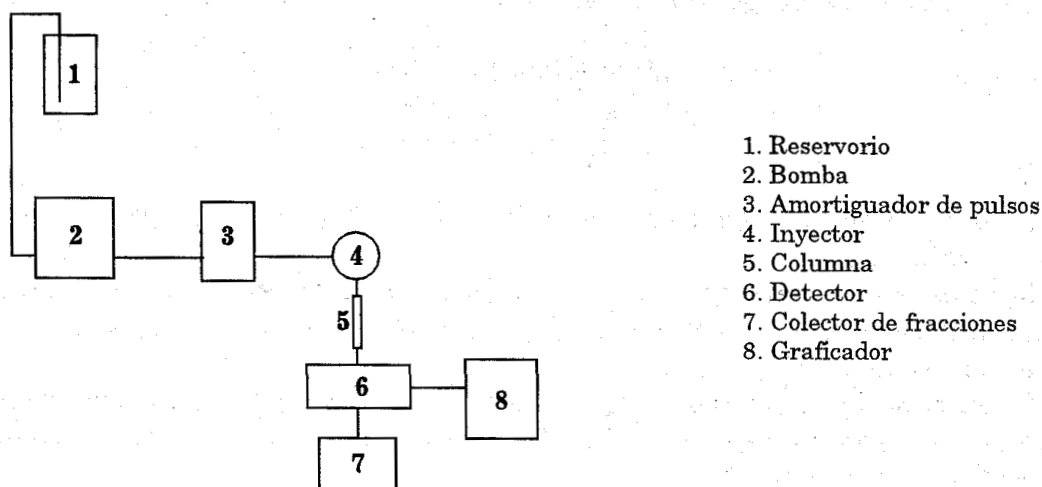


Gráfico 72. Esquema del equipo de cromatografía líquida de alta resolución.

VIII.2.4 El reservorio de solvente

Para corridas analíticas se utiliza un recipiente de 1 litro aproximadamente, construido en vidrio, acero inoxidable o plástico inerte.

Es importante **degasificar** al solvente antes de introducirlo en reservorio, así como **filtrarlo** para eliminar cualquier impureza sólida.

Si no se elimina el gas del solvente, las burbujas se disolverán dentro del aparato, debido a la alta presión, pero, al salir de la columna, volverán a formarse, arruinando la señal del detector.

Otra razón de la aparición de burbujas es el cierre deficiente de las válvulas, este problema se evita sellando las juntas con cinta de Teflon.

Si se utiliza como fase móvil una mezcla de solventes, el reservorio debe mantenerse a temperatura constante, para evitar cambios en la composición.

En ocasiones, se necesita un gradiente de polaridad en la fase móvil mientras transcurre la elución, esto se logra con el uso de programadores de la fase móvil. Generalmente se utilizan dos solventes de distinta polaridad, y el programador los mezcla y homogeniza en proporciones gradualmente crecientes.

VIII.2.5 Sistemas de bombeo

El solvente que atraviesa la columna debe tener alta presión, continua y sin pulsos.

Las bombas que se utilizan para aplicaciones analíticas (las columnas tienen un diámetro interno de más de 5 mm), deben ser capaces de entregar 20 ml/minuto de

solvente, a una presión de 300 a 400 atm. Para escala preparativa se requiere un flujo mayor.

Hay distintos tipos de bombas; si se utiliza alguna que le imprime pulsos al solvente, se necesitará un modulador que suavice los pulsos, y logre un flujo constante, de lo contrario, se afectará la respuesta del detector y puede deteriorarse el empaquetamiento de la columna.

Una forma sencilla de amortiguador de pulsos consiste en colocar entre la bomba y la cámara inyectora, un tubo capilar largo (6 m de longitud por 1 mm de diámetro). Este tubo, por moverse libremente, absorbe las pulsaciones producidas por la bomba.

VIII.2.6 Cámara de inyección

El diseño de los sistemas de inyección debe ser cuidadoso porque debe resistir altas presiones, tener un volumen pequeño, y sus cavidades deben ser fácilmente lavables por la fase móvil.

Se diseñaron dos tipos principales:

a) Inyección por medio de jeringas

Básicamente son similares a las utilizadas en cromatografía gaseosa. Se requieren jeringas con muy buen cierre, pero tienen el límite de operación en 100 atmósferas. La muestra se inyecta a través de un tapón (septum) que, a su vez, debe resistir altas presiones, ser penetrable y resistente a la acción de los solventes de la fase móvil. El solvente utilizado condiciona el material del sello: debe evitarse que antioxidantes o plastificantes, etc., sean eluidos. También debe cuidarse que el material del sello no se torne quebradizo, pues, al inyectar pueden desprenderse partículas que taparán la columna.

b) Uso de válvulas inyectoras

Este método consiste en colocar la muestra, a presión ambiente, dentro de un capilar (loop) colocado a la entrada de la columna, mientras el flujo de solvente a presión sigue su curso.

Para inyectar, se mueven las válvulas, de tal forma de desviar el flujo del solvente para que transite a través del capilar que contiene la muestra. Esto causa en el detector una señal adicional debida al solvente de la muestra, pero que no afecta a la resolución posterior.

En ambos diseños se requiere que la muestra a inyectar esté líquida disuelta.

VIII.2.7 Las columnas

Las columnas utilizadas en HPLC, están constituidas de material inerte, generalmente acero inoxidable, ya que el vidrio no permite juntas con otras partes metálicas, que sean herméticas a las altas presiones de trabajo. La ventaja del vidrio es que puede observarse el correcto y continuo empaquetamiento del relleno.

Las dimensiones varían entre 15 cm y varios metros de largo, y 2-3 mm de diámetro, hasta 9 mm o más, para aplicaciones preparativas.

El pulido de las paredes interiores debe ser máximo pues las rugosidades impedirán un empaquetamiento perfecto del relleno, con la consiguiente pérdida de resolución.

La forma de las columnas está en relación al tamaño y dimensión del termostato que se utilizará.

En general se prefieren rectas, y esta condición es indispensable cuando el relleno tiene partículas de diámetro promedio 10 micrones, debido a la mayor facilidad de lograr un buen empaquetamiento. El empaquetamiento del relleno de las columnas requiere técnicas y dispositivos especiales para lograr máxima eficiencia separativa posterior.

VIII.2.8 Las fases estacionarias

Los materiales de relleno para HPLC, deben ser estables a altas presiones. La permeabilidad de la columna llena no debe ser función de la caída de presión a través de la misma.

La mayoría de los materiales de soporte inorgánicos son estables aunque si su estructura es muy porosa, pueden colapsar al incrementarse la presión.

En C.L.A.R. se utilizan fundamentalmente dos tipos de soporte:

1. Materiales totalmente porosos (como sílica gel y alúmina), que poseen una gran superficie activa (50 a 500 m² por g), tal como las que se emplean en la cromatografía clásica, aunque con un tamaño medio de partícula de menos de 50 micrones.

2. Materiales peliculares, depositados como una delgada capa sobre un centro sólido esférico. El ancho de la película es de 1 a 3 micrones, y el tamaño total es de 25 a 50 micrones.

Las capas pueden ser de sílica gel, alúmina, así como de materiales para efectuar intercambio iónico y filtración por tamices moleculares. En algunos casos, la fase móvil afecta a dichas coberturas, disolviéndolas paulatinamente. Para evitarlo, se satura la fase móvil con la fase estacionaria, ya sea con anterioridad a su introducción en el reservorio, o mediante el uso de una precolumna, que consiste en una sección corta de tubo, relleno de algún soporte sólido poroso, que contiene un alto porcentaje de fase estacionaria.

i) Materiales de relleno para adsorción

a- Sílica gel es un adsorbente amorfo general y se lo obtiene en el comercio bajo distintas marcas y con distintas propiedades, según el tamaño de partícula, porosidad, etc.

La sílica gel puede estar activada para adsorción, o desactivada parcialmente, para partición. Si se le hace un tratamiento con calor, por encima de los 500°C, se pierde no solamente agua adsorbida sino que se deshidratan los grupos silanoles. Esta sílica ya no sirve para cromatografía de adsorción, porque no es selectiva en su adsorción de moléculas polares.

Otros tratamientos implican modificaciones químicas de los grupos silanoles, con fases estacionarias hidrofóbicas, para lograr rellenos útiles en partición (fase reversa).

b- La alúmina, útil en adsorción se activa previamente a 500°C, obteniéndosela en forma cristalina. Si se la trata con calor a 1000°C, se convierte en una forma inactiva para el proceso cromato gráfico ($\text{Al}_2\text{O}_3 = \alpha$ alúmina).

El mecanismo de adsorción sobre alúmina es más complejo que el de sílica gel, pues tiene la posibilidad de formar puentes hidrógeno y tiene la habilidad de interactuar con bases (grupos de alta densidad electrónica) con los átomos de aluminio, que actúan de ácidos de Lewis.

Debido a que en la preparación de la alúmina, por deshidratación del mineral bayerita quedan grupos alcalinos contaminándola, debe cuidarse que la muestra a cromatografiarse, no se descomponga con base.

Existen tratamientos que permiten obtener alúminas neutras para adsorción, y otros que permiten unirle una película hidrofóbica, para cromatografía de partición.

c. Las poliamidas son útiles para separar compuestos capaces de formar puentes hidrógeno (fenoles, quinonas, azúcares, etc.). El grado de adsorción depende del número de carbonos de la unidad monomérica de la poliamida.

Se utilizan como fases móviles, solventes capaces de formar puentes de hidrógeno: alcoholes, agua, dimetilformamida, hidróxido de sodio.

ii) Soportes con modificaciones químicas

La sílica gel es el soporte más empleado.

Los grupos silanoles de la superficie se hacen reaccionar con una variedad de compuestos orgánicos u organosilicios.

Como es imposible hacer reaccionar **todos** los grupos silanoles presentes, la actividad adsorptiva de cada fase fija dependerá del porcentaje de grupos modificados.

Una forma de modificar los silanoles es esterificándolos. La nueva unión Si-O-C, será covalente, pero hidrolizable, lo que presenta el problema del desgaste de la cobertura con el uso.

Una unión más estable es la Si-N-C, que no se hidroliza en el rango de pH 4 a 7.5. Se obtiene por tratamiento de la sílica gel con cloruro de tionilo (SOCl_2) y luego aminas.

Estas modificaciones "monoméricas", modifican al adsorbente en su aspecto selectivo.

Existen otras modificaciones con polímeros de siloxano (aceites de siliconas), que cubren la superficie del soporte y se convierte el material en una fase fija de partición de baja polaridad.

Las ventajas que presentan las fases estacionarias unidas químicamente al soporte, respecto de las películas depositadas sobre centros sólidos son:

- 1- La fase móvil no debe saturarse con la fase fija.
- 2- No se necesita precolumna.
- 3- En el aislamiento de las muestras, no hay contaminación con la fase fija.
- 4- Puede utilizarse una variedad más amplia de eluyentes.

iii) Fase reversa

En contraposición a los métodos comunes de adsorción, en fase reversa la fase estacionaria es no polar (hidrofóbica) y la fase móvil es polar (hidrofílica). Esta inversión en las fases implica la inversión en el orden de salida de los componentes de la muestra, es decir, aquéllas sustancias menos polares, serán más retenidas que las polares.

Los materiales utilizados en fase reversa caben dentro de las clasificaciones ya mencionadas.

VIII.2.9 Termostato

Es un dispositivo optativo en los equipos de C.L.A.R., ya que la mayoría de los análisis se realizan a temperatura ambiente

VIII.2.10 Recolector de fracciones

Uno de los mayores atractivos de la cromatografía líquida es la facilidad con que se pueden recolectar los componentes de la muestra analizada. Hay recolectores manuales y automáticos.

