

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



“ANALISIS CROMATOGRAFICO DE TINTAS EN CASOS RELACIONADOS  
CON LA ELABORACIÓN DE DÓLARES FALSOS”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR :  
FRANCISCO GUILLERMO CRUZ ARIAS

PARA OPTAR AL GRADO DE :  
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JUNIO DE 2006

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA



**©2004, DERECHOS RESERVADOS**  
Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,  
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador  
<http://virtual.ues.edu.sv/>  
**SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rectora:

Dra. María Isabel Rodríguez

Secretario General:

Licda. Alicia Margarita R. de Recinos

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

Decano :

Licdo. Salvador Castillo Arévalo

Secretaria :

MSc. Miriam del Carmen ramos de Aguilar

## COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Coordinadora General :

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

Asesora de Área de Gestión Ambiental en Calidad Ambiental

Licda. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

Asesora de Área de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos ,

Cosméticos y Veterinarios :

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

Docentes Directores:

Licda. Aminta Vásques de Bolaños

Licda. María Luisa Ortiz de López

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS PADRE : Por darme la fuerza, la paciencia, la salud, por enseñarme el camino de la verdad y principalmente por el amor que me ha brindado a lo largo de mi vida.

A mis asesoras : Licda. Aminta Vásquez de Bolaños y Licda. María Luisa Ortíz de López, por la oportunidad, la guía que me ofrecieron, por su dedicación y su tiempo, para realizar este trabajo de graduación.

Al personal del área de análisis físico químico de la policía nacional civil , y , a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron al desarrollo de este trabajo de graduación.

Francisco Guillermo Cruz Arias

## DEDICATORIA.

A DIOS PADRE Y JESUCRISTO : Por todas las bendiciones recibidas a lo largo de mi vida, por estar siempre conmigo en los momentos de mayor tribulación, a Jesucristo por haber muerto en la cruz y permitirme vivir.

A MI MADRE : Por todo su sacrificio, su apoyo, su esfuerzo , por sus oraciones, su amor que permitieron que haya culminado una carrera sin mayor obstáculo.

A MI PADRE : Que DIOS lo tenga en su gloria ya que siempre soñó ver a su hijo convertirse en profesional.

A MI FAMILIA : Por su cariño y su apoyo durante todo este tiempo.

A MIS COMPAÑEROS DE LA UNIVERSIDAD : Por esos tiempos en que se compartieron experiencias , estudio, amistad y trabajo.

Francisco Guillermo Cruz Arias

## INDICE

	Pagina
Resumen	
Capítulo	
I. Introducción	xi
II. Objetivos	
Objetivo genera	14
Objetivos específicos	14
III Marco teórico	16
3.1. Las tintas	16
3.2.Historia de las tintas	16
3.3.Casificación de las tintas	17
3.4.Composición de las tintas	32
3.5.Métodos para analizar las tintas	35
3.6.Extracción de muestras de tintas	47
3.8.Cromatografía Liquida de Alta Resolución	52
IV. Diseño metodológico	88
V. Resultados	96
VI. Discusión de resultados	128

VII.	Conclusiones	138
VIII.	Recomendaciones	
	Bibliografía	
	Glosario	
	Anexos	

## RESUMEN

El presente trabajo esta orientado al análisis de tintas usadas en la elaboración de dólares verdaderos, para ser comparadas con las tintas utilizadas en la elaboración de dólares falsos y tintas offset de impresión. Para este análisis se utilizó la técnica de Cromatografía de Capa Fina, una fase móvil y una mezcla de solvente extractor de las tintas, las cuales fueron creadas experimentando 3 meses, en el laboratorio de análisis físico químico de la división de policía técnica y científica de la PNC, hasta obtener una en la que las tintas en estudio se comportaron de igual manera y fue posible diferenciarlas, esta fue 1-Butanol/ Etanol Absoluto/ Acetato de Etilo/ Agua/ Acido Acético. (60: 10: 10: 10: 0.5) y el solvente extractor usado fue Etanol Absoluto-Acetato de Etilo (1:1).

Luego de lograr identificar fase móvil y el solvente extractor idóneo para el mejor desarrollo de las placas Cromatográficas se experimentó extrayendo las muestras de tintas provenientes de dólares verdaderos, dólares falsos y tintas de impresión offset, y se realizo la técnica de CCF, obteniéndose diferentes placas a las que a cada muestra se le tomo su Rf respectivo y se plasmaron en tablas que contienen los diferentes colores de separación, su Rf, la procedencia del tipo de tinta, el revelador de la tinta si es Luz Ultravioleta o si fue Luz visible. Obteniéndose resultados satisfactorios ya que para el caso de las tintas de dólares falsos y las de impresión offset se observaron la aparición de más de 4 colores a través de la luz visible y caso contrario fue para la de los dólares verdaderos que los pocos colores que producen sol menos de tres solo pueden

verse por medio de la Luz Ultravioleta. Pero para obtener un a prueba confirmatoria de la falsedad de las tintas en estudio , se propuso la técnica de La Cromatografía Líquida de Alta resolución por medio de la cual se analizaron tintas de dólares verdaderos y tintas de dólares falsos y de acuerdo al tipo de espectro y tiempos de retención de las tintas se partió para confirmar la falsedad o autenticidad de estas.

## I. INTRODUCCION

## I. INTRODUCCIÓN.

El lavado de dinero es definido como un proceso por el cual dinero u otros bienes provenientes de actividades ilícitas, denominados “Dinero sucio”, se transfieren a la economía legal, transformándose en “Dinero limpio”, con el objetivo de que se pueda gozar libremente de los beneficios económicos de aquellas actividades delictivas.<sup>(6)</sup>

El lavado de dinero hace que el crimen rinda dividendos, al permitirles a los criminales esconder y legitimar las ganancias procedentes de actividades ilegales. De acuerdo un estimado reciente, la actividad mundial del lavado de dinero llega a aproximadamente un Billón de dólares anuales <sup>(6)</sup>. Estos fondos ilícitos permiten a los criminales financiar una variedad de actividades delictivas. Aún más, el lavado de dinero favorece la corrupción, distorsiona la toma de decisiones económicas, agrava los males sociales y amenaza la integridad de las instituciones financieras.<sup>(6)</sup>

La División de Policía Técnica y Científica de la Policía Nacional Civil a través del Área de Documentoscopia se dedica a proporcionar el apoyo científico y técnico en la investigación de la falsificación de documentos a los distintos Tribunales, a la Fiscalía General de la República y las unidades de investigaciones establecidas en todo el País. Los casos que recibe para análisis físico de las evidencias en lo relacionado a la falsificación de dólares es

bastante amplio. Por lo tanto, para incrementar la capacidad de análisis en la División de Policía Técnica y Científica se proyecta la realización del presente trabajo, a través del Área de Análisis Físico Químico, el cual comprende el desarrollo de procedimientos de “ Análisis de Tintas comúnmente utilizadas en la falsificación de dólares”, aplicando “Cromatografía de Capa Fina y Cromatografía Líquida de Alta Resolución”, siendo el Área de Análisis Físico Químico de la Policía Técnica y Científica de la Policía Nacional Civil, el lugar donde se realizó ésta investigación.

## II. OBJETIVOS

## 2.0 OBJETIVOS

### 1. OBJETIVO GENERAL

1.1. Analizar por Cromatografía, tintas en papel moneda en casos relacionados con la elaboración de dólares falsos.

### 2. OBJETIVOS ESPECIFICOS :

2.1. Desarrollar una técnica aplicable para que el Área de Análisis Físico Químico de la División de Policía Técnica y Científica pueda efectuar análisis identificación de tintas usadas en la falsificación de dólares.

2.2. Establecer los  $R_f$  y los colores, que aparecen en una placa cromatográfica, De las tintas comercializadas en El Salvador para que puedan ser comparadas con las utilizadas en la elaboración de dólares verdaderos y falsos.

2.3. Realizar los ensayos de las tintas por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución, para que se pueda llevar una comparación con la Cromatografía de Capa Fina y así determinar la autenticidad o falsedad de las tintas en estudio.

2.4. Proporcionar al Órgano Judicial una herramienta adicional, para que pueda ser usada en el combate contra el lavado de dinero en El Salvador.

### III. MARCO TEÓRICO.

### 3.0 MARCO TEÓRICO.

3.1. LAS TINTAS : son líquidos coloreados, que al ser depositados sobre el papel dejan por evaporación del solvente y/o reacciones químicas de sus componentes, residuos de color, intensidad y perennidad tales, que las hacen aptas para la ejecución de escrituras.(3)

3.2. HISTORIA DE LAS TINTAS : el origen de la historia de la impresión puede ser localizada en la civilización asiria. Los asirios dejaron un registro de su existencia en inscripciones hechas sobre tablas de arcilla húmeda. Podemos decir que los primeros libros, así como la primera biblioteca, consistieron en miles de tablas de arcilla cocida, carentes de alguna gota de tinta.(2)

Los misioneros budistas provenientes de china, introdujeron la impresión dentro del Japón durante el octavo siglo después de Cristo. La pieza de impresión más antigua proviene de Japón entre el tiempo comprendido de 768-800 después de Cristo. También el libro más antiguo en existencia es de origen budista. Este es una edición del "Diamond Sutra", el cual consiste en seis paginas de texto y una lámina pequeña con cortes de madera que forman una ilustración ; éste fue impreso en el año 868 después de Cristo. Los chinos merecen el crédito por haber tenido impresiones provenientes de bloques de madera grabada, quienes usaron aplicaciones de agua y tinta en esos procesos.(2)

### 3.3. CLASIFICACIÓN DE LAS TINTAS (ver Fig. 1 en anexos)

#### 3.3.1. ESCRITURA MANUAL

##### 3.3.1.1 PLUMAS CLÁSICAS :

###### 3.3.1.1.1. SUSPENSION :

###### 3.3.1.1.1.1. TINTA CHINA

Las tintas carbonosas son las más antiguas. Consisten en carbón finamente dividido, en solución coloidal. Se conocían bajo diversos nombres ( tinta china, tinta india), 3.000 años antes de Cristo. Su aparición en problemas forenses es rara, ya que su uso se reserva para dibujo y escrituras especiales ( títulos, diplomas, etc.). se elaboran con negro de humo obtenido mediante la combustión incompleta de sustancias orgánicas, el cual se suspende en agua mediante el agregado de cola o goma. Estas últimas sustancias se reemplazan en las tintas actuales por soluciones de goma laca en bórax o amoníaco. El color de las escrituras obtenidas con estas tintas varía del pardo oscuro al azul negro, lo que depende de a calidad del negro de humo que contienen. Las más solicitadas son las de color negro puro ; por eso, muchas variedades presentan el agregado de azul de Prusia, pigmento azul constituido por ferrocianuro férrico  $-(Fe(CN)_6)KFe-$  que disimula, al complementarlo ópticamente, el “amarillamiento” de los negros de humo de baja calidad.<sup>(3)</sup>

Algunas variedades contienen también un agente humectante y un conservador.<sup>(3)</sup>

Al escribir con tinta china, el agua de la misma penetra entre las fibras celulósicas, o se evapora, quedando en la superficie el rasgo constituido por una capa de carbón amorfo, adherida al papel por un "film" de cola.<sup>(3)</sup>

Siendo el carbón extremadamente estable, estos escritos no son afectados por la luz, el aire, la humedad, ni los agentes microbianos, de ahí que su color se conserve intacto mientras no se altere el papel soporte. Esta gran resistencia química del carbón es también la causa de que durante el análisis estas escrituras no sean atacadas por los reactivos químicos ácidos, alcalinos ni de oxidoreducción.<sup>(3)</sup>

En cambio, las escrituras de tinta china pueden ser lavadas con cierta facilidad, ya que como se dijo, el pigmento no penetra entre las fibras celulósicas del papel, sobre todo en materiales con buen satinado.<sup>(3)</sup>

Estos detalles deben ser tenidos en cuenta por el perito, que podría confundir el lavado o remoción mecánica de la tinta debida al agua de los reactivos, con una reacción química de decoloración.<sup>(3)</sup>

#### 3.3.1.1.2. SOLUCIONES :

##### A. TINTAS FERROGALOTANICAS

Estas tintas, a diferencia de las anteriores, son verdaderas soluciones acuosas, por lo que al realizar la escritura el líquido penetra entre los intersticios de las fibras celulósicas, quedando aquélla en el seno del papel, por lo que su erradicación total se torna dificultosa.<sup>(3)</sup>

Estas tintas aparecen en el siglo VIII, y durante mucho tiempo constituyeron el pigmento escritor universal. Se fabricaban a partir de infusiones de nuez de agallas, a las que se le agregaban sales de hierro, produciéndose así un precipitado de tanato férrico -pigmento negro insoluble-, al que se mantenía en suspensión mediante el agregado de un coloide protector : cola o goma arábica. Este método, utilizado durante cientos de años, no es económico, dado que el tanato férrico precipitado en partículas de gran tamaño, no es útil para la fabricación de tintas, produciendo además escrituras imperfectas.<sup>(3)</sup>

A mediados del siglo pasado se hicieron importantes mejoras en la composición de estas tintas, que desde entonces contienen sulfato ferroso ( $\text{SO}_4\text{Fe}$ ), ácidos tánico y gálico, colorante auxiliar, conservadores, coloides protectores, ácidos inorgánicos.<sup>(3)</sup>

El colorante auxiliar tiene por fin hacer visible la escritura desde el acto mismo de la escrituración, por cuanto el tanato ferroso, que constituye ahora la tinta, es sólo levemente coloreado.<sup>(3)</sup>

El primer colorante auxiliar, incorporado a la tinta por Stephens en 1836, fue el Índigo, que imparte a la escritura un color inicial azul que luego va virando al negro violáceo debido a un complejo proceso que enseguida estudiaremos. Antiguamente estas tintas carecían de colorantes. En la actualidad dicho colorante ha sido reemplazado por el azul soluble.<sup>(3)</sup>

Los conservadores utilizados, cuya función es evitar la proliferación de hongos y bacterias, son el fenol y el ácido bórico.<sup>(3)</sup>



Los coloides protectores empleados en la formulación de estas tintas son los mismos que se usaban antiguamente : goma arábica o cola ; su función es impedir la precipitación del tanato férrico, manteniéndolo en suspensión.(3)

Las tintas ferrogalotánicas, por su contenido en ácidos libres, presentan bajo pH ( en general de 1,0 a 3,1), lo que las hace corrosivas, no sólo para el lapicero, sino también para el papel, como luego veremos, son neutras, por lo cual no corroen la pluma.(3)

#### B. TINTA AL CAMPECHE

De la madera del hematoxylon campechianum o campeche, árbol leguminoso americano que crece en las islas del Caribe y en la América Central, se extrae con agua un colorante que se llama hematoxilina. Tal extracto se usó antiguamente (1763) como ingrediente adicional de las tintas ferrotánicas para lograr escrituras más intensas y permanentes. Pero más tarde surgieron tintas directas con extracto de campeche, sin tanino ni sales férricas. Así, hacia 1847, se usaba una tinta a base del extracto citado y cromato de potasio. En 1857 otra variedad llevaba alumbre, sulfato de cobre y campeche. Se conocieron luego fórmulas con dicromato de potasio y campeche, con el agregado de ácido clorhídrico ( para evitar precipitaciones), y fenol como conservador.(3)

El color de la escritura realizada con estas tintas depende de la sal inorgánica presente : con las de cromo se logra el negro más intenso(3).Las tintas al campeche ya no se usan.(3)

El estudio de su principio activo - la hematoxilina- brinda un ejemplo clásico de producción de un compuesto colorante, en base a la teoría de Witt y a los fenómenos de resonancia.<sup>(3)</sup>

### C. TINTAS A LA NIGROSINA

En 1867 apareció una tinta para estilográficas, de color azul-negro o púrpura-negro, constituida por la solución acuosa de un compuesto sintético que se prepara oxidando la anilina con nitrobenzono, en presencia de cloruro férrico, a 180 grados celsius : es la nigrosina, llamada también indulina o anilina negra.

Se trataba-actualmente tienen muy poco uso-de una tinta negra a la anilina, pues al usarlas al escribir, el agua de la solución se evapora, y queda el residuo negro sobre el papel, pigmento que no sufre luego fenómeno químico alguno.<sup>(3)</sup>

Actualmente tienen poca incidencia. Son lavadas con agua con suma facilidad por simple redisolución del colorante ; los escritos deben guardarse celosamente al abrigo de la humedad. Tiene, sobre las tintas a la anilina, la ventaja de no empalidecer con el tiempo. No está bien aclarada la composición del pigmento, que se usa también en pomadas para calzado, tintas de imprenta, cuero y papel.<sup>(3)</sup>

### D. TINTAS A LA ANILINA.

*Introducción. Sustancias colorantes. Teoría de Witt.*

Sustancias coloreadas son las que poseen color ; sustancias colorantes son las que tienen la propiedad de teñir fibras orgánicas en forma permanente, frente al agua o agua jabonosa. No basta con que una sustancia sea coloreada para que sea colorante : el sulfato de cobre presenta un hermoso color azul, pero no es

capaz de transmitírsele a un tejido, pues bastaría un simple lavado con agua para eliminarlo.<sup>(3)</sup>

Las sustancias colorantes pueden ser naturales y artificiales. Las naturales provienen del reino animal, vegetal, y mineral. El primer colorante sintético fue logrado en el año 1856, por oxidación de la anilina.<sup>(3)</sup>

En 1866 el químico ruso Otto Witt estableció que para que una sustancia pueda ser considerada colorante, debe contener en su molécula dos tipos de agrupaciones atómicas :

a) *Grupos cromóforos* : ( del griego : llevo color). Son grupos atómicos con dobles ligaduras, que incorporados a una sustancia incolora la tornan coloreada.<sup>(3)</sup>

b) *Grupos auxocromos* : ( del griego : aumento de color). El cromógeno, aunque coloreado, no es aún colorante. Para ello debe incorporarse a su molécula uno o más grupos auxocromos, es decir :

Cromógeno + Auxocromo    sustancia colorante.<sup>(3)</sup>

#### *Definición de tintas a la anilina. Composición. Propiedades.*

Son soluciones acuosas de colorantes orgánicos sintéticos, adicionadas de productos conservadores y fluidificantes.<sup>(3)</sup>

Si bien por su fluidez y neutralidad (pH cercano a 7) son adecuadas para usar en lapiceros estilográficos, no poseen la permanencia de las tintas ferrogalotánicas ; sus escritos palidecen con el tiempo, razón por la cual no son

elementos ideales para la escritura de documentos. Para corregir esa falla y hacerlas más estables, algunas de ellas contienen sales de vanadio y cobre.<sup>(3)</sup>

Los *conservadores* más utilizados son el fenol, timol, formaldehído y beta naftol.<sup>(3)</sup>

Los *fluidificantes* : glicerina, etilenglicol, glucosa y dextrina.<sup>(3)</sup>

Los *colorantes* pueden ser ácidos, básicos y directos. Generalmente se usan mezclas de ellos, siendo incompatible la de un colorante ácido con otro básico, puesto que precipitarían. Se citan a continuación los colorantes usados :

a) *Básicos* : verde malaquita, verde brillante, violeta de metilo, azul victoria, rodamina B, azul de metileno. Son colorantes brillantes, pero poco estables a la luz. Se usan salificados como clorhidratos para permitir su solubilización.<sup>(3)</sup>

b) *Ácidos* : azul de naftaleno, amarillo naftol, eosina, amarillo metanilo. Son más resistentes a la luz que los anteriores. Son generalmente azoderivados, nitroderivados o nitrosoderivados, que poseen un grupo sulfónico en su molécula, lo que permite solubilizarlos como sales sódicas.<sup>(3)</sup>

c) *Directos* : Son colorantes de elevado peso molecular, que les permiten dar soluciones coloidales. Se llaman así debido a que, en el teñido de las fibras, se fijan directamente sobre éstas, a diferencia de los indirectos, que requieren un tratamiento previo de las mismas. Se los denomina también colorantes sustantivos y adjetivos, respectivamente. Los colorantes directos usados en la elaboración de tintas a la anilina son el pardo y azul de difenilo, el rojo congo y otros.<sup>(3)</sup>

*Tintas a la anilina resistentes al agua.*

Para dar a las tintas a la anilina una mayor resistencia al lavado, se las prepara en forma similar a la tinta china, vale decir al estado de suspensión.<sup>(3)</sup>

Para ello el pigmento se suspende en una solución de goma laca, hecha soluble mediante el agregado de bórax , amoníaco o bicarbonato de amonio.

En algunos casos el pigmento en suspensión va acompañado por otros ácidos o básicos, en solución.<sup>(3)</sup>

## E.TINTAS ALCALINAS

### E.1. TINTAS DE SECADO RAPIDO

Unos de los principales inconvenientes de las tintas comunes es que tardan cierto tiempo en secar. Los primeros intentos para resolver este problema consistieron en agregar al soporte acuoso de las tintas cierta proporción de solventes volátiles miscibles con el agua, como el alcohol, con el fin de lograr una evaporación más rápida.<sup>(3)</sup>

Luego se trató de acelerar el secado provocando una penetración más rápida del líquido en el papel, para lo cual se agregaban a las tintas ciertos agentes humectantes y sustancias orgánicas no volátiles, que al disminuir la viscosidad del líquido producían ese efecto. Ello no dio buen resultado, puesto que la tinta también difundía en la escritura en forma lateral, produciendo rasgos borrosos y poco nítidos. <sup>(3)</sup>

Finalmente se llega a las tintas alcalinas ( pH 9 a 11), que al penetrar más rápidamente al papel producen un secado satisfactorio. Para llegar a tal pH se

ensayó el principio con carbonatos alcalinos, y por último, directamente con hidróxido de sodio. Es cierto que tal alcalinidad produce varios inconvenientes, los que se fueron salvando con acertados agregados.<sup>(3)</sup>

Las sales de hierro no son solubles en medio alcalino, pues precipita el hidróxido de hierro. Por tal razón el hierro hubo de ser reemplazado por otros metales, por ejemplo por vanadio, como metavanadato de amonio, o por cobre, como ftalocianina. Las tintas alcalinas de color azul-negro contienen vanadio ; tintas azules y negras, cobre.<sup>(3)</sup>

Los colorantes que se utilizan deben ser estables en medio alcalino ; se usan generalmente colorantes ácidos.<sup>(3)</sup>

Para que el exceso de alcalinidad no altere el satinado del papel, llevan un coloide protector, por lo general bentonita o almidón.<sup>(3)</sup>

Como se observa, estas tintas constituyen complejos sistemas, lo que eleva considerablemente su precio. Por otra parte, son cáusticas, atacando la pluma y el depósito de los lapiceros comunes. <sup>(3)</sup>

## F. PLUMAS MODERNAS :

### F.1. TINTAS DE BOLIGRAFOS

Las tintas para bolígrafos presentan consistencia pastosa ; están constituidas por colorantes disueltos o suspendidos en un soporte adecuado que puede ser de tipo oleoso, o por alcoholes o resinas sintéticas. La materia colorante debe ser soluble, idealmente, en el material que constituye el soporte ; por eso se

tardó en encontrar un material carbonoso adecuado, que diera un bolígrafo buen sustituto del lápiz gráfico.<sup>(3)</sup>

Al principio predominaban los soportes oleosos( oleína, aceite castor, aceite mineral), adicionados de éter de petróleo o benceno, pero se originaba una escritura borrosa, por difusión de estos que, incluso, en papeles de baja calidad afectaban el dorso del escrito.<sup>(3)</sup>

Los soportes a base de alcoholes contienen polietilén glicol, butilén glicol, octilén glicol. Los glicoles empezaron a usarse en 1951.<sup>(3)</sup>

Las resinas sintéticas que se usan como soportes o solventes de estas tintas son, principalmente, el cloruro y el acetato de polivinilo.<sup>(3)</sup>

Con respecto a los colorantes que constituyen las tintas para bolígrafos, debe mencionarse en primer lugar el alto porcentaje en que intervienen en éstas : 10 a 15 %, contra 2% en las tintas fluidas.<sup>(3)</sup>

## F.2. LAPICEROS DE FIBRA

En 1964 apareció un nuevo tipo de elemento escritor, bajo diversos nombres : felt-tip ( punta fieltro ), reed-pen ( lápiz flecha ), acrylic-tip ( punta acrílico ). Estos lápices pueden ser considerados como desarrollo del lápiz marcador que se usó muchos años en el Japón como sustituto del pincel tradicional que se utilizaba para escribir los caracteres idiográficos. También conocido en occidente en círculos artísticos, experimentó constantes modificaciones para hacerlo aplicable a un mayor número de expresiones de tal tipo, pero también para adaptarlo a la escritura corriente.<sup>(3)</sup>

Eso se logró cuando la Japanese Stationery Company produjo el “Pentel”, que ejecuta una línea adecuada para la escritura cursiva. De inmediato se desarrollaron en todo el mundo elementos escritores semejantes. (3)

Posteriormente surgieron otras dos clases de lapiceros japoneses, a fibra. Uno de ellos es de bambú, fluyendo la tinta a través de los túbulos naturales y surgiendo por la punta, afilada adecuadamente, y en ciertos casos forrada con plástico.(3)

Las tintas son de base acuosa. Algunas de las originales eran de soluciones en solventes orgánicos, pero no resultaban aptas para escritura por su elevada fluidez , que las hace difundir hasta el reverso de la hoja. Generalmente las tintas son negras, pero las hay también azules, rojas y de la mayor parte de los colores convencionales.(3)

#### G. TINTAS PARA ESCRITURAS SECRETAS

Estas tintas, llamadas también tintas simpáticas, son compuestos que producen escrituras invisibles, las que deben ser reveladas mediante métodos físicos o químicos adecuados.(3)

Su preparación, utilización y revelado se denomina *quimiocriptografía*. El diccionario castellano las define como “ composición química que tiene la propiedad que no se conozca lo escrito hasta tanto no se le aplique el reactivo correspondiente”.(3)

Se las utiliza a veces en casos criminales, pero su uso más frecuente es en espionaje. En el primer caso de la detección de la escritura secreta suele ser

fácil ; en casos de espionaje, las técnicas se han ido perfeccionando en tal forma que en ocasiones es sumamente difícil hallar el método adecuado para ello.<sup>(3)</sup>

