

LLIÇÓ INAUGURAL CURS 2004/2005



UNIVERSITAT D'ALACANT

23 de setembre de 2004

A la meua família
A la memòria dels meus pares

Química Analítica i Premi Nobel

Un perfil de la seua història comuna

GUILLERMO LÓPEZ CUETO
Catedràtic de Química Analítica
Universitat d'Alacant

És tradició mantinguda en la Universitat d'Alacant, igual que, crec, en totes les universitats espanyoles, incloure, com a part del solemne acte d'obertura oficial del curs acadèmic, una lliçó inaugural, impartida per un dels seus professors, responsabilitat que, en aquesta obertura del curs 2004-2005, ha recaigut en la meua persona. En relació amb aquest fet, seguint el que ha esdevingut també, si no tradició, sí almenys costum, és convenient recordar que la designació del professor a qui s'encomana aquesta tasca s'efectua en aquesta universitat atenent un criteri de rotació de les facultats i escoles, i d'antiguitat dins del centre, i és, per tant, l'atzar, i no els mèrits acadèmics de qui els parla, la causa de la meua presència davant vostès.

L'elecció del tema sobre el qual hauria de versar aquesta lliçó no ha sigut decisió presa a la lleugera. En universitats de rànica tradició, la lliçó inaugural de curs —en temps denominada *oració* inaugural, en atenció a la seua naturalesa exclusivament oral, més tard acompanyada de l'edició impresa— solia ser amb freqüència de caràcter *exhortatiu*, com, pel que sembla, solia anomenar-la Unamuno, i tenia com a principals, i quasi únics, destinataris els estudiants que s'afanyaven a iniciar un nou curs. Una lliçó d'aquestes característiques aniria encaminada, com assenyalava el professor Lamberto de Echevarría en la que ell mateix va pronunciar el 1977 a la Universitat de Salamanca, “a cantar les excel·lències de la Saviesa i del treball intel·lectual, i a animar professors i alumnes amb vista a les tasques del nou curs”. En altres ocasions s'optava per un tema rigorosament científic, una lliçó “exposada amb la brevetat

que l'escassetat del temps i l'heterogeneïtat de l'auditori exigirien” [1].

El tema que he elegit és molt més pròxim a la segona de les opcions. No obstant això, tampoc he cregut que un tema de la meua especialitat amb un contingut propi, per exemple, de les assignatures de llicenciatura o doctorat, poguera mantenir l'interès més que, a tot estirar, dels col·legues de química analítica o altres matèries científiques afins. Després d'aquestes consideracions, la meua pretensió per a aquesta lliçó no ha sigut una altra que portar a terme una incursió, basada més en dades biogràfiques i fets curiosos que en àrides disquisicions científiques, a través del desenvolupament que han experimentat algunes tècniques analítiques, principalment durant el passat segle xx. La diversitat de les tècniques que configuren la metodologia actual de la química analítica fa imprescindible seleccionar aquelles sobre les quals aquesta lliçó ha de tractar. He volgut portar a terme aquesta selecció amb un criteri objectiu, com m'ha semblat que és l'atenció que els avanços en la metodologia analítica han merescut de la comunitat científica internacional, i que s'ha materialitzat en la concessió del guardó més prestigiat universalment des de l'any 1901, com sens dubte és el premi Nobel, a alguns dels científics que han contribuït a la creació de principis i mètodes en la disciplina de l'ensenyament de la qual m'ocupe.

En la relació de descobriments científics distingits pel premi Nobel de química no són freqüents les contribucions científiques específiques en química analítica. Una de les raons es troba que molts dels mètodes i tècniques analítics i de separació han sigut

desenvolupats dins de projectes i programes d'investigació en camps diversos de la ciència, com ara química inorgànica, química orgànica, bioquímica o fisiologia.

El primer científic distingit amb el premi Nobel de química per un treball específic en el camp de l'anàlisi química (microanàlisi orgànica) va ser Fritz Pregl (que, curiosament no era químic, sinó metge), el 1923. Per aquell temps publicava Jaroslav Heyrovský (un químic físic) els seus primers treballs sobre polarografia, pels quals seria guardonat també amb el premi Nobel bastants anys després, el 1959. Uns quants anys abans, el 1952, els bioquímics Archer J. P. Martin i Richard L. M. Synge havien rebut conjuntament el premi Nobel de química pel descobriment o invenció de la cromatografia de partició.

A més dels referits anteriorment, caldria citar altres científics que, encara que no van desenvolupar el seu treball amb fins analítics, van ser distingits amb el premi Nobel de química per contribucions a la ciència que han suposat avanços substancials en el desenvolupament de la teoria o la pràctica de la química analítica. Així passa, per exemple, amb Svante Arrhenius, químic suec a qui va ser concedit el premi Nobel de química el 1903 "en reconeixement dels extraordinaris serveis prestats a l'avanç de la química a través de la seua teoria de la dissociació electrolítica", contribució que, juntament amb la de l'alemany Wilhelm Ostwald en relació amb els principis fonamentals de l'equilibri químic, per la qual va merèixer el premi Nobel de química el 1909, constitueixen les bases teòriques de la química de les dissolucions, present com és sabut en una gran varietat de tècniques d'anàlisi química i de separació. El primer científic nord-americà que va merèixer la distinció del premi Nobel va ser Theodor William Richards, el 1914, i ho va ser en reconeixement als seus resultats en la determinació de les masses atòmiques de nombrosos elements químics, fet que va constituir el primer pas per al descobriment dels isòtops. Els treballs de Richards es van basar en l'ocupació sistemàtica de mètodes clàssics d'anàlisi química. Una tècnica que s'aplica des de fa dècades amb fins analítics, però que en els seus inicis va ser

desenvolupada com a mitjà per a portar a terme treballs d'investigació en altres camps, és l'espectrometria de masses, que es basa en la mesura precisa de la relació massa/càrrega dels ions formats en un gas. El primer aparell per a portar a terme aquest tipus de mesures va ser ideat, dissenyat i construït per Francis Aston (Gran Bretanya) el 1919. Aston va denominar *espectrògraf de masses* aquest instrument, i el va utilitzar per a determinar les masses atòmiques dels elements amb més precisió de la que fins llavors s'havia aconseguit, fet que li va permetre descobrir un gran nombre d'isòtops, i pel qual va rebre el premi Nobel de química el 1922. El 1926, Theodor Svedberg (Suècia) va ser distingit amb el premi Nobel de química pels seus estudis en la química dels col·loïdes. Per a aconseguir la precipitació de les partícules col·loïdals, Svedberg va haver de construir una ultracentrífuga, dissenyada per ell mateix, els primers models de la qual podien treballar per damunt de les 30.000 rotacions per minut (velocitat que produïa una acceleració milers de vegades superior a la de la gravetat), i va ser considerat per això el pioner de la tècnica de la ultracentrifugació, de reconeguda utilitat en la separació de macromolècules i nombroses substàncies d'interès bioquímic. El 1925 Svedberg havia admès com a ajudant d'investigació el jove químic, també suec, Arne Wilhelm Kaurin Tiselius, l'interès del qual es va centrar en la separació de proteïnes mitjançant l'ús d'un camp elèctric, tècnica denominada *electroforesi*, i que estava basada en una idea que, encara que proposada a la fi del segle XIX, no havia conduït fins llavors a resultats rellevants. Els resultats obtinguts per Tiselius li van merèixer el premi Nobel de química el 1948, i la consideració de pare de l'electroforesi, tècnica que ha experimentat un autèntic renaixement en les últimes dues dècades amb el desenvolupament de la denominada *electroforesi capil·lar*.

Centraré, no obstant això, el contingut d'aquesta lliçó en les tres tècniques específicament analítiques en el desenvolupament de les quals van col·laborar els primers científics que he esmentat: microanàlisi elemental orgànica, cromatografia i anàlisi polarogràfica.

1. Microanàlisi elemental orgànica

Ja en el segle XVII se sabia que les substàncies orgàniques contenien carboni i hidrogen, atès que la combustió d'aquelles produïa diòxid de carboni i vapor d'aigua. A més dels elements esmentats, la majoria de les substàncies orgàniques contenen oxigen, moltes d'aquestes nitrogen i, amb menor freqüència, sofre, fòsfor i altres elements. Conseqüentment, el procés d'analitzar un compost orgànic desconegut s'inicia amb la determinació del seu contingut en els elements esmentats —anàlisi elemental— com a primer pas per a l'establiment de la seua fórmula empírica. El 1923 es concedeix el premi Nobel de química a Fritz Pregl “per la invenció del mètode de microanàlisi de les substàncies orgàniques”, segons figura textualment en l'acta de la Reial Acadèmia Sueca de les Ciències. Estrictament parlant, Pregl no va *inventar* els mètodes químics d'anàlisi elemental orgànica, sinó que va *adaptar* mètodes ja utilitzats llavors a una escala de treball de l'ordre de 100 vegades més petita, escala que li va permetre partir de mostres de pocs mil·ligrams.

Per a comprendre l'evolució de l'anàlisi elemental i la seua situació quan Pregl comença els seus treballs, a principis del segle XX, convé remuntar-se als últims anys del segle XVIII, en els quals el gran químic francès Antoine Laurent Lavoisier, nascut a París el 1743, intentava analitzar quantitativament les substàncies orgàniques mitjançant la determinació del contingut en carboni i hidrogen. Lavoisier va descriure els procediments emprats en el seu llibre *Traité élémentaire de chimie* [2], publicat el 1789, i per a la preparació del qual va trobar en la seua esposa una activa col·laboradora (va ser Mme. Lavoisier qui va dibuixar curosament els complicats muntatges experimentals que l'il·lustren). A diferència dels experiments d'anàlisi de substàncies orgàniques que s'havien fet fins llavors, l'etapa inicial de les quals era la destil·lació de la mostra, el mètode de Lavoisier s'iniciava amb la seua combustió, bé en presència d'aire o d'oxigen, o bé en presència de clorat de potassi o òxids metàl·lics com a substàncies subministradores d'oxigen, per a

mesurar a continuació les quantitats de diòxid de carboni i d'aigua produïdes en la combustió. Encara que els resultats obtinguts per Lavoisier van ser satisfactoris només en una petita part, les seues contribucions constitueixen, certament, les bases químiques de l'anàlisi orgànica, la metodologia de la qual hauria de desenvolupar-se al llarg del segle XIX, desgraciadament ja sense el concurs del mateix Lavoisier. El rigor del pensament científic de Lavoisier, i la superioritat intel·lectual demostrada en una polèmica que es va desenvolupar en el si de l'Acadèmia Francesa de les Ciències van despertar recels en alguns acadèmics que havien arribat a cert poder en la recentment iniciada Revolució Francesa, entre els quals es trobava el radical Marat. A instàncies d'aquest, Lavoisier va ser desposseït dels càrrecs polítics i acadèmics que ocupava i, quatre anys més tard, detingut, jutjat, condemnat i executat al maig de 1794, a l'edat de 50 anys. No resulta fàcil decidir què produeix més indignació en el pensament científic posterior a Lavoisier, si el fet d'haver truncat brutalment la vida del científic en la seua plenitud creadora, o el menyspreu amb el qual, després de la seua detenció, va ser tractada la seua obra científica: quan algú va voler intercedir davant el tribunal que el va jutjar, assenyalant que l'acusat no era un contrarevolucionari sinó un científic, el jutge Coffinhals va respondre amb la tristament cèlebre frase: “La República no necessita savis”. El matemàtic Lagrange, contemporani de Lavoisier, diria davant aquest dramàtic desenllaç: “Ha bastat un instant per a fer caure el seu cap, mentre que, tal vegada, cent anys no seran suficients per a reproduir-ne una altra de semblant”.

Després de Lavoisier, els també francesos Berthollet [3], Gai-Lussac i Thénard [4] van dissenyar diferents dispositius per a l'anàlisi elemental de substàncies orgàniques, basats també en la combustió de la mostra. Però va ser Jöns Jacob Berzelius (1779-1848), metge i químic suec, qui va introduir les modificacions més substancials en els mètodes d'anàlisi elemental: va millorar l'eficàcia de la combustió portant-la a terme en un tub horitzontal (Lavoisier emprava una campana de vidre, mentre que Berthollet i Gai-Lussac i Thénard usaven un tub en posició vertical) i va simplifi-

car notablement els procediments de mesura de l'aigua i del diòxid de carboni produïts en la combustió [5]. Gràcies a això va aconseguir resultats molt més exactes que els que proporcionaven els mètodes precedents.

Malgrat tot, els mètodes de Berzelius van ser criticats amb certa aspror pel seu contemporani Liebig, que els va considerar extremament lents. Justus Liebig (1803-1873) va ser un químic alemany que va destacar principalment en la química orgànica, però també en l'anàlisi química, l'agroquímica i la química alimentària. Fins i tot sent un científic prestigiós en el seu temps, els seus ingressos professionals no eren molt substanciosos. Per tant, durant la major part de la seua vida va passar angúnies econòmiques, situació que li causava depressions i bruscos canvis d'humor. Fins i tot va arribar a pensar en el suïcidi, com consta en la correspondència que va mantenir amb els seus col·legues Berzelius i Wöller. Aquest últim atribuïa les crisis anímiques de Liebig al que en el seu particular argot denominava *hysteria chemicorum* (el que avui potser seria diagnosticable com a ansietat o estrès). En la cerca de fonts d'ingressos addicionals, Liebig va muntar, inicialment sense èxit, algunes petites indústries en el camp alimentari, fins que va trobar aplicació pràctica a una idea pròpia que havia suggerit en algun dels seus escrits: la possibilitat d'obtenir extractes de carn que es pogueren conservar. Quan es va assabentar de l'existència d'excedents de boví a la Pampa argentina (on, pel que sembla, en aquells dies s'apreciava més la pell que la carn mateixa), no tardà a trobar socis per a finançar el seu projecte, que va tenir uns resultats excel·lents. De fet, la fabricació i comercialització d'extractes de carn amb el seu propi nom es manté fins als nostres dies. És molt probable que, popularment, el nom de Liebig siga més conegut per la sopa "de sobre" que per les seues contribucions a la química orgànica o a l'anàlisi química...

Tornant al camp de l'anàlisi elemental, la principal contribució de Liebig va ser el disseny, el 1831, d'un aparell per a portar a terme la combustió de les mostres [6] que millorava el sistema d'escalfament de Berzelius.

Així mateix va introduir la determinació del diòxid de carboni mitjançant pesada, prèvia retenció del gas en hidròxid de potassi, en substitució de la mesura del volum de gas com fins llavors s'havia fet.