VIII.2.11 Detectores

No ha sido una tarea sencilla diseñar detectores apropiados para C.L.A.R.. Esto se debió a que, la mayoría de las propiedades fisicoquímicas de los solventes de elución, se modifican en forma ínfima al transformarse en una solución diluida de algún soluto. Además de este problema de sensibilidad, un detector debe generar una respuesta proporcional a la concentración de la muestra.

Se han probado varios tipos de detectores, cuyo funcionamiento se basa en diversas propiedades de la solución, pero son dos, los tipos de uso más generalizado.

1. Detector de índice de refracción

Como su nombre lo indica, este detector mide los Índices de Refracción del solvente puro, y de la solución que emerge de la columna. La respuesta de este detector es universal, y su sensibilidad es moderada (del orden de microgramos o partes por millón). No se lo puede utilizar para polaridad programada de fase móvil.

Este detector es sensible a los cambios de flujo y temperatura. No es destructivo.

2. Detector de luz ultravioleta

Su funcionamiento se basa en la absorción de luz ultravioleta que pasa a través de la solución emergente de la columna. La respuesta es selectiva ya que sólo se detectarán los compuestos que absorban la luz de la longitud de onda a la que opera el detector.

Este detector es insensible a cambios de flujo y temperatura y es posible efectuar programaciones de fase móvil. Su límite inferior de detección es 2 nanogramos.

VIII.3 CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

Consideraciones teóricas

VIII.3.1 Generalidades

Las separaciones de intercambio iónico se llevan a cabo con materiales especiales de estructura porosa e insolubles. Estos materiales contienen grupos reactivos que están asociados a iones lábiles capaces de intercambiarse con los del medio que los rodea. El intercambio de iones es el único fenómeno que ocurre en el material durante todo el proceso cromatográfico, que invariablemente tiene lugar en medio líquido (generalmente acuoso).

Como su nombre indica, la cromatografía de intercambio iónico se emplea en la separación de sustancias iónicas, tanto orgánicas como inorgánicas, de polielectrólitos, como enzimas, proteínas, hormonas, virus, ácidos nucleicos y otras sustancias biológicamente importantes. Generalmente se emplean tres tipos de materiales: resinas, geles y celulosas de intercambio iónico, que difieren en microestructura y grupos intercambiadores incorporados a dicha estructura (el poro es mucho menor

en las resinas sintéticas que en los otros casos). El interés inicial por el fenómeno de intercambio iónico se centró principalmente en el ablandamiento de aguas. Se encontró que ciertos silicatos minerales, notablemente complicados, conocidos como zeolitas, tenían la propiedad de eliminar los iones calcio y magnesio de las aguas duras, reemplazándolos por iones sodio. De esta forma actúan las zeolitas como intercambiadores iónicos. Sin embargo, su empleo es muy limitado ya que son relativamente inestables con los cambios de pH, siendo posible muy raramente la recuperación del producto absorbido. Desde el punto de vista cromatográfico, se soslayaron muchas de estas dificultades al introducir las resinas de intercambio iónico sintéticas.

VIII.3.2. Resinas de intercambio iónico.

Las primeras resinas se prepararon por condensación de ácidos fenol-sulfónicos con formaldehído. El producto contiene grupos reactivos, como -OH y -COOH, además de los grupos cambiadores -SO₃H más importantes. Aunque con esta técnica pueden conseguirse separaciones extremadamente difíciles, como las de isótopos radiactivos, elementos de las tierras raras y aminoácidos, la experiencia ha demostrado que muy a menudo pueden conseguirse mejores resultados con resinas que sólo posean un grupo reactivo. De este tipo son muchas de las resinas de poliestireno actuales. Las técnicas modernas han conseguido la fabricación de resinas con tamaño uniforme de poro.

Las resinas de poliestireno se fabrican polimerizando estireno junto a un reactivo que una las cadenas de polímero, como el divinilbenceno. El divinilbenceno tiene incorporado el grupo reactivo para el intercambio. Con un 4 a 10% de divinilbenceno (DVB) se obtiene una resina con un grado de entrecruzamiento alto, de tal forma se logra un poro pequeño, muy selectivo.

Un porcentaje de 1 a 2 de DVB, produce una resina con un poro que no distinga por debajo de 400, en peso molecular. Se utiliza para desalar macromoléculas, y también, para separar algunos tipos de peptidos y aún virus.

Sobre la base de la resina se introducen grupos fuerte o débilmente ácidos (cambiadores catiónicos) o básicos (cambiadores aniónicos). Los dos ejemplos se representan en el Gráfico 73.

El ejemplo representado en el Gráfico 73(a), es una resina catiónica fuerte, ya que el grupo sulfónico -SO₃H confiere extraordinaria acidez a la resina. En este caso los iones hidrógeno (H⁺) son los únicos capaces de intercambiarse. Análogamente, en el ejemplo representado en el Gráfico 73(b), la resina matriz contiene un grupo hidróxido de amonio cuaternario -N(CH₃)₃⁺ OH⁻, siendo los iones hidroxilo los únicos capaces de intercambiarse. La reacción entre resina catiónica R-H⁺ y los iones sodio sería:



mientras que la de la resina aniónica con el ion cloruro sería:

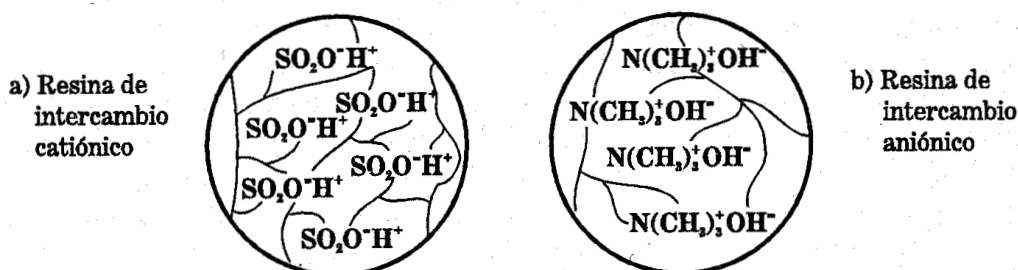
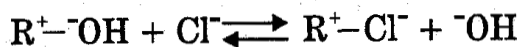


Gráfico 73.

Teóricamente cualquier tipo de ion que contenga la resina podría cambiarse. Sin embargo, desde el punto de vista práctico, las formas que se emplean habitualmente son la ácida (H^+) y la sódica (Na^+), en resinas catiónicas, y en las aniónicas el ion cloruro (Cl^-) o el hidroxilo (OH^-). Para pasar de una forma a otra, la resina se lava con un gran exceso de solución concentrada que contiene el ion apropiado, que dirige el equilibrio en la dirección deseada. Así, para convertir una resina de la forma sódica a la forma ácida, se lavaría sencillamente con un ácido fuerte en exceso.

VIII.3.3 Tipos de resinas, según el núcleo intercambiador

Las resinas de intercambio podemos clasificarlas en dos grandes grupos: resinas catiónicas y resinas aniónicas. Estos dos grandes grupos pueden subdividirse en resinas catiónicas fuertemente ácidas y débilmente ácidas, y en resinas aniónicas fuertemente básicas y débilmente básicas.

a) Intercambiadores catiónicos

Los grupos tales como el ácido sulfónico $-SO_2OH$ y el metilensulfónico $-CH_2-SO_2OH$, confieren propiedades fuertemente ácidas a las resinas matriz; aparte de estos grupos, las primeras resinas fenol-formaldehído contenían grupos fenólicos. Los viejos tipos de resinas son, por lo tanto, bifuncionales; es decir, ellas contienen más de un tipo de grupos ionizantes, y en soluciones fuertemente alcalinas ambos grupos, fenólico y sulfónico, se ionizan. Dado que todos los grupos ionizantes unidos a la resina contribuyen a su actividad, las resinas fenólicas no son apropiadas para ser usadas en soluciones de pH mayor de unas 8,0 a 8,5 unidades; en las soluciones más alcalinas puede presentarse una atricción, resultando con ello una seria pérdida de resina. Los más modernos intercambiadores catiónicos de base poliestireno son monofuncionales, y pueden ser utilizados bajo condiciones extremas de acidez y alcalinidad sin peligro de pérdidas.

Las resinas débilmente ácidas conteniendo el grupo carboxílico $-\text{COOH}$ son en sus propiedades semejantes a un ácido débil insoluble, capaces de ser reguladas. Puede obtenerse una relación de la forma salina a la forma ácido libre por tratamiento de la resina con un gran exceso de una apropiada solución reguladora. Esta propiedad facilita el poder llevar la resina a un pH controlado.

Las resinas intercambiadoras catiónicas son generalmente utilizadas en dos formas: la forma libre del ácido, o forma de hidrógeno y la forma salina, frecuentemente en forma sódica o amónica. La forma de hidrógeno fijará cationes y liberará una cantidad equimolecular de iones hidrógeno a la solución, mientras que con la forma sódica se absorberán los cationes y se liberará sodio en cantidades equivalentes. Los cambios potenciales para la absorción sobre una resina fuertemente ácida son influidos por gran número de factores; los más importantes son el tamaño molecular, valencia y concentración. En soluciones diluidas, los potenciales de intercambio aumentan con el incremento de la valencia.

En soluciones concentradas el efecto de la valencia es inverso, ya que es más favorecida la absorción de los iones univalentes que los multivalentes. Esto explica por qué en los procesos de ablandamientos de aguas el calcio y el magnesio son fuertemente absorbidos de las soluciones diluidas en que se encuentran, pero son fácilmente separados de la resina por la solución concentrada de cloruro sódico usado como regenerante. En general, para la eficiencia de un intercambiador, la afinidad del ion que tiene que ser absorbido debe ser sustancialmente mucho mayor que la del ion que se encuentra ya en la resina.

b) Intercambiadores aniónicos.

Las propiedades de las resinas intercambiadoras aniónicas derivan de los grupos amino y amino sustituidos presentes en su estructura. La fuerza básica de la resina depende parcialmente de la naturaleza del grupo activo y también de su posición. Por ejemplo, un grupo amino en el núcleo conferirá menor carácter básico que un grupo similar en la cadena lateral. Los intercambiadores débilmente básicos tienen grupos amino libre (NH_2), amino mono y disustituidos, mientras que los grupos amonio cuaternario ($-\text{NR}_3^+-\text{OH}$), tienen una alta basicidad, que es comparable con la fuerza de los álcalis cáusticos. Como en el caso de los intercambiadores catiónicos, los primeros tipos de intercambiadores aniónicos basados en las resinas fenólicas contenían grupos fenóxidos como grupos básicos.

El orden de los potenciales de intercambio de los aniones es menos conocido que el de los cationes. Parece ser que la valencia ejerce una similar influencia, y las resinas débilmente básicas difieren de las fuertemente básicas en que tienen una muy alta afinidad por los iones hidroxilo. Las resinas débilmente básicas pueden sólo ser usadas en soluciones neutras o ácidas, no teniendo capacidad de intercambio bajo soluciones alcalinas.

Hasta aquí sólo han sido discutidos los intercambiadores iónicos en presencia de

soluciones acuosas; pero si los iones están presentes, los procesos de intercambio iónico también pueden efectuarse en disolventes no acuosos.

La Tabla VIII.6.3 resume brevemente algunas de las observaciones expuestas anteriormente.

Tabla VIII 6.3.

Grupo funcional Características	Intercambiadores catiónicos		Intercambiadores Aniónicos	
	Fuertemente ácido	Débilmente ácido	Fuertemente básicos	Débilmente básicos
	Ácido Sulfónico	Ácido Carboxílico	Amonio cuaternario	Amino
Efecto de incremento del valor del pH sobre la capacidad...	Sin efecto	Incrementa	No afecta	Disminuye
Estabilidad de las sales...	Estable	Se hidroliza al lavar	Estable	Se hidroliza al lavar
Conversión de la sal a ácido libre o base libre...	Requiere exceso de ácido fuerte	Fácilmente regenerada	Requiere exceso de hidróxido sódico	Fácilmente regenerada con carbonato sódico o amónico
Velocidad de intercambio	Rápida	Lenta, a menos que esté ionizada	Rápida	Lenta, a menos que esté ionizada

c) Deionización en lecho mixto

Aunque la técnica de deionización en lecho mixto es un método desarrollado específicamente para tratamiento de aguas, es conveniente que sea tratada aquí.