Se presenta a veces el caso de un detenido que intenta comunicarse con sus cómplices en forma subrepticia, o el de cartas intercambiadas entre los miembros de una organización delictiva, que han sido interceptadas en tránsito, interesando conocer su contenido, pero sin alterarlas, en forma tal que la carta llegue a su destinatario sin despertar sospechas. Ello implica el revelado sin que queden signos visibles del mismo, vale decir, por medios que no alteren el documento.<sup>(3)</sup>

Los presos suelen usar como tinta simpática secreciones biológicas ( saliva, leche, orina), o productos de uso habitual ( jabón, dentífrico, medicamentos, perfumes) y jugos vegetales ( limón, cebolla). Cualquier líquido incoloro puede ser usado para producir una escritura secreta. El agua constituye el caso límite : una escritura realizada con agua altera, como hemos dicho, el acabado del papel, pudiendo revelarse con yodo, que se fija en forma diferencial en el surco que constituye la escritura, permitiendo su lectura.<sup>(3)</sup>

Los líquidos biológicos se revelan por calentamiento con una plancha doméstica caliente o con una lámpara de filamento : aparece la escritura en color pardo claro, constituyendo un proceso irreversible, pues se trata de una carbonización parcial de los componentes orgánicos del material biológico usado para realizar el escrito. La saliva se revela mal por ese método, pero como contiene una

enzima que cataliza la oxidación de la tinta ferrotánica, puede ser visualizada este tipo de escritura mediante aplicación de una solución diluida de dicha tinta, apareciendo los rasgos en color negro sobre fondo azul pálido.<sup>(3)</sup>

La tinta secreta más sencilla se obtiene con una solución acuosa de nitrato de cobalto : su uso sobre el papel queda con un color rosa muy suave, que se disimula perfectamente eligiendo un papel adecuado. Al calentar ligeramente el papel, la escritura se revela en un color azul ; ello se debe a que la sal de cobalto hidratada (rosa) pierde al calentarla el agua de cristalización, dando la sal anhidra (azul). Exponiendo el papel a la humedad la sal se rehidrata, y la escritura desaparece.<sup>(3)</sup>

## CLASIFICACIÓN DE TINTAS MAS EMPLEADAS POR LAS IMPRENTAS

### 3.3.2. ESCRITURA MECÁNICA

#### 3.3.2.1. DE IMPRENTA

##### A. TINTAS TIPOGRÁFICAS

La invención del sistema tipográfico por Gutemberg data del año de 1440. Los tipos primitivos eran de madera, luego de metales de bajo punto de fusión, hasta que en la actualidad se utilizan tipos de caucho, baquelita.<sup>(3)</sup>

La composición de estas tintas varía según el tipo y la calidad del papel utilizado como soporte. Las tintas para imprimir papeles de diario generalmente están constituidas por negro de humo suspendido en un vehículo de aceite mineral liviano. A veces se les agregan colorantes azules o violetas para neutralizar el engrisamiento del negro de humo puro.<sup>(3)</sup>

## B. TINTAS PARA ROTOGABADOS

La litografía fue ideada por Senefelder en 1796, al observar que intentando con tinta grasa ciertas piedras calizas, al pretender lavar a éstas con agua, la tinta no se removía. Aprovechando tal propiedad entintó un grabado confeccionado sobre una piedra, lo mojó con agua e impresionó un papel, obteniendo una impresión más nítida y clara que las que se lograban hasta entonces con el sistema tipográfico.<sup>(3)</sup>

Comenzó entonces a utilizarse, para este tipo de impresión, la máquina tipográfica común, pero sustituyendo el tipo por la piedra. Luego se fue perfeccionando la piedra litográfica mediante tratamientos con ácidos, lográndose buenas superficies calizas y actualmente se usan planchas metálicas de cinc o aluminio y otras de cobre y cromo, etc. (aleaciones). El uso de uno u otro tipo de plancha está supeditado a la cantidad de impresos a realizar, usándose las planchas monometálicas para tiradas cortas y las polimetálicas para las largas.<sup>(3)</sup>

Las tintas para litografía están compuestas por negro de humo y colorantes, sebo, cera, goma laca y jabón fundido. Tanto ellas como las de tipografía se preparan mediante un largo proceso de amasado del pigmento con parte del vehículo; luego esta mezcla gruesa pasa a los molinos para lograr la perfecta pulverización y humectación del pigmento. Recién cuando se ha logrado el estado óptimo respecto de ambas condiciones, se le agrega el vehículo

necesario para llevar la tinta a su condición de viscosidad adecuada, y se la envasa.<sup>(3)</sup>

### C. TINTAS LITOGRÁFICAS (OFF SET )

Para este sistema se utilizan tintas líquidas, compuestas por negro de humo y pigmentos de diversos colores, en un soporte constituidos por hidrocarburos ( xilol, toluol, benzol) y resinas.<sup>(3)</sup>

Estas tintas, mucho más fluidas que las que se utilizan en los dos sistemas anteriores, penetran el soporte y se fijan en él al evaporarse el solvente. Para ello, la superficie de las cartulinas, cartones y papeles en general que van a servir de soportes, sufren un proceso de “encapado”, para uniformar su superficie y lograr la transferencia total de la tinta en el proceso. El encapado es una suspensión de pigmentos en una solución acuosa proteica, que contiene arcilla, dióxido de titanio y carbonato de calcio.<sup>(3)</sup>

### D. TINTAS PARA FLEXOGRAFÍA

La flexografía es un sistema derivado del tipográfico, modificando dos aspectos : utiliza tintas líquidas y reemplaza los tipos por planchas de goma natural o sintética. Se utilizaba sobre todo para imprimir bolsas de papel. Las tintas iniciales eran soluciones alcohólicas de anilinas, con agregado de goma laca. <sup>(3)</sup>

En general se trata de negro de humo, pigmentos y colorantes básicos disueltos o suspendidos en solventes adecuados, con el agregado de resinas.

Los solventes pueden ser de dos tipos : alcohol y ésteres, o alcohol.<sup>(3)</sup>

## E. TINTAS PARA SERIGRAFÍA

La serigrafía, sistema de impresión empleado por los pueblos orientales para imprimir tapizados y paredes, actualmente se usa para la impresión de afiches, “posters”, cerámicas, metales, maderas, plásticos, vidrios, telas, etc.<sup>(3)</sup>

Antiguamente, como elemento impresor, se usaba la seda ; hoy se utiliza el nylon o el acero inoxidable.<sup>(3)</sup>

La tela se coloca bien tirante en un dispositivo adecuado y sobre ella se coloca una película de celuloide o plástico rígido, que contiene el motivo a imprimir. A continuación se pinta con una laca todo el borde de la película, para obturar la trama.<sup>(3)</sup>

Sobre el material soporte a imprimir se coloca la tela así tratada y mediante una espátula se fuerza la tinta.<sup>(3)</sup>

Las tintas utilizadas son generalmente opacas, y están compuestas por dióxido de titanio, sustancias inertes, aceite de lino polimerizado, solventes alifáticos y agentes secantes.<sup>(3)</sup>

### 3.4. COMPOSICIÓN DE LAS TINTAS.

La composición de las tintas depende del uso que se les da a ellas. Las propiedades de las tintas pueden obtenerse en el proceso de manufactura, alterando sus componentes. Estas pueden incluir : características colorantes, costo, fluidez, resistencia al calor, luz, agua. Solo para el caso de los materiales de escritura, los moldes determinarán el mecanismo de aplicación de tintas y por ello deben de ser considerados.<sup>(5)</sup>

Cuadro N° 1. Componentes de las tintas.

Componente de la tinta	Características	Propiedades afectadas
Material colorante :		Apariencia
Tinte o colorante	Clasificadas como ácidas, básicas, solventes. Soluble en vehículo.	
Pigmentos	Consiste en gránulos completamente finos. Insoluble en vehículo.	
Vehículo		Características de flujo y secado
Aceites	Pueden ser linaza, soja, mineral u otro tipo de aceite. Clasificados como : colorantes, no colorantes, o combinación, dependiendo del grado de insaturación del aceite.	(5)



Cont...  Plastificantes	Reducen la quebrabilidad de las tintas.  Consisten en solventes de baja volatilidad.	Estabilidad en la película de la tinta.
Surfactantes	Cambian la tensión superficial de la tinta.  Típicamente consiste en jabones y detergentes.	Habilidad de humectación.
Ceras	Incrementan la flexibilidad y reduce la quebrabilidad.	Dureza/flexibilidad

(5)

### 3.5. MÉTODOS PARA ANALIZAR LAS TINTAS.

#### 3.5.1. MUESTRAS DE TINTAS

Las muestras de tintas requeridas para el análisis son típicamente 1.0-1.5 µg del artículo de tinte, y tintas de escritura, son en forma de punteado, asteriscos, una línea individual (2-3 mm en longitud) o una letra única de una porción de un texto. Las muestras de tintas de escritura son removidas del documento

cuestionado por una pequeña sección cortada del documento conteniendo la marca de la tinta.<sup>(5)</sup>

Los desarrollos de obtención de muestras están principalmente relacionados con el mecanismo de remover el tamaño requerido de la muestra de tinta, cuando este causa mínimo daño al documento. En 1992 J. Harris trabajó en el desarrollo de un micro-agujero de 1 mm el cual es punzado en el papel que posee impresa la tinta cuestionada. Hoy en día, este punzado de micro-agujeros es comúnmente usado , utilizando diferentes diámetros.<sup>(5)</sup>

### 3.5.2. CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (TLC, CCF)

#### 3.5.2.1. *Un principio fabuloso : separación por adsorción*

Érase una vez un rey poderoso que reinaba en un país lejano. Como es de esperar, tenía una hermosa hija a la que quería casar precisamente con el hombre más fuerte y vigoroso de su reino. Pero ¿cómo encontrarlo ?.<sup>(1)</sup>

Hizo llamar a todos los sabios de su reino y les pidió consejo. Fue difícil ya que los sabios padecían todos de falta de creatividad. Excepto uno llamado Cromos. Éste tenía una idea original : “ Majestad”, dijo, “ al oeste de vuestro reino fluye un río impetuoso. Utilizadlo para un superconcurso. Haced que vuestro ingenieros fijen en el río estacas separadas regularmente, suficientemente altas y gruesas para que un nadador pueda asirlas. Si arrojáis entonces un hombre al río, podrá asirse a la estaca y mantenerse sujeto e ella hasta que la corriente lo arrastre. Lo llevará hasta la próxima estaca, donde también se agarrará. Cuanto más fuerte sea el hombre, más a menudo y

durante más tiempo conseguirá mantenerse agarrado. Si habéis fijado suficientes estacas entre el principio y el final, con toda seguridad llegará a la meta primero el hombre más débil y en último lugar el hombre más fuerte.”<sup>(1)</sup>

El rey, siempre abierto a nuevas ideas deportivas, hizo acondicionar el recorrido de la carrera. No debía ganar el más rápido sino el más lento. Y así sucedió. De esta manera tan simple, elegante y sin derramamiento de sangre se buscó al vencedor, quien se casó con la hija del rey.<sup>(1)</sup>

Los eruditos del deporte llamaron al río fase móvil, a las estacas fase estacionaria y al tiempo que un atleta necesitaba para efectuar el recorrido, tiempo de retención, ya que retención equivale a agarrarse o permanecer. Y en honor al sabio consejero del rey llamaron al nuevo deporte “Cromatografía”.<sup>(1)</sup>

Y como estos conceptos sonaban tan científicos, un buen día los científicos se dieron cuenta de las fabulosas posibilidades del nuevo deporte. No enviaron al recorrido aspirantes a la mano de la hija del rey sino sustancias químicas. En lugar de un río impetuoso eligieron un disolvente como fase móvil. Sustituyeron las estacas por sustancias adsorbentes como el gel de sílice o el óxido de aluminio.<sup>(1)</sup>

#### 3.5.2.2. *Principios de separación : equilibrios de adsorción y partición.*

Acordémonos del rey y su hermosa hija. Nos enseñó que la Cromatografía se fundamenta en general en la distinta afinidad de las sustancias por una fase estacionaria y una fase móvil, por el adsorbente y el fluyente.<sup>(1)</sup>

Aplicamos una sustancia disuelta sobre una placa de capa fina. ¿Qué experimenta durante la separación? Es arrastrada por la fase móvil, se fija a la fase estacionaria por un tiempo determinado, es arrastrada de nuevo, y así sucesivamente. De este modo, la sustancia se retarda, se frena respecto al frente de la fase móvil. De hecho, tanto más cuanto más preferentemente se ancle en la fase estacionaria. Así se separan también las sustancias de afinidad parecida por ambas fases: aunque estas diferencias sean pequeñas, conducen a eluciones distintas si actúan el suficiente número de veces.<sup>(1)</sup>

(La Fig. 2 en anexos) muestra los dos principios básicos en que se fundamentan las distintas afinidades: los equilibrios *adsorción* y de *partición*.<sup>(1)</sup>

En la *adsorción*, las sustancias disueltas en la fase móvil se acumulan (se adsorben) en la superficie de un sorbente, p. ej. alúmina.<sup>(1)</sup>

La *partición*, aparece por la distinta solubilidad en dos fases inmiscibles.<sup>(1)</sup>

En la Cromatografía de partición las sustancias disueltas en la fase móvil se distribuyen entre esta fase y una segunda, fluída, adherida a un soporte fijo (p. ej. gel de sílica en fase reversa o celulosa).<sup>(1)</sup>

### 3.5.2.3. *Parámetros para describir la eficacia de la separación.*

La primera información que proporciona un cromatógrama terminado es el comportamiento de elución de las sustancias separadas.<sup>(1)</sup>

Se expresa mediante el parámetro  $R_f$  (en inglés, relate to front):

$$R_f = \frac{\text{Distancia entre el punto de partida y la mancha de la sustancia}}{\text{Distancia entre el punto de partida y el frente del eluyente}^{(1)}}$$

La posición de la mancha de la sustancia se toma en su punto más intenso (generalmente el centro).

El  $R_f$  se considera un valor sólo orientativo debido a los numerosos factores, difícilmente controlables simultáneamente, que influyen en la retención. <sup>(1)</sup>

Una sustancia eluída bajo condiciones idénticas puede emplearse como patrón para determinar un valor relativo de R, el  $R_x$  o  $R_{st}$  :

$$R_{st} = \frac{\text{Distancia entre el punto de partida y la mancha de la sustancia}}{\text{Distancia entre el punto de partida y la mancha de la sustancia patrón.}}$$

Al contrario del  $R_f$ , que es  $< 1$ , el  $R_{st}$  puede ser también  $> 1$ . (La Fig. 3 en anexos), muestra una vez más cómo se determinan ambos parámetros. <sup>(1)</sup>

3.5.2.4. *Empirismo ilustrado o ¿qué influye en una separación y de qué manera ?*

Clasificados en orden decreciente de importancia, 25 parámetros que influyen en la separación por CCF :

- 1) Fase estacionaria.
- 2) Fase móvil.
- 3) Tipo de cubeta.
- 4) Adsorción previa de una mezcla de disolventes(acondicionamiento).

- 5) Humedad relativa.
- 6) Actividad de la fase estacionaria.
- 7) Saturación de la cubeta y la fase estacionaria con vapores del eluyente.
- 8) Tamaño de grano de las partículas en la fase estacionaria.
- 9) Tamaño de las manchas aplicadas.
- 10) Distancia entre la posición inicial de la sustancia y el nivel del eluyente en la cubeta de separación.
- 11) Gradientes de eluyente (distribución irregular a lo largo del recorrido de los distintos componentes del eluyente).
- 12) Alteraciones en la calidad de la fase estacionaria.
- 13) Velocidad de flujo de la fase móvil.
- 14) Magnitud del  $R_f$ .
- 15) Temperatura.
- 16) Volumen de la muestra.
- 17) Aglomerante en la fase estacionaria.
- 18) Espesor irregular de capa en la fase estacionaria.
- 19) Fabricación de la fase estacionaria.
- 20) Espesor de capa de la fase estacionaria.
- 21) Convecciones en la fase gaseosa de la cubeta de separación.
- 22) Tipo de desarrollo (flujo ascendente/descendente/horizontal de la fase móvil).
- 23) Impurezas en el eluyente.

24) Recorrido.

25) pH.<sup>(1)</sup>

### 1. *La fase estacionaria (el sorbente)*

Las características principales y los parámetros de los sorbentes se resumen en los tres apartados siguientes.<sup>(1)</sup>

#### 1.1 Composición química y estructura.

Los numerosos sorbentes se clasifican básicamente en dos tipos :

*Fases polares (hidrófilas)*, también llamadas straight phases o fases normales.<sup>(1)</sup>

*Fases apolares (lipófilas)*, también llamadas reversed phases o fases reversa.<sup>(1)</sup>

En medio se encuentran las fases medianamente polares. En su mayoría se trata de sorbentes modificados como por ejemplo las fases nitriladas, dioladas o aminadas. Sus propiedades se asemejan a las de las fases normal o reversa dependiendo del eluyente.<sup>(1)</sup>

Las fases polares se combinan en general con eluyentes no polares como cloroformo/metanol. Por el contrario, las fases reversas se combinan con eluyentes con alto contenido en agua. Naturalmente, al cambiar de fase directa a fase reversa se invierte el orden de elución.<sup>(1)</sup>

Los sorbentes de mayor significación práctica son el gel de sílice, el gel de sílice modificado, el óxido de aluminio y la celulosa.<sup>(1)</sup>

Cerca de un 90% de las separaciones se realizan sobre gel de sílice, un polvo poroso y amorfo. Contiene en su superficie grupos Si-OH que pueden formar enlaces por puente de hidrógeno entre ellos o con sustancias polares. La cantidad máxima de grupos Si-OH disponibles, y por lo tanto la máxima actividad, la presenta el gel de sílice activado a 150 °C. Este tratamiento le hace perder el agua adsorbida y tener de 4 a 6 grupos Si-OH por cada 10 nm.<sup>(1)</sup>

Por último existen también geles de sílice con grupos funcionales *quirales* (ópticamente activos). Estas fases permiten separar sustancias ópticamente activas en sus enantiómeros por interacción de diastereómeros. En la actualidad, la síntesis de productos naturales y fármacos es impensable sin un control riguroso de la pureza del enantiómero: los distintos enantiómeros pueden tener distintas propiedades farmacológicas y, por lo tanto, deben ser investigados separadamente.<sup>(1)</sup>

El uso de celulosa como sorbente para separar sustancias hidrófilas como aminoácidos y azúcares produce resultados parecidos a los obtenidos por Cromatografía de papel.<sup>(1)</sup>

- Características de grano y de poro.

La eficacia de separación de un adsorbente está determinada por su estructura geométrica. También forman parte de ella el tamaño de partícula y su distribución. La selectividad de un adsorbente depende, por el contrario, de la estructura química del material.<sup>(1)</sup>

a. *Diámetro de partícula.*

En principio se cumple que cuanto menores son las partículas y cuanto más estrecha es la distribución de tamaños de grano tanto mejor es la eficacia de separación. Los diámetros de las partículas deberían ser además lo más uniformes posible (distribución de tamaño de partícula estrecha). El diámetro de partícula de los geles de sílice comerciales oscila entre los 5 y los 40 nm. (En la Fig. 4 en anexos), se muestran distribuciones típicas de tamaño de grano.

b. *Superficie.*

Se expresa en  $\text{m}^2/\text{g}$ . A mayor superficie, más intensas son las interacciones entre muestras y fase estacionaria. El poder de adsorción es mayor, es decir, la retención es más fuerte. Las superficies de los geles de sílice comerciales están comprendidas entre 400 y 600  $\text{m}^2/\text{g}$ .

c. *Volumen de poro y su distribución.*

Se expresa en  $\text{ml/g}$  (un valor típico es 0.8  $\text{ml/g}$ ). Una variable relacionada es el diámetro de poro, expresado en nm (un valor típico es 6 nm).

d. *Parámetros de capa.*

El espesor de las capas de separación analítica se sitúa típicamente entre 100 y 250  $\mu\text{m}$ , mientras que el de las capas de separación normales está alrededor de los 250  $\mu\text{m}$ , y el de las capas de CCF de alta eficacia alrededor de los 200  $\mu\text{m}$ . Para separaciones preparativas existen placas con espesores entre 0.5 y 2 mm. Raspando determinadas zonas de la placa después de la separación y

solubilizando posteriormente las sustancias adheridas, es posible aislar estas sustancias.<sup>(1)</sup>

También influyen en las propiedades de las capas los *aglomerantes* empleados, que aumentan su estabilidad y fijación (p. ej., el yeso o aglomerantes orgánicos).<sup>(1)</sup>

También se comercializan placas con zonas de concentración. Idealmente, en estas zonas de concentración las sustancias avanzan con el frente del fluyente, concentrándose en una banda estrecha (p. ej., procesos de separación adsorptivos). Al alcanzarse la capa de separación empieza la Cromatografía propiamente dicha. La línea de partida de la Cromatografía se encuentra en la frontera entre la zona de concentración y la capa de Cromatografía. El tamaño de la mancha en la dirección de la Cromatografía se mantiene así pequeño y se mejora la resolución.<sup>(1)</sup>

## *2. La fase móvil.*

Además del sorbente y (para sorbentes hidrófilos) su actividad, la elección del fluyente también influye decisivamente en la separación. El fluyente disuelve del sorbente las sustancias a separar, haciéndolas avanzar. Cuanto más fluyente se adsorbe sobre el sorbente, mayor es el poder de elución de éste (poder de desplazamiento). Si la sustancia tiene mayor afinidad por el fluyente que por el sorbente, se eluye más próxima al frente.<sup>(1)</sup>

Conviene en este momento advertir acerca de una confusión de concepto : la composición de la mezcla fluyente (comúnmente llamada fase móvil) puede,

aunque no necesariamente debe, ser idéntica a la fase móvil efectiva cromatográficamente porque el fluyente también está sometido al proceso cromatográfico. Este fenómeno se pone de relieve cuando se utilizan fluyentes de más de un componente , dando lugar a la aparición de los llamados “frentes  $\beta$ ”, especialmente en las cubetas “sandwich”.<sup>(1)</sup>

Se ha comprobado la utilidad de ordenar los fluyentes en una sucesión de poder de elución creciente. Esta “serie eluotrópica” se corresponde esencialmente con la ordenación de los fluyentes según su polaridad o su constante dieléctrica. Estrictamente hablando, una serie eluotrópica es válida sólo para un sorbente determinado.<sup>(1)</sup>

*(La tabla 1 en anexos)* muestra una selección de los fluyentes más importantes de la serie eluotrópica del gel de sílice.<sup>(1)</sup>

La  *saturación* de la cubeta influye de manera importante en el resultado de la separación.*(La figura 5. en anexos)*, muestra esquemáticamente lo que sucede en una cubeta no saturada<sup>(1)</sup>. La placa de capa fina se ha introducido inmediatamente después de verter el fluyente. Durante la separación se evapora eluyente de la placa, predominantemente en la zona del frente. Se requiere más fluyente para un mismo recorrido del frente y los  $R_f$  aumentan. Si por el contrario se reviste la cubeta con papel de filtro empapado con el fluyente, sus vapores se distribuyen en poco tiempo por todo el volumen de la cubeta, como lo que ésta se satura. Si se introduce una placa de separación en una cubeta preparada de esta manera, la capa seca se impregna de fluyente.

Se requiere entonces menos fluyente para un mismo avance del frente y los  $R_f$  son menores.<sup>(1)</sup>

La diferencia de los  $R_f$  de cubetas no saturadas y saturadas es sin embargo sólo aparente. En el primer caso ha fluido por la placa más fluyente del que correspondería al recorrido del frente. En segundo, el vapor del fluyente condensa por delante del frente, aparentando un mayor recorrido del mismo.<sup>(1)</sup>

CCF ha sido previamente aplicada a la caracterización de tintas de escritura y es ampliamente aceptada como la técnica más informativa. CCF puede ser usada independientemente para dar gran poder de discriminación y puede acoplarse con otras técnicas que casi garantizan la diferenciación de tintas. Es una técnica muy popular debido a la facilidad de uso, velocidad y al bajo costo. El método típicamente se usa hojas delgadas de Sílica gel o celulosa adherida a un soporte rígido como un plato de vidrio, aluminio u hojas de plástico como fase estacionaria, en lugar de papel como en los métodos antiguos. Las muestras son colocadas en forma de pequeños puntos sobre una línea de origen, que se marca cerca del fondo del plato.. El plato es colocado en una cámara, la cual contiene la fase móvil. La fase móvil fluye hacia arriba del plato hasta cierta distancia y hace que migren sobre ella, las muestras de tintas a ciertas distancias características. El plato es removido, secado y observado. El valor del  $R_f$  de un compuesto depende de el absorbente y la fase móvil y puede ser usado para identificar un compuesto.<sup>(5)</sup>

### 3.6. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE TINTAS

En 1993 Aginski describió un esquema de dos pasos de extracción usados para CCF en un experimento para extraer el residuo entero incluyendo si eran pigmentos ligeramente solubles ( Insolubles en DMF). La muestra de tinta fue colocada en un pequeño vial de vidrio y 2-3  $\mu\text{L}$  de dimetilformamida fue añadida. La muestra se extrajo por un minuto usando agitación, la cual obtuvo la mayoría de los pigmentos orgánicos. Todo residuo que aun permanecía remanente en el papel fue re-extraído, un minuto adicional, usando 2-3  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico concentrado. Prácticamente este proceso disolvía todos los pigmentos orgánicos y cualquier residuo que indicaba la presencia de pigmentos inorgánicos.<sup>(5)</sup>

### 3.7. SISTEMAS SOLVENTES

La selección de un sistema solvente efectivo para CCF , es esencial para obtener resultados deseados. Para obtener análisis que apunten una buena separación de componentes coloreados con un grandes valores de  $R_f$  y mantener los materiales no coloreados en la línea de partida. <sup>(5)</sup>

SISTEMAS SOLVENTES MÁS EFECTIVOS DESARROLLADOS POR VARIOS INVESTIGADORES.

