

Mijail Semionovich Tsvet y la Cromatografía

Dorothy Bojorquez
A. Gómez



Fig: MIJAIL SEMIONOVICH TSVET (1872-1919).

María de la E. Astorga Cantú,
Enrique González Vergara,
María de la Paz Elizalde González*

El progreso de la ciencia frecuentemente depende del desarrollo de nuevos métodos.

C. Bernard.

MIJAIL SEMIONOVICH TSVET nació el 14 de mayo de 1872, en una pequeña población al norte de Italia. Su padre fue el ruso Semion Nikolayevich Tsvet, y su madre la italiana María Dorozza.

M. Tsvet creció en el seno de una familia ortodoxa, la cual se trasladó a Suiza, en donde Mijail realizó sus estudios. Ingresó en la Facultad de Ciencias Naturales en la Universidad de Ginebra en donde mostró un claro interés por la botánica, la química y la física.

En 1894 recibió el premio DEBY por su trabajo "Anatomía de las plantas". Al siguiente año concluyó sus estudios universitarios e ingresó al doctorado. En el mes de Junio viajó a Rusia y radicó un tiempo en Simferopol. En este mismo año presentó su disertación doctoral —misma que preparó y publicó en la Universidad de Ginebra— recibiendo su diploma de doctor en Ciencias Naturales por su publicación "Investigación de la Fisiología Celular. Materiales para el Conocimiento del Movimiento del Protoplasma, las Membranas Plasmáticas y los Cloroplastos".

Los primeros años en Rusia no fueron fáciles, pues su grado de

* Maestría en Química, Departamento de Química, Instituto de Ciencias, Universidad Autónoma de Puebla.

doctor no fue reconocido y se vio obligado a trabajar nuevamente para doctorarse. Primero defendió, en la Universidad de Kasan, su tesis "Estructura Fisicoquímica del Gránulo de Clorofila", con este trabajo obtuvo el grado de maestro en ciencias en botánica. Posteriormente con el trabajo "Cromófilos en el Mundo Animal y Vegetal", obtuvo en la Universidad de Varsovia el grado de doctor en botánica.

Finalmente se estableció en Varsovia en donde primero fue asistente, luego maestro asociado y finalmente profesor de la Universidad, en la Escuela de Medicina.

Prácticamente todo el trabajo de su vida, estuvo centrado en investigaciones relacionadas con la clorofila (fig. 1).

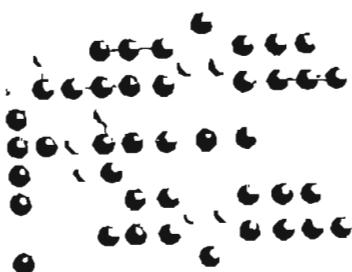


Fig. 1: Representación esquemática de la molécula de clorofila.

Hacia fines del siglo XIX muchos científicos mostraron gran interés en el estudio de los pigmentos vegetales, pero M. Tsvet, prestó particular atención al problema de la clorofila -pigmento verde de las plantas-, pues siempre estuvo seguro de que no era una sustancia simple. Persistió en encontrar un método físico y químico para la separación de mezclas complejas, realizó múltiples experimentos y trabajó arduamente hasta que encontró el método deseado.

En el XI Congreso de Científicos Naturalistas y Médicos rusos en

1901, M. Tsvet presentó la ponencia "Métodos y Tareas de la Investigación Fisiológica de la Clorofila", donde muestra su método de adsorción y muestra el fenómeno fundamental. Es así como el fenómeno de la cromatografía quedó demostrado en 1901, aunque desafortunadamente publicaron incompleto su trabajo en 1902.

Exigente consigo mismo, M. Tsvet trató de perfeccionar su método acumulando más experimentos. Con los resultados de éstos presentó en 1903 la ponencia "Sobre una Nueva Categoría de Fenómenos de Adsorción y su Aplicación en el Análisis Bioquímico", en la sección de botánica de la Sociedad de Científicos Naturalistas en Varsovia, esta ponencia origina a la vez dos artículos que se publicaron en 1906 en la revista periódica alemana *Berichte*: "Investigación Fisicoquímica de la Clorofila, Adsorción" y "Análisis de Adsorción y Métodos Cromatográficos. APLICACIÓN A LA QUÍMICA DE LA CLOROFILA".