Si la solución diluida de una sal (agua dura, por ejemplo), es pasada a través de un lecho de un intercambiador catiónico, los cationes son absorbidos y una cantidad equivalente de iones hidrógeno son introducidos en la solución. Si entonces el efluente ácido es pasado a través de un lecho de un intercambiador aniónico, los aniones son absorbidos y la solución resultante es neutra, y suponiendo que los dos lechos habían sido regenerados a un nivel económicamente apropiado (no completamente regenerados), la cantidad de sólidos iónicos en la solución habría sido reducida, sin separarlos completamente. Si el efluente es pasado nuevamente a través de otro par de columnas similar, sucesivamente irá disminuyendo la cantidad de sólidos presentes disueltos.

Si, por el contrario, se utiliza una sola columna que contenga una mezcla íntima

de una parte de intercambiador catiónico ácido fuerte y dos partes de intercambiador aniónico básico fuerte, el proceso de deionización avanza hasta ser completo, y en todo tiempo el agua permanecerá neutra. Otra ventaja de la técnica de lecho mixto es que en el proceso de regeneración podemos alcanzar una mayor eficiencia que cuando se tienen que tratar dos unidades, y tal vez más importante cuanto que trabajamos con intercambiadores aniónicos fuertes, que requieren lavados que pueden reducirse a un mínimo. Verdaderamente, no es absolutamente necesario lavar hasta el último extremo después de la regeneración; sin embargo, para una más eficiente operación es aconsejable pasar 3 volúmenes-lecho de agua a través de la columna.

VIII.3.4 Factores que afectan la cromatografía de intercambio iónico

a) Diferencias de carga iónica

Como la mayoría de los compuestos que se desean intercambiar no son anfóteros, pueden lograrse fácilmente separaciones de aniones de entre cationes, o especies iónicas de no iónicas.

Estas son las situaciones ideales, donde una sustancia será adsorbida, y las otras no.

b) Selectividad de intercambio iónico

La mayoría de los usos de la cromatografía de intercambio requieren selectividad para detectar diferencias poco marcadas entre los iones a separar.

Los factores que gobiernan la selectividad de una resina frente a un ión particular, son:

- 1- Valencia
- 2- Radio Iónico
- 3- Concentración
- 4- Naturaleza del intercambiador
- 5- Solvente

Los iones que difieren en su valencia o tamaño, normalmente se separan sin dificultad. Si tienen igual tamaño pero distinta carga, también se pueden separar, pero requiere un control más cuidadoso en las condiciones experimentales.

En muchos casos se puede intensificar la selectividad, por agregado de agentes complejantes. Por ejemplo se agrega citrato en el caso de tierras raras: se introduce la muestra en la columna en condiciones tales que permitan a los iones adsorberse en lo alto de la columna. Los cationes individuales se desorben a continuación,

empleando disolución de citrato sódico. Los cationes más pesados se desplazan los primeros, ya que forman los complejos más estables con el anión citrato.

c) Efectos de adsorción específica

En algunos casos la separación con resinas de intercambio, se basa en adsorciones-específicas. Por ejemplo, los fenoles se adsorben sobre intercambiadores aniónicos por fuerzas de Van der Waals y las sales de borato de intercambiadores aniónicos se utilizan para retener (intercambiar) azúcares que son capaces de formar complejos con borato.

d) Efecto salino

Cuando se utilizan resinas de gran capacidad (ver sección VIII.3.6), la alta concentración local de iones permite la separación de algunos no-electrolitos, tales como alcoholes, aldehidos y cetonas, como resultado de un efecto "salting-out", dentro de la resina.

CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO.

Consideraciones Experimentales

VIII.3.5 El equipo

Las técnicas empleadas en la cromatografía de intercambio iónico son similares a las descritas para cromatografía de adsorción y partición. Por ejemplo, las columnas con resinas intercambiadoras, utilizan el sistema convencional, y los papeles de intercambio se usan análogamente a los de partición.

La solución de iones a separar en una columna cambiadora se introduce por la parte superior de la misma. Las condiciones que se eligen normalmente hacen que los iones de la solución se intercambien rápidamente y se queden en lo alto de la columna, formando una banda estrecha. Los iones diversos se separan uno a uno, cambiando lentamente el pH, o aumentando la concentración de un tipo de ion, o incrementando la temperatura.

Normalmente las separaciones de intercambio iónico se llevan a cabo en solución acuosa, pero mientras haya iones presentes no hay ninguna razón para que este proceso no se realice en disolventes no acuosos.

También puede agitarse la solución que se quiere intercambiar, con la resina elegida; dejar que se llegue al equilibrio, y luego decantar o filtrar. Esta técnica (denominada en "batch"), es menos empleada y requiere de un sistema muy bueno de agitación.

VIII.3.6 Capacidad de una resina

Para saber la relación entre $\frac{\text{masa de muestra}}{\text{masa de resina}}$, se recurre a las especificaciones

que traen las resinas comerciales. Los datos se presentan como **miliequivalentes activos** (a intercambiar) **por mg de resina seca, o ml de resina húmeda**.

De esta forma, si se saben los m.eq. de iones que se desean eliminar, se armará una columna con un poco de exceso (se supone que el intercambio puede no ser total).

Sugerencia: suponga que tiene que desalar un extracto (de ClNa) y no sabe cuánta sal hay presente. Si dispone de tanta resina aniónica y catiónica como desea: ¿Cómo procedería? y, ¿cómo haría para saber que el proceso de desalinizar ha concluido?

VIII.3.7 Resinas intercambiadoras para C.L.A.R. (HPLC)

Los materiales intercambiadores porosos clásicos, tienen una aplicación muy limitada en HPLC, porque colapsan cuando se los somete a presión.

Recientemente se desarrollaron partículas intercambiadoras de menos de 20 micrones, que resisten hasta 2000 atmósferas y se utilizan en la separación de aminoácidos.

Los rellenos contruidos con técnicas de cubrimiento pelicular, no han resultado muy efectivos, por su baja capacidad y porque a pH altos, los iones hidróxido destruyen parcialmente el soporte de sílica gel.

Afortunadamente, se han logrado obtener resinas intercambiadoras contruidas por **unión química** al soporte con una capacidad adecuada (200 a 1000 microequivalentes por gramo).

VIII.4 CROMATOGRAFÍA DE FILTRACIÓN SOBRE GELES

Generalidades

La cromatografía de filtración sobre gel es un tipo particular de cromatografía líquido-líquido, que se utiliza en la separación de sustancias que poseen volúmenes moleculares diferentes. En el año 1959, se introdujo como técnica de laboratorio con la creación del Sephadex.

El Sephadex para filtración sobre gel se obtiene a partir de un polisacárido, el dextrano, que se somete a un proceso de entrecruzamiento de sus cadenas moleculares, para dar una mayor o menor uniformidad tridimensional. A nivel superior, el producto se presenta en forma de esferillas.

Debido a su elevado contenido de grupos hidroxilo, el producto tiene una gran

afinidad por el agua, por lo que se hincha en presencia de la misma o de una solución de electrólitos, formando un gel semitransparente. Estos se colocan en columnas cromatográficas.

El mecanismo de la filtración sobre gel es el siguiente: la muestra a cromatografiar se añade por la parte superior de la columna, eluyendo a continuación, con agua o una disolución tampón.

Las sustancias cuyo tamaño molecular es superior al de los mayores poros del gel hinchado (lo que determina el límite de exclusión) no pueden penetrar en el interior del gel, por lo que pasan en el líquido a través del lecho, emergiendo primeras de la columna.

Las moléculas más pequeñas pueden penetrar en los poros del gel hinchado, debiéndose a las diferencias de forma y volumen las variaciones de unas a otras durante el desarrollo del proceso. Entre el líquido exterior y el interior de las partículas del gel hay un reparto de moléculas, siendo superior el porcentaje de moléculas más pequeñas en el último.

Las moléculas que emergen de la columna siguen un orden decreciente respecto a los tamaños moleculares. En el Gráfico 74 se representan tres etapas de la separación de grandes moléculas de otras menores. Los puntos negros representan las moléculas mayores; las cruces las moléculas menores, y los círculos en blanco, las partículas de gel.

Aunque para la descripción del fenómeno anterior el término de filtración sobre gel es el más popular, también se encuentran en la bibliografía los nombres de permeación sobre gel, exclusión molecular tamizado y molecular.

Para la filtración sobre gel en solución acuosa, se dispone de otra serie de medios aparte de los derivados de dextrano. Por ej., los biogeles se hacen de poliacrilamida de enlaces entrecruzados. El intervalo de pesos moleculares diferenciables por estos geles depende del tamaño del poro y, por consiguiente, de la cantidad de entrecruzamiento. Al aumentar el entrecruzamiento disminuye la turgencia del gel.

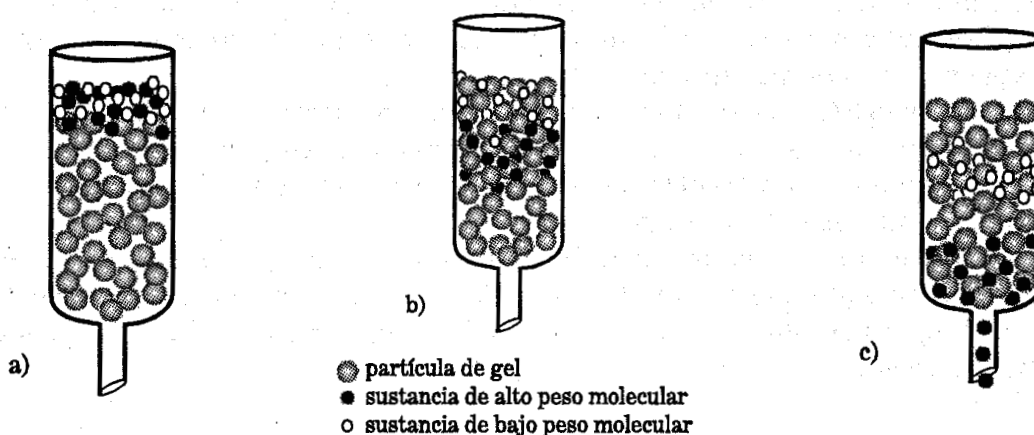


Gráfico 74. Filtración sobre gel en columna. a) Siembra; b) proceso de separación por diferencia en pesos moleculares; c) elución de la sustancia de mayor peso molecular.

El método habitual para caracterizar los diversos tipos de geles se denomina valores de recuperación de agua. Este valor representa la cantidad (en mililitros) de agua embebida por un gramo del gel seco. Los números tipo de Sephadex y del biogel son diez veces la cantidad de recuperación de agua: el Sephadex G-10, tiene un valor de recuperación de agua igual a 1 y el G-200, igual a 20. Estos valores no incluyen el agua entre las partículas.

En los tipos que tienen el valor de recuperación bajo el tamaño del poro es pequeño, empleándose para el fraccionamiento de moléculas pequeñas, mientras que los que poseen un valor alto se utilizan para compuestos con elevado peso molecular. Así, el G-10 se emplea para fraccionar moléculas de peso molecular hasta 700, y el G-200 fraccionará proteínas globulares y péptidos, cuyos pesos moleculares van del orden de 5000 a varios cientos de miles. Otros tipos cubren intervalos intermedios.

Para el fraccionamiento de sustancias con peso molecular elevado como ciertas proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y virus, se requieren geles cuyas partículas tengan un tamaño elevado de poros. Estos se obtienen a partir de un polisacárido denominado agarosa, que es un polímero neutro derivado del agar.

