

# QUIMICA ANALÍTICA CUANTITATIVA

## SEMINARIO: "SEPARACIONES"

### EL PROCESO ANALITICO

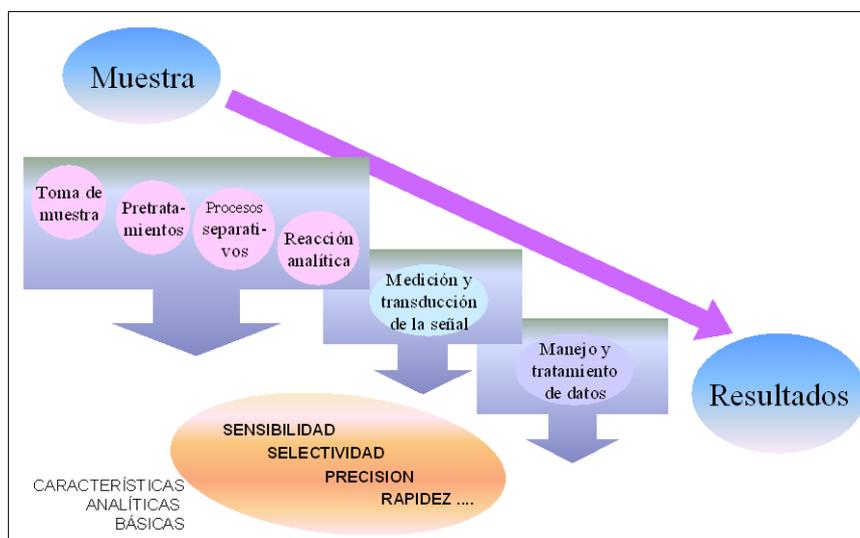
El proceso analítico puede definirse como una serie de operaciones que separan la **muestra** bruta de los **resultados**.

Las llamadas **operaciones preliminares** comprenden una serie de pasos tales como: toma de muestra, preservación, tratamientos (Ej. Disolución, disgregación), aplicación de técnicas separativas, desarrollo de reacciones analíticas, etc.

El segundo paso del proceso analítico requiere el uso de un método analítico de determinación que puede ser clásico o instrumental. Si se emplea un método instrumental, se genera una señal (por ejemplo, en el espectrofotómetro, se produce una señal lumínica) que se transduce en otra señal fácilmente medible (señal eléctrica). Después de la transducción, la señal analítica debe ser relacionada inequívocamente con la presencia, cantidad, o estructura de uno o varios analitos.

Finalmente un sistema de procesamiento de datos (una computadora) realiza los cálculos matemáticos y estadísticos que se requieren para obtener el mejor resultado analítico posible a partir de los datos obtenidos.

Las características básicas del proceso analítico, *sensibilidad*, *selectividad*, *precisión*, *rapidez*, están afectadas por los tres escalones del proceso.



### SEPARACIONES

*Fundamentos.* Una separación analítica puede definirse como una operación que implica dividir una mezcla (muestra) en por lo menos dos partes de distinta composición, de manera de enriquecer una de las fracciones en un componente con relación al resto.

El proceso de separación requiere que los distintos componentes sean finalmente apartados, por lo tanto deberá haber siempre un desplazamiento físico a través del espacio.

