

Tesis de Posgrado

Algunas consideraciones referentes al método analítico de cromatografía sobre papel aplicado a los iones calcio, estroncio y bario

Dragonetti, Horacio Victor

1953

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Dragonetti, Horacio Victor. (1953). Algunas consideraciones referentes al método analítico de cromatografía sobre papel aplicado a los iones calcio, estroncio y bario. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0755_Dragonetti.pdf

Cita tipo Chicago:

Dragonetti, Horacio Victor. "Algunas consideraciones referentes al método analítico de cromatografía sobre papel aplicado a los iones calcio, estroncio y bario". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1953.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0755_Dragonetti.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

100

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

ALGUNAS CONSIDERACIONES REFERENTES AL METODO ANALITICO
DE CROMATOGRAFIA SOBRE PAPEL APLICADO A LOS IONES
CAICIO, ESTRONCIO Y BARIO

Tesis presentada por

TESIS 755

HORACIO VICTOR DRAGONETTI

para optar al título de Doctor en Química

- 1953 -

755

RESUMEN DE LA TESIS: " Algunas consideraciones referentes al método analítico de cromatografía sobre papel aplicado a los iones calcio, estroncio y bario " ; presentada por Horacio Víctor Dragonetti para optar al título de Doctor en Química.

El trabajo cuyo título se menciona se divide en dos partes: en la primera se hacen algunas consideraciones generales de la cromatografía y en especial la que se usa como soporte al papel de filtro, incluyendo algunas definiciones, descripción de distintas técnicas y aparatos.

La parte experimental comprende a la segunda parte de esta tesis: en ella se estudian y discuten los resultados obtenidos en los distintos puntos en que se dividió su estudio, a saber:

- 1) Tratamiento químico de las tiras de papel de filtro.
- 2) Comportamiento de la solución con las variaciones de pH.
- 3) Estudio de las concentraciones óptimas (máximas y mínimas de dichos iones; cuyo reconocimiento se hará con el rodizonato de sodio para el bario y estroncio y la morina para el calcio.
- 4) Interferencias principales.

Finalmente se resumen dichos resultados en las siguientes conclusiones:

- 1) a- Se comprueba el comportamiento de diversos papeles, encontrándose en particular que el papel de filtro común no se adapta para este tipo de separaciones.

- b- No se observan diferencias según se use el papel en sus dos direcciones fundamentales.
- 2) Se estudia el comportamiento de las tiras de papel al tratarse con diversas sustancias químicas, encontrándose que hay variaciones en lo que se refiere a la migración y a la separación, que cuando se utilizan sin tratamiento químico previo.
 - 3) Se estudian las variaciones de pH en la solución ensayo, tolerables para una buena separación cromatográfica.
 - 4) Se encuentran dificultades en el uso de la alizarina, como reactivo para el calcio; preponiéndose la morina como sustituto.
 - 5) Se estudian las concentraciones máximas y mínimas permisibles por esta técnica para los iones considerados.
 - 6) Se observa la acción de algunos iones como interferencias.

Este trabajo se documenta con 29 citas bibliográficas y comprende 30 páginas.

Buenos Aires, Mayo de 1953

He Jones

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento al Dr. R. Vanossi por sus valiosos consejos y su constante amabilidad durante todo el tiempo que duró este trabajo.

Agradezco a la cátedra de Toxicología y Química legal (Dr. Gaudy) el haberme facilitado una lámpara de vapor de mercurio; al Dr. J. M. Bach el haberme procurado gentilmente algunos reactivos y al Sr. Dates su amabilidad al permitirme realizar los ensayos de tracción en los laboratorios de Correos y Telecomunicaciones.

A D. M. de D.

y

S. E. C.

La prosecución de la verdad, embriagadora por su dinamismo, es con frecuencia desilusionante; se cree captar una forma estable y entre las manos del científico no queda más que una sombra fugitiva y casi evanescente.

Lo que constituye en todo caso la grandeza de la ciencia y la nobleza del científico es precisamente, la sumisión a los hechos tales como no es dado conocerlos: siempre en primera aproximación, jamás definitivamente.

Remy Collin

En un trabajo que firman Arden, Burstall, Davies, Lewis y Linstead se anuncia la separación de varios cationes por la técnica de la cromatografía sobre papel: entre esos cationes figuraban los componentes de la triada Ca-Sr-Ba; por lo que se puede leer, dicho trabajo parece constituir solamente una nota previa en la que se menciona nada más que el eluyente más apropiado para las distintas separaciones, además de los reactivos para poner en evidencia a los cationes.

En 1950, los mismos autores hacen otra publicación (1) en la que completan y amplían el primer trabajo (2); sin embargo refiriéndose a los tres cationes mencionados solamente dicen lo siguiente:

" Los metales están presentes como cloruros y el solvente usado es piridina que contiene 20 % (v/v) de agua y 1 % (p/v) de sulfocianuro de potasio.

El uso de solventes solos o que contengan agua o ácido no es efectivo con los cloruros o los nitratos. Mientras que el solvente indicado más arriba resultó ser el mejor. La extracción dura alrededor de seis horas y alcanza una longitud de veinte (20) centímetros.

La atmósfera en el cilindro está saturada con piridina y la humedad relativa debe de estar entre el 65 y 80 %. Para ello se coloca en el fondo del recipiente una solución saturada de nitrato o cloruro de amonio.

En los días calurosos si la temperatura no se controla hay una tendencia del bario a pasar delante del estroncio ".