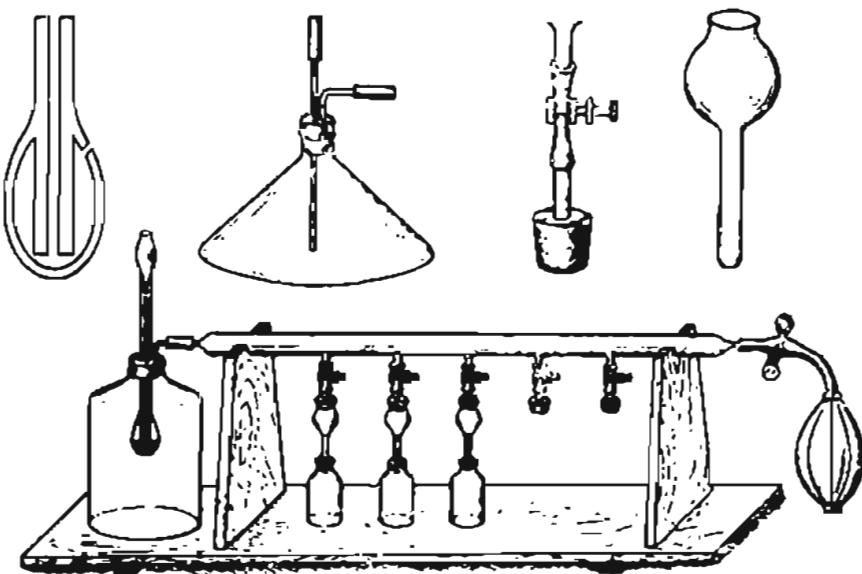
M. Tsvet escribió:

Cuando una solución de pigmentos verdes en éter de petróleo se percola por una columna de adsorbente, los pigmentos se dis-

tribuyen en varias zonas coloreadas desde la parte superior hasta la inferior, ya que los más fuertemente adsorbidos desplazan a los que están más débilmente adsorbidos y los obligan a descender aún más. Yo utilicé como adsorbente carbonato de calcio fuertemente apretado en el interior de un tubo de vidrio (Fig. 2)

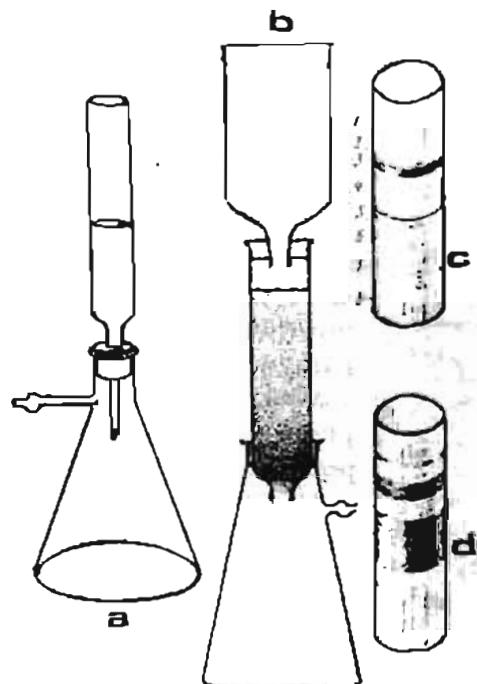
Esta separación se considera prácticamente concluida cuando después de que la solución ha percolado totalmente, se percola el disolvente puro a lo largo de la columna. De manera similar a como se separa la luz blanca al refractarla en un prisma, así los diferentes componentes de una mezcla de pigmentos, se separan siguiendo un orden específico en la columna de carbonato de calcio y se les puede determinar tanto cualitativa como cuantitativamente. A este preparado coloreado lo he llamado "Cromatograma" y al respectivo método de análisis "Método Cromatográfico" (Fig. 3).

Podría parecer extraño que M. Tsvet restringiera primero sus métodos a sustancias coloreadas pero posteriormente aclaró que era evidente que los fenómenos de ad-



Первая хроматографическая установка, созданная М. С. Цветом, и ее основные части

Fig. 2: Primer cromatógrafo creado por M. S. Tsvet, y las partes que lo forman.



- a. Para el análisis de pequeñas cantidades de sustancia.
 - b. Para la obtención de grandes cantidades de muestra.
 - c. Cromatograma de pigmentos naturales en hojas verdes.
 - d. Extracción de los mismos pigmentos.
- Zonas diferenciadas en el primer cromatograma.
1. Incolora (partículas coloidales de clorofila).
 2. Amarilla ($\text{xantófilas-}\beta$).
 3. Amarillo verdoso (clorofilina- β).
 4. Azul-verdoso (clorofila- α).
 5. Amarilla ($\text{xantófilas }\alpha \text{ y }\alpha'$).
 6. Incolora.
 7. Amarillo-naranja ($\text{xantófila-}\alpha$).