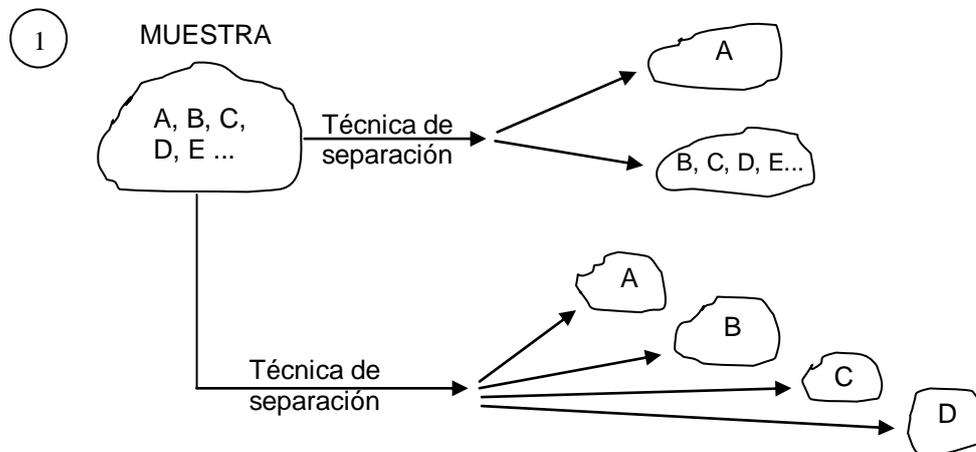
De este modo, los fenómenos de transporte, son esenciales en las separaciones. Simplificando, los desplazamientos pueden clasificarse en: a) Movimiento de flujo en el cual los componentes se desplazan en su medio, no es indispensable para la separación. b) Desplazamientos relativos, en que los componentes se desplazan a través del medio circundante, son esenciales para llevar a cabo la separación.

Existen dos grandes tipos de sistemas de separación: estáticos y dinámicos. Los sistemas dinámicos se pueden disponer físicamente de modo que el desplazamiento de flujo sea perpendicular o paralelo al desplazamiento relativo.

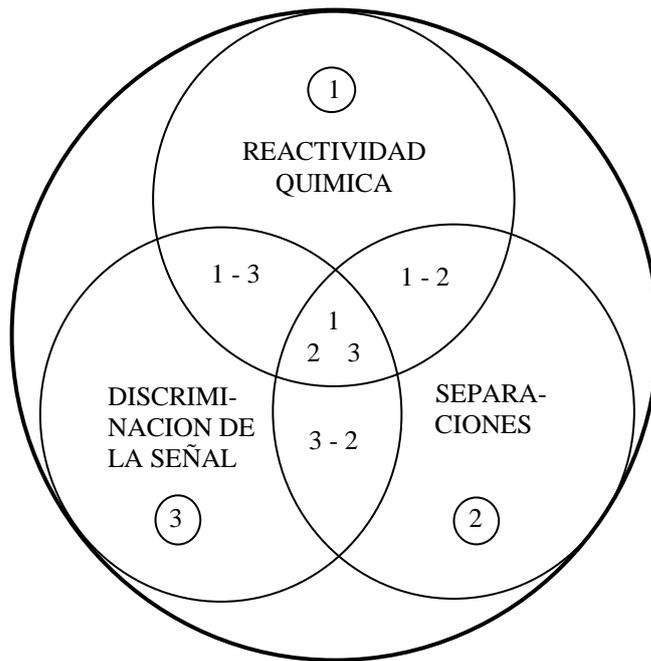
Estos conceptos se comprenderán mejor cuando se trate las *separaciones por extracción y por métodos cromatográficos*.

*Objetivos.* Las técnicas de separación analítica mejoran: 1) la selectividad y 2) la sensibilidad.

La aplicación directa de una técnica analítica determinativa a la muestra puede fracasar debido a la interferencia de otras especies con propiedades físico-químicas similares a la del analito, o que producen disturbios en la señal de medida. Si se aísla el analito de interés del resto, lógicamente se evitan estos problemas (Fig.1)



Las técnicas de separación son una de las tres vías primarias para aumentar la **selectividad** (las otras vías son la reactividad química del analito y la discriminación de la señal por parte del instrumento de medida).

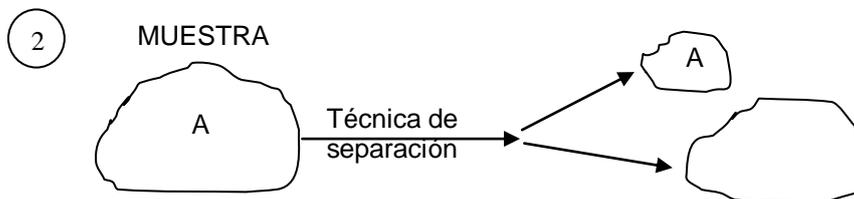


Obviamente una combinación binaria o ternaria de estas vías resultará en un mayor nivel de selectividad.