La filtración sobre gel tiene un gran número de aplicaciones. La más evidente es el análisis de mezclas de compuestos de diferentes tamaños y pesos moleculares.

Otra propiedad importante de la filtración sobre gel es su aplicación en la determinación de pesos moleculares. Además del fraccionamiento de la muestra, los volúmenes de elución de proteínas globulares sobre el G-100 y el G-200, están determinados por su peso molecular. En un intervalo considerable, el volumen de elución es, aproximadamente, una función lineal del logaritmo del peso molecular. Si podemos dibujar una curva de calibración de proteínas de peso molecular conocido, podrá calcularse el peso molecular de proteínas desconocidas de una muestra problema. Esto es de gran valor para trabajos sobre enzimología.

Hasta ahora solamente hemos estudiado la filtración sobre gel en soluciones acuosas. Sin embargo, empleando un medio especialmente modificado, esta técnica puede aplicarse a separaciones en medios orgánicos.

Uno de tales productos está basado en derivados de dextrano, por reacción de los grupos hidroxilo con reactivos que los tornen hidrófobos. Las partículas modificadas del gel se embeben de disolventes no acuosos. Otros productos son derivados de poliestireno con enlaces entrecruzados.

La elección de un tipo de medio para la filtración sobre gel no debe ser el único problema. Se ha visto que cuando las esferillas del gel están contenidas en columnas pequeñas, la velocidad elevada de flujo y la irregularidad de las esferillas conducen a separaciones pobres.

CAPÍTULO IX

Reacciones de grupos funcionales

INTRODUCCIÓN

La inclusión en este Manual de un capítulo referente a la reactividad de moléculas orgánicas, responde a la necesidad de conocer dichas reactividades para poder escoger el método separativo más conveniente.

Es decir, si se trata de separar una mezcla de sustancias, deberá aprovecharse la presencia de cada grupo funcional para programar el método separativo más conveniente, tal que no afecte al resto de las estructuras moleculares irreversiblemente.

Sólo de esta forma podrá aplicarse eficazmente la herramienta separativa para la resolución de un problema concreto, con buen criterio químico. La alternativa consistiría en convertir la aplicación de técnicas extractivas y cromatográficas, en un método simple de prueba y error.

Dentro de la amplitud de reacciones posibles para cada grupo funcional, se han seleccionado aquéllas que dan como respuesta un cambio visual u olfativo. Todas las reacciones descritas ocurren a través de mecanismos conocidos y son sencillas de realizar en el laboratorio. Parece útil, entonces, presentar las descripciones de las técnicas experimentales, además de una diagramación en forma de cuadro comparativo, y cuestionarios que contemplan la adquisición de los conocimientos mínimos indispensables sobre el tema. Desde el punto de vista pedagógico es aconsejable promover una discusión sobre los resultados logrados en las experiencias.

REACTIVIDADES Y ENSAYOS DE CARACTERIZACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES, PRESENTES EN MOLÉCULAS ORGÁNICAS

IX.1 Hidrocarburos:

Alcanos, alquenos e hidrocarburos aromáticos

La característica principal de los hidrocarburos saturados (alcanos) es su inercia química, es decir, su escasa reactividad.

En cambio, los hidrocarburos insaturados (alquenos y alquinos), son muy reactivos.

Los hidrocarburos aromáticos tienen un sistema de dobles ligaduras deslocalizadas, cuya resonancia le imparte una estabilidad especial al anillo. Por esta circunstancia, aunque son insaturados, no dan las reacciones de adición y oxidación típicas de los alquenos.

Tabla IX.1. Propiedades físicas de los hidrocarburos.

Hidrocarburo	alcano	alqueno	alquino	aromático
Estado físico				
Color				
Solubilidad en H_2O				
Solubilidad en H_2SO_4				
Densidad respecto al H_2O				

Indicaciones para completar la Tabla IX.1

a) **Solubilidad y densidad:** coloque 0,5 ml de cada muestra en tubos de ensayos rotulados. Agregue 2 ml de agua, agite, deje reposar y luego observe y anote como "sí, no o parcial" la solubilidad; y como "más denso o menos denso" en el casillero correspondiente. Busque, a partir de las Tablas, los datos de solubilidad y densidad de cada muestra utilizada.

b) **Solubilidad en SO_4H_2 diluido:** coloque 0,5 ml. de cada muestra en tubos de ensayo rotulados. Agregue 2 ml de SO_4H_2 30%, agite y deje reposar. Luego observe e informe como "sí, no o parcial".

1- Formule las reacciones involucradas.

2- En qué concentración de H_2SO_4 se disolvería el hidrocarburo aromático? ¿Cuál sera el intermediario formado? Dibuje todas las estructuras de resonancia posibles para dicho intermediario.

3- ¿Puede hablar de solubilidad del intermediario protonado, en el caso del alqueno, si en todo momento existen dos fases líquidas?

Tabla IX.2. Propiedades químicas de los hidrocarburos

Hidrocarburo	alcano	alqueno	alquino	aromático
$\text{Cl}_3\text{CH}/\text{Cl}_3\text{Al}$				
Br_2 (oscuridad)				
Br_2 luz				
MnO_4K (diluido)				
Combustión				

Indicaciones para completar la Tabla IX.2

a) $\text{Cl}_3\text{CH} / \text{Cl}_3\text{Al}$: Coloque 2 ml de cloroformo en un tubo de ensayos limpio y seco, y dos gotas del hidrocarburo; luego agite, etiquete el tubo con el nombre del hidrocarburo y agregue aproximadamente 1 g de cloruro de aluminio anhidro sobre la superficie del líquido. Anote los colores que observa sobre la superficie del sólido y en la solución.

- i- ¿En qué se basa esta reacción, cómo se la llama comúnmente?
- ii- ¿Cuál o cuáles de los tipos de hidrocarburos la darán?
- iii- Escriba el mecanismo y el producto final (indique si existe la posibilidad de formación de isómeros y en caso afirmativo, dibújelos y nómbralos).
- iv- ¿A qué se deben los cambios de colores observados?

b) y c) **Br_2 -oscuridad y Br_2 -luz**: Coloque 2 ml del hidrocarburo en sendos tubos de ensayo limpios y secos. Envuelva uno con papel de aluminio para que no le de la luz. Agregue 10 gotas de Br_2 en tetracloruro de carbono (un solvente inerte), en cada tubo. Agite bien ambos tubos, coloque el tubo envuelto en un lugar fresco y oscuro, y el otro, expóngalo de 10 a 15 minutos a una lámpara o a la luz solar directamente. Luego anote las observaciones.

- i- ¿En qué se basan las reacciones experimentadas?
- ii- Escriba los mecanismos ocurridos, e indique los posibles isómeros formados (nómbralos).

iii- ¿Cómo modificaría la técnica para introducir un átomo de Bromo en un hidrocarburo aromático?

iv- Explique cuál es la forma en que el bromo "entra" en cada tipo de hidrocarburo.

d) **KMnO₄ diluido y frío:** Coloque 5 gotas del hidrocarburo en un tubo de ensayos y agregue 1 ml de permanganato de potasio diluido. Agite bien y anote las observaciones.

i- Escriba la reacción.

ii- Indique su mecanismo y los posibles isómeros formados (nómbrelos).

iii- ¿Qué ocurriría si calienta?(pruebe). Escriba los productos formados (nómbrelos).

iv- ¿Por qué el test se realiza en frío?

e) **Combustión:** (Trabaje bajo la campana) Coloque en una espátula cucharita unas gotas del hidrocarburo. Enciéndalo y observe si la llama es azulada o luminosa (amarilla) y si produce o no humo negro (combustión incompleta). Anote las observaciones.

i- Escriba las ecuaciones de combustión total para cada hidrocarburo.

Conclusiones

i- ¿Qué ensayo (o ensayos) utilizaría para distinguir entre un alcano y un alqueno (o alquino)?

ii- ¿Qué ensayo utilizaría para distinguir entre un alcano y un hidrocarburo aromático?

iii- ¿Qué ensayo utilizaría para distinguir entre un hidrocarburo insaturado y uno aromático?

IX.2. Alcoholes y fenoles.

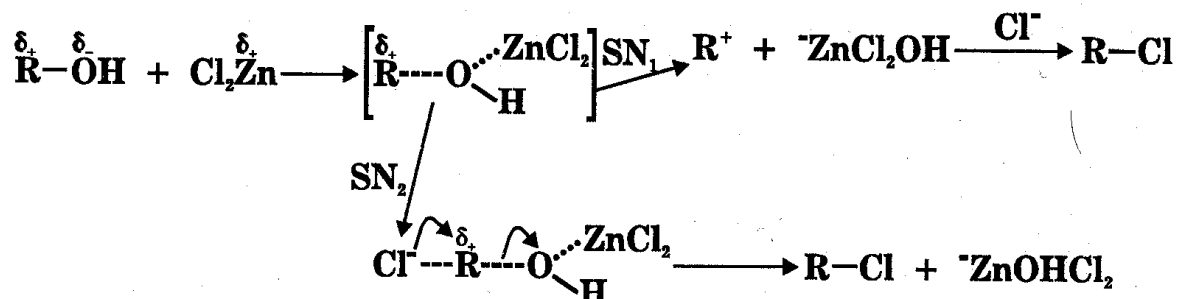
Los alcoholes se clasifican en primarios, secundarios y terciarios, según la estructura del carbono al cual está unido el grupo OH.

Las tres clases de alcoholes pueden diferenciarse por su reactividad frente al Reactivo de Lucas, o frente al ácido crómico, cuyas generalidades se describen a continuación.

a) Ensayo de Lucas

Este reactivo convierte a los alcoholes (solubles en el reactivo), en **halogenuros de alquilo** (insolubles en el reactivo), (¿por qué?). Por lo tanto, si el ensayo es posi-

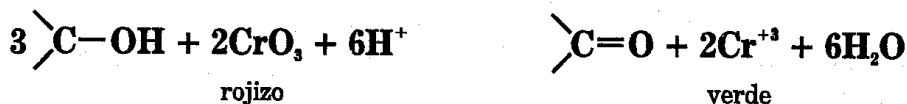
El cloruro de zinc asiste a la ruptura heterolítica del enlace C-O, a través de un mecanismo SN_1 o SN_2 , según la naturaleza del alcohol reaccionante.



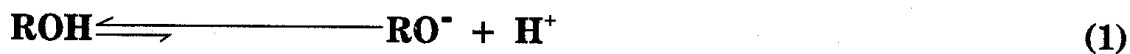
b) Oxidación suave de alcoholes

La reacción que tiene lugar es la siguiente:

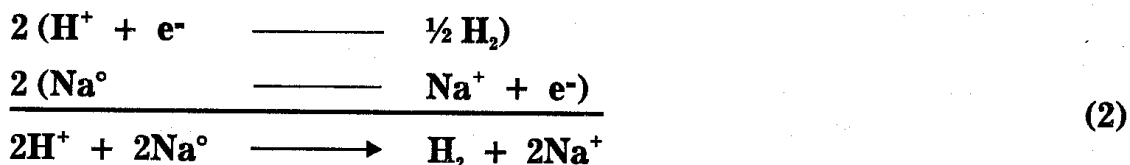
Por lo tanto, la aparición del color verde, debido a la reducción del Cr^{+6} a Cr^{+3} , indicará que el ensayo de oxidación es positivo.



Alcoholes y fenoles contienen un hidrógeno unido a un átomo muy electronegativo como el oxígeno. La polaridad de la unión OH facilita la separación del H como H^+ y por lo tanto, **presentan propiedades ácidas débiles**; debido a que el equilibrio (1) está desplazado hacia la izquierda.

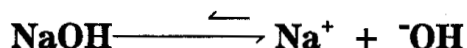


La acidez de los alcoholes se demuestra por su reacción con Na° metálico, base extraordinariamente fuerte, capaz de reaccionar con el H⁺ del alcohol, transformándolo en H₂ gaseoso (es una reacción de óxido-reducción) (2).

