

Nociones y Fundamentos en la Determinación de Sustancias con la Aplicación de Técnicas Cromatográficas

R. Fernández¹, P. Manghera², D. Martinis^{3,1}

Resumen

La cromatografía es un poderoso método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. Fue utilizada en sus inicios para separar varios pigmentos vegetales, tales como clorofila y xantofilas, haciendo pasar disoluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio rellena con carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas coloreadas en la columna, lo que justifica el nombre que eligió para el método. (1)

El objetivo de este trabajo fue aplicar técnicas de laboratorio con los alumnos para la separación e identificación de sustancias que puedan ser de interés en el estudio toxicológico.

El resultado fue satisfactorio ya que los alumnos obtuvieron noción de una técnica muy importante y de gran uso en la determinación de sustancias.

Palabras clave: cromatografía - fase sólida estacionaria - toxicología

Introducción

La cromatografía en columna fue inventada y denominada así, a principios del siglo XX por el botánico ruso Mikhail Tswett. La palabra proviene del griego chroma que significa «color», y graphein que significa «escribir»). (1)

Sin lugar a duda, es el campo de la toxicología clínica donde la ayuda del laboratorio analítico constituye un aliado de singular importancia y en muchos casos de gravitación decisiva sobre la conducta a seguir frente a un intoxicado. (2)

La técnica que utilizamos es la cromatografía de papel esta es similar a la de capa fina, excepto en que se usa papel secante como adsorbente o fase sólida estacionaria. El fundamento de la cromatografía sobre papel no es estrictamente la adsorción, sino más bien una combinación de adsorción y reparto.(3)

El reparto ocurre entre el agua que hidrata la celulosa y la fase móvil orgánica. El papel se emplea fundamentalmente cuando se trata de separar compuestos polifuncionales o muy polares. (3)

1. Ayudante Docente Farmacología. rodrigofernandez767@hotmail.com,

2. Auxiliar Docente Farmacología.

3. Adjunto Farmacología.

En esta técnica la selección del sistema de disolventes para la cromatografía sobre papel es muy importante y es por lo tanto uno de los objetivos a lograr en el práctico.

El desarrollo del cromatograma se consigue suspendiendo el papel de modo que su extremo inferior se introduzca en el disolvente contenido en el recipiente (cromatografía ascendente sobre papel); o bien sumergiendo el extremo superior en un pequeño recipiente con disolvente, haciendo que el movimiento del disolvente ocurra por la suma de las fuerzas de la capilaridad y la gravedad.

El desarrollo es muy importante debe ocurrir en una atmósfera saturada por los vapores del disolvente, de otra forma el disolvente se evaporaría del papel antes de ser reemplazado por la acción de capilaridad, y la separación de los componentes no se conseguiría. (4)

Con el fin de adquirir destreza en la siembra de la muestra como así también en la interpretación de los resultados obtenidos en la cromatografía.

Materiales y métodos

En clases previas se explicaron los fundamentos teóricos de la maceración de la muestra, del armado de capilares, siembra, como así también los métodos cromatográficos y su uso en toxicología. Se procedió a separar en 3 grupos de 6 alumnos cada uno y en dos turnos.

Actividad del alumno

Primero se trituró la muestra de hojas de coca con mortero y pilón para luego agregar, en un vaso precipitado alcohol etílico de 96° y con una varilla de vidrio se ayudó a la extracción de la muestra, se dejó reposar 30 minutos y se filtró para obtener el extracto etanólico de hojas de coca.

Lo que intentamos fue orientarlos en cómo obtener una muestra para sembrar en un cromatofolio para esto utilizamos alcohol, agua destilada, hojas de coca, cuba cromatográfica, capilares, filtro de papel y embudo.

Luego cada grupo efectuó la siembra de dos colorantes puros y una muestra problema que contenía los otros dos colorantes. Esta siembra se realizó en el margen inferior de papel a 1, 5 centímetros del borde inferior y cada siembra se ejecutó a 0, 5 centímetros una de otra y se colocó el papel en la cuba cromatográfica la cual se saturó previamente con la fase móvil y se realizó la corrida cromatográfica. El papel se retiró de la cuba y se marcó el frente de corrida del solvente para calcular la relación de frente (RF) que es el cociente entre la distancia recorrida por el compuesto y la distancia recorrida por el solvente de desarrollo. La Rf, al ser un cociente, nos permite medir el desplazamiento de cada sustancia, con un valor independiente del tiempo o las dimensiones de la placa o distancia de desarrollo.

De la definición resulta que el valor de Rf va de 0 a 1, siendo 0, 5 un valor medio.

- A menor Rf la sustancia queda más retenida en la fase estacionaria (FE)
- A mayor Rf la sustancia no está unida con fuerza a la Fe y es arrastrada por la fase móvil (FM).
- En los dos casos anteriores la muestra no establece equilibrios cromatográficos y por lo tanto no se separa.
- Se establece como parámetros de Rf aceptable, entre 0, 2 y 0, 8 para extractos vegetales.

El valor nominal del Rf no varía con la distancia de desarrollo, pero en la práctica si tengo una mayor distancia de desarrollo, tendré mayor número de platos teóricos y más equilibrios cromatográficos, que me darán una mayor separación de las sustancias.

Por lo mencionado anteriormente cada grupo realizó la corrida con diferentes concentraciones de solvente (etanol-agua: 1, 5-0, 5; 1, 1; 0, 5-1, 5) para interpretar la importancia de la elección del solvente en la separación de las muestras.

Resultados

Como resultado pudimos comprobar que la relación de la fase móvil era un factor determinante para evitar el problema que la muestra quede retenida o que acompañe al frente del solvente.

También los alumnos compararon distintas placas ya resueltas en las que pudieron interpretar y deducir los distintos cromatogramas.

Discusión y conclusión

La cromatografía es una técnica usada con mucho éxito en toxicología para la determinación de sustancias prohibidas, por lo que resulta

fundamental el conocimiento de la misma. Por lo expuesto anteriormente los resultados obtenidos en el práctico fueron satisfactorios ya que los alumnos lograron realizar exitosamente la corrida cromatográfica pudiendo comparar los resultados obtenidos con los distintos grupos como así también observar lo importante de una buena elección del solvente.

Referencias

1. <http://profe-farmacognosia.blogspot.com/2009/05/cromatografia-rf-relacion-de-frentes.28/10/13> (1)
2. Curci, Osvaldo H. *Toxicología* (2)
3. Pastor-Johnson. *Química Instrumental*. (3)
4. Skoog, Holler, Nieman. *Principios del análisis fundamental*. 5ª edición (4)