Otro objetivo básico de las separaciones analíticas es el indirecto incremento de **sensibilidad**.

Con muy bajas concentraciones de analito (análisis de trazas), la aplicación directa de un método analítico generalmente conduce a la obtención de ninguna señal, o de una señal muy baja que no puede ser distinguida del ruido de fondo.

El uso de una técnica de separación, al transferir el analito de interés a una nueva fase de un volumen mucho más bajo (hasta  $10^5$  veces más bajo) posibilita la aplicación satisfactoria de una técnica analítica gracias a la preconcentración lograda. (Fig.2).



Además de estos dos objetivos, las técnicas separativas ofrecen otras ventajas adicionales que facilitan los pasos posteriores del proceso analítico.

## SEPARACIÓN POR PRECIPITACIÓN

### Formación del precipitado

Por lo general las precipitaciones se efectúan en vasos de precipitados. Se emplea un agitador de vidrio (varilla) o un agitador mecánico (magnético). En cualquier caso solo deben entrar en contacto con la solución materiales de vidrio o plástico.

La solución del agente precipitante ha de ser bastante diluida, y añadirse lentamente, con bureta, pipeta o gotero. La cantidad de solución de reactivo precipitante se debe calcular de antemano.

Por lo general, el manejo subsiguiente se facilita con la precipitación por solución caliente. Conforme a ello, si la solubilidad y otros factores lo permiten, la solución de la muestra y la del agente precipitante deben estar calientes en el momento de mezclarse.

### Digestión

La separación por precipitación no queda físicamente completa hasta que no se separa el precipitado de sus aguas madres; además, el precipitado rara vez está listo para filtración inmediatamente después de haberse formado. En algunos casos las partículas son tan pequeñas que el filtro no puede retenerlas y, en otras, se retiene una cantidad de impurezas innecesariamente grande si la filtración se efectúa de inmediato. Para disminuir estas posibles fuentes de error, se debe dejar que el precipitado repose algún tiempo en contacto con el líquido del que se ha formado. A este proceso se llama *digestión*. A menudo el proceso se efectúa a temperatura elevada, aunque también es útil la digestión a temperatura ambiente, en particular cuando se requiere tiempo prolongado.

Es posible aumentar el tamaño de las partículas de un precipitado durante la digestión: las partículas pequeñas se coagulan para formar agregados; los cristales pequeños se vuelven a precipitar haciéndose más grandes. Cuanto más grandes, más fácilmente se filtran las partículas que quedan al final del proceso de digestión.

Un mecanismo notable por el cual las impurezas son retenidas en el precipitado es la adsorción de las impurezas sobre las superficies de los cristales del precipitado. Una masa dada de precipitado tiene menos superficie si las partículas individuales son grandes que si son pequeñas. El incremento del tamaño de las partículas durante la digestión no solo ayuda a la filtrabilidad del precipitado sino que también puede mejorar su pureza.

La duración del período de digestión varía ampliamente según la situación.

### Filtración

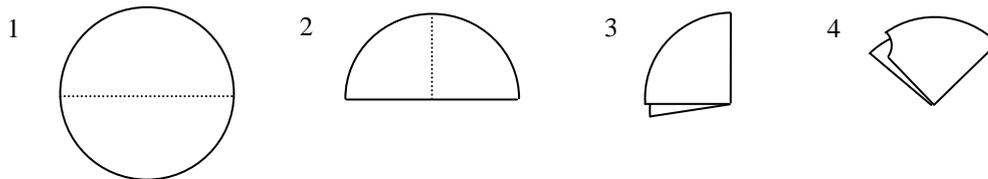
Al final del período de digestión, el precipitado debe contener esencialmente todo el componente desconocido o algún componente relacionado cuantitativamente con él. Debe ser lo bastante puro y estar en la forma física adecuada para la filtración. Hay diversos tipos de medios filtrantes. La naturaleza del precipitado y la temperatura a la que ha de secarse subsiguientemente o calcinarse son los factores que dictan el filtro que se debe usar.

