

Cromatografia

Separação de solutos de uma solução por diferenças de coeficientes de partição

Princípio: partição de um soluto entre duas fases sendo uma sólida ou *estacionária* e outra *móvel*, líquida ou gasosa.

caso especial de micelas:= microfase/pseudofase/fase microdispersa/fase pseudo-estacionária

imagine um duto cheio de material sólido poroso por onde flui um líquido ou um gás:

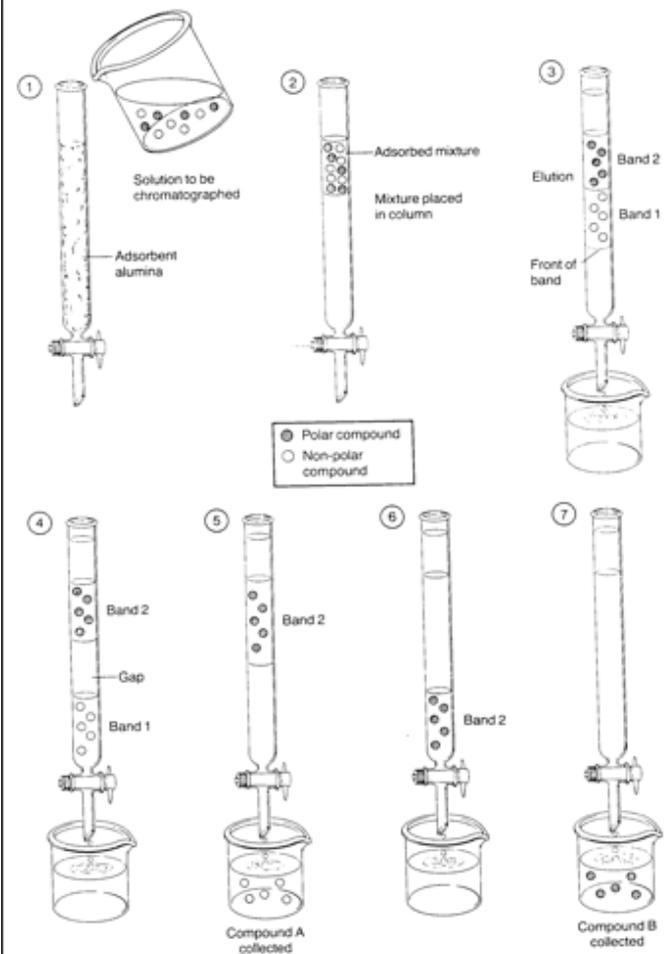
Cromatografia de coluna(CC)

cromatografia de camada delgada (CCD ou TLC em inglês)

cromatografia gasosa (CG ou GC em inglês)

cromatografia líquida de alta pressão (CLAE ou HPLC em inglês)

etc



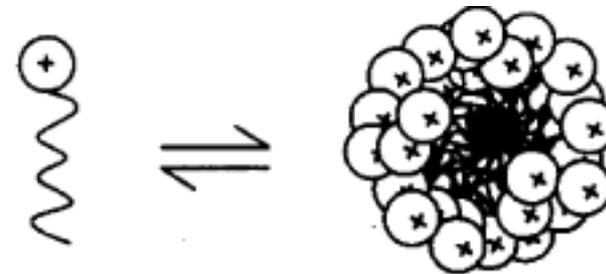
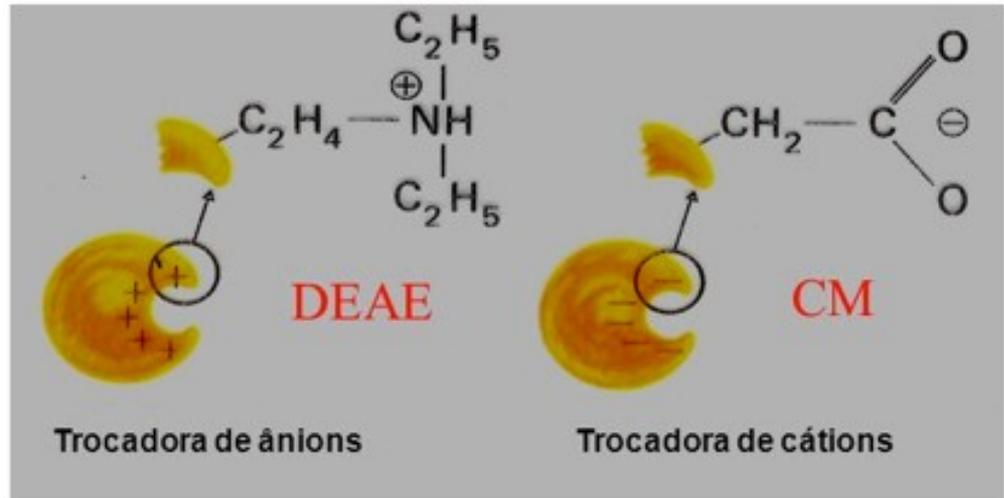
o equilíbrio é constantemente restaurado pela fase móvel e os solutos são separados pelas diferenças de ***mobilidade***.



$$P \approx [S_d] / [S_a]$$

sobre a fase estacionaria: polar, apolar, micelar, troca iônica, gel poliacrilamida, etc

fase polar: cromatografia comum
fase apolar: cromatografia reversa
fase micelar



Cromatografia de Camada Delgada - CCD

Thin Layer Chromatography - TLC

Princípio CCD: partição de um soluto entre duas fases (como na extração) sendo uma **estacionária** e uma **móvel**; o equilíbrio é constantemente deslocado pela fase móvel e os solutos são separados pelas diferenças de mobilidade impregnada em placa de vidro ou alumínio