La determinació del contingut de nitrogen en substàncies orgàniques no es va aconseguir amb resultats satisfactoris fins que Dumas va millorar, el 1831, un complicat i tediós mètode que havia proposat Liebig. Jean Baptiste André Dumas (1800-1884) va ser primer aprenent de farmàcia al sud de França, va estudiar química a Ginebra i, després de passar per l'Escola Politècnica de París com a ajudant de química, va arribar a ser nomenat professor de la Universitat de la Sorbona. Dumas és considerat per molts químics orgànics el fundador d'aquesta branca de la química. Va destacar per l'escrupolós treball de laboratori i per l'exactitud dels resultats que obtenia en els seus experiments. Intel·lectual i polifacètic, Dumas va destacar també en la política (va ser ministre d'Agricultura i Comerç i alcalde de París). A la seua mort, se li van reconèixer, amb un funeral d'estat, els serveis que havia prestat al seu país.

La determinació de nitrogen en compostos orgànics pel mètode de Dumas es basa en la reducció dels òxids de nitrogen formats en la combustió de les mostres, fent-los passar per un tub que conté coure metàl·lic a elevada temperatura, per a mesurar després volumètricament el gas nitrogen producte d'aquesta reducció [7]. Aquest mètode ha experimentat pocs canvis des que va ser proposat, però resultava tediós a altres químics que van intentar aplicar-lo.

Com a alternativa a la determinació del nitrogen orgànic per combustió de la mostra, i després d'alguns intents fallits, el danès Johan Gustav Christoffer Thorsager Kjeldahl (1849-1900) va publicar el 1883 un mètode basat en la conversió del nitrogen en amoníac per via humida (digestió amb àcid sulfúric concentrat), seguida de destil·lació del amoníac i de la determinació volumètrica d'aquest [8]. Encara que el mètode de Kjeldahl no és aplicable a molts compostos orgànics nitrogenats a causa

de la conversió incompleta del nitrogen en amoníac, condueix, no obstant això, a resultats exactes quan s'aplica a mostres que contenen nitrogen proteínic.

El primer mètode per a la determinació de sofre en substàncies orgàniques va ser proposat el 1830 pels francesos Henry i Plisson [9], que transformaven aquest element en diòxid de sofre mitjançant el tractament amb corrent d'oxigen en presència d'òxid de ferro i arena de quars. Quatre anys després apareixen quasi simultàniament dues publicacions, una del mateix Henry [10] i l'altra de l'alemany Zeise [11], en les quals, seguint tractaments distints, es transforma el sofre en sulfat per a determinar-lo després gravimètricament. Aquestes són, essencialment, les bases del mètode que se segueix actualment per a la microdeterminació de sofre orgànic.

Entre 1860 i 1870, el químic alemany Georg Ludwig Carius (1829-1875) desenvolupa un mètode que permet determinar sofre i halògens en substàncies orgàniques, basat en la conversió d'aquests elements en sulfat i haluros, respectivament, mitjançant un tractament comú: tractament amb àcid nítric en presència de clorur de bari i nitrat de plata, com a pas previ a les corresponents determinacions gravimètriques [12-14].

Coincidint amb el desenvolupament de la bioquímica i la fisiologia, els químics orgànics de finals del segle XIX i principis del XX van començar a interessar-se per la química dels éssers vius, animals i vegetals, i de les substàncies d'aquesta procedència. L'aïllament i purificació de les substàncies orgàniques presents en els productes naturals requeria costosos i elaborats procediments. Per aquesta raó no resultava fàcil disposar de quantitats de mostra suficients per a fer-ne una anàlisi elemental mitjançant els mètodes a l'ús (entre 0,2 i 2 grams). Resultava necessari, per tant, reduir dràsticament l'escala de treball per a poder analitzar quantitats de mostra que haurien de ser unes cent vegades més baixes. Va haver-hi dos fets que van possibilitar aquesta reducció: d'una banda, la construcció de balances de gran sensibilitat (microbalances) i, de l'altra, l'adaptació dels mètodes d'anàlisi elemental a la nova escala de

treball, allò que es coneix amb el nom de *microanàlisi*.

La primera microbalança va ser dissenyada el 1903 pel químic-físic alemany Walther Hermann Nernst (1864-1941), més conegut en l'àmbit científic pels seus treballs en termoquímica i termodinàmica química, pels quals li va ser concedit el premi Nobel de química el 1920. La microbalança de Nernst, basada en la torsió d'una fina fibra de quars, presentava una extrema sensibilitat, però la seua capacitat o càrrega estava limitada a uns quants centigramms [15]. Això li restava utilitat en anàlisi química. Uns quants anys més tard, el 1911, Wilhelm Kuhlmann va construir a Hamburg una microbalança destinada al treball amb metalls preciosos que arribava a una sensibilitat de 0,01 a 0,02 mg. La microbalança de Kuhlmann ocuparia un paper crucial en el desenvolupament de la microanàlisi portada a terme per Pregl a Àustria.

La microquímica i la seua faceta analítica, la microanàlisi, s'inicien a principis del segle XX en les dues universitats de la ciutat austríaca de Graz. La Universitat Tècnica de Graz és la més moderna—havia sigut fundada el 1811—i va ser allí on Friedrich Emich (1860-1940), que va exercir com a professor durant diverses dècades, va contribuir decisivament al desenvolupament de les tècniques microquímiques, i particularment a la microanàlisi inorgànica. Així, Emich, en col·laboració amb Donau, havia desenvolupat el 1909 el primer mètode de microdeterminació d'halògens [16]. Encara que Emich és considerat un dels pioners de la microquímica, el terme microanàlisi va unit indissolublement al nom de Fritz Pregl (figura 1) i a l'antiga i famosa Universitat de Graz, la fundació de la qual, el 1585, havia sigut impulsada pels jesuïtes, i que havia tingut en les seues aules científics d'enorme prestigi (Johannes Kepler hi havia ensenyat matemàtiques i retòrica abans de traslladar-se a Praga, el 1600, per motius religiosos).

Pregl havia nascut el 1869 a Laibach (l'actual Ljubljana), llavors sota el domini de l'imperi austrohongarès. Va estudiar medicina a la Universitat de Graz. Després de graduar-



Figura 1. Fritz Pregl (1869-1930).

se va aconseguir una plaça docent en l'Institut de Fisiologia de la mateixa universitat, on prompte va ser conegut per l'extraordinària destresa i enginy en el treball de laboratori. Després de dues breus estades el 1903 a Alemanya, on va treballar primerament a la Universitat de Leipzig amb Wilhelm Ostwald, premi Nobel de química el 1909, i després a la Universitat de Berlín amb Emil Hermann Fischer, que també havia sigut distingit amb aquest guardó el 1902, l'interès científic de Pregl va començar a desplaçar-se des de la medicina clínica cap a la fisiologia, la bioquímica i l'anàlisi química. De retorn a Graz, és contractat per l'Institut de Química Mèdica el 1905, i nomenat metge forense el 1907, llocs que ocupa fins a 1910.

Durant aquests cinc anys a Graz és quan Pregl concep la metodologia de la microanàlisi, com a conseqüència de les seues pròpies necessitats en el treball d'investigació que en aquells dies desenvolupava, centrat en l'anàlisi de les proteïnes extretes de la bilis i de l'orina. El problema amb què s'enfrontava era que els mètodes tradicionals d'anàlisi elemental per a carboni, hidrogen i nitrogen (deguts a Liebig i a Dumas) requerien quantitats de mostra molt superiors a les que Pregl podia aïllar a partir dels fluids fisiològics. No sense certa dosi d'ironia, el mateix Pregl descriuria les seues reflexions sobre això en el discurs que va pronunciar en l'Acadèmia Sueca de les Ciències el

12 de desembre de 1923 en l'acte de recepció del premi Nobel de química que li havia estat concedit [17]:

“... durant el temps en el qual vaig estar investigant una substància que podia obtenir-se només en quantitats extraordinàriament petites, em vaig veure obligat a decidir entre processar tones de material o buscar nous mètodes que em permeteren arribar a resultats analítics correctes usant quantitats molt més petites. Vaig decidir que aquesta última seria la forma d'actuar. El pla més obvi va ser aplicar reduccions a totes i cadascuna de les coses, és a dir, moure el punt decimal un o dos llocs a l'esquerra, no només en relació a la quantitat de substància, sinó també en relació a tots els aparells implicats, quantitats de reactius, etc.”

El 1910, Pregl es trasllada a la Universitat d'Innsbruck, on ha sigut nomenat professor de química mèdica. És allí on, durant tres anys, inicia el desenvolupament experimental dels mètodes de microanàlisi que havia projectat a la Universitat de Graz. S'interessa per la microbalança de Kuhlmann i aconsegueix la col·laboració d'aquest perquè en perfecciona el disseny seguint els seus propis suggeriments, tendents a arribar a unes millors prestacions en el treball microanalític. D'aquesta forma, Pregl aconsegueix disposar d'una microbalança que unia a una capacitat de fins a 20 g una exactitud de 0,001 mg [18]. El 1913 Pregl torna a la Universitat de Graz, també com a professor de química mèdica, on continua quatre anys més amb el seu treball experimental, treball que porta a terme pràcticament sol, amb summa dedicació, habilitat i enginy. Excepte una comunicació sobre el seu mètode de microanàlisi de carboni, hidrogen i nitrogen [19], Pregl no publica els resultats parcials de la seua investigació. Com un perfeccionista incorregible, prefereix millorar pacientment, sistemàticament i minuciosament els seus mètodes fins que considera que poden donar-se a conèixer en el seu conjunt, cosa que fa el 1917 amb la publicació del seu llibre *Die quantitative Mikroanalyse (La microanàlisi quantitativa)* [20], del qual s'han fet set edicions en alemany (l'última a Viena, el 1958), i que ha sigut traduït també al francès, anglès i rus.

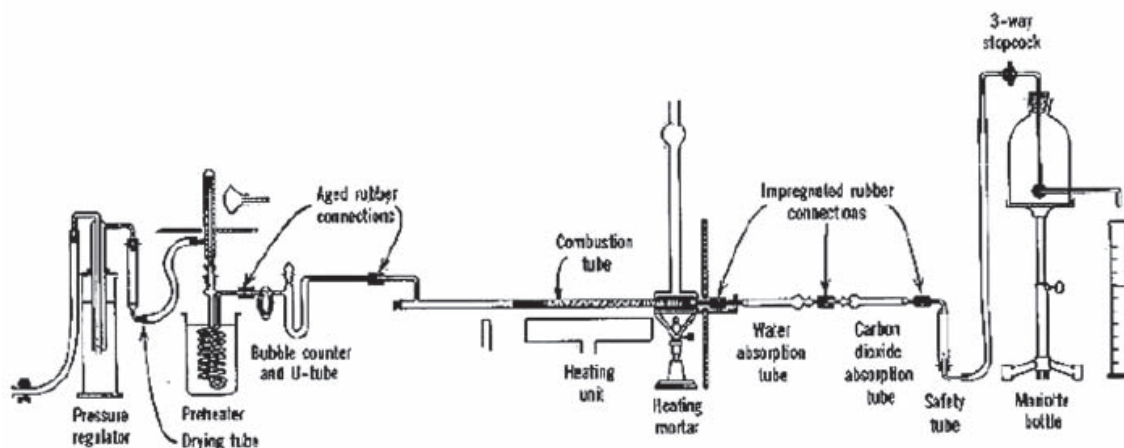


Figura 2. Aparell de combustió de Pregl.

El mètode de Pregl es basa essencialment en el procediment de Liebig per a la determinació de carboni i hidrogen, el de Dumas per a la determinació de nitrogen i el de Carius per a la determinació de sofre i halògens, incloent-hi així mateix procediments per a la determinació d'alguns grups funcionals, com carboxil, metoxi i metilimida. L'adaptació portada a terme per Pregl d'aquests procediments a l'escala microanalítica no va ser, en contra del que poguera semblar, un fet trivial: a causa de la reducció de l'escala de treball apareixien errors considerables que havien passat inadvertits en l'escala macroanalítica, la solució dels quals va requerir grans dosis d'inventiva (figura 2). Així, les interferències a les quals donava lloc la presència de nitrogen, sofre o halògens en la microdeterminació de carboni i hidrogen van ser eliminades mitjançant el que va denominar *rebliment universal* del tub de combustió, la funció del qual era, en paraules del mateix Pregl, "retenir tot el que no fóra diòxid de carboni o vapor d'aigua". Aquest rebliment consistia en òxid de coure, cromat de plom, plata metàl·lica i diòxid de plom, mescla que assegurava la retenció dels gasos de caràcter àcid causants dels errors en la determinació del carboni. També en la microdeterminació de carboni i hidrogen, Pregl va advertir l'aparició circumstancial d'errors per excés, i va observar després que aquells només es produïen quan els tubs de cautxú que utilitzava per a la conducció de l'oxigen emprat en la combustió eren nous, però no quan havien sigut objecte

d'un ús continuat. Pregl va sospitar que el cautxú nou despenia substàncies volàtils hidrocarbonades que eren arrossegades per l'oxigen. Per això va decidir aplicar un tractament perllongat amb oxigen als tubs abans d'usar-los. Així aconseguia un envelliment artificial del cautxú i, amb això, la desaparició dels errors. Un dels exemples més evidents de la magnificació que es produeix en alguns errors quan es treballa en l'escala microanalítica el constitueix la mesura del volum de nitrogen en la microdeterminació d'aquest element pel procediment de Dumas: el volum de la finíssima pel·lícula de dissolució que recobreix les parets del recipient de mesura del gas és suficient per a produir errors considerables que, no obstant això, passen per complet despercebuts en l'escala macroanalítica. En el discurs ja esmentat que va pronunciar en l'acte de recepció del premi Nobel de química [17], Pregl va descriure amb convicció aquests i altres problemes que s'havia trobat al llarg de les seues investigacions, així com la solució que havia trobat a cadascun*.

* La reducció d'escala que aplicava Pregl als seus experiments per un factor de 100, afectava les masses i els volums, però no les superfícies, que haurien de resultar reduïdes només per un factor de 10, com pot deduir-se mitjançant consideracions geomètriques elementals. Com a conseqüència d'això, qualsevol error associat a fenòmens de superfície hauria de manifestar-se, en termes relatius, en una proporció 10 vegades major treballant en l'escala microanalítica que fent-ho en l'escala macroanalítica.

Fins i tot avui, després de transcorreguts quasi noranta anys, es continua reconeixent l'extraordinària vàlua del treball de Pregl: l'optimització dels mètodes emprats, el disseny i construcció dels aparells de combustió i mesura, el muntatge dels equips, tot això va ser obra del seu enginy i esforç personal. Encara que, com s'ha assenyalat anteriorment, Pregl no va inventar la química de l'anàlisi orgànica, la reducció de l'escala de treball que va ser capaç d'aconseguir sense minva d'exactitud en els resultats hauria sigut senzillament impossible sense les qualitats i recursos d'un veritable inventor: ment imaginativa, destresa en el treball de laboratori i grans dosis de paciència.

Pregl va ser un científic amb un treball reconegut pels seus coetanis: el 1914 l'Acadèmia Imperial de la Ciència de Viena li concedeix el premi Lieben de química; el 1920 la Universitat de Göttingen el nomena doctor honorari; el 1921 és elegit membre corresponent de l'Acadèmia de les Ciències de Viena i, finalment, el 1923 l'Acadèmia Sueca de les Ciències li atorga el premi Nobel de química.