*Papel de filtro.* Si el precipitado ha de ser pesado seguidamente, es necesario incinerar el papel para eliminarlo antes de pesar el precipitado; por lo tanto el papel

empleado debe ser del tipo que no deja cenizas. Durante la ignición, el carbón del papel produce una atmósfera fuertemente reductora; por consiguiente el papel de filtro es útil como medio de filtración solamente con precipitados que no se reducen fácilmente.

El papel de filtro se suministra con diversos grados de porosidad.

Al plegar y colocar el papel en un embudo de 60 grados, son puntos importantes: el papel debe doblarse dos veces. El primer doblado debe ser a lo largo del diámetro del papel; el segundo doblado debe ser de modo que los bordes queden algo desparejos. Luego debe arrancarse una esquina de la sección ligeramente más pequeña, y abrir el papel en la sección ligeramente más grande.



Entonces el papel puede ser insertado en un embudo de 60 grados humedecido con suave chorrito de agua y presionando firmemente hacia abajo. Ante todo, el papel de filtro debe ajustarse fuertemente a toda la circunferencia superior. La esquina rota impide que se forme una columna de aire entre el embudo de vidrio y el papel.

*Crisol de Gooch.* El crisol de Gooch es de porcelana y tiene fondo perforado que se cubre con una esterilla filtrante de fibras de asbesto. Es útil para filtrar precipitados que deben calcinarse, en particular los que se reducirán durante la calcinación en presencia de papel de filtro. Además es útil para filtrar soluciones como la de permanganato, que atacan el papel. La esterilla de asbesto debe prepararse cada vez que se haga una filtración. Una vez usada, se quita fácilmente y se desecha.

*Crisoles de filtración con base porosa.* El crisol de vidrio poroso tiene paredes de vidrio y un disco de vidrio poroso soldado en el fondo. Existe en el comercio con varios grados de porosidad. Es muy cómodo de usar porque no necesita preparación. Sin embargo sí debe limpiarse después de usarlo, lavando con disolvente apropiado. No resiste altas temperaturas, por lo tanto se emplea para precipitados que puedan secarse a temperaturas no muy superiores a los 100°C.

El crisol de porcelana porosa es similar al anterior con la ventaja de poder soportar elevadas temperaturas de calcinación.

El crisol tipo Munroe es de platino. Su base es una capa permanente de platino esponjoso. Puede tolerar temperaturas muy elevadas. Sin embargo, es muy caro por lo que se emplea raras veces.

El inconveniente general de los crisoles de base porosa, es que a veces es difícil limpiarlos.

*Filtros de membrana.* Son de ésteres de celulosa, principalmente de nitratos de celulosa. El tamaño de los poros varía de 0.010 micra a varias micras. Es un medio rápido y cómodo para separar las partículas mayores al tamaño del poro, de líquidos y gases.

*Transferencia del precipitado al equipo de filtración.* Para transferir un precipitado al equipo de filtración es preciso observar precauciones especiales. Este proceso está

ligado a la operación de lavado, ya que la mayor parte del lavado se debe hacer en el vaso en el que se formó el precipitado. Por supuesto todas las aguas de lavado deben pasar por el filtro. El líquido de lavado ha de verse de modo que resbale por una varilla de vidrio, evitando salpicaduras.

Todo el precipitado se transfiere al filtro junto con una porción de líquido de lavado. Los restos de precipitado se transfieren con ayuda de un fino chorro de agua de piseta.



*Filtración por aspiración.* El paso de un líquido por el filtro es a menudo muy lento a no ser que se aplique aspiración. Es casi imprescindible con crisoles de Gooch o con los de base de vidrio poroso, así como con filtros de membrana de poros muy finos.