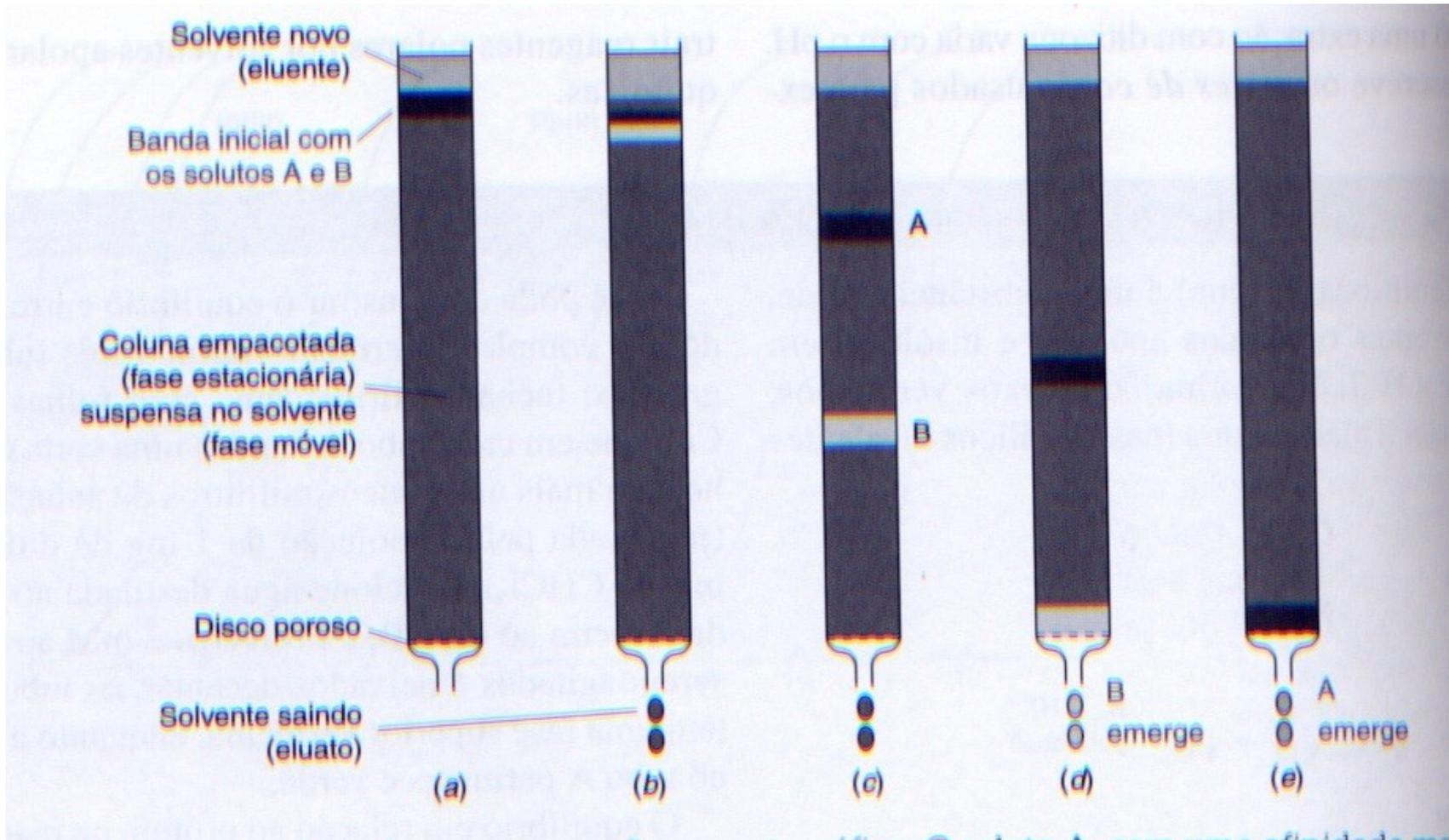
fase móvel (solvente) movido pelo efeito capilar pela placa

Cromatografia: Procedimento para a purificação de substâncias utilizando-se uma Fase Estacionária e uma Fase Móvel

Cromatografia Gasosa; Cromatografia de Coluna; Cromatografia Líquida de Média Pressão; Cromatografia de Alta Eficiência (CLAE - HPLC e U(H)PLC); Cromatografia de Camada Delgada (CCD); Cromatografia de Papel; etc.

Cromatografia de Coluna

Imagine um tubo de vidro contendo sílica ("areia") segura por um pouco de lã de vidro na saída; a sílica está imersa num solvente; colocando uma mistura de A e B no topo da coluna e criando-se um fluxo constante de solvente (abrindo-se a saída e adicionando-se no topo) observa-se a separação: A é mais adsorvido que B



Interações

vários tipos de interação definem as várias cromatografias:

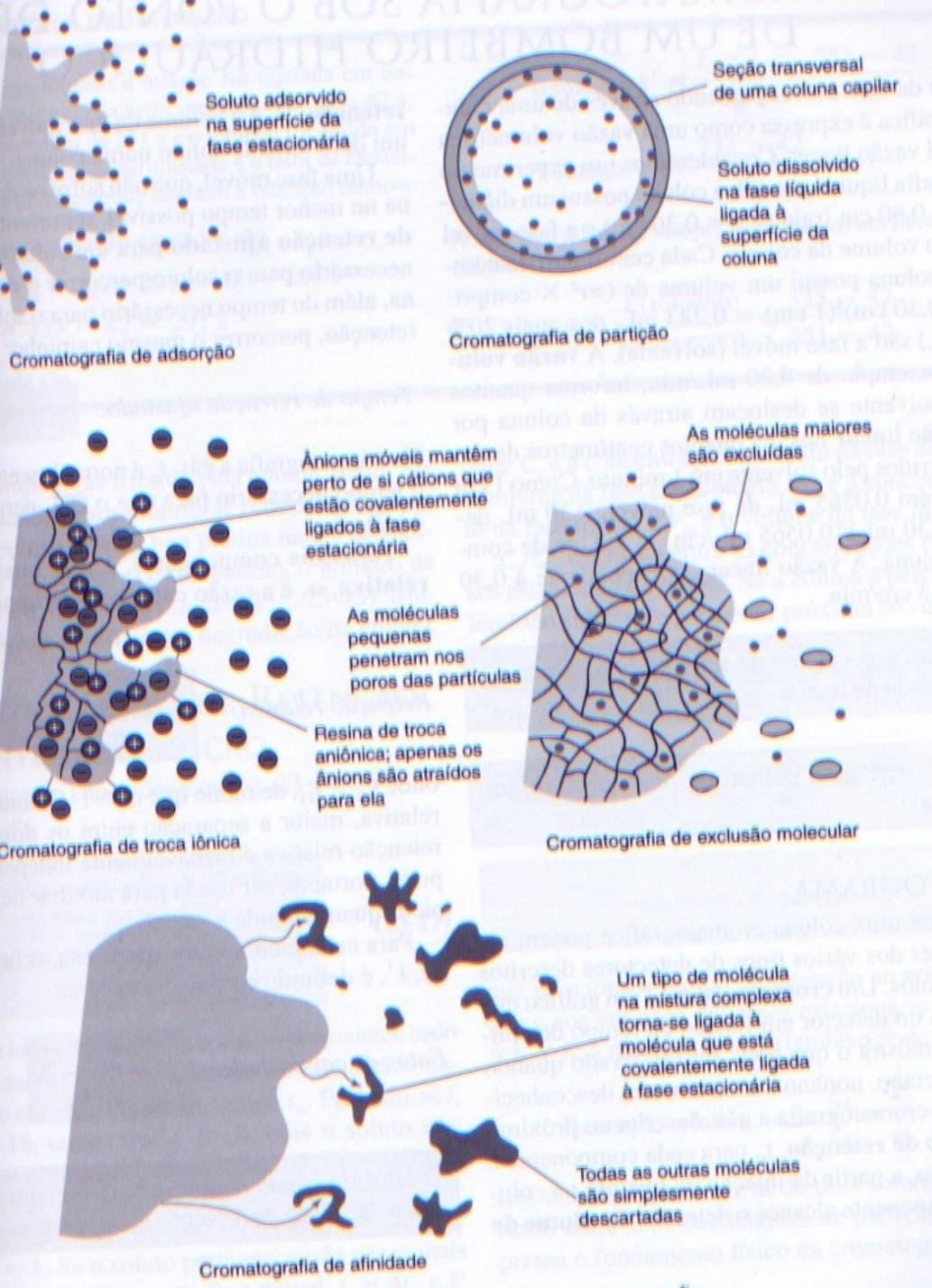
adsorção (interação intermolecular com a superfície de um sólido)

partição: soluto particiona entre a fase gasosa e líquida (molhando a superfície da coluna)