Fig. 3: Primer cromatograma de clorofila obtenido por M. S. Tsvet.

sorción descritos anteriormente no se limitaran a compuestos clorofílicos y cabía suponer que todos los tipos de compuestos cromáticos e incoloros se hallaban sujetos a las mismas leyes.

Los experimentos de M. Tsvet, con los cuales pudieron separarse sustancias y mezclas complejas con ayuda de un tubo lleno de adsorbente, no sólo iniciaron el ataque al misterio de la clorofila, sino que fundamentaron un nuevo método de separación.

Una de las principales ventajas del método fue su relativa simpleza; pero desafortunadamente esta cualidad no fue apreciada por sus contemporáneos. De 1906 a 1931, la columna de Tsvet se utilizó sólo en pocas y esporádicas investigaciones (Fig. 4 y 5).

De hecho con anterioridad varios investigadores tuvieron contacto con el fenómeno, se tienen antecedentes de que Plinio (23-79 D.C.), para identificar sulfato ferroso sobre papiro utilizaba taninos como agentes cromóforos a manera de cromatografía en papel. En el siglo pasado entre 1850 y 1910 Runge, Schönbein y Goppelsroeder lograron con sus trabajos una técnica parecida a la cromatografía en papel a la cual llamaron "Análisis capilar". El que más cerca estuvo de descubrir el método fue quizás David Talbot Day, él demostró en 1897 que cuando se pasan a través de greda (arcilla arenosa) fracciones de petróleo crudo, éstas se separan en diferentes zonas ubicadas en un sitio determinado. Sus resultados los reportó en el Primer Congreso Internacional del Petróleo. Sin embargo, a pesar de que D. T. Day reconoció el potencial analítico del

proceso investigado, él y sus colaboradores interpretaron incorrectamente la base fisicoquímica de la separación llámándole "Proceso de Difusión Capilar". Esta es la razón principal por la que en la actualidad, M. Tsvet y no D. T. Day es reconocido como el inventor de la cromatografía.

El mérito de M. Tsvet es la generalización de la técnica como método analítico y la investigación detallada del papel que juegan tanto los adsorbentes como los solventes en el método. En su trabajo probó sistemáticamente un gran número de solventes capaces de extraer los pigmentos de la materia vegetal y más de 100 sustancias sólidas capaces de retardar la selección de pigmentos individuales a través de la adsorción; también dedujo un número importante de reglas para el fenómeno de adsorción.

Como puntualizó L. Zechmeister: "El resultado de M. Tsvet es superior al de D. T. Day en dos aspectos: Primero, él reconoció e interpretó correctamente el proceso cromatográfico; y, segundo, él planeó un método útil en el laboratorio que incluye como principal

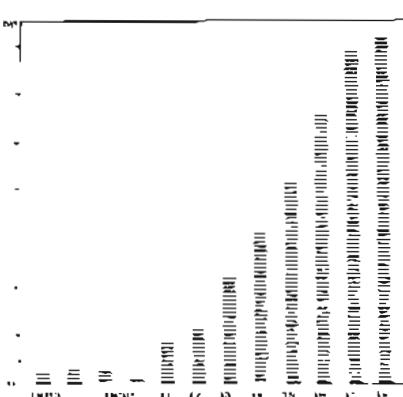


Fig. 4:
Crecimiento del número de publicaciones de trabajos que aplicaron el modelo de M. S. Tsvet en el período 1903-1938.

característica el desarrollo de cromatogramas por solventes puros."

En realidad su productividad científica fue de aproximadamente 15 años, durante los cuales publicó cerca de 40 artículos y un li-

bro. De ellos sólo 3 o 4 pertenecen estrictamente a el área de la botánica y el resto son de gran interés químico enfocados de una u otra forma a los pigmentos de mezclas complejas extraídas de plan-

