

EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO

Esta técnica se utiliza cuando la diferencia entre los puntos de ebullición de los compuestos de una mezcla es pequeña, pero existe una marcada diferencia en sus solubilidades relativas en distintos solventes orgánicos.

La distribución diferencial o disolución selectiva o partición de un soluto o analito entre dos fases líquidas inmiscibles, en virtud de sus solubilidades relativas en ambos líquidos, es la base de los procesos extractivos.

Esta distribución está regida por la **Ley de NERNST**: *“A temperatura constante cualquier soluto se distribuirá entre dos solventes inmiscibles (sistema líquido bifásico) de forma tal que la relación de las concentraciones de equilibrio de la especie en una y otra fase es igual a una CONSTANTE, a esta constante la denominamos Constante de Distribución, Constante de Reparto o Coeficiente de Partición”*

$$Kd = \frac{\text{Conc. de analito en fase orgánica}}{\text{Conc. de analito en fase acuosa}}$$

Fase orgánica: solvente utilizado para la extracción

Fase acuosa: constituida por la solución muestra

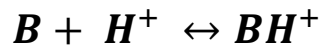
Hablamos de “**Constante de Reparto**” porque efectivamente uno o más solutos se reparten en cada fase del sistema de líquidos inmiscibles según las solubilidades relativas que tengan en cada uno de ellos, llegando a un equilibrio. Es decir, la partición si se mantienen las condiciones del sistema (temperatura, naturaleza de los solutos y naturaleza de los líquidos) se dará siempre de la misma forma por lo cual el cociente de las concentraciones en una y otra fase, llegado al equilibrio, tendrá un **valor constante**.

La extracción líquido-líquido discontinua es una técnica ampliamente utilizada en las Sistemáticas Analíticas aplicadas a Tóxicos Orgánicos Fijos. Estas familias de especies tóxicas tienen puntos de ebullición relativamente altos por lo que no pueden ser aislados de sus matrices originales (muestras biológicas y no biológicas) por técnicas como la destilación simple, la microdifusión o head space, que si permiten la separación de principios volátiles, que presentan puntos de ebullición bajos y alta presión de vapor.

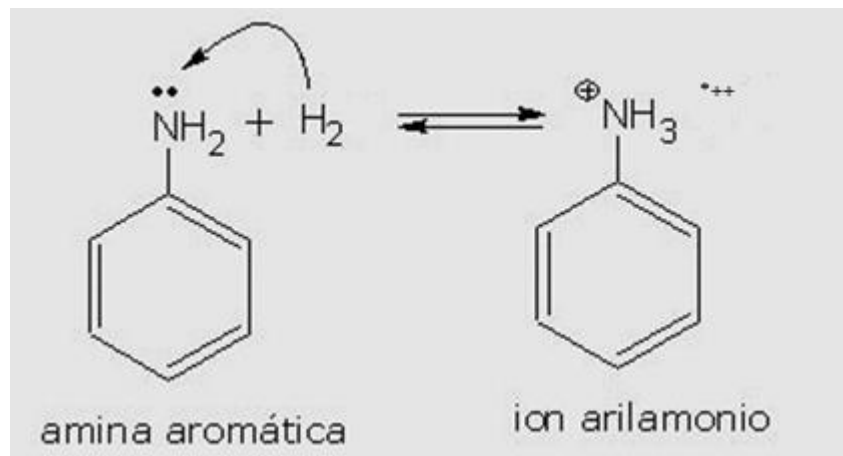
En la optimización de un proceso extractivo líquido-líquido deben considerarse ciertas variables, a saber:

1. Estructura Molecular Soluta - Solventes: “lo semejante disuelve a lo semejante”, un compuesto orgánico será soluble en otro si está químicamente emparentado con él, es decir, los dos principios deben pertenecer (entre otras exigencias) a la misma serie homóloga o a series con ciertas propiedades comunes.