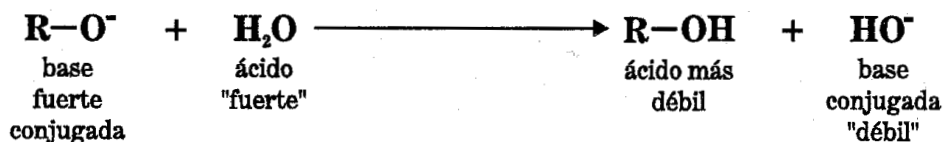


Como el H_2 gaseoso se elimina, en presencia de sodio metálico el equilibrio ácido-base (1) se desplaza hacia la formación de ion alcóxido (Principio de Le Chatelier).

Sin embargo, frente a una base fuerte como el NaOH, los alcoholes no reaccionan, y esto se debe a la incapacidad de desplazar el equilibrio desde el alcohol (ácido débil) hacia el alcóxido (su base fuerte conjugada).



Se puede concluir, entonces, que la base alcóxido es más fuerte que la base hidróxido y por lo tanto, los alcóxidos se destruyen en presencia de humedad:



El fenol (alcohol aromático) es el único suficientemente ácido, como para dar el equilibrio ácido-base con NaOH, sin requerir una reacción irreversible que acentúe su propiedad de disociación. ¿por qué?

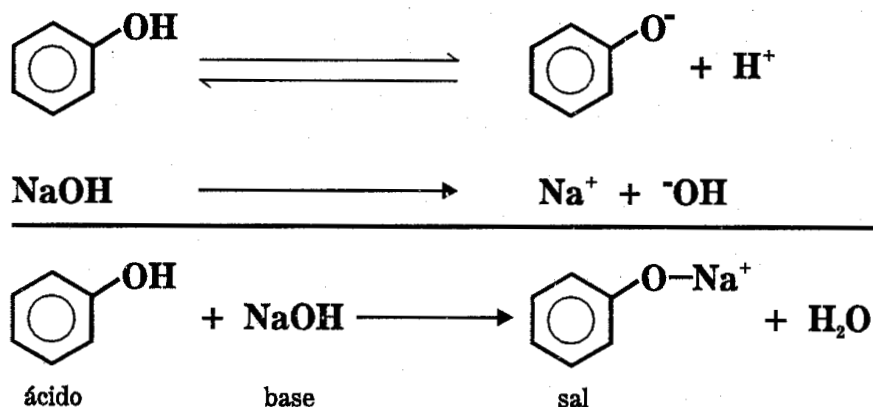


Tabla IX.3. Comparación entre reactividades de tipos de alcoholes.

Alcohol	primario	secundario	terciario	aromático
Solubilidad en H ₂ O				
Ensayo de Lucas				
CrO ₃ /H ₂ SO ₄				
Oxidación y calor				
Reacción con Na				
Reacción con NaOH				

Indicaciones para completar la Tabla IX.3:

a) **Solubilidad en agua:** agregue 1 ml de cada alcohol en cada tubo de ensayos (rotulado) y luego 1 ml de agua en cada uno. Agite fuertemente, observe y anote "sí, no o parcial".

- Escriba las fórmulas de los alcoholes utilizados.
- Busque en Tablas las solubilidades en agua de los alcoholes butílicos y del resto de los compuestos utilizados.

b) **Ensayo de Lucas:** coloque 1 ml de cada alcohol en cada tubo de ensayos (rotulado), y luego 6 ml de reactivo de Lucas en cada uno. Agite fuertemente y anote el tiempo al cual aparece turbidez.

- Indique cuál es la reacción del Ensayo de Lucas para cada alcohol probado e indique el nombre IUPAC de reactivos y productos.
- Discuta si la reacción transcurre por mecanismo SN₁ o SN₂.

c) **Oxidación con CrO₃/SO₄H₂:** coloque cinco gotas de cada alcohol en cada tubo de ensayo (rotulado) y agregue 1 ml de acetona, luego, agitando, agregue una go-

ta de la solución de ácido crómico-sulfúrico. Observe y anote los cambios observados.

Pruebe con: ciclohexanol, *n*-butanol, *t*-butanol, *i*-pentanol.

- i) Escriba la reacción de oxidación en frío, para cada alcohol, realizada en el punto c).
- ii) ¿Para qué se agregó acetona? (pruebe sin acetona el ensayo sobre ciclohexanol).
- iii) Escriba la reacción ocurrida.

d) **Olor, luego de la oxidación:** utilizando una pinza de madera, sostenga los tubos de ensayos utilizados en el punto c) y caliéntelos suavemente sobre el mechero Bunsen (Precaución: contenido inflamable). Retire cada tubo de la llama y con mucho cuidado, huela los vapores que emanan de él. Anote sus observaciones.

- i) Formule las reacciones ocurridas.
- ii) ¿A qué se debe el olor picante resultante de la oxidación del *i*-pentanol?
- iii) ¿Por qué con *n*-butanol se huele aroma algo frutal y no irritante?

e) **Reacción con Na°:** (Antes de realizar este ensayo, solicite indicaciones sobre manipulación del sodio metálico)

En tubos de ensayo rotulados y tomados con pinza de madera, se colocan 2 ml de cada alcohol. Se agrega entonces, un trocito de sodio (de superficie brillante) cuyas dimensiones no superen las de un cubo de 2 a 3 mm de lado.

Nota: ¡NO PRUEBE CON AGUA NI CON FENOL!

- i) Formule las reacciones ocurridas.
- ii) Ordene los alcoholes por reactividad decreciente.
- iii) Explique por qué reaccionan con distintas velocidades.
- iv) ¿Por qué no debe probar con agua y, mucho menos, con fenol?

f) **Reacciones con NaOH:** coloque en cada tubo de ensayos rotulado 1 ml de cada alcohol, agregue luego 2 ml de NaOH 5%. Agite, deje reposar, observe y anote si es soluble o no, y si se calienta el sistema durante la agitación o no.

- i) Justifique las diferencias observadas.
- ii) Escriba todas las fórmulas de resonancia que justifican la acidez del fenol frente al resto de los alcoholes.

IX. 3 Halogenuros de alquilo y arilo

Los **halogenuros de alquilo**, similarmente a los alcoholes, se clasifican en primarios, secundarios y terciarios.

Un ensayo sencillo que permite detectar la presencia de un halógeno (Br, Cl, I), es el **Beilstein**.

El **ensayo con nitrato de plata** alcohólico, permite diferenciar el tipo de halogenuro, según la velocidad con que aparece el precipitado de haluro de plata.

Tabla IX.4. Propiedades químicas de los halogenuros orgánicos

Halogenuro orgánico	primario	secundario	terciario	vinílico	aromático
Beilstein					
AgNO ₃					

Indicaciones para completar la Tabla IX.4:

a) El **test de Beilstein** consiste en introducir un alambre de cobre (asegurarse que la superficie esté limpia) en la solución en estudio y luego acercarlo a la llama. Después de ebulir la película de muestra sobre el alambre y quemarse, se formarán compuestos de halógeno-cobre que le dan color verde brillante a la llama.

Los derivados de flúor no dan el color mencionado y, además hay numerosas interferencias. Por lo tanto, se lo utiliza por su valor negativo, es decir, si no se observa llama verde luminosa, **seguro** que la muestra no contiene halógeno (Br, Cl, ó I), y si da positivo, **puede ser** que tenga.

b) **Ensayo del nitrato de plata:** Coloque en cada tubo de ensayos rotulado 2 ml de una solución de 2% de nitrato de plata en alcohol y 1 ó 2 gotas del compuesto. Si no aparece precipitado a temperatura ambiente, caliente en baño de agua unos minutos. Algunos ácidos orgánicos dan sales de plata insolubles, entonces, se recomienda agregar 1 gota de HNO₃ 5% (la mayoría de las sales de plata de ácidos orgánicos son solubles en ácido nítrico).

Precaución: Si se utiliza ácido nítrico concentrado puede ocurrir una explosión violenta.

El precipitado es blanco, si el halogenuro es cloruro (AgCl), amarillito si es bromuro (AgBr) y anaranjado claro si es ioduro (AgI).

- i) ¿Cómo diferencia con este ensayo si el halogenuro es primario, secundario, terciario, vinílico, alílico o bencílico?
- ii) Justifique con el mecanismo la diferente reactividad de los tipos de halogenuros.

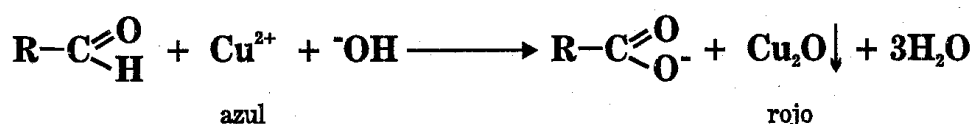
IX.4 Aldehídos y cetonas

Los aldehídos y las cetonas son compuestos orgánicos que presentan un grupo carbonilo, como grupo funcional, y por lo tanto, reaccionan en forma similar. La diferencia principal se ve en las variadas velocidades con que reaccionan. Los aldehídos reaccionan, en general, más rápidamente debido al menor impedimento estérico sobre el grupo carbonilo.

Hay algunos ensayos de caracterización que permiten distinguir entre aldehídos y cetonas. Los más conocidos son los tests de Benedict, Fehling y Tollens. Son reactivos de oxidación, y el agente oxidante es el ion cúprico o el ion plata (en Tollens).

a) **La solución de Benedict** contiene ion cúprico en medio básico estabilizado como complejo con citrato, mientras que en la **solución de Fehling**, el ion cúprico está estabilizado como tartrato. Ambos presentan inicialmente color azul y se reducen en presencia de aldehídos alifáticos para dar un precipitado rojo de óxido cuproso.

El aldehído se oxida al ácido correspondiente (NOTA: estos ensayos **también dan positivo** con α -hidroxicetonas, tales como algunos azúcares, y **dan negativos** con aldehídos aromáticos).



b) **El test de Tollens** consiste en una solución amoniacal de óxido de plata (el ion plata permanece en solución como complejo amoniacal) $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$. En presencia de un aldehído, se reduce el ion plata a plata metálica, formándose un espejo de plata si la superficie interna del tubo de ensayos utilizado está bien limpia (si no, se observa un precipitado negro de plata pulverizada).



El ensayo da positivo tanto para aldehídos alifáticos como aromáticos (*Nota: algunos alcoholes de fácil oxidación pueden ser interferencia de este ensayo*).

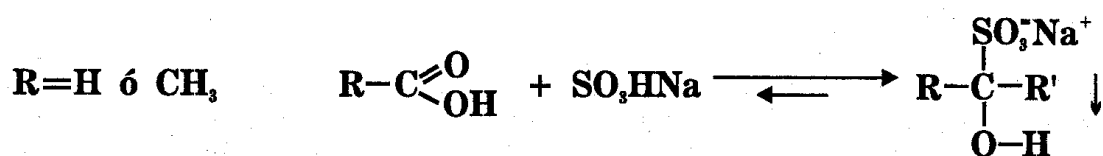
Precaución: las soluciones amoniacales de sales de plata no deben guardarse por mucho tiempo, porque se forman compuestos plata-nitrógeno explosivos.

c) **El ensayo del Iodoformo** permite diferenciar metil-cetonas de otras cetonas que tienen grupos alquilo de más de un carbono $R-CO-R'$ con R ó $R' \neq CH_3$. Es una reacción de oxidación de la cetona al ácido, con pérdida del grupo metilo como I_3CH (iodoformo). Este trihalogenuro del metano es un sólido, de color amarillento, y su aparición como precipitado es la señal del ensayo afirmativo.