Cuadro N° 2. Sistemas solventes usados en tintas para Cromatografía de capa fina <sup>(5)</sup>

Investigador	Tipo de tinta.	Composición	Partes	Fase estacionaria	Revelador
Brunelle	(1)	Etil Acetato, Etanol Absoluto, Agua destilada.	70 35 30	placas recubiertas Sílica gel Eastman.	Luz U.V.
	(2)	n-Butanol, Etanol, Agua destilada	50 10 15	Placas recubiertas de Sílica gel.	Luz U.V.

Kelly y Cantu	(1)	n-Butanol, Isopropanol, Agua destilada.	2 1 1	Sílica y Celulosa	Luz U.V.
	(2)	n-Butanol, Etanol, Acido Oxálico 10%	50 10 15	Sílica y Celulosa	Luz U.V.
Tappolet	Tintas de pluma fuente : Negro, Azul- Negro, Azul royal ,Azul.	Isobutanol Etanol, Acido acético 99%.	20 5 5	Cromato- grafía de capa fina	Luz U.V.

Cont...	Tintas rojas	Agua destilada, Isopropanol, 1-Pentanol, Agua destilada	10 12 22 6	Cromatografía de capa fina.	Luz U .V.
	Tintas verdes	Acido fórmico, Butanol.	3 97	Cromatografía de capa fina.	Luz U.V.
	Tintas de boli- grafos : Azul y Negro	Acetato de Etilo, Etanol, Agua destilada	70 35 30	Cromatografía de capa fina.	Luz U.V.
	Azul y Rojo	Metanol, n) Propanol, 1-pentanol, Agua destilada.	2 10 26 4	Cromatografía de capa fina.	Luz U.V.

Cont...		Secuencialmente :			
Aginski	Tintas de	1)Cloroformo.	-	Merk, Sílica gel 60.	Luz U.V.
	impresión,	2)Acetato de Etilo,	30		
	pinturas	isopropanol,	15		
	artísticas o	Agua destilada,	10		
	toners de	Acido acético.	1		
copiadoras.	3)Acido sulfúrico concentrado.	-			

V.N. Aginsky presentó un método de tres pasos para completar el análisis de Cromatografía de capa fina en el examen forense en 1993. El análisis fue desarrollado usando platos de Sílica gel Merck 60 de 20 por 20 cm, punteando con extracto de Dimetilformamida usando capilares de vidrio de un modo ascendente usando un procedimiento múltiple de desarrollo en el cual se empleo los siguientes eluyentes<sup>(5)</sup> :

*1. Cloroformo* : Proporciona una distancia de separación de aproximadamente 10 cm. De la mayoría de los pigmentos orgánicos, estos son cromatografiados, mientras todos los pigmentos básicos, ácidos, heteropoliácidos de pigmentos básicos, aceites, pigmentos solubles en Etanol y Agua permanecen próximos a la línea de comienzo.<sup>(5)</sup>

*2. Acetato de Etilo / Isopropanol / Agua / Ácido acético( 30 :15 :10 :1 v/v )*. Proporcionan distancias de separación de aproximadamente 7 cm. De

pigmentos ácidos, básicos, heteropoliácidos de pigmentos básicos, aceites, y pigmentos solubles en agua y Etanol , son separados y se desarrollan en sus componentes coloreados.(5)

3) *Ácido Sulfúrico concentrado* : Proporciona una distancia de separación de 2 cm . Este paso es aplicado si cualquier residuo coloreado aun permanece en la línea de partida . después de los dos pasos previos.(5)

### 3.8 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN. HPLC .

La Cromatografía líquida es en esencia, como todos los métodos cromatográficos, un método separativo. Así, el lugar donde se produce la separación, la columna, puede considerarse el corazón del sistema cromatográfico, alrededor de la cual se monta un equipo de mayor o menor complejidad. En caso mas simple (*\_ver Fig. 6 En anexos*), el cromatógrafo líquido estará constituido por (7) :

A. Un reservorio de solvente que alimente al sistema con la fase móvil.(7)

B. Tuberías

C. Un sistema que permite la introducción de la muestra : inyector.(7)

D. Un sistema para forzar el pasaje de la muestra y la fase móvil a través de la columna : la bomba.(7)

E. Un sistema de monitoreo de la solución que emerge de la columna : el detector.(7)

F) Un sistema de registro de los datos provenientes del detector.

La señal del detector es siempre analógica y puede ser utilizada tal cual por un registrador gráfico o por un integrador, o digitalizada, para que pueda ser interpretada y procesada por una computadora.(7)

Como resultado del análisis cromatográfico se obtienen dos productos :

*Un gráfico*, el cromatograma, que relaciona la concentración de soluto en función del tiempo (de elución).(7)

*Un eluido*, el fluido proveniente de la columna que, de recolectarse en forma secuencial o escalonada (manualmente o con un colector de fracciones), contiene la fase móvil e, idealmente, los componentes de la muestra separados.(7)

### 3.8.1. Formas de Cromatografía Líquida

- *Cromatografía Líquido-Sólido o de adsorción.*

Este método emplea una fase estacionaria polar, típicamente silicagel, y una fase móvil no polar, por ejemplo hexano, en general con el agregado de algún aditivo que provee selectividad.(7)

- *Cromatografía Líquido-Líquido o de partición.*

En esta modalidad, las moléculas de soluto se distribuyen entre dos líquidos : uno es la fase móvil, y el otro la fase estacionaria, que se encuentra homogéneamente dispersa en un soporte sólido, finamente dividido. El desarrollo de este método le valió a Martin y Synge la obtención del premio Nobel de química de 1952. Sin embargo, varios inconvenientes, especialmente

derivados del tipo de fijación de la fase estacionaria al soporte (meramente mecánica) se sumaron para que éste método haya sido casi totalmente desplazado. Estos inconvenientes de debían a la necesidad de presaturar la fase móvil con fase estacionaria, la imposibilidad de efectuar gradientes de elución, de programar caudales o temperatura para evitar el desprendimiento de fase estacionaria, etc. de todos modos, las columnas distaban mucho de ser estables, y los resultados reproducibles al nivel que hoy se pretende.<sup>(7)</sup>

- *Cromatografía de fase ligada.*

Las virtudes de la Cromatografía Líquido-Líquido eran claras, tanto como sus limitaciones. Por ello resulta también razonable pensar que reemplazando el tipo de unión de la fase estacionaria a su soporte, haciéndola perdurable por medio de una unión química covalente, el éxito del material estaría asegurado.

Así, prácticamente el 90% de las separaciones cromatográficas modernas se efectúa sobre material químicamente modificado, el cual permite optar, según el reactivo empleado para su fabricación, entre materiales hidrofóbicos o altamente hidrofílicos, con un amplio rango de polaridad y de selectividad : octadecilo, octilo, hexilo, butilo, etilo, ciano, diol, fenilo, amino, nitro, amonio cuaternario, resto sulfónico, etc.<sup>(7)</sup>

- *Cromatografía de Intercambio Iónico.*

En este caso se emplean rellenos en los cuales la partícula está constituida por un polímero o por sílica gel, en cada caso unida a un grupo funcional aniónico o catiónico (típicamente sulfónico para el intercambio de cationes, amonio

cuaternario para el intercambio de aniones). La selección del tipo de grupo funcional permite escoger entre intercambiadores débiles y fuertes.<sup>(7)</sup>

- *Cromatografía por Exclusión de Tamaño.*

Esta modalidad emplea materiales de porosidad controlada, que funcionan como un filtro o tamiz y clasifica las moléculas de la muestra según un orden decreciente de tamaño molecular (las moléculas más grandes son las primeras en eluir, y las más pequeñas son las últimas). Si se dispone de estándares apropiados, de peso molecular adecuado (proteínas para el análisis de proteínas, dextranos para el ensayo de dextranos, etc.), puede evaluarse el peso molecular de un compuesto desconocido, o bien la distribución de pesos moleculares de un polímero sintético.<sup>(7)</sup>

El notorio avance que la Cromatografía líquida moderna ha experimentado en los últimos años, en especial en lo referente al desarrollo de nuevas fases estacionarias, ha permitido al analista acceder a un nivel instrumental de alta precisión, compuesto por bombas que permiten entregar (en un solo instrumento) caudales muy estables que varían entre el microlitro y varios mililitros, detectores con celdas intercambiables en las cuales el volumen puede escogerse, generalmente entre 1 y 12  $\mu\text{L}$ , válvulas accionadas por microprocesadores que permiten direccionar la fase móvil para automatizar procesos, integradores versátiles, aislados o conectados a una computadora que puede permitir no solo el control global de uno o más equipos cromatográficos sino la libre manipulación y almacenamiento de datos,

generación de reportes e incluso el desarrollo automático de métodos, etc.<sup>(7)</sup>

Básicamente, los equipos de HPLC pueden clasificarse *Integrados y modulares*.

En los primeros, cada una de sus partes (reservorio de solventes, bomba, inyector y detector) están reunidas en un gabinete y su intercambio o conexión con otros componentes de la misma o diferente marca es difícil. Permiten en cambio un mejor aprovechamiento del espacio, menos cables, tuberías y conexiones expuestas y quizás menores riesgos frente a operadores ocasionales o poco experimentados. En los segundos, los módulos son instrumentos individuales que permiten no solo armar el equipo según la necesidad del analista sino aumentar su complejidad según esa necesidad varíe. Esta conformación es además una buena defensa ante el “síndrome de la caja negra”. Dicho de otro modo, la visualización de cada componente permite no solo el mejor conocimiento y control visual del equipo, sino el mejor aislamiento y resolución de problemas cuando estos se reducen.<sup>(7)</sup>

*La Fig.7 en anexos, corresponde a un esquema, donde se representa un cromatógrafo líquido básico, de tipo modular.*<sup>(7)</sup>

### 3.8.2. Instrumental

#### - *Reservorio de la fase móvil.*

El reservorio es el recipiente que contiene la fase móvil. Puede ubicarse “dentro de la caja negra” de un equipo integrado o externamente en un equipo modular, y en general algunos centímetros sobre el nivel de la bomba para que la fuerza de gravedad dirija el solvente hacia ésta, manteniendo llenas las conexiones.<sup>(7)</sup>

Puede emplearse como reservorio de fase móvil cualquier frasco de laboratorio de buena calidad ( de vidrio o polímero resistente), con una tapa adecuada para prevenir el ingreso de partículas ambientales al sistema. Es incluso una práctica corriente el empleo del mismo envase comercial en que se expenden los solventes, a cuya tapa se practican algunos orificios, al menos uno para el tubo de salida y otro para venteo, y simplemente se intercambia el frasco de solvente al agotarse el que está en uso.(7)

Al extremo del tubo de salida de solvente se conecta un filtro de acero(buzo) con 2 ó 10  $\mu\text{m}$  de porosidad que impide el ingreso de partículas a la bomba. La capacidad del frasco depende, lógicamente, del consumo esperado : pocos mililitros en el modo microbore, 0,5 a 1 litro o más en los métodos convencionales y hasta varios litros en Cromatografía preparativa.(7)

Los sistemas que necesitan procesos de desgasificación continua están provistos de una tapa especialmente diseñada para tal fin, en la cual podemos encontrar un orificio para la entrada del gas inerte de desgasificación, otro para la salida del solvente y una válvula que permita una presión positiva del gas sobre el solvente venteando el exceso.(7)

- *Tuberías.*

La fase móvil empleada en HPLC debe circular por tuberías que conectan el reservorio de solvente con la bomba, la bomba con el inyector, éste con uno o más detectores conectados en serie, y eventualmente con un colector de fracciones o válvulas de distribución. Es evidente que estas tuberías deberán

ser inertes, y de acuerdo a su ubicación en el sistema cromatográfico, resistentes a altas presiones. Así, se emplean tubos de acero inoxidable (316 ó 304) o poliméricas (polipropileno o teflón) siendo las tuberías de acero 316 y la de teflón la más comúnmente utilizadas. Las tuberías de acero se utilizan para conectar los componentes sometidos a alta presión (entre bomba e inyector, inyector y columna, columna y detector y entre detectores conectados en serie) y los materiales poliméricos para conectar los componentes donde la presión atmosférica o ligeramente superior (reservorio de solvente-bomba, último detector- frasco de desperdicios).(7)

Las tuberías de acero tienen un diámetro externo estandarizado: 1/16 pulgadas. Sin embargo su diámetro interno es variable y se selecciona la de sección más fina para conectar los instrumentos por los cuales circula muestra ( entre inyector y detector, de modo de no provocar dilución de la muestra) y la de sección más gruesa para conectar aquellos componentes del sistema por los que no circula la muestra, y en los cuales un diámetro interno delgado sólo aumentaría la presión del sistema. Las conexiones por donde no circula la muestra son de diámetro interno entre 0.5 y 0.7 mm, y aquellas por donde circula la muestra son de hasta 0.2 mm.(7)

Otro parámetro a considerar en la longitud de las tuberías ya que tuberías demasiado largas conducen a ensanchamientos extracolumnares importantes. Las conexiones entre bomba e inyector y posteriormente al detector no contribuyen al ensanchamiento de banda extracolumnar .(7)

(*La tabla 2 en anexos*). Muestra las longitudes de tubería recomendadas en función de la longitud de la columna a utilizar, tamaño de partícula y número de platos teóricos.<sup>(7)</sup>

- *Uniones.*

Las uniones permiten conectar las tuberías, y con ellas, los distintos componentes del sistema cromatográfico. Una unión consiste en dos piezas de acople perfecto, la unión “macho”, consiste en una férula que se afirma a la tubería conectora y un tornillo (*ver Fig. 8 en anexos*) que se ajusta a la unión “hembra”, presente en un conector o componente de un módulo, dejando un volumen interno libre al solvente prácticamente nulo. Al fabricar una unión, la férula queda fijada a la tubería al realizar el primer ajuste y luego no se puede mover (*ver Fig. 9 en anexos*).<sup>(7)</sup>

Básicamente, existen dos tipos de uniones, las que hemos descrito, llamadas convencionales y las universales, en las cuáles la férula está constituida por un polímero deformable y el tornillo posee una cabeza algo mayor y fresada, de manera de permitir el ajuste manual de la unión, a diferencia de las convencionales que necesitan del empleo de llaves apropiadas.<sup>(7)</sup>

Las uniones deben de reunir determinadas características, entre ellas <sup>(7)</sup> :

- A. Deben ser inertes a fases móviles y muestra.
- B. Deben cerrar herméticamente.
- C. No deben contribuir en forma notable al ensanchamiento de banda extracolumnar por la presencia de volúmenes muertos.

(La Fig. 8 en anexos) , muestra una conexión convencional de HPLC formada por una unión macho (férula y tornillo) y un conector hembra.<sup>(7)</sup>

- *Bomba.*

Las bombas de HPLC impulsan la fase móvil proveniente del reservorio del solvente hacia el inyector, y desde allí hacia la columna. Su caudal de trabajo puede ser muy variable, según la escala de trabajo escogida. Existen bombas capaces de entregar caudales muy pequeños, del orden de los microlitros/minuto para la Cromatografía analítica convencional hasta valores mucho mayores para las separaciones semipreparativas y preparativas.<sup>(7)</sup>

Básicamente existen dos tipos de bomba : las de pistón (bombas reciprocantes) y las de desplazamiento continuo (bombas jeringa). Las primeras son las de uso más difundido ; son muy versátiles y fáciles de adaptar a la rutina del laboratorio. Las segundas no emiten pulsos en la entrega del solvente.<sup>(7)</sup>

*Características de las bombas.*

Las bombas de HPLC tienen las siguientes características :

A. *Caudal* . los equipos convencionales operan con caudales entre 0.1 y 10.0 ml/min y trabajan con presiones de hasta 6000 psi. Las bombas que se utilizan con columnas microbore operan en el rango de 0.01 a 0.5 ml/min y las que se utilizan con columnas preparativas en rangos mayores, dependiendo de la escala operativa.<sup>(7)</sup>

B. *Exactitud en el caudal*. La exactitud en la medición del caudal se refiere a la divergencia entre el caudal de trabajo establecido y el caudal real entregado.

Puede determinarse fácilmente midiendo el volumen de líquido entregado en un intervalo de tiempo preestablecido. La importancia de la exactitud en el caudal reside en la importancia que pueda darse a la exactitud en la determinación de los tiempos de retención de las sustancia a cuantificar, parámetro que no es importante en muchos casos.<sup>(7)</sup>

C. *Ruido*. El ruido se refiere a las variaciones denominadas pulsaciones que presentan las bombas del tipo recíprocante, y que conducen a variaciones en el caudal del solvente entregado en intervalos cortos de tiempo. Se origina en la detención ( en intervalos de tiempo muy breves) del caudal del líquido durante los movimientos habituales de la bomba. A pesar de que cierto nivel de ruido es habitual, deficiencias en el sistema de bombeo como válvulas tapadas, burbujas de aire ocluidas en los cabezales o sellos en mal estado intensifican notoriamente su valor. Estas inestabilidades pueden deberse a un mal funcionamiento de válvulas de retención, tanto a la entrada como a la salida de los cabezales de bombeo.<sup>(7)</sup>

D. *Deriva*. La deriva es un cambio continuo (positivo o negativo) en la entrega de solvente que se produce en intervalos de tiempo muy largos(horas). La deriva en el caudal conduce a diferencias en las áreas de los picos durante operaciones automáticas en períodos de tiempo muy largos (toda la noche). Para minimizar el efecto de la deriva sobre los resultados cuantitativos se suele efectuar una nueva calibración del instrumento con estándares apropiados luego de la inyección de cada serie de 5 ó 10 muestras.<sup>(7)</sup>

E. *Sistema de corte.* Este sistema de corte evita, en el primer caso, que excesos en la presión del sistema cromatográfico pueda dañar los componentes más sensibles como columnas y celda de los detectores. En el segundo caso permite detectar las posibles pérdidas de solvente o la incorporación de burbujas de aire al agotarse la fase móvil. Estos sistemas pueden tener una importancia vital si se utilizan equipos automáticos sin la ayuda de operador.<sup>(7)</sup>

- *Bombas reciprocantes.*

En la actualidad la mayor parte de los equipos cromatográficos utilizan bombas con pistones de tipo recíprocante. Existen varios tipos de bombas reciprocantes : de un solo pistón, de dos pistones, de tres pistones, bomba tándem, y bomba a pistón y diafragma.<sup>(7)</sup>

(En la Fig. 10 en anexos), se esquematiza un cabezal de bombeo de este tipo de bombas, y se pueden observar las distintas partes que lo conforman : pistón, válvulas de entrada y de salida.<sup>(7)</sup>

El pistón se conecta al motor del equipo por medio de engranajes , y en su movimiento hacia adelante impulsa el solvente despegando una esfera de rubí de su asiento de zafiro, y abriendo de esta forma la válvula de salida. La esfera es retenida por una malla de retención al tiempo que el solvente es impulsado hacia el sistema. Simultáneamente, la presión generada actúa sobre otra válvula, la de entrada, en la cual la esfera de rubí es forzada a ubicarse en el asiento de zafiro. Cuando el pistón retrocede por el mecanismo inverso se cierra la válvula de salida y se abre la de la entrada permitiendo que el solvente proveniente del reservorio llene la cámara del pistón.<sup>(7)</sup>

- *Bomba a diafragma.*

La bomba a diafragma es un tipo particular de bomba reciprocante. En lugar de pistón, contiene un diafragma que separa el mecanismo de la cámara de bombeo. El diafragma está constituido por un material flexible, en general acero inoxidable.<sup>(7)</sup>

El solvente llega a la cámara impulsado por una bomba de baja presión, a través de la válvula de entrada. Luego, un pistón bombea aceite que presiona sobre el diafragma, el que impulsa el solvente contenido en la cámara hacia la válvula de salida. Al reducirse la presión de la cámara por salida de la fase móvil, se reduce paralelamente la presión del aceite y se abre la válvula de entrada. En este punto, la bomba de baja presión llena nuevamente la cámara, iniciando otro ciclo.<sup>(7)</sup>

- *Bomba jeringa.*

La bomba jeringa es, a diferencia de las bombas reciprocantes, un dispositivo de desplazamiento continuo. Es decir, el solvente contenido en un cilindro es impulsado hacia el inyector por medio de un movimiento continuo y hacia adelante del pistón. El recorrido del pistón, y el volumen desplazado es, en los casos en que se aplica, suficiente para efectuar un número determinado de ensayos completos, sin necesidad de recargar su cámara. (*Ver Fig.11 en anexos*).<sup>(7)</sup>

La principal ventaja de estas bombas es la total ausencia de pulsos ya que la cámara no necesita ser recargada, mientras que la principal desventaja está

dada por el caudal y/o el tiempo necesario para recargar esa cámara cuando se vacía. Es evidente que este tipo de bomba no es compatible con los sistemas convencionales, con los caudales de 1 o más ml/min, pero es el sistema ideal para las modalidades microbore y capilar, en las cuales el rango de trabajo se limita a pocos  $\mu\text{L}/\text{min}$ .<sup>(7)</sup>

- *Sistemas de gradientes.*

El gradiente de solventes se gradúa por el intervalo de variación, es decir, por la velocidad de cambio del solvente “débil” al “fuerte”. En todos los casos el gradiente debe comenzar con el solvente débil, aumentando gradualmente la fuerza de la fase móvil que recibe la columna.<sup>(7)</sup>

Existen básicamente dos tipos de formadores de gradientes: los de baja presión y los de alta presión. Los *gradientes de baja presión* emplean, en general, sólo una bomba y válvulas solenoides que entregan cada solvente en una cámara de mezclado de pequeño volumen. (*Ver Fig. 12 en anexos*). La fase móvil “instantánea”, es decir, la que se crea en ese preciso instante en base al programa deseado, es entregada a la bomba. Este sistema permite mezclar 2 a 4 solventes individuales, regulando el ciclo de apertura de cada válvula individual. La ventaja principal de los sistemas de baja presión está dada por el costo (ya que sólo es necesaria una bomba impulsora) y por la precisión lograda en los extremos del gradiente, ya que todo el caudal es entregado por el mismo dispositivo. Este sistema requiere la desgasificación continua para cada solvente individual. Esto se debe a que la solubilidad de los

gases en los solventes individuales es en general diferente de su solubilidad en la mezcla deseada.<sup>(7)</sup>

Los *gradientes de alta presión* utilizan una bomba de alta presión para cada solvente individual( *ver Fig.13 en anexos*). Cada bomba es comandada por un programador, y el solvente entregado se mezcla a alta presión en una cámara de bajo volumen y dirigido hacia el sistema. El principal inconveniente de este sistema reside en el costo, ya que cada solvente necesita su bomba impulsora. Por otra parte, las bombas deben ser exactas y precisas para que el gradiente mantenga su calidad en toda su extensión, en especial a bajos caudales.<sup>(7)</sup>

- *Inyectores.*

El inyector es el dispositivo que permite introducir la muestra en solución sin interrumpir el caudal de solvente a través del sistema. El inyector debe reunir una serie de características importantes, entre ellas <sup>(7)</sup> :

- A. Debe ser fácil de operar.
- B. Debe ser inerte al ataque químico y capaz de soportar altas presiones.
- C. Debe ser preciso en cuanto a la cantidad de muestra introducida en el sistema.
- D. No debe provocar diluciones importantes de la solución inyectada.

Actualmente la totalidad de los inyectores de HPLC son válvulas que orientan el caudal hacia la columna, pasando o no según su posición, a través de un loop en el cual se introduce la solución a inyectar ( *Ver Fig. 14 en anexos*). Las válvulas pueden accionarse manual o automáticamente.<sup>(7)</sup>

Están constituidas por un cuerpo fijo, un rotor con un sello que gira y un loop de muestra externo que contiene la muestra. El loop es intercambiable, de modo que la cantidad de muestra inyectada puede escogerse entre una serie de medidas estándar (en los inyectores convencionales, entre 5 y 2000  $\mu\text{L}$ )<sup>(7)</sup>

(La Fig. 14 en anexos), muestra las diferentes posiciones de una válvula de 6 vías. Para llenar el loop se gira el rotor hacia la posición de carga, obligando a la fase móvil a pasar directamente a la columna. En este paso, la vía de inyección queda abierta y a presión atmosférica. Se llena el loop en forma completa o parcial por medio de una jeringa y se vuelve a girar la válvula, obligando a la fase móvil a llegar a la columna a través del loop que contiene la solución muestra, a la que arrastra hacia la columna.<sup>(7)</sup>

- *Inyectores automáticos.*

Las válvulas de inyección de 6 vías, pueden accionarse eléctrica o neumáticamente y se utilizan en la construcción de inyectores automáticos. La precisión obtenida con estos inyectores es en general superior a la de métodos manuales, porque no dependen de la habilidad del operador. Los inyectores automáticos deben contener, además de la válvula de inyección y del mecanismo que permite su llenado, un dispositivo para colocar las muestras a inyectar, en general un carrusel que aloja viales donde se coloca las muestras. Las válvulas se accionan con motores eléctricos o por medio de neumáticos ya sea empleando aire comprimido, nitrógeno o helio. <sup>(7)</sup>

- *Válvulas de Intercambio.*

Las válvulas de intercambio se emplean para agilizar o automatizar operaciones: preparación de las muestras, cambio de columnas, enriquecimiento de trazas, Cromatografía de reciclo y operación de contracorriente. Es posible utilizar válvulas de 6 o más vías similares a las descritas para la inyección de las muestras u otras de diseño especial.

