

# A 150 AÑOS DEL NACIMIENTO DEL DESCUBRIDOR DE LA CROMATOGRAFÍA:

## MIJAIL SEMIONOVICH TSVET

Dra. María P. Elizalde-González

Centro de Química ICUAP Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Es indudable que la cromatografía es una de las técnicas analíticas más versátiles con las que actualmente cuentan los químicos y no sólo sirve para separar e identificar a los componentes de una mezcla, sino que también es útil en la caracterización de sólidos.

La cromatografía como hoy la conocemos, es el resultado del trabajo de muchos científicos. Sin embargo, se ha reconocido como su descubridor, al científico ruso Mijail Semionovich Tsvet, ya que fue el primero en explicar correctamente y dar las bases del método, así como de asignarle el nombre de CROMATOGRAFÍA.

En palabras del botánico Strain de la universidad de Stanford, Tsvet estuvo destinado a influir sobre la vida de los hombres y los animales de la tierra.



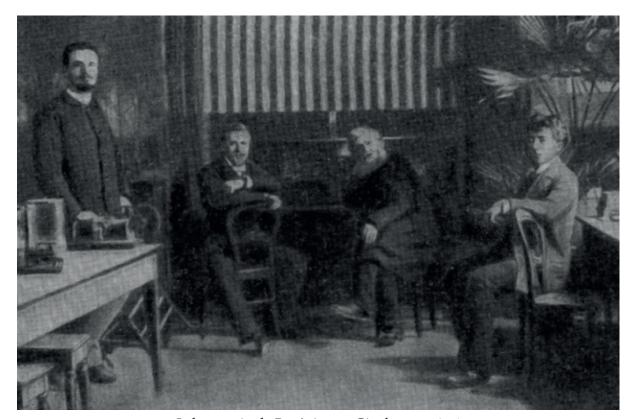
### De la cuna a la universidad

Tsvet nació en Asti, provincia de Piamonte al norte de Italia, el 14 de mayo de 1872 a las 11.30 horas en la habitación 14 del Hotel Real localizado en la plaza Alfieri número 5, donde sus padres vacacionaban. Su padre fue Semion Nikolaeivich Tsvet, alto oficial en el departamento de finanzas de Rusia, liberal, abierto al mundo y viajero. Su madre fue María Dorosa, de raíces italianas, quien murió muy joven por lo que el pequeño Michelle fue llevado a Suiza por su padre, donde en Lausana aprendió las primeras letras en francés en el Colegio Guillard y después asistió a la escuela Saint Antoni, la cual concluyó en 1891 como bachiller en ciencias. Durante sus años escolares, su padre lo visitaba frecuentemente porque también vivía en Suiza viajando todo el tiempo como representante comercial de Rusia. Sus hermanos Natalia, Nadeshda, Vera, Aleksander y Vladimir nacieron del segundo matrimonio de su padre.



Tsvet a los 4 años en Lausana

En 1891 ingresó a la Universidad de Ginebra y se interesó por la química, la física y la biología. Por esta razón, pasaba la mayor parte de su tiempo en el laboratorio de botánica, donde comenzó a investigar la anatomía de las plantas. Por su trabajo titulado "Acerca de la anatomía de las plantas", guiado por el profesor Chodat, obtuvo a los 22 años el Premio Davy, dejando un legado de conocimientos sobre las solanáceas. Pronto fue aceptado en el laboratorio de botánica del profesor Thury para estudiar el doctorado en la temática de la fisiología celular proponiéndose estudiar la estructura celular y el movimiento del protoplasma en la primera parte de la tesis y estructura del cloroplasto en el segundo capítulo. Aquí definió los problemas que más adelante fueron la esencia de su actividad científica: el estudio de la clorofila, de la cual Darwin opinaba que era la más interesante de las sustancias químicas orgánicas.



Laboratorio de Botánica en Ginebra en 1876

### La ardua evolución a profesor

Cuando Tsvet terminó su doctorado en julio, su padre decidió regresar a Rusia y promovió su cambio. Fue entonces nombrado presidente de la Cámara del Tesoro en Crimea. La familia se mudó entonces a Simferópol, donde Tsvet terminó la escritura de su tesis doctoral para remitirla a Ginebra y dedicarse a buscar trabajo. La primera opción fue el jardín botánico de Odesa, plaza que ocupó un corto tiempo.