La dedicació de Pregl al treball científic va ser absoluta; home més aviat solitari, no va arribar a casar-se, i havia aconseguit estalviar un substancial capital que va cedir el 1930, poc abans de la seua mort, a l'Acadèmia de les Ciències de Viena amb la finalitat de crear un fons amb el qual es premiaria cada any un científic austríac distingit pels seus treballs en microquímica. Pregl va morir aquest mateix any, a l'edat de 61 anys. Des de 1931, i fins ara, l'Acadèmia atorga el premi Fritz Pregl.

Molts dels químics austríacs distingits amb el premi Fritz Pregl han aconseguit renom fora de les seues fronteres, tant en el camp de la microanàlisi com en uns altres de la química analítica. Aquest és el cas de Fritz Feigl, que va obtenir el premi en la seua primera edició (1931), amb una tècnica d'assajos a la gota per a la identificació de substàncies inorgàniques i orgàniques [21, 22] que es coneix i utilitza universalment, o el d'Anton Benedetti-Pichler, premi Pregl el 1933, que, acabada la guerra europea, havia sigut deixeble d'Emich i del mateix Pregl a Graz, i que pot considerar-se

l'introduïdor de la microquímica als Estats Units. Benedetti-Pichler es va traslladar el 1929 a la Universitat de Nova York, en la qual va organitzar el laboratori de microanàlisi, disciplina que va ensenyar primerament en la universitat i després en el Queens College, fins al 1964. El 1935 va ser un dels fundadors de la inicialment denominada *New York-New Jersey Section of the Microchemical Society*, que es va convertir el 1963 en l'*American Microchemical Society*. Entre els químics analítics actuals que han sigut distingits amb el premi Fritz Pregl es troben Robert Kellner (Universitat Tècnica de Viena), premiat el 1977, i Hans Malissa (Universitat de Salzburg), que ho va ser el 1965 i 1992.

Després de la publicació de l'obra de Pregl han sigut nombrosos els investigadors que han treballat en la millora dels seus mètodes, principalment en l'eficàcia del procés de combustió. El 1943 Belcher i Spooner, primerament a Sheffield i després a Birmingham (Gran Bretanya) introdueixen en la microdeterminació de carboni i hidrogen una modificació que denominen *empty-tube (tub buit)* o de combustió ràpida [23], caracteritzada per l'absència de rebliment, un major flux d'oxigen i una temperatura de treball de 800°C. Això permet un temps de combustió quatre vegades més curt que el del mètode clàssic de Pregl. Belcher i Ingram utilitzen més avant un disseny similar per a la microdeterminació de sofre i halògens [24]. Una alternativa substancialment diferent als anteriors mètodes de combustió va ser desenvolupada el 1955 per Schöniger a Graz (Àustria), i consisteix bàsicament a omplir d'oxigen un matràs tipus *erlenmeyer*, que ja conté la mostra i una dissolució d'hidròxid de potassi i peròxid d'hidrogen, i tancar-lo hermèticament després d'iniciar la combustió [25]. Aquest mètode, conegut amb la denominació de *oxygen-flask (matràs d'oxigen)* s'ha aplicat també a la determinació de carboni i hidrogen, i ha sigut objecte posteriorment de nombroses modificacions.

Un component de les substàncies orgàniques que no podia ser determinat pel mètode de Pregl és l'oxigen. El 1939, l'alemany Zimmermann va desenvolupar un procediment

per a la microdeterminació d'oxigen basat en la piròlisi de la mostra en presència d'un gran excés de carboni emprant platí com a catalitzador, condicions en les quals l'oxigen és transformat quantitativament en monòxid de carboni [26]. Al llarg del segle xx la determinació d'oxigen en substàncies orgàniques pures o en les seues barreges s'ha fet més i més necessària en molts processos de la indústria i la tecnologia químiques. Així succeeix, per exemple, en el control del grau de transformació en certes reaccions de polimerització o de condensació, o el control de qualitat dels moderns combustibles des que, fa uns quants anys, el plom tetraetil que s'emprava com a antidetonant va haver de ser substituït per compostos orgànics oxigenats. Encara que s'han proposat diferents modificacions al mètode de Zimmermann, en essència és aquest el que s'aplica en l'actualitat.

Els anys seixanta els mètodes de microanàlisi elemental comencen a mostrar una clara tendència a la simplificació i l'automatització. La cromatografia de gasos s'introdueix com a forma de separació dels gasos procedents de la combustió, i les mesures de conductivitat tèrmica com a alternativa a

la determinació gravimètrica d'aquests. Prompte apareixen els primers analitzadors automàtics comercials: Coleman Instruments Inc. (1961-1962), F & M Scientific Corp. (1963), Fisher Scientific Co. (1963) i Technicon Instruments (1963), als quals s'incorporaran després American Instruments Co. i Perkin Elmer Corp. (1965) i Hewlett Packard (1970). El processament de dades mitjançant acoblament de l'ordinador a l'analitzador elemental té lloc en la dècada dels vuitanta.

A pesar dels vertiginosos canvis que s'han produït en la metodologia de la microanàlisi elemental en els últims trenta o quaranta anys, sobretot amb la generalització de l'ús dels analitzadors automàtics, el procés de mineralització continua basat essencialment en el tub de combustió del mètode clàssic de Pregl. Les modificacions més substancials s'han produït en les etapes de separació i quantificació dels gasos. En alguns analitzadors automàtics la separació es porta a terme, tal com es fa en el mètode clàssic de Pregl, mitjançant absorció seqüencial dels gasos (figura 3), mentre que en uns altres s'ha incorporat una columna de cromatografia de gasos, amb la qual cosa la

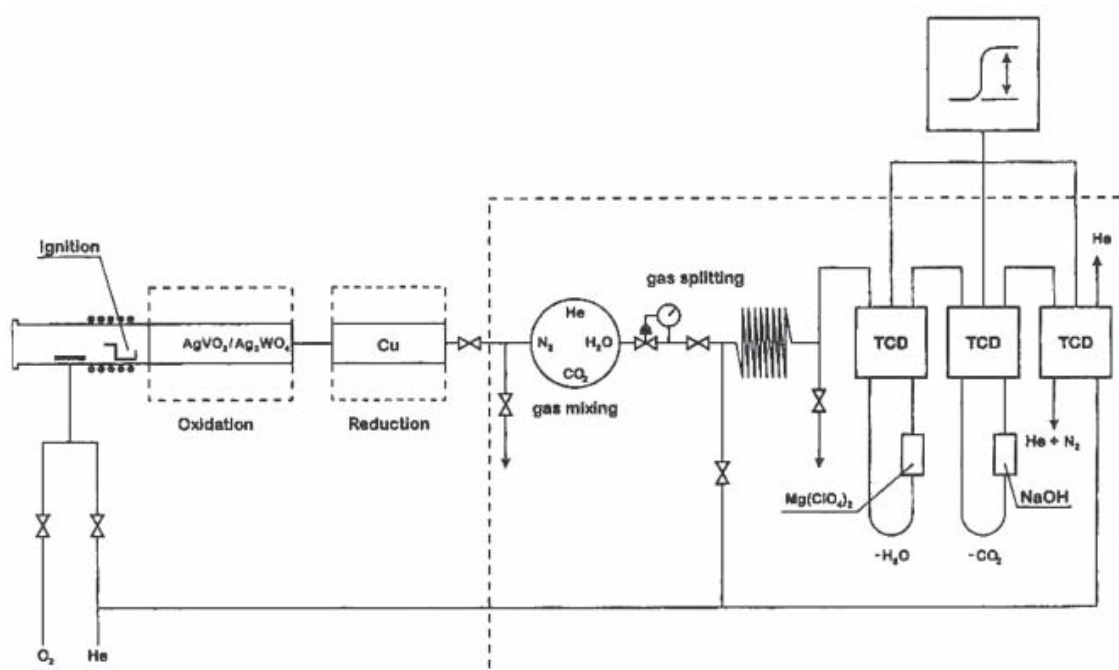


Figura 3. Esquema d'un analitzador elemental automàtic amb separació seqüencial dels gasos.

separació té lloc de forma contínua (figura 4). Pel que fa a la quantificació dels gasos, la mesura gravimètrica (absoluta) del mètode clàssic ha sigut reemplaçada per mesures diferencials de conductivitat tèrmica. Aquesta és la forma de detecció que solen dur incorporada els dos tipus d'analitzadors.

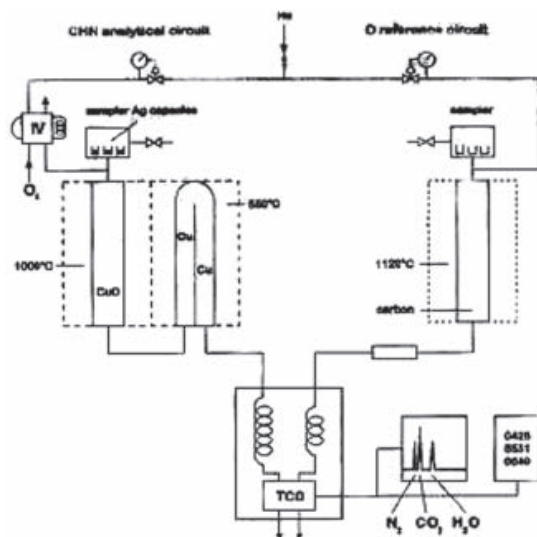


Figura 4. Esquema d'un analitzador elemental automàtic amb separació contínua dels gasos mitjançant una columna cromatogràfica.

2. Cromatografia

Quan es tracta d'analitzar químicament mostres complexes, poques vegades pot portar-se a terme la determinació individual dels seus components directament en la mostra. El més habitual és que siga necessari aplicar-hi una o diverses etapes prèvies de separació per a evitar interferències entre uns components i altres que puguin donar lloc a l'aparició d'errors en els resultats. La cromatografia és una tècnica de separació, sens dubte la més versàtil i eficaç de les que disposa el químic, i està basada en les diferències de mobilitat dels components d'una barreja (denominats soluts) com a conseqüència de les forces relatives que s'estableixen entre cadascun dels soluts i dues fases no miscibles, denominades fase mòbil i fase estacionària.

El 1952, els britànics Martin i Synge reben el premi Nobel de química "per la seua invenció de la cromatografia de partició". Encara que la contribució de Martin i Synge va ser essencial per a comprendre les bases teòriques de la cromatografia, per aquell temps aquesta tècnica distava molt de ser una novetat. És necessari remuntar-se als primers anys del segle XX per a trobar per primera vegada el terme *cromatografia*, introduït pel botànic rus Mikhail Tsvet* en les seues primeres publicacions. Es poden trobar referències a alguns experiments bastant anteriors que podrien considerar-se precursors de la cromatografia, com els del metge alemany Friedrich Runge, publicats entre 1834 i 1850, en els quals descriu la formació d'anells concèntrics acolorits quan es disposa una gota de dissolució sobre un tros de paper de filtre [27-30], o els de Christian Friedrich Schönbein i Friedrich Goppelsröder, professors de química de la Universitat de Basilea, que, entre 1861 i 1878 van desenvolupar el que van denominar *anàlisi capil·lar* usant tires de paper de filtre per a la separació de nombroses substàncies orgàniques [31, 32]. En el primer *Congrés Internacional del Petrol*, celebrat a París el 1900, el nord-americà Day presenta els resultats obtinguts en la separació de fraccions del petroli fent servir un jaç d'argila de batà [33, 34]. Els estudis de Day es desenvolupaven als Estats Units en els mateixos anys que Tsvet estudiava a Polònia la separació dels pigments acolorits continguts en extractes de plantes, molt probablement sense que cap d'aquests científics tinguera notícia dels treballs fets per l'altre. No sembla que Day continuara amb les seues investigacions en aquest camp. Per tant, actualment es reconeix Tsvet com l'únic i autèntic *pare* de la cromatografia.

* S'han trobat referències bibliogràfiques amb les grafies Tswett, Tsvett i Tsvet. S'ha optat per utilitzar aquesta última per ser la transcripció més senzilla de l'alfabet ciríl·lic al llatí i perquè és també la que sol aparèixer en textos transcrits a l'alfabet occidental per autors russos.



Figura 5. Mikhail Semenovic Tsvet (1872-1919).

Mikhail Semenovic Tsvet (figura 5), de pare rus i mare italiana, va nèixer el 1872 en un hotel d'Asti, al nord d'Itàlia, durant un llarg viatge que els seus pares van haver d'interrompre en aquesta ciutat. La mare de Mikhail mor poc temps després, i el seu pare, un alt funcionari del govern del tsar, decideix enviar-lo a Suïssa perquè reba una educació adequada. Tsvet estudia primerament a Lausana i després es trasllada a Ginebra, on estudia Química, Física i Botànica a la seua universitat, i es doctora en aquesta última disciplina el 1896, amb una tesi titulada *Investigacions sobre la fisiologia de les cèl·lules. Contribució al coneixement del protoplasma, membranes plasmàtiques i cloroplasts* [35], treball que va ser considerat d'especial rellevància, segons va expressar textualment un dels components del tribunal “a causa de la complexitat de la seua matèria i a la forma com ha sigut desenvolupat per l'autor”.

Als 24 anys Tsvet abandona Suïssa i, després d'algunes breus estades en centres d'investigació a Itàlia, torna al seu país amb la il·lusió d'optar a un lloc de professor a la universitat per a prosseguir els seus estudis sobre fisiologia vegetal. Prompte adverteix les dificultats quasi insalvables que trobarà. La política acadèmica de la Rússia de finals del segle XIX era rígida en extrem, i exigia a un

aspirant a professor universitari haver obtingut els graus de *magister* (llicenciat) i doctor en una universitat russa, sense que s'admetera cap possibilitat d'aplicar-hi convalidacions: el flamant títol de *Ph. D.* en Botànica expedit per la Universitat de Ginebra, a Rússia era paper mullat. Per a subsistir, Tsvet accepta el 1897 un contracte temporal en un laboratori de biologia de Sant Petersburg. Allí, superant les dificultats idiomàtiques —la seua llengua materna era el francès i la seua educació, occidental— prepara una nova memòria de llicenciatura, que presentarà el 1901, no sense abans superar, el 1899, els exàmens de botànica i química a la Universitat de Kazan. La presentació de la tesi de llicenciatura, que dedica a la memòria del seu pare, mort un any abans, li confereix el grau de *magister*, que li permet acceptar un lloc d'ajudant a la Universitat de Varsòvia (en aquells dies, el Gran Ducat de Polònia formava part de l'Imperi rus). Aquest treball estava mal remunerat, i mancava de complements de finançament per a la investigació. Per això Tsvet va haver de recórrer a impartir classes en una escola secundària per a poder pagar-la.