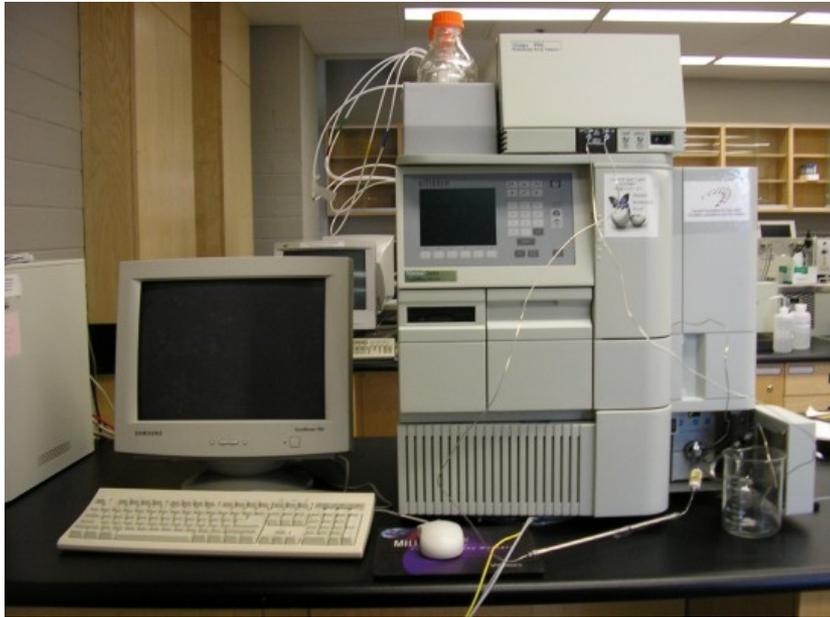
troca iônica: polímero contendo cátions covalentemente ligados atraem os ânions da solução

exclusão molecular: porosidade de tamanho controlado

afinidade: interação intermolecular (ligação química às vezes) muito específica com molécula na fase móvel



Cromatografia Líquida de Alta Pressão



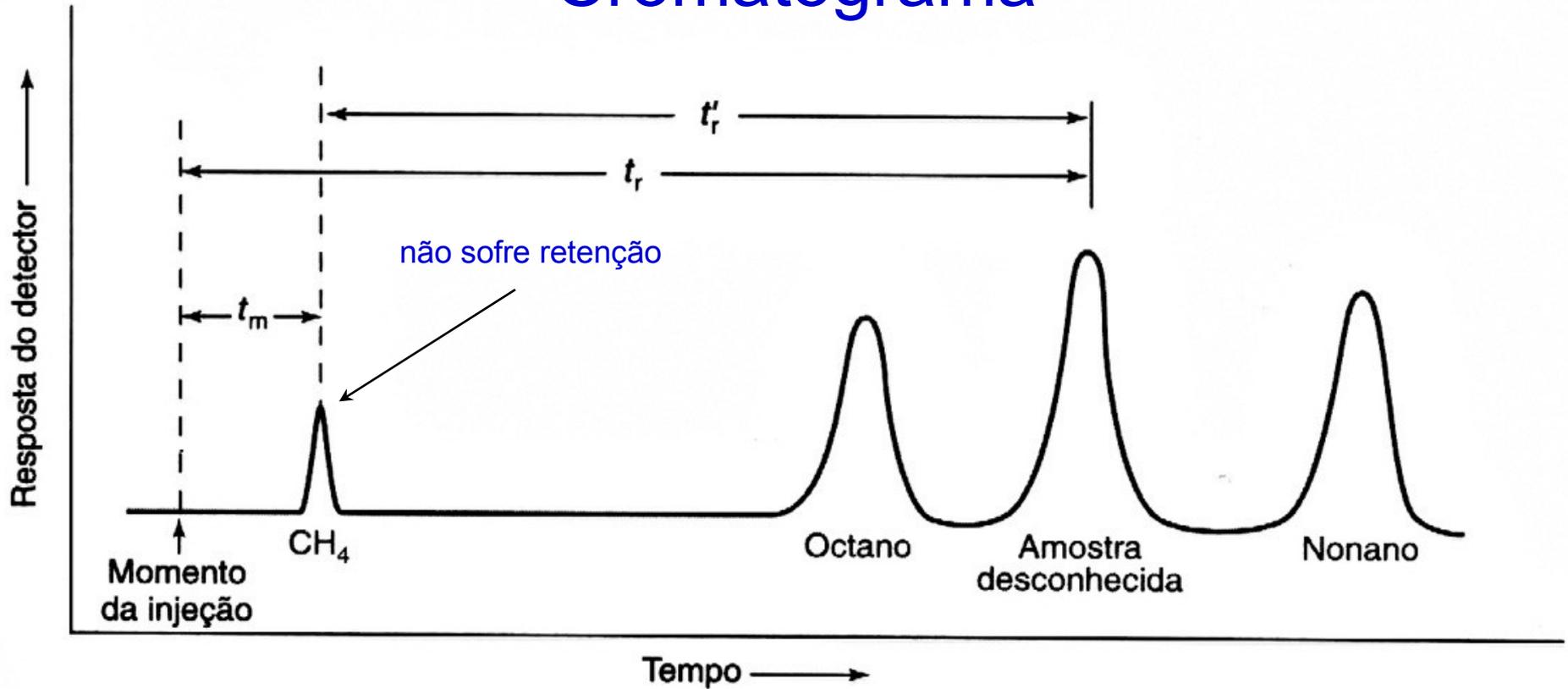
HPLC

Cromatografia Gasosa

CG



Cromatograma



método preciso para medida do coeficiente de partição P

$$k' = (t_r - t_m) / t_m$$

fator de retenção ou fator de capacidade é igual à razão do n. de mols do soluto entre as fases estacionária e móvel!

$$k' = n_{estacionária} / n_{móvel}$$

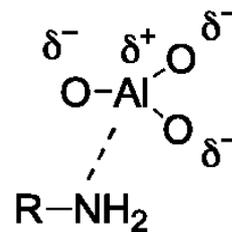
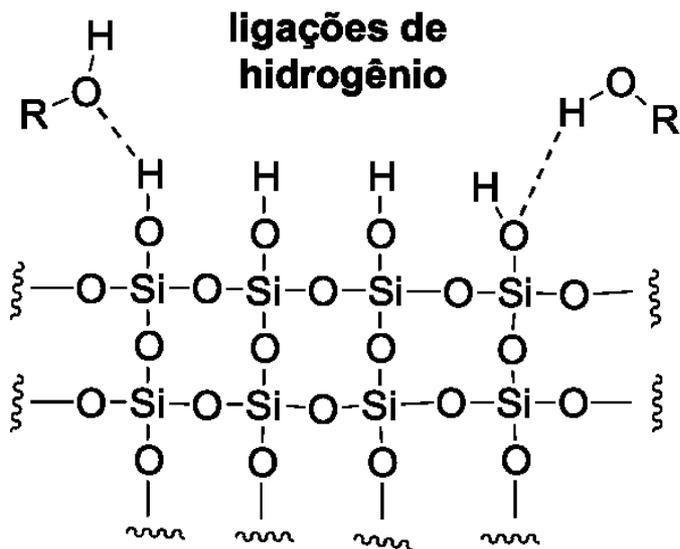
$$\text{então } P_{\text{partição}} = k' V_{\text{móvel}} / V_{\text{estacionária}}$$