Las únicas diferencias que pueden anotarse entre el primer trabajo y el segundo son:

1er. trabajo " solvente " piridina más 4 % de SCNK

2do. trabajo " solvente " piridina más 20 % de H₂O
más 1 % de SCNK.

1er. trabajo: no se hace mención de control de temperatura ni humedad.

2do. trabajo: se tienen en cuenta esas dos variables.

Como en la primera publicación se ilustraban con fotografías los resultados obtenidos y la que reproducía la separación de los alcalino-terreos indicaba una buena demarcación entre los tres elementos se trabajó en estos ensayos con el solvente primeramente mencionado por considerarlo más sencillo. El control de humedad no se hizo porque las separaciones eran buenas sin tener en cuenta este factor.

Entendiendo que la separación de dichos cationes por medio de un cromatograma podría ser de utilidad dentro de las marchas corrientes de la analítica cualitativa, ya que evidentemente simplificaba la técnica operatoria en alto grado, permitiendo incluso una mayor sensibilidad, se pensó en efectuar este trabajo teniendo por objeto estudiar en que forma influían en la separación la aplicación y modificación de algunas variables que^{ya} se mencionaban en la bibliografía consultada.

Antes de pasar a discutir la parte experimental propiamente dicha, se hace referencia a una breve introducción y descripción general de técnicas por considerar que esta disposición del trabajo resulta de mayor utilidad para su lectura.

Atendiendo a la definición de cromatografía dada por Gordon, Martin y Synge (3) " Procedimiento de análisis por percolación de un líquido a través de un material finamente dividido o poroso, sin distinción de procesos fisicoquímicos, que conduce a la separación de sustancias "; la utilización del papel de filtro como soporte entra dentro de dicha técnica.

Aunque la cromatografía se inicia con los trabajos del botánico ruso Miguel Tswett en 1906 (4), la introducción del papel de filtro con carácter intensivo dentro de este tipo de trabajos como proceso separativo recién se hace en el año 1944 con los trabajos de Consden, Gordon y Martin (5) y hay que hacer notar sin embargo, que cronologicamente corresponde a Schoenbein (6) en 1861 la introducción de esta variante dentro de la técnica cromatográfica.

Actualmente el término " adsorción cromatográfica " no solo se emplea para significar la separación de sustancias coloreadas y por el único proceso fisicoquímico mencionado: adsorción; sino que se aplica ampliamente a productos incolores y se reconoce por otra parte el cumplimiento de otros fenómenos, además de la adsorción como son por ejemplo el intercambio iónico y la partición. Por lo tanto se hace necesario el uso de términos menos ambiguos que el citado, proponiéndose el de cografía (7).

Originariamente también se designó como " cromatografía de partición sobre papel ", cuando se introdujo este material como soporte porque se consideraba al papel de filtro como la fase estacionaria que soportaba la fase líquida estática (agua en la celulosa) y la fase líquida móvil del eluyente. Sin embargo algunos

autores no concuerdan exactamente con lo dicho y por lo tanto han sugerido la palabra " papirografía " como más apta que la expresión dada más arriba (8).

Sin embargo no se detiene aquí el problema de la terminología; tratándose de una técnica nueva y sujeta a tantas variables, natural es el cúmulo de palabras nuevas que traten de dar una idea de lo que pueda suceder con cada una de esas variables; para tener una visión de todo ello remito al lector al tomo 23 página 28 del Analytical Chemistry de 1951, ya que una explicación detallada de todos ellos no tiene mayor cabida en este trabajo.

Mucho es lo que se ha hecho desde el primer trabajo de los tres autores mencionados (5) dentro del campo biológico y orgánico: separación de aminoácidos, azúcares, colorantes, enzimas; entre los más importantes y recientemente antibióticos; también permite la cromatografía el reconocimiento de todas estas sustancias.

Aunque no tan difundida en un principio, también está ocupando su lugar dentro de la química mineral la cromatografía sobre papel. Para la bibliografía correspondiente consúltese el volumen 22 Número 1 página 47 y 54 de 1950 del Analytical Chemistry.

TECNICAS

Las técnicas utilizadas en la " papirografía " son varias pero el fundamento de todas ellas es el mismo: posición conveniente del soporte (hoja o tira de papel de filtro) dentro de un recipiente adecuado. Sobre dicha tira u hoja se coloca una gota de la solución a examinar (para el caso de hojas se coloca en uno

de sus ángulos y en el caso de las tiras a unos centímetros de uno de sus extremos, en ambos casos se marca con una señal el lugar donde se colocó la gota), se deja secar y luego se hace ascender o descender según convenga el eluyente apropiado.

Una tercera variante que ha reportado muchos beneficios a la química de los aminoácidos por ejemplo y que todavía no se ha estudiado con la atención que merece dentro de la química mineral es la cromatografía en dos direcciones. Esta técnica fué introducida por primera vez por Liesegang (9) y posteriormente estudiada con mucho más detalle por Gordon, Consden y Martin (10). Consiste, fundamentalmente en colocar en un ángulo de la hoja una gota de la solución a ensayar y se hace circular el eluyente primero en un sentido y luego haciendo girar la hoja noventa grados, en sentido perpendicular al primero (fig. 1) ya sea el mismo eluyente u otro.



FIG. 1

Actualmente se está estudiando con intensidad la acción de la corriente eléctrica en la separación de sustancias (electrofo-

ra^{is} (11).