Superant les seues dificultats econòmiques, Tsvet va ser capaç de desenvolupar a Varsòvia un fructífer treball d'investigació en el qual va establir les bases del que més tard denominaria *cromatografia d'adsorció*, i que li va merèixer una distinció per la Societat Alemanya de Botànica, de la qual va ser elegit membre el 1902, i en la revista de la qual, *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, va publicar bona part dels seus treballs. El 1903, en una reunió de la Societat de Científics Naturals de Varsòvia, Tsvet va presentar una comunicació preliminar amb el títol *Sobre una nova categoria de fenòmens d'adsorció i les aplicacions d'aquest en anàlisi biològica*, en la qual es descrivia per primera vegada el mètode cromatogràfic, encara que seria el 1906 quan el mateix Tsvet proposa el terme *cromatografia* en dues publicacions en la revista de la Societat Alemanya de Botànica [36, 37]. En aquests dos articles Tsvet incloïa un diagrama amb el muntatge experimental utilitzat i descrivia el procediment que havia seguit (figura 6): dipositava un extracte de fulles verdes en èter de petroli en la part superior

d'una fina columna de vidre reblida de carbonat de calci i, a continuació, feia passar a través de la columna èter de petroli. Els pigments que componien l'extracte (diferents formes de clorofil·la, xantofil·la i carotè) avançaven al llarg de la columna amb velocitats diferents, depenent de la força amb què eren adsorbits pel rebliment de carbonat de calci. El resultat era espectacular, i consistia en l'establiment de diverses franges de distints colors al llarg de la columna que es podien distingir amb tota nitidesa, fet que el propi autor descrivia d'aquesta forma:

“...els diferents components de la mescla de pigments es van distribuir en la columna de carbonat de calci com els rajos lluminosos en un espectre, fet que permet analitzar-los qualitativament i quantitativament. La preparació obtinguda com a resultat d'aquest experiment s'ha denominat *cromatograma*, i el mètode, *cromatogràfic*...”

“Els fenòmens d'adsorció descrits no són, per descomptat, característics solament dels pigments de la clorofil·la; òbviament, diversos compostos químics, siguen acolorits o incolor, poden també separar-se mitjançant aquest mètode.”

Després de contraure matrimoni el 1907 amb Helena Trusiewicz, que treballava en la Biblioteca de la Universitat de Varsòvia, Tsvet va poder satisfer, un any després, el seu anhel d'exercir com a professor universitari: va ser nomenat professor de botànica i microbiologia en l'Institut Politècnic de Varsòvia. El 1910 va presentar la seua (segona) tesi doctoral, aquesta vegada en la Universitat de Varsòvia, treball que, igual que havia passat catorze anys abans amb la tesi presentada en la Universitat de Ginebra, va merèixer comentaris elogiosos del tribunal qualificador, i que va publicar aquell mateix any en forma de monografia, escrita en rus, amb el títol *Cromofil·les en el món vegetal i animal* [38]. El 1911 se li va concedir el Gran Premi de l'Acadèmia de les Ciències de Sant Petersburg. Aquesta concessió li va suposar, per fi, prestigi en els cercles científics russos i... una gratificació econòmica de mil rubles.

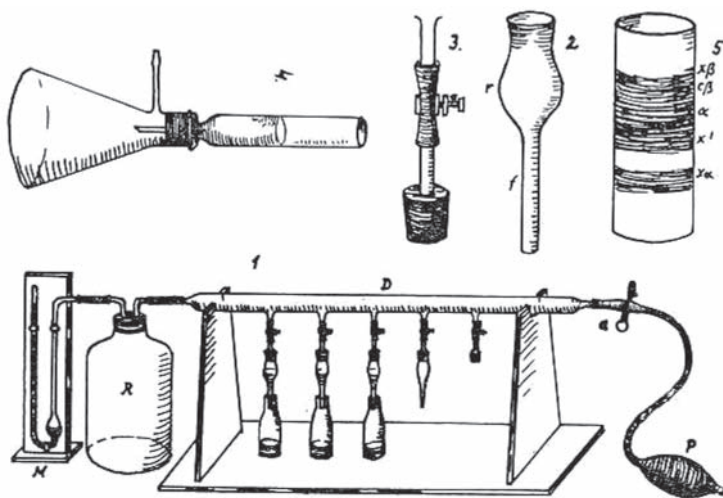


Figura 6. Aparell de Tsvet per a separacions cromatogràfiques.

Enfront d'alguna especulació més aviat pintoresca (la paraula *tsvet* en rus significa *color*), no sembla que s'haja de tenir cap dubte que el que va moure a Tsvet a denominar la seua tècnica *cromatografia* (del grec *chroma*, color i *graphos*, escriptura) va ser el fet que les substàncies per ell separades podien ser visualitzades a causa dels diferents colors que tenien. Però això era una mera circumstància, i el mateix Tsvet així ho advertia en el mateix article:

Desafortunadament, l'era de bonança científica, social i econòmica de Tsvet no seria molt duradora: el 1912 la seua salut comença a deteriorar-se, fet que li afecta el ritme de treball. Dos anys després esclata la guerra europea, i el 1915 les tropes alemanyes arriben a Varsòvia.

Tsvet es veu obligat a abandonar la ciutat, es trasllada a Moscou amb tots els seus llibres i arxius. Malalt ja de tuberculosi, aquests esdeveniments n'acceleren el deteriorament físic, del qual tracta de recuperar-se traslladant-se una temporada al Caucas. El 1917 és proposat per a ocupar una càtedra en la Universitat de Tartu (Estònia) però, pocs mesos més tard, davant la proximitat de l'exèrcit alemany, la universitat com a institució decideix traslladar la seua a Voronezh, on és refundada com a Universitat de Voronezh. A causa

d'aquestes circumstàncies, Mikhail Tsvet va formar part del primer claustre de professors. La Gran Guerra va acabar aquell mateix any, però Tsvet estava ja molt malalt. La tuberculosi se li havia declarat obertament i va morir a l'estiu de 1919, als 47 anys d'edat. Passats els anys, sembla com si el destí no permetera que les tribulacions de Tsvet cessaren més que amb la mort: durant la Segona Guerra Mundial, el cementiri del monestir Aleksejev, on reposaven les seues restes, va ser destruït pels bombardejos, i des de llavors la tomba mai va poder ser trobada.

Malgrat la curta vida que va tenir, Tsvet va ser un investigador prolífic. Entre 1894 i 1919 va publicar més de 70 articles científics i la monografia esmentada en la qual explicava el mètode cromatogràfic [38]. Però el fet que aquesta estiguera escrita en rus i mai fóra traduïda a altres idiomes va dificultar sens dubte la difusió de la seua obra científica i va retardar substancialment el desenvolupament de la tècnica cromatogràfica.

Tsvet es considerava un botànic, i així era considerat també pels científics coetanis. El seu interès científic sempre va estar enfocat cap als pigments de les plantes, però el concepte que tenia de la metodologia de la investigació el feia apartar-se freqüentment de l'empirisme de les meres descripcions per a buscar explicacions teòriques als resultats que obtenia. Avui Tsvet seria considerat un bioquímic o un biofísic, o tal vegada les dues coses. En els seus treballs es poden trobar no solament els brillants resultats de les seues investigacions, sinó també idees i reflexions summament valuoses per al futur desenvolupament de la cromatografia. En els seus articles s'adverteix un interès especial per les característiques de la fase mòbil usada en les seues separacions. Així, subratllava que es pot aconseguir una major eficàcia emprant com a fase mòbil no un únic dissolvent, sinó diversos, bé de forma successiva (el que molts anys després anomenaria *elució en etapes*) o bé en forma de barreja de composició variable (fet que constitueix una claríssima predicció de la tècnica que actualment es coneix com a *elució en gradient*). També reclamava l'atenció sobre la grandària de gra de les partícules del material adsorbent

que ompli la columna, i féu veure l'efecte positiu que l'ús de partícules de gra molt fi tenia sobre l'eficàcia de les separacions, a causa de l'atenuació dels fenòmens de difusió responsables de l'eixamplament de les bandes, fet que actualment constitueix una de les bases de la cromatografia de líquids d'alta resolució (HPLC), que no començaria a ser desenvolupada fins quasi cinquanta anys després.

Com sol passar amb els homes de ciència imaginatius i rupturistes, el quefer científic de Tsvet va ser controvertit, i va suscitar polèmiques que ell mai va defugir. El 1905, durant la seua estada a Varsòvia, van aparèixer unes publicacions de Hans Molisch, professor de botànica de la Universitat de Praga, sobre els pigments extrets de les algues. Tsvet va comprovar que els resultats de Molisch diferien notablement dels seus propis, encara inèdits. Per això va publicar una carta en la mateixa revista que havia arreplegat les publicacions d'aquell, en la qual mostrava les diferències advertides en els resultats, encara que no va descriure la metodologia que havia emprat. Això va provocar la protesta de Molisch, a qui es va unir F. G. Kohl, autor d'un llibre sobre carotens. La resposta de Tsvet no es va fer esperar, i es va materialitzar en la publicació dels dos articles ja referits en la revista de la Societat Alemanya de Botànica, la més prestigiosa de l'especialitat, i en els quals descrivia el mètode emprat i usava la paraula cromatografia per primera vegada per a denominar-lo [36, 37]. Les crítiques de Molisch i Kohl van ser represes el 1907 per Leon Marchlewski, professor a la Universitat de Cracòvia, ciutat polonesa que en aquells dies es trobava sota el domini de l'imperi austrohongarès. A les diferències d'índole acadèmica que Marchlewski mantenia amb Tsvet (a qui qualificava d'arrogant, segons deia, "per pretendre canviar la química de la clorofil·la amb l'ajuda d'un simple experiment de filtració") se'n sumaven unes altres d'índole política més difícils de solucionar (per a Marchlewski, nacionalista polonès, Tsvet era un invasor rus a la Varsòvia ocupada). Un altre investigador contemporani de Tsvet manifestament crític amb els treballs d'aquest va ser Richard Willstätter, professor de l'Institut Politècnic de Zúrich i tal vegada el químic

orgànic alemany més prestigiós del seu temps. Willstätter treballava també en pigments vegetals, principalment clorofil·les. Per això es va interessar pels treballs de Tsvet. Com que la monografia d'aquest només havia sigut publicada en rus, el 1913 va encarregar particularment una traducció alemanya d'aquesta per a estudiar-la millor. Les discrepàncies se centrarien en dues suposicions de Willstätter: d'una banda, que la cromatografia no podia ser una tècnica útil amb finalitats preparatives i, de l'altra, que les substàncies sofririen necessàriament alteracions químiques durant el procés de separació. Cap d'aquestes dues suposicions era certa, com va demostrar Tsvet i, segons sembla, el mateix Willstätter va reconèixer més tard. Després d'incorporar la cromatografia, com a mètode preparatiu, a les seues pròpies eines de treball, Willstätter va obtenir el 1915 el premi Nobel de química per les seues investigacions sobre les clorofil·les, sent així el primer dels més de vint científics que han accedit al guardó esmentat per descobriments que han fet gràcies a les tècniques cromatogràfiques.

Com que, d'una banda, els treballs de Tsvet no van ser del tot compresos pels bioquímics i químics orgànics de l'època, principalment alemanys, i, de l'altra, la seua monografia mai va ser traduïda del rus a altres llengües, el mètode cromatogràfic va ser molt escassament utilitzat pels seus contemporanis. Per tant, va caure en un oblit del qual no eixiria fins a la dècada dels anys trenta. L'inici d'aquest renaixement va tenir lloc el 1922, gràcies a un treball relativament modest del químic nord-americà Leroy Sheldon Palmer (1887-1944). Palmer havia estudiat a la Universitat de Missouri, a l'estat de Colúmbia i, després d'un inici en la investigació en el camp de l'enginyeria química, va ingressar com a col·laborador en l'Institut d'Investigacions Làcties de la Universitat de Missouri, per a traslladar-se el 1919 a la Universitat de Minnesota, on va romandre fins que va morir el 1944. Durant l'estada a la Universitat de Missouri, Palmer va treballar en l'estudi dels pigments del greix de la llet. Sobre aquest tema va publicar, el 1914, diversos articles, en el primer dels quals [39] va usar la tècnica cromatogràfica de Tsvet, de la qual tenia certs

coneixements a través d'algun dels articles de Tsvet escrits en alemany o en francès que havien arribat al seu poder. el 1922 Palmer va publicar una monografia sobre els carotenoides i altres pigments [40], en la qual descriu alguns dels treballs de Tsvet i la tècnica cromatogràfica. Aquesta monografia va ser editada per l'American Chemical Society, naturalment en anglès, i va ser per això el mitjà a través del qual la cromatografia va començar a ser coneguda per químics de tot el món.

Un dels primers químics europeus que van tenir accés a la monografia de Palmer era l'austriac Edgar Lederer (1908-1988). Lederer havia estudiat química a la Universitat de Viena, on va presentar el 1930 la seua tesi doctoral sobre els alcaloides de l'índole. Després es va incorporar a l'equip de Richard Kuhn (1900-1967), en l'Institut d'Investigacions Mèdiques de la Universitat de Heidelberg (figura 7). Es donava la circumstància que Kuhn s'havia incorporat recentment com a professor a aquesta universitat, procedent de l'Institut Politècnic de Zúrich, on havia sigut deixeble de Willstätter, que, com abans s'ha assenyalat, s'havia distingit com un dels més furibunds crítics de Tsvet, i conservava en el seu poder la traducció alemanya de la monografia d'aquest. Willstätter va cedir aquesta traducció a Kuhn, que se la va endur a la Universitat de Heidelberg. Allí Kuhn va treballar sobre els pigments presents en el rovell d'ou, però no va utilitzar la cromatografia fins que Lederer es va integrar en el seu equip de treball. Quan Kuhn li encarrega que investigue la possibilitat que la luteïna del rovell d'ou siga una barreja de xantina i xantofil·la, Lederer li comunica la seua intenció d'aplicar el mètode cromatogràfic, que coneixia superficialment a través de la monografia de Palmer. Kuhn li va facilitar, doncs, la traducció alemanya de la monografia de Tsvet. D'aquesta forma, Lederer va poder accedir a les detallades descripcions contingudes en el llibre, i aplicar la tècnica cromatogràfica als seus estudis sobre la luteïna. El resultat que va obtenir confirmava les sospites de Kuhn: a partir d'una mostra de luteïna d'ou es van separar dues bandes cromatogràfiques que contenien, respectivament, zeaxantina i xantofil·la [41]. A partir de llavors, tant Lederer com altres

col·laboradors de Kuhn van continuar emprant la cromatografia, tant a escala analítica en la separació de carotens [42, 43], com a escala preparativa [44].



Figura 7. Richard Kuhn (1900-1967) i Edgar Lederer (1908-1988).