En octubre de ese mismo año, la universidad de Ginebra le otorgó el grado de Doctor en Ciencias Naturales, con la tesis titulada "Investigación de la fisiología de las plantas". Esto le dio el valor para mudarse en diciembre finalmente a San Petersburgo. Así ingresó en 1896 al laboratorio de física de la Academia de Ciencias de San Petersburgo y continuó investigando ahí la anatomía y fisiología de las plantas. Los primeros años en Rusia no fueron fáciles. Su situación laboral se complicó porque no le fue reconocido su doctorado de Ginebra y se le exigió un título de Magister y de Doctor. Tsvet se desmotivó y pensó salir de Rusia, se sentía extraño en su propia casa, como escribía en cartas a sus amigos. Sin embargo, se propone obtener ambos títulos para cumplir su anhelo de dar clases y llegar a ser profesor asociado en una universidad. Así inicia en 1897 su tesis de Maestría en San Petersburgo, eligiendo investigaciones de fitofisiología en los laboratorios de la Academia de Ciencias de San Petersburgo y para mantenerse, se dedica paralelamente a impartir clases de botánica a mujeres.

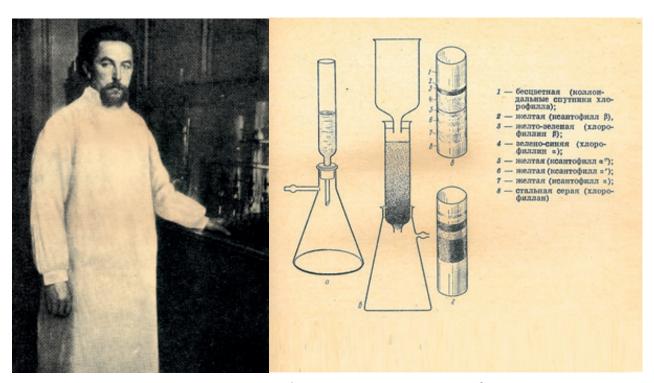
Durante 1899 y 1900, acude regularmente a la universidad de Kazán para presentar los exámenes de maestría. Ya en ese año, se presenta con la ponencia "Acerca de la naturaleza de la clorofila" en una sesión de la Sección de Botánica de la Sociedad de Científicos naturalistas, a la que ingresa como miembro. Pronto, en 1901 presenta en la universidad de Kazán el examen de Magister en Botánica con la tesis "Estructura fisicoquímica de la partícula de la clorofila". Prácticamente todo el trabajo



de su vida estuvo centrado en investigaciones relacionadas con la clorofila, porque a diferencia de muchos científicos de fines del siglo XIX, Tsvet siempre estuvo convencido que la clorofila no era una sustancia simple.

Ya mejor asentado en San Petersburgo, presenta la ponencia titulada "Métodos y tareas de la clorofila" en el XI Congreso de Científicos Naturalistas y Médicos Rusos en 1901. Aquí, por primera vez menciona en público el "método de adsorción".

Recibe entonces una oferta de trabajo en Alemania, misma que no acepta. Aun así, viaja a ese país en 1902 para conocer los métodos de enseñanza de la botánica en las universidades alemanas y es aceptado como miembro de la Sociedad Alemana de Botánica. Al concluir su estancia, desplaza su residencia a Varsovia donde trabajaría, primero como asistente de la cátedra de anatomía y fisiología de las plantas; y después como docente y profesor investigador.



En Varsovia en 1913 con los primeros sistemas cromatográficos

### Nacimiento de la Cromatografía

En 1903 expone por primera vez el método de análisis por adsorción en la ponencia "Acerca de una nueva categoría de fenómenos de adsorción y su aplicación en el análisis bioquímico". Esto ocurre en la sesión del 8 de marzo de la Sección de Biología de la Sociedad de Investigadores Naturalistas de Varsovia.

Esta fecha debe considerarse el nacimiento de la cromatografía porque fueron publicadas las memorias, de las cuales puede traducirse literalmente:

"En la presente parte de esta revista, he reportado notables adsorciones sobre sustancias sólidas que los pigmentos clorofílicos presentan en éter de petróleo o en disolución de disulfuro de carbono. Ahí se demuestra cómo uno puede obtener separaciones importantes por adsorción fraccional, Por ejemplo; separación cuantitativa del caroteno y de otros pigmentos de hoja. Más aplicaciones de este método serán presentadas en artículos siguientes. Aquí será discutida una segunda y más significativa modificación del análisis de adsorción, que he designado como método cromatográfico"



Sin embargo, los trabajos completos fueron publicados hasta 1905, lo que causa discrepancias documentales de la fecha en que la cromatografía se abrió al mundo. Además, la comunidad científica internacional no tuvo manera de estudiar publicaciones en idioma ruso.