## **Lavado**

Se debe lavar el precipitado filtrado, para completar la separación de las aguas madres, antes de su desecación o calcinación. En algunos casos se emplea agua destilada. Pero es más frecuente que el líquido de lavado tenga que contener un ion en común con el precipitado, para reducir al mínimo las pérdidas por solubilidad, o un electrolito para evitar que los agregados de partículas más diminutas se separen y pasen por el filtro. Por supuesto, el electrolito ha de ser alguno que no deje residuo apreciable. Es más eficiente emplear varias porciones pequeñas de líquido de lavado que usar una porción grande. Por lo general los líquidos calientes tienen menor viscosidad que los fríos y pasan por el filtro más rápidamente. Sin embargo, las pérdidas por solubilidad pueden ser mayores con líquidos calientes.

## **Calcinación del precipitado**

Cuando se emplea papel de filtro, se pliega éste alrededor del precipitado y se introduce en un crisol de porcelana, cuarzo o platino. La calcinación debe efectuarse en dos etapas: 1) carbonización del papel a temperatura relativamente baja y 2) calcinación del precipitado a la temperatura final deseada. Si no se completa el primer paso antes de iniciar el segundo, el precipitado pudiera reducirse excesivamente y la llama podría arrojar parte de él fuera del crisol. El primer paso se efectúa generalmente en mechero, aunque para el resto de la calcinación puede usarse alguna otra fuente de calor. El crisol se monta en un triángulo de pipa, que se coloca sobre el trípode. Una vez eliminado el papel por completo, se puede elevar la temperatura de la llama hasta alcanzar la temperatura de calcinación deseada, se pueden introducir el crisol y su contenido en una mufla a temperatura apropiada. Al término del período de calcinación se deja enfriar el crisol al aire durante unos minutos y luego se introduce en un desecador por lo menos durante media hora

antes de pesarlo. Las fases de calcinación, enfriamiento y pesada, deben repetirse hasta que coincidan pesadas sucesivas.

## SEPARACIONES POR EXTRACCIÓN Y POR MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

La virtud de muchos métodos instrumentales está en el hecho de que mejoran grandemente la exactitud y la sensibilidad del paso de medición en el análisis y, en ciertos casos, se puede aplicar un método experimental al material de la muestra original sin tener que separar antes unos de otros los componentes que han de determinarse. Pero, al mismo tiempo, el advenimiento de la moderna instrumentación química necesitó el desarrollo de técnicas de separación nuevas y, en ocasiones muy específicas, a fin de explotar plenamente estas técnicas experimentales.

Una separación por cualquiera de estos métodos puede ir seguida de muy variadas técnicas de medición para la determinación de sustancias orgánicas e inorgánicas.

Los métodos de extracción y cromatográficos para separar sustancias, tienen mucho en común. La extracción de un soluto de una fase líquida por otra suele ser selectiva, al menos hasta cierto grado. Incluso cuando una sola extracción sea insuficiente para lograr una separación cuantitativa, a menudo es posible separar especies químicas cuantitativamente por métodos de extracción en multietapas. Asimismo veremos que los métodos cromatográficos pueden considerarse como métodos de extracción en multietapas.

### Extracción

La extracción de un soluto de una fase líquida por otra fase líquida es una de las técnicas de separación más rápida y simple en química analítica. En contraste con la separación por precipitación, la extracción tiene la ventaja de procurar separaciones más netas y más limpias.

*Coefficiente de distribución o reparto.* Cuando se ponen en contacto dos disolventes inmiscibles entre sí, una sustancia soluble en ambos se distribuye o reparte entre las dos fases Finalmente se establece un estado de equilibrio dinámico.



