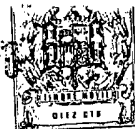


30 MAY 1968



201816

MOD.- 1.685

Int. Cl. G01N

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar MODELO DE UTILIDAD

a nombre de UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

entidad española

con domicilio en Madrid-3

por: "DISPOSITIVO PERFECCIONADO PARA LA CROMATOGRFIA
EN COLUMNA SECA CON ELUCION ASCENDENTE"

(Clase Internacional G01n)

201816

30 MAYO 1974



El presente invento debido a los Sres. D. Rafael Pérez Alvarez-Ossorio, D^a M^a Luz Quiroga Feijóo, D. Carlos Alvarez Ibarra, D^a Rosario Haro Ramos, pertenecientes todos al Departamento de Química Orgánica, de la Facultad de Ciencias de Universidad Complutense y a D. Juan Antonio Quesada de la Cruz, se refiere a un nuevo dispositivo para cromatografía en columna seca con elución ascendente.

- ANTECEDENTES DEL INVENTO -

La técnica cromatográfica, en todas sus variantes, resulta ser un procedimiento que hoy día es rutinario en los laboratorios de investigación, tanto a escala analítica como preparativa. No obstante, esta última etapa, la utilización con fines preparativos de la técnica requiere muchas veces una normalización del procedimiento, con sacrificio de los mejores valores logrados en los ensayos analíticos.

Son sobradamente conocidas las dificultades que respecto a la cromatografía en placa fina se observan al intentar reproducir los R_f característicos de los ensayos de placa en una columna provista del mismo adsorbente y eluida con el mismo sistema que permitió la caracterización analítica de los componentes de la mezcla. Estas dificultades, se traducen

201816

30 MAY 1974

en una pérdida de la resolución neta, o en una dismi-
nución de su rendimiento. En todos los casos, las di-
ficultades se solventan a tenor de las necesidades y
la pérdida del rendimiento se ve compensada muchas
5 veces por el interés de la muestra, de ahí que la téc-
nica se convierta más propiamente en un procedimiento
semipreparativo.

La cromatografía en placa preparativa pre-
senta una mejor reproductividad que la efectuada en
10 columna pero sus limitaciones radican en que la dosis
de la muestra problema es función de la cantidad de -
adsorbente depositado.

Por lo incompleto de ambas técnicas, una de
bido al escaso rendimiento de la resolución y la otra
a limitaciones de "carga", todo investigador ha debi-
15 do pensar en conseguir la complementariedad de ambas
en una modificación que presente las ventajas de una
y otra.

La cromatografía en columna seca con elución
ascendente de la muestra presenta las ventajas de la
20 resolución de los ensayos de placa preparativa, y evi-
ta las limitaciones que la relación gramos de muestra,
gramos de adsorbente, imponía a la misma.

Por otra parte, el proceso mediante el cual
25 se separan los componentes de una muestra en la super

201816

30



ficie de una placa recubierta de manera homogénea por un adsorbente, es enteramente reproducido en la columna, por ascenso capilar de la fase líquida a lo largo de la longitud disponible.

5

Los antecedentes de la técnica datan de 1967 (B. Loev y M. M. Goodman, "Chem. Ind. (1967) 48, 2026). Estos autores resuelven mezclas de diferente composición por elución descendente en columna seca, reproduciendo las condiciones de separación observadas en placa fina.

10

Casi simultáneamente a los ensayos de Loev y Goodman antes citados, Bhalla y otros (Journal of Chromatography, 26 (1967) 54-61) introducen una importante modificación a la técnica de cromatografía en placa fina preparativa.

15

Dichos autores preparan el adsorbente de actividad previamente ensayada, y llenan una columna de vidrio cerrada en su extremo por un tapón de goma que retiene el adsorbente sobre un lecho de algodón. Rellena la columna y compactada por vibración o golpeteo, se deposita en su extremo superior la mezcla a separar que puede ser homogeneizada con adsorbente antes de introducirla en la columna. Hecho esto, se dispone encima de la muestra un pequeño espesor de adsorbente. Se cierra este extremo con un papel de filtro que se re-

20

25

24-5-74



tiene alrededor de la columna con un fino cordel de algodón. La expulsión de aire en esta columna se resuelve presionando el adsorbente en cada fase de llenado.

