

Efecto de la solución amortiguadora de pH en la selectividad cromatográfica de compuestos ácido-base.

Xavier Subirats, Martí Rosés y Elisabeth Bosch

Departament de Química Analítica – Universitat de Barcelona
C/ Martí i Franquès 1-11, 08028 Barcelona

1. INTRODUCCIÓN

Es bien sabido que el pH de la fase móvil es una variable fundamental en la separación de sustancias ionizables en cromatografía de líquidos, ya que de él depende el grado de ionización de los analitos presentes en la mezcla problema. En el desarrollo de métodos analíticos se requiere pues, ejercer un control eficiente sobre el pH mediante la elección de un tampón adecuado. En cromatografía de líquidos en fase inversa, suelen usarse soluciones hidro-orgánicas tamponadas como fases móviles. Habitualmente éstas suelen prepararse añadiendo el volumen adecuado de un disolvente orgánico, típicamente acetonitrilo o metanol, sobre una solución acuosa tamponada. Sin embargo, fases móviles del mismo contenido en modificador orgánico y preparadas a partir de soluciones acuosas del mismo pH pero que contienen ácidos distintos como reguladores del pH, pueden presentar valores de pH significativamente diferentes. Consideremos el ejemplo mostrado en la Figura 1. Se inyectó una mezcla de sustancias con propiedades ácido-base, de pK_a cercano a 8, en dos fases móviles distintas que contenían un 60% de acetonitrilo. Ambas fases móviles se prepararon añadiendo el volumen adecuado de acetonitrilo a soluciones acuosas tamponadas del mismo pH (8,00), pero preparadas a partir de distintas especies reguladoras del pH: $H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$ y NH_4^+ / NH_3 . Podemos observar en la Figura 1 que los tiempos de retención para dos de los cuatro analitos son significativamente distintos y, en función del tampón utilizado, se obtienen diferentes perfiles de elución. Este fenómeno también se produce en fases móviles que contengan metanol como modificador orgánico, tal y como se desprende de los cromatogramas mostrados en la Figura 2. ¿Cuál es el motivo del cambio de selectividad en los ejemplos descritos? La respuesta la encontraremos al final del artículo, pero antes de llegar a ella deberemos hacer algunas consideraciones prácticas sobre la medida del pH en fases móviles hidro-orgánicas y sobre las variaciones del pK_a de ácidos y bases con la adición de modificador orgánico.

Estos ejemplos no son gratuitos, sino que responden a cambios de selectividad comúnmente observados cuando se modifican las condiciones experimentales de un determinado procedimiento analítico en el que estén involu-

crados analitos ácidos o básicos y fases móviles tamponadas. Los casos seleccionados aquí son ejemplos académicos y algo extremos, pero ilustrativos. La consideración detenida de las causas de los cambios de selectividad descritos ha de permitir la interpretación correcta de las variaciones de retención observadas en el trabajo cotidiano al modificar, en ocasiones incluso muy ligeramente, las condiciones de elución cromatográfica.

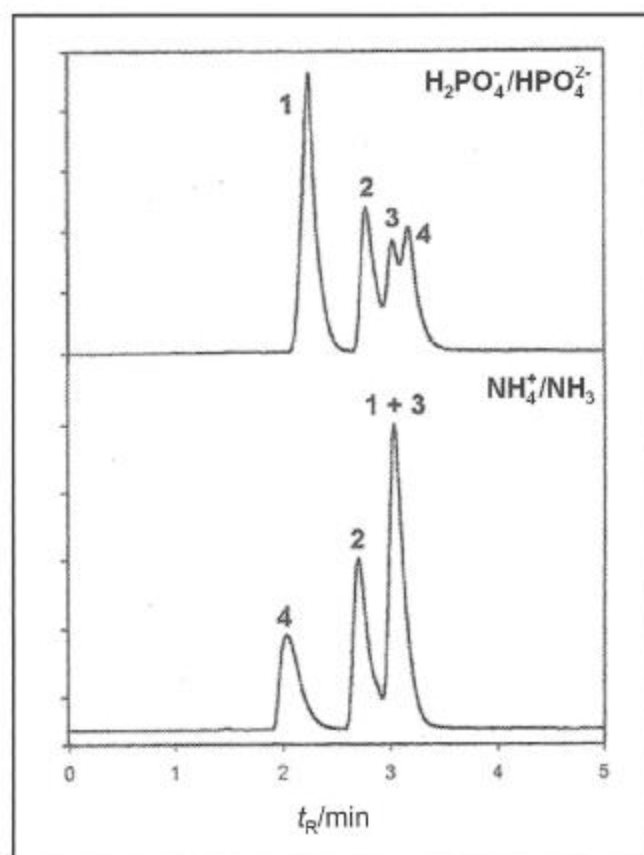


Figura 1. Elución de una mezcla de compuestos ionizables en dos fases móviles preparadas a partir de soluciones reguladoras acuosas de $H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$ o NH_4^+ / NH_3 , ambas de pH 8,00 y concentración $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Analitos: (1) 2-nitrofenol, (2) 2,4,6-trimetilpiridina, (3) 3-bromofenol y (4) *N,N*-dimetilbencilamina. Condiciones cromatográficas: $1 \text{ mL}/\text{min}$, 60% de acetonitrilo en volumen, XTerra MS C_{18} $5\text{-}\mu\text{m}$ ($15 \text{ cm} \times 4,6 \text{ mm}$).