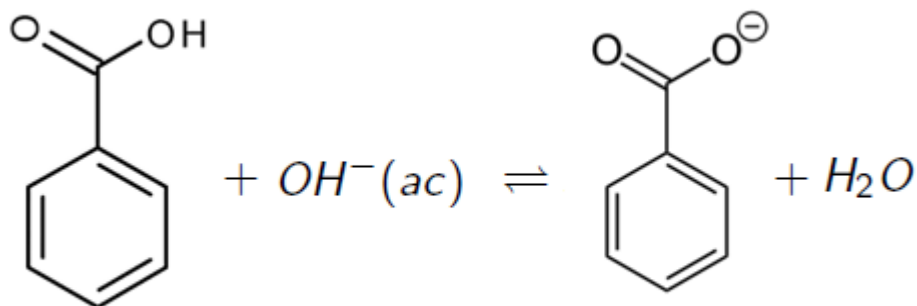
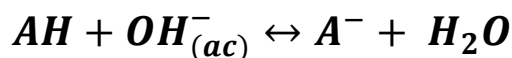
2. Valor de pH de fase acuosa (muestra a extraer). El valor de pH debe ser acorde a los principios que se desean separar de la matriz original, teniendo como premisa que los solutos con carga neta son solubles en agua por interacciones electrostáticas con las moléculas de agua que tienen dos enlaces polarizados. Para que un soluto sea soluble en solventes orgánicos y pueda ser extraído de la fase acuosa debe estar en su forma neutra, no iónica. Esto implica que para separar compuestos de carácter ácido se acondicionará el valor de pH a 3 o 4, para asegurar que no se produzca la disociación de los grupos carboxilo, porque existe un exceso de protones en el medio acuoso. Para separar compuestos de carácter alcalino se acondicionará el valor de pH a 9, para asegurar que no se produzca, por ejemplo, la protonación de grupos amino de las bases a extraer (lo que significaría la adquisición de una carga neta positiva lo que hace inviable su disolución en solventes orgánicos), el pH 9 implica la presencia en el medio acuoso de un exceso de oxhidrilos. Si los principios de carácter alcalino están a pH ácido se verifica la siguiente reacción:



El producto de la reacción BH^+ tiene carga neta y no podrá ser extraído



Si un soluto de carácter ácido está en medio acuoso a pH alcalino se produce la disociación con generación del anión del ácido, que tendrá carga neta negativa y no podrá ser extractado con solventes orgánicos por ser muy soluble en agua:



3. Fuerza iónica de fase acuosa: Se puede mejorar el rendimiento de los procesos extractivos si se adiciona a la muestra un electrolito fuerte (hidrosales) como, por ejemplo, cloruro de sodio. Los iones sodio y cloruro en solución interaccionan electrostáticamente con las moléculas polarizadas de agua y debilitan de esta forma los enlaces intermoleculares de los solutos con el agua que los mantenían en solución, esto facilita el paso de las sustancias de interés toxicológico al solvente de extracción.

4. Área superficial expuesta: Cuando se quiere extraer el principio activo presente en un comprimido de una especialidad farmacológica o un comprimido que contiene (presuntivamente) una droga de diseño, se pueden adoptar dos técnicas: una es someter a extracción con solvente orgánico directamente al comprimido, la otra técnica requiere la disolución previa del comprimido en agua, se ajusta el pH de esta disolución y se practica entonces una extracción líquido-líquido. Tanto en una como en la otra se requiere que el comprimido sea transformado en un fino polvo, previo a ser extractado. Esto se funda en que el área superficial que estará expuesta a la acción del solvente aumenta significativamente cuanto más pulverizado se encuentre el comprimido sólido original y en el caso de la previa disolución en agua, la reducción a polvo facilita la disolución.