El acetaldehído es el único aldehído que puede interferir en este ensayo (¿por qué?). También el etanol e isopropanol son alcoholes que interfieren ya que dan positivo el ensayo del iodoformo.



d) **Ensayo de Bisulfito:** da idea del impedimento estérico que rodea al grupo carbonilo. El grupo carbonílico sufre la adición de un grupo $SO_3H \cdot Na^+$ voluminoso, que sólo ocurre si no existe impedimento estérico. Este ensayo da positivo con los aldehídos y las cetonas que tengan un grupo metilo o que sean cíclicas.



El compuesto de adición de bisulfito es insoluble en el medio de reacción y precipita. Dado que la reacción es reversible se lo emplea, en ocasiones para separar (purificar) un compuesto carbonílico dado, de una mezcla que resultaría difícil de tratar por otros métodos separativos.

Tabla IX.5. Propiedades químicas de los compuestos carbonílicos.

Compuesto carbonílico	cetona	aldehído alifático	aldehído aromático
Solubilidad en H ₂ O			
Fehling			
Tollens			
Iodoformo			
Bisulfito			
2,4- dinitrofe- nilhidrazina.			

Indicaciones para completar la Tabla IX.5

a) **Solubilidad en agua:** agregue una gotas del compuesto carbonílico en un tubo de ensayos que contiene 1 ml de agua. Agite bien, observe y anote.

i) Busque en literatura los datos de solubilidad de cada compuesto carbonílico en agua.

b) **Ensayo de Fehling:** coloque cuatro gotas de cada compuesto carbonílico en tubos de ensayos separados (y rotulados), a los que deberá agregar 5 ml de agua y 5 ml de solución de Fehling. Coloque los tubos de ensayo en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos. Observe y anote.

c) **Ensayo de Tollens:** coloque 2 ml de solución de nitrato de plata y una gota de NaOH 10% en cada uno de los tubos de ensayos (bien limpios). Luego con buena agitación, agregue gota a gota solución de hidróxido de amonio 6M, hasta disolución del precipitado de óxido de plata (no agregue exceso). Luego agregue 5 ó 6 gotas del compuesto carbonílico. Deje reposar cada tubo 10 a 15 minutos. Observe y anote.

- ii) Escriba los productos de oxidación que da cada compuesto carbonílico utilizado con los ensayo de Fehling y Tollens. Nombre los productos de oxidación.
- iii) Pruebe los ensayo de Fehling y Tollens con isopropanol y etanol. Justifique las observaciones.

d) Ensayo del iodoformo

Disolver 0,1 g ó 5 gotas del compuesto en 2 ml de agua. Si es insoluble, agregue suficiente cantidad de dioxano como para producir una solución homogénea. Agregue 2 ml de NaOH 5% y luego el reactivo de I_2 -IK*, gota a gota, y agitando hasta que persista el color marrón del iodo. Déjelo reposar unos minutos, si no precipita el iodoformo a temperatura ambiente, entibie el tubo en baño de agua a 60°C. Si desapareció el color, agregue gotas del reactivo hasta que el color oscuro no se desvanezca, aún después de 2 minutos de calentamiento a 60°C.

Destruya el exceso de I_2 agregando algunas gotas de NaOH diluido. Agregue luego igual volumen de agua y deje reposar 10 minutos. El ensayo será positivo si se formó precipitado amarillo de iodoformo (se puede filtrar y tomar el PF= 120°C).

* El reactivo I_2 -IK, se prepara disolviendo 20 g de IK y 10 g de Iodo en 100 ml de agua.

- 1) Formule las reacciones realizadas.
- 2) ¿Por qué utiliza dioxano y no etanol? Pruebe el ensayo con etanol.
- 3) ¿Por qué es necesario agregar más reactivo, una vez que se decoloró la solución?
- 4) ¿Por qué no usa una solución de I_2 , en vez de I_2 -IK?
- 5) ¿Por qué destruye el I_2 con NaOH?

e) Ensayo del Bisulfito

En un tubo de ensayos coloque 0,1 g ó 5 gotas del compuesto y 2 ó 3 ml de solución de bisulfito de sodio en alcohol-agua. Agite bien. Déjelo luego repasar 30' con agitación ocasional. Observe luego, la formación de precipitado.

- i) Formule las reacciones realizadas.
- ii) ¿Cómo recuperaría el compuesto carbonílico de partida?

f) 2,4-dinitrofenilhidrazonas: Se prepara una solución con 0,04 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina, 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado, y se agregan gota a gota 0,3 ml de agua con agitación, hasta disolución total. A esta solución caliente se le agrega 1 ml de etanol 95%.

Se prepara una solución con 0,05 g compuesto carbonílico en 2 ml de etanol 95%. Se adiciona la solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina recién preparada. La mezcla se deja reposar a temperatura ambiente 5 ó 10 minutos.

El derivado formado se suele recrystalizar de etanol.

Determine su PF característico.

- i) Formule la estructura de una 2,4-dinitrofenilhidrazona.
- ii) Esquematice el mecanismo de formación de hidrazonas.

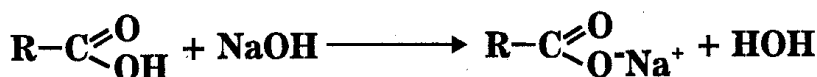
IX. 5. Ácidos, esteres y cloruros de ácido

Ácidos

Los ácidos carboxílicos contienen uno o más carboxilos (-COOH) como grupo funcional. Dan reacción ácida al tornasol en soluciones acuosas, debido a la posibilidad de disociarse en protón y grupo carboxilato:



Esta característica les permite reaccionar con bases para dar las sales correspondientes. Esta reacción se denomina **neutralización**.



(R= cadena carbonada. Si su longitud es la de un ácido graso la sal de sodio es un jabón).

Esteres

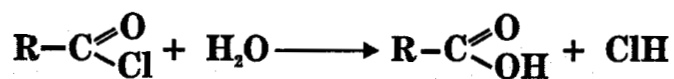
Los ésteres son derivados de los ácidos carboxílicos que se obtienen por reacción (reversible) con un alcohol y pérdida de agua (esterificación).



Una característica de los ésteres es su aroma agradable responsable de la fragancia de muchos frutos y flores.

Cloruros de ácido

Los cloruros de ácido son derivados de ácidos carboxílicos (reemplazo del grupo OH por Cl). Son sumamente reactivos, la hidrólisis de los mismos (descomposición por acción del agua) se trata de evitar cuando se los utiliza en síntesis o durante su almacenamiento.



Dada su reactividad son mejores precursores que los ácidos en síntesis de ésteres y amidas.

Tabla IX.6. Propiedades químicas de ácidos y derivados de ácidos.

Compuesto	Olor	Solubilidad en H ₂ O	CO ₃ HNa		NaOH	Ensayo de ácidos hidroxámicos	AgNO ₃	Características Espectroscópicas
			Tiempo 1	Tiempo 2				
Ac. Acético								
Ac. Benzoico								
Fenol								
Acetato de Etilo								
Cloruro de Benzoílo								

Tiempo 1: Tiempo transcurrido antes de que se desprenda CO₂

Tiempo 2: Tiempo durante el que desprende CO₂

Indicaciones para completar la Tabla IX.6

a) **Olor:** registre cuidadosamente la sensación olfativa de cada producto, clasifíquela en "agradable, desagradable y picante".

i) ¿Por qué el cloruro de ácido da olor picante?

b) **Solubilidad en agua:** compare las solubilidades de los compuestos agregando en cada tubo de ensayos rotulado, 1 ml de agua y 2 gotas o una puntita de espátula de muestra. Antes de observar agite bien cada tubo. Tome el pH en cada tubo.

- i) ¿Por qué hay diferencias entre el ácido acético y el ácido benzoico?
 - ii) ¿Hay diferencias entre el benzoico y el fenol?
 - iii) ¿Por qué hay diferencias en el pH logrado por cada sustancia?
 - iv) ¿Qué es el sólido blanco que impurifica la botella de cloruro de benzoílo?
- ¿Cómo lo eliminaría?

c) **Evolución de CO_2 :** disuelva 5 ó 6 gotas de ácido acético en 4 ml de agua. En un segundo tubo disuelva 0,2 g de ácido benzoico en 2 ml de etanol y 2 ml de agua. Agregue 5 gotas de solución de CO_3HNa saturado en cada tubo. Registre cuánto tiempo pasa antes de que empiece el desprendimiento de CO_2 y durante cuánto tiempo ocurre en cada tubo.

- i) ¿Por qué hay diferencias entre el ácido alifático y el aromático?
- ii) ¿Hay diferencias entre el ácido benzoico y el fenol?

d) **Disolución en NaOH:** Compare las solubilidades agregando en cada tubo de ensayos rotulado 1 ml de NaOH 5% y 2 gotas o una punta de espátula de la muestra. Agite antes de observar.

- i) ¿Existen diferencias con la solubilidad en CO_3HNa ?
- ii) ¿Por qué no se desprende CO_2 ?
- iii) ¿Alguna reacción fue exotérmica?

e) **Ensayo de los ácidos hidroxámicos:** este ensayo es característico de ésteres, anhídridos, cloruros de ácido y amidas primarias.

En tubos de ensayo rotulados mezcle unas gotas o una punta de espátula de cada muestra con 1 ml de clorhidrato de hidroxilamina en etanol 95% y agregue 0,2 ml de NaOH 6N. Caliente el tubo y luego deje enfriar a temperatura ambiente, agregue 2 ml de ClH 1N.

Si la solución se enturbia, agregue 2 ml de etanol 95%. Observe el color que aparece al agregar una gota de cloruro férrico 5%. Si el color no persiste agregue unas gotas más.

Compare este color con un tubo **testigo** de cada muestra, preparado de la siguiente forma:

Disuelva unas gotas o unos cristallitos de la muestra en 1 ml de etanol 95%, y agregue 1 ml de ClH 1N.

Observe el color que aparece cuando agrega unas gotas de cloruro férrico 5%.

- i) ¿Qué ocurre si hace el tubo testigo con el fenol?
- ii) ¿Por qué supone que como rutina se hace un testigo antes del ensayo, cuando se trata de una muestra incógnita?
- iii) Formule las reacciones ocurridas.

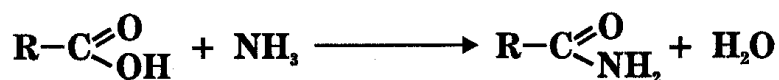
f) **Ensayo del nitrato de plata:** se basa en la visualización del precipitado de halogenuro de plata, tal como el realizado para halogenuros de alquilo.

i) ¿Por qué la reacción es tan rápida?

IX. 6 Compuestos Nitrogenados: amidas, aminas y aminoácidos.

Amidas

Las amidas son derivados de los ácidos carboxílicos y el amoníaco (o las aminas).



La unión amídica es la unión peptídica de las proteínas (proteína= sucesión de aminoácidos encadenados= unión amídica de "amino" "ácidos").

El enlace amídico es más resistente a hidrólisis que la unión éster.

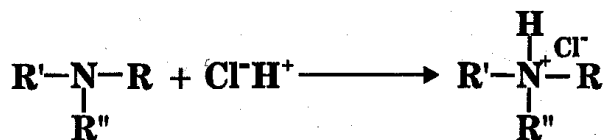
Aminas

Las aminas, al igual que los alcoholes y los halogenuros de alquilo pueden distinguirse en primarias, secundarias y terciarias.

Todas forman uniones puente hidrógeno con agua y, por esto, las aminas de bajo peso molecular son solubles en agua (hasta 6 carbonos). También se clasifican en alifáticas o aromáticas, estas últimas son menos reactivas.

Las aminas son básicas. Como el amoníaco, pueden compartir el par de electrones libres disponibles en el nitrógeno. En la reacción de neutralización con un ácido se forma la correspondiente sal de amonio.

Estas sales son solubles en agua:



La detección de N en una muestra se realiza mediante el ensayo de Lassaigne.

Tabla IX.7. Propiedades químicas de compuestos nitrogenados.