# 51. M. Tswett: Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen.

Eingegangen am 21. Juni 1906.

En ese tiempo, el trabajo con fracciones de pigmentos se basaba en la caracterización de la forma de los cristales, la solubilidad y absorción de luz ultravioleta. No se consideraban diferencias estructurales, ni mucho menos el isomerismo. Los carotenoides era el nombre colectivo de los hidrocarburos carotenos y las xantofilas eran los pigmentos oxigenados.

De 1903 a 1906, Tsvet imparte clases en Alemania en las universidades de Berlín y Kiel, pero sigue evaluando intensivamente los resultados obtenidos en su paso por San Petersburgo. No se alejó nunca del tema de la clorofila y siguió buscando un método para separar compuestos complejos. Con cientos de experimentos, llegó a encontrar un método, cuya simplicidad fue una desventaja porque no fue apreciada por sus contemporáneos.

En sus notas Tsvet escribe: "Cuando una disolución de pigmentos verdes en éter de petróleo se percola por una columna de adsorbente, los pigmentos se distribuyen en varias zonas coloreadas. Esta separación se considera prácticamente concluida cuando después de que la disolución ha percolado totalmente, sigue percolando el disolvente puro a lo largo de la columna. De manera similar a como se separa la luz blanca al refractarla en un prisma, así se separan los diferentes componentes de una



mezcla de pigmentos y se les puede determinar cualitativa y cuantitativamente. A este preparado coloreado lo he llamado "cromatograma" y al respectivo método de análisis, "método cromatográfico" Puede parecer extraño que Tsvet restringiera sus métodos a sustancias coloreadas, pero posteriormente aclaró que era evidente que los fenómenos de adsorción descritos anteriormente no se limitaran a compuestos clorofílicos y cabía suponer que todos los tipos de compuestos cromáticos e in color o s se hallaban sujetos a las mismas leyes.

Entre junio y julio de 1906 publicó, ya en alemán, en la revista Berichte de la Sociedad Alemana de Botánica, dos trabajos con los que fue aceptado internacionalmente como descubridor de la cromatografía a partir de ese año. El primero llevó por título "Análisis por adsorción y método cromatográfico. Aplicación a la química de la clorofila", mientras que el segundo se titula: "Estudios fisicoquímicos de la clorofila. Las adsorciones". Así, la palabra "хроматография (cromatografía)" aparecía por primera vez en un idioma diferente al ruso. Sólo en ese año, en esa revista, Tsvet publicó 4 trabajos y en las publicaciones de ese número, fue citado más de 20 veces. Post-mortem, el Journal of Chemical Education publicó, apenas en 1967, en inglés, el trabajo original de 1903 donde la cromatografía había nacido.

### La cúspide sin declive

En 1907, Tsvet acepta una plaza de profesor suplente de botánica y agricultura en el Instituto de Veterinaria de Varsovia en cuya biblioteca conoció a quien fuera su esposa, Elena Aleksandrovna Trusevich. En total, Tsvet vive 14 años en Varsovia, antes parte del imperio ruso. Fue su época más productiva y feliz. Siempre inquieto, persistente y con la aspiración de llegar a ser Profesor, se cambia al Instituto Politécnico de Varsovia, donde es contratado como docente de botánica, en la sección de química y geología.



Elena y Mijáil en Varsovia



El 31 de diciembre tiene lugar el XII Congreso de Científicos Naturalistas y Médicos Rusos, donde Tsvet presenta la ponencia "Nuevo método fisicoquímico de análisis de mezclas de pigmentos y su aplicación en la investigación de la clorofila" donde muestra el dispositivo cromatográfico que se ha convertido hoy en refinados cromatógrafos con colector de fracciones.



Sistema cromatográfico con colector de fracciones en 1910

Tsvet lo describe así: "...para obtener la composición de una mezcla de pigmentos en pocos minutos, uno puede usar este aparato provisto con un manómetro y una botella que sirve como una reserva de aire capaz de producir cierta presión a través del tubo por medio de una perilla de hule. ... Este aparato es muy útil para la rápida separación de pequeñas cantidades de disolución de pigmento. Cuando se requiere obtener grandes cantidades para poder estudiar cada pigmento separadamente, se prefiere otro arreglo experimental ..."