En donde  $A_1$  y  $A_2$  representan el soluto A en los disolventes 1 y 2, respectivamente. La constante de equilibrio para el reparto de soluto puede expresarse en términos de actividades de la especie correspondiente.

$$K_d = \frac{[A]_2}{[A]_1}$$

Donde  $K_d$  es el **coeficiente de distribución o reparto** y  $[A]_1$  y  $[A]_2$  son las concentraciones totales del soluto A en dos fases cualquiera. El coeficiente de distribución se mantiene razonablemente constante por intervalos importantes de concentración y de otras condiciones.

Los requisitos generales que han de satisfacerse por un proceso de extracción para que este sea adecuado como método de separación cuantitativa de especies químicas son en esencia los mismos que han de cumplir otros métodos de separación. El componente deseado ha de separarse completa y selectivamente, y

la sustancia separada ha de estar en forma física y química apropiada para cualquier operación o medición consecutiva que haya de efectuarse con ella.

*Compleitud de la extracción.* Algunos coeficientes de distribución son lo suficientemente altos para que sea posible la extracción cuantitativa de una especie en una sola operación. Otros coeficientes de distribución son excesivamente bajos para permitir transferencia cuantitativa en una sola extracción. En estos casos para lograr una separación cuantitativa es necesario efectuar la extracción dos o tres veces con porciones distintas del segundo disolvente. Esta es la técnica de extracción múltiple.

*Selectividad de la extracción.* Cuando se ponen en contacto dos disolventes mutuamente inmiscibles, uno de los cuales contiene inicialmente dos solutos, ambos solutos se distribuyen entre las dos fases. La distribución de equilibrio de cada soluto, A y B, es totalmente independiente de la presencia del otro. Por consiguiente los dos coeficientes de distribución  $K_{dA}$  y  $K_{dB}$  indican el grado de completitud con la cual cada soluto será extraído del disolvente 1 por el disolvente 2.

En el proceso de extracción ocurre alguna separación entre A y B siempre y cuando los dos coeficientes de distribución difieran entre sí. Es evidente que, para lograr la separación cuantitativa de A y B por extracción de A de una fase líquida a otra, el coeficiente de distribución de A, ha de ser lo suficientemente alto para que sea despreciable la cantidad de A que queda en la solución inicial, y que el coeficiente de distribución de B ha de ser lo bastante pequeño para que la cantidad de B que es extraída en la segunda fase sea despreciable. A menudo es posible lograr las condiciones deseadas.

## **Principios generales de la cromatografía**

El término cromatografía se refiere a toda técnica de separación en la cual se hacen pasar los componentes de una muestra a analizar a través de una columna a diferentes ritmos de velocidad. En toda separación cromatográfica hay una fase estacionaria, que consiste en la sustancia con la que se empaqueta la columna y una fase móvil que recorre la columna. La muestra que va a analizarse se introduce por la parte superior de la columna. A medida que la fase móvil recorre la columna, cada componente de la muestra se distribuye continuamente entre las dos fases. El proceso es similar en principio a un proceso de extracción en multietapas, con gran número de etapas.

Los procesos cromatográficos pueden clasificarse por estados físicos de las dos fases. La fase estacionaria puede ser líquida o sólida y la fase móvil gas o líquido. Así el proceso puede clasificarse como: cromatografía líquido-líquido, cromatografía sólido-líquido, cromatografía líquido-gas, y cromatografía sólido-gas, en que el segundo nombre se refiere al estado de la fase móvil. También es común llamar a los dos primeros cromatografía líquida y a los dos últimos cromatografía de gases.

Basándose en el mecanismo por el cual se distribuyen los componentes, se distinguen tres clases mayores de separaciones cromatográficas: cromatografía de adsorción, en la cual la fase estacionaria adsorbe reversiblemente solutos de la fase móvil; cromatografía de reparto en la cual se reparte el soluto entre las dos fases de manera muy semejante a un proceso de extracción líquido-líquido, y cromatografía de intercambio iónico, en la cual iones cargados cambian de mano literalmente una y otra vez entre las dos fases.

Debe insistirse en que la cromatografía es un método de separación y como tal ha de ir seguida de la medición correspondiente si ha de hacerse la identificación cualitativa o la determinación cuantitativa.