Fases Estacionárias polares

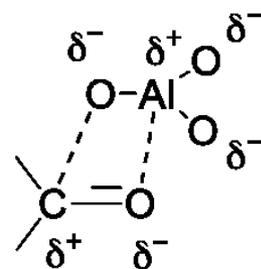
Papel
Celulose
Amido
Açúcares
Silicato de magnésio
Sulfato de cálcio
Ácido Silícico
Silicagel (SiO_2)
Florisil
Óxido de Magnésio
Óxido de alumínio (alumina Al_2O_3)
(ácido, neutro, básico)
Carvão ativado



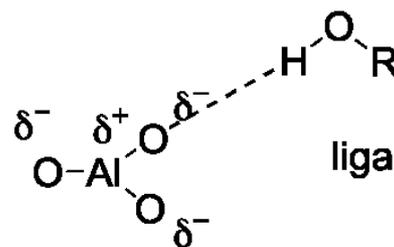
Aumento da intensidade de interação (ligações) com compostos "polares"



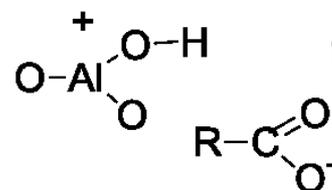
interação ácido - base de Lewis



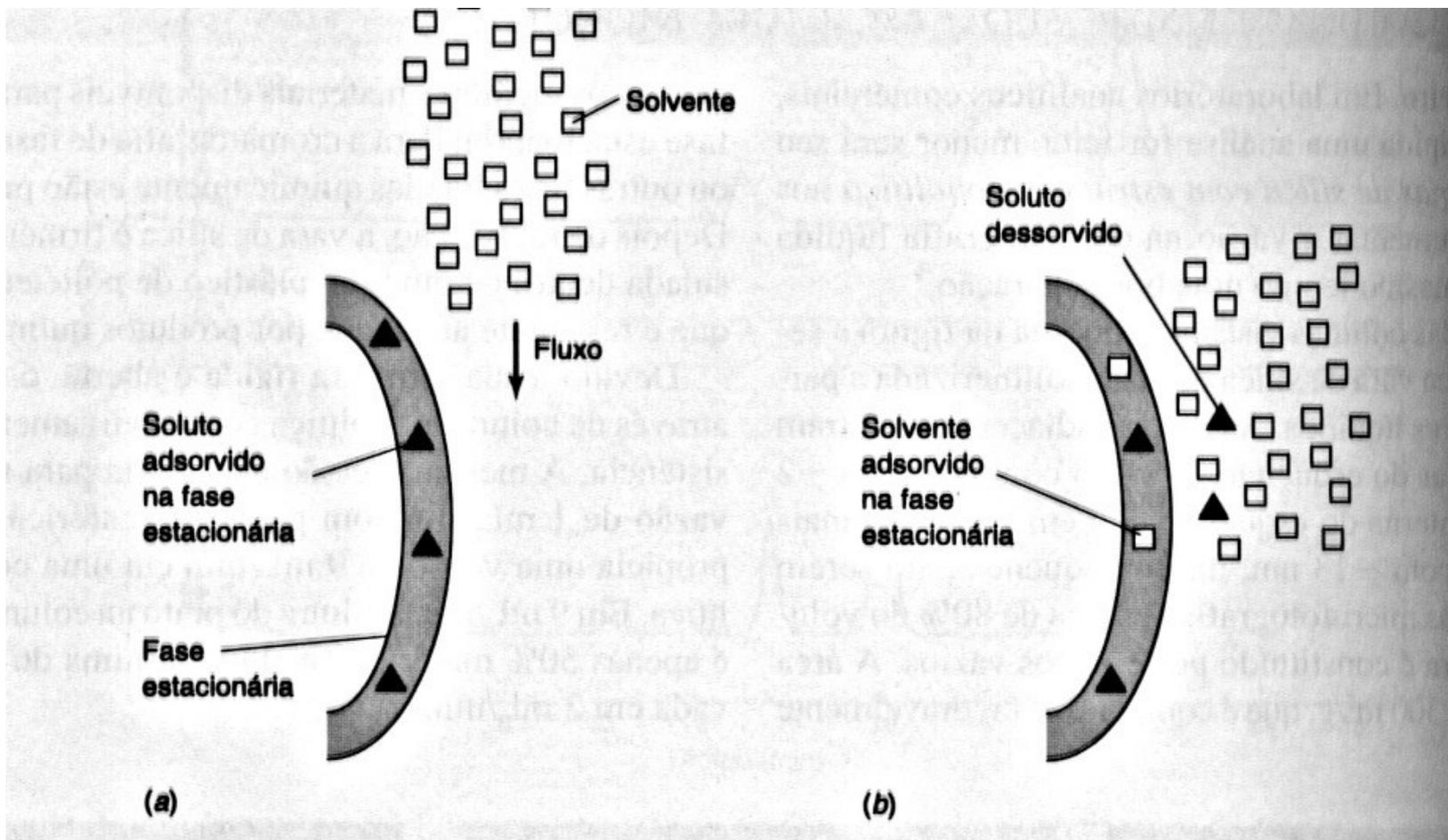
interação dipolo - dipolo



ligação de hidrogênio



formação de sal



O solvente desloca o soluto da superfície!

Substâncias mais polares: mais adsorvido (ficam 'presos' à fase estacionária).
Substâncias menos polares são mais facilmente eluidas.

Solventes mais polares eluem melhor todas as substâncias; efeito mais pronunciado no caso de substâncias polares.

“corte no UV” = I para $Abs_{1cm} = 1$ (Poole 2003) ou seja, o soluto deve ter uma absorção acima deste valor para detecção UV

TABELA 25.2 SÉRIE ELUOTRÓPICA E COMPRIMENTOS DE ONDA DE CORTE NO ULTRAVIOLETA PARA SOLVENTES USADOS NA CROMATOGRAFIA DE ADSORÇÃO SOBRE SÍLICA

Solvente	Força eluente (ϵ°)	Corte no ultravioleta (nm)
Pentano	0,00	190
Hexano	0,01	195
Heptano	0,01	200
Triclorotrifluoroetano	0,02	231
Tolueno	0,22	284
Clorofórmio	0,26	245
Diclorometano	0,30	233
Éter dietílico	0,43	215
Acetato de etila	0,48	256
Éter metil <i>t</i> -butílico	0,48	210
Dioxano	0,51	215
Acetonitrila	0,52	190
Acetona	0,53	330
Tetraidrofurano	0,53	212
2-propanol	0,60	205
Metanol	0,70	205

O corte no ultravioleta para a água é 190 nm.

FONTES: L. R. Snyder, in *High-Performance Liquid Chromatography* (C. Horváth, ed.), Vol. 3 (New York: Academic Press, 1983); *Burdick & Jackson Solvent Guide*, 3rd ed. (Muskegon, MI: Burdick & Jackson Laboratories, 1990).