La clase de papel generalmente adoptada por esta clase de trabajos es la del Whatman N° 1 y 3 o sus similares en otras marcas así como el Schleicher y Schüll (U.S.A.) N° 597 como sustituto del Whatman N° 1. En este trabajo se ensayó con los resultados que se indican más adelante, el papel de filtro común ().

En cuanto a las dimensiones de las tiras, algunos autores aconsejan que tengan 2,5 centímetros de ancho (el largo está condicionado fundamentalmente al largo del aparato). Sin embargo trabajar con tiras de 1 centímetro de ancho no presenta ningún inconveniente y presenta sí las ventajas de una mayor economía de papel y la colocación de un número mayor de ellas en el aparato.

El recipiente que contiene las hojas o tiras puede variar desde el simple tubo de ensayos (12), hasta recipientes de volumen considerablemente mayor (13,14).

En este trabajo se utilizó un aparato semejante al descrito por Winsten (15). Este autor suelda dos tapas de una caja de Petri a una varilla de vidrio, la caja superior la provee de un dispositivo de alambre para evitar que las tiras toquen la caja y altere la difusión del eluyente por capilaridad; la varilla que une ambas tapas, la rodea de algodón que lo empapa con el eluyente para saturar con sus vapores la probeta donde se coloca dicho aparato.

El dispositivo utilizado en estos ensayos consta de una varilla con doble trípode, uno en cada extremo que soportan las dos partes de la caja de Petri; esto ofrece la ventaja de que no tengan que ser de vidrio Pyrex (el vidrio común no se puede soldar porque se rompe) y además facilita su limpieza y manejo. En cuanto

al dispositivo de alambre no se colocó por no considerarlo necesario, ya que el posible inconveniente anotado se obvia doblando convenientemente la tira en su parte superior, fig. 2.

La caja superior sirve para colgar las tiras, que están sujetas para evitar que caigan, por medio de una varilla de vidrio en forma de anillo. La caja superior lo mismo que la inferior lleva el eluyente elegido.

El objeto de agregar también eluyente en la caja de abajo es para crear rápidamente una atmósfera saturada con sus vapores. La razón de ello es para evitar valores de R_f (para el significado de esta expresión véase página 19) demasiado altos. La probeta va finalmente tapada para evitar evaporación del solvente, fig. 3.

Las dimensiones del aparato son:

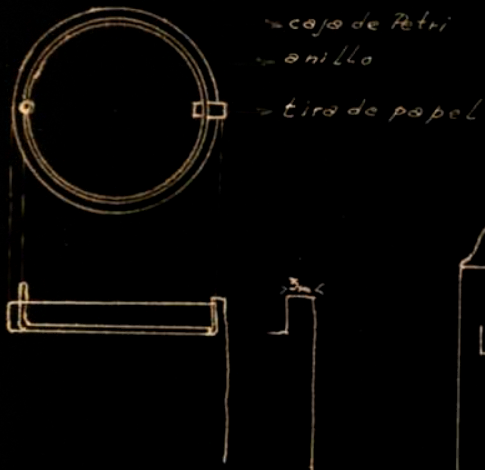
Además de este aparato se han indicado varios más cada uno con alguna variante interesante, así por ejemplo caben mencionar los de Longenecker (16), Steward (17), Arden, Burstall, Davies (18), Longenecker (19).

En cuanto a los eluyentes, corresponde destacar que deben tener el mayor grado de pureza posible ya que se han encontrado que algunas impurezas pueden alterar en forma notable el desarrollo de un cromatograma (').

(') En nuestro caso la piridina utilizada (Haskema) no presentó ningún inconveniente.

Una vez que el cromatograma ha alcanzado una distancia conveniente, (en estas experiencias la distancia osciló entre los veinte y treinta centímetros), se lo retira del aparato y se lo cuelga de un soporte compuesto de una pequeña tabla provista de una cierta cantidad de clavos pequeños (tantos como tiras alcancen a disponerse en el aparato para cromatografía) de preferencia inoxidables y sin cabeza; en esa posición se lo deja secar al aire; en algunos casos convendrá acelerar el secado, colocando las tiras en una estufa o simplemente paseándolas con cuidado por encima de la llama de un mechero de Bunsen. Estando las tiras secas se procede al "revelado" del cromatograma para identificar las sustancias presentes en la mezcla original. En algunos casos la coloración natural del material lo pone en evidencia, pero en otros (la mayoría de los cationes o aniones) es necesario emplear otros procedimientos, ya que el cromatograma no presenta ninguna señal aparente para su identificación. En esos casos se hace uso de reactivos que den productos coloreados o bien desarrolle alguna propiedad fisicoquímica denunciada por algún procedimiento, (ej. fluorescencia por medio de una lámpara de Wood, y en técnicas más elaboradas productos radioactivos detectables con un contador Geiger-Müller etc.). Con ciertas sustancias la fluorescencia no necesita ser producida ya que la poseen naturalmente.