5. RENDIMIENTO DE UN PROCESO EXTRACTIVO

Como ya señaláramos y según la Ley de Nernst, la Constante de Distribución de un soluto que se reparte en un sistema bifásico de líquidos inmiscibles, viene dada por la relación que existe de concentraciones de ese soluto entre una y otra fase, en condiciones de equilibrio y a una dada temperatura. El “Rendimiento” de un proceso extractivo puede elevarse si se practican sobre la misma muestra dos o más extracciones sucesivas. Esto se puede demostrar matemáticamente:

Partimos de la expresión de la Constante de Distribución:

$$Kd = \frac{\text{Conc. de analito en fase orgánica}}{\text{Conc. de analito en fase acuosa}}$$

Fase orgánica: solvente utilizado para la extracción

Fase acuosa: constituída por la solución muestra

Definimos las siguientes **variables**:

W_0 = masa de soluto en la solución original (muestra sin extraer)

W_1 = masa de soluto remanente en la muestra luego de una primera extracción

W_0 = masa de soluto remanente en la muestra luego de una segunda extracción

V_o = volumen de solvente extractante

V_{ac} = volumen de fase acuosa

Planteamos la expresión de la Constante de Distribución con las variables definidas, asumiendo que terminamos de hacer una primera extracción líquido-líquido y que ya se ha llegado a **condición de equilibrio** (en esta condición ya no hay cambios netos en las concentraciones del soluto en una y otra fase por eso su cociente da un valor constante):

$$Kd = \frac{\text{Conc. de analito en fase orgánica}}{\text{Conc. de analito en fase acuosa}}$$

Entonces:

$$Kd = \frac{\frac{W_0 - W_1}{V_o}}{\frac{W_1}{V_{ac}}}$$

Reordenamos el cociente:

$$Kd = \frac{(W_0 - W_1) \cdot (V_{ac})}{V_o \cdot W_1}$$

Operamos el numerador de la fracción, aplicando propiedad distributiva:

$$Kd = \frac{W_0 \cdot V_{ac} - W_1 \cdot V_{ac}}{V_o \cdot W_1}$$

Pasamos el denominador multiplicando al primer miembro de la ecuación (Kd):

$$Kd \cdot V_o \cdot W_1 = W_0 \cdot V_{ac} - W_1 \cdot V_{ac}$$

Pasamos el término $W_1 \cdot V_{ac}$ sumando al primer miembro de la ecuación:

$$Kd \cdot V_o \cdot W_1 + W_1 \cdot V_{ac} = W_0 \cdot V_{ac}$$

En el primer miembro de la ecuación sacamos factor común W_1 :

$$W_1(Kd \cdot V_o + V_{ac}) = W_0 \cdot V_{ac}$$

Finalmente despejamos la variable W_1 :

$$W_1 = \frac{W_0 \cdot V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})}$$

Ecuación I

Como puede observarse en la **Ecuación I**, el cociente del miembro derecho tiene siempre un valor **menor que 1** porque el denominador “ $(Kd \cdot V_o + V_{ac})$ ” es un valor mayor que el del numerador “ V_{ac} ”. Esto indica que el valor de W_1 (recordemos que es la masa de soluto remanente en fase acuosa luego de practicada una extracción) será siempre una fracción menor que W_0 , que es la masa de soluto existente en la muestra (fase acuosa) original antes de que se practiquen los ensayos extractivos.

Después de un primer ensayo, la masa de soluto extractada por el solvente orgánico (disuelta en él) será:

“ $(W_0 - W_1)$ ”, es decir la diferencia de masa soluto existente entre la solución sin extraer y la misma solución luego de una primera extracción.