Els treballs de Kuhn i Lederer, publicats el 1931, van ser el detonant perquè les tècniques cromatogràfiques començaren a ser utilitzades a Europa de forma generalitzada: s'havia produït el renaixement de la cromatografia, 25 anys després dels primers articles de Tsvet i 12 anys després de la seua mort. No deixa de ser curiós que la traducció alemanya del llibre de Tsvet encarregada expressament per Willstätter per a criticar el mètode cromatogràfic servira, 18 anys més tard, per a propiciar-ne el renaixement. El 1938, l'Acadèmia Sueca de les Ciències va atorgar el premi Nobel de química a Richard Kuhn pels seus estudis sobre els carotenoides i les vitamines. No obstant això, el govern alemany, en poder dels nazis, mai li va concedir el permís per a acudir a Estocolm. Kuhn va rebre el premi el 1945, quan va acabar la Segona Guerra Mundial.

En la dècada dels trenta la cromatografia ja s'usava habitualment a Europa, però no als Estats Units, on la bibliografia en alemany dificultava que es difonguera. No obstant això, la publicació el 1937 de la primera monografia sobre aquesta tècnica [45] després de la que havia publicat el mateix Tsvet, de la qual es van fer dues edicions alemanyes a Viena i Berlín, suposaria, quatre anys després, l'impuls

necessari perquè la cromatografia arribara als laboratoris nord-americans: un dels autors d'aquesta monografia, l'hongarès Laszlo Zechmeister (1889-1972), va emigrar el 1940 als Estats Units, on va ser contractat com a professor en l'Institut de Tecnologia de Califòrnia, i des d'allí va influir perquè la segona edició alemanya del seu llibre fóra traduïda a l'anglès i editada el 1941 [46]. L'edició en llengua anglesa va tenir una ràpida difusió, no sols als Estats Units, sinó també a Europa.

La cromatografia, tal com era entesa a principis de la dècada dels quaranta, era un procés basat en l'adsorció (retenció de les substàncies en la superfície d'un sòlid) i la separació d'aquestes amb ajuda d'un líquid. El 1941, els britànics Martin i Synge publiquen el primer article sobre una nova tècnica cromatogràfica: la *cromatografia de partició*, procés basat en la distribució de les substàncies entre dos líquids en els quals s'absorbeixen o es dissolen en un grau que depèn de les seues propietats [47]. Aquest article no solament obria nous horitzons a la cromatografia, sinó que contenia la teoria de la separació cromatogràfica i postulava la possibilitat d'aplicar la tècnica a la separació de gasos, allò que, 11 anys després, constituiria la cromatografia gas-líquid.



Figura 8. Archer J. P. Martin (1910-2002) i Richard L. M. Synge (1914-1994).

Archer John Porter Martin (1910-2002) va nèixer a Londres i va estudiar a la Universitat de Cambridge, on es va graduar en bioquímica el 1932 i es va doctorar el 1936. El 1938 es va

traslladar a Leeds, on va ser contractat per un centre d'investigació sobre la llana, la *Wool Industries Research Association*. Richard Laurence Millington Synge (1914-1994) va nèixer a Liverpool i va estudiar física, química, fisiologia i bioquímica també en la Universitat de Cambridge, on va obtenir el doctorat el 1941. El 1939 Synge havia fet un treball d'investigació en la *Wool Industries Research Association* a Leeds, on, juntament amb Martin, començaria a treballar en la separació dels aminoàcids presents en les proteïnes de la llana. Martin havia adquirit a Cambridge certa experiència en separacions mitjançant extracció a contracorrent, i se sentia fortament atret per aquesta tècnica, introduïda pocs anys abans per Lyman C. Craig. L'extracció a contracorrent és una tècnica de fonament teòric molt clar, però posar-la en pràctica requereix un complicat aparell constituït per un alt nombre de tubs mitjançant els quals es van desplaçant dos líquids immiscibles, en sentit contrari, i de forma seqüencial.

El 1940, ja a Leeds, i amb Synge com a col·laborador (figura 8), Martin li va proposar estudiar la separació d'aminoàcids mitjançant extracció a contracorrent. Synge va considerar que el benzè i l'aigua serien dissolvents adequats per a això, i va construir un aparell de 40 elements per a portar a terme els experiments. La separació va resultar satisfactòria, però l'aparell va donar molts problemes i requeria una atenció contínua. Per aquest motiu, Martin va passar un temps dissenyant nous models, que després mostrava a Synge, un Synge que, segons paraules del mateix Martin, va acabar cansat d'escoltar les seues propostes. Llavors Martin va tractar de posar en pràctica una idea que havia concebut temps arrere: la possibilitat de dur a terme una separació a contracorrent de forma contínua, no seqüencial. Per a fer-ho havia d'aconseguir desplaçar els dos líquids en sentits oposats simultàniament, com si relliscaren l'un damunt l'altre. Naturalment, aquesta forma d'operar permetria prescindir de la complicada màquina de tubs, però no semblava fàcil posar-la en pràctica. Tot i així, Martin i Synge van preparar una columna empaquetada amb fibres paral·leles de cotó i llana de forma que, posant aigua en un extrem del tub i cloroform en

l'altre, es produïra un flux de corrents paral·lels i en sentit contrari de l'un i l'altre dissolvent. Els resultats, no obstant això, no van ser els desitjats. A la recerca de noves solucions, Martin va decidir que no era necessari que els dos líquids es mogueren, sinó que bastaria que ho fera un d'ells, sempre que s'aconseguira fixar l'altre convenientment, per exemple retenint-lo en la superfície d'un sòlid. En els primers experiments que van portar a terme amb èxit, el líquid que hauria de mantenir-se immòbil, o *fase estacionària* (aigua), es fixava sobre gel de sílice, i això constituïa el reblliment de la columna cromatogràfica. En la part superior de la columna es dipositava la barreja de substàncies que es volia separar (aminoàcids acetilats), i finalment es feia passar a través de la columna un líquid immiscible amb l'aigua, o *fase mòbil* (cloroform amb una mica d'etanol), que arrossegava els components de la barreja a velocitats distintes i aconseguia que se separaren. Com els aminoàcids són incoloros, van trobar una forma de visualitzar o revelar les bandes impregnant prèviament el reblliment de sílice amb dissolució d'un indicador àcid-base (ataronjat de metil). Això va permetre que el resultat fóra la formació de vistoses bandes de color roig sobre un fons ataronjat.

Després de presentar els primers resultats en una reunió de la *Biochemical Society* britànica al juny de 1941, a la fi d'aquest mateix any van publicar l'article *A new form of chromatogram employing two liquid phases* [47], que presentava primerament la teoria de la cromatografia de partició i després la separació d'aminoàcids continguts en les proteïnes. Així naixia la cromatografia de partició o cromatografia líquid-líquid, com els autors la van denominar inicialment. Martin i Synge van rebre el 1952 el premi Nobel de química per la invenció de la cromatografia de partició. El treball de Martin i Synge va merèixer el comentari següent en la prestigiosa revista científica *Nature* [48]:

“Els mètodes desenvolupats per Martin i Synge són probablement únics en virtut de la seua senzillesa i elegància de concepció i execució, i també per l'extens abast de la seua aplicació. És probable que la seua invenció siga considerada per

les futures generacions com una de les pedres angulars més importants en el desenvolupament de les ciències químiques”.

Martin i Synge, a qui es van unir després A. H. Gordon i R. Consden, van continuar amb l'estudi de la separació d'altres aminoàcids, canviant el suport de sílice per un altre de cel·lulosa. Per fer-ho van emprar trossos de paper de filtre (cel·lulosa quasi pura), primerament de forma semicircular i després de forma lineal, tallant tires d'aquest material, que podien considerar-se fines columnes cromatogràfiques. Com a fase mòbil per a la separació de valina i leucina van emprar butanol, que avançava per capil·laritat al llarg de la tira de paper. El resultat el portaven a terme amb ninhidrina, reactiu que forma amb els aminoàcids compostos fortament acolorits, de manera que es podia localitzar la posició a què s'havia arribat després de la separació. La tècnica va ser denominada *cromatografia sobre paper*. Per a separar un major nombre d'aminoàcids van recórrer a l'ús d'un tros de paper de filtre quadrat en lloc d'una tira i, després de la primera separació, van repetir operació després de canviar de dissolvent i girar el paper un angle de 90 graus. Així l'avanç de les noves taques es produïa en direcció perpendicular a la de les primeres. Per això van anomenar a aquesta modalitat *cromatografia bidimensional sobre paper*. El 1943 Synge s'havia traslladat al *Lister Institute of Preventive Medicine* a Londres. A causa d'aquest trasllat, la seua participació en aquest treball es va reduir a l'etapa inicial, i els nous resultats van ser publicats per Consden, Gordon i Martin [49].

Encara que l'equilibri d'intercanvi iònic ja s'havia usat el 1938 per T. I. Taylor i H. C. Urey com a base per a la separació d'isòtops de liti i potasi [50], el mètode era complicat, ja que van haver d'emprar-hi columnes d'uns tres centímetres de diàmetre i més de trenta metres de longitud, empaquetades amb zeolita com a intercanviador iònic natural. La cromatografia d'intercanvi iònic només començaria a usar-se de forma generalitzada quan va ser factible disposar de resines canviadores sintètiques, a principis de la dècada dels quaranta, i se'n va poder demostrar l'eficàcia com a mètode de

separació durant el desenvolupament, en plena Segona Guerra Mundial, del gegantesc i pluridisciplinari projecte Manhattan, l'objectiu central del qual, com després es va saber, era la fabricació de la bomba atòmica. L'ús de la cromatografia d'intercanvi iònic dins d'aquest projecte Manhattan va estar a càrrec de Glenn Theodore Seaborg (1912-1999), que, juntament amb Edwin Mattison Mac Millan (1907-1991), va aïllar els 64 quilos de plutoni necessaris per a construir la bomba que el 9 d'agost de 1945 seria llançada sobre la ciutat japonesa de Nagasaki. Per raons òbvies de seguretat, el govern dels Estats Units no va permetre que ni la metodologia ni els resultats aconseguits en la separació dels elements transurànids foren donats a conèixer fins després de finalitzada la guerra. Seaborg va continuar després de la guerra les seues investigacions en la separació d'elements transurànids, va descobrir els elements de nombre atòmic entre 94 (plutoni) i 102 (nobeli), que, juntament amb el 103 (laurenci), descobert el 1961, completaven la segona sèrie de transició. (S'ha dit de Seaborg que ha sigut, després de Mendelejev, el científic que més ha fet per la taula periòdica dels elements.) Seaborg i Mac Millan van rebre el premi Nobel de química el 1951 pels seus descobriments en la química dels elements transurànids. A principis de la dècada dels 70 es va desenvolupar una nova modalitat de cromatografia d'intercanvi iònic: la *cromatografia d'ions*, basada també en l'ús d'una columna separadora reblida amb una resina d'intercanvi iònic amb detecció principalment conductimètrica, cosa que requereix una segona columna la finalitat de la qual és eliminar els ions del fons, també mitjançant un procés d'intercanvi iònic (columna supressora).

Com s'ha assenyalat anteriorment, Martin i Synge havien considerat, ja el 1941, la possibilitat de separar compostos gasosos mitjançant cromatografia de partició. Aquesta possibilitat va ser duta a la pràctica pel mateix Martin, que el 1950 s'havia traslladat al *National Institute of Medical Research* a Londres, on se li va unir com a col·laborador un jove científic, Anthony Trafford James (Cardiff, 1922). James, que s'havia graduat a Londres el 1943 i doctorat el 1946, va tractar al principi,

a instàncies de Martin, de continuar amb el desenvolupament d'una columna cromatogràfica amb algun sistema de distribució entre fases diferent de la partició, però no va obtenir resultats. Davant aquests inicis descoratjadors, Martin, amb la finalitat (com ell mateix reconeixia després) d'alçar la moral del seu col·laborador, va suggerir-li que tractara de posar en pràctica una idea que ja havia inclòs en el seu primer article sobre la cromatografia de partició: usar un gas, en lloc d'un líquid, com a fase mòbil. Sis setmanes més tard havien aconseguit separar una barreja d'amoníac amb metil, dimetil i trimetilamina, i el 1952 van publicar el primer article sobre aquesta nova tècnica cromatogràfica: *Gas-Liquid Partition Chromatography. A Technique for the Analysis of Volatile Materials* [51]. La separació de substàncies volàtils mitjançant cromatografia de gasos no podia servir-se del color d'aquestes ni de l'ús de reactius reveladors per a visualitzar la posició de les bandes, com es podia fer en cromatografia de líquids. James i Martin van solucionar el problema amb la recol·lecció de fraccions del gas a l'eixida de la columna en diferents porcions de dissolució i valoració de cadascuna de les fraccions, operació que va poder agilitar-se usant un valorador automàtic que va construir el mateix Martin. Més avant es va introduir l'ús de detectors instrumentals, com el de conductivitat tèrmica, el d'ionització de flama i el de captura electrònica. En dos anys l'ocupació de la cromatografia gas-líquid es va estendre per laboratoris de tot el món: pràcticament qualsevol mostra orgànica podia ser analitzada per aquesta tècnica i va ser en la indústria petroquímica on va arribar un major grau d'implantació. Els avanços més recents en cromatografia de gasos s'han aconseguit en l'ús d'acoblament a sistemes postcolumna (detectors de major sensibilitat i selectivitat com l'espectrometria de masses), o bé a sistemes precolumna, com microextracció en fase sòlida, espai en cap o cromatografia multidimensional.

El desenvolupament de les tècniques cromatogràfiques en la segona meitat del segle XX va ser espectacular, no sols quant al perfeccionament de les modalitats ja conegudes, sinó també quant a la introducció d'altres de noves. Amb la introducció de la

cromatografia gas-líquid per James i Martin semblava que s'havia arribat a la màxima versatilitat possible en les tècniques de separació, mentre que la cromatografia líquid-líquid, en aquells dies molt més lenta i de menor resolució, havia quedat relegada a una posició molt secundària. El 1963, John Calvin Giddins, a la Universitat de Utah (EUA) proposa una modalitat de cromatografia de líquids clarament inspirada en algunes de les característiques pròpies de la cromatografia de gasos, i exposa les bases de la tècnica en el seu article *Liquid Chromatography with Operating Conditions Analogous to those of Gas Chromatography* [52]. Per a incrementar la resolució de les separacions, la grandària de partícula del rebliment de la columna havia de ser sotmesa a una reducció dràstica en comparació amb la que s'usava en cromatografia de líquids convencional. En aquestes condicions el flux de fase mòbil només podrà arribar a valors útils si s'hi aplica una pressió suficientment elevada. Aquesta modalitat, denominada *cromatografia de líquids d'alta resolució* (HPLC) va començar a usar-se de forma generalitzada en la dècada dels 70 en diverses àrees de la bioquímica i la biotecnologia, en què s'usaven principalment detectors fotomètrics i electroquímics, expressament dissenyats i construïts per a aquesta finalitat.

