

# LA ADSORCION CROMATOGRAFICA

Estudiante **GUILLERMO FARKAS**

Facultad de Química y Farmacia, Montevideo

El químico biólogo de nuestro momento tropieza con un gran problema, que consiste en el aislamiento y la purificación de los nuevos principios que día a día se van separando de los organismos.

Los métodos corrientes de purificación de la química orgánica resultan la mayoría de las veces imposibles de ser aplicadas, y otras insuficientes, dadas las pequeñas diferencias que existen entre los cuerpos que se desean separar. En los últimos tiempos se han elaborado nuevos procedimientos para la separación de sustancias muy semejantes, siendo los más importantes la evaporación molecular y la adsorción cromatográfica.

La adsorción es conocida ya desde hace mucho tiempo, pero su aplicación para la separación de especies químicas constituye un hecho reciente.

El poder adsorbente de una sustancia, frente a pequeñas diferencias estructurales de los compuestos que puede adsorber, experimenta una gran variación, permitiendo así la separación de compuestos pertenecientes a la misma serie homóloga y en ciertos casos hasta la separación de isómeros ópticos.

M. Tswett (1), botánico ruso, observó por primera vez esta propiedad selectiva de los cuerpos adsorbentes. Dicho investigador notó que si se hacía pasar una solución de clorofila por un tubo de vidrio cargado de un adsorbente adecuado, aparecían dos zonas de adsorción que correspondían a la alfa y beta clorofila.

Fue ulteriormente desarrollado por Kuhn (2) quien obtuvo en estado de pureza algunos colorantes carotenoides por este método. Karrer lo adaptó para la separación de sustancias incoloras al introducir el uso de indicadores.

TEORIA — En una solución la concentración del soluto no es la misma en todas sus partes, sino que varía de acuerdo con el principio de adsorción de Gibbs.

Un compuesto agregado a un disolvente generalmente hace variar la tensión superficial del sistema, quedando este constante solamente en casos especiales. El caso más general es que el soluto disminuya la tensión superficial de la solución y por eso su concentración en la capa superficial será mayor que en la parte restante del líquido; \*1 si sucede la inversa, su concentración en la superficie será menor. En el caso especial en el cual el soluto no modifica la tensión superficial del disolvente puro, la concentración de la superficie y de la parte restante de la solución van a ser iguales. Este aumento, constancia o disminución del soluto en la superficie, se define como adsorción positiva, nula o negativa del soluto. En la superficie de separación de dos líquidos no miscible o entre una fase sólida y líquida existe una tensión análoga a la tensión superficial denominada tensión "interfacial". El valor de la tensión interfacial es se-

gún la ley de Antonow, numéricamente igual a la diferencia de las tensiones superficiales de las dos fases. Todo compuesto que al disolverse disminuya la tensión interfacial se concentrará en la superficie que separa las fases. En la adsorción cromatográfica tiene interés el estudio de la superficie interfacial sólido/líquida. Todavía no se ha encontrado un método directo para medir esta tensión; pudiendo calcularla en ciertos casos por medio de ecuaciones basadas en la diferente solubilidad que poseen los granos de diferentes tamaños. La determinación exacta del tamaño de las partículas es muy complicada y difícil de hacer, y por eso aún los pocos valores que fueron obtenidos, no concuerdan.

Llama la atención que en la bibliografía revisada (3) no haya ninguna teoría que explique la adsorción selectiva desde un punto de vista termodinámico. \*2 Es considerado en cambio como una consecuencia lógica de una mayor o menor afinidad del adsorbido por el adsorbente, explicación basada puramente en la teoría cinético-molecular de la adsorción. (4) Sin embargo vimos que en la adsorción es un factor muy importante la tensión superficial e interfacial. Esto se puede comprobar cuantitativamente en el caso de los sistemas líquido/líquido (emulsiones), donde también se producen fenómenos de adsorción, y la tensión interfacial es medible con mucha exactitud. En la preparación de las emulsiones se utilizan agentes emulsionantes que reducen la tensión interfacial del líquido disperso, concentrándose sobre la superficie de las gotitas y disminuyen de esta manera la tendencia de unión de las esferas. Si se disuelven dos agentes emulsionantes en cantidades equivalentes, es primeramente adsorbido aquel que disminuye en mayor grado la tensión interfacial. (5) Consideraciones análogas podrían explicar satisfactoriamente la formación de las diferentes zonas en una columna adsorbente. Primeramente el adsorbente fija el compuesto que tiene mayor influencia sobre su tensión interfacial; desapareciendo este de la solución, empieza a ser adsorbido el término que le sigue en influencia. Así mismo se puede explicar que ciertos compuestos desplacen a otros de la posición que ocupaban en la columna. Probablemente no se formularon teorías en este sentido por ser muy difícil su verificación, dada la dificultad y muchas veces la imposibilidad de determinar la tensión interfacial sólido/líquida.