- *Detectores.*

El detector es la parte del equipo cromatográfico que permite “ver” y ubicar en tiempo y espacio la posición de cada componente de una muestra a la salida de la columna cromatográfica.<sup>(7)</sup>

Los detectores deben reunir ciertas características ampliamente tratadas en la literatura, entre ellas:

A. *Tener un amplio rango dinámico de respuesta.* El rango dinámico para un detector de Cromatografía Líquida está definido como “el rango de concentraciones de una sustancia en análisis en la que un cambio en la concentración produce un cambio en la señal”.<sup>(7)</sup>

B. *Poseer una respuesta lineal.* Se denomina *rango lineal* de un detector al rango de concentraciones que produce una respuesta lineal, este rango está incluido en el rango dinámico.<sup>(7)</sup>

C. *No contribuir al ensanchamiento de banda extracolumnar.* Para evitarlo, la celda del detector deberá tener un volumen tan pequeño como sea posible sin que ello perjudique la sensibilidad de la detección.<sup>(7)</sup>

D. *Responder a todos los solutos.*

E. *Tener la sensibilidad apropiada.* Es decir que detectores que responden a todos los analitos en general poseen sensibilidades menores, y en contrapartida, detectores que poseen una alta sensibilidad no responden a todos los solutos.<sup>(7)</sup>

F. *No afectarse por cambios de temperatura.*

G. *Poseer una buena relación señal/ruido.* El ruido puede clasificarse en :

1) *Ruido de término corto o de alta frecuencia* : este tipo de ruido puede eliminarse por agregado de un filtro adecuado.<sup>(7)</sup>

2) *Ruido de término largo o de baja frecuencia* : este tipo de ruido suele confundirse con el pico de analito y no puede eliminarse con el uso de filtros.<sup>(7)</sup>

H. *No destruir la muestra.* Esta propiedad es una característica de casi todos los detectores de HPLC, y resulta muy importante cuando se desea recolectar al analito aislado, por ejemplo en Cromatografía preparativa.<sup>(7)</sup>

I. *Tener una constante de tiempo baja.* La constante de tiempo de un detector indica la velocidad con que éste responde a un cambio instantáneo de la concentración del analito. Los valores habituales de la constante de tiempo de un detector cromatográfico son 0.5 , 1.0 , 5.0 y pueden escogerse por medio de filtros de ruido electrónicos. Estos valores indican que a menor valor de constante de tiempo la filtración de los ruidos será menor, y la respuesta será más rápida.<sup>(7)</sup>

Los detectores pueden clasificarse en *generales* y *selectivos*. Los *detectores generales* miden el cambio de alguna propiedad física de la fase móvil que contiene el analito en comparación con la misma fase móvil pura. Ejemplos típicos son el detector de índice de refracción y el de conductividad. Los *detectores selectivos* son aquellos sensibles a alguna propiedad propia del soluto, por ejemplo el detector UV, que producirá una señal proporcional a la absorbancia del soluto a una longitud de onda dada.<sup>(7)</sup>

- *Detectores generales.*

- A. Detector de Índice de Refracción.*

Este detector mide la diferencia de índice de refracción entre el solvente puro y el solvente que contiene la muestra. Es un detector universal (ya que es altamente improbable que el índice de refracción del soluto sea similar al del solvente) y no destructivo. Como contrapartida es muy poco sensible, lo cual limita su campo de aplicación y es muy afectado por cambios de temperatura. No puede utilizarse con programación de solventes porque el cambio de la composición de la fase móvil se acompaña del cambio de su índice de refracción . Como consecuencia, no puede estabilizarse la línea de base. Existen tres tipos diferentes de detectores de Índice de Refracción : Fresnel, Deflexión, Interferométrico.<sup>(7)</sup>

- B. Fresnel*

Es un detector diferencial que utiliza dos celdas, una de medición que es atravesada por el eluído de la columna, y una celda de referencia por la cual fluye la fase móvil pura. Opera según la ley de Fresnel, que establece que “la

cantidad de luz reflejada en una interfase líquido/vidrio varía con el ángulo de incidencia y con el índice de refracción del líquido”. Posee una celda de medición pequeña, del orden de los 3  $\mu\text{L}$  que está constituida por un prisma, una base de acero pulido y un sello de teflón entre ambos. Para cubrir todo el rango de Índice de refracción( $n = 1.33$  a  $1.63$ ) se utilizan dos prismas, el primero se utiliza con solventes de fase reversa y el segundo con solventes de fase normal. Para evitar el calentamiento de la celda por la radiación entre ésta y la lámpara se coloca un filtro infrarrojo.<sup>(7)</sup>

#### *C. Deflexión.*

Es un detector diferencial que, a diferencia del Fresnel, sólo usa un prisma para todo el rango de índices de refracción, pero empleando celdas de mayor tamaño, del orden de los 8 a 10  $\mu\text{L}$ . (La Fig.15 en anexos) muestra un diseño típico de estos detectores. Una celda contiene la fase móvil pura, y a través de otra celda fluye el eluido de la columna(muestra).<sup>(7)</sup>

#### *D. Interferométrico.*

La luz emitida por la fuente luminosa se polariza y divide en dos haces por un divisor de onda. Luego se focalizan ambas ondas y atraviesan la celda de referencia y la de medida. Finalmente se recombinan por una segunda lente y por un divisor de onda para llegar al fotomultiplicador. Cuando se produce una diferencia entre los índices de refracción de ambas celdas tiene lugar un cambio de fase entre ambas ondas y esto origina una diferencia en la intensidad de luz que llega al fotomultiplicador.<sup>(7)</sup>

*-Detectores selectivos.*

*A. Detector UV.*

Es el detector más empleado en HPLC. Posee buena sensibilidad y rango lineal, y permite detectar analitos en el orden de los nanogramos. No es destructivo y puede emplearse con gradientes de solventes, con la única limitación de que éstos sean transparentes en la longitud de onda de trabajo. En general permiten cambiar el volumen de su celda, típicamente con volúmenes de 1 a 12  $\mu\text{L}$ . Es un detector muy poco sensible a los cambios de caudal y de temperatura. El detector UV opera en el rango 190 a 350 nm, y en algunos equipos se puede extender a la zona del visible del espectro (350 a 700 nm) recibiendo así el nombre de detector UV/ Visible. La concentración del analito en la muestra se determina por aplicación de la ley de Beer :  $A=a.b.C$ , en donde A es la absorbancia, a es la absortividad molar del analito, b es el camino óptico de la celda medido en cm y C es la concentración de analito en la muestra expresada en moles/L.<sup>(7)</sup>

Existen dos tipos de detectores UV : los de longitud de onda fija y los de longitud de onda variable.<sup>(7)</sup>

*B. Detector de onda fija o fotométrico*

Este detector opera a longitudes de onda prefijadas, determinadas por líneas de emisión de su lámpara, habitualmente de mercurio de baja presión. Como longitudes de onda de trabajo se utilizan las bandas de emisión de la lámpara

de mercurio, especialmente la fuerte línea de 254 nm. El verdadero monocromador del instrumento es la propia emisión de la lámpara pero, para eliminar líneas de otras longitudes de onda lejanas a la línea de trabajo se utilizan filtros de referencia( *Ver Fig. 16 en anexos*). Además de la longitud de onda de 254 nm, suelen emplearse filtros que permiten trabajar 313, 334, 335 nm.(7)

El empleo de filtros de óxidos de fósforo permite trabajar incluso a 280 nm. La lámpara de mercurio emiten a esa longitud de onda.(7)

El cambio de lámpara permite incluso trabajar a otras longitudes de onda, por ejemplo a 214 nm con una lámpara de Zn, a 229 nm con una lámpara de Cd.

### *C. Detector de onda variable o espectrofotométrico .*

este detector es simplemente un espectrofotómetro, en el cual se reemplaza el compartimiento de cubetas por una celda de flujo.(7)

Es mucho más versátil que el detector de longitud de onda fija ya que al tener red de difracción permite seleccionar libremente la longitud de onda de trabajo.

Podremos escoger así la longitud de onda máxima absorción del analito para aumentar la sensibilidad de medición. Emplea ( *ver Fig.17 en anexos*) una lámpara de emisión continua, de Deuterio o de xenón. La luz emitida por la lámpara se enfoca en un monocromador, habitualmente una red halográfica de difracción, y la luz monocromática escogida se dirige hacia la celda de medida y de allí hacia el fotomultiplicador.(7)

#### D. *Detector de Fluorescencia.*

El detector de fluorescencia se utiliza para el análisis de sustancias que presentan fluorescencia “natural” o conferida por derivatización con un reactivo fluorogénico. Su alta sensibilidad y selectividad lo convierte en un detector adecuado para el análisis de trazas. La selectividad se debe a dos factores (7):

1. Existen pocas sustancias de fluorescencia nativa y las reacciones de derivatización implican la presencia de un grupo funcional derivatizable en la molécula de analito.(7)

2. Se utilizan dos longitudes de onda, una de excitación y otra de emisión. Al excitar la muestra a una dada longitud de onda varios componentes de la muestra podrían absorber energía, pero pocos emitirán además a la longitud de onda elegida.(7)

(La Fig.18 en anexos) muestra un detector espectrofluorométrico típico. La luz emitida por la lámpara de xenón se dirige al monocromador de excitación G1 por medio de un espejo cóncavo M1, a través de la ranura de entrada S1.

El haz monocromado sale por la ranura S2, se focaliza en un espejo esférico M2 e incide en un separador de onda (BS). De aquí la casi totalidad del haz luminoso entra en la celda de medida y un 7 % incide en un fotomultiplicador PM1 para el control de la intensidad. La emisión del haz luminoso que sale de la celda pasa al monocromador de emisión, formado por la ranura de salida S3 y un espejo plano S3 , una red de difracción cóncava G2 y una ranura de salida S4 siendo detectado por el fotomultiplicador PM2 que va generar la señal de

salida. La lámpara de xenón es la fuente de emisión más ampliamente difundida por producir un espectro continuo en el rango 260 a 660 nm y de muy alta intensidad.<sup>(7)</sup>

#### E. *Detector electroquímico.*

Es un detector muy sensible, unas 1000 veces más sensible que el detector UV, y altamente selectivo. La selectividad se debe, no sólo a que detecta compuestos capaces de ser oxidados y reducidos, sino que puede reducirse el número de esos compuestos detectados por una cuidadosa elección del potencial aplicado.<sup>(7)</sup>

La detección de compuestos electrooxidables o electroreducibles ocurre en la superficie de un electrodo interpuesto en el paso del eluido de la columna. Este detector emplea tres electrodos: el electrodo de trabajo, el de referencia y el auxiliar ( Ver Fig.19 en anexos). La reacción redox es inducida en el electrodo de trabajo, mientras el electrodo auxiliar provee la carga de neutralización complementaria. Entre estos electrodos se fija el voltaje apropiado para la detección. El electrodo de referencia, por su parte, produce un potencial fijo y estable contra el cual se mide el potencial del electrodo de trabajo, y un potencióstato provee una diferencia de potencial estable entre el electrodo de trabajo y el auxiliar, el que se modifica por feedback desde el electrodo de referencia. Un amplificador de corriente de nanoamperes produce una señal de salida, proveniente del flujo de corriente entre los electrodos auxiliar y de referencia, causada por la transferencia de electrones del proceso de oxidoreducción.<sup>(7)</sup>

Su principal limitación está dada por el tipo de fase móvil a emplear, que necesariamente debe de ser conductiva, limitando su campo de aplicación a la Cromatografía de fase reversa e intercambio iónico. Por otra parte, es evidente su naturaleza destructiva respecto al analito.<sup>(7)</sup>

Para la construcción de electrodos se emplean entre otros elementos pasta de carbón, carbón cristalino, platino, oro y mercurio. El material más popular es el carbón. El electrodo de pasta de carbón tiene bajo costo y pequeña corriente de deriva pero no se puede emplear con fases móviles que tengan más de un 20 - 30 % de modificador orgánico. El electrodo de carbón cristal es compatible con los solventes orgánicos. Como fases móviles se emplean buffers (ya que deben ser conductoras), en general de fosfatos, de concentración total no mayor de 0.02 M para permitir el empleo de modificadores orgánicos (metanol, acetonitrilo, THF). También pueden emplearse tricloroacetato, perclorato, etc.<sup>(7)</sup>

- *Sistema de toma y procesamiento de datos.*

El resultado del ensayo cromatográfico es, por un lado, la obtención de fracciones separadas de los componentes de la muestra, y por el otro, la de un gráfico o cromatograma, de cuya interpretación pueden extraerse conclusiones cualitativas y cuantitativas. Este registro y la eventual manipulación se obtienen a partir de la señal proveniente del detector por medio de un sistema de toma y procesamiento de datos, entre los que podemos citar <sup>(7)</sup> :

- A. *Registrador gráfico*, que convierte la señal en un gráfico del tipo X-Y.<sup>(7)</sup>
- B. *Integrador*, que permite no sólo obtener un registro gráfico ( cromatograma) sino también su tratamiento matemático para el cálculo de concentraciones.<sup>(7)</sup>
- C. *Computadora*. Básicamente, el integrador es una computadora de uso muy específico. En este punto nos referimos a una computadora de tipo “ personal”, que permite con el software apropiado tanto el registro gráfico del cromatograma como los cálculos apropiados, la manipulación de datos, el almacenamiento de ensayos, generación de reportes, e incluso el manejo global de varios cromatogramas.<sup>(7)</sup>

### 3.8.3. *Propiedades de los solventes.*

Se debe tener en cuenta que no todos los solventes son adecuados para trabajar en HPLC, ya que la condición de estado líquido no es suficiente por sí misma para que una sustancia se pueda empleara como fase móvil. Un solvente apropiado para HPLC debe cumplir con algunos requisitos, entre los cuales podemos destacar los siguientes<sup>(7)</sup> :

- A. Alto poder solubilizante
- B. Baja reactividad
- C. Compatibilidad con el detector utilizado
- D. Adecuado punto de ebullición
- E. Baja viscosidad
- F. Seguridad
- G. Alto grado de pureza.

#### *A. Poder solubilizante de las muestras.*

Es evidente que en Cromatografía líquida, la muestra a inyectar debe estar completamente disuelta. Es conveniente que el solvente de disolución de la muestra sea la misma fase móvil. Si esto no es posible, y de hecho muchas veces no lo es, debe tenerse en cuenta tanto la miscibilidad entre el solvente de disolución y la fase móvil, como la posible precipitación de componentes de la muestra al estar en contacto con la fase móvil. Es así que, cuando se trabajan con muestras de origen biológico, se debe, en primera instancia, eliminar las proteínas, pues precipitan en contacto con los solventes orgánicos presentes en la fase móvil, pudiendo bloquear el inyector del equipo de HPLC o dañar irreversiblemente las columna.<sup>(7)</sup>

Otro inconveniente derivado del empleo de un solvente de muestra diferente de la fase móvil está dado por la aparición de picos extraños al cromatograma verdadero, debidos a la señal del mismo solvente, o bien a la elución de impurezas retenidas en la columna.<sup>(7)</sup>

#### *B. Reactividad.*

Los solventes con un elevado grado de reactividad no se utilizan en HPLC, ya que pueden reaccionar con la muestra, la fase estacionaria, o los componentes del equipo cromatográfico. Así por ejemplo no se utilizan olefinas, nitrocompuestos, aldehídos ni cetonas.<sup>(7)</sup>

Los solventes con grupos cetónicos deben evitarse particularmente con columnas de fase ligada a grupos amino, dado que el producto de reacción, una base de Schiff, es estable y la degradación ocasionada es irreversible.<sup>(7)</sup>

### *C. Compatibilidad con el detector utilizado.*

Teniendo en cuenta que el detector de HPLC más difundido es el espectrofotométrico, es habitual elegir un solvente “transparente” a la longitud de onda de trabajo. Esta transparencia puede evaluarse por la longitud de onda de corte  $\lambda_c$ , es decir, la longitud de onda a la cual la absorbancia del solvente, en una cubeta de 10 mm de paso óptico, es igual a 1 unidad de absorbancia empleando aire con referencia (*ver tabla 4.en anexos*).

Por ejemplo, si un solvente tiene su longitud de corte a 254 nm, no puede utilizarse a 230 nm pero sí a 280 nm. Solventes como el tolueno ( $\lambda_c$  : 285 nm) y acetona ( $\lambda_c$  :330 nm) prácticamente no se emplean, ya que la señal de fondo que producen en un detector convencional es tan alta que impide, no sólo la medición de los compuestos eluídos, sino incluso el ajuste de cero del instrumento. Como contrapartida el metanol y el acetonitrilo son los solventes mas empleados en HPLC.<sup>(7)</sup>

### *D. Punto de ebullición.*

En general, se prefieren los solventes con punto de ebullición intermedio. Si el solvente tiene bajo punto de ebullición, su volatilidad es alta y la composición de la fase móvil puede variar durante la jornada de trabajo.<sup>(7)</sup>

### *E. Viscosidad.*

Con los solventes viscosos, la eficiencia de la separación es menor debido a que con el coeficiente de difusión de la muestra se reduce, y se dificulta la transferencia de masa del soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria.<sup>(7)</sup>

El aumento de la viscosidad reduce la permeabilidad de la columna, y al mismo caudal la presión será mayor que la producida por un solvente de baja viscosidad.<sup>(7)</sup>

#### *F. Seguridad*

se recomienda no utilizar solventes de alto grado de toxicidad (*ver Tabla 5 en anexos*) ,como el sulfuro de carbono, benceno, etc. y tomar precauciones durante la manipulación de los otros solventes.<sup>(7)</sup>

#### *G. Pureza.*

La presencia de impurezas puede, por un lado, inducir modificaciones de la selectividad de la fase móvil, y por otro contribuir a una señal de base importante en el detector( absorbanancia, reacciones de óxido-reducción, etc.)<sup>(7)</sup>

La utilización de solventes de menor calidad sin posterior purificación puede parecer económicamente tentadora, pero los posibles problemas asociados resultan en general en mayores costos.<sup>(7)</sup>

#### *3.8.4. Solventes y aditivos de la fase reversa.*

Las fases móviles de fase reversa están constituidas por mezclas de solventes polares, en general agua, y un modificador orgánico ( metanol, acetonitrilo, tetrahidrofurano), con o sin el agregado de aditivos ( sales inorgánicas o reactivos de apareamiento iónico). Dioxano y tetrahidrofurano se mezclan tanto con el agua como con solventes no polares (cloroformo, hexano), y pueden considerarse tanto solventes de fase normal como de fase reversa.<sup>(7)</sup>

### *-Agua.*

El agua es, indudablemente, el solvente más utilizado en HPLC. Puede adquirirse comercialmente agua de calidad cromatográfica, o bien puede ser purificada por el mismo usuario, de hecho, un buen número de cromatografistas así lo hacen.<sup>(7)</sup>

El agua destilada y desionizada que, a los fines prácticos, es útil para muchas de las aplicaciones de laboratorio, puede encontrar serias limitaciones en HPLC. La razón de ello reside en la presencia de sustancias orgánicas que no se eliminan por el tratamiento aplicado. Las columnas de fase reversa, muy hidrofóbicas, tienen afinidad por compuestos de baja polaridad. Como consecuencia, la operación con sistemas isocráticos con fases móviles muy polares, conduce a su retención en la fase estacionaria. En este caso las impurezas pueden actuar como verdaderos “recubrimientos líquidos” de la columna, modificando su selectividad. Si en ese momento la fase móvil se cambia por otra de menor polaridad, o si la muestra se inyecta con un solvente menos polar (por ejemplo, disuelta en metanol puro), las impurezas orgánicas eluyen como picos espurios.<sup>(7)</sup>

### *-Metanol.*

El metanol es el modificador orgánico más utilizado en fase reversa, en mezclas con agua o buffers. Por su mayor disolvente de sales y reactivos de apareamiento iónico, se lo prefiere frente al acetonitrilo o cuando es necesario utilizar altas concentraciones salinas. Es poco tóxico y fácil de purificar

industrialmente, siendo el solvente orgánico de grado HPLC más barato. Sus principales desventajas con respecto al acetonitrilo reside en que genera presiones algo mayores y tiene mayor afinidad por el oxígeno.<sup>(7)</sup>

*-Acetonitrilo.*

El acetonitrilo tiene, por sus propiedades químicas, una selectividad muy diferente a la del metanol, y constituye, en general, la primer alternativa ensayada cuando se busca cambiar la misma. El solvente de calidad HPLC se comercializa puro, es decir, sin conservadores. Se debe almacenar al abrigo de la luz y bien cerrado porque es muy higroscópico. Su baja longitud de onda de corte (190 nm) lo convierte en el solvente de elección cuando se debe de trabajar a longitudes de onda corta.<sup>(7)</sup>

*-Tetahidrofurano.*

El tetrahidrofurano (THF), es un solvente que tiende a formar rápidamente peróxidos, por lo cual se lo suele comercializar con antioxidantes. Los antióxidantes más utilizados son el butilhidroxitolueno (BHT) y la hidroquinona. Estos compuestos tienen una elevada absorción UV por lo cual el THF estabilizado no debe utilizarse con el detector UV. Puede utilizarse con el detector de índice de refracción, teniendo en cuenta la posible modificación de la selectividad inducida por la presencia del conservador. Sin embargo la presentación habitual del THF grado HPLC no contiene estabilizantes.<sup>(7)</sup>

### *3.8.5. Solventes de fase normal.*

En Cromatografía de fase normal, donde se emplean solventes no polares, el problema más frecuente es la desactivación de la columna de sílice o alúmina por adsorción de agua. El agua es adsorbida es responsable de los mecanismos mixtos de retención (partición y adsorción) y produce cambios profundos en la retención y selectividad. Los solventes no polares que se utilizan en fase normal suelen tener trazas de agua. Si bien debido a la baja solubilidad, estas cantidades son muy pequeñas, el agua resulta muy afín a la columna y comienza a concentrarse en la superficie del material de relleno durante el transcurso del trabajo.<sup>(7)</sup>

#### *-Éteres.*

Los éteres etílico, propílico e isopropílico tienen una alta presión de vapor, y son altamente inflamables. Por otra parte, son susceptibles de formar peróxidos, especialmente cuando son anhídros. Su empleo está por ello muy limitado en HPLC, aunque la selectividad que aportan impide sean descartados como solventes de elución. Una alternativa menos riesgosa consiste en emplear metil-terbutil éter.<sup>(7)</sup>

#### *-Hidrocarburos halogenados :*

Por lo general todos los compuestos halogenados pueden contener trazas de ácido clorhídrico o bromhídrico, muy reactivos frente al acero inoxidable. Estos contaminantes pueden eliminarse por pasaje a través de una columna de alúmina.<sup>(7)</sup>

*-Hidrocarburos alifáticos.*

Los hidrocarburos alifáticos son solventes muy transparentes a bajas longitudes de onda y poco viscosos. Debido a estas propiedades son especialmente adecuados para trabajar en HPLC. Desafortunadamente suelen contener trazas de olefinas o benceno los que dificultan su empleo por debajo de los 260 nm. La eliminación de olefinas puede efectuarse por pasaje a través de una columna de sílice impregnada con 10% de nitrato de plata. Con una columna de 120 x 5 cm pueden eluirse por gravedad fracciones de 250 ml, controlando al UV la pureza del solvente obtenido.<sup>(7)</sup>

*3.8.6. Preparación de las fases móviles.*

Naturalmente, el trabajar con solventes de alto grado de pureza, implica también el empleo de materiales volumétricos muy limpios. Un factor a tener en cuenta es la posible contracción del volumen , que se produce al mezclar solventes muy polares. El caso de la mezcla de metanol y agua es clásico : si se mezclan 50 ml de cada uno de ellos, se obtienen un volumen final aproximadamente 98 ml. Por esta razón, si se debe preparar una mezcla de por ejemplo 50 :50 Metanol : Agua no es correcto medir en probeta los 50 ml de agua y llevar a volumen con metanol, ya que la relación inicialmente prevista será distinta a la obtenida.<sup>(7)</sup>

La fase móvil luego de preparada, debe ser filtrada y desgasificada.

### *-Filtración.*

La filtración de las fases móviles se puede considerar como parte de un tratamiento preventivo para cuidar el adecuado funcionamiento del equipo de HPLC.<sup>(7)</sup>

Las partículas presentes en la fase móvil pueden bloquear los filtros y tuberías del instrumento, acelerar el desgaste de sellos y rotores del inyector, afectar el normal movimiento de las válvulas de entrada y salida de las bombas, etc. por otra parte, como el tamaño de las partículas que rellenan las columnas es muy pequeño, en general entre 3 y 10  $\mu\text{m}$ , constituyen un filtro perfecto para la retención de todo material en suspensión que se introduzca con los fluidos, ya sea fase móvil o muestra en solución.<sup>(7)</sup>

Las soluciones a inyectar también deben filtrarse, idealmente a través de membranas semejantes a las empleadas para la fase móvil.<sup>(7)</sup>

(La Fig.20 en anexos) esquema de un equipo de filtración. El vaso superior está separado por una membrana filtrante de 0.22, 0.45 ó 0.50  $\mu\text{m}$  de porosidad y recibe el solvente a filtrar, que se recoge en el kitasato.<sup>(7)</sup>

### *-Desgasificación.*

Además de la filtración, la fase móvil debe desgasificarse. Los gases disueltos en la fase móvil pueden producir varios inconvenientes, entre ellos<sup>(7)</sup> :

A. *Liberación de burbujas en el cabezal de la bomba.* En este caso, el caudal es irregular, y se producen variaciones en la línea de base y en los tiempos de retención. Si la cantidad de aire es importante, la bomba comenzará a trabajar en vacío, pudiéndose dañar tanto los sellos como los pistones.<sup>(7)</sup>

B. *Liberación o formación de burbujas en la celda del detector*, por descompresión de la fase móvil. En este caso, se producen oscilaciones en la línea de base y aparición de picos espurios. Para evitar este problema, a menudo se colocan restrictores a la salida de detector. Estos restrictores evitan la caída de presión e impiden la aparición de burbujas.(7)

*-Métodos de desgasificación .*

a. *La temperatura* puede favorecer o no a la disolución del gas en el líquido. Si el proceso de disolución es exótermico, el incremento de la temperatura disminuye la solubilidad, mientras que si es endotérmico, el incremento de la temperatura aumenta la solubilidad.(7)

b. *Reflujo*. Consiste en el calentamiento o la ebullición a reflujo de la fase móvil con la ayuda de agitación durante unos 15 minutos. Por este procedimiento se eliminan prácticamente todos los gases disueltos.(7)

c. *Burbujeo de un gas inerte*. Este se puede realizar en forma continua o por cortos períodos de tiempo. Se realiza a través de una pieza de acero inoxidable sintetizado con diámetro de poro de 2 a 10  $\mu\text{m}$ , y un caudal de unos 80 - 100 ml/min. De esta forma, se logra un efectivo desplazamiento de los gases. Alcanzando el equilibrio, se reduce el caudal para impedir el reingreso de gases atmosféricos.(7)

d. *Ultrasonido*. El ultrasonido es una onda electromagnética, producida por la propagación de un choque mecánico generado por un cristal piezoeléctrico. En

los baños ultrasónicos de uso en laboratorio se emplean equipos en el rango entre 20 y 50 KHz. La onda generada se propaga a más de 20000 ciclos por segundo y viaja a través del líquido como ondas alternas de compresión-descompresión, dando lugar a la formación e implosión de microburbujas, fenómeno que se conoce como “cavitación”.(7)

e. *Vacío*. Es el método más frecuente empleado. En general se aplica junto al proceso de filtración.(7)

#### IV. DISEÑO METODOLOGICO

#### 4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

Según las referencias antes mencionadas, nos damos cuenta que hoy en día los dólares se observan con más frecuencia en el mercado salvadoreño ; los cuales presentan características que pueden pasar inadvertidas a simple vista. Por lo cual ya no basta con el método de identificación físico, por lo que se requiere establecer métodos para su identificación. Por lo tanto, en ésta investigación se empleo el método físico químico para su identificación.