Ahora bien, si efectuamos un segundo ensayo extractivo, una a vez alcanzada la condición de equilibrio, tendremos la siguiente expresión para la Constante de Distribución:

$$Kd = \frac{\frac{(W_1 - W_2)}{V_o}}{\frac{W_2}{V_{ac}}}$$

Reordenamos el cociente:

$$Kd = \frac{(W_1 - W_2) \cdot V_{ac}}{V_o \cdot W_2}$$

Operamos el numerador de la fracción, aplicando propiedad distributiva:

$$Kd = \frac{W_1 \cdot V_{ac} - W_2 \cdot V_{ac}}{V_o \cdot W_2}$$

Pasamos el denominador multiplicando al primer miembro de la ecuación (Kd):

$$Kd \cdot V_o \cdot W_2 = W_1 \cdot V_{ac} - W_2 \cdot V_{ac}$$

Pasamos el término $W_2 \cdot V_{ac}$ sumando al primer miembro de la ecuación:

$$Kd \cdot V_o \cdot W_2 + W_2 \cdot V_{ac} = W_1 \cdot V_{ac}$$

En el primer miembro de la ecuación sacamos factor común W_2 :

$$W_2(Kd \cdot V_o + V_{ac}) = W_1 \cdot V_{ac}$$

Finalmente despejamos la variable W_2 :

$$W_2 = W_1 \frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})}$$

Ecuación II

Si en la expresión de la [Ecuación II](#) reemplazamos el término " W_1 " por la expresión equivalente de la Ecuación I tendremos:

$$W_2 = W_o \cdot \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right] \times \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right]$$

Simplificamos a la expresión anterior:

$$W_2 = W_o \cdot \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right]^2$$

Ecuación III

Como puede observarse en la [Ecuación III](#), el cociente del miembro derecho tiene siempre un valor menor que 1 porque el denominador $(Kd \cdot V_o + V_{ac})$ es un valor mayor que el del numerador V_{ac} , si a esto sumamos que ese valor menor que uno está elevado al cuadrado queda muy claro que el valor

de W_2 (recordemos que es la masa de soluto remanente en fase acuosa luego de practicada una segunda extracción) será una fracción de W_0 aún menor que la representada por W_1 , que es la masa de soluto remanente en la muestra (fase acuosa) después de que se practicó el primer ensayo extractivo.

En términos numéricos y a modo de ejemplo, supongamos que el cociente $\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})}$ arroja como resultado un valor de 0,50 aplicando este valor en la **Ecuación I** tendremos:

$$W_1 = W_0 \cdot 0,50 = W_0/2$$

Es decir que terminada una primera extracción la masa remanente de soluto en la muestra (W_1) será la mitad de la masa de soluto original en la muestra (W_0), con lo cual la otra mitad de la masa de soluto se extractó con el solvente orgánico ($W_0 - W_1$).

Ahora bien, después de un segundo ensayo, la masa de soluto remanente en fase acuosa (W_2) se calcula a partir de la **Ecuación III**:

$$W_2 = W_0 \cdot \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right]^2 = W_0 \cdot (0,50)^2 = W_0 \cdot 0,25 = W_0/4$$

Esto indica que practicado un segundo ensayo se logra extraer una masa adicional de soluto, por lo cual en la muestra (fase acuosa) sólo queda un remanente de un cuarto de la masa original (W_0) de soluto.

Si se practican “n” extracciones la expresión de la **Ecuación General** será:

$$W_n = \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right]^n$$



Supongamos tener 100 ml de una muestra acuosa que contiene 10 mg de fenobarbital (psicofármaco derivado del ácido barbitúrico) y planteamos un protocolo extractivo que incluye dos extracciones sucesivas con dietiléter previo acondicionamiento del pH a un valor de 3 y efectuamos el cálculo teórico del rendimiento extractivo que se tiene con una extracción y luego con dos ensayos sucesivos. Los datos con que contamos son:

Kd éter/agua = 5 Volumen de extractante (V_o) = 200 ml para c/ensayo

Calculamos W_1 aplicando la **ecuación I** para el primer ensayo extractivo:

$$W_1 = \frac{W_0 \cdot V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})}$$

Ecuación I

$$W_1 = \frac{10 \text{ mg} \times 200 \text{ ml}}{(5 \times 200 \text{ ml} + 200 \text{ ml})}$$

$$W_1 = 1,67 \text{ mg}$$

Después de una extracción la masa de soluto remanente en nuestra muestra acuosa (W_1) es de 1,67 mg de fenobarbital, los restantes 8,33 mg fueron extractados por los 200 ml de dietiléter.