Fueron muchos los estudios realizados para poder relacionar el lugar que el compuesto adsorbido ocupa en la columna y sus constantes físicas, todas ellas basadas en la teoría cinético-molecular de la adsorción. Hasta la fecha no existe ninguna teoría que ex-

\*2 La tensión superficial e interfacial se deduce partiendo de consideraciones termodinámicas, y las teorías que explican la adsorción tomando como base estos factores, son considerados de orden termodinámico.

\*1 Esto se debe a que el valor de la tensión superficial tiende a un mínimo.

plique satisfactoriamente tanto cuali, como cuantitativamente esta relación (6). La más interesante es la de Wilson (7) quien da una explicación matemática de la neta separación que se obtiene por el "desenvolvimiento" \*3 de la columna. Los resultados que el autor obtiene no concuerdan cuantitativamente con los resultados obtenidos en la práctica. Según la teoría durante el desenvolvimiento de la columna, la longitud de las zonas deslizantes debiera quedar constante, lo que no sucede prácticamente. Tampoco la velocidad de deslizamiento de las diferentes zonas, por la loción con un determinado volumen de disolvente, y las velocidades halladas por medio de las fórmulas de Wilson, concuerdan con los datos prácticos. Lo mismo ocurre con la posición que ocupan unas zonas con respecto a las otras. Estas diferencias son debidas según el autor, a que se han restringido las variables que debieran tomarse en cuenta en una teoría cuantitativa de la adsorción, para simplificar los cálculos. Teniendo estos factores relativa influencia en el aspecto cualitativo del problema los resultados obtenidos en este sentido concuerdan con los prácticos. Cassidy (6) comprobó que no hay una relación directa entre las isotermas de adsorción \*4 (8) y la posición de las zonas en la columna.

**MATERIAL** — Los aparatos que se utilizan son muy sencillos. Consisten en tubos que se llenan con el material adsorbente, cerrándolos en la parte inferior con un poco de algodón, si los tubos son de pequeño diámetro, o con una placa porosa si el diámetro es grande. Cargar un tubo es una operación delicada porque el adsorbente debe estar uniforme-

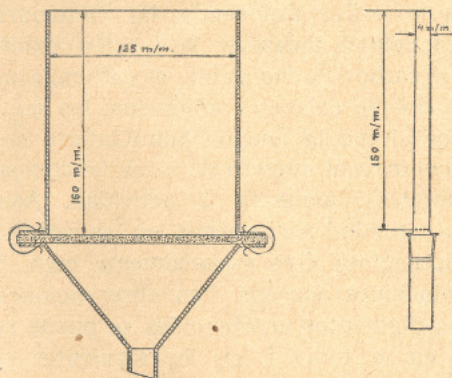


Figura 1

mente distribuido en la columna para ofrecer siempre la misma resistencia al paso del líquido, y para presentar siempre la misma superficie adsorbente, por unidad de volumen. Muchos autores prefieren hacer una suspensión del adsorbente en el disolvente, y colocarlo en estado pastoso en el tubo. Las formas más corrientes están representadas en la fig. 1. El tubo de adsorción puede variar en sus dimensiones entre límites muy grandes. Para trabajos de labora-

torio el diámetro oscila entre 2 y 125 mm., según el rendimiento que se desea obtener. Para fines industriales son construidos de dimensiones muy grandes. El largo del tubo en cambio no guarda relación con el rendimiento, sino que está en proporción directa con el poder adsorbente de la columna con respecto a los productos ensayados, y es determinado generalmente por tanteo.

Los adsorbentes \*5 más comunmente utilizados son los óxidos metálicos, como el óxido de calcio, de magnesio, y especialmente la alúmina, que se encuentra ya en el comercio en una forma activada, que la hace especialmente apta para este trabajo; sales de metales como el carbonato de calcio, caolín, varios silicatos; varios tipos de azúcares; el carbón muchas veces constituye un buen adsorbente, etc. Algunas veces el adsorbente puede actuar como catalizador favoreciendo reacciones de polimerización. Por esto, si son posibles reacciones de este tipo, se utilizan adsorbentes débiles. El adsorbente es utilizado en forma de polvo muy fino, cuyos granos varían entre 1.5—10 micras, siendo de importancia primordial la uniformidad de los granos. Si el paso de líquido por la columna se hace muy lenta, cosa que sucede si el tamaño de los granos es muy pequeño, se aplica una ligera presión en la parte superior del tubo o se hace el vacío en la parte inferior.