Tipo de estudio :

Experimental : Porque se tomaron muestras de billetes verdaderos , falsos y falsos de una manera dirigida, para identificar sus tintas.

Retrospectivo : Porque tomamos billetes que han estado en circulación, verdaderos y falsos que el área de Documentoscopia tenga en decomiso.

Prospectivo : Porque se presento una propuesta de comparación e identificación de tintas para el futuro.

Investigación de campo : porque se recolectaron tintas offset de diferentes imprentas de san salvador

Investigación Bibliográfica :

Se desarrollo a través del uso de libros de bibliotecas de las instituciones siguientes :

- Universidad de El Salvador, UES : Facultad de Química y farmacia, Facultad de Ingeniería y Arquitectura (Ingeniería Química).
- Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas”, UCA.
- Universidad Nueva San Salvador, “ UNSSA”.
- Libros , revistas y folletos de uso exclusivo del área de Físico Química de la División de Policía técnica y Científica de La PNC e Internet.

#### Investigación de Campo :

Las muestras tuvieron su procedencia de los siguientes lugares :

- Dólares verdaderos y falsos que el área de Documentoscopia tuvo en investigación.
- Tintas más comunes utilizadas en imprentas del gran San Salvador.

#### Investigación experimental.

- Se desarrollarán los siguientes procedimientos :
- Elección de las muestras y registro de los billetes a analizar.
- Elección de solventes y solubilización de tintas de dólares verdaderos, dólares falsos y tintas de impresión.
- Análisis de tintas por cromatografía de capa fina a las diferentes muestras.
- Mediciones de los  $R_f$  y registro de colores obtenidos en los análisis.
- Análisis de tintas de dólares verdaderos y dólares falsos por HPLC.

Universo y muestra :

El universo de estudio corresponde a los dólares, verdaderos y falsos, de estados Unidos de América, del período de 2001 a 2004, que circularon en el territorio salvadoreño y tintas para impresión offset comercializadas en San Salvador.

La muestra se tomó : 1. De los dólares verdaderos provenientes de los diferentes bancos de San Salvador. 2. De los decomisos de dólares verdaderos y falsos que la Policía Nacional Civil ha decomisó y que el área de documentoscopia tuvo en su poder. 3. De las tintas para impresión offset comúnmente utilizadas en san Salvador.

#### METODO DE CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA.

1° Se seleccionan los billetes verdaderos, los billetes falsos y las tintas de impresión offset a ser analizadas, posteriormente son rotulados.

2° Se selecciona el área del billete ( aproximadamente 0.15 gr de muestra de billete) analizar, se corta en tiras de 2mm por 5mm y se colocan en un Beaker con capacidad de 100ml. Para el caso de las tintas se coloca una gota de tinta en un tubo de ensayo con rosca y se solubiliza con 105 ml de mezcla de Etanol-Acetato de Etilo (1:1).

3° Una vez colocada la muestra de billete en el Beaker, se adicionan 5 ml de una mezcla de solvente de Etanol Absoluto-Acetato de Etilo (1:1) y se deja evaporar hasta aproximadamente 0.5 ml. Posteriormente se restituye con 0.5 ml

más de solvente, dejándolo reposar por 10 minutos y se guarda en un tubo con rosca rotulado.

4° Se observan los colores producidos por la extracción de tintas y se registran.

5° Usando micropipetas de 5 $\mu$ L se inyectan, en una placa de vidrio con Sílica Gel de 15 cm por 15 cm a 1.5 centímetros del borde inferior de la placa aproximadamente 25  $\mu$ L de muestra o hasta que se observe una coloración fuerte en la placa. Dejar secar entre aplicación y aplicación. ( Puede facilitar el secado con aire caliente pero siempre evitando la exposición al calor extremo)

6° Después que toda la placa esté seca, ésta se coloca en un tanque cromatográfico, el cual ha sido previamente saturado por una hora con una fase móvil compuesta por : 1- Butanol/ Etanol Absoluto/ Acetato de Etilo/ Agua/ Acido Acético. (60: 10: 10: 10: 0.5).

7° Cuando la fase móvil haya llegado a 3 cm del borde superior de la placa, ésta se retira del tanque y se deja secar completamente.

8° Una vez seca la placa se anotan los colores que han sido separados de las diferentes muestras de tintas y se registran los respectivos R<sub>f</sub> de cada muestra.

9° Se comparan los resultados de las tintas de los dólares verdaderos y falsos.

## MARCHA ANALÍTICA DEL METODO DE CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA.

Seleccionar los billetes verdaderos, los falsos y las tintas de impresión offset.



Seleccionar el área del billete a analizar. (letras, números, figuras, Etc...

Aproximadamente 0.15 gramos de papel y tinta)



Cortar el área en unidades de 2mm de ancho por 5 mm de largo y colocarlo en un Beaker con capacidad de 10 ml. Las tintas de impresión se solubiliza 1 gota en 1.5 ml de mezcla de Etanol- Acetato de Etilo (1:1) y se colocan en un tubo de ensayo con rosca.



A las muestras de billetes se les adiciona 5 ml de una mezcla se de Etanol Absoluto- Acetato de Etilo (1:1)



Evaporar en Baño María hasta aproximadamente 0.5 ml



Restituir en ambos casos con 0.5 ml de Etanol Absoluto- Acetato de Etilo (1:1)



Dejar reposar por 10 minutos , guardar en tubo con rosca y rotularlos.



Continuación...

Observar los colores producidos por la extracción de tintas y registrarlos.  
Inyectar 5  $\mu\text{L}$  de muestra por 5 veces (25  $\mu\text{L}$  en total) y dejar secar entre aplicación y aplicación, en una placa de vidrio con Sílica Gel de 15 cm por 15 cm a una distancia de 1.5 cm del borde inferior de la placa hasta que se observe una coloración fuerte.



Colocar la placa en una tanque cromatográfico, previamente saturado durante 1 hora con la fase móvil: 1- Butanol/ Etanol Absoluto/ Acetato de Etilo/ Agua/ Acido Acético. (60: 10: 10: 10: 0.5).



Retirar la placa de el tanque cromatográfico cuando la fase móvil haya llegado hasta aproximadamente 3 cm antes del borde superior de esta , marcar el frente del solvente y dejar secar completamente la placa.



Anotar los colores que han sido separados de las diferentes muestras de tintas, registrar las distancias recorridas del estándar y la muestra y determinar los respectivos  $R_f$  de cada muestra, usando cámara de Luz Ultravioleta y Luz Visible



Comparar los resultados entra las tintas de dólares verdaderos y falsos.

## METODO DE ANALISIS DE TINTAS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION.

1. Se seleccionan los billetes verdaderos, los billetes falsos y las tintas de impresión offset a ser analizadas, posteriormente son rotulados.
2. Se selecciona el área del billete ( aproximadamente 0.15 gr. De muestra de billete) a analizar, se cota en tiras de 2mm por 5mm y se colocan en un Beaker con capacidad de 100 ml. Para el caso de las tintas se coloca una gota de tinta en un tubo de ensato con rosca y se solubiliza con 5 ml de la mezcla de Metanol grado reactivo y se deja reposar por 30 minutos. Luego se calienta en hot plate a temperatura media hasta que empieza a observarse coloración y recucir a aproximadamente 2 ml.
3. Se transfiere la solución coloreada del Beaker a un tubo de ensayo con rosca y se centrifuga por 10 minutos.
4. Luego la solución centrifugada se transfiere a un vial con tapadera y fondo plano de 1 ml de capacidad .
5. Con una jeringa de 3-5 ml de capacidad se extrae la solución coloreada del vial y luego se le adapta el dispositivo de metal del Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución a la jeringa y se transfiere la nueva solución filtrada a otro vial limpio y seco.
6. Teniendo las muestras ya filtradas, éstas se inyectan, 20 $\mu$ L, al Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución, el cual ha sido previamente estabilizado, y se deja correr por 30 minutos en una fase móvil de Metanol : Agua 50:50 a un flujo de bomba de 1ml/min

Nota: si no se desean destruir los billetes verdaderos, puede tomar un hisopo impregnado con el solvente extractor antes mencionado y frotarlo sobre la superficie que se desea estudiar, luego en un tubo de ensayo que contenga 1 ml de solvente extractor se introduce el hisopo y se agita. Luego se coloca el tubo de ensayo sobre un Baño María calentar un poco el tubo para que solubilize la tinta, después sacar el hisopo y pasar al paso 4° de la centrifugadora.

## METODO DE CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA.

1. Se seleccionan los billetes verdaderos, los billetes falsos y las tintas de impresión offset a ser analizadas, posteriormente son rotulados.
2. Se selecciona el área del billete ( aproximadamente 0.15 gr de muestra de billete) ananlizar, se corta en tiras de 2mm por 5mm y se colocan en un Beaker con capacidad de 100ml. Para el caso de las tintas se coloca una gota de tinta en un tubo de ensayo con rosca y se solubiliza con 105 ml de mezcla de Etanol-Acetato de Etilo (1:1).
3. Una vez colocada la muestra de billete en el Beaker, se adicionan 5 ml de una mezcla de solvente de Etanol Absoluto-Acetato de Etilo (1:1) y se deja evaporar hasta aproximadamente 0.5 ml. Posteriormente se restituye con 0.5 ml más de solvente, dejándolo reposar por 10 minutos y se guarda en un tubo con rosca rotulado.
4. Se observan los colores producidos por la extracción de tintas y se registran.
5. Usando micropipetas de 5 $\mu$ L se inyectan, en una placa de vidrio con Sílica Gel de 15 cm por 15 cm a 1.5 centímetros del borde inferior de la placa aproximadamente 25  $\mu$ L de muestra o hasta que se observe una coloración fuerte en la placa. Dejar secar entre aplicación y aplicación. ( Puede facilitar el secado con aire caliente pero siempre evitando la exposición al calor extremo)

6. Después que toda la placa esté seca, ésta se coloca en un tanque cromatográfico, el cual ha sido previamente saturado por una hora con una fase móvil compuesta por : 1- Butanol/ Etanol Absoluto/ Acetato de Etilo/ Agua/ Acido Acético. (60: 10: 10: 10: 0.5).
7. Cuando la fase móvil haya llegado a 3 cm del borde superior de la placa, ésta se retira del tanque y se deja secar completamente.
8. Una vez seca la placa se anotan los colores que han sido separados de las diferentes muestras de tintas y se registran los respectivos  $R_f$  de cada muestra.
9. Se comparan los resultados de las tintas de los dólares verdaderos y falsos.

## V. RESULTADOS

## 5.0 RESULTADOS

MUESTRAS DE TINTAS DE BILLETES FALSOS Y VERDADEROS DE LA MISMA DENOMINACION:

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 10. ( Moneda Falsa)

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 10. ( Moneda Verdadera)

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 10. ( Moneda Falsa)

Fase Movil:

1-Butanol / Etanol Absoluto / Acetato de Etilo / Agua Destilada / Acido Acético

( 60 : 10 : 10 : 10 : 0.5 )=90.5 ml

Solvente :

Etanol Absoluto : Acetato de Etilo ( 1 : 1 ) (Acs grado reactivo)

Tiempo de saturación de la cámara: 24 horas

Tiempo de desarrollo: 3.5 horas

Frente del eluyente: 13 centímetros.

Tabla n° 1. Análisis por Cromatografía de Capa Fina de \$10 Falso, \$10 Verdadero, \$10 Falso.

Denominación en Dólares	Color de la tinta	Color en el solvente extractor	Rf	Región
Billete de \$10 Falso	Mezcla de Verde y Negro	Azul- Verde	Violeta: (8.4/13)cm= 0.64	Visible
			Azul: (10/13)cm= 0.77	Visible
			Celeste:(11/13)cm= 0.84	Visible
			Verde :(11.7/13)cm= 0.90	Visible
			Naranja:(7.3/13)cm= 0.56	Visible
			Azul: (10.2/13)cm= 0.78	Visible
			Celeste:(11.7/13)cm= 0.9	Visible

Continuación de Tabla n° 1.

<p>Billete de \$10. Verdadero</p>	<p>Mezcla de verde y negro</p>	<p>Azul- Verde</p>	<p>Naranja:(8.8/13)cm= 0.67  Azul: (9.6/13)cm= 0.73  Celeste:(11/13)cm= 0.84  Verde: (12.2/13)cm= 0.93</p>	<p>Ultra Violeta  Ultra Violeta  Ultra Violeta  Ultra Violeta</p>
<p>Billete de \$10. Falso</p>	<p>Mezcla de Verde y Negro</p>	<p>Azul y Verde</p>	<p>Celeste:(7.6/13)cm= 0.58  Naranja:(7.9/13)cm= 0.60  Violeta: (8.9/13)cm= 0.68  Azul: (9.9/13)cm= 0.76  Celeste:(10.9/13)cm=0.83  Verde: (11.8/13)cm=0.90</p>	<p>Visible  Visible  Visible  Visible  Visible</p>

Continuación

<p>Billete de \$10. Verdadero</p>	<p>Mezcla de verde y negro</p>	<p>Azul- Verde</p>	<p>Naranja:(8.8/13)cm= 0.67  Azul: (9.6/13)cm= 0.73  Celeste:(11/13)cm= 0.84  Verde: (12.2/13)cm= 0.93</p>	<p>Ultra Violeta  Ultra Violeta  Ultra Violeta  Ultra Violeta</p>
<p>Billete de \$10. Falso</p>	<p>Mezcla de Verde y Negro</p>	<p>Azul y Verde</p>	<p>Celeste:(7.6/13)cm= 0.58  Naranja:(7.9/13)cm= 0.60  Violeta: (8.9/13)cm= 0.68  Azul: (9.9/13)cm= 0.76  Celeste:(10.9/13)cm=0.83  Verde: (11.8/13)cm=0.90</p>	<p>Visible  Visible  Visible  Visible  Visible</p>

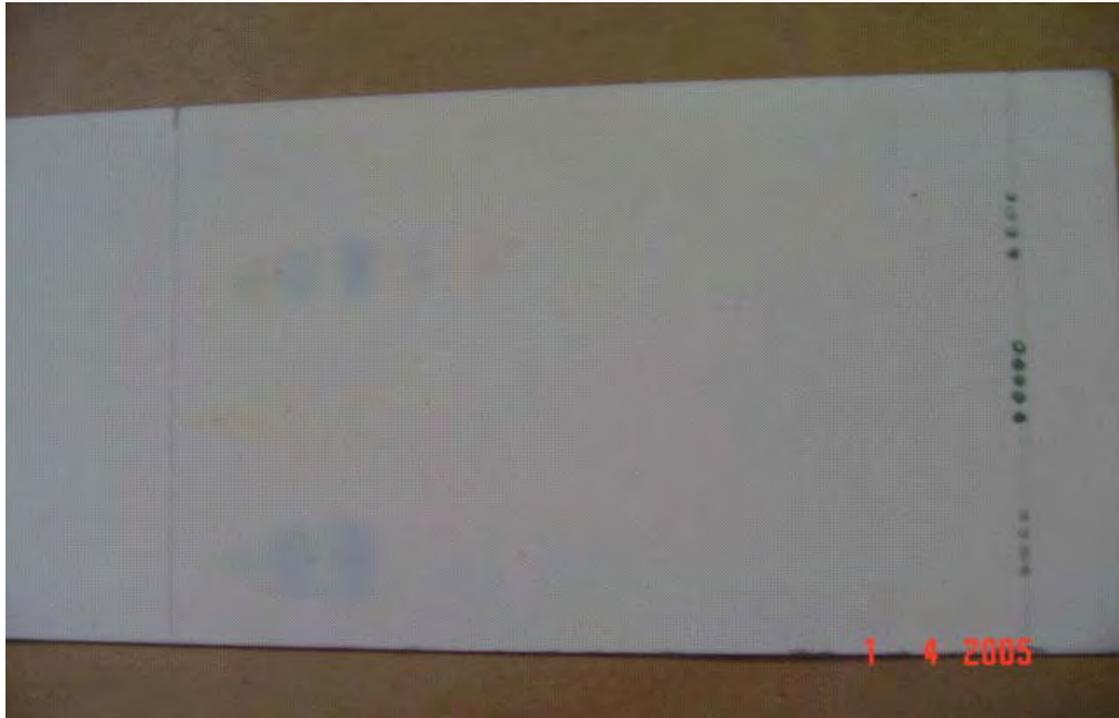


Fig nº 1. Foto de placa Cromatografía de Capa Fina del Análisis de billetes falsos y verdaderos de la misma denominación. Luz Visible.

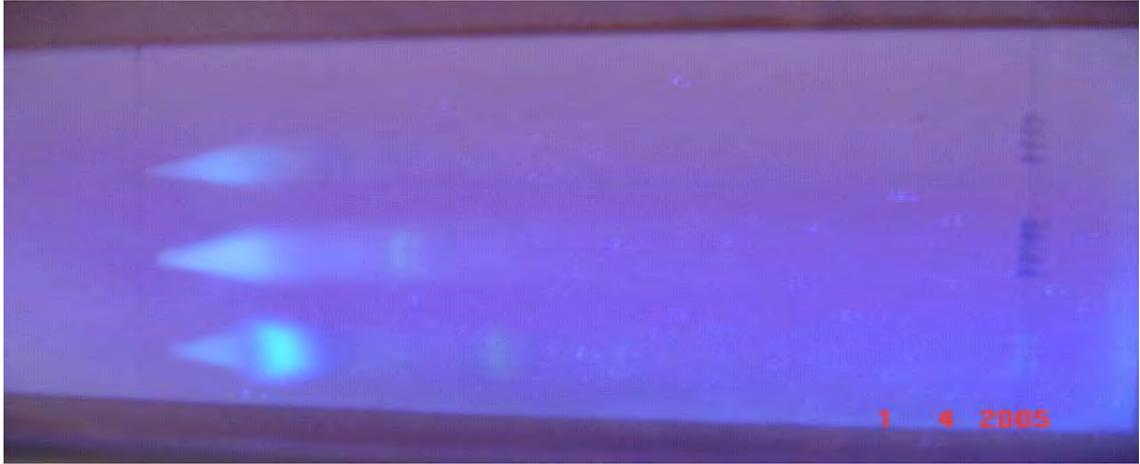


Fig nº 2. Placa de Cromatografía de Capa Fina del Análisis de billetes falsos y verdaderos de la misma denominación. Luz Ultravioleta.

MUESTRAS DE TINTAS DE BILLETES VERDADEROS DE DIFERENTE  
DENOMINACION:

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 10.

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 50.

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 20.

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 100.

Fase Movil:

1-Butanol / Etanol Absoluto / Acetato de Etilo / Agua Destilada / Acido Acético

( 60 : 10 : 10 : 10 : 0.5 )=90.5 ml

Solvente :Etanol Absoluto : Acetato de Etilo ( 1 : 1 ) (Acs grado reactivo)

Tiempo de saturación de la cámara: 1 hora

Tiempo de desarrollo: 3.5 horas

Frente del eluyente: 12.4 centímetros.

Tabla n° 2. Análisis por Cromatografía de Capa Fina de Billetes de \$10, \$50, \$20, \$100 . Verdaderos.

Denominación en dólares	Color de la tinta	Color en el solvente extractor	Rf	Región
Billete de \$ 10	Mezcla de Verde y Negro	Verde Musgo	Celeste: $(12.1/12.4)=0.97$	Ultra Violeta
Billete de \$ 50	Mezcla de Cerde y Negro	Rosa- Naranja	Rosa: $(11.6/12.4)=0.93$  Celeste: $(12.2/12.4)=0.98$	Visible  Visible
Billete de \$ 20	Mezcla de Verde y Negro	Rosa- Naranja	Rosa: $(11.5/12.4)=0.92$  Amarillo: $(11.9/12.4)=0.96$  Celeste: $(12.1/12.4)=0.97$	Visible  Visible  Visible

Tabla n° 2. Continuación.

<p>Billete de \$100</p>	<p>Mezcla de Verde y Negro</p>	<p>Rosa- Naranja</p>	<p>Amaillo: <math>(8.1/12.4)=0.65</math>  Rosa: <math>(12.1/12.4)=0.97</math>  Celeste: <math>(12.1/12.4)=0.97</math></p>	<p>Ultra Violeta  Visible  Ultra Violeta</p>
-----------------------------	--	--------------------------	---	--

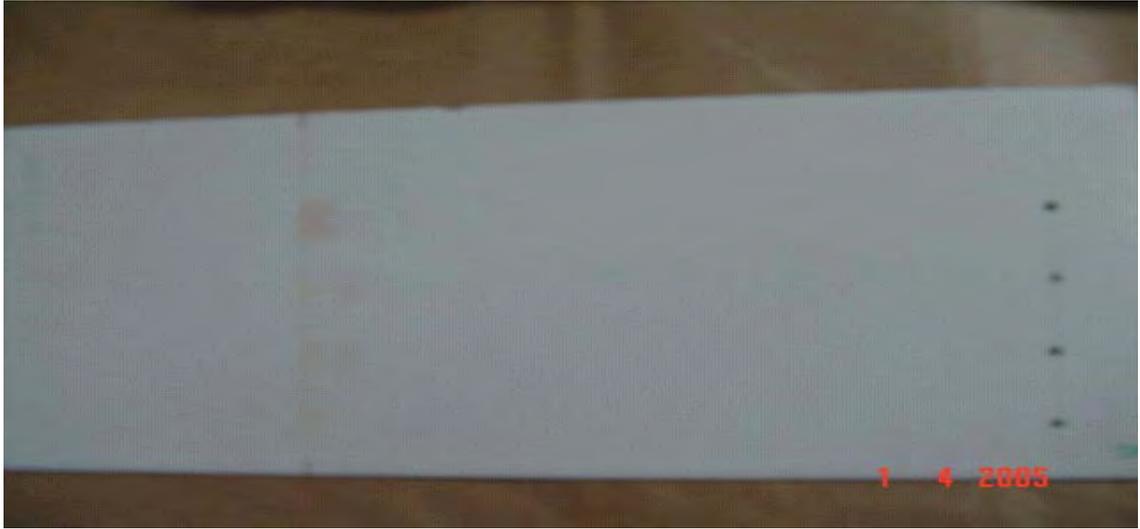


Fig nº 3. foto de placa de Cromatografía de Capa Fina del análisis de dólares verdaderos de diferente denominación \$10, \$50, \$20, \$100.  
Luz Visible.



Fig nº 4. Foto de placa de Cromatografía de Capa Fina del Análisis de dólares verdaderos de diferente denominación \$10, \$50, \$20, \$100. Luz Ultravioleta.

MUESTRA DE TINTAS DE BILLETES VERDADEROS DE DIFERENTE DENOMINACION Y DIFERENTE AÑO DE SERIE.

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 5. ( Moneda Verdadera, Serie 2001).

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 20. ( Moneda Verdadera, Serie 2001).

Mezcla de tinta Verde y Negra \$ 20. ( Moneda Verdadera, Serie 2004).

Fase Movil:

1-Butanol / Etanol Absoluto / Acetato de Etilo / Agua Destilada / Acido Acético

( 60 : 10 : 10 : 10 : 0.5 )=90.5 ml

Solvente :Etanol Absoluto : Acetato de Etilo ( 1 : 1 ) (Acs grado reactivo)

Tiempo de saturación de la cámara: 24 hora

Tiempo de desarrollo: 4 horas

Frente del eluyente: 12.9 centímetros.

Tabla n°3.Análisis por Cromatografía de Capa Fina de \$5,  
\$20,\$20.Verdaderos.

Denominación	Color de la tinta	Color en el solvente extractor	Rf	Región
Billete de \$5. serie 2001	Mezcla de Verde y Negro	Verde	Amarillo:(11.2/12.9)cm=0.87 Rosa: (11.4/12.9)cm=0.88 Celeste:(11.8/12.9)cm=0.91 Celeste:(11.4/12.9)cm=0.88 Violeta: (11.8/12.9)cm=0.91 Naranja: (12/12.9)cm=0.93	

Continuación de la Tabla n° 3.