5

Para el desarrollo de la misma, se invierte el sentido de esta y se deposita en el seno del sistema líquido, sustituyendo al mismo tiempo el cierre terminal por otro que va conectado a una bomba de vacío estabilizada para 500 mm de presión.

10

La técnica se sigue en pocos minutos, y al término de su desarrollo se extruye el contenido y se extrae con un artefacto denominado "sooopula". Las zonas de adsorción son detectadas por exposición de estas muestras a los vapores de yodo.

15

Los autores aplicaron la técnica a la resolución de mezclas sintéticas de diferente naturaleza y composición, observado resultados en buen acuerdo con la resolución obtenida en placa fina. El criterio utilizado para seguir la pureza de los compuestos extraídos, es el de tomar sus puntos de fusión. La purificación total se consigue después de una sola recristalización.

20

21

22

23

24

25

Sin embargo, tanto el procedimiento de columna descendente como el de columna ascendente pre-



sentan viertos inconvenientes.

Así en la técnica de cromatografía en columna con elución descendente hay que reseñar:

5 a) resulta inevitable la formación de burbujas en contracorriente con el líquido.

b) La compacidad de la columna observa un gradiente considerable, correspondiendo la menor a la zona superior que es donde se deposita la muestra.

10 c) La deformación del frente de alimentación está ocasionada fácilmente por las causas indicadas en los apartados a y b.

d) el efecto de la gravedad se superpone al de capilaridad, por lo que la reproducibilidad de los ensayos analíticos en placa fina es, de principio, limitada.

15 e) La difusión de zonas es inevitables; esto se traduce en una respuesta poco cuantitativa de la resolución.

20 f) La separación de los frentes adsorbidos (ΔL), es función de la difusión de las zonas; por esta causa, ΔL puede llegar a tener signo negativo con el consiguiente solapamiento de frentes.

25 g) La causa indicada en f) motiva una pérdida de resolución neta.

Frente a estas limitaciones prácticas, el



éxito de la técnica, en contraste con los ensayos en columna húmeda, habla en favor de su utilidad.

5 Las salvedades opinadas no restan motivos para su aplicación, ya que algunas de ellas pueden ser minimizadas por la práctica rutinaria de la técnica.

10 En lo que respecta a la técnica de cromatografía con elución ascendente descrita por Bhalla y otros se cree que frente a la anterior presenta las siguientes ventajas:

a) el fenómeno de capilaridad es el determinante de la separación.

15 b) la formación de burbujas debe seguir flujo paralelo al de la elución, con una deformación del frente menos caótica que en el primer caso.

En cuanto a las limitaciones, que según la opinión de los autores del presente invento cabe atribuir a dicha técnica cabe destacar las siguientes:

20 a) La succión constante limita el uso del sistema líquido a un solo disolvente.

b) esta misma causa puede conducir a la deformación del frente.

25 c) este defecto determina la contaminación de los frentes adsorbidos.

201816



d) el utillaje de esta técnica limita la utilización de columnas a las de tipo rígido: vidrio, cuarzo o nylon.

e) la extrusión obligada del compactado puede determinar la contaminación postoperatoria.

f) la longitud de la columna viene condicionada por el requisito de la extrusión que determina el uso de longitudes pequeñas.

DESCRIPCION DETALLADA DEL DISPOSITIVO

OBJETO DEL INVENTO.

Con el fin de subsanar los inconvenientes anteriormente reseñados para la técnica de la cromatografía en columna con elución ascendente, se hicieron una serie de intentos con diversas formas de la columna hasta obtener un dispositivo mejorado que produjo los resultados más satisfactorios.