El disolvente se elige generalmente de acuerdo a la solubilidad de los compuestos que se desean fraccionar, evitando en lo posible la utilización del agua, que muchas veces dificulta la buena separación. Se debe tener presente que el disolvente influye cuali, y cuantitativamente en la adsorción. Cuanto mayor es la tensión superficial del líquido mejor es la adsorción. Según la conveniencia, se eligen los disolventes polares o no polares. En lo posible se debe buscar disolventes poco adsorbidos, para que no disminuya la potencialidad del adsorbente.

Para la elección del adsorbente generalmente se deben hacer varias pruebas pudiendo en los primeros ensayos atenerse a las siguientes normas generales: Si los compuestos que se desean separar son de carácter básico, se eligen adsorbentes ácidos, (caolín, otros silicatos ácidos); si son ácidos, se utilizan adsorbentes básicos; si son de carácter electrolítico pronunciado, (funciones múltiples) se trabaja con adsorbentes salinos. El disolvente no debe nunca reaccionar con el adsorbente. Se debe cuidar mucho el pH de la solución, porque pequeñas variaciones de éste ya influyen en el buen fraccionamiento, pudiéndose producir hasta inversiones en el orden de las zonas de adsorción por la variación de décimas del valor de pH de la solución. Esto tiene especial importancia si se trata de soluciones acuosas o de disolventes polares.

La separación se comienza haciendo pasar por la columna disolvente puro, y luego la solución. Si la adsorción es buena se producen enseguida distintas zonas de fraccionamiento que son generalmente caracterizables por el diferente color que presentan. Fue esta diferente coloración con la cual aparecen las distintas zonas, que dió nombre al procedimiento. Si se quiere aplicar la adsorción cromatográfica a sustan-

\*3 Por "desenvolvimiento" se entiende el procedimiento de separación de las diferentes zonas de adsorción por loción prolongada con el disolvente. Ver también más adelante.

\*4 La isoterma es la relación entre adsorción y concentración. Una fórmula empírica, pero de mucho valor, aplicada también en la industria es la de Freundlich:  $a = K.C^{1/n}$ ;  $a$  = moles adsorbidos;  $C$  = concentración en moles;  $K$  y  $n$  = constantes.

\*5 Estos adsorbentes se encuentran en el comercio.

cias por si incoloras, se deben utilizar indicadores, para poder diferenciar las zonas. Estos indicadores pueden actuar de varias maneras. Lo más corriente es que reaccionen con el producto adsorbido, dando compuestos caracterizables por el color. Karrer (9) utilizó la fluorescencia característica de algunas sustancias para poderlos separar. En este caso se debe trabajar con tubos de cuarzo, utilizando como fuente luminosa una lámpara de mercurio. La fluorescencia es una guía excelente porque no se agrega ningún indicador que perjudique la pureza del producto obtenido. Algunas veces conviene transformar el producto en derivados coloreados antes de proceder a la separación (Strain) (10). Dan muy buenos resultados los indicadores que son adsorbidos por el producto ya fijado en la columna. Si no es posible obtener evidencia visible de las zonas, se puede dividir la columna por tanteo en varias partes, y ensayarlos por separado.

Terminada la adsorción se debe proceder a la separación de las distintas zonas. Estas en realidad no presentan en estas condiciones líneas netas de sepa-

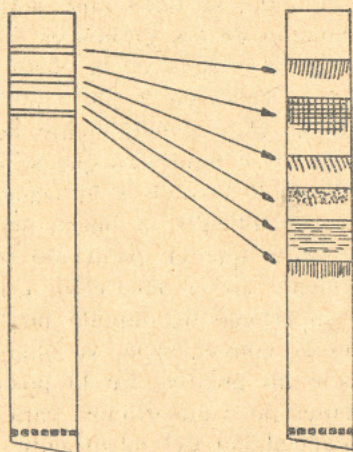


Figura 2

ración, sino un pasaje continuo de una sustancia en la otra. Si la columna se lava con el disolvente puro, se produce un deslizamiento de las zonas, siendo la velocidad de estas inversamente proporcional a la fuerza con el cual el adsorbente retiene el producto. Esta fuerza de adsorción está representada por la

posición que ocupa el producto en la columna, disminuyendo de intensidad desde arriba hacia abajo. De modo que durante la loción con el disolvente, al cual generalmente se adicionan otros para mejorar su propiedad, se forman franjas blancas de adsorbente entre las zonas. Este procedimiento se define como el "desenvolvimiento" de la columna (fig. 2). La columna así preparada se divide en tantas partes como zonas existen, y se trata cada uno con un disolvente al cual se agrega 1-2% de etanol, metanol o acetona, que son los agentes desorcificantes \*6 más energéticos (11).