## APLICACIÓN

### ANÁLISIS DE TRAZAS - VESTIGIOS

#### ANÁLISIS DE TRAZAS DE ELEMENTOS METÁLICOS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

Cuando se emplea el término “traza” (Vestigios) no existe un acuerdo general en cuanto a límites de concentración. Para los autores consultados, “traza” significa una concentración inferior a 0.01% (Ej. 100  $\mu\text{g/ml}$  o  $\mu\text{g/g}$ ). A veces se emplea la expresión “ultratraza” para concentraciones inferiores a  $\text{ng/ml}$  ó  $\text{ng/g}$ .

Hay muy pocos métodos estandarizados para el análisis de trazas de elementos en el campo ambiental. Cuando se hace necesaria una determinación para resolver un problema crítico, hay que desarrollar el método apropiado. Debido a que este proceso demanda tiempo, muchas situaciones críticas pasan sin contar con los datos analíticos adecuados.

Un procedimiento para análisis de trazas debería, idealmente, tener las siguientes cualidades:

- Límite de detección adecuado
- Ser relativamente rápido
- Ser relativamente de bajo costo
- Ser aplicable a amplio rango de muestras
- Ser relativamente específico
- Ser aplicable en la mayoría de los laboratorios analíticos (sin necesidad de equipamiento especial)
- Ser preciso

*Las técnicas.* Históricamente los métodos gravimétricos y titulométricos fueron empleados para el análisis de trazas de elementos. De este modo era necesario emplear un gran número de laboriosos pasos de separación y preconcentración para aislar el constituyente y llevarlo a un nivel detectable antes de la determinación. La aplicación práctica y precisión en el análisis de trazas recién pudo lograrse con el advenimiento de la instrumentación.

*Separación y preconcentración.* A pesar de los recientes avances en la instrumentación analítica, es aún necesario emplear métodos de separación y preconcentración previo al paso determinativo. Estos métodos consumen tiempo y constituyen fuentes de errores (por pérdida o contaminación) y deben ser usado solo cuando sean necesarios. El motivo de emplear estos métodos es llevar la concentración de un elemento en el estado de traza a un nivel detectable y/o separarlo de sustancias interferentes.

La extracción con solvente y la cromatografía de intercambio iónico son los métodos más comúnmente usados.

*Blanco.* En el análisis de trazas de elementos, es sumamente importante correr un blanco en cada serie de determinaciones. La cantidad detectable es muchas veces

alcanzada por la concentración de estos elementos en los reactivos, y por los niveles de contaminación en el ambiente del laboratorio. Para mantener los blancos bajos podría ser necesario el uso de ácidos especialmente purificados y agua bidestilada o desionizada.

#### MÉTODOS DE SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN

Los métodos de separación y preconcentración implican pasos extra en el análisis y deben evitarse si no son esenciales. Es aquí donde se presentan frecuentemente problemas debido a contaminación o pérdidas.

La razón para efectuar una preconcentración en un procedimiento, es llevar la concentración del analito a un nivel detectable para el método de determinación escogido. Afortunadamente los progresos en la instrumentación mejoran cada vez más los límites de detección. Con el correr del tiempo, la necesidad de la preconcentración irá decreciendo.

Las separaciones son algunas veces necesarias para separar al analito de una matriz interferente. Al igual que la preconcentración, su necesidad va decreciendo a medida que mejora la instrumentación.

Los procedimientos más comunes y los más apropiados para el análisis de trazas son la extracción con solventes y la cromatografía de intercambio iónico.

#### BIBLIOGRAFIA

- R. B. Fischer - D. G. Peters, "Análisis Químico Cuantitativo"
- D. C. Harris, "Análisis Químico Cuantitativo"
- M. Valcárcel - M. D. Luque de Castro, "Non-Chromatographic Continuous Separation Techniques"
- H.G. Seiler - A. Sigel - H. Sigel, "Handbook of Metals in Clinical and Analytical Chemistry"