El aparato que se necesita para hacer actuar el reactivo es bien sencillo. Consta de un pulverizador de vidrio, como el que indica la figura 4 que va sumergido en un pequeño vaso de Erlenmeyer de 25 ml. o simplemente en un tubo de ensayos grande (2l). Para provocar la salida del reactivo se sopla por la parte B con una



- caja de Petri
 - anillo
 - tira de papel

fig. 2

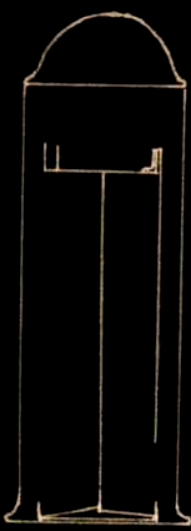


fig 3

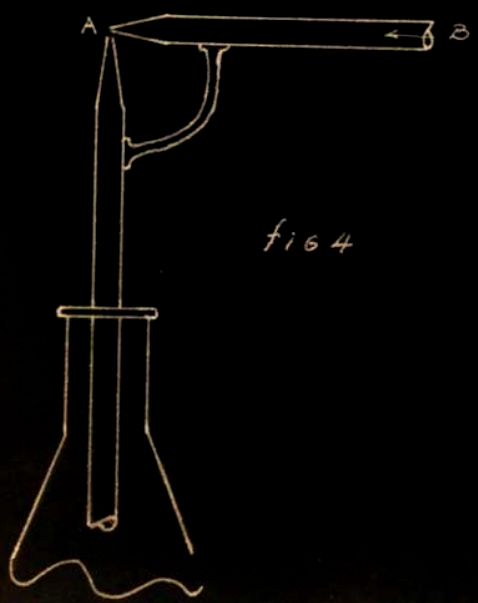


fig 4



$$\frac{\overline{AB}}{\overline{AC}} = R_f$$

A: posicion inicial
 B: posicion final
 C: distancia del lente

fig 5

pera de goma, conectándola a la cañería de aire o más simplemente soplando directamente con la boca; la parte A del pulverizador se colocará de la tira a una distancia que la alcance la niebla del reactivo pero que no alcance a empapar y escurrir el mismo por aquella (en algunos casos particulares puede haber un desplazamiento de algunas zonas).

Se comprende que cuanto más característica sea la reacción entre la sustancia en estudio y el reactivo, más sencilla será la caracterización.

Sin embargo esto presenta el inconveniente de que tal vez para un cromatograma algo complejo (varias sustancias separables) sea necesario repasar la tira varias veces con distintos reactivos. Esta dificultad puede salvarse en muchos casos usando uno o dos reactivos comunes para todas las sustancias en cuestión.

En esos casos la identificación se hace por la posición de la mancha en el cromatograma o por el valor de R_f . Este valor no es más que el cociente entre la máxima distancia alcanzada por el eluyente en la tira y la máxima distancia alcanzada por la mancha o bien hasta la zona de mayor densidad de color de ésta; como punto de referencia se toma siempre la gota (ver fig. 5). En los dos casos mencionados es necesario hacer testigos de sustancias conocidas y exactamente en las mismas condiciones que la mezcla que se estudia. Hay que hacer notar sin embargo que en algunos casos esos valores de R_f . no son constantes ya que su reproducibilidad está sujeta a varios factores (algunos por ahora desconocidos) (22).

Hasta acá el aspecto cualitativo del problema, la faz

cuantitativa, en algunos casos solamente semicuantitativo, del mismo o sea el dosaje de las sustancias presentes en la mezcla puede encararse de varias maneras, conforme a la naturaleza de los productos separados.

Sin entrar en mayores detalles se dirá que si la sustancia a determinar es inorgánica requiere por lo general una destrucción del papel y puesta en solución de la misma. Una vez realizado esto se recurrirá a la polarografía, colorimetría, etc. según convenga.

Si el material en ensayo es orgánico, por la naturaleza misma de las sustancias de este tipo, el tratamiento será menos violento; pudiéndose en estos casos comparar la mancha con otras de concentración conocida o bien midiendo su superficie con un planímetro por ejemplo, y estableciendo comparaciones luego con manchas "standards". Se comprende fácilmente que la exactitud de esta última determinación está condicionada a la nitidez de los bordes de la mancha.

Otro procedimiento interesante es el del densitómetro; para un conocimiento teórico de la densitometría y para la parte de aparatos y técnicas puede consultarse con provecho el libro de Brode (18).

Naturalmente, existen además de las mencionadas otras técnicas más complejas para la determinación cuantitativa de las sustancias separadas por cromatografía, pero no se insistirá en ellas ya que muchas corresponden a casos particulares y lo que se quiere dar en estas líneas preliminares es solo un tratamiento general del problema.

La parte experimental comprendió el estudio de varios factores como por ejemplo: soporte, solución, concentraciones, interferencias, etc.

A continuación se pasa a exponer los resultados que se obtuvieron con cada uno de ellos.

SOPORTE:

Como se mencionó en otra parte de este trabajo los tipos de papeles más corrientemente empleados son los Whatman números 1 y 3. Se ensayaron los dos tipos de papeles, sin embargo acá se dió preferencia al número a 3 ya que permite una separación más nítida que con el número 1.

En algunas publicaciones se menciona que las tiras deben ser cortadas perpendicularmente a la " dirección de máquina " del papel (23). Para ver si efectivamente hay una dirección de máquina, ya que a simple vista no puede notarse nada, se practicó un ensayo de tracción en dos direcciones distintas de la hoja de la cual se cortan las tiras. Los resultados obtenidos son los siguientes:

11,0		13,7	
10,9		15,5	
11,0	2,1 kg/cm	14,2	
9,8		14,6	2,9 kg/cm
9,7		14,1	

Velocidad del carro 18,7 cm/min. - Características de la máquina:
Amsler. Trac. Horizontal - Capacidad 100-200 kg. - tipo: 0,1 Z H.118
Ensayo: Capacidad 20 kg.