**ADSORCION Y CONSTITUCION** — No se pueden dar reglas generales sobre la relación entre estructura y adsorción. Los estudios hechos, aunque muy numerosos, son pocos para poder deducir principios de valor general. Los variables que se deben tener en cuenta son numerosos, siendo los más importantes el disolvente, el adsorbente no standardizado, \*7 la influencia que cada componente ejerce sobre las otras durante la adsorción, la temperatura, etc. Para relacionar la estructura y la adsorción son necesarias series suficientemente largas, con diferencias estructurales progresivas, difíciles de obtener, constituyendo esta otra dificultad. Los estudios más completos se refieren a familias bien definidas, como los pigmentos carotenoides y los polienos en general, los hidrocarburos aromáticos con muchos núcleos condensados, algunas familias de la serie del ciclo exano, etc. Ciertos grupos funcionales ejercen una influencia determinada sobre la adsorción. Estas son generalmente de naturaleza polar, perdiendo la actividad si pasara ser no polares, como sucede en la esterificación de la función oxidrilo. Colocando las funciones por orden de actividad tenemos: la función oxidrilo, el carboxilo, el carbonilo enolizable, el carbonilo no enolizable, los dobles enlaces conjugados, los no conjugados y por último la función hidrocarburo no saturado. Aumentando el número de estas funciones (funciones múltiples), aumenta la actividad. Asimismo aumenta la actividad ascendiendo en las series homólogas, cumpliéndose éste especialmente bien, tratándose de soluciones acuosas. Las observaciones referentes a los pigmentos carotenoides se puede resumir basándose en la tabla I, en los siguientes puntos. La adsorción aumenta:

TABLA I

Nombre	Funciones-OH	Dobles Enlaces		Color		
		simples	conjugados			
Flavoxantina	3					Fuertemente adsorb.
Zeaxantina	2	11	11	amarillo		
Luteína	2		10	amarillo		
Criptoxantina	1	11	11			
Licofeno		13	11	rojo oscuro		Débilmente adsorb.
Caroteno $\gamma$		12	11	rojo naranja		
Caroteno $\beta$		11	11	anaranjado		
Caroteno $\alpha$		11	10	amar. anaranjado		

- 1) Si el número de los dobles enlaces aumenta.
- 2) Conservando el mismo número de dobles enlaces aumenta el número de los enlaces conjugados.
- 3) Si en los compuestos del mismo grado de no saturación hay presentes funciones oxidrilos.

- 4) Si el número de las funciones oxidrilos aumenta.

\*6 Fenómeno inverso de la adsorción.


\*7 La actividad de un adsorbente depende de su manera de preparación y de los tratamientos ulteriores que sufre.

El orden en el cual estas sustancias están colocadas en el cromatograma es el mismo que figura en la tabla. La parte que corresponde a los cuatro hidrocarburos aparece coloreado, intensificándose el color de abajo hacia arriba, desde el amarillo anaranjado claro hasta el rojo oscuro. Otra serie en la

cual se puede apreciar fácilmente la relación entre constitución y adsorción es la serie de los difenilpolienos, estudiada por Kuhn y Winterstein. Con el aumento del número de dobles enlaces aumenta la actividad frente al adsorbente.