Compuesto	Solubilidad en H ₂ O	Solubilidad en ClH (diluido)	Lassaigne (detección de N)	Ensayo de Hinsberg
Amina primaria				
Amina secundaria				
N, N-dimetilanilina				

Indicaciones para completar la Tabla IX.7

a) **Solubilidad en agua:** coloque en distintos tubos de ensayo previamente rotulados 5 gotas o una punta de espátula de la muestra, y 2 ml de agua.

Agite y observe. Registre el olor característico de cada muestra. Tome el pH.

i) ¿A qué se deben las diferencias de solubilidad observadas?

ii) ¿Por qué la N,N-dimetilanilina es menos soluble y menos básica que la N,N-dimetilamina?

b) **Solubilidad en ClH:** coloque en los tubos de ensayo utilizados en el ensayo a) ClH concentrado gota a gota hasta pH ácido. Observe.

i) ¿A qué se deben los cambios observados en la solubilidad?

ii) ¿Qué ocurre al agregar más ClH (c) al tubo de N,N-dimetilanilina?

c) **Ensayo de Lassaigne:** tome con una pinza de madera un tubo de ensayos Pyrex, pequeño. Coloque un trocito de Na° limpio (aproximadamente un cubo de 4 mm de lado) y caliente a llama directa hasta que los vapores de sodio se eleven unos 4-5 cm dentro del tubo. Agregue entonces unas gotas de la muestra (*Precaución:* cloroformo, Cl₄C, nitroalcanos, azocompuestos y otros, pueden dar explosiones).

Luego caliente el tubo un minuto al rojo. Deje enfriar.

Agregue, entonces 3 ó 4 ml de metanol para descomponer el sodio que no reaccionó. Luego llene el tubo con agua hasta la mitad y caliente a ebullición suave unos minutos. Filtre y use el filtrado límpido para detectar N.

- i) ¿Qué elementos puede detectar a partir de este ensayo?
- ii) ¿Bajo forma de qué anión detecta cada elemento?
- iii) ¿Qué interferencias puede haber?

d) Ensayo para detección de compuestos nitrogenados: vierta 2-3 ml del líquido de fusión filtrado en un tubo que contiene 0,1-0,3 g de cristales de sulfato ferroso. Caliente la mezcla suavemente y agite hasta que llegue a ebullición. Entonces, sin enfriar, agregue suficiente cantidad de H_2SO_4 diluido como para disolver el hidróxido de hierro, y lleve a pH ácido. Agregue unas gotas de Cl_3Fe 5% y observe el azul de Prusia formado.

Formule las reacciones ocurridas.

e) Ensayo de Hinsberg (diferenciación entre aminas primarias, secundarias y terciarias).

Se colocan en un tubo de ensayos 50 mg (ó 2 gotitas) de sustancia, se agregan 5 gotas de cloruro de benceno sulfonilo y 4 ml de hidróxido de sodio 10%. Se agita la suspensión durante 3-5', se añade ácido clorhídrico 6 N gota a gota hasta acidez. Si hay precipitado, lo cual indica la presencia de una amina primaria o secundaria, se filtra y se lava con agua caliente.

Los clorhidratos de algunas aminas pueden precipitar en estas condiciones, pero el precipitado desaparece al lavar con agua caliente.

Si no hay formación de precipitado la amina es terciaria.

El precipitado se suspende en 2 ml de agua, se agregan 2 lentejas de hidróxido de potasio y se calienta suavemente.

En caso de una amina primaria, el precipitado se disuelve, si la amina fuera secundaria no se observa disolución.

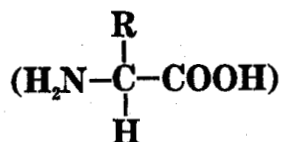
Las bencenosulfoamidas de aminas primarias superiores y de ciclo alquilaminas primarias de más de 5 átomos de carbono en el ciclo, pueden no ser solubles en hidróxido de potasio.

- i) Formule las reacciones para el ensayo de Hisberg con aminas primarias, secundarias y terciarias.

Aminoácidos

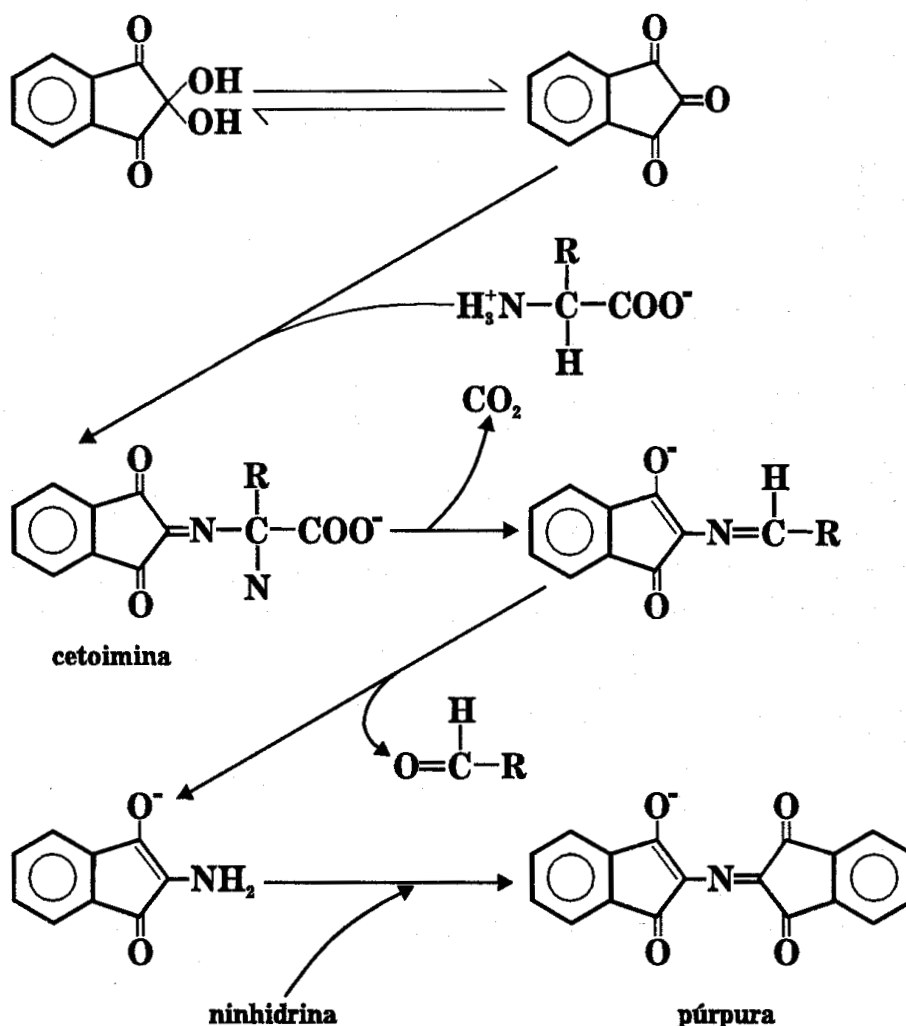
Los aminoácidos son los monómeros que constituyen a las proteínas. El grupo

amino se encuentra en el carbono α al carboxilo. Los aminoácidos naturales, pertenecen a la serie L.



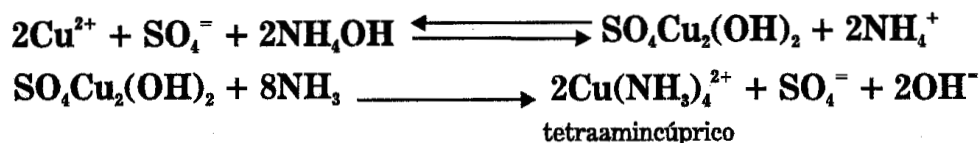
Para detectar aminoácidos, ya sea en fracciones de cromatografía de partición, de filtración por geles moleculares, de intercambio iónico, etc., se utiliza una reacción colorimétrica muy sensible: la de ninhidrina.

Reacción con ninhidrina: se utilizan 2 m del aminoácido y 1 ml de solución de 0,2 g de ninhidrina monohidrato en 50 ml de agua



Reacción con NH_4OH : los aminoácidos sueltos y las proteínas como tales dan reacción colorimétrica con el ión Cu^{2+} , en forma similar al hidróxido de amonio. Es-

tas reacciones son el fundamento del método de Biuret y Lowry para dosaje de proteínas:



Reacción de Biuret

0,2 ml de solución diluida de proteína o aminoácidos
0,1 ml de $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ al 1%
0,9 ml de NaOH 10%

Esta reacción no es muy sensible y, a veces, no resulta el color proporcional a la concentración, dependiendo de la existencia de grupos que interfieren.

Reacción de Lowry

0,2 ml de solución diluida de proteína o aminoácidos
0,1 ml de $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ al 0.25%
0,9 ml de 20% de CO_3Na_2 en NaOH 0.1 N.

Dejar reposar 10 minutos y luego agregar (muy rápido y con muy buena agitación) 0,10 ml de reactivo de Folin (ácido fosfomolibdico y fenol a pH: 9) y se deja como mínimo 30 min.

Cuando se agrega el reactivo de Folin a la proteína tratada con cobre se desarrolla máximo color si el pH es de 10. El molibdeno se reduce parcialmente al estado de "azul de molibdeno", que es una coexistencia de Mo^{6+} y Mo^{5+} . El CO_3^{2-} , da el medio buffer necesario a pH 10, pero el ácido fosfomolibdico se disocia en dicho medio y ya no reacciona. Es por este motivo que el agregado y la agitación son vitales.

Esta reacción es la más sensible desarrollada (detecta hasta 5 γ) y en general, el color desarrollado es proporcional a la concentración de la solución de proteínas o aminoácidos.

BIBLIOGRAFÍA

- E. y M. Lederer: *Cromatografía*, El Ateneo, 1960.
- E. Heftmann: *Chromatography*, Reinhold Publishing Corporation, Nueva York, 1961.
- R. Robertson, T. Jacobs: *Laboratory Practice of Organic Chemistry*, Mac Millan Co., Londres, 1962.
- K. B. Wyberg: *Técnica de Laboratorio en Química Orgánica*, Kapelusz, 1962.
- W. Smith, J. Mc Carty: *A Laboratory Manual for a Modern Introduction to Organic Chemistry*, Merril Books, Inc. USA, 1963.
- F. L. J. Sixma, H. Wynberg: *A Manual of Physical Methods in Organic Chemistry*, J. Wiley & Sons. Inc., 1964.
- L. F. Fieser: *Experimentos de Química Orgánica*, Reverté S.A., 1967.
- S. Glasstone: *Tratado de Química Física*, Ed. Aguilar, Madrid, 1968.
- G. Brieger: *A Laboratory Manual for Modern Organic Chemistry*, Harper & Row. Pub., 1969.
- R. Roberts, J. Gilbert, L. Rodewald, A. Wingrove: *An Introduction to Modern Experimental Organic Chemistry*, Ed. Holt' Reinhart and Winston. Nueva York, 1969.
- D. Abbot , R. Andrews: *Introducción a la Cromatografía*, 2º Edición, Alhambra, 1970.
- H. Mc Nair y B. Esquivel: *Cromatografía líquida de alta presión*, Monografía nº 10, Secretaría General de O.E.A., 1973.
- I. Smith, J. Feinberg: *Cromatografía sobre papel y capa fina. Electroforesis*, Exedra, 1979.
- L. Savidan: *Cromatografía*, EUDEBA, 1979.
- Heinz Engelhardt: *High Performance Liquid Chromatography*, Springer Verlag-Berlín, Heilderberg, Nueva York, 1979.
- Reactivos Merck: *Secado en el laboratorio*, Programa Merck, Schuchardt, 1980.
- S. J. Baum, W. Bowen, S. Poulter: *Laboratory Exercises in Organic and Biological Chemistry*, Macmillan Publishing Co. , Nueva York, 1981.