En los dibujos que se acompañan la figura 1 representa un primer intento de dispositivo en columna para cromatografía con elución ascendente y alimentación "concéntrica" del líquido.

La figura 2, representa otro dispositivo en sayado para cromatografía en columna con elución ascendente y alimentación "excéntrica" del líquido, y finalmente

201816

30



La figura 3, representa el dispositivo perfeccionado objeto del invento en el cual se obtuvieron los resultados más satisfactorios.

5 A continuación se describirá el dispositivo de la figura 1, haciendo referencia a las partes constitutivas del mismo. Dicho dispositivo con alimentación "concéntrica" consta de un embudo de adición 1 de una tubuladora para paso de líquido 2, una zona para el ad
10 sorbente desactivado y equilibrado 3, un plato de alimentación 4 en donde se situa la muestra a separar, una placa filtrada 5 y la cubeta del disolvente 6, que es la zona constituida por la parte inferior del dispositivo.

15 Con el dispositivo de la figura 1, con el que se intentó subsanar los defectos de la cromatografía descendente antes citados no se obtuvieron resultados satisfactorios, debido a que la presión hidrostática, además de ser variable, rebasa en su máximo la velocidad de ascensión capilar, con lo que se crea un flujo turbulento en su desarrollo con un resultado negativo global. Además un inconveniente de tipo práctico es el hecho de que la columna de líquido está oculta a la
20 visión.

25 Para evitar el defecto anterior se ensayó el dispositivo de la Figura 2 que tiene como característi

201816

201816

30 MAY 1974



ca principal la alimentación excéntrica del disolven
te, con una sola tubuladura lateral para la purga de
burbujas y que al mismo tiempo cumple la función de
medidor del nivel del líquido. En dicha figura puede
5 verse el embudo de adición 1 que conecta con la cube-
ta de disolvente 2, por encima de la cual parte la tu-
buladura lateral 3 antes citada. El cuerpo 4 es una cu-
beta de vidrio que contiene el adsorbente desactivado
y equilibrado 5 y la zona 6 representa el lugar donde
10 se deposita la muestra a separar. La zona representada
por 8 corresponde a el recinto encerrado por una envol-
vente de plástico flexible y transparente rellena de -
adsorbente que se empotra en la cubeta de vidrio 4.

15 Sin embargo para la salida del aire que ini-
cialmente se forma en la elución se comprobó que no -
era suficiente una sola tubuladura, existiendo además
el inconveniente de que se perdía el líquido que rebo-
sa de la misma.

20 Después de ensayar los dos dispositivos an-
tes citados se llegó al dispositivo de la figura 3 que
constituye la realización preferida del invento.

25 Dicho dispositivo como puede verse en la fi-
gura 3 mencionada en vista frontal y en planta consta
de un embudo de adición 1, una cubeta de disolvente 2
que constituye la parte inferior del cuerpo de vidrio

11:5:76

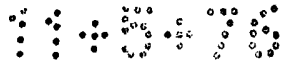
201816 30



representado por la línea de trazo grueso, una pluralidad de tubuladuras laterales 3 (que en la figura son tres) existiendo además una tubuladura lateral 4 medidora de nivel que como puede apreciarse comunica con el tubo de unión que conecta el embudo de adición 1 con la cubeta 2. Encima del cuerpo de vidrio que constituye la cubeta con las tubuladuras se empotra una tripa de plástico de altura variable en la que se deposita adsorbente desactivado y equilibrado 5, el cual también se encuentra en la zona representada por 6 situada entre la muestra a separar 7 y la placa filtrante 8.

En dicho diseño optimizado el medidor de nivel alcanza una altura que por lo menos es 2 cm inferior a la zona en que se deposita la muestra con lo cual se reproducen las condiciones de elución en la placa fina. El desarrollo es lento y la altura del adsorbente que se dispone entre la placa y la muestra asegura la buena simetría del frente eluido.