Con todas las investigaciones realizadas en más de una década, por fin defiende una segunda tesis de doctorado el 28 de noviembre de 1910, misma que le confiere el título ruso de Doctor en Botánica. Su tesis "Clorofilas en el mundo vegetal y animal" es publicada también como libro y es galardonada con el premio Ajmatov de la Academia de Ciencias de San Petersburgo.





Доктор ботаники М. Цвет (Doctor en botánica M. Tsvet) Wikimedia commons

En 1914 salen a la luz sus 2 últimas publicaciones: la primera "Acerca de la antocianina sintética" editada simultáneamente en alemán y en ruso, y la segunda "Para conocimiento del camaleón vegetal" acerca de la decoloración de antocianinas frutales con alcoholes en una relevante descripción de las reacciones químicas ácido- base y su relación con la fisiología vegetal. En realidad, su productividad científica fue de aproximadamente 15 años, durante los cuales publicó 40 artículos y 1 libro. De ellos, sólo 3 o 4 obras fueron estrictamente en el campo de la botánica y el resto son de gran contenido e interés químico.

Con buen ritmo en su productividad científica, Tsvet va a Odesa de vacaciones en verano de 1915 y por la situación de la Primera Guerra Mundial, el ejército alemán ocupa Varsovia. Tsvet ya no puede regresar y se desplaza a Moscú. Aplica para Profesor de botánica en Samara y Novosibirsk sin lograr una contratación porque la guerra está en su apogeo. En 1916, su instituto polaco es evacuado a Nizhni Nóvgorod (hoy Gorki) y Tsvet se mueve a la nueva localidad. Con condiciones adversas para la investigación, decide entonces cambiarse a Estonia, en donde finalmente es contratado como "Profesor ordinario" de la universidad de Yúriev (hoy Tartú).

Contrae una enfermedad pulmonar y se retira casi un año a Beslan, en el Cáucaso. Ahí permanece hasta septiembre que inicia actividades en la Universidad de Tartú, la cual también es evacuada y Tsvet escoge Vorónezh como nueva residencia por su buen clima. Ingresa a la universidad y organiza la cátedra de botánica que inicia labores en octubre de 1918. Enferma nuevamente y muere el 26 de junio de 1919. Es enterrado en el monasterio Alekseiev, pero sus restos se perdieron durante la 2ª. Guerra Mundial porque el monasterio fue destruido.

Algunas partes de la biografía de Tsvet se conocen por las cartas a su esposa que actualmente están en la biblioteca del jardín botánico de la Universidad de Ginebra, guardadas celosamente por ella durante los 3 años que le sobrevivió.



### Trascendencia vs. obliteración

Tsvet no inventó la adsorción!!! El mérito de Tsvet es la generalización de la adsorción como un método analítico y la investigación detallada del papel que juegan tanto los adsorbentes, como los disolventes en el método. Probó sistemáticamente un gran número de disolventes capaces de extraer los pigmentos de la materia vegetal y más de 100 sólidos aptos para adsorber: óxidos, hidróxidos, haluros, sulfuros, cloratos, yodatos, nitritos, fosfatos, molibdatos, permanganatos, sulfatos, sulfitos, silicatos y cianuros. Durante su corta vida, siempre se refirió a su trabajo de adsorción de 1901, como el origen de su método cromatográfico. Al tratarse de un fenómeno, el de adsorción, que ya existía, pero que no se conocía como causa de la separación cromatográfica, Tsvet no inventó la cromatografía, sino que la descubrió.

En todos los descubrimientos importantes, es frecuente encontrar antecedentes. Ya Aristóteles había reflexionado sobre la capacidad de la arena de mar para separar sustancias y la primera evidencia del fenómeno de separación se puede atribuir a Plinio, quien en su obra Naturalis Historia, describe cómo identificar dos tintas, una de hierro que adulteraba a la más valiosa, la de cobre, remojando el papiro en una infusión de nuez.

En la era moderna, existen experimentos y aplicaciones que pueden ser visualizadas en relación con la cromatografía. En el siglo XIX, Runge y Goppelschröder usaron tiras de papel y paño para dividir manchas coloreadas y lograron así desarrollar una técnica parecida a la cromatografía en papel, a la cual llamaron análisis capilar. Read observó que era posible la separación de alcaloides en una columna de caolín, usando la idea de la columna empacada de Williams y Thomson. Con fines de purificación, Day clarificó aceite al borde del fin del siglo y Kwitka, Engler y Albrecht fraccionaron petróleo. Sin embargo, a pesar de que Day reconoció el potencial analítico del proceso investigado, él y sus colegas interpretaron incorrectamente la base fisicoquímica de la separación, llamándole "proceso de difusión capilar". Esta es la razón principal por la cual en la actualidad Tsvet y no Day, es reconocido como el descubridor de la cromatografía de adsorción. Si bien algunos investigadores estuvieron involucrados con una cromatografía incipiente, la persona que debe ser reconocida con la autoría, no puede solamente utilizar o describir el fenómeno, sino que debe ser capaz de interpretar y aplicar el conocimiento para propósitos específicos.