Por otra parte se ensayaron para el cromatograma las dos direcciones posibles, al proceder al "revelado" del mismo se observó que fundamentalmente la dirección del papel (por lo menos para el Whatman N° 3) no tiene marcada influencia en la migración de estos cationes.

Las tiras que se utilizaron tienen las siguientes dimensiones:

largo: 38 cm.

ancho: 1 cm.

La gota a ensayar se coloca sobre una marca de lápiz de grafito (') a unos 5 cms. de uno de los extremos de la tira y la distancia alcanzada por el eluyente para un desarrollo promedio de cuatro horas es de 26 cms. aproximadamente.

Finalmente se ensayó, para ver hasta que grado es importante la clase de papel para estos trabajos, el papel de filtro cualitativo común. Trabajando con concentraciones de cationes que para el Whatman N° 3 habían resultado satisfactorias para separarlos, con dicho papel de filtro no se pudo observar separación alguna ya que el revelado presentaba una única mancha; previniendo que el papel estuviera "impurificado" con una concentración tal de alcalino-térreos que diera ya coloración con una concentración adecuada del reactivo, se hizo un ensayo en blanco, es decir se colocó en el aparato una tira de papel de filtro común sin agregarle

(') Si es de otro material (tinta por ej.) los comp. del mismo pueden dar lugar a otro cromatograma, complicando así los resultados.

la gota ensayo y dejando correr el eluyente el mismo tiempo que para aquellas que tenían la gota, el revelado resultó negativo es decir entonces que la imposibilidad de la separación se deba muy probablemente a la textura del papel.

TRATAMIENTO QUIMICO DEL SOPORTE

Una vez que se vió que los resultados que se obtenían usando el papel Whatman N° 3 eran reproducibles, se pensó en embeber las tiras usadas como soporte, con distintas soluciones para tratar de ver en que forma se alteraba el cromatograma, pudiendo tal vez alguna de estas alteraciones, servir a algún fin analítico o simplemente presentar alguna fenomenología interesante.

Primeramente se preparó unos buffers de PO_4HNa_2 más $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ (24) cuyos pH cayeran dentro de las zonas ácida, neutra aproximadamente, y alcalina. Para empapar las tiras se colocaron las soluciones en unos cristalizadores de 12 diámetro y tomando las tiras por ambos extremos se las empapó en toda su superficie, luego se las secó, paseándolas con cuidado por encima de la llama de un mechero. Esto se hizo después de comprobar que los resultados que se obtenían por este procedimiento y el de hacerlas secar al aire, eran los mismos, (el primero tiene la ventaja de ahorrar tiempo).

Se prepararon luego los cromatogramas y al revelarlos se observó que no se pudo obtener separación y que los cationes quedaban prácticamente fijados donde se había colocado la gota.

Se pensó entonces que tal vez modificando el buffer pudieran obtenerse otros resultados, ya que los fosfatos dan sales insolubles con los alcalinos-térreos.

Para ello se preparó una serie de buffers de ácido acético y acetato de sodio (25,26) para los pH 3,4 - 4,4 - 5,2- y se embebieron las tiras no solamente con las mezclas que dieran estos tres pH, sino también con la solución de acético y de acetato solamente. Las soluciones son 0,2 N.

Cuando se vaporizó el reactivo "revelador" se observó que había migración conjunta de los cationes pero no separación, sin embargo hay que hacer notar que el desplazamiento parece ser inversamente proporcional a la concentración hidrogeniónica.

Además se embebieron las tiras con soluciones al 2% de CO_3Na_2 y de SO_4Na_2 ; en estos casos tampoco se pudo observar ni migración ni separación, esto parecería confirmar que aquellos aniones que dan sales insolubles con estos cationes no permiten desplazarlos en el cromatograma. Además la intensidad de coloración de las manchas es mucho menor que en cualquier otro ensayo.

Luego se ensayó en embeber las tiras con algunos ácidos orgánicos eligiéndose los más comunes dentro de los de cadena abierta y cadena cerrada y que tuvieran o no hidroxilos.

Los ácidos ensayados fueron los siguientes:

Acido tartárico, solución acuosa al 2 %

" succínico,	"	"	"	"
" oxálico ,	"	"	"	"
" benzoico,	"	alcohólica	al 2 %	
" salicílico,	"	"	"	"

Con los tres primeros ácidos, vale decir con los de cadena abierta no se observó ningún movimiento de los cationes: entre los tres tampoco aparecen diferencias que sean dignas de mencionarse.

Con los ácidos que figuran en último término no se observa separación pero sí hay migración.

Como la concentración del ácido podría tener alguna influencia y como en las experiencias anteriores la misma se mantuvo constante se eligió uno de ellos y se modificó la concentración como se indica más abajo;

Acido Succínico

Soluciones al

2 %

1 %

0,5 %

0,25 %

En ninguna de las cuatro tiras tampoco se anotó separación o formación de distintas bandas.

Como resultado de todas estas experiencias se puede decir que aunque desde el punto de vista separativo de estos cationes entre sí, estos ensayos arrojen resultados negativos, lo pueden tener sin embargo como aplicación de separación del conjunto de ellos de algunos otros cationes que en las mismas condiciones se comporten de distinta manera. Ej.: movimiento en el caso de que los alcalino-térreos no lo tengan o viceversa.