Con el dispositivo perfeccionado objeto del invento se ha conseguido resolver mezclas de alcoholes diastereoisómeros acíclicos de enorme dificultad, como se describe en la publicación de algunos de los autores del invento hacen para "Anales de Química de la Real Sociedad Española de Física y Química" - número de homenaje al profesor Lora-Tamayo (en prensa) -.



201816

30 MAY 1974



Como es evidente para los expertos en la técnica son evidentes variaciones y modificaciones del invento sin salirse del alcance de las reivindicaciones siguientes.

5

- REIVINDICACIONES -

10

Los puntos que como característica de novedad se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Modelo de Utilidad en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

15

1º.- Dispositivo perfeccionado para cromatografía en columna seca con elución ascendente del tipo constituido por un embudo de adición, una cubeta de disolvente, una tubuladora para paso de líquido y una placa filtrante, caracterizado porque el embudo de adición y la tubuladora para el paso del líquido se encuentran al exterior de la columna propiamente dicha y en comu-

20

25

24-5-74.

11:54:78 201890

30 MAY



5 nicación con ella, por su parte inferior, porque existe una pluralidad de tubuladoras laterales para la purga de burbujas de aire espaciadas en torno al cuerpo de la columna y porque además existe una tubuladora lateral medidora de nivel.

2ª.- Dispositivo según la reivindicación 1ª, caracterizado porque las tubuladuras de purga parten del cuerpo de la columna propiamente dicha por debajo de la placa filtrante.

10 3ª.- Dispositivo según las reivindicaciones 1ª o 2ª, caracterizado porque el medidor de nivel alcanza una altura inferior a la de la zona en la que se deposita la muestra.

15 4ª.- Dispositivo según las reivindicaciones 1ª o 2ª, o 3ª, caracterizado por una altura variable de columna de envolvente plástica flexible y transparente.

5ª.- DISPOSITIVO PERFECCIONADO PARA LA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA SECA CON ELUCION ASCENDENTE".

20 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

25

24-5-74.

11+5+78

30 M



201816

Esta Memoria consta de catorce hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 30 MAYO 1974

P.A.

5

Fernando de Narbonne
Per Poder.

24-5-74

juj



30 MAYO

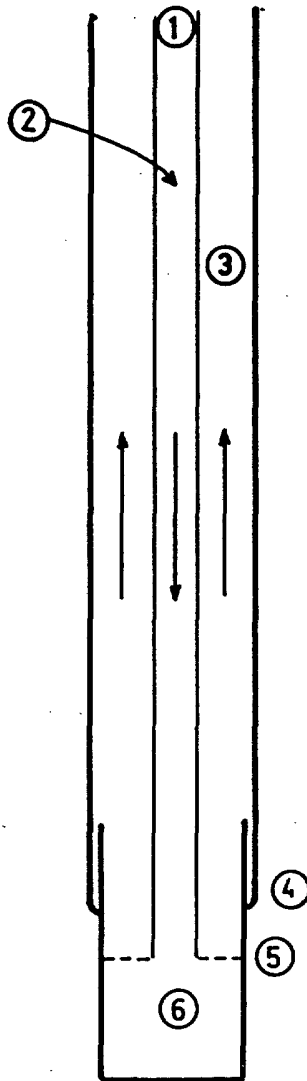


Fig. 1

Fernando de Elizaburu
Per Poder.