Una de les tècniques cromatogràfiques que van aparèixer després de la cromatografia gas-líquid és la *cromatografia de capa fina*, una modalitat de cromatografia plana introduïda el 1956 per Ergon Stahl a la Universitat de Mainz (Alemanya) [53]. Stahl va comprovar que les dimensions dels porus del paper de filtre emprat en cromatografia sobre paper era excessivament grans per a certes separacions que havia de portar a terme i va preparar unes plaques de vidre sobre les quals va polvoritzar fines suspensions d'alúmina o sílice. Després d'homogeneïtzar i assecar curosament la capa que s'hi havia format, el suport quedava disposat per a operar de forma semblant a com es feia en cromatografia sobre paper. El mecanisme de retenció dels soluts consistia essencialment en un procés d'adsorció sobre una fase estacionària sòlida. Per això, com el mateix Stahl reconeixia, el seu dispositiu

equivalia essencialment a la vella columna cromatogràfica de Tsvet, però en forma oberta.

A la fi dels anys 50 i principi dels 60 es proposa una nova modalitat de separació cromatogràfica basada en l'ús de gels porosos com a rebliment de la columna, que permet separacions en funció de la grandària dels soluts: la cromatografia d'*exclusió molecular*, desenvolupada per Jerker Olof Porath a la Universitat de Upsala i per Flodin en els laboratoris de l'empresa farmacèutica Pharmacia de la mateixa ciutat sueca. Aquesta tècnica és d'una especial eficàcia en la separació de macromolècules i per això s'aplica en biotecnologia i química dels polímers. La separació de moltes macromolècules d'origen biològic com proteïnes, polisacàrids o àcids nucleics, difícil d'aconseguir amb sistemes convencionals, pot fer-se mitjançant *cromatografia per afinitat*, basada en interaccions solut-fase estacionària altament selectives (com ara enzim-substrat, enzim-inhibidor, antigen-anticòs, etc.). A partir dels anys 80 van començar a emprar-se els fluids supercrítics (fluids sotmesos a condicions de pressió i temperatura per damunt del punt crític, amb la qual cosa adquireixen un estat diferent del líquid i del gasós) amb finalitats analítiques. La *cromatografia de fluids supercrítics* presenta alguns avantatges definits sobre la cromatografia de gasos i la cromatografia de líquids d'alta resolució, però l'ús no ha arribat a generalitzar-se.

Han transcorregut cent anys des que Mikhail Tsvet va portar a terme els experiments que van donar lloc a la cromatografia. Durant aquest temps les tècniques cromatogràfiques han sigut sotmeses a processos d'instrumentació, automatització, miniaturització i computerització, i el coneixement i control dels processos fisicoquímics que regeixen les interaccions entre solut, fase estacionària i fase mòbil han arribat a nivells en molts casos difícilment superables. No obstant això, les bases de la separació cromatogràfica han canviat essencialment molt poc respecte a les primeres descripcions que en va fer Tsvet. En circumstàncies menys desfavorables que les que van concórrer en la vida de Tsvet, aquest hauria

sigut, sens dubte, un digne candidat al premi Nobel de química. No va ser així, però la vintena de científics que van aconseguir aquest guardó valent-se de la cromatografia per a portar a terme les seues investigacions constitueixen una prova fefaent de la transcendència del seu invent.

3. Anàlisi polarogràfica

La polarografia és una tècnica electroquímica d'anàlisi basada en la mesura de la intensitat del corrent que flueix per un circuit com a conseqüència de la reacció electroquímica que es produeix en un elèctrode de gotes de mercuri quan s'hi aplica un potencial determinat. La importància de la polarografia com a mètode d'anàlisi quantitativa rau en el fet que la intensitat del corrent (intensitat límit de difusió) és proporcional a la concentració de l'espècie química que reacciona en la superfície de l'elèctrode. El 1959 la Reial Acadèmia Sueca de les Ciències va concedir el premi Nobel de química "pel descobriment i desenvolupament dels mètodes d'anàlisi polarogràfica" al químic txec Jaroslav Heyrovský quasi quaranta anys després que aquest donara a conèixer els seus primers resultats el 1922 [54]. La contribució que amb la polarografia feia Heyrovský a l'electroquímica va suposar la introducció d'una tècnica instrumental que impulsaria de forma espectacular la química analítica. Així es va iniciar l'era de la moderna electroquímica analítica o electroanàlisi.

Els fenòmens electroquímics associats a la interacció entre l'electricitat i la matèria van començar a ser estudiats a la fi del segle XVIII. El famós experiment del metge italià Galvani amb les anques d'una granota, el 1791, és probablement el primer del qual es té notícia, i el que serviria de germen per al posterior desenvolupament de l'electroquímica. Luigi Galvani (1737-1798) va ser professor d'anatomia i obstetrícia en la Universitat de Bolonya fins que va ser destituït de la seua càtedra el 1797 per oposar-se a la creació de la República Cisalpina, després de l'ocupació d'Itàlia per les tropes de Napoleó. En el seu laboratori d'anatomia, Galvani va observar el

1791 que les anques d'una granota que mantenia suspeses d'un ganxo de coure, que al seu torn penjava d'una barra de ferro, experimentaven sacsejades brusques quan les tocava amb els dos metalls. Galvani, més interessat per l'anatomia que per l'electricitat, va interpretar aquest fenomen suposant que els teixits animals contenien una espècie de força vital a la qual va denominar *electricitat animal*, i que era la que provocava els moviments dels músculs quan aquests contactaven amb un metall. Sembla que l'experiment de Galvani es va fer tremendament popular a Europa i eren pocs els xiquets que no tractaven de caçar algun d'aquests animalets per reproduir un *miracle* tan espectacular. Tres anys després, el físic, també italià, Alejandro Volta (1745-1827) va demostrar que l'únic element prescindible de l'experiment de Galvani era, precisament, la granota i, amb això, la inexistència de l'electricitat animal: l'electricitat es generava com a conseqüència del contacte entre el coure i el ferro, i el paper de les anques de la granota era merament el de sensor de l'electricitat produïda. Volta va aconseguir generar electricitat entre dos discos de metalls diferents (plata i zinc) separats per un tros de tela impregnat en dissolució de sal. Va comprovar, a més, que el fenomen era més sensible com més elements hi metall-dissolució-metall hi havia. Per fer-ho va construir un dispositiu generador de corrent constituït per diverses desenes d'aquests elements apilats, que va denominar per això *pila*, terme que es continua emprant en l'actualitat, associat indistintament als noms dels dos científics esmentats (pila galvànica o pila voltaica). Volta va arribar a construir una pila de grans dimensions, amb el suport de Napoleó, que, fascinat per l'invent, va instaurar el premi Volta per a científics que es distingiren en els seus treballs sobre electricitat, premi que va aconseguir gran prestigi a l'Europa de principis del segle XIX.

El primer premi Volta va ser concedit al químic britànic Sir Humphrey Davy (1778-1829), que el 1807 havia aconseguit aïllar diversos metalls (sodi, potassi, calci, estronci i bari) mitjançant l'ocupació del corrent elèctric, i va publicar a més una teoria de l'electròlisi [55]. Pocs anys abans els també britànics Anthony Carlisle (1768-1840) i William

Nicholson (1753-1815) havien demostrat que l'aigua pot descompondre's per mitjà del corrent elèctric, i un altre britànic, William Cruickhanks (1745-1800) que durant l'electròlisi els metalls reaccionen en el pol negatiu i els elements no metàl·lics ho fan en el positiu. Cruickhanks va ser també el primer a emprar l'electròlisi amb fins analítics qualitius: la formació d'un dipòsit de coure servia per a identificar la presència d'aquest element en la dissolució electrolitzada. Més avant, el mètode electrolític s'aplicaria a la identificació d'altres metalls, com ara arsènic, plom i manganès.

La relació quantitativa entre la quantitat d'electricitat invertida en l'electròlisi i el pes de substància reaccionada va ser establida pel britànic Faraday entre 1832 i 1834, quan va enunciar les lleis de l'electròlisi. Michel Faraday (1791-1867) va nàixer a Newington, Surrey, al sud d'Anglaterra, i va començar a treballar molt jove com a ajudant de Davy, en el laboratori del qual a Londres va poder experimentar amb l'electrodeposició dels metalls alcalins i alcalinoterris en forma d'amalgames. Va construir un culombímetre de gasos amb el qual podia mesurar la quantitat d'electricitat a través del volum d'hidrogen i d'oxigen obtingut en l'electròlisi de l'aigua. Les observacions que va fer li van permetre enunciar les seues famoses lleis, segons les quals el pes de substància que reacciona durant un experiment d'electròlisi és proporcional a la quantitat de corrent i a l'equivalent químic de la substància. Es deu també a Faraday la introducció dels termes *electròlisi*, *èlectrode*, *ànode*, *càtode*, *anió* i *catió*.

La primera aplicació de l'electròlisi amb fins analítics quantitius es deu al nord-americà Wolcott Gibbs (1822-1908),* graduat en Medicina a Nova York, encara que, al seu retorn als Estats Units després d'una estada a Europa durant la qual va treballar amb Liebig i amb Dumas, començara a ensenyar física i química

* No s'ha de confondre amb el científic coetani i també nord-americà Josiah William Gibbs (1839-1903), químic teòric, professor de la Universitat de Yale, i a qui es deu l'enunciat de la *regla de les fases*.

i arribara després a ser professor de ciències naturals a la Universitat de Harvard. Gibbs va determinar quantitativament coure mitjançant electròlisi pesant el dipòsit que es formava en un gresol de platí que utilitzava com a càtode, va determinar també níquel de forma similar i va denominar *electrogravimetria* aquest mètode d'anàlisi quantitativa [56]. El mètode resultava ser molt exacte, i en els anys següents es van proposar mètodes electrogravimètrics per a la determinació d'altres metalls, com plata, zinc, plom, mercuri, cadmi i manganès, i es va publicar la primera monografia sobre aquesta tècnica: *Quantitative analyse auf electrolytischen Wege (Anàlisi quantitativa per mitjans electrolítics)*, amb el qual el seu autor, l'alemany Alexander Classen (1843-1934), professor de química analítica en la Universitat d'Aachen, feia importants aportacions a la teoria i la pràctica de l'electrogravimetria.

Durant uns trenta anys les determinacions electrogravimètriques es van portar a terme mantenint el corrent aproximadament constant. Aquesta forma d'operar no permet controlar el potencial de l'elèctrode. Per això, en cas de la presència de diversos ions metàl·lics en la dissolució, el dipòsit format durant l'electròlisi estarà constituït no per un metall pur, sinó per una barreja de metalls, fet que impedeix la determinació individual de cadascun d'aquests. Aquest problema va poder solucionar-se gràcies als avanços que es van produir en l'electroquímica teòrica en les dues últimes dècades del segle XIX, i que van permetre conèixer la importància del control del potencial de l'elèctrode durant els processos d'electròlisi. Un dels avanços més significatius es deu a Nernst, que el 1889 va publicar la seua famosa equació [57], amb la qual s'establia la dependència entre el potencial d'equilibri i les activitats de les espècies químiques en la dissolució. Walther Hermann Nernst (1864-1941) va ser primer ajudant d'Ostwald, després professor de la Universitat de Göttingen i finalment director de l'Institut de Física Experimental de la Universitat de Berlín entre 1924 i 1933, any que va ser destituït a causa de la seua manifesta oposició al nazisme. Nernst havia sigut distingit amb el premi Nobel de Química el 1920, i se'l considera, juntament

amb Arrhenius i Ostwald, fundador de la química física. Després que Li Blanc mesurara experimentalment el potencial de *descomposició* de nombrosos compostos metàl·lics en dissolució [58], les determinacions electrogravimètriques van començar a efectuar-se a potencial constant. D'aquesta manera es permetia determinar selectivament uns metalls en presència d'altres (*electroseparació*) [59]. La introducció de l'*elèctrode auxiliar* el 1908 per l'alemany Henry Julius Salomon Sand (1873-1944) va permetre controlar amb gran precisió el potencial de l'elèctrode durant les determinacions electrogravimètriques [60].

A principis del segle XX l'ús de les reaccions electroquímiques en anàlisi estava limitat a les determinacions electrogravimètriques i a les electroseparacions. En els primers anys vint, Jaroslav Heyrovský (figura 9) introduiria una nova i decisiva línia en els mètodes d'electroanàlisi amb la mesura de la intensitat del corrent produït en l'electròlisi quan s'usa un elèctrode de gotes de mercuri, fenomen que constituïria el principi de l'*anàlisi polarogràfica*.



Figura 9. Jaroslav Heyrovský (1890-1967)

Jaroslav Heyrovský va néixer a Praga el 1890. El seu pare, Leopold Heyrovský, era professor de dret romà a la Universitat Karlova (Carolina) de Praga*, de la qual arribaria a ser rector. L'ambient d'estudi que es vivia en la família va propiciar les inquietuds del jove Jaroslav, que es va interessar durant l'adolescència per la botànica, la zoologia, la mineralogia, l'astronomia, la música i l'esport. En l'*Akademické Gymnasium* (escola secundària) de Praga va estudiar matemàtiques, física, química, llatí i grec i, després de superada la prova *de maduresa*, el 1910 va ingressar en la Facultat de Filosofia de Praga, on va estudiar física, química i matemàtiques. Interessat pels estudis de química-física, que en aquells dies no podia cursar a Praga, va aconseguir ingressar el 1910 en el University College de Londres, on va estudiar amb Sir William Ramsay, professor de química general i premi Nobel de química el 1904 pel descobriment dels gasos nobles. El 1913 Heyrovský obté el grau de *bachelor* (llicenciat) en Ciències. Aquest mateix any es retira el professor Ramsay, que és substituït per Frederick George Donnan. Aquest reorienta les línies d'investigació cap al camp de l'electroquímica i assigna a Heyrovský un projecte de tesi sobre la mesura del potencial d'elèctrode de l'alumini. Heyrovský adverteix prompte les dificultats, tant experimentals com d'interpretació, que sorgeixen com a conseqüència dels fenòmens superficials de passivació i de despreniment de gas hidrogen. A instàncies de Donnan, comença a utilitzar una amalgama líquida d'alumini amb l'ajuda d'un capil·lar de vidre per a poder renovar convenientment la superfície del metall. Però els seus treballs són bruscament interromputs: el 1914, durant una visita a la seua família a Praga, esclata la prime-

ra Guerra Mundial. L'exèrcit austrohongarès el recluta i no pot tornar a Londres. Heyrovský no és destinat al front, sinó a un hospital a Àustria, prop d'Innsbruck, com a ajudant de radiologia, on disposa de temps per a ultimar el treball experimental i redactar la memòria de la seua tesi *Electroafinitat de l'alumini* que, una vegada finalitzada, remet a la Facultat de Filosofia de la Universitat Txeca de Praga, en la qual, després d'acabada la guerra, obté el títol de doctor el 1918.