Todo el conjunto de ensayos se resume en el cuadro adjunto:

Modificaciones	Sep.	Migración
Buffer de fosfatos	-	-
Buffer de acetato	-	+
Sol. al 2 % CO_3Na_2	-	-
Sol. al 2 % SO_4Na_2	-	-
Ac. Tartárico 2% sol. alcoh.	-	-
Ac. Succínico 2 % sol. alcoh.	-	-
Ac. Oxálico	-	-
Ac. Benzoico 2 % sol.alcoh.	-	+
Ac. Salicílico 2 % sol. alcoh.	-	+

COMPORTAMIENTO DE LA SOLUCION CON LAS VARIACIONES DE pH

Ensayadas estas variaciones del pH en el soporte, se pasó a estudiarlas, en la solución en cuestión ya que hasta ese momento la solución era neutra, caso que en la práctica bien podrían no presentarse. Para ello se procedió a efectuar la dilución hasta alcanzar la concentración deseada de los cationes con soluciones de "buffers" que cubrieran las zonas ácida neutra y alcalina; así se prepararon los siguientes tampones, según indica la obra de

Kolthoff y Roseblum (24).

pH

3	biftalato	más	ácido	clorhídrico
5	"	"	hidróxido	de sodio
8	ácido	bórico	más	hidróxido de sodio
9	"	"	"	"
3	acetato	de sodio	más	ácido acético
4	"	"	"	"
5	"	"	"	"

Con todos estos buffers las separaciones se efectuaron en general bien, pudiéndose decir que la misma no exige, dentro de las zonas de pH ensayadas estricto control del mismo.

Finalmente se ensayó la variación que podría observarse al tratarse la solución con un ácido como el clorhídrico concentrado (se agregó ácido hasta tener una concentración del 1 %). Se produjo separación pero en la mancha del bario se notó una acentuada disminución de color.

Otro tanto se hizo con el hidróxido de amonio (la solución tenía un 2 % de dicho álcali) el resultado fué análogo al observado con el ácido clorhídrico.

Finalmente y a título informativo se modificó la composición del eluyente para ver si podía tener alguna influencia en la posición de los cationes.

Para ello se hizo uso del segundo eluyente mencionado, vale decir el que en su composición tiene un 20 % de agua. Esta fué reemplazada por los mismos "buffers" que se usaron para preparar las distintas soluciones (véase pág. 18).

Los experimentos no arrojan ninguna variante ni en la posición ni en el tamaño de las manchas. Quiere decir entonces que por lo menos estas variantes solo servirían para complicar la preparación del eluyente pero no mejoran, en general, la técnica de trabajo.

REVELADO DE LOS CROMATOGRAMAS

Para poner en evidencia a los iones se utilizaron en principio los dos reactivos que mencionan las publicaciones originales, es decir el ácido rodizónico (como sal sódica) para los iones estroncio y bario y para el calcio la alizarina.

Al respecto cabe decir que el uso del rodizonato no presentó dificultad alguna, pero en cuanto al segundo reactivo no se obtuvieron los resultados que indican esos autores. La dificultad estriba en que el papel utilizado o mejor los papeles (porque fueron ensayados varios) ya daba coloración con los mismos; es decir que para concentraciones pequeñas de calcio existe la incertidumbre de que si lo que se pone en evidencia es debido al ion o al papel.

Se pensó en un principio que podía ser un inconveniente debido a la concentración del reactivo, aunque la publicación

no indicaba la misma; se usó la que refieren los libros corrientes de análisis cualitativo y análisis colorimétrico (27,28). El resultado fué negativo, como el que se obtuvo al preparar la solución de alizarina en alcohol en lugar de agua.

Otra posibilidad era la de tratar por algún procedimiento a las tiras de papel, para ver si desaparecía el inconveniente anotado.

Para ello se lavaron lo mejor posible con solución acuosa de ácido clorhídrico al 1%, lavando luego las tiras con agua destilada hasta reacción ácida negativa, se dejaron secar y se practicaron con ellas los cromatogramas. Los resultados también fueron negativos y con el agravante de que se altera completamente la disposición del cromatograma.

Probablemente esto último debe atribuirse a la alteración de las fibras de celulosa debido al ácido y a los muchos lavados.

Es obvio que experiencias con concentraciones mayores y menores de ácido no tenían mayor sentido.

Como todo lo experimentado dió resultado negativo con respecto a lo que se publicó en los dos artículos mencionados (la diferencia debe atribuirse por ahora a la distinta calidad o clase de los papeles empleados en aquellas experiencias y las nuestras); se buscó en la bibliografía algún reactivo para el Ca de todos los mencionados en la obra de Welcher (29) se eligió la morina.

Este reactivo no da coloración pero sí da fluorescencia más o menos intensa cuando reacciona con el calcio y la fluo-

rescencia se pone en evidencia con una lámpara de vapor de mercurio.

Aunque otros iones dan también fluorescencia con dicha sustancia la confirmación para el calcio fué hecha por comparación con un testigo que tenía solamente una sal de dicho catión. La fluorescencia es de color verdoso. En cuanto al comportamiento de los otros dos iones en estudio, con el rodizonato de sodio, es sabido que dan una coloración roja y que para diferenciarlos se aprovecha la propiedad que tiene el rodizonato de bario de ser insoluble en ácido clorhídrico 0, 5 N.

Sin embargo en estas experiencias la identidad de los cationes fué confirmada comparando con un testigo en las mismas condiciones de trabajo.

Por último cabe decir del rodizonato de sodio que la solución del mismo en agua se altera muy rápidamente (se comprueba porque cambia de color), por lo tanto se impone prepararla cada vez que va a usarse.