Sequência elotrópica de solventes para cromatografia:

Hidrocarbonetos

(éter de petróleo, hexano, ciclo-hexano)

CCl_4

Tolueno

CHCl_3

CH_2Cl_2

Éter etílico

Acetato de etila

Acetonitrila

Acetona

Piridina

Álcoois (metanol, etanol, etc.)

Água

Ácido acético



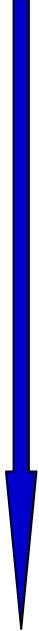
Aumento da polaridade do
solvente, maior interação
com grupos funcionais
polares

O solvente mais polar elui melhor substâncias polares por melhor dissolve-los e deslocar o equilíbrio de eluição (K_{elui}); além disso, o solvente mais polar adsorve melhor à superfície da fase estacionária, deslocando desta maneira todas as substâncias para a fase líquida.

Princípio da Separação Cromatográfica

Ordem de eluição de classes de substâncias:

Hidrocarbonetos	Interações van der Waals
Alcenos (Olefinas) e Alcinos	Dipolo induzido
Éteres	Dipolo
Haleto de Alquila	Dipolo
Compostos Aromáticos	Dipolo Induzido
Cetonas e Aldeídos	Dipolo, (ligações de hidrogênio)
Ésteres	Dipolo, (ligações de hidrogênio)
Álcoois e Aminas	Ligações de hidrogênio
Ácidos Carboxílicos e bases fortes	Formação de Sais



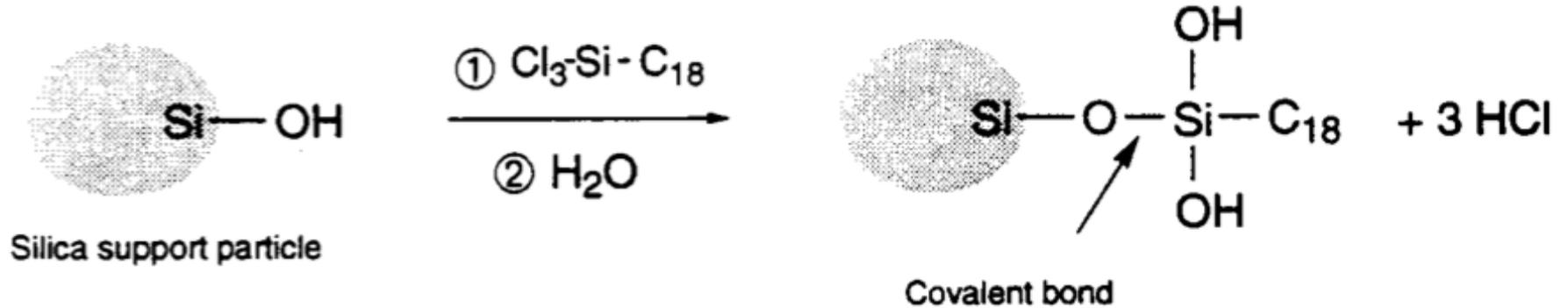
Ordem de eluição

Substâncias apolares eluem mais rapidamente que substâncias polares porque os compostos polares possuem maiores interações com a fase estacionária (polar).

Além disso, substâncias com maior peso molecular (e a mesma polaridade) eluem mais lentamente que os análogos menores (menores interações Van der Waals).

Substâncias mais polares necessitam de solventes polares para serem eluídas, substâncias apolares eluem também com solventes menos polares.

Fase Apolar



C18, C8, C4, etc... as interações polares se dão com o solvente enquanto o soluto esta **dissolvido** na fase C18

não é adsorção, é partição!

qual tipo de soluto elui mais rápido neste caso (apolar ou polar)?

Cromatografia em Camada Delgada - CCD

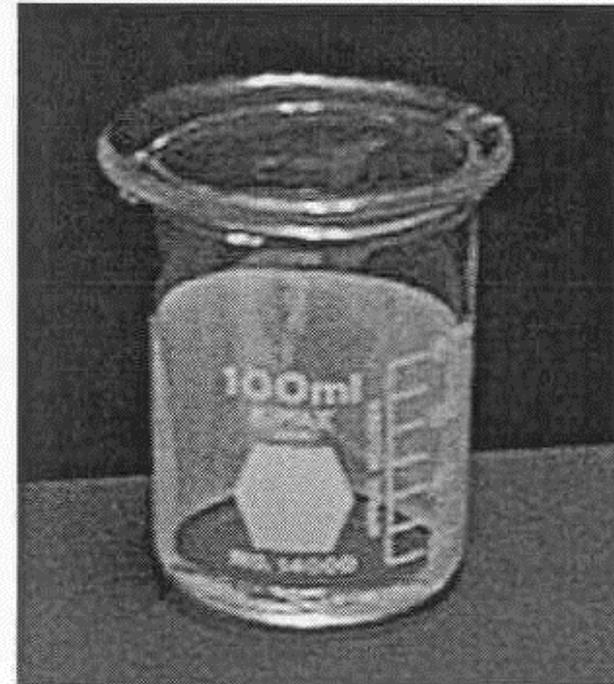
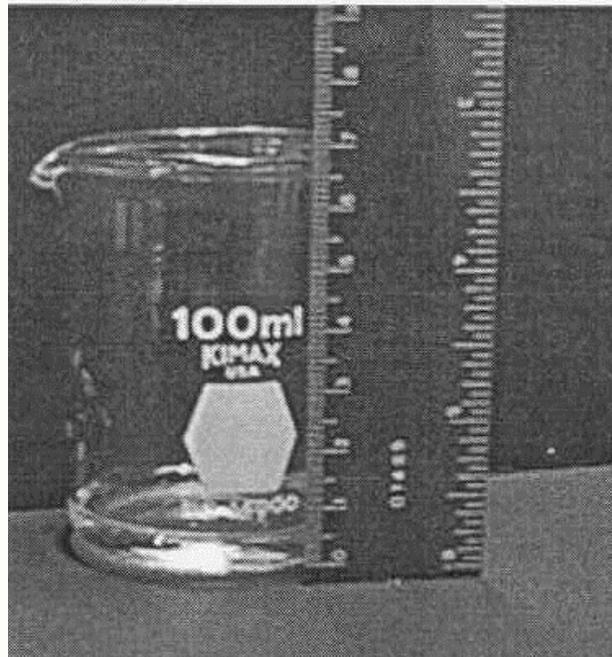
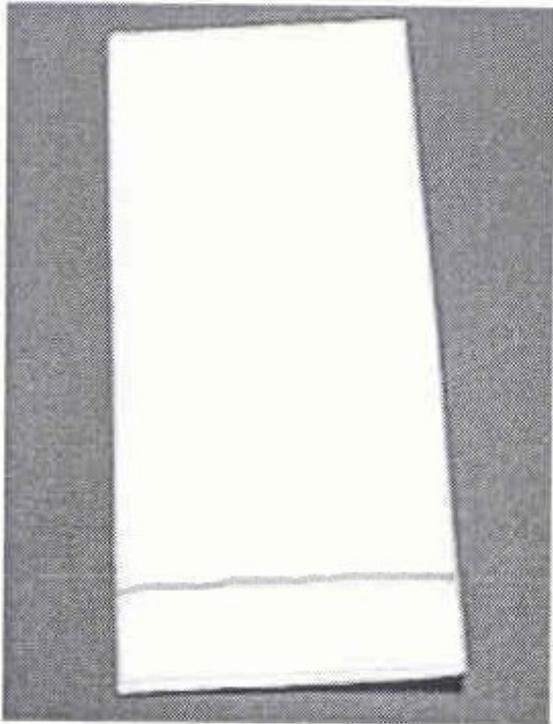


Figura 20.4 Câmara de desenvolvimento com uma placa de cromatografia em camada fina.