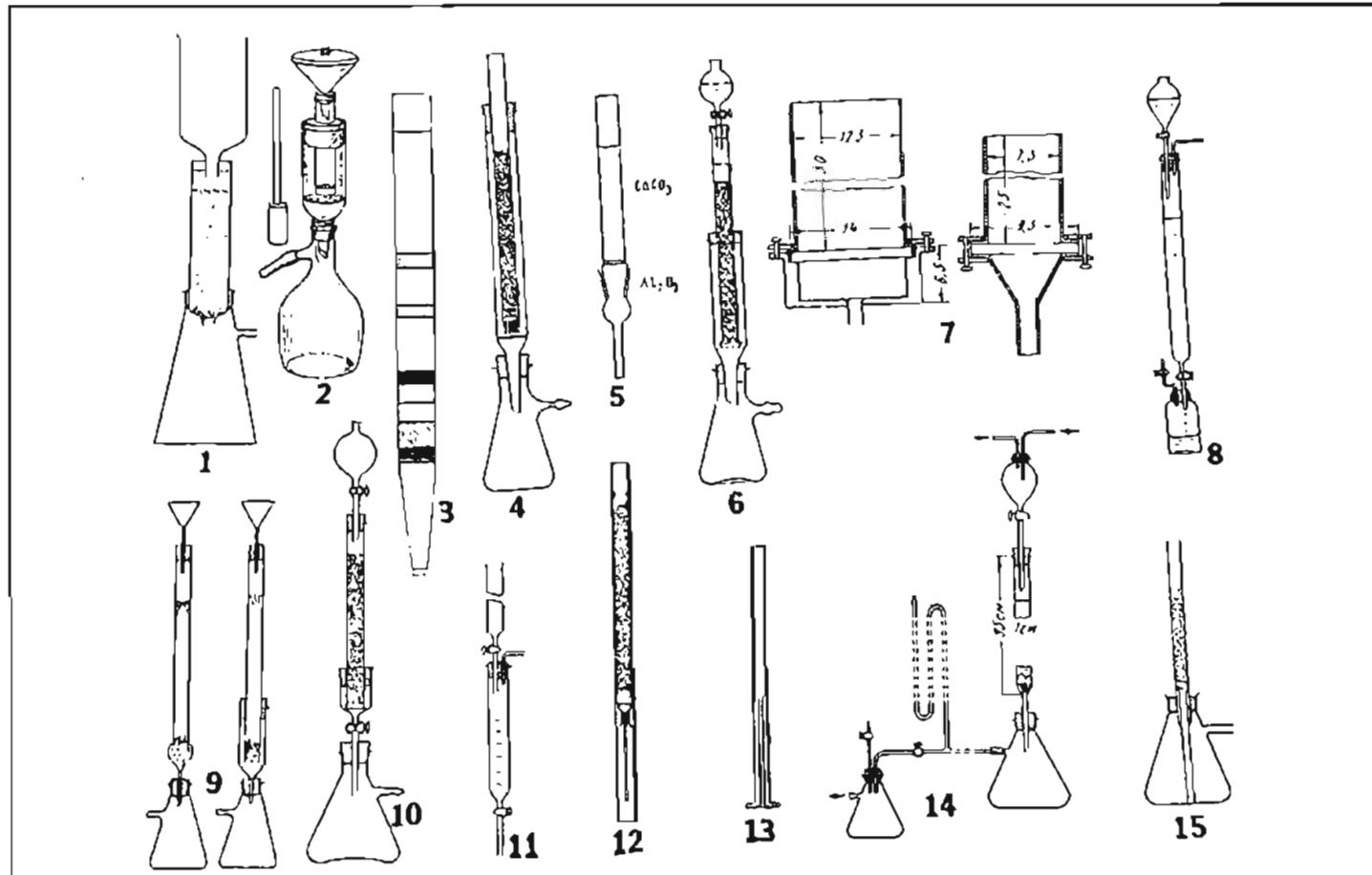
tas. En los trabajos de M. Tsvet, se puede observar la gran disciplina y el dominio de técnicas de investigación, una gran madurez y claridad en sus explicaciones y la capacidad de hacer contribuciones importantes a la ciencia.

El 16 de septiembre de 1908 contrajo nupcias con Helena Aleksandrova Trusevich, la cual le sobrevivió hasta el año 1922 y gran parte de la información de la vida y la obra de M. Tsvet se debe a ella, pues guardó celosamente la correspondencia de su esposo.