Calculamos W_2 aplicando la **Ecuación III** una vez practicados los dos ensayos extractivos:

$$W_2 = W_0 \cdot \left[\frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})} \right]^2$$

Ecuación III

$$W_2 = W_0 \cdot \left[\frac{200 \text{ ml}}{(5 \times 200 \text{ ml} + 200 \text{ ml})} \right]^2$$

$$W_2 = 10 \text{ mg} \cdot \left[\frac{200 \text{ ml}}{(5 \times 200 \text{ ml} + 200 \text{ ml})} \right]^2$$

$$W_2 = 0,28 \text{ mg}$$

Esto demuestra que al practicar dos extracciones sucesivas se logra aumentar el rendimiento del proceso ya que la masa de soluto remanente en fase acuosa luego de la segunda extracción es de 0,28 mg, es decir que 9,72 mg (de los 10 mg originales de fenobarbital) fueron extraídos por el dietiléter.

Si queremos calcular la masa de soluto extraída aisladamente en la segunda extracción, aplicamos la Ecuación II:

$$W_2 = W_1 \frac{V_{ac}}{(Kd \cdot V_o + V_{ac})}$$

Ecuación II

$$W_2 = 1,67 \text{ mg} \cdot \frac{200 \text{ ml}}{(5 \times 200 \text{ ml} + 200 \text{ ml})}$$

$$W_2 = 0,28 \text{ mg}$$

$$W_1 - W_2 = 1,69 \text{ mg} - 0,28 \text{ mg} = 1,39 \text{ mg}$$

Entonces 1,39 mg es la masa de soluto extraída en el segundo ensayo.

SELECCIÓN DEL SOLVENTE DE EXTRACCIÓN

Una vez finalizada la operación de extracción, la fase orgánica (solvente de extracción) se separa de la muestra acuosa original. Si se practican extracciones sucesivas, se reúnen las fases orgánicas obtenidas en cada ensayo en un “**extracto orgánico**” único.

De este extracto orgánico se tiene que recuperar el o los solutos extraídos, para lo cual en una primera etapa se hace pasar ese solvente orgánico por un **agente desecante** con el fin de eliminar toda traza de humedad que pueda haber quedado contaminando el extracto orgánico luego de la operación de separación de la fase acuosa.

Uno de los reactivos desecantes más utilizados en estas operatorias es el sulfato de sodio anhidro (exento de agua) que tiene alta capacidad para retener moléculas de agua.

Terminado este proceso, es necesario eliminar el solvente orgánico del Extracto Orgánico para concentrar el o los solutos extractados, obteniendo lo que se denomina **extracto seco**. Esto se lleva a cabo por técnicas de **destilación** o **evaporación**.

Aunque normalmente la extracción se utiliza para separar Solutos de interés selectivamente de una mezcla, a veces lo que se pretende con la extracción es eliminar impurezas no deseadas de una disolución, es decir, el Solvente Orgánico separará sustancias contaminantes, quedando el soluto disuelto en la muestra acuosa original, en este caso el Extracto Orgánico se descarta.