Billete de \$20. Serie 2001.	Mezcla de Verde y Negro	Rosa- Naranja	Rosa: (10.4/12.9)cm=0.80	Visible
			Amarillo:(11.1/12.9)cm=0.86	Visible
			Amarillo:(11.2/12.9)cm=0.91	Visible
			Violeta: (11.2/12.9)cm=0.80	UltraVioleta
			Naranja:(11.2/12.9)cm=0.87	UltraVioleta
Billete de \$20. Serie 20004.	Mezcla de Verde y Negro	Rosa- Naranja	Rosa: : (10.5/12.9)cm=0.81	Visible
			Amarillo:(11.1/12.9)cm=0.86	Visible
			Amarillo:(11.9/12.9)cm=0.92	Visible
			Violeta: (10.5/12.9)cm=0.81	UltraVioleta
			Naranja:(11.9/12.9)cm=0.92	UltraVioleta

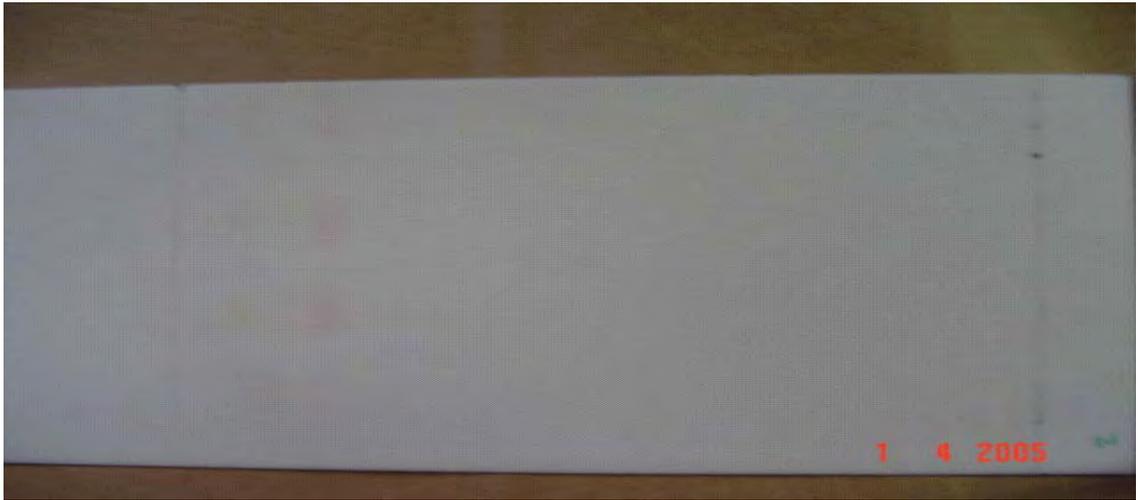


Fig n°5. Foto de placa de Cromatografía de Capa Fina de Análisis de dólares verdaderos de diferente denominación y diferente año de serie : \$5 (2001), \$20 (2001), \$20 (2004). Luz Visible.



Fig nº 6. Foto de placa de Cromatografía de Capa Fina de análisis de dólares Verdaderos de diferente denominación y diferente año de serie : \$5 (2001), \$20 (2001), \$20 (2004). Luz Ultravioleta.

MUESTRAS DE TINTAS DE IMPRESIÓN OFFSET COMUNMENTE USADAS  
EN LAS IMPRENTAS DE EL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR:

Azul ( Reflex Blue)

Rojo ( Pantone Warm Red )

Verde ( Pantone Green )

Violeta ( Pantone Violeta )

Tinta de Seguridad

Fase Movil:

1-Butanol / Etanol Absoluto / Acetato de Etilo / Agua Destilada / Acido Acético

( 60 : 10 : 10 : 10 : 0.5 )=90.5 ml

Solvente :

Etanol Absoluto : Acetato de Etilo ( 1 : 1 ) (Acs grado reactivo)

Tiempo de saturación de la cámara: 24 horas

Tiempo de desarrollo: 4 horas

Frente del eluyente: 14.8 centímetros.

Tabla n° 4. Análisis por Cromatografía de Capa Fina de diversas tintas ocupadas en la impresión offset, de uso cotidiano en las imprentas del área metropolitana de San salvador.

Color de la tinta	Marca	Pais de Fabricación	Rf	Región
Azul	K+E	Estados Unidos de América	Violeta: (5.9/14.8)cm= 0.39	Visible
			Violeta: (5.5/14.8)cm=0.44	Visible
			Celeste:(7.2/14.8)cm= 0.48	Visible
			Violeta: (8.5/14.8)cm= 0.57	Visible
			Verde: (9.2/14.8)cm= 0.62	Visible
			Azul: (9.9/14.8)cm= 0.67	Visible
			Celeste:(10.8/14.8)cm= 0.72	Visible

Tabla n° 4 Continuación.

Rojo	K+E	Estados Unidos de América	Violeta:(5.2/14.8)cm= 0.35	UltraVioleta
			Violeta:(5.7/14.8)cm= 0.38	Ultra Violeta
			Violeta:(6.8/14.8)cm= 0.46	Ultra Violeta
			Naranja:(8.9/14.8)cm=0.6	Luz Visible
			Rosa:(10.9/14.8)cm= 0.73	Luz Visible
Verde	K+E	Estados Unidos de América	Celeste: (10.0/14.8)cm=0.67	Ultra Violeta
Violeta	K+E	Estados Unidos de América	Violeta:(5.5/14.8)cm= 0.37	Luz Visible
			Violeta:(6.3/14.8)cm= 0.42	Luz Visible
			Violeta:(7.1/14.8)cm= 0.48	Luz Visible

Tabla n° 4 Continuación.

			Violeta:(8.0/14.8)cm=0.54	Luz Visible
			Violeta: (10.1/14.8)cm= 0.68	Luz Visible
			Celeste: (11.5/14.8)cm= 0.77	UltraVioleta
Tinta de seguridad	SICPA	Guatemala	Celeste: (10.0/14.8)cm=0.67	Ultra Violeta



Fig nº 7 Placa de Cromatografía de Capa Fina del Análisis de muestras de tintas de impresión Offset, comúnmente usadas en el área metropolitana de San Salvador. Reflex Blue, Pantone Warm Red, Green(verde), Pantone Violeta, Tinta de seguridad. Luz Visible.

ENSAYOS DE TINTAS DE DOLARES VERDADEROS Y FALSOS POR MEDIO  
DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION.

1. Equipo utilizado marca: Shimadzu Vp.
2. Características de la columna:  
Marca: Crom  
250 mm de Longitud  
4.6 mm de diámetro  
Empaque de la columna: nucleosil 100 C18, 5 $\mu$ m.
3. detector: UV/VIS.
4. Flujo de la bomba: 1ml/min.
5. Solvente extractor de la muestra: Metanol (grado HPLC)
6. Cantidad inyectada para el análisis: 20  $\mu$ L.
7. Fase Móvil: Metanol: Agua 50:50.

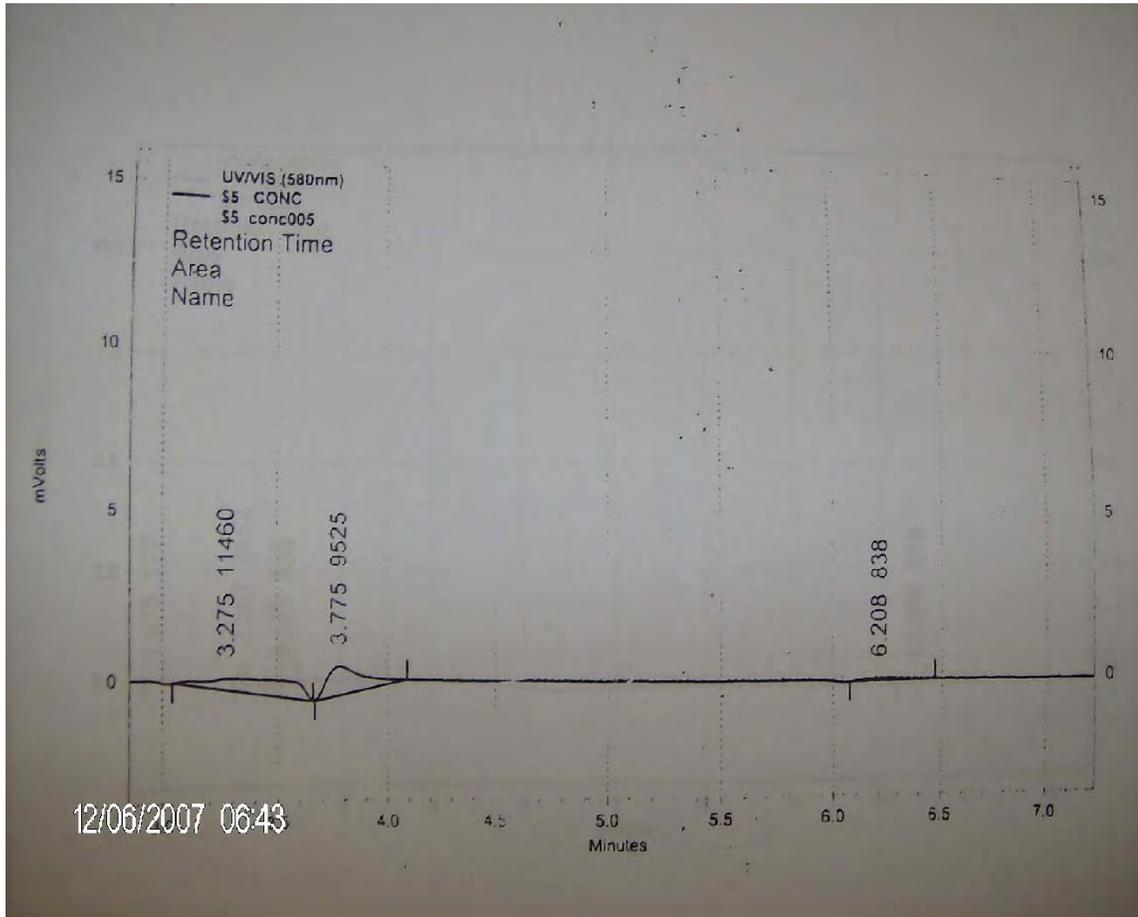


Fig nº 1. Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 5. Verdadero

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÓVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

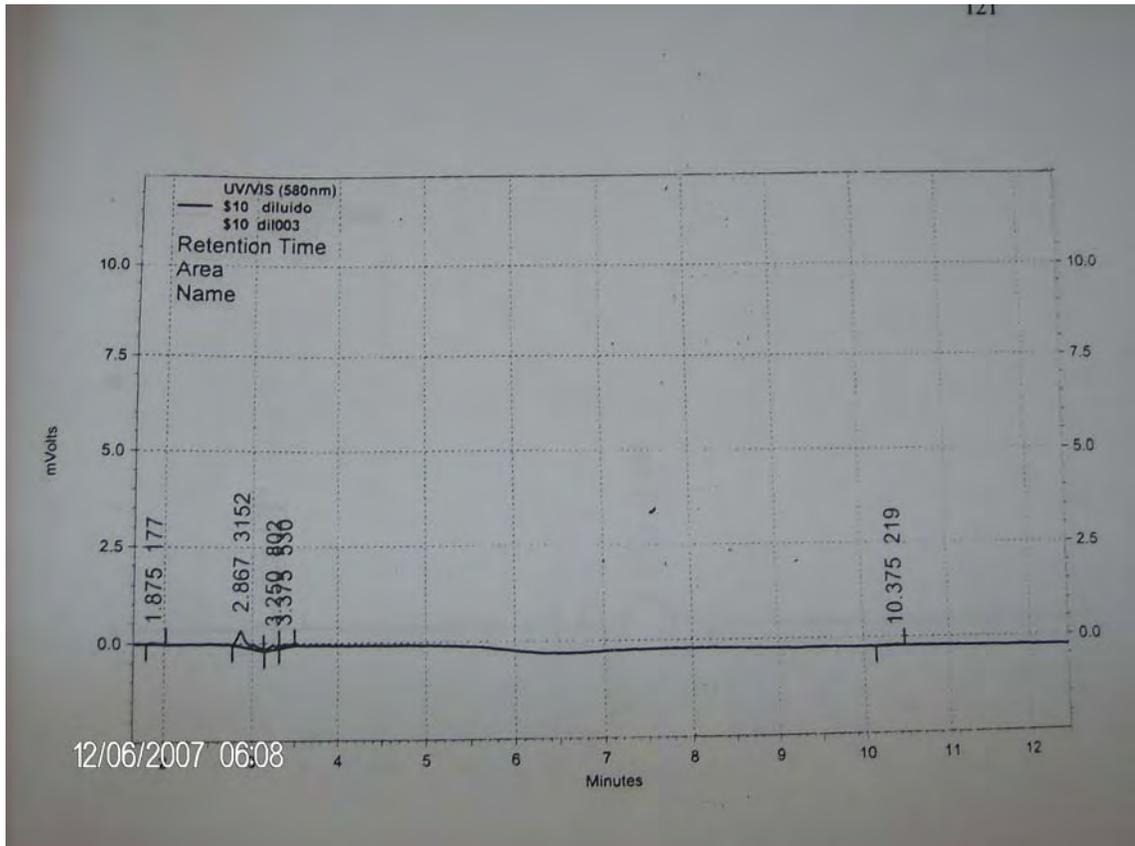


Fig nº 2. Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 10. Verdadero

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÖVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

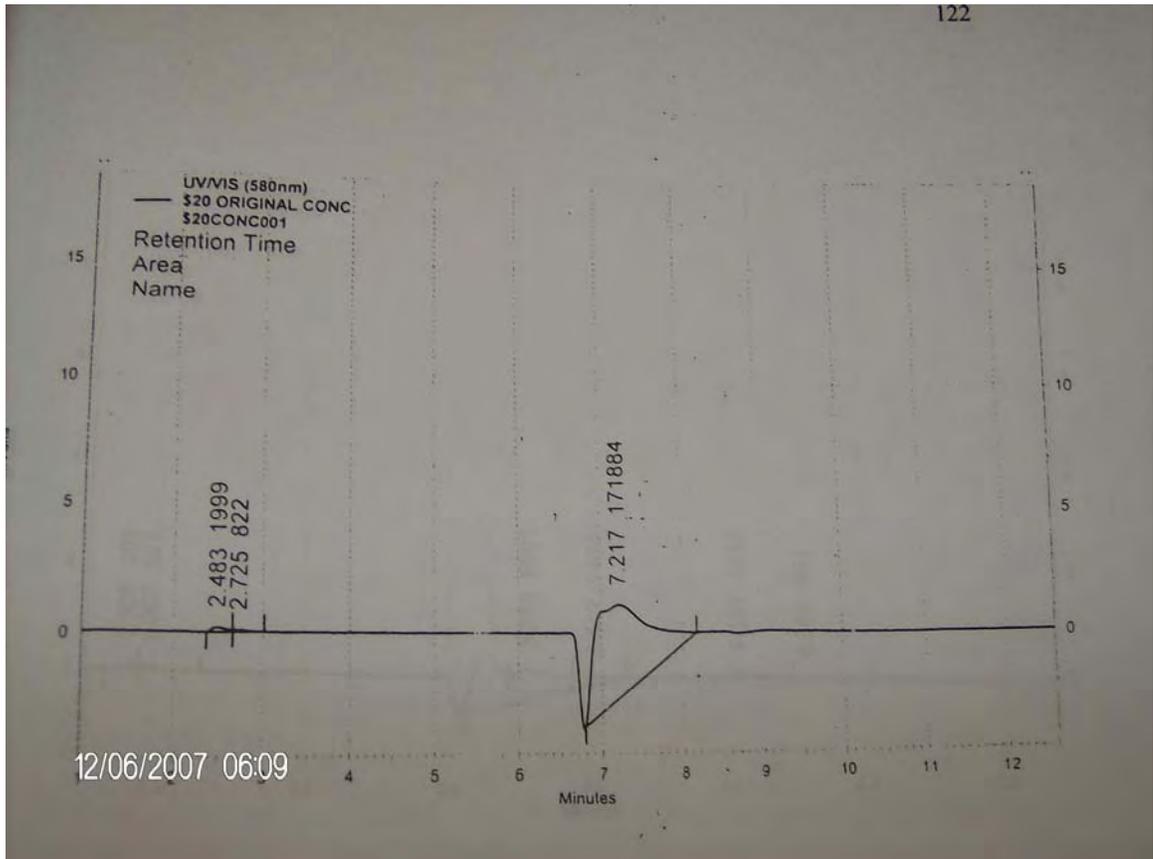


Fig. nº 3 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 20. Verdadero

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÖVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

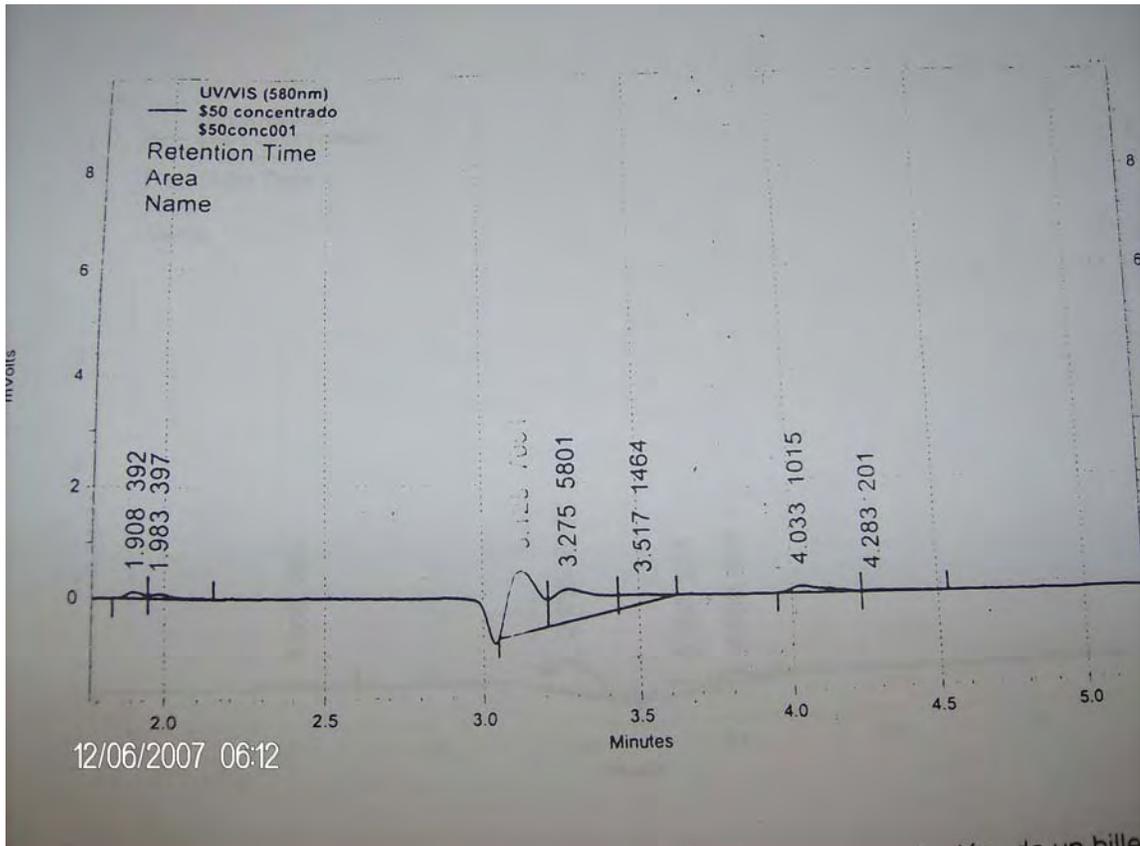


Fig. nº 4 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 50. Verdadero

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÖVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

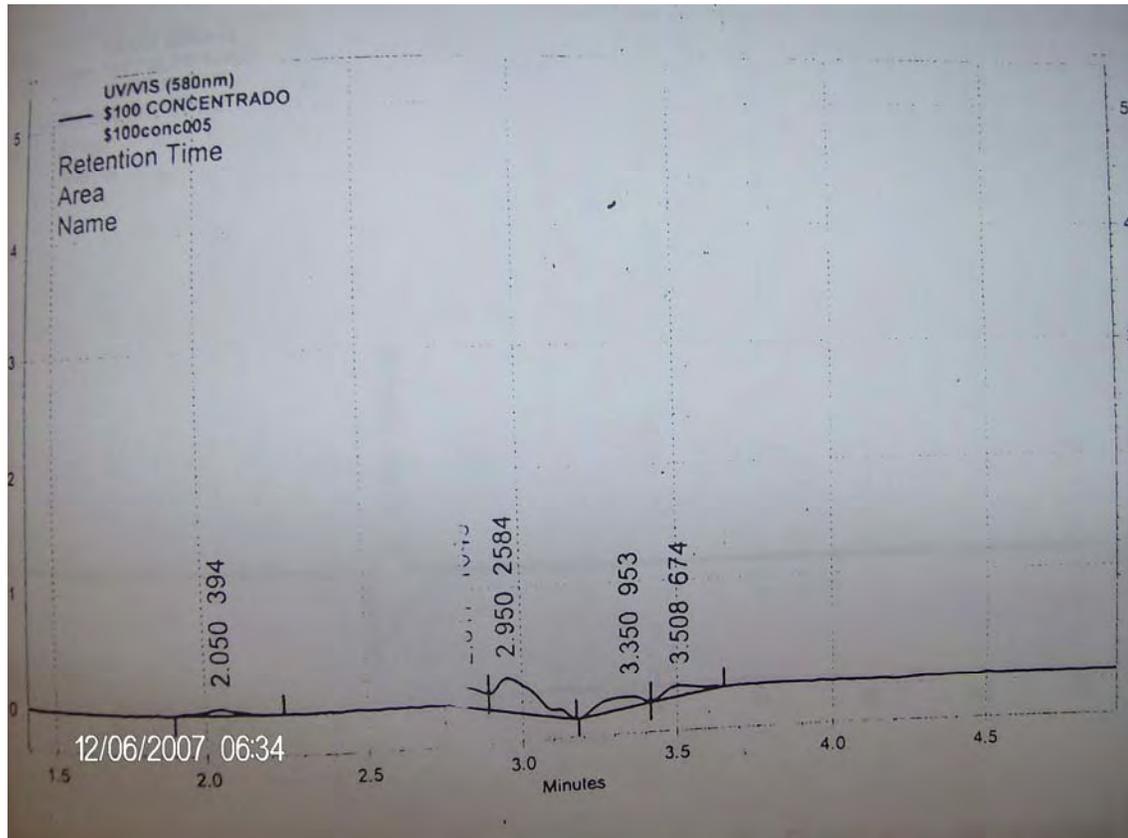


Fig. nº 5 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 100. Verdadero

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÓVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

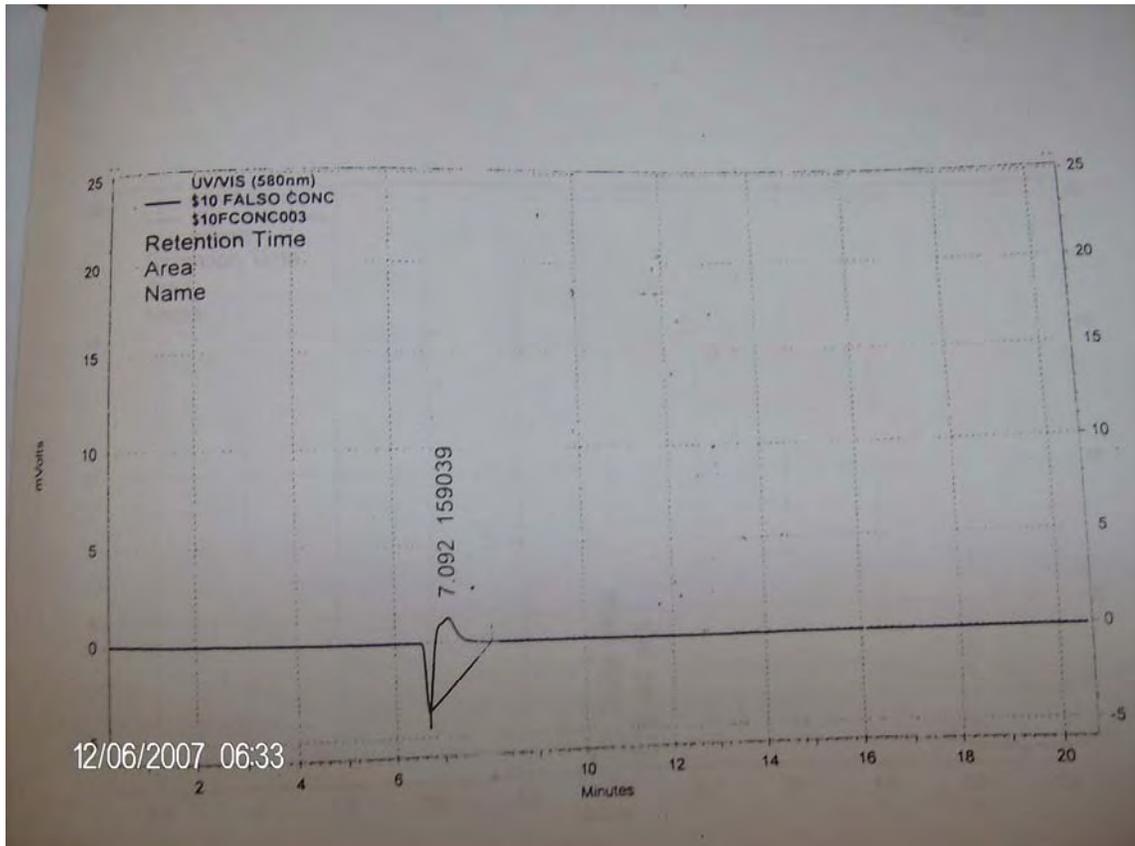


Fig. nº 5 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 10. Falso.

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÖVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

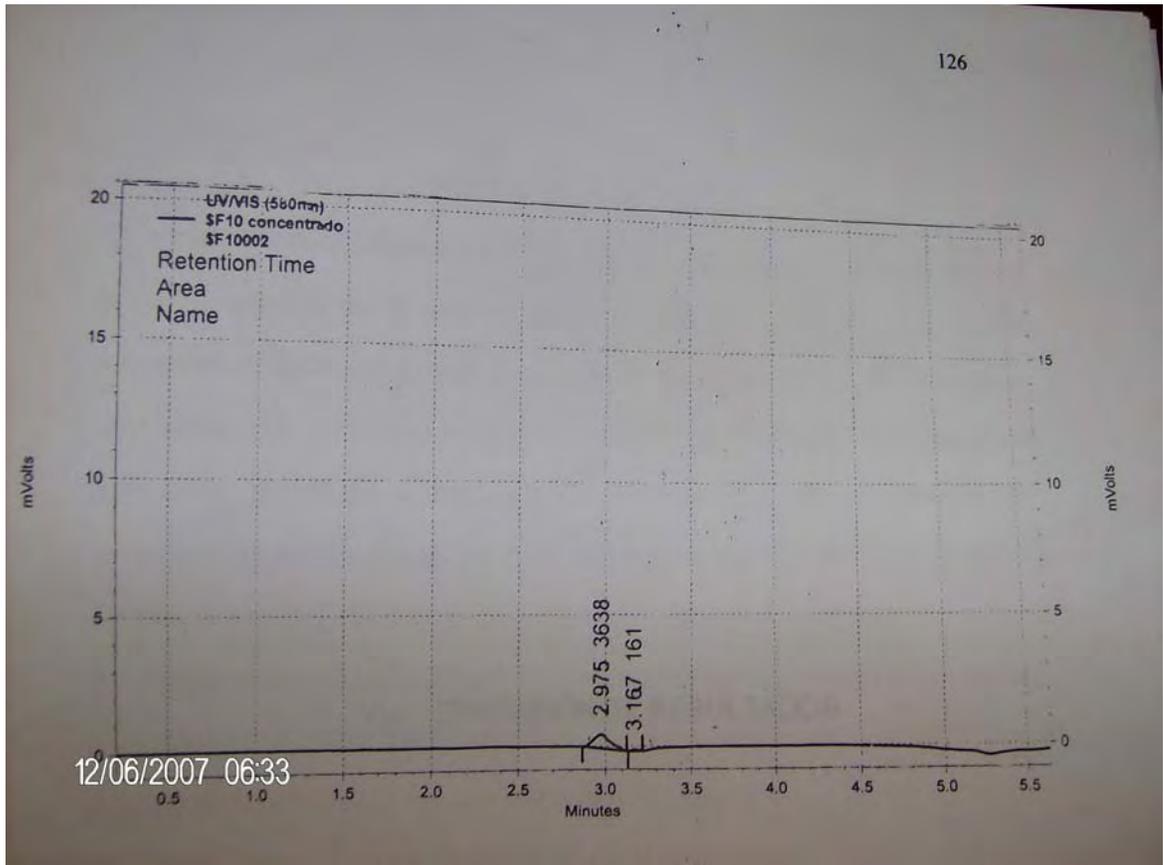


Fig. nº 6 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de un billete  
De \$ 10. Falso.