Cuando la armada alemana ocupó Varsovia en 1915, M. Tsvet se trasladó con el Instituto Tecnológico a Nisshnii Novgorod, hoy Gorki. Todo su archivo y libros se quedaron en Varsovia donde finalmente se perdieron. Enfermó seriamente y estuvo recuperándose en el Cáucaso por algún tiempo. Más tarde aceptó la dirección del Jardín Botánico de la Universidad de Yurev, hoy Tartu; pero a finales de 1918 la Universidad fue eva-

Fig. 5: Transformaciones de la columna cromatográfica de Tsvet en diferentes investigaciones

No.	Año	Autores
1	1901	M. S. Tsvet.
2	1912	S. Deré y V. Rogovskii.
3	1914	L. Palmer y K. Ekles.
4	1916	G. Vezhetsi.
5	1932	R. Kuhn y Brockman.
6	1933	A. Winterstein y G. Stein.
7	1934	A. Winterstein y K. Shoen.
8	1935	G. Holmes, G. Cassidy, P. Manli y E. Gartser.
9	1935	G. Muller y V. Hemmerle.
10	1936	G. Hesse.
11	1936	G. Valentein y R. Frank.
12	1936	G. Hesse.
13	1936	E. Becker y K. Shoeps.
14	1937	I. Heilbronn.
15	1938	G. Wilstaedt y T. Witt.



cuada a Voronezh, ante el avance de las tropas alemanas. Aquí llegó a ser uno de los primeros profesores, a pesar del deterioro de su salud. Impartía sus clases sentado en un escritorio, pero mostrando siempre su gran intelecto y utilizando frases estrictamente consistentes. En ese tiempo su enfermedad avanzó hasta que finalmente el 26 de junio de 1919 murió en Voronezh, probablemente de una enfermedad cardíaca. Fue enterrado en el cementerio vecino del monasterio de Alexey, pero sus restos se perdieron durante la destrucción del monasterio en la Segunda Guerra Mundial. En julio de 1969 se colocó una placa en su memoria en la casa número 20 de la calle Batuinskaya, dice: "Aquí vivió el prominente científico ruso Mijail Semionovich Tsvet, 1872-1919".

El descubrimiento de M. Tsvet ha sido de tal trascendencia, que podríamos equivocadamente pensar que recibió varios premios y que le fue reconocido en vida su aportación, sin embargo no fue así.

Todos sabemos que gracias a su descubrimiento han sido posibles grandes trabajos que han sido galardonados con el premio Nobel. Es así como un grupo de científicos reconocedores del trabajo de todos aquellos que de alguna forma hacen aportaciones importantes a la cromatografía, insituyeron en el año de 1976, la medalla Tsvet (Fig. 6).

La cromatografía, como hoy la conocemos, es el resultado del trabajo de muchos científicos; y frente a otros métodos de separación ocupa el primer plano, ya que cuenta con versiones muy sencillas y accesibles, que utilizan cantidades de muestra relativamente pequeñas como en el caso de: la cromatografía en papel, en capa fina, de afinidad, de exclusión, de intercambio iónico, y otras versiones en donde el tiempo de análisis puede ser extremadamente corto como en la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos de alta resolución.



Fig 6: La medalla T.

La cromatografía se ha constituido firmemente como un método primordial tanto analítico como preparativo. Así, igual se utiliza en la química forense para la detección de venenos, que en la detección de contaminantes ambientales.

En bioquímica, genética y bioinorgánica la cromatografía se ha convertido en un método poderoso en la purificación y caracterización de proteínas, nucleótidos, enzimas, etc. Así mismo en medicina y farmacología, resulta un método analítico de suma utilidad en el diagnóstico clínico de diversas enfermedades y por lo tanto puede ayudar en su tratamiento y prevención.

La cromatografía constituye también una herramienta fundamental en el terreno fisicoquímico, tanto en cinética como en catálisis. En estudios de adsorción, en la determinación de constantes de partición, en investigación de fuerzas de interacción como enlaces por puente de hidrógeno, en la determinación de parámetros texturales

de sólidos, estructura química (cromatoscopía), formación de complejos, determinación de parámetros fisicoquímicos de gases y líquidos (presión de vapor, calor de evaporación, coeficiente de difusión, el peso molecular, etc.). De aquí es fácil darnos cuenta de la gran importancia que ha cobrado el método cromatográfico, en las diferentes áreas de la química.

La cromatografía constituye un ejemplo vivo de la verdad de la declaración de C. Bernard. Sólo la mente fértil de Tsvet pudo prever el gran avance que dieron y darán en el futuro las aplicaciones cromatográficas al conocimiento científico.

Bibliografía

1. Historia de la Cromatografía. (Tesis) ASTORGA C. M. y ELIZALDE G. M. P. Maestría en Química del I.C.U.A.P., 1989.
2. MIJAIL SEMIONOVICH TSVET. SU VIDA Y SU OBRA. (Audiovisual). ASTORGA, C. M. y ELIZALDE G. M. P. Maestría en Química del I.C.U.A.P., 1990.