El descubrimiento de Tsvet ha sido de tal trascendencia, que se podría pensar equivocadamente que recibió premios y que le fue reconocida su aportación. Por ejemplo, de 1906 y hasta 1931, la columna de Tsvet se utilizó sólo en pocas y esporádicas investigaciones porque a su muerte su contribución científica fue rechazada por las razones descritas por Livengood en 2009 en su artículo de historia y filosofía de la ciencia:

Básicamente los químicos y botánicos no entendieron el funcionamiento del método cromatográfico y cometieron errores cuando usaron la nueva técnica.

El idioma ruso era inaccesible para la mayoría de los investigadores europeos. Willstäter encargó la traducción de la tesis doctoral de Tsvet para su uso personal, pero nunca se publicó.

Se mencionaba que se trababa de un novato ruso modificando la química de pigmentos y la química analítica.

Según Molisch y Kohl el método de Tsvet era superfluo y lo ignoraron, ponderando el uso de los métodos "clásicos"

El destino ciertamente fue trágico por el contexto histórico de la primera Guerra Mundial que saboteó su descubrimiento.

El químico Willstäter y el botánico Marchlewski se opusieron rotundamente a los trabajos de Tsvet acerca de la separación de todos los componentes de la clorofila y su recuperación en forma pura.



Willstäter había obtenido el premio Nobel de química por sus investigaciones de la química de pigmentos de plantas y particularmente de la clorofila, así que era natural que su opinión jugara un importante papel en la aceptación y aplicación de los métodos de Tsvet.

Tsvet era un botánico y no un químico orgánico y esto lo convertía en un extraño en la cerrada sociedad de prominentes científicos europeos.

Los químicos llegaron a objetar la pureza de las sustancias separadas por análisis cromatográficos argumentando la ausencia de técnicas clásicas de purificación como la cristalización.

Algunos investigadores opinaban que el análisis era polémico y sin contribución a la química y a la biología, negando la utilidad de las columnas cromatográficas porque se preferenciaba el aislamiento de las sustancias principales sobre la separación de todos los componentes.

El método de cristalización estaba arraigado y era considerado confiable.

El método era tan novedoso y original que estaba fuera de la rutina de los químicos.

Con todo y todo, Willstäter entregó a Kuhn una traducción de los trabajos de Tsvet, con los cuales Kuhn implementó columnas y pudo demostrar que el pigmento de la zanahoria era una mezcla de carotenos.

En este desfavorable contexto histórico, con la muerte de Tsvet y la obliteración como el inventor de la cromatografía, los investigadores Martin y Synge fueron galardonados después, en 1952 con el Premio Nobel por la invención de la cromatografía de partición, después de casi 50 años del artículo de Tsvet que abrió la cromatografía a las ciencias naturales. Fue hasta 1969, por la conmemoración de los 50 años de su muerte y a iniciativa del profesor Kiselev, que se colocó una placa en la casa 20 de la calle Yalutinska que dice "aquí vivió el prominente científico ruso Mijail Semionovich Tsvet, fundador de la cromatografía". En 1972, conmemorando 100 años de su nacimiento, se colocó también una placa en la casa 25 de la calle Targova, donde antes estuvo el Laboratorio de Biología de la Academia de San Petersburgo. La inscripción dice: "En este edificio vivió y trabajó entre 1897 y 1902 el ilustre científico ruso Mijail Semionovich Tsvet, fundador de la cromatografía. También en Vorónezh y Tartú, se instaló una placa, así como en Asti, donde nació.

En el cementerio donde fue sepultado, más tarde se erigió una placa memorial con el epitafio "Tsvet, Mijail Semionovich, descubridor de la cromatografía que separa moléculas y une a las personas"



Placa memorial en el monasterio Alekseiev

### Los logros de la cromatografía

En vida Tsvet recibió poco o nulo reconocimiento y él mismo no consideró la gran influencia de su descubrimiento en el desarrollo de la química, la bioquímica y la tecnología.