MCGO: HAO



201816

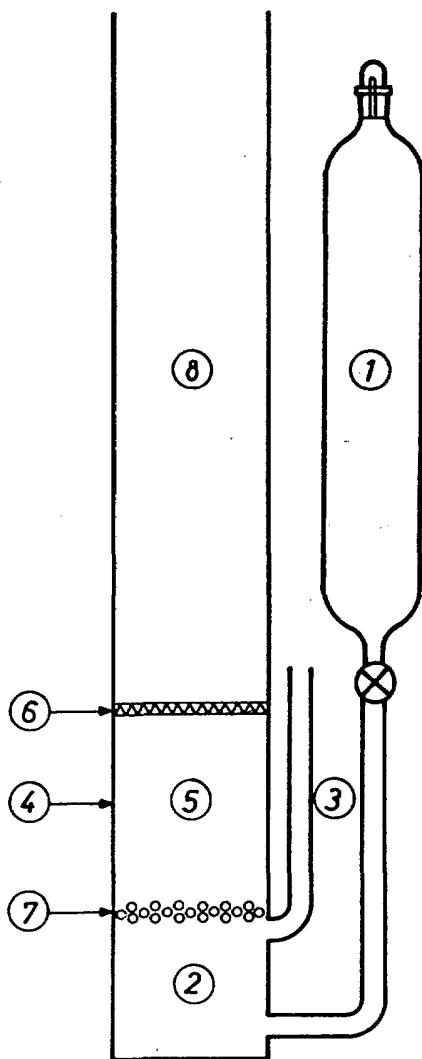


Fig. 2

Fernando de Elaburu
Per Poder.

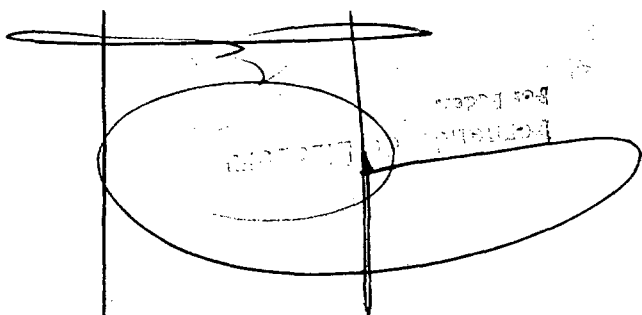
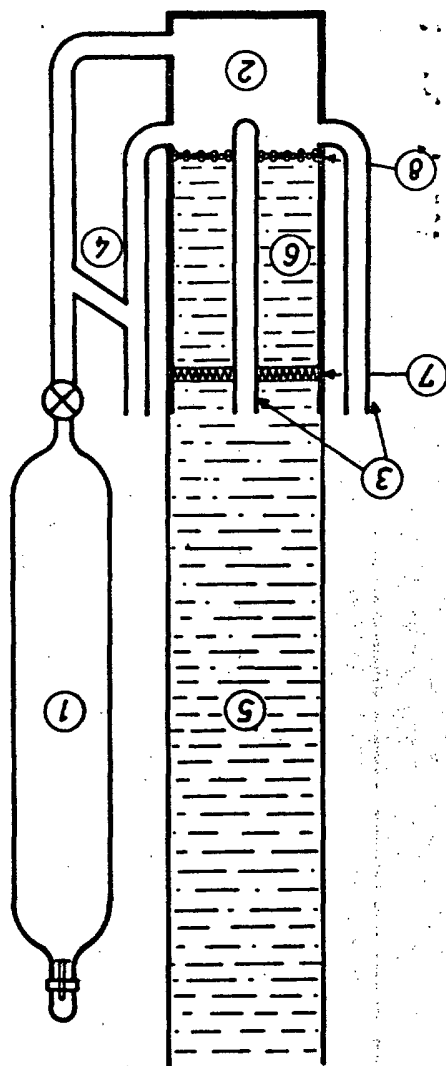
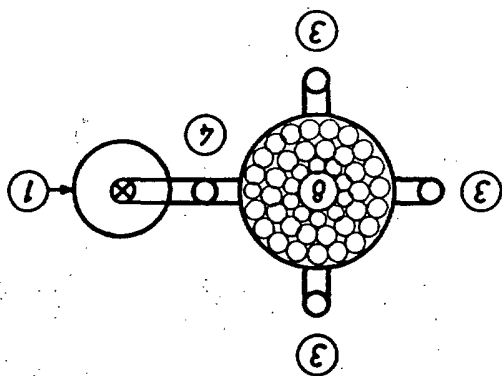


Fig. 3



MOD. 1

201810

14570

III/III

UNIVERSITY OF TORONTO