Los disolventes influyen también cuantitativamente

TABLA II

Nombre	Fórmula	
Difenil—octotetraeno	$C_6H_5-CH=CH-CH=CH-CH=CH-CH=CH-C_6H_5$	
Difenil—exatrieno	$C_6H_5-CH=CH-CH=CH-CH=CH-C_6H_5$	
Difenil—butadieno	$C_6H_5-CH=CH-CH=CH-C_6H_5$	
Estilbeno	$C_6H_5-CH=CH-C_6H_5$	
Difenilo	$C_6H_5-C_6H_5$	
		Muy adsorbido
		Poco adsorbido

en la adsorción, siendo este punto poco estudiado hasta ahora. El estudio de la adsorción de la serie homóloga de los ácidos grasos monobásicos de cadena lineal, por el carbón, utilizando varios disolventes muestra que en la adsorción de esta clase intervienen fuerzas eléctricas. Las curvas obtenidas (12) poniendo en el eje de las abscisas los números de átomos de carbono, y en el de las ordenadas los porcentajes adsorbidos, son de dos tipos generales. Uno corresponde a la adsorción en presencia de disolventes polares (agua, alcoholes, cetonas, etc.) y el otro en presencia de disolventes no polares (sulfuro de carbono, cloroformo, hidrocarburos, etc.). Los ácidos grasos inferiores, cuya polaridad es más pronunciada,

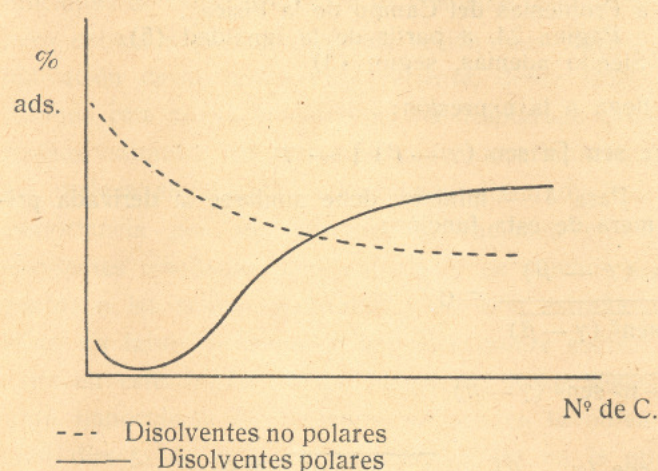


Figura 3

son mejor adsorbidos en presencia de disolventes no polares y los homólogos superiores cuya polaridad es mucho menor son mejor adsorbidos en presencia de disolventes polares. La disminución de la polaridad no guarda una relación directa con el aumento de los números de carbono, quedando prácticamente constante al llegar a ácidos con 16-18 átomos de carbono. La adsorción también se estabiliza mostrando únicamente pequeñísimas variaciones por encima del valor mencionado, tratándose de disolventes polares. En los no polares, la estabilización ocurre mucho más pronto, como es lógico.

APLICACIONES — Las aplicaciones de la adsorción cromatológica son cada día más y más numerosas, pudiendo afirmar que no existe ningún campo de la química orgánica donde no haya sido aplicada. Pero su campo de aplicación de mayor importancia, donde se obtuvieron los mejores resultados, es indudablemente la química biológica. Hasta el año 1931 se conocían cuatro pigmentos carotenoides, y después de esta fecha, cuando se empezó a aplicar el método de M. Tswett en la química de estos pigmentos, el número de especies puras en poco tiempo llegó a unas cuarenta (13). Karrer lo utilizó en la separación de las mezclas de ergosterol y colesterol, obteniendo el primero al estado de pureza. Fue utilizado en la separación de los ácidos colánicos por Wieland. En la separación de la foliculina y de la equilina (Lederer). Fischer purificó sobre talco las porfirinas. La vitamina A se preparó al estado puro por adsorción sobre alúmina (Karrer). La vitamina E se puede obtener directamente a partir del residuo insaponificable del aceite de trigo, también por adsorción (Karrer) (14).

En la química inorgánica se llegó por este método a resultados tan sorprendentes como la separación de los isotopos del litio.

En la industria del petróleo es muy utilizado constituyendo la última fase de la purificación de los diferentes destilados, separando completamente de estos los hidrocarburos no saturados, las parafinas, productos sulfurados, y otros que pueden estar presentes (15)

Modernamente se están desarrollando métodos de análisis, aplicables tanto a la química orgánica como a la inorgánica, basados en la adsorción cromatográfica. Se pueden proceder de dos maneras diferentes. Uno de ellos es la llamada análisis de la gota. Se hace caer una gota de la solución de análisis sobre un papel de filtro. Durante la difusión del líquido por capilaridad, se forman las distintas zonas de adsorción, obrando el papel de filtro como adsorbente. Para "desenvolver" el cromatograma así obtenido, se hacen caer gotas del disolvente en el centro, separando así convenientemente las zonas de adsorción. Sobre el mismo papel de filtro se practican las reacciones de caracterización, como serían las preparaciones de derivados coloreados, obtención de precipita-

dos característicos, etc.; éstos son luego caracterizados con la ayuda del microscopio. El otro método consiste en sumergir el papel de filtro en la solución y hacer subir el líquido por capilaridad; sumergiendo luego en disolvente puro, se obtiene la separación deseada de las zonas.