Un dels membres del tribunal de doctorat que va jutjar els mèrits de Heyrovský, el professor Bohumil Kucera, va proposar al nou doctor treballar en un projecte ja iniciat a l'entorn de l'efecte del potencial elèctric sobre la tensió superficial del mercuri. Kucera havia tractat de substituir l'ús de l'electròmetre capil·lar *estàtic*—en el qual no hi havia flux de mercuri— construït a aquest efecte pel físic francès Gabriel Lippmann el 1887, pel d'un capil·lar *dinàmic* en el qual la variable mesurada seria el pes de les gotes de mercuri despreses. Els resultats obtinguts per Kucera mostraven certes anomalies en algunes de les corbes electrocapil·lars, l'estudi de les quals va encomanar a Heyrovský. El treball experimental d'aquest consistia a arreplegar porcions successives de 50 gotes de mercuri cadascuna per a, després d'eixugar-les convenientment, pesar-les i representar aquest pes enfront del voltatge aplicat. Aquesta tasca era molt tediosa, i Heyrovský va introduir-hi una modificació que conduïa a resultats molt més ràpids, consistent a mesurar el temps de degoteig, igualment influït pel potencial. Aquest mètode constituïa una alternativa avantatjosa per a obtenir les corbes electrocapil·lars. D'aquesta manera va reproduir les *anomalies* que havia observat Kucera, consistents en l'aparició de petits becs en les corbes obtingudes en presència d'ions metàl·lics com cinc, cadmi, manganès o bari. Heyrovský pensava al principi que aquest efecte podria ser utilitzat per a mesurar els potencials d'electrodeposició dels diferents metalls, però la convicció que els fenòmens més interessants eren els associats a les reaccions d'electròlisi en la superfície del mercuri el va fer canviar d'estratègia.

* La Universitat Karlova de Praga, la més antiga de l'Europa central, va ser fundada pel rei Carles IV el 1348. A la fi del segle XVIII s'havia imposat l'alemany com a llengua oficial de la universitat, però els moviments nacionalistes durant el segle XIX van obligar el govern de Viena el 1882 a dividir la Universitat Karlova en altres dues, una d'alemanya i una altra de txeca, la Universitat Txeca de Praga. Després de la fundació de l'estat txecoslovac el 1918, la Universitat Txeca va recuperar l'antic nom d'Universitat Karlova de Praga.

El 1919 Heyrovský s'havia incorporat com a professor ajudant al Departament de Química Inorgànica i Analítica on, un any després, va ser habilitat com a professor associat de química física. Heyrovský no havia oblidat els anys passats a Anglaterra*, i va decidir enviar un resum dels seus treballs sobre les propietats de l'alumini i els aluminats a la Universitat de Londres, on els havia iniciat sota la direcció del professor Donnan, per a optar al grau de doctor per aquesta universitat. El va obtenir el 1921. Aquest mateix any moria el professor Kucera i Heyrovský va prosseguir el treball en electroquímica segons la seua pròpia iniciativa. Va mesurar el corrent elèctric que es produïa a diferents voltatges aplicats a l'elèctrode. Per a portar a terme aquests experiments va haver de demanar prestats un galvanòmetre suficientment sensible i un potenciòmetre. Heyrovský va obtenir els seus primers resultats el 10 de febrer de 1922, segons consta en el seu quadern de laboratori. En l'experiment va usar una dissolució d'hidròxid de sodi, un elèctrode de gotes de mercuri com a càtode i una certa quantitat de mercuri introduïda en el fons del recipient com a contraelèctrode (ànode) i llegia en el galvanòmetre la intensitat de corrent produït a diferents valors del voltatge aplicat. En el quadern de laboratori apareixen totes aquestes anotacions, incloent-hi les oscil·lacions rítmiques produïdes per la caiguda de les gotes de mercuri (figura 10). La representació de la intensitat del corrent enfront del potencial va donar lloc a la primera corba intensitat-potencial, en la qual s'aprecien dos augments consecutius del corrent corresponents a la reducció de l'oxigen dissolt —més avant Heyrovský comprendria la conveniència d'eliminar-lo— i un tercer a causa de la reducció de l'ió sodi per a formar amalgama (figura 11). Aquests resultats van ser publicats aquest mateix any en la revista txeca *Chemické listy* [61], i constitueixen el naixement de la polarografia. En experiments posteriors

Heyrovský va eliminar prèviament l'oxigen dissolt mitjançant un corrent d'hidrogen que generava en un aparell de *Kipp*, fet que li va permetre, durant els dos anys següents, obtenir les corbes intensitat-potencial produïdes en la reducció d'altres ions metàl·lics, així com d'algunes substàncies orgàniques.

Voltage v	Galvanometer Amperes	E + W during capping	E + W after capping	Notes
0.500	45.4-44.5 44.95	51.70	51.85	
0.600	44.15-45.2 44.60 <small>no more mercury added in this run!</small>	51.65	51.80	
0.700	43.8-44.9 44.35	51.70	51.80	
0.800	43.4-44.5 43.95	"	"	
0.900	42.8-43.9 43.35	"	"	
1.000	42.2-43.3 42.75	52.05 about +!	multiple	
1.110	41.7-42.6 42.15	52.15	52.00 51.90 51.90	Mercury alone

Now let mercury circulate
for the results.

Figura 10. Pàgina del quadern de laboratori de Heyrovský amb anotacions de potencials i intensitats.

Friday, February 10th 1922 afternoon

In NaCl open to air

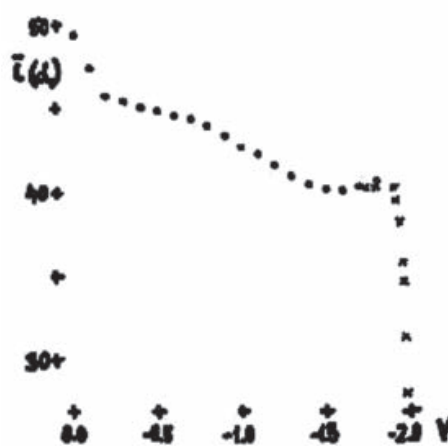


Figura 11. Primera corba intensitat-potencial, obtinguda punt a punt per Heyrovský el 10 de febrer de 1922.

* Els quatre anys que Heyrovský va estar a Londres van imprimir certs trets en el seu comportament: fins el final de la seua vida va escriure en anglès les anotacions en el seu llibre de laboratori, va mantenir sempre un tracte extremament cortès amb els seus subordinats... i va conservar el costum de prendre el te diàriament.

El treball manual d'obtenció de les corbes intensitat-potencial punt a punt resultava extremament lent i tediós. El 1923 Heyrovský coneix el químic-físic japonès Masuzo Shikata (1895-1964), que havia treballat dos anys a Berlín sobre química de superfícies. La col·laboració entre Heyrovský i Shikata va consistir en el disseny i construcció d'un aparell que permetia variar el potencial automàticament i registrar la intensitat del corrent. El primer aparell d'aquestes característiques, construït el 1925 [62], usava un dispositiu fotogràfic enginyós encara que laboriós per a registrar la intensitat del corrent (Figura 12). L'aparell va ser denominat *polarògraf*, i la tècnica que estudiava els processos d'electròlisi en l'elèctrode de gotes de mercuri *polarografia*. El 1933 Heyrovský havia viatjat a Londres per participar en la *General Discussion of the Faraday Society* sobre les reaccions i equilibris en els elèctrodes, en la qual va informar detalladament sobre els seus resultats en polarografia i va introduir el terme *wave* (ona o onada)* per referir-se a la morfologia típica de les corbes intensitat-potencial.

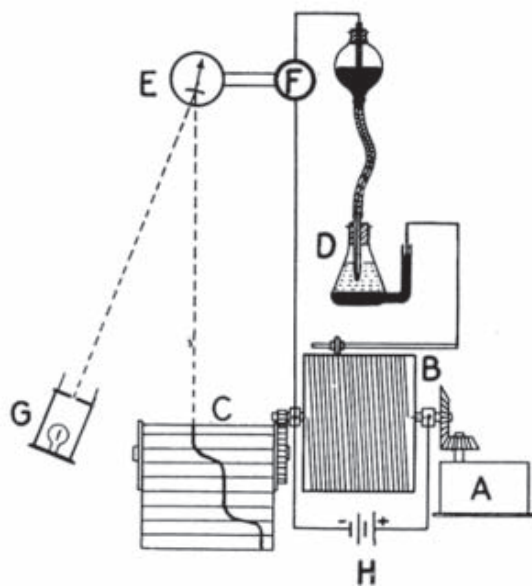


Figura 12. Esquema del primer polarògraf, amb registre fotogràfic, construït per Heyrovský i Shikata el 1925.

* Encara que en les publicacions en català se sol utilitzar el terme *ona*, sembla que la paraula *onada* representaria millor la morfologia sigmoide de les corbes intensitat-potencial.

El 1926 Heyrovský és nomenat professor *ordinarius* (catedràtic) de química física a la Universitat Karlova de Praga, i en els anys següents col·laboren en el departament científics que assolirien renom en el camp de la polarografia, tant a Txecoslovàquia com en altres països europeus. Així va succeir, entre d'altres, amb Wiktor Kemula (1902-1985), que dissenyaria el primer elèctrode de gota de mercuri suspesa (HMDE) a la Universitat de Varsòvia, o amb Rudolf Brdicka (1906-1970), que va estudiar, en l'Institut de Polarografia de Praga, les denominades ones polarogràfiques cinètiques i catalítiques, o amb Dionyz Ilkovic (1907-1980), primer ajudant d'investigació de Heyrovský a Praga i finalment professor a la Universitat de Bratislava, a qui es deu la deducció, el 1934, de l'equació fonamental de la intensitat de difusió polarogràfica, coneguda per *equació d'Ilkovic*.

Heyrovský va mantenir sempre la convicció que els resultats de la investigació han de ser objecte d'una difusió ràpida entre la comunitat científica. El 1929 va fundar, juntament amb el professor Emil Votocek, de la Universitat Tècnica de Praga, la revista *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, la política de la qual era fomentar la publicació dels treballs de científics txecs en altres idiomes europeus, principalment en anglès. El primer llibre sobre polarografia es va publicar el 1932, però curiosament no va ser escrit per Heyrovský, sinó per un dels seus primers col·laboradors, G. Semerano [63], que fundaria un institut de polarografia a Pàdua. El 1933 apareix el primer llibre de Heyrovský, en txec [64], del qual quatre anys més tard s'editaria una traducció russa. Heyrovský va viatjar per primera vegada als Estats Units el 1933, impartint cursos i seminaris en les universitats de Berkeley i Stanford a Califòrnia, en l'Institut de Tecnologia de Califòrnia, en les universitats de Minnesota i Wisconsin, en la Universitat Estatal d'Ohio i en les universitats de Princeton i Cornell, fet que contribuiria substancialment a la difusió de les tècniques polarogràfiques en aquell país.

Amb l'ocupació de Txecoslovàquia per l'exèrcit alemany el 1939, la Universitat Karlova de Praga va ser clausurada, encara que el

laboratori de Heyrovský va ser respectat a causa de la influència d'un col·lega alemany. Durant la segona Guerra Mundial, Heyrovský es va dedicar a preparar el seu nou llibre, que es publicaria a Viena el 1941 [65] i la versió anglesa del qual es publicaria als Estats Units el 1944 [66].

Finalitzada la guerra, la Universitat Karlova de Praga reprèn les seues activitats acadèmiques. El Departament de Química Física torna a ser el principal nucli de la investigació en polarografia. El 1950 es funda a Praga l'Institut Polarogràfic Central, que té com a primer director Heyrovský. Per motius de salut, aquest havia limitat les seues activitats acadèmiques a la universitat, a la qual romania vinculat, no obstant això, com a professor honorari. Durant els dos anys següents a la seua creació, l'Institut Polarogràfic Central experimenta una forta expansió i el 1952 es converteix en l'Institut Polarogràfic de l'Acadèmia Txecoslovaca de les Ciències. El progrés de la polarografia en tot el món era ja una realitat durant els anys 50, i la seua ocupació com a mètode d'anàlisi quantitativa, principalment d'ions metàl·lics, s'havia generalitzat en les indústries metal·lúrgica, química, farmacèutica i alimentària. El 1951 se celebrava a Praga el primer Congrés Internacional de Polarografia.

L'impacte causat per la polarografia en la comunitat científica havia arribat també la Reial Acadèmia Sueca de les Ciències: els anys 1938, 1939 i 1948 Heyrovský figurava entre els científics proposats per a la concessió del premi Nobel de química, però al final el premi va ser per a altres científics (R. Kuhn, A. F. J. Butenandt i L. Ruzicka, i A. Tiselius, respectivament)*. Heyrovský hauria d'esperar fins a onze anys: al setembre de 1959 es va donar a conèixer oficialment la concessió del premi Nobel de Química a Jaroslav Heyrovský, que el va rebre l'11 de desembre d'aquest mateix any. En el seu discurs davant l'Acadèmia

Sueca, Heyrovský va presentar de forma sistemàtica els treballs que havia desenvolupat durant els últims trenta-vuit anys, des de les característiques dels capil·lars usats, el concepte i importància de la intensitat límit de difusió i l'equació d'Ilkovic, fins a les aplicacions més recents de les tècniques polarogràfiques.

El reconeixement oficial de les aportacions de Heyrovský a l'electroquímica i l'electroanàlisi durant quasi quaranta anys de treball havia arribat finalment, però les facultats físiques del científic estaven ja molt minvades i la seua creativitat molt limitada. Jaroslav Heyrovský va morir a Praga set anys més tard, el 27 de març de 1967, i va ser enterrat en el cementeri Vysehrad de Praga, on abans havien sigut enterrats els músics Biedrich Smetana i Antonin Dvorak, entre altres artistes i escriptors.

Com anteriorment s'ha assenyalat, la visita de Heyrovský als Estats Units el 1933 va despertar l'interès per la polarografia en molts investigadors d'aquell país, on un dels qui va contribuir de forma més activa al desenvolupament de les tècniques polarogràfiques va ser Kolthoff a la universitat de Minnesota. Izaak Maurits Kolthoff (1894-1993) havia nascut a Almelo (Holanda), i ja en els seus estudis elementals va començar a mostrar interès per la química. El 1911 es va matricular en l'Escola de Farmàcia de la Universitat d'Utrecht, on va adquirir els primers coneixements de química analítica, una matèria en aquells dies quasi totalment empírica. Després d'obtenir el diploma de farmacèutic el 1915, va cursar assignatures de química física i química col·loïdal a la Universitat d'Utrecht, i va preparar una tesi que, amb el títol *Fonaments de iodimetria*, va presentar el 1918 per a obtenir el títol de doctor en Química. A la Universitat d'Utrecht, on havia aconseguit un nomenament de *privaat docent* (ajudant) en electroquímica, va publicar nombrosos articles sobre temes diversos de química, com química dels col·loïdes o el concepte de pH (que havia sigut definit el 1909 pel danès Sorensen), molts d'ells en anglès. Això va fer que els seus treballs foren coneguts ràpidament a Europa i als Estats Units.