El dispositivo que se emplea para aplicar el " revelador " ya fué explicado en la parte de generalidades pág.8

ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES

Uno de los aspectos importantes que hubo que considerar en estas experiencias fué el de la concentración máxima y mínima de los cationes en estudio, dado que ello da la pauta de comparación en cuanto a la sensibilidad por una parte con respecto a otros procesos de separación de los mismos y por otra parte a la

concentración máxima permisible de cada uno de ellos en presencia de los otros dos.

Para ello se prepararon primeramente soluciones molares con los cloruros de dichos cationes en agua destilada. Luego se hicieron las diluciones correspondientes utilizando para ello pipetas gotero previamente calibradas.

Estas últimas fueron confeccionadas estirando convenientemente tubos de vidrio de diámetro adecuado (4-5 mm) hasta alcanzar un orificio de salida de aproximadamente 1 mm; en su extremo superior fueron provistas de una tetina de goma para facilitar la salida y toma de las soluciones.

El calibrado de estas pipetas fué realizado de la siguiente manera: se cargaron las mismas con agua destilada y se dejó escurrir la misma dentro de una bureta calibrada y llena también con agua destilada hasta una altura conveniente (ej. dos c.c. antes del cero de la bureta) el escurrido se hizo de forma que no cayeran gotas del agua de las pipetas por las paredes de la bureta para evitar errores; esta operación se repitió por lo menos dos veces con cada pipeta.

Conociendo la cantidad de gotas que se necesitan para llenar dos mililitros por ej. de la bureta, el cálculo del volumen de las gotas que emiten las pipetas es bien sencillo; así para una de las pipetas utilizadas para dos mililitros se necesitaron 101 gotas lo que da un volumen unitario de 0,02 ml.

Las diluciones se practicaron en vidrios de reloj, la homogeneización de las soluciones que resultaban de estas diluciones se hizo introduciendo y expulsando repetidas veces el líquido

do en las pipetas evitando de producir salpicaduras, es conveniente cubrir con un vidrio de reloj para evitar pérdidas por evaporación. Pueden emplearse tubos de ensayo pequeños.

La parte práctica del estudio de las concentraciones se encará primero en forma individual para cada alcalino térreo.

A partir de las soluciones molares de sus respectivos cloruros se prepararon soluciones de diversa concentración y con cada una de ellas se hizo un cromatograma.

Los ensayos como en casi todos los que se efectuaron en este trabajo se hicieron por duplicado.

Los resultados que se obtuvieron son los siguientes:

BARIO:

Concentración en μg mínima con el rodizonato de sodio:	270
Concentración máxima en μg	1.100

CALCIO:

Concentración en μg mínima con morina	8
Concentración máxima en μg	266

ESTRONCIO:

Concentración en μg mínima con rodizonato de sodio:	1,5
Concentración máxima en μg	122

Una vez realizados los ensayos individuales se pasó a efectuar las experiencias por pares de ellos es decir, grupo bario-

estroncio, bario-calcio, y estroncio-calcio, para ver si lo que se hizo en forma individual con ellos podía reproducirse cuando se encontraban uno en presencia de los otros. Estas experiencias confirman los límites de concentración estudiados en forma individual.

INTERFERENCIAS

Como parte final de este trabajo se desarrolló el estudio de algunas interferencias más comunes.

A continuación se indicarán las que han sido estudiadas mencionando la sal que se utilizó para preparar la solución respectiva.

Las soluciones madres son todas 1 Molar y fueron preparadas con drogas pro-análisi.

La concentración de todas las interferencias en los cromatogramas se hizo igual o un poco superior a la del ión bario por cuanto es el que se encontraba en mayor cantidad.

Concentración de Bario 400 μg - Sr, 80 μg , Ca, 80 μg

1- Plata NO_3Ag

Mancha parda con el rodizonato de sodio a la altura de la mancha de calcio.

2- Plomo $(\text{NO}_3)_2\text{Pb}$

Mancha grisácea con el rodizonato también a la altura del calcio.

- 3- Cobre $\text{Cl}_2\text{Cu}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, solución ligeramente acidulada con ácido clorhídrico para evitar hidrólisis.

Mancha verde claro en la zona correspondiente al calcio también con rodizonato.

- 4- Estaño $\text{Cl}_2\text{Sn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, solución ligeramente clorhídrica

No produce mancha con el rodizonato de sodio

Con la morina no molesta.

- 5- Bismuto Cl_3Bi , solución ligeramente acidulada con ácido clorhídrico.

Mancha rosada muy tenue a la altura de la zona del calcio, con rodizonato.

- 6- Hierro $\text{Cl}_3\text{Fe}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, solución ligeramente clorhídrica

Produce a la altura del bario una intensa mancha marrón que impide por completo el reconocimiento de este ión con el rodizonato de sodio.

- 7- Cobalto

Produce a la altura de la mancha correspondiente al calcio una mancha ligeramente rosada con rodizonato.

- 8- Niquel $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ni}$

También este catión molesta para el calcio por cuanto con rodizonato da una zona azulada en la porción de la tira donde se encuentra dicho alcalino-térreo.

- 9- Zinc Cl_2Zn , solución ligeramente clorhídrica para prevenir hidrólisis.

No produce mancha con el rodizonato

Con la morina: no interfiere

10- Manganese $(NO_3)_2Mn$

Con el rodizonato de sodio da a la altura de la zona del calcio una mancha azul tenue.