FLUJO: 1 ml/min

COMPOSICIÓN DE LA FASE MÓVIL: Metanol: Agua 50:50

LONGITUD DE ONDA: 580 nm

DETECTOR: UV/VIS

## VI. DISCUSION DE RESULTADOS

## 6.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Se desarrolló una técnica por cromatografía de capa fina la cual logra separar tanto las tintas de los dólares verdaderos como la de los dólares falsos y las tintas de impresión offset más usadas en el mercado salvadoreño. Para lograr esta separación de colores y lograr su diferenciación se utilizó una mezcla de solventes orgánicos la cual fue: 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Ácido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5).

Se determinó los  $R_f$  de las diversas denominaciones:

### A) MUESTRAS DE TINTAS DE DOLARES FALSOS Y UNO VERDADERO DE LA MISMA DENOMINACION.

Mezcla de tinta verde y negra de \$10 (moneda falsa 1)

Mezcla de tinta verde y negra de \$10 (moneda verdadera)

Mezcla de tinta verde y negra de \$10 (moneda falsa 2)

Usando para éste análisis la fase móvil 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Ácido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5). y el eluyente de Etanol Absoluto: Acetato de Etilo (1:1)

1. Al analizar la mezcla de tinta verde y negra de \$10(moneda falsa) se observó la separación de siete colores las cuales son: Violeta ( $R_f=0.64$ ), Azul ( $R_f=0.77$ ), Celeste ( $R_f=0.84$ ), Verde ( $R_f=0.9$ ), Naranja ( $R_f=0.56$ ), Azul ( $R_f=0.78$ ), Celeste ( $R_f=0.9$ ), teniendo la característica en común que solamente eran observados en la Región Visible.

( $R_f=0.78$ ), Celeste ( $R_f=0.9$ ), teniendo la característica en común que solamente eran observados en la Región Visible.

2. Después se analizó la mezcla de tinta verde y negra de \$10 (moneda verdadera) y se observó una separación de colores con distintos  $R_f$  los cuales solamente se observaron con la ayuda de Luz Ultravioleta, los cuales eran: Naranja ( $R_f=0.67$ ), Azul ( $R_f=0.73$ ), Celeste ( $R_f=0.84$ ), Verde (0.93).

3. Luego se analizó la Mezcla de tinta verde y negra de \$10 (moneda falsa 2) y se produjo siete separaciones de color con diferente  $R_f$ , pero, con la característica principal que solo pueden ser observados en la región visible, obteniendo los resultados siguientes: Celeste ( $R_f=0.58$ ), Naranja ( $R_f=0.60$ ), Violeta( $R_f=0.68$ ), Azul ( $R_f=0.76$ ), Celeste ( $R_f=0.83$ ), Verde ( $R_f=0.90$ ), Celeste ( $R_f=0.86$ ).

#### B) MUESTRA DE TINTAS DE DOLARES VERDADEROS DE DIFERENTE DENOMINACION.

Mezcla de tinta verde y negra \$10 (moneda verdadera)

Mezcla de tinta verde y negra \$50 (moneda verdadera)

Mezcla de tinta verde y negra \$20 (moneda verdadera)

Mezcla de tinta verde y negra \$100 (moneda verdadera)

Se usó para éste análisis la fase móvil 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Acido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5). y el eluyente de Etanol Absoluto: Acetato de Etilo (1:1).

1. Al analizar la mezcla de tinta verde y negra \$10 (moneda verdadera) se obtuvo la formación de un solo color el cual fue el Celeste con un  $R_f=0.97$ .
2. El análisis de la Mezcla de tinta verde y negra \$50 (moneda verdadera) proporcionó la separación de dos colores uno rosa ( $R_f=0.98$ ) y un Celeste ( $R_f=0.98$ ), ambos colores observados en la región visible.
3. Para el caso del análisis de la mezcla mezcla de tinta verde y negra \$20 (moneda verdadera), resulto en la separación de tres colores y  $R_f$  diferentes, los cuales fueron: Rosa ( $R_f=0.92$ ), Amarillo( $R_f=0.96$ ), Celeste( $R_f=0.97$ ). Con la característica especial que estos solo fueron observados en la región visible.
4. Luego el análisis de la Mezcla de tinta verde y negra \$100 (moneda verdadera) reveló los siguientes resultados: una separación de colores y diferentes  $R_f$  observados en la Región Ultravioleta y en la región visible. En primer lugar uno Amarillo ( $R_f=0.65$ )el cual fue observado en la región Ultra Violeta, en segundo lugar el Rosa ( $R_f=0.97$ ) observado en la región visible y en tercer lugar el Celeste ( $R_f=0.97$ ) observado en la región Ultra violeta.

#### C. MUESTRAS DE TINTAS DE DOLARES VERDADEROS DE DIFERENTE DENOMINACION Y DISTINTOS AÑOS.

Mezcla de tintas verde y negra de \$ 5 ( moneda verdadera 2001)

Mezcla de tintas verde y negra de \$20 ( moneda verdadera 2001)

Mezcla de tintas verde y negra de \$20 ( moneda verdadera 2005)

Usando para éste análisis la fase móvil 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Ácido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5). y el fluyente de Etanol Absoluto: Acetato de Etilo (1:1)

1. Al analizar los datos obtenidos de la mezcla de tintas verde y negra de \$ 5 ( moneda verdadera 2001) hubo una separación de 6 colores : Amarillo ( $R_f=0.87$ ) observado en la región visible, Rosa ( $R_f=0.88$ ) observado en la región visible, Celeste ( $R_f=0.91$ ) observado en la región Ultra Violeta, Celeste ( $R_f=0.88$ ) observado en la región ultravioleta, Violeta ( $R_f=0.91$ ) observado en la región Ultravioleta, y luego el Naranja ( $R_f=0.93$ ) observado en la región Ultra Violeta.
2. El análisis de la Mezcla de tintas verde y negra de \$20 ( moneda verdadera 2001) reflejó los siguientes resultados: la separación de tres colores observados en la región visible: Rosa ( $R_f=0.80$ ), Amarillo ( $R_f=0.92$ ), Amarillo ( $R_f=0.92$ ) y la formación de dos colores observados en la región Ultra Violeta ; Violeta( $R_f=0.80$ ), Naranja( $R_f=0.91$ ).
3. Al analizar los resultados de la Mezcla de tintas verde y negra de \$20 ( moneda verdadera 2004) se observó, en la región visible, la separación de tres colores: Rosa ( $R_f=0.81$ ), Amarillo (  $R_f=0.86$ ), Amarillo (  $R_f=0.92$ ) y la separación de dos colores observados en la región Ultravioleta ; Violeta ( $R_f=0.81$ ), Naranja ( $R_f=0.92$ ).

#### D. ANALISIS DE TINTAS DE DOLARES FALSOS DE \$ 5, \$10, \$20 Y \$50.

Este análisis se realizó sin combinar mezclas de tintas verde y negra, por el contrario se hizo por separado obteniendo los siguientes resultados:

1. Muestra de tinta verde \$5 falso produjo 3 separaciones de color observados por luz visible; Azul ( $R_f=0.79$ ), Celeste ( $R_f=0.87$ ), Amarillo ( $R_f=0.92$ ).
2. Muestra de tinta negra \$5 falso reveló cuatro separaciones de color; Violeta ( $R_f=0.69$ ), Azul ( $R_f=0.69$ ), Celeste ( $R_f=0.87$ ), Amarillo ( $R_f=0.92$ ) con la característica en común que son vistas por medio de luz visible.
3. El análisis de tinta verde de \$10 falso reveló tres colores que fueron observados por medio de Luz Visible; Azul ( $R_f=0.81$ ), Celeste ( $R_f=0.87$ ), Amarillo ( $R_f=0.90$ ).
4. Los resultados observados en el análisis de tinta negra de \$10 por medio de luz visible, reflejó la separación de cuatro colores; Violeta ( $R_f=0.72$ ), Azul ( $R_f=0.81$ ), Celeste ( $R_f=0.87$ ), Amarillo ( $R_f=0.89$ ).
5. Ya obtenidos los resultados del análisis de tinta verde de \$20 falso, éste mostró una separación de tres colores comprendidos desde el Celeste ( $R_f=0.80$ ), Amarillo ( $R_f=0.95$ ), Amarillo ( $R_f=0.97$ ) teniendo una característica en común en que solamente son observados por medio de luz visible.
6. Siguiendo el análisis del billete de \$20 falso, se realizó el experimento para la tinta negra y ésta mostró la separación de un solo color; el amarillo ( $R_f=0.97$ ) el cual solamente era observado por medio de la Luz Visible.
7. Luego se realizó dos análisis: el de tinta verde de \$50 falso y el de tinta negra para el mismo billete. En el primero de los casos hubo una separación

de dos colores; Azul (  $R_f=0.87$ ) y amarillo (  $R_f=0.97$ ). En el segundo de los casos hubo dos separaciones de color; Azul (  $R_f=0.85$ ) y Amarillo ( $R_f=0.96$ ). en éste análisis la observación de los colores solo se pudo realizar por medio de Luz Visible.

#### E. ANALISIS POR CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA DE DIVERSAS TINTAS OCUPADAS EN LA IMPRESIÓN OFFSET, DE USO COTIDIANO EN LAS IMPRENTAS DE SAN SALVADOR.

Los resultados reflejados en éste análisis corresponden a una serie de colores que van desde el Azul, Rojo, Verde, Violeta y tinta de seguridad utilizada en billetes de lotería.

Usando para éste análisis la fase móvil 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Acido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5). y el fluyente de Etanol Absoluto: Acetato de Etilo (1:1)

Los resultados reflejados son los siguientes:

1. Para el caso del Azul hay una separación de 7 colores con distinto  $R_f$  y observador por medio de Luz Visible y Luz Ultravioleta. Estos son observados en la región visible y estos son; Violeta ( $R_f=0.39$ ), Violeta (  $0.44$ ), Celeste (  $R_f=0.48$ ), Violeta (  $R_f=0.57$ ), Verde (  $R_f=0.62$ ), Azul (  $R_f=0.67$ ), Celeste ( $R_f=0.72$ ).
2. Al realizar el análisis de tinta roja se observaron cinco separaciones. Las siguientes tres separaciones observadas fue usando la ayuda de la Luz Ultra Violeta y fueron las siguientes; Violeta (  $R_f=0.35$ ), Violeta (  $R_f=0.38$ ), Violeta

(  $R_f=0.46$ ) y luego se mostraron dos separaciones observadas en la región visible uno Naranja (  $R_f=0.60$ ), Rosa (  $R_f=0.73$ ).

3. El análisis de la tinta verde para impresión offset reveló una separación de color observada en la región ultravioleta con un  $R_f =0.67$ .
4. Al analizar la tinta violeta para impresión offset se observó seis separaciones de color. Las primeras cinco observadas en la región visible; Violeta (  $R_f=0.37$ ), Violeta (  $R_f=0.42$ ), Violeta (  $R_f=0.48$ ), Violeta (  $R_f=0.54$ ), Violeta (  $R_f=0.68$ ), y uno Celeste (  $R_f=0.77$ ) Únicamente observado por medio de Luz Ultravioleta.
5. Luego se observó los resultados del análisis de tinta de seguridad para billetes de lotería y reveló una coloración únicamente observada en la región Ultra Violeta con un  $R_f=0.67$ .

#### F. ANALISIS POR CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA DE DIVERSAS TINTAS OCUPADAS EN LA IMPRESIÓN OFFSET, DE USO COTIDIANO EN LAS IMPRENTAS DE SAN SALVADOR.

Los resultados reflejados en éste análisis corresponden a una serie de colores que van desde el Magenta (Azul), Royal Cyan (Azul), Rojo, Negro, Negro 1500.

Usando para éste análisis la fase móvil 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Acido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5). y el eluyente de Etanol Absoluto: Acetato de Etilo (1:1).

1. Al analizar los resultados de la tinta color Magenta royal ( Azul), se observó la separación de dos colores que eran observables en la región visible; Naranja (  $R_f=0.54$ ), Amarillo (  $R_f=0.88$ ).
2. Los resultados observados en el análisis de la tinta de impresión offset color Royal Cyan reveló la separación de cinco colores, los primeros dos; Celeste (  $R_f=0.36$ ), Celeste (  $R_f=0.51$ ) observados en la Región Ultravioleta. Y los siguientes tres; Violeta (  $R_f=0.6$ ), Azul (  $R_f=0.7$ ), Celeste (  $R_f=0.82$ ) fueron observados en la región visible.
3. El análisis de la tinta roja utilizada en la impresión offset reveló dos separaciones de color observadas en la región visible; Naranja (  $R_f=0.52$ ), Naranja (  $R_f=0.88$ ).
4. En el análisis de la tinta negra los resultados observados fueron cuatro colores; Celeste (  $R_f=0.50$ ), Violeta (  $R_f=0.62$ ), Azul (  $R_f=0.7$ ), Celeste (  $R_f=0.85$ ) observables en la región visible.
5. Al analizar la tinta negro 1500 se observaron la formación de los colores observados en la región Ultra Violeta los cuales tenían  $R_f$  diferentes; Rosa (  $R_f=0.38$ ), Verde (  $R_f=0.44$ ) y los colores Celeste (  $R_f=0.50$ ), Rosa (  $R_f=0.53$ ), Violeta (  $R_f= 0.61$ ) observables en la región visible.

G. Los resultados mostrados en los análisis de Cromatografía Líquida de Alta Resolución, en el que se usó un cromatógrafo marca Shimadzu Vp, con una columna marca crom de 250mm de longitud, 4mm de diámetro, un detector UV/VIS, un flujo de bomba 1 ml/min , una fase móvil de metanol:agua(50:50) y

el alcohol metílico grado ACS como solvente extractor de tinta revelo que para el caso de la tinta de los dólares falsos solo aparece un tiempo de retención y para el análisis de tinta de dólares verdaderos aparecen mas de tres tiempos de retención.

## VII. CONCLUSIONES

## 7.0 CONCLUSIONES

1. Por medio del desarrollo de la técnica que se realizó en el presente trabajo, se concluye que el mejor método para diferenciar tintas usadas en la falsificación de dólares es la Cromatografía de Capa Fina, haciendo uso de la mezcla de solventes orgánicos, como fase móvil, los siguientes; 1-Butanol/Etanol Absoluto/Acetato de Etilo/Agua destilada/Ácido acético, en una concentración de (60:10:10:10:0.5). Y la mezcla de Etanol Absoluto: Acetato de Etilo (1:1), como solvente extractor de las tintas.
2. Al establecer los colores y los  $R_f$  que aparecen en las placas cromatográficas de las tintas de los dólares verdaderos, dólares falsos y tintas de impresión offset comúnmente utilizadas en las imprentas de San Salvador, se concluye: que hay una marcada diferencia en estos tres tipos de tinta, por lo que es posible diferenciarlas una de otra, utilizando el método de Cromatografía de Capa Fina aplicado.
3. Después de haber realizado los ensayos de las tintas por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución, se concluye, que hay una gran diferencia en el espectro de las tintas de dólares falsos y dólares verdaderos, ya que para el caso de los dólares verdaderos, la mayoría de espectros son muy similares entre sí, caso contrario es el de las tintas de los

dólares falsos ya que sus espectros presentan una diferencia muy marcada con respecto a los dólares verdaderos.

4. Luego de haber obtenido los espectros de la Cromatografía Líquida de Alta Resolución de las tintas de los dólares verdaderos se concluye que estos poseen más señales de tiempos de retención que las tintas de los dólares falsos. Por lo tanto el método de HPLC es factible y puede ser aplicado sin mayores dificultades.

## VIII. RECOMENDACIONES

## 8. RECOMENDACIONES

1. Para la identificación de dólares de dudosa procedencia, en donde se requiera un análisis químico para la diferenciación de tintas de dólares verdaderos y falsos, la aplicación de la técnica de Cromatografía de Capa Fina, es la más adecuada. Haciendo uso de la mezcla de solventes orgánicos: 1-Butanol/ Etanol Absoluto/ Acetato de Etilo/ Agua Destilada/ Acido Acético en una concentración de (60: 10: 10: 10: 0.5), como fase móvil, y la mezcla de Etanol Absoluto/ Acetato de Etilo en la proporción de (1:1), como solvente extractor de las tintas, como un método de diferenciación y luego dar paso a la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución para confirmar la diferencia que poseen los tiempos de retención de las tintas verdaderas con respecto a las falsas.
2. La creación de una tabla de comparación de Rf de las tintas de dólares verdaderos como la de dólares falsos, así como de tintas comercializadas en el país y en el extranjero, que sean extraídas con diferentes solventes y eluidas con otras fases móviles, con el fin de obtener una base de datos para futuras comparaciones.
3. Impulsar proyectos de investigación de otras mezclas de solventes orgánicos usados como fase móvil, ya que las tintas se comportan de

diferente manera entre una mezcla y otra, cuando hacen su recorrido a través de la placa cromatográfica.

4. El uso del método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución como una técnica de confirmación de la falsedad de estas tintas, debido a la gran diferencia que poseen los espectros proporcionados, con respecto a la tinta de dólares verdaderos en relación a los dólares falsos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bauer K. 1992. Cromatografía de Capa Fina-una introducción-.Primera edición. Alemania. Colección Merck. V.1. p. 20. 45-50, 70-81.
  2. Brunelle, R, y otros. 1984. Forensic examination of ink and paper. Primera edición. Maryland, United Status of America. Editorial Charles C. Thomas Publisher. V.1.p.80-90
  3. Capello, R, y otros. 1983. Tratado de criminalistica. Primera edición. Buenos Aires, argentina. Editorial policial. V.1.p.30-70
  4. Dicesare, J. Y otros. 1981. Introducción a la Cromatografía Líquida de Alta Velocidad. Segunda edición. Pittsburg, Estados Unidos de América. Colección Pekín-Elmer.V.2.p.12-21.
  5. <http://www.chemsoc.org>. p.1-8
  6. <http://www.monografías.com>. p. 1-24.
- Quatrocchi, O. Y otros. 1992. Introducción a la HPLC. Primera edición. Buenos Aires, Argentina. Editorial Farro. P. 17-84

ANEXO 1

- 12/06/2007 07:15
- 4 agitadores
  - 5 Beakers de 50 ml
  - 5 Beakers de 100 ml
  - 5 Beakers de 250 ml
  - 2 Beakers de 600 ml
  - 2 Embudos de vidrio
  - 4 Erlenmeyers
  - 30 Tubos de ensayo con rosca
  - 3 Probetas de 10 ml
  - 3 Probetas de 25 ml
  - 3 probetas de 100 ml
  - 4 vidrios de reloj medianos
  - 30 viales de vidrio de fondo plano con rosca
  - 1 kitasato
  - 2 recipientes de vidrio de 2 litros de capacidad para descartar

02/06/2007 07:21

## ANEXO 2

### MATERIAL Y EQUIPO

#### MATERIAL:

Baño María.

Hot Plate.

Micro espátulas.

Papel filtro poro grueso y fino.

Papel PH.

Pinzas para tubos de ensayo.

Termómetro.

Tanque Cromatográfico.

Placas de vidrio recubiertas de silica gel de 15 cm por 15 cm.

Micropipetas de 5  $\mu$ L

Jeringas de 1-3 ml de volumen.

#### EQUIPO:

Balanza analítica

Balanza Granataria

Lámparas de Luz Ultravioleta

Estufa

Centrifugadora

Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución

Compresor de aire

02/06/2007 07:21

Tintas

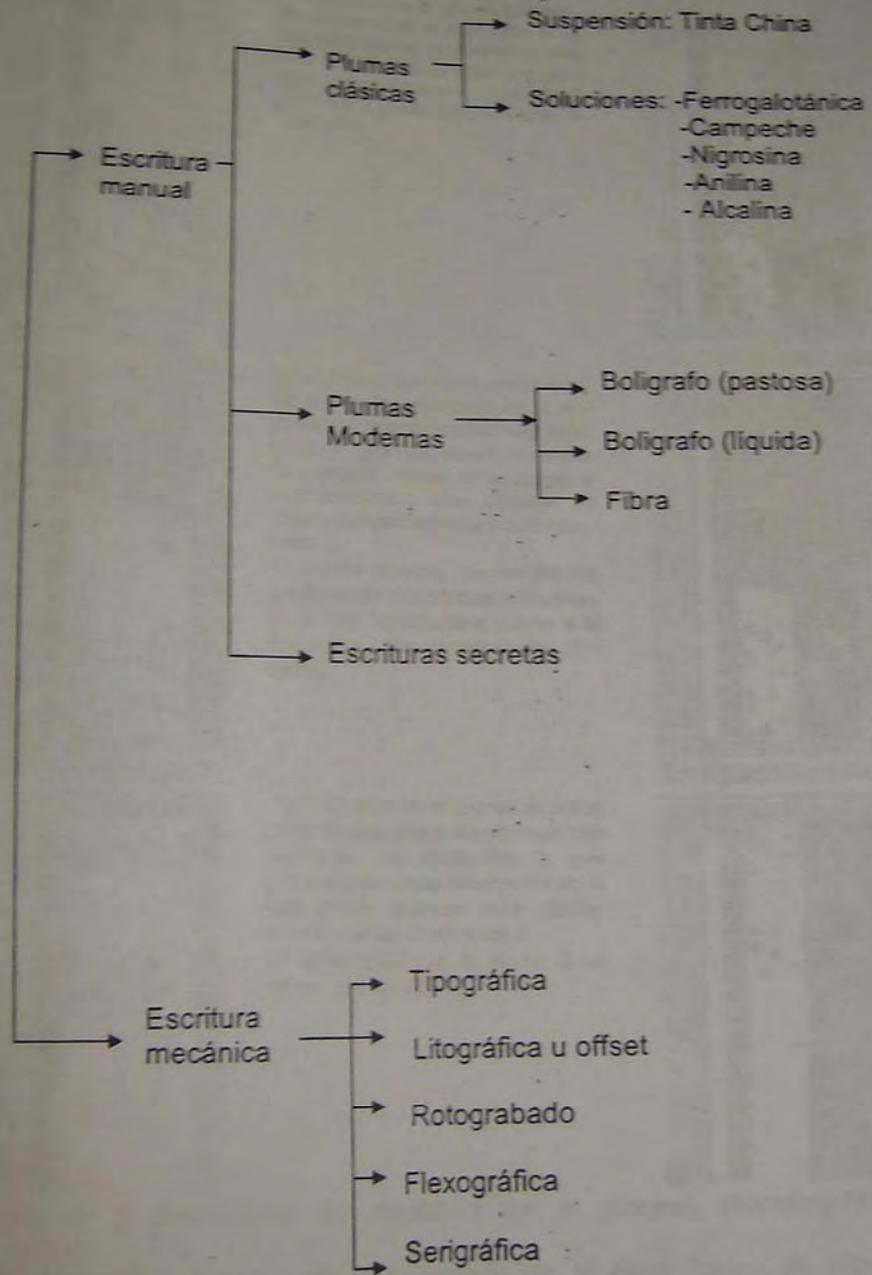
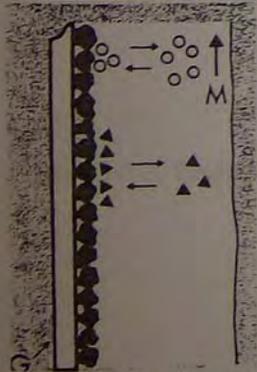
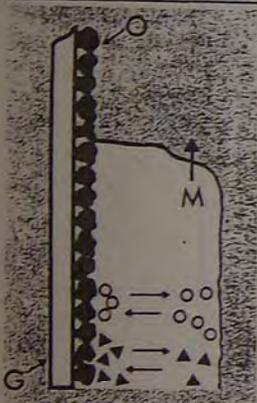
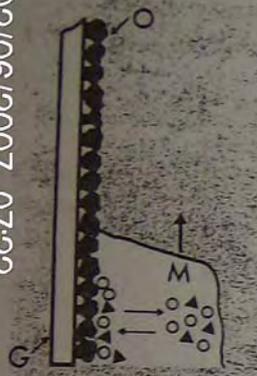


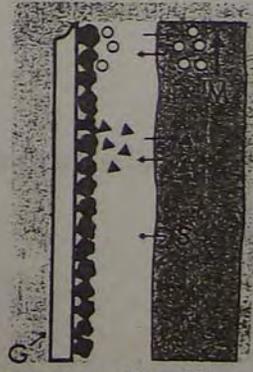
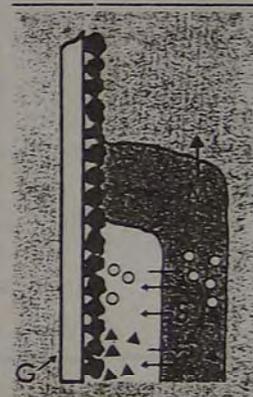
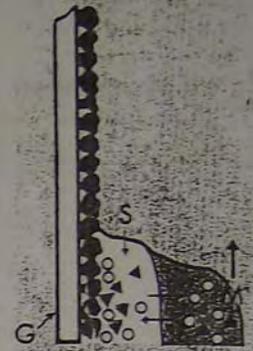
Figura nº 1. Diagrama de clasificación de las tintas.