Características del disolvente de extracción

La extracción selectiva de un componente de una mezcla disuelta en un determinado disolvente se puede conseguir añadiendo otro disolvente que cumpla las siguientes condiciones:

- Que no sea miscible con el otro disolvente. El agua o una disolución acuosa suele ser uno de los disolventes implicados. El otro disolvente es un disolvente orgánico.
- Que el componente deseado sea mucho más soluble en el disolvente de extracción que en el disolvente original.
- Que el resto de componentes no sean solubles en el disolvente de extracción.
- Que sea suficientemente volátil, de manera que se pueda eliminar fácilmente del producto extraído mediante destilación o evaporación.
- Que no sea tóxico ni inflamable, no obstante, debe tenerse presente que hay pocos disolventes que cumplan los dos criterios: hay disolventes de baja toxicidad, pero inflamables como el hexano, otros no son inflamables pero tienen mayor riesgo tóxico como el diclorometano o el cloroformo, y otros son tóxicos e inflamables como el benceno.

Disolventes inmiscibles con el agua: disolventes utilizados con mayor frecuencia

- Cuanto más polar es el disolvente orgánico, más miscible (soluble en cualquier proporción) es con el agua.
- Por ejemplo, disolventes polares como el metanol, el etanol o la acetona son miscibles con el agua, y, por lo tanto, no son adecuados para extracciones líquido-líquido.
- Los disolventes orgánicos con baja polaridad como el diclorometano, cloroformo, el dietiléter, el acetato de etilo, el hexano, el ciclohexano, el tolueno o el benceno son los que se suelen utilizar como disolventes orgánicos de extracción.

Tabla de disolventes de extracción comúnmente utilizados

Nombre	Fórmula	Densidad (g/mL) ¹	Punto de ebullición (°C)	Peligrosidad
Disolventes de extracción menos densos que el agua				
Éter dietílico	(CH ₃ CH ₂) ₂ O	0,7	35	Muy inflamable, tóxico
Hexano	C ₆ H ₁₄	≈ 0,7	> 60	Inflamable
Benceno	C ₆ H ₆	0,9	80	Inflamable, tóxico, carcinógeno
Tolueno	C ₆ H ₅ CH ₃	0,9	111	Inflamable

Acetato de etilo	CH ₃ COOCH ₂ CH ₃	0,9	78	Inflamable, irritante
Disolventes de extracción más densos que el agua				
Diclorometano	CH ₂ Cl ₂	1,3	41	Tóxico
Cloroformo	CHCl ₃	1,5	61	Tóxico
Tetracloruro de carbono	CCl ₄	1,6	77	Tóxico

¹ La densidad del agua es 1,0 g/mL, y la de la disolución acuosa saturada de NaCl es 1,2 g/mL.

Extracciones Sucesivas

Después de una primera extracción una fracción del soluto es retirada de la muestra acuosa original por el solvente orgánico utilizado como extractante. No obstante, como la fase acuosa aún contiene una cantidad remanente de soluto después de un primer ensayo extractivo, (variable en función del *coeficiente de reparto* de ese soluto entre los dos disolventes implicados), es recomendable repetir el proceso de extracción con nuevas cantidades de disolvente de extracción, para optimizar su separación.

Si tengo un volumen “V” de solvente de extracción, tengo dos opciones a considerar:

1.- Practico un solo ensayo extractivo con la totalidad del volumen “V”

2.- Fraccio el volumen “V” en alícuotas de menor volumen y practico tantas extracciones sucesivas como fracciones de volumen tenga.

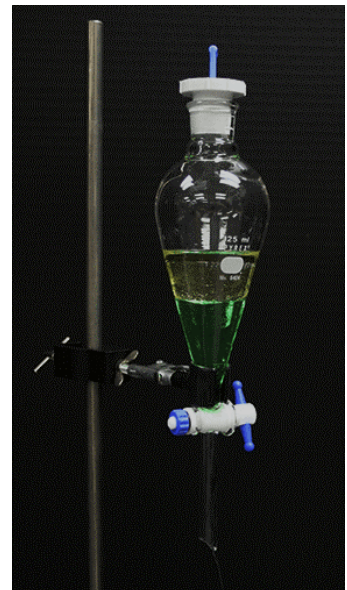
Se demuestra que debe optarse por la alternativa “2” ya que es más eficiente practicar **n extracciones** con **n fracciones** de un **volumen V/n** de solvente de extracción que una **única extracción** con un **volumen V** de solvente.