* Sembla que el fet que durant la guerra Heyrovský haguera pogut continuar el seu treball a la universitat *Karlova* de Praga, clausurada pels nazis, va ser interpretat en alguns cercles com un signe de col·laboracionisme.

Després d'una breu estada a Amèrica del Nord (Canadà i EUA) el 1924, Kolthoff hi va tornar de forma definitiva el 1927, contractat com a professor de la Divisió Analítica de l'Escola de Química de la Universitat de Minnesota, on va romandre fins al 1962, any en què es va retirar *oficialment*, ja que, de fet, mai va abandonar el món acadèmic fins que va morir, als 99 anys, el 1993. Kolthoff va ser un investigador que es va interessar per matèries molt diverses en química analítica, tant clàssica com instrumental. Una d'aquestes va ser l'electroanàlisi. Immediatament després de la visita de Heyrovský a la Universitat de Minnesota el 1933, Kolthoff va encomanar projectes d'investigació en electroanàlisi als seus deixebles J. J. Lingane (amb l'elèctrode de gotes de mercuri) i H. Laitinen (amb elèctrode sòlid de plati). El 1941 Kolthoff i Lingane publiquen el seu llibre *Polarography*, que tindria el 1952 una segona edició ampliada, en dos volums [67]. El 1940 Kolthoff va introduir el terme *voltammetry* (voltamperometria) per referir-se a la tècnica d'obtenció de corbes intensitat-potencial usant elèctrodes sòlids en substitució de l'elèctrode de gotes de mercuri.

Estant en desacord amb la situació de la química analítica quan va començar a investigar (a principis del segle xx era considerada més un art que una ciència), Kolthoff ha sigut el químic que més ha contribuït a transformar-la. Per això va prendre com a base els fonaments que havien incorporat a la teoria de la química científics com J. W. Gibbs, J. H. Van't Hoff, S. Arrhenius, W. Nernst i N. J. Bjerrum, i va edificar sobre aquells les bases teòriques dels mètodes analítics. La investigació de Kolthoff va abastar pràcticament la totalitat dels camps de la química analítica, en cadascun dels quals solia publicar, a més dels articles originals, una monografia en la qual es presentaven les bases teòriques i les principals aplicacions que tenien. Kolthoff sempre tractava de mantenir un equilibri entre la teoria i la pràctica en el treball científic. Entenia que la investigació en química analítica havia de buscar objectius d'utilitat però que, al mateix temps, era necessari que la metodologia tinguera una base teòrica ferma en la qual poguera fonamentar-se. Una frase seua que va arribar a fer-se famosa resumeix

aquesta filosofia: *Theory guides, experiment decides*. (La teoria guia, l'experiment decideix).

El desenvolupament de la polarografia a partir dels anys 50 va estar marcat per la cerca de límits de detecció més baixos (en polarografia clàssica el límit de detecció, imposat pel corrent capacitatiu, es troba entre 10^{-4} i 10^{-5} M). Per aconseguir aquest objectiu es van desenvolupar, entre d'altres, les tècniques de *polarografia d'impulsos normal* (NPP) i *diferencial* (DPP), mitjançant les quals s'aconsegueix incrementar el corrent faradaic i disminuir el corrent capacitatiu [68].

La voltamperometria amb elèctrodes sòlids en condicions de difusió convectiva o *voltamperometria hidrodinàmica* va arribar a adquirir un ús generalitzat a partir de la comercialització dels elèctrodes rotatoris per als quals el rus Veniamin Levich havia desenvolupat entre 1942 i 1944 un rigorós tractament matemàtic que condueix a l'equació de la intensitat límit en condicions hidrodinàmiques coneguda com a *equació de Levich* [69]. La voltamperometria amb elèctrodes sòlids va adquirir una nova perspectiva quan van començar a dissenyar-se detectors amperomètrics per a cromatografia de líquids d'alta resolució [70].

La tendència de la instrumentació analítica a la miniaturització es manifesta en el camp dels sensors. El biòleg nord-americà Leland C. Clark, va dissenyar un sensor per a la determinació d'oxigen dissolt basat en la mesura de la intensitat del corrent produït en la reducció de l'oxigen en un elèctrode de plati. Aquest sensor es va popularitzar amb el nom d'elèctrode de Clark, i constitueix la base dels moderns biosensors amperomètrics, basats en la immobilització d'enzims que catalitzen una reacció bioquímica i l'ocupació de mediadors redox que catalitzen la transferència d'electrons.

Des que, fa més de vuitanta anys, Heyrovský va fer els primers experiments que donarien lloc al desenvolupament de la polarografia, la forma de portar a terme les determinacions ha experimentat canvis substancials: l'elèctrode de gotes de mercuri

ha sigut dràsticament modificat o, alternativament, substituït per elèctrodes sòlids de platí o carboni, la instrumentació ha sigut objecte de millores tendents a arribar a una major sensibilitat, precisió, rapidesa i automatisme, i la terminologia ha hagut d'incorporar elements inexistents (i innecessaris) en la polarografia clàssica: voltamperometria, impulsos, mostreig, detectors, sensors... Però l'eficàcia actual de la metodologia electroanalítica no hauria sigut possible sense l'invent o descobriment de Heyrovský? Petr Zuman, un dels més destacats deixebles de Heyrovský, eludeix respondre a l'anterior disjuntiva aplicant aquesta reflexió:

“Com amb altres descobriments, el de la polarografia es va produir perquè la persona adequada es trobava en el lloc adequat en el moment adequat” [71].

Referències

- Echeverría, L., *De oratoria Universitaria Salamantina*, lliçó inaugural del curs 1977-78. Universidad de Salamanca.
- Lavoisier, A.L., *Traité élémentaire de chimie*, París, 1789.
- Berthollet, C.L., *Mem. soc. Arcueli.*, **3**, 64.
- Gay-Lussac, J.L.; Thénard, L.J., *Reserches physico-chimiques*, París, **2**, 265 (1810).
- Berzelius, J.J., *Neues Journal der Pharmazie*, **1**, 130 (1815).
- Liebig, J., *Anleitung zur Analyse organischer Körper*, Braunschweig, 1837.
- Dumas, J.B., *Compt. rend.*, **11**, 287 (1840).
- Kjeldahl, J.G., *Z. Anal. Chem.*, **22**, 366 (1883).
- Henry, E.O.; Plisson, A., *Journal de Pharmacie*, **249** (1830).
- Henry, E.O., *Journal de Pharmacie*, **29** (1834).
- Zeise, W., *J. prakt. Chem.*, **1**, 458 (1834).
- Carius, G.J., *Lieb. Ann.*, **116**, 128 (1860).
- Carius, G.J., *Lieb. Ann.*, **136**, 129 (1865).
- Carius, G.J., *Ber.*, **3**, 697 (1870).
- Nernst, W., *Z. f. Elektrochem.*, **9**, 622 (1903).
- Emich, F.; Donau, J., *Monatshefte*, **30**, 745 (1909).
- Pregl, F., *Quantitative Micro-Analysis of Organic Substances*, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se/chemistry/laureates/1923/pregl-lecture.html>
- Emich, F., *Lehrbuch der Mikrochemie*, München, **73** (1926).
- Pregl, F., *Abderhaldens Handbuch biochemischer Arbeitsmethoden*, Vol. V, Urban & Schwarzenberg, Berlin, 1912.
- Pregl, F., *Die quantitative mikroanalyse*, J.Springer, Berlin, 1917.
- Feigl, F.; Anger, V., *Spot Tests in Inorganic Analysis*, 6th Ed., Elsevier, 1972.
- Feigl, F., *Spot Tests in Organic Analysis*, 7th Ed., Elsevier, 1983.
- Belcher, R.; Spooner, C.E., *Ind. Chemist*, **19**, 653 (1943).
- Belcher, R.; Ingram, G., *Anal. Chim. Acta*, **7**, 319 (1952).
- Schöniger, W., *Mikrochim. Acta*, **1955**, 123.
- Zimmermann, W., *Z. Anal. Chem.*, **118**, 258 (1939).
- Runge, F.F., *Farbenchemie*, **I-II** (1834, 1843).
- Runge, F.F., *Ann. Phys. Chem.*, **XVII**, **31**, 65 (1834).
- Runge, F.F., *Ann. Phys. Chem.*, **XVIII**, **31**, 78 (1834).
- Runge, F.F., *Farbenchemie*, **III** (1850).
- Schönbein, C.F., *Pogg. An.*, **114**, 275 (1861).
- Goppelsröder, F., *Z. Anal. Chem.*, **7**, 195 (1868).

33. Day, D.T., First International Petroleum Congress, Paris, 1900.
34. Day, D.T., *Science*, **17**, 1007 (1903).
35. Tswett, M.S., *Bull. Lab. Bot. Gen., Université de Genève*, **1**, 125-206 (1896).
36. Tswett, M.S., *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **24**, 316 (1906).
37. Tswett, M.S., *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **24**, 384 (1906).
38. Tswett, M.S., *Khromofilly v Rastitel'nom i Zhivotnom Mire*, Izd. Karbasnikov, Warsaw, 1910.
39. Palmer, L.S.; Eckles, C., *J. Biol. Chem.*, **17**, 191 (1914).
40. Palmer, L.S., *Carotenoids and related pigments: The Chromolipids*, Am. Chem. Soc. Monograph Series, Chemical Catalog Co. New York, 1922.
41. Kuhn, R.; Lederer, E., *Z. Physiol. Chem.*, **197**, 141 (1931).
42. Kuhn, R.; Lederer, E., *Z. Physiol. Chem.*, **200**, 246 (1931).
43. Kuhn, R.; Brockmann, H., *Ber.*, **64**, 1859 (1931).
44. Kuhn, R.; Lederer, E., *Naturwissenschaften*, **19**, 306 (1931).
45. Zechmeister, L.; Cholnoky, L., *Die Chromatographische Adsorptions-methode*, Springer, Wien, 1937.
46. Zechmeister, L.; Cholnoky, L., *Principles and Practice of Chromatography*, 2nd Ed., Chapman & Hall, London and Wiley & Sons, New York, 1941.
47. Martin, A.J.P.; Synge, R.L.M., *Biochem. J.*, **35**, 1358 (1941).
48. *Nature (London)*, **170**, 826 (1952).
49. Consden, R., Gordon, A.H.; Martin, A.J.P., *Biochem. J.*, **38**, 2244 (1941).
50. Taylor, T.I.; Urey, H.C., *J. Chem. Phys.*, **6**, 429 (1938).
51. James, A.T.; Martin, A.J.P., *Biochem. J.*, **50**, 679 (1952).
52. Giddins, J.C., *Anal. Chem.*, **35**, 2215 (1963).
53. Stahl, E., *Pharmazie*, **11**, 633 (1956).
54. Heyrovský, J., *Chem. Listy*, **16**, 256 (1922).
55. Davy, H., *Philos. Trans.*, **97**, 1 (1807).
56. Gibbs, W., *Z. Anal. Chem.*, **3**, 327 (1864).
57. Nernst, W., *Z. phys. Chem.*, **4**, 129 (1889).
58. Le Blanc, M., *Z. phys. Chem.*, **8**, 299 (1889).
59. Freudenberg, H., *Z. phys. Chem.*, **12**, 97 (1891); *Chem. Ber.*, **25**, 2492 (1892).
60. Sand, H.J.S., *J. Chem. Soc.*, **93**, 1572 (1908).
61. Heyrovský, J.; Shikata, M., *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **44**, 496 (1925).
62. Semerano, G., *Il Polarografa, sua teoria e applicazioni*, A. Draghi, Padova, 1932.
63. Heyrovský, J., *Application of Polarography in Practical Chemistry* (in Czech), Praga, 1933.
64. Heyrovský, J., *Polarographie*, Springer, Vienna, 1941.
65. Heyrovský, J., *Polarography, theoretical foundations, practical execution and applications of the electrolysis with the dropping mercury electrode*, Alien Custodian Property, Edward Brothers, Ann Arbor, Michigan, 1944.
66. Kolthoff, I.M.; Lingane, J.J., *Polarography*, Interscience, New York-London, 1952.
67. Parry, E.P.; Osteryoung, R.A., *Anal. Chem.*, **36**, 1336 (1964).
68. Levich, V.G., *Acta Physicochim. USSR*, **17**, 257 (1942); **19**, 133 (1944).
69. Weber, S.G.; Purdy, W.C., *I & EC Product Research & Development*, **20**, 593 (1981).
70. Zuman, P., *Analyst*, **117**, 1803 (1992).

Bibliografía consultada

- Babor, J.A.; Ibarz, J, *Química General Moderna*, 6ª Ed., Marín, Barcelona, 1963.
- Bard, A.J.; Zoski, C.G., *Anal. Chem.*, **72**, 346 A (2000).
- Berezkin, V.G., *Chomatographic Adsorption Analysis. Selected Works. Mikhail Semenovich Tswett*, Ellis Horwood, New York, 1990.
- Bond, A.M., *Broadening electrochemical horizons. Principles and Illustrations of voltammetric and related techniques*, Oxford University Press, New York, 2002.
- Delahay, P., *New Instrumental Methods in Electrochemistry. Theory, Instrumentation and applications in Analytical and Physical Chemistry*, Interscience, New York, 1966.
- Ettre, L.S., *LC-GC*, **19**, 506 (2001).
- Ettre, L.S., *J. Chromatogr. Science*, **41**, 225 (2003).
- Ettre, L.S., *LC-GC Europe*, **16**, 632 (2003).
- Ettre, L.S.; Horvath, C., *Anal. Chem.*, **47**, 422 A (1975).
- Ettre, L.S.; Zlatkis, A. (Eds.), *75 Years of Chromatography. A historical Dialogue*, Elsevier, Amsterdam, 1979.
- Grob, R.L., *Modern Practice of Chromatography*, Wiley, Nueva York, 1985.
- Hargittai, I., *The Road to Stocholm. Nobel Prizes, Science and Scientists*, Oxford University Press, New York, 2002.
- Heyrovský, J.; Kuta, J., *Principles of Polarography*, Academic Press, New York, 1966.
- Irving., H.M.N.H., *Analyst*, **99**, 787 (1974).
- Kellner, R., Mermett, J.M., Otto, M.; Widmer, H.M. (Eds.), *Analytical Chemistry*, Wiley, Weinheim, 1998.
- Leroy, F. (Ed.), *A Century of Nobel Prize Recipients. Chemistry, Physics and Medicine*, Marcel Dekker, New York, 2003.
- Meyers, R.A. (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Wiley, New York, 2000.
- Sabine, D.B., *Chemistry*, **42**, 12 (1969).
- Snell, F.D.; Hilton, C.L., *Encyclopedia of Industrial Analysis*, Interscience, New York, 1974.
- Szabadváry, F., *History of Analytical Chemistry*, Pergamon Press, Oxford, 1966.
- Townshend, A. (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Science*, Academic Press Limited, New York, 1995.
- Vohra, S.K., *Trends in Analytical Chemistry*, **2** (3), 57 (1983).