11- Magnesio $Cl_2Mg. 6H_2O$

No produce mancha con el rodizonato

Con la morina: no interfiere.

12- Sodio $ClNa$ en este caso no se tuvo en cuenta la concentración del Bario como tipo sino que simplemente se completó la dilución correspondiente de los tres alcalino térreos con la solución molar de cloruro de sodio.

13- Potasio ClK igual que para el sodio

No interfiere

14- Amonio $ClNH_4$ igual que para el sodio

Molesta para el estroncio porque produce una doble mancha que puede confundir las conclusiones en alguna muestra compleja.

Per supuesto que el estudio de las interferencias no queda completo, pués faltarían estudiar aún varias más, pero con lo que hasta acá se ha estudiado (con la limitación de concentración ya mencionado) cabe decir que al menos que se trate de eliminar algunas de ellas a excepción de álcalis y Mg (complejándolas

por ejemplo) la cromatografía completa con la técnica así aplicada (1) de los tres cationes que componen el cuarto grupo de la marcha clásica diestémica solo podría practicarse sin error salvo excepciones cuando se haga una separación previa del grupo.

Se acompaña una tabla donde se resumen las observaciones indicadas.

Interferencia	Rodonante			Merina		
	Ca	Sr	Ba	Ca	Sr	Ba
Plata	+	-	-		-	
Plomo	+	-	-	+	-	-
Cobre	+	-	-	-	-	-
Estado	-	-	-	-	-	-
Bismuto	+	-	-	+	-	-
Hierro	-	-	+	-	-	-
Cobalto	+	-	-	-	-	-
Mercurio	+	-	-	-	-	-
Cian	-	-	-	+	-	-
Manganoso	+	-	-	-	-	-
Niquel	-	-	-	-	-	-
Sodio	-	-	-	-	-	-
Potasio	-	-	-	-	-	-
Amonio	-	+	-	-	-	-

La + indica que molestia para el catión indicado.

(1) Al redactarse este trabajo, apareció en el J. Chem. Soc. 493-771. 1961, una comunicación en la que se hace referencia a otros eluyentes y reveladores que parecen resolver algo del problema así anotado.

CONCLUSIONES

- 1) a- Se comprobaba el comportamiento de diversos papeles, encontrándose en particular que el papel de filtro común no se adapta para este tipo de separaciones.
b- No se observan diferencias según se use el papel en sus dos direcciones fundamentales.
- 2) Se estudia el comportamiento de las tiras de papel al tratarse con diversas sustancias químicas, encontrándose que hay variaciones en lo que se refiere a la migración y a la separación, que cuando se utilizan sin tratamiento químico previo.
- 3) Se estudian las variaciones de pH en la solución ensayo, tolerables para una buena separación cromatográfica.
- 4) Se encuentran dificultades en el uso de la alizarina, como reactivo para el calcio; proponiéndose la morina como sustituto.
- 5) Se estudian las concentraciones máximas y mínimas permisibles por esta técnica para los iones considerados.
- 6) Se observa la acción de algunos iones como interferencias.

BIBLIOGRAFIA

- 1- ARDEN, BURSTALL, DAVIES y LEWIS - J.Chem.Soc. 43-516-(1950)
- 2- ARDEN, BURSTALL, DAVIES, LEWIS y LINSTAD - Nature 162-691
(1948)
- 3- GORDON, MARTIN y SYNGE - Biochem. J. 38-65 (1944)
- 4- TWSETT - Les chromophyles dans le monde vegetal et animal.
- 5- CONSDEN, GORDON y MARTIN - Biochem. J. 38-224 (1944)
- 6- SCHOEMBEIM - Verhandl naturforsch. Ges. Basel III 249-(1861)
- 7- STRAIN - Anal. Chem. 22-43- (1950)
- 8- SYNGE, TISELIUS - Acta Chem. Scand. 3-231- (1949)
- 9- LIESEGANG
- 10- Ibid - 5-
- 11- STRAIN- Anal. Chem. 23-28-(1951)
- 12- PATTON - J. Chem. Educ. 27-60 (1950)
- 13- LEDERER- Progres Recents de la Chromatographie pág. 86-(1949)
- 14- Anal. Chem. 22-51- (1950)
- 15- WINSTEN - Science 107-23- (1948)
- 16- LONGENECKER - Science 107-23- (1948)
- 17- STEWART, STEPKA, THOMPSON - Science 107-451 (1948)
- 18- Ibid - 1 -
- 18'- BRODE- Chemical Spectroscopy pág. 114 (1949)
- 19- LONGENECKER - Anal. Chem. 21-1402- (1949)
- 20- LEDERER - op. cit. pág. 40
- 21- MITTELMAN N.- Comunicación verbal
- 22- ARDEN, BURSTALL, DAVIES, LEWIS. J. Chem. Soc. 43-525-(1950)
- 23- Anal. Chem. 22-49 (1950)
- 24- KOLTHOFF y ROSEMBLUN - Acid Base Indicators pág. 249 (1937)

- 25 - Ibid - 24- pág. 256
- 26 - VOGEL - Quantitative Inorganic Analysis - Pág. 808 (1948)
- 27 - VOGEL - A Textbook of Qualitative Inorg. Analysis - pág. 452 (1947)
- 28 - SNELL - Colorimetric Methods of Analysis pág. 465 (1941)
- 29 - WEICHER - Organic Analytical Reagents IV - 376 (1948).

R. ...

H. ...