### RESUMEN

Se ha presentado una breve explicación de la parte teórica de la adsorción desde el punto de vista de la adsorción cromatográfica, haciendo notar la falta de teorías que lo expliquen desde un punto de vista termodinámico. Se siguió con una exposición general de los aparatos utilizados y de la técnica, detallando los diferentes adsorbentes. Se trató de dar las pocas reglas generales deducidas hasta el momento que relacionan la estructura y la adsorción selectiva. Por último se dió una idea sobre la aplicabilidad de este método a los diferentes campos de la química.

### LITERATURA CITADA

(1) M. Tswett, Ber. 41 - 1352 (1908)

- (2) Kuhn, Ber. 64 - 1349 (1931)  
 (3) Chemical Abstracts  
 (4) Para una discusión general de las teorías de la adsorción véase H. Freundlich, "Kapillarchemie", Leipzig 1923, pág. 315 y sig.  
 (5) Bergman y Egloff, "Emulsions and Foams". New York City, 1941, pág. 74.  
 (6) Cassidy, J. Am. Chem. Soc., 62 - 3076 (1940)  
 (7) Wilson, J. Am. Chem. Soc., 62 - 1583 (1940)  
 (8) Sobre isotermas de adsorción véase el libro de E. Rideal, "Surface Chemistry". Cambridge 1941 pág. 182 y 194.  
 (9) P. Karrer, Helv. Chim. Acta, 17 - 693 (1934)  
 (10) Strain, J. Am. Chem. Soc., 57 - 758 (1935)  
 (11) Para técnica detallada véase A. Morton, "Laboratory Technique in Organic Chemistry". New York City 1938 pp. 168-93.  
 (12) E. Rideal, "Surface Chemistry". Pág. 273  
 (13) E. Lederer, Bull. 897 (1939)  
 (14) Para otras informaciones consúltese el libro de Zechmeister y Cholnoki, "Die Chromatografische Absorcionmethoden", Viena 1937.  
 (15) Bergman y Egloff, "Emulsions and Foams", pág. 383 y sig.

## FE DE ERRATAS

«Ph» N.º 5 — 1942

Debido a errores de corrección, y con el fin de subsanarlos, transcribimos parte del trabajo "Ejemplos de Aplicación del Cálculo de Máximas y Mínimas

a Problemas del Campo de la Física".

Página 24, a partir de la igualdad (5):  
Siendo además, según (3)

$$\beta_1 = \gamma - \beta \quad (5) \quad \text{se llega a la expresión:}$$

$$\delta = f(\beta) \arcsen(n \operatorname{sen} \beta) + \arcsen[n \operatorname{sen}(\gamma - \beta)] - \gamma$$

en la cual  $\delta$  es función exclusiva de  $\beta$ , ya que  $\gamma$  no es una variable, sino que una constante del prisma.

Para  $\delta =$  mínimo, debe anularse la derivada primera de esta función:

$$\frac{d\delta}{d\beta} = f'(\beta) = \frac{n \cos \beta}{\sqrt{1 - n^2 \operatorname{sen}^2 \beta}} - \frac{n \cos(\gamma - \beta)}{\sqrt{1 - n^2 \operatorname{sen}^2(\gamma - \beta)}} = 0$$

multiplicando la ecuación por

$$\sqrt{1 - n^2 \operatorname{sen}^2 \beta} \quad \sqrt{1 - n^2 \operatorname{sen}^2(\gamma - \beta)}$$

se tiene:

$$n \cos \beta \sqrt{1 - n^2 \operatorname{sen}^2(\gamma - \beta)} - n \cos(\gamma - \beta) \sqrt{1 - n^2 \operatorname{sen}^2 \beta} = 0$$

## SUBVENCION DE LA FACULTAD

Por intermedio de estas líneas queremos hacer público nuestro agradecimiento al Consejo de la Facultad.

Por olvido, en el número anterior hemos omitido dar la siguiente resolución del Consejo de la Facultad: El Consejo de la Facultad ante un pedido de la

Asociación de Estudiantes de Química, por intermedio de la Delegación Estudiantil, acordó subvencionar nuevamente a la revista Ph, ayudando de ese modo a la publicación del Órgano que a través de 33 años viene contribuyendo en la difusión de la Cultura Química del país.