Harold Mc Nair: *Cromatografía de Gases*, Monografía n° 23, Secretaría General de la O.E.A., 1981.

A. B. Pomilio y A. A. Vitale: *Métodos experimentales de Laboratorio en Química Orgánica*, Monografía N° 33, Secretaría General de OEA, 1988.

L. M. Hardwood and C. J. Moody: *Experimental Organic Chemistry, Principles and Practice*, Blackwell Scientific Publications, Londres, 1989.

A. Vogel: *Practical Organic Chemistry*, Longman, Great Britain, 5ta. Edic., 1991.

Prólogo a la 1a. edición	9
Prólogo a la 5ta. edición	11
Seguridad en el Laboratorio	13
Procedimientos básicos en caso de accidentes	15
 CAPÍTULO I. Punto de fusión. Consideraciones teóricas	 19
I.1 ¿Qué es el punto de fusión? I.2 ¿Cuándo funde un cristal? I.3 ¿Varía el punto de fusión con la presión externa? I.4 ¿Varía el punto de fusión de la masa de la muestra? I.5 ¿Nos acordamos de la Ley de Raoult? I.6 ¿Cómo se relaciona la ley de Raoult con el Punto de Fusión? I.7 ¿Solutos o impureza? I.8 Conclusiones. I.9 ¿Qué es una mezcla eutéctica? I.10 ¿Puede distinguirse entre una sustancia pura y una mezcla eutéctica? I.11 Análisis del Gráfico 4(c). I.12 Regla de las Fases. I.13. Curvas de calentamiento. I.14 Regla de la Palanca. I.15 Otros sistemas sólidos.	
Punto de Fusión. Consideraciones experimentales	33
I.16 ¿Cómo se puede medir un PF?	
 CAPÍTULO II. Purificación de una sustancia orgánica por el método de recrystalización. Consideraciones teóricas	 39
II.1 ¿Qué se entiende por recrystalización? II.2 Factores que afectan la solubilidad de una sustancia. II.3 Relación entre la estructura molecular y la solubilidad. II.4 Algunos ejemplos prácticos.	
Recrystalización. Consideraciones experimentales	44
II.5 ¿Cómo se recrystaliza? II.5.1. Selección del solvente adecuado. II.5.2 Disolución del sólido impuro en solvente (o mezclas de solvente) caliente. II.5.3 Decoloración de la solución. II.5.4 Separación de las impurezas, filtración en caliente. II.5.5 Crystalización del sólido. II.5.6 Recolección de los cristales, filtración en frío. II.5.7 Secado de los cristales. II.5.8 Determinación de la pureza del sólido obtenido. II.5.9 Cálculo del rendimiento de una recrystalización. II.6 Consideraciones generales del secado de sólidos en el laboratorio.	

CAPÍTULO III. Puntos de ebullición. Consideraciones teóricas.	
Parte A. Líquidos totalmente miscibles	59
III.1 ¿Qué es la presión de vapor de un líquido? III.2 ¿De qué variables depende? III.3 ¿Qué es el Punto de Ebullición de un líquido? III.4 ¿Cómo varía el PEb con la presión externa? III.5 ¿Cómo varía el PEb con la estructura molecular? III.6 Presión de vapor de una mezcla de líquidos miscibles. III.7 ¿Cómo resulta la composición del vapor con respecto a la composición del líquido en el cual se equilibra? III.8 Punto de ebullición de la mezcla de líquidos miscibles. III.9 Variación de la temperatura con la composición, para soluciones binarias que forman azeótropos.	
Parte B. Líquidos totalmente inmiscibles	72
III.10 Comportamiento fisicoquímico de mezclas líquidas de dos componentes inmiscibles entre sí. III.10.1 <i>¿Raoult o Dalton? Presión de vapor de un sistema de líquidos inmiscibles.</i> III.10.2 <i>Punto de ebullición de un sistema de líquidos inmiscibles.</i>	
Parte C. Líquidos parcialmente miscibles	74
III.11 Comportamiento fisicoquímico de sistemas binarios de líquidos parcialmente miscibles. III.11.1 <i>Curvas de solubilidad.</i> III.12 Variación de la presión total del sistema binario con la composición. III.13 Variación de la temperatura de ebullición con la composición.	
Punto de ebullición. Consideraciones experimentales	79
III.14 Determinación experimental de presiones de vapor. III.15 Determinación experimental del Punto de ebullición.	
 CAPÍTULO IV. Purificación de líquidos por destilación.	
Consideraciones teóricas	83
IV.1 Destilación simple de un sistema ideal. IV.2 Destilación fraccionada para un sistema de dos líquidos ideales totalmente miscibles. IV.3 Un error muy común. IV.4 Destilación de soluciones reales de líquidos totalmente miscibles que presentan azeótropos. IV.5 Destilación de líquidos totalmente inmiscibles. IV.5.1 <i>Arrastre con vapor.</i> IV.6 Destilación de un sistema de dos líquidos parcialmente miscibles. VI.6.1 <i>Destilación simple.</i> IV.6.2 <i>Destilación fraccionada.</i> IV.7 Secado de líquidos orgánicos. IV.7.1 <i>Acción de los desecantes.</i> IV.7.2 <i>Tipos de desecantes más utilizados.</i>	
Destilación. Consideraciones experimentales	98
IV.8 Destilación simple. IV.9 Destilación fraccionada. IV.10 Modificaciones más comunes a los aparatos de destilación descriptos. IV.11 Rotavapor.	
 CAPÍTULO V. Extracción. Consideraciones teóricas	107
V.1 ¿Qué se entiende por extracción? V.2 La Constante de Partición. V.3 ¿En base a qué se elige el mejor solvente de extracción? V.4 ¿Cuánto se	

extrae? V.5 ¿Debe ser inerte un solvente de extracción? V.6 Extracción ácido-base. V.7 Comentarios. V.8 ¿Cómo se extraen secuencialmente los componentes de una planta?	
Extracción. Consideraciones experimentales	117
V.9 ¿Cómo se manipula la ampolla de decantación? V.10 Secado de solventes orgánicos. V.11 ¿Qué es una extracción continua?	
CAPÍTULO VI. Cromatografía de adsorción.	125
VI.1 Introducción	
Cromatografía de adsorción. Consideraciones teóricas	126
VI.2 Definición y visualización del proceso cromatográfico. VI.3 ¿De qué variables depende la movilidad del soluto (R_f)? VI.3.1 <i>El adsorbente.</i> VI.3.2 <i>Estructura del soluto.</i> VI.3.3 <i>Solvente de desarrollo.</i> VI.3.4 <i>Temperatura.</i> VI.3.5 <i>Saturación de la cuba.</i> VI.4 R_f ¿Criterio de identificación o de pureza? VI.5 Usos de la técnica de cromatografía en capa. VI.5.1 <i>Cromatografía en capa delgada (C.C.D.).</i> VI.5.2 <i>Cromatografía en capa preparativa (C.C.P.)</i> VI.5.3 <i>Dos problemas experimentales tipo.</i> VI.6 Cromatografía de adsorción en columna. VI.6.1 <i>Adaptaciones de la cromatografía en columna según el tamaño de la partícula de adsorbente.</i> VI.7 Un problema experimental tipo. VI.7.1 <i>Respuesta con explicación.</i> VI.7.2 <i>Algunas respuestas erróneas al problema planteado en VI.7.</i>	
Cromatografía de adsorción. Consideraciones experimentales	152
VI.8 Armado. VI.8.1 <i>Armado para C.C.D.</i> VI.8.2 <i>Armado de placas preparativas.</i> VI.8.3 <i>Armado de columnas.</i> VI.9 Sembrado. VI.9.1 <i>Sembrado de placas para C.C.D.</i> VI.9.2 <i>Sembrado de C.C.P.</i> VI.9.3 <i>Sembrado de una columna.</i> VI.10 Desarrollo. VI.10.1 <i>Desarrollo de cromatografía en placas.</i> VI.10.2 <i>Desarrollo de columnas.</i> VI.11 Revelado. VI.11.1 <i>Revelado de C.C.D.</i> VI.11.2 <i>Revelado de C.C.P.</i> VI.11.3 <i>Revelado de una cromatografía en columna.</i> VI.12 Elución.	
CAPÍTULO VII. Cromatografía de partición. Consideraciones teóricas	167
VII.1 Definición. VII.2 Fase fija: ¿el agua del papel? VII.3 Relación entre estructura y movilidad. VII.4 Relación frontal: ¿Criterio de pureza y/o de identificación? VII.5 Cromatografía líquido-líquido. ¿Siempre agua como base fija?	
Cromatografía de partición. Consideraciones experimentales	172
VII.6 Cromatografía analítica de partición en papel. VII.6.1 <i>Muestras para cromatografía.</i> VII.6.2 <i>Tipos de papeles.</i> VII.6.3 <i>Siembra de la muestra sobre papel.</i> VII.6.4 <i>Elección del disolvente.</i> VII.6.5 <i>Desarrollo del papel.</i> VII.6.6 <i>Revelado de las sustancias sobre el cromatograma.</i> VII.7 Cromatografía preparativa sobre papel.	

CAPÍTULO VIII. Cromatografía gaseosa. Cromatografía líquida de alta resolución. Resinas de intercambio iónico. Filtración con tamices moleculares.

VIII.1 Cromatografía gaseosa. Consideraciones teóricas	183
<i>VIII.1.1 Definición y aplicaciones. VIII.1.2 Retenciones relativas. VIII.1.3 Tiempo y volumen de retención. VIII.1.4 Resolución en cromatografía gaseosa.</i>	
Cromatografía gaseosa. Consideraciones experimentales	187
<i>VIII.1.5 Fuente de gas carrier o portador. VIII.1.6 Inyector. VIII.1.7 Columna cromatográfica. VIII.1.8 Fase fija. VIII.1.9 Sistema de detección y registro.</i>	
VIII.2 Cromatografía líquida de alta resolución. Consideraciones teóricas	192
<i>VIII.2.1 Definición, aplicaciones y generalidades. VIII.2.2 Teoría del proceso cromatográfico. VIII.2.2.a) ¿Por qué el perfil de concentración en el eluato tiene forma de campana? VIII.2.2.b) Parámetros teóricos fundamentales de utilidad en Cromatografía.</i>	
Cromatografía líquida de alta resolución. Consideraciones experimentales	197
<i>VIII.2.3 El equipo. VIII.2.4 El reservorio de solvente. VIII.2.5 Sistemas de bombeo. VIII.2.6 Cámara de inyección. VIII.2.7 Las columnas. VIII.2.8 Las fases estacionarias. VIII.2.9 Termostato. VIII.2.10 Recolector de fracciones. VIII.2.11 Detectores.</i>	
VIII.3 Cromatografía de intercambio iónico. Consideraciones teóricas	203
<i>VIII.3.1 Generalidades. VIII.3.2 Resinas de intercambio iónico. VIII.3.3 Tipos de resinas, según el núcleo intercambiador. VIII.3.4 Factores que afectan la cromatografía de intercambio iónico.</i>	
Cromatografía de intercambio iónico. Consideraciones experimentales	209
<i>VIII.3.5 El equipo. VIII.3.6 Capacidad de una resina. VIII.3.7 Resinas intercambiadoras para C.L.A.R.</i>	
VIII.4 Cromatografía de filtración sobre geles	210
Generalidades	

CAPÍTULO IX. Reacciones de grupos funcionales. Reactividades y ensayos de caracterización de grupos funcionales, presentes en moléculas orgánicas.

IX.1 Hidrocarburos: alcanos, alquenos e hidrocarburos aromáticos	215
IX.2 Alcoholes y fenoles	218

IX.3 Halogenuros y alquilo y arilo	223
IX.4 Aldehídos y cetonas	224
IX.5 Ácidos, ésteres y cloruros de ácido	228
IX.6 Compuestos nitrogenados: amidas, aminas y aminoácidos	231
BIBLIOGRAFÍA	237