Cromatografia em Camada Delgada

Como efetuar o experimento:

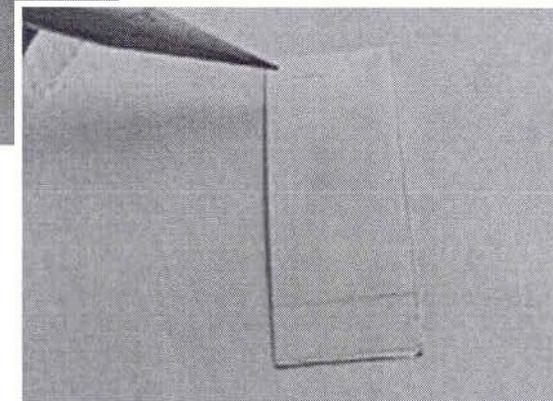
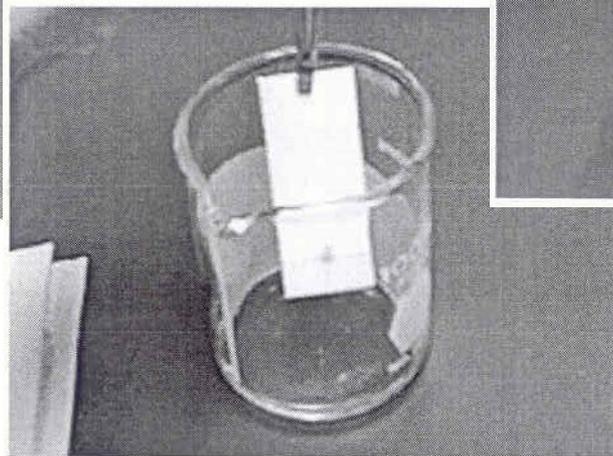
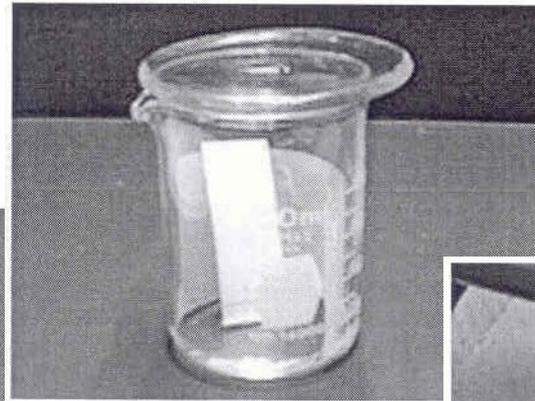
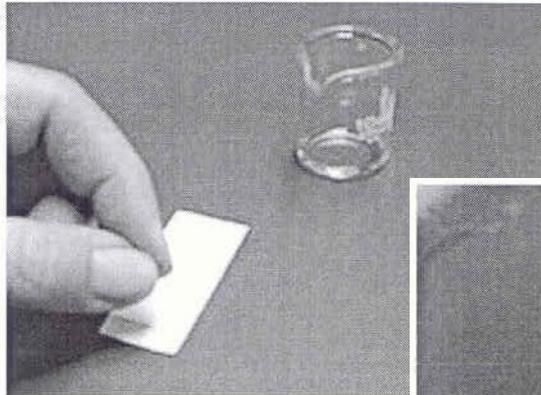
1. Preparo da Placa: Linha horizontal cerca 1 cm da borda com LÁPIS
2. Preparo da câmara de revelação:
escolher béquer adequado com tampa de vidro de relógio;
fornar parcialmente com papel de filtro (saturar ambiente com vapor de solvente);
colocar o solvente (altura ~0,5 cm), tampar o béquer e deixar equilibrar (15 min).



Cromatografia em Camada Delgada

Como efetuar o experimento:

3. Aplicar amostra dissolvida na linha da placa usando-se capilar:
tocar rapidamente o capilar com amostra (evitar manchas grandes);
se for o caso fazer várias aplicações no mesmo ponto;
identificar as manchas com LÁPIS;
4. Efetuar o desenvolvimento (revelação) da placa na câmara:
colocar a placa (pinça) na câmara de desenvolvimento (sem tocar com dedo);
solvente deve ficar abaixo da linha da aplicação;
deixar solvente subir até 0,5 cm abaixo do limite da placa;
retirar a placa (pinça) e marcar frente do solvente.



Cromatografia em Camada Delgada

Como efetuar o experimento:

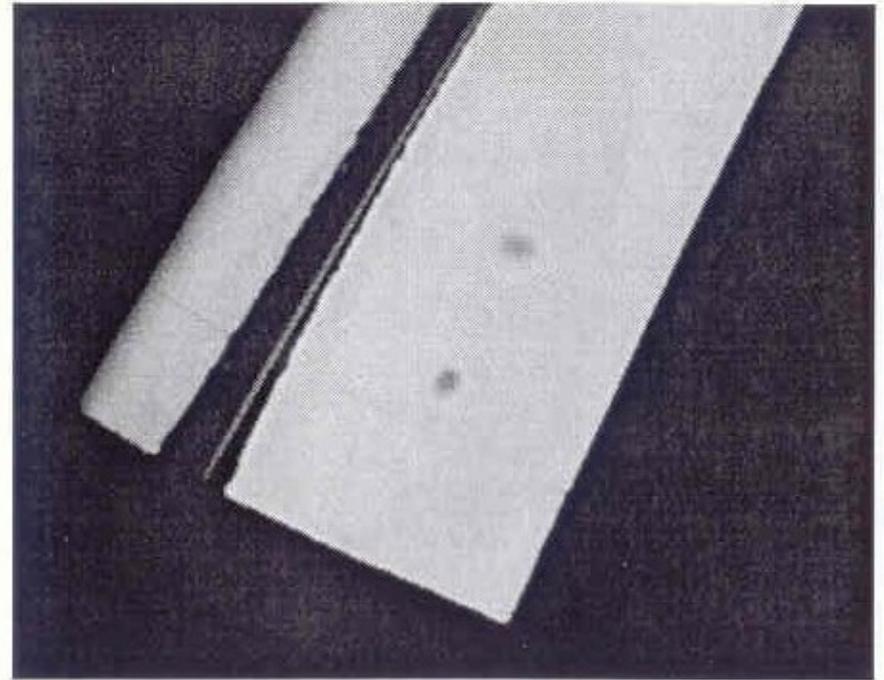
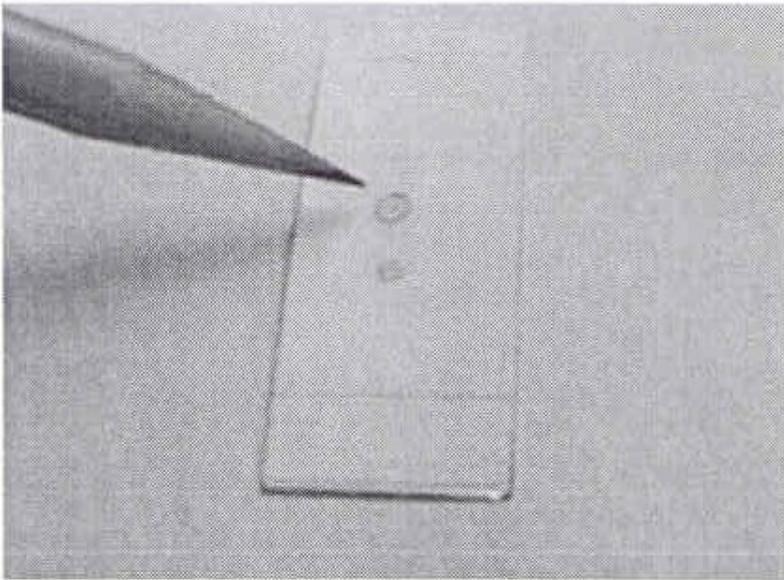
5. Visualizar as manchas:

deixar secar a placa (pistola de ar se for necessário);

marcar as manchas coloridas (LÁPIS);

visualizar manchas com lâmpada UV ou outro Método de Visualização.

6. Calcular os valores de R_f .

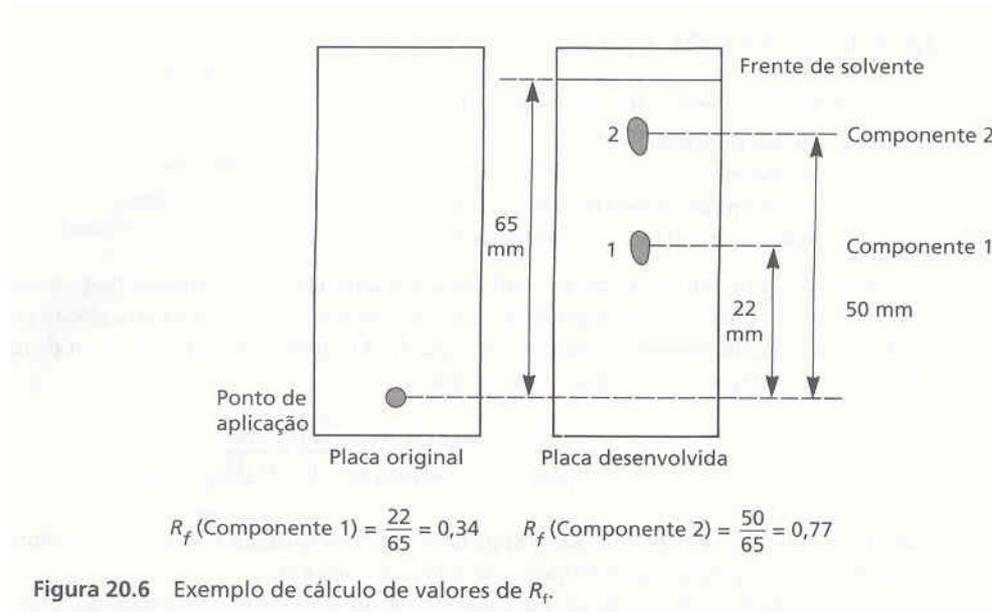


Cromatografia em Camada Delgada

Relatar o Resultado de um CCD: O valor de R_f

R_f : “ratio to front”

$$R_f = \frac{\text{distância percorrida pela substância}}{\text{frente do solvente}}$$



O valor de R_f é um parâmetro físico da substância e pode ser utilizado para sua identificação caso se mantém constante os seguintes condições:

- solvente ou mistura de solventes;
- fase estacionária (silicagel ou óxido de alumínio);
- condições ambientais (temperatura etc.)
- espessura da camada e quantidade de amostra aplicada.

Cromatografia em Camada Delgada

Métodos de visualização da manchas:

1. Utilizando-se lâmpada UV (254 e 365 nm):

Visualiza substâncias fluorescentes (placa sem indicador) ou que seqüestram a fluorescência (placa com indicador fluorescente).

2. Utilizando-se câmara de iodo:

Iodo reage com muitos compostos orgânicos, formando complexos, e levando a manchas amarelas até marrons.

3. Métodos específicos para detecção de grupos funcionais (métodos destrutivos):

(i) ácido sulfúrico concentrada e aquecimento (manchas pretas);

(ii) nitrato de prata para visualizar haletos de alquila (manchas escuras de prata da decomposição dos compostos de prata formados);

(iii) formação de 2,4-dinitrofenil hidrazonas a partir de compostos carbonílicos (coloração amarela ou alaranjada);

(iv) cloreto férrico (FeCl_2) leva a complexos coloridos com fenóis;

(v) ácidos podem ser visualizados com indicadores de pH como verde de bromocresol;

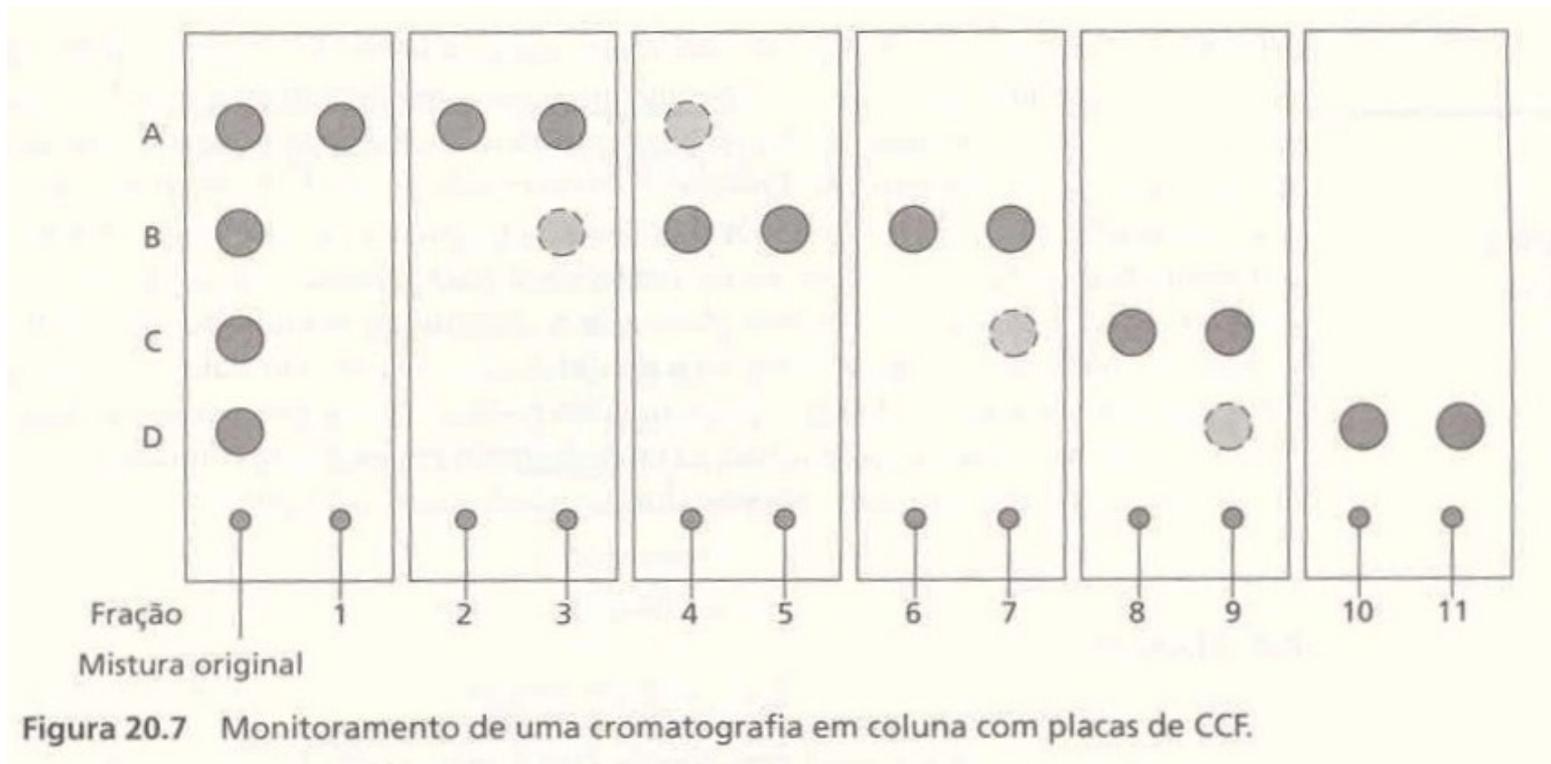
(vi) compostos facilmente oxidados podem ser visualizados com oxidantes coloridos como CrO_3 ou KMnO_4 ;