En los años treinta del siglo pasado se cuestionó hasta el nombre dado a la cromatografía. Se sugirió como "análisis Tsvet" o análisis por adsorción tsvetiana por considerar que aparentemente no servía para compuestos incoloros. Se propuso también el término "colorografía". En los sesentas, la IUPAC no aceptó cambiar el nombre y sólo reguló el nombre de los sistemas cromatográficos: gas-líquido y gas adsorción. Después, en los setentas se sugirieron los términos sorptograma y sorptografíar por el trasfondo de la adsorción. A 100 años del descubrimiento de la cromatografía, el nombre Tsvetografía estaba cobrando fuerza. Sucedió en los foros de cromatografía existentes, donde el profesor Ettre reiteradamente defendió la voluntad de Tsvet y persuadió para dejar el nombre original de cromatografía, que dicho sea de paso oculta sutilmente el nombre de Tsvet, ya que el prefijo griego "chromos" presente en la palabra cromatografía, se traduce como "color" que en ruso se dice "tsvet".

Después de muchos años, se comenzó a demostrar el reconocimiento nacional e internacional al botánico ruso. En 1969 se celebró el primer Simposio Memorial Internacional en Lausana, donde Tsvet pasó su infancia y por el 50 aniversario de su muerte se celebró en Milán un simposio italo-ruso. En la profundidad de la guerra fría en 1972 y a un siglo de su nacimiento, se celebró en Leningrado, hoy nuevamente San Petersburgo, un simposio al que asistieron más de 1200 científicos de 13 países, entre los cuales estuvieron antiguos estudiantes de Varsovia como invitados especiales. Ya en el siglo XXI, Tsvet recobró vigencia durante el 3er. Simposio de Separaciones en Biociencias celebrado en Moscú en 2003 en conmemoración de los 100 años del descubrimiento de la cromatografía.



A los 75 años del descubrimiento de la cromatografía, se instituyó en el simposio de Tallin, la medalla Tsvet, con la cual han sido reconocidas las aportaciones de cromatografistas como: Hamilton, Guiochon, Karel, Lederer, Macek, Patra, Pool, Schomburg, Scott y Zlatkis por mencionar a unos cuantos.



Medalla Tsvet instaurada en 1978

Tsvet fue nominado al Premio Nobel en 1918 y no se le otorgó. Sanger lo obtuvo en 1958 por la secuenciación de proteínas usando cromatografía en papel. Después secuenció ácidos nucleicos, ganando otra vez el Nobel en 1980. Otro Nobel, el de química en 1972 de Moore y Stein, se valió del renacimiento de la cromatografía en sus investigaciones del centro activo de la molécula ribonucleasa. Sin duda, muchos ganadores del Nobel en ciencias naturales usaron la cromatografía en algún momento durante sus investigaciones.

Esta crónica acerca de la vida y obra de M.S. Tsvet y su papel en el desarrollo de la investigación, demuestra la aseveración de Claude Bernard: "El progreso de la ciencia frecuentemente depende del descubrimiento de buenos métodos"

#### Referencias

- 1. K Sakodynskii. The life and scientific works of Michael Tswett. J. Chromatogr 73 (1972) 303.
- 2. EM Senchenkova. Mijail Semionovich Tsvet 1872 1919. Ed. Nauka (1973) 306 pp.
- 3. LS Ettre, KI Sakodynskii. M. S. Tswett and the Discovery of Chromatography. Early Work (1899-1903). Chromatographia 35 (1993) 223.
- 4. M Astorga Cantú. Historia de la Cromatografía. Tesina UAP (1993).
- 5. LS Ettre. M.S. Tswett and the Invention of Chromatography. LC&GC September (2003) 1.
- 6. C Haustein. The tragic triumph of MS Tswett. LC & GC 21 (2003).



- 7. J Livegold. Why was M. S. Tswett's chromatographic adsorption analysis rejected? Studies in History and Philosophy of Science 40 (2009) 57.
- 8. JF Gal. An Excursion into the History of Chromatography: Mikhail Tswett, From Asti, Italy, to Tartu, Estonia. Chromatographia 82 (2019) 519.
- 9. EP Altova, I Hargittai. Mikhail S. Tsvet-Pioneer of chromatography-150 years from his birth. Structural Chemistry 33 (2022) 1.
- 10. MP Elizalde-González. Mijaíl Semeionovich Tsvet. 1872-1919. Su vida y su obra. (2022) https://youtu.be/1JgqBo0hsUM