02/06/2007 07:22



#### ANEXO 4

La componente  $\Delta$  permanece preferentemente en la superficie de la fase estacionaria (adsorción) o bien en la fase líquida estacionaria (partición), mientras que la sustancia  $\circ$  permanece preferentemente en la fase móvil.



Al fluir nueva fase móvil, las moléculas que se encontraban en el eluyente son transportadas más lejos. Alcanzan una fase estacionaria sólida o líquida todavía no ocupada, la cual adsorbe o bien disuelve de nuevo preferentemente a la componente  $\Delta$ .

Al mismo tiempo, las moléculas previamente adsorbidas o disueltas en la fase estacionaria pasan a la fase móvil y son transportadas otro trecho.

Tras múltiples repeticiones de estos procesos las dos sustancias se han separado. Las moléculas  $\circ$ , que permanecen preferentemente en la fase móvil, avanzan más rápidamente que las moléculas  $\Delta$ . En otras palabras: el  $R_f$  de  $\Delta$  es menor que el de  $\circ$ .

Figura nº 2. Fenómenos de equilibrio en el proceso cromatográfico:

adsorción (A) y partición (B). G= soporte de la capa (placa de vidrio),

O= superficie de la fase estacionaria, M= fase móvil, S= fase estacionaria.

ANEXO 5

02/06/2007 07:22

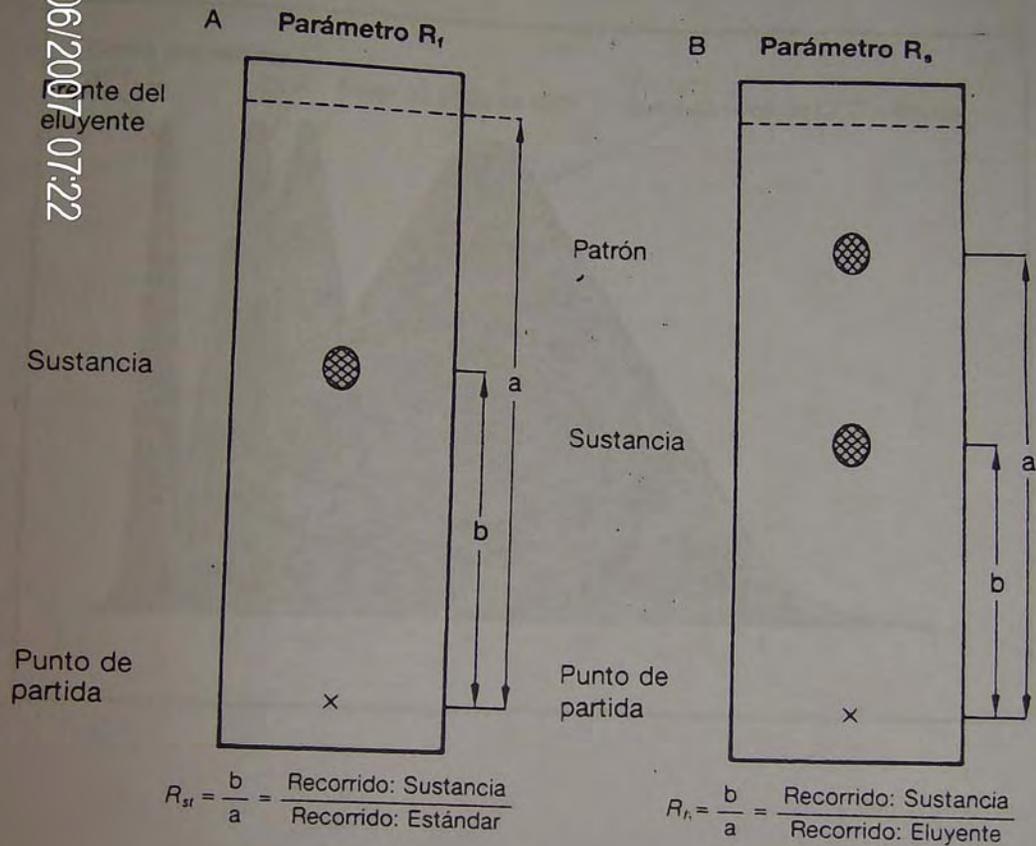


Figura n° 3. Esquema para la determinación de  $R_r$ (A) y de  $R_{st}$ (B).

ANEXO 6

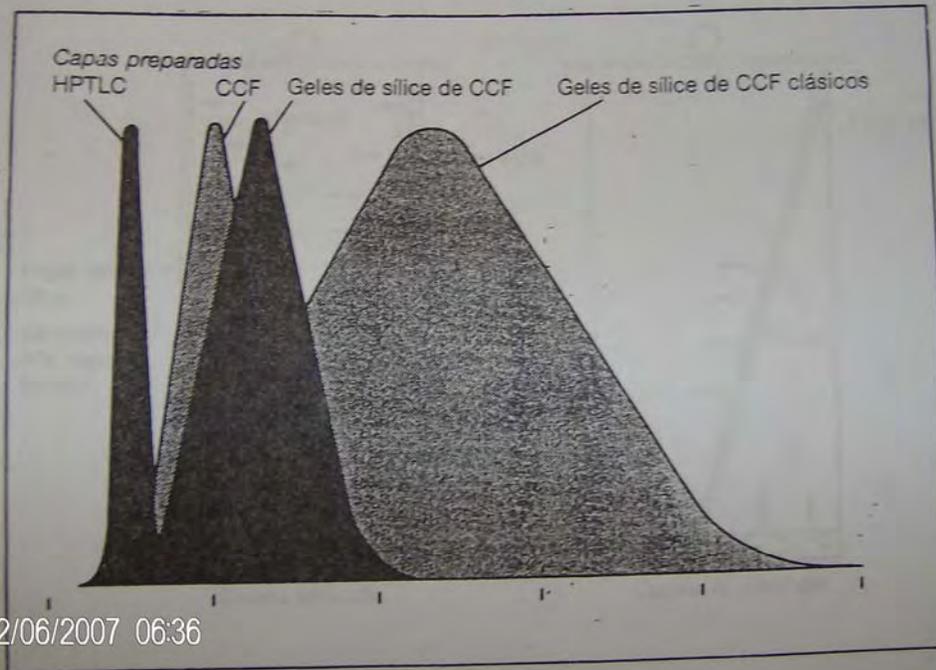
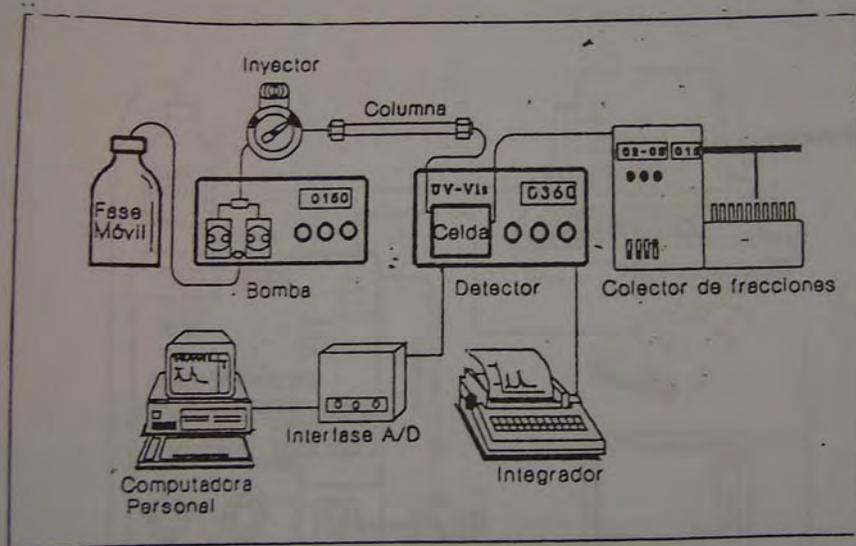


Figura nº 4. distribución de tamaños de grano de sorbente comerciales.



ANEXO 8



12/06/2007 06:36

Figura nº 6. esquema de una posible configuración de un cromatógrafo líquido Isocrático.

ANEXO 9

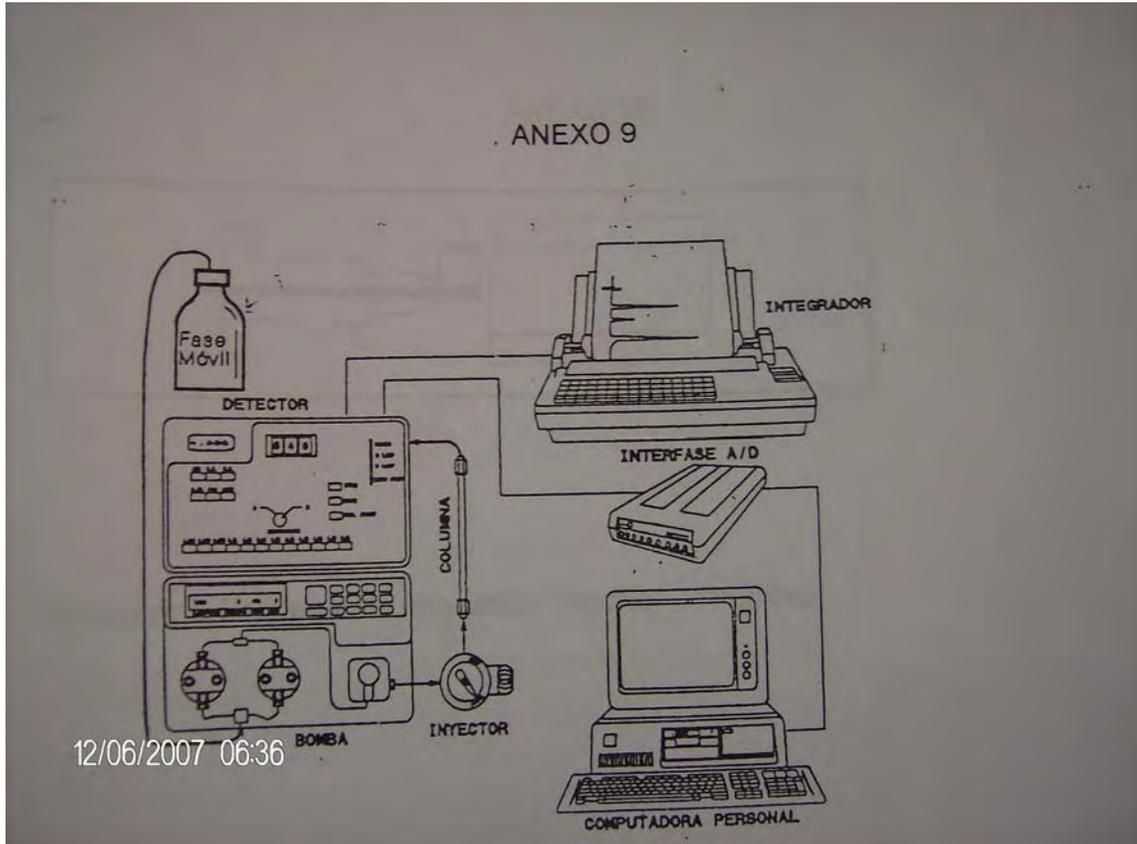


Figura nº 7. Esquema de un cromatógrafo líquido básico modular.

ANEXO 10

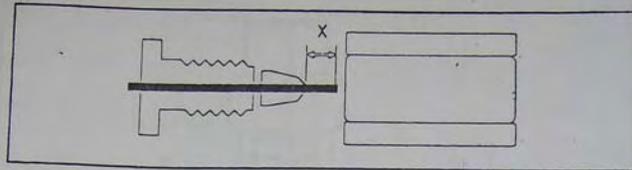
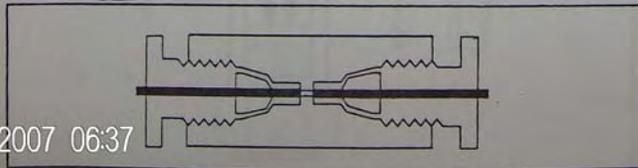


Figura n°8. Esquema de una unión "macho" - "hembra".



12/06/2007 06:37

12/06/2007 06:37

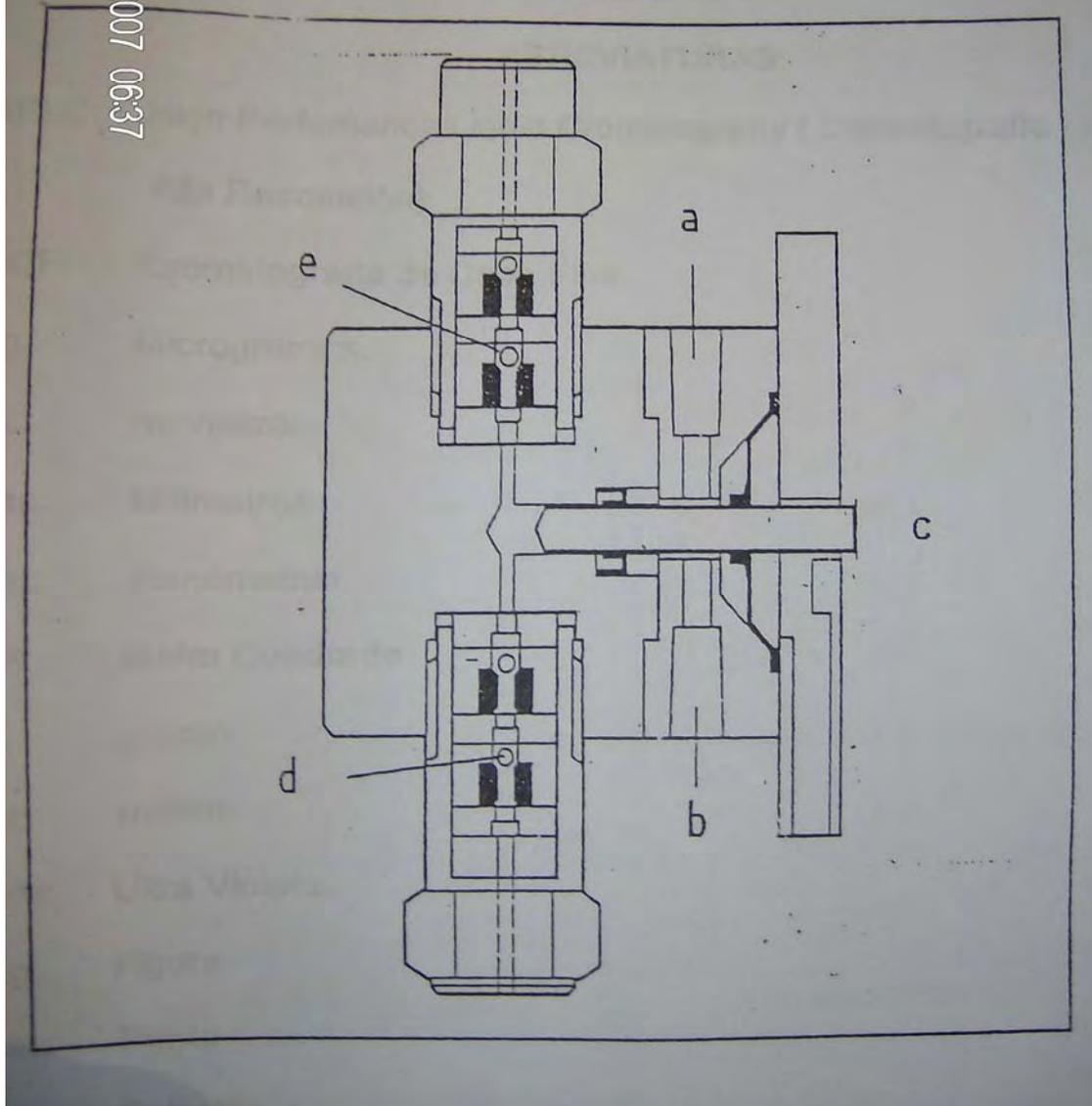


Figura nº 10 Esquema de un cabezol de bombeo de una bomba reciprocante,

- a) y b) entrada y salida de solvente de limpieza del piston,
- b) pistón, d) y e) válvulas de entrada y salida.

02/06/2007 07:39

## ANEXO 12

### ABREVIATURAS

HPLC	High Performance Liquid Chromatography ( Cromatografía Líquida de Alta Resolución).
CCF:	Cromatografía de Capa Fina.
µg:	Microgramos.
µL:	microlitros.
mm:	Milímetros
nm:	Nanómetros
m <sup>2</sup> :	Metro Cuadrado
g:	gramo
ml:	mililitro
U:V:	Ultra Violeta.
Fig.:	Figura
Pto:	Punto
Sln:	Solución

02/06/2007 07:39

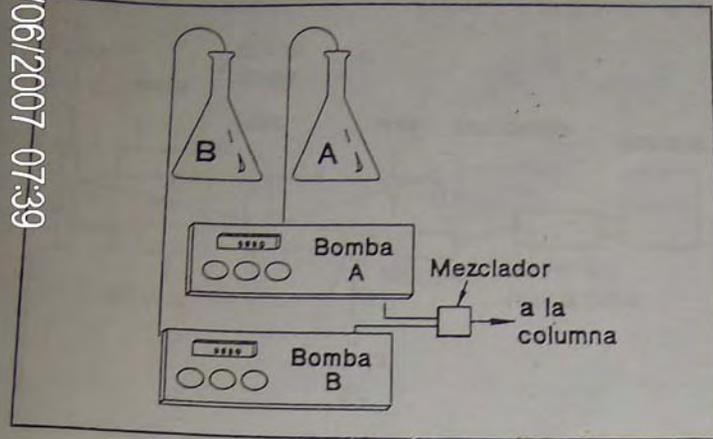


Figura n°13. Sistema de formación de gradiente de alta presión.

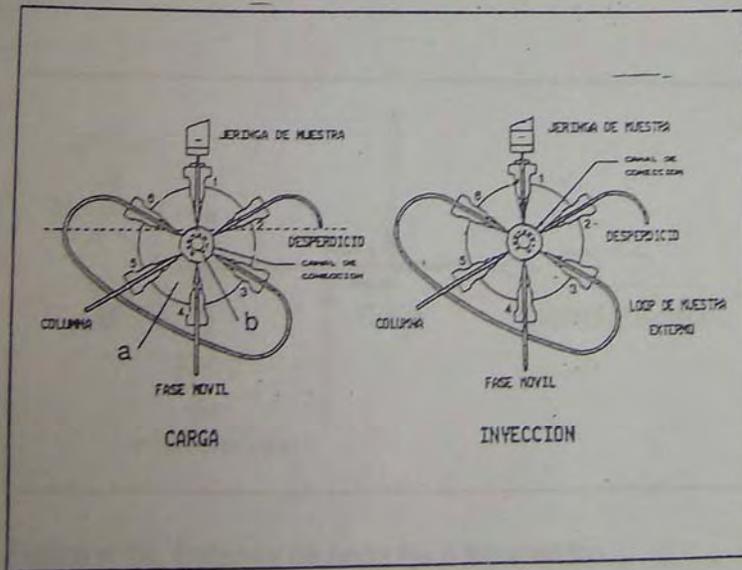


Figura n°14. Válvula de inyección de 6 vías y 2 posiciones.

02/06/2007 07:39

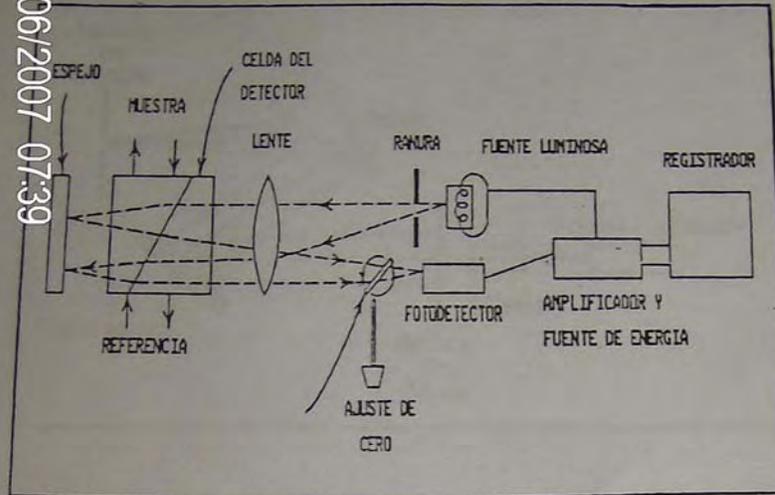


Figura n°15. Detector de índice de refracción de deflexión.

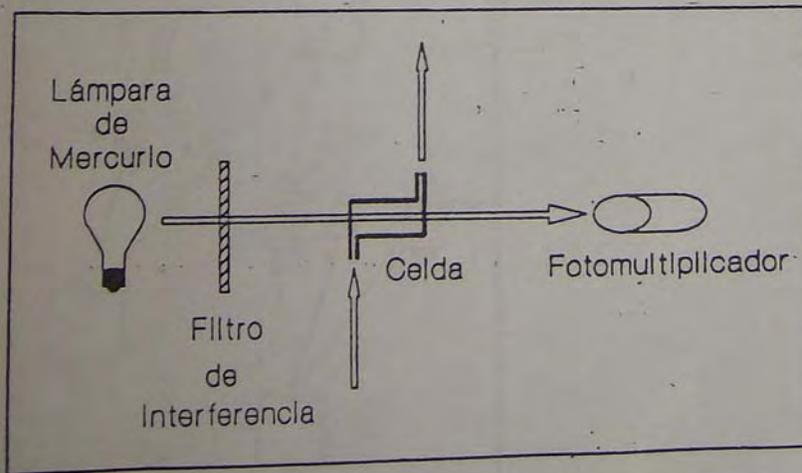


Figura n°16. Detector de onda fija o fotométrico.

ANEXO 15

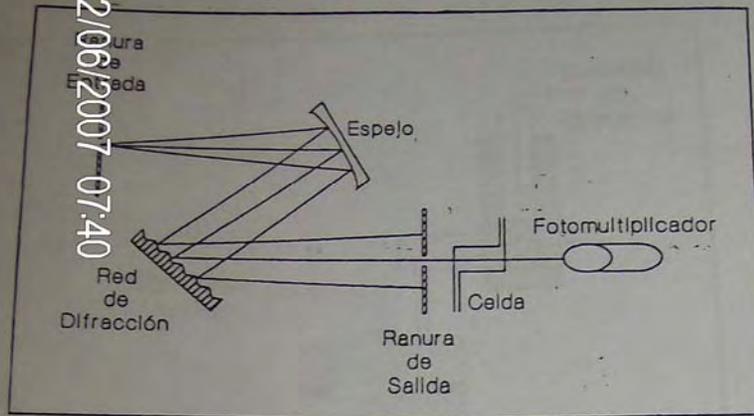


Figura nº17. Detector de onda variable o espectrofotométrico.

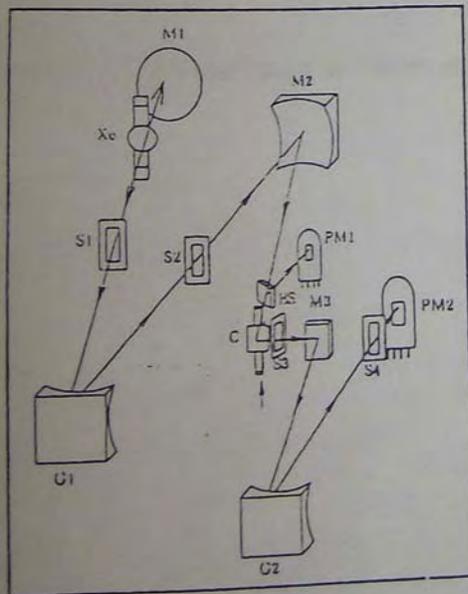


Figura nº18. Detector de fluorescencia RF-535.

02/06/2007 07:40

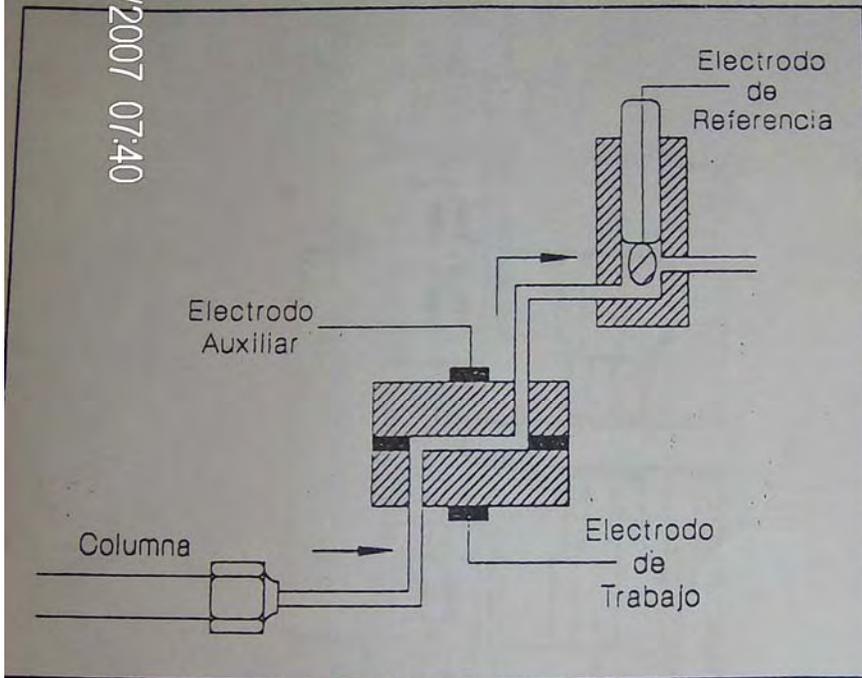


Figura n° 19. Esquema de un electrodo de un detector electroquímico.