(vii) detecção de aminas com *p*-dimetilamino-benzaldeído e de aminoácidos com ninidrina.

Cromatografia em Camada Delgada

Utilização em Química Orgânica:

- Determinar o número de componentes de uma mistura;
- Determinar o solvente (ou mistura) ideal para efetuar separação em coluna cromatográfica;
- Monitorar a separação durante a cromatografia em coluna;



Cromatografia em Camada Delgada

Utilização em Química Orgânica:

- Estabelecer se dois compostos são idênticos;
- Verificar eficiência de processos de purificação (cromatografia, recristalização, extração, etc.);
- Monitorar o progresso de uma reação.

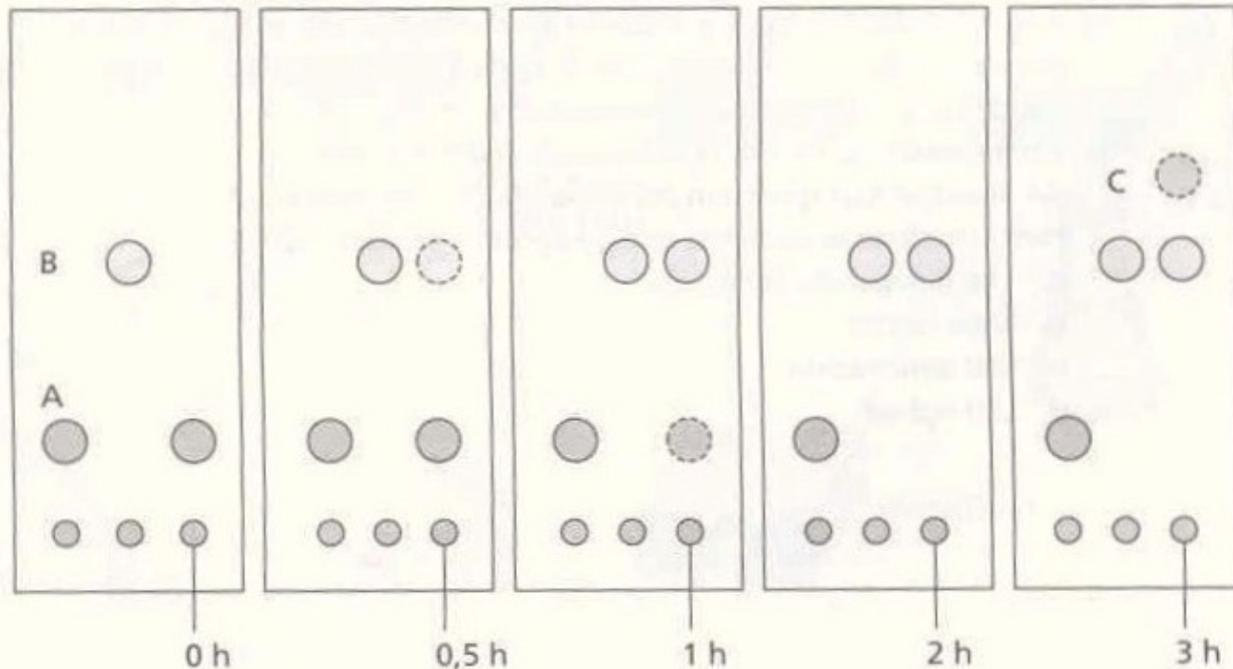


Figura 20.8 Monitoramento de uma reação com placas de CCF.

Cromatografia em Camada Delgada

Execução da Parte Experimental:

1. Efeito do Eluente:

usar 3 placas pequenas!

Verificar a influência da polaridade do eluente sobre a CCD de antraceno (AT) e trifenilmetanol (TM).

Desenvolver placas de CCD com AT e TM usando-se ciclo-hexano, tolueno e diclorometano como eluentes. Determinar os valores de R_f .

2. Efeito da Estrutura da Substância:

usar a placa grande!

Verificar o efeito da estrutura do composto (grupos funcionais) sobre o comportamento dele na CCD utilizando-se diclorometano como eluente.

Substâncias:

benzaldeído (BZ)

álcool benzílico (AB)

ácido acetilsalicílico (AA)

antraceno (AT)

trifenilmetanol (TM)

Desenvolver a placa de CCD (grande) com diclorometano como eluente e determinar os valores de R_f das substâncias.

3. Identificar uma mistura de substâncias pelos valores de R_f na CCD com diclorometano.

usar uma placa pequena!

Cromatografia em Camada Delgada

Materiais:

3 béquer 100 mL para placas pequenas;

1 béquer 250 mL para a placa grande;

4 vidros de relógio;

tiras de papel de filtro;

vários capilares;

solventes ciclo-hexano, tolueno e diclorometano na capela;

soluções das 5 substâncias em diclorometano (uma estante por bancada);

solução da amostra problema (com indicação do armário);

Placas de cromatografia CCD com SiO_2 como fase estacionária e indicador de fluorescência, cortados em dois tamanhos;

Pistola de ar quente e lâmpada de UV

Cromatografia em Camada Delgada

Relatório:

Calcular os valores de R_f para AT e TM nos diferentes eluentes e discutir os resultados obtidos.

Calcular os valores de R_f para os vários compostos obtidos na CCD em diclorometano e discutir os resultados obtidos considerando-se as propriedades (polaridade) dos compostos.

Calcular os valores de R_f obtidos para a amostra problema e identificar a(s) substância(s) contida(s), com base na comparação dos valores com os anteriormente determinados. Usar na atribuição também “outras” observações (impurezas). Discuta!