MECÁNICA OPERATORIA

El proceso extractivo se puede llevar a cabo en “Ampollas de Decantación” también denominadas “Embudos de Decantación”. Este material de laboratorio tiene un diseño especial que permite, una vez finalizada la extracción, la separación de las fases inmiscibles involucradas.

Una ampolla de decantación tiene forma de pera o de cono.

En la parte superior presenta la boca de carga que puede ser sellada con un tapón de goma o teflón, por la boca se cargan la fase acuosa y el solvente de extracción. En la parte inferior posee una llave de paso (robinete) que permite descargar fuera de la ampolla a una de las fases luego de terminada la extracción.





La fase que se descarga depende de la densidad del solvente extractante, relativa a la densidad del agua.

Si el solvente es más denso que el agua se ubicará en el fondo de la ampolla y cuando se abra la llave es el que se descargará, si el solvente es menos denso que el agua, se ubicará en la ampolla por encima de muestra acuosa y cuando se abra la llave de paso, es la fase acuosa la que se descarga.

Una vez cargada la ampolla (ver imagen inferior) con ambas fases, se tapa y se agita suavemente para aumentar la superficie de contacto entre ambas (interfase) lo que permite alcanzar las condiciones de equilibrio de reparto del soluto entre una y otra fase, en menos tiempo.



La cantidad de soluto que pase desde la muestra acuosa al solvente extractante será tanto mayor cuanto mayor sea el valor de la Constante de Distribución (recordemos que la K_d es el valor del cociente entre la concentración de una especie química en fase orgánica y la concentración en fase acuosa), es decir, cuanto mayor afinidad tenga el soluto por el solvente orgánico seleccionado como extractante, mayor será la fracción de soluto que abandone la muestra acuosa para disolverse en ese solvente orgánico.

Después de unos 15 minutos de agitación suave (a intervalos regulares mientras se agita se retira el tapón de la ampolla para evitar sobrepresión interna por la evaporación del solvente orgánico que es volátil por lo que tiende fácilmente a pasar a fase vapor), se deja la ampolla en reposo en su soporte y a los pocos minutos ambas fases vuelven a separarse nítidamente por mera decantación en función de sus diferentes densidades e inmiscibilidad.

Cuando la interfase delimita claramente a ambas fases se procede a descargar (abriendo la llave de paso) la fase inferior (de mayor densidad).

Si el solvente de extracción es menos denso que la muestra acuosa, una vez separadas las fases, quedará retenido en la ampolla porque al abrir la llave se descargó la fase acuosa. Por el contrario, si el solvente es más denso que el agua (por ejemplo diclorometano, cloroformo), al abrir la llave se descargará el solvente de extracción.

Cualquiera sea el caso, el solvente de extracción, ahora transformado en un **extracto orgánico** porque contiene parte del soluto que originalmente estaba disuelto en la muestra acuosa, se hace pasar por sulfato de sodio anhidro contenido en un embudo de vidrio revestido internamente con papel de filtro, esta operación permite eliminar trazas de agua procedentes de la muestra acuosa extractada:



Finalmente, el extracto orgánico ya desecado, se concentra por simple evaporación para obtener un **Extracto Concentrado** (aún conserva parte del volumen del solvente extractivo a pesar de la evaporación) o un **Extracto Seco**, el cual es resultado de la completa evaporación del solvente orgánico.

Los Extractos Concentrados se destinan directamente, a los ensayos analíticos de detección e identificación y, en su caso, de cuantificación.

Los Extractos Secos deben ser previamente resuspendidos en un reducido volumen de solvente orgánico (determinados recursos analíticos requieren que el Extracto Seco se redisuelva en un solvente diferente del utilizado en la extracción por eso se requiere la evaporación total de este último).