

Separação de Substâncias – Cromatografia

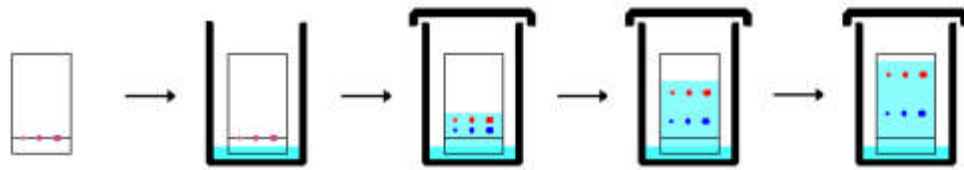
1) Introdução

A cromatografia é uma técnica utilizada para a análise, identificação e separação dos componentes de uma mistura. É definida pela separação dos componentes da uma dada mistura baseado na interação dos mesmos com a fase estacionária e com a fase móvel. Dependendo da natureza dessas fases, tem-se diversas cromatografias: sólido-líquido (coluna, camada fina ou delgada, papel); líquido-líquido (CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência); gás-líquido (CG – cromatografia gasosa).

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um dos métodos de separação físico-químico mais utilizados em misturas, sendo relativamente fácil de manusear e de resposta rápida. É uma técnica simples, barata e eficiente na análise qualitativa da composição de uma mistura. Pode ser usada também para acompanhar o curso de uma reação química e determinar a pureza de um dado composto.

Na CCD (**Figura 1**), o eluente (fase móvel líquida) elui (deslocar para cima) por uma camada fina de sílica-gel (fase estacionária adsorvente), por exemplo, estendida sobre um suporte. Ao fazer um “*spot*” (aplicação da amostra) na base da placa, a mesma é colocada verticalmente em uma cuba cromatográfica (recipiente fechado) contendo o eluente, sendo esse uma quantidade de um determinado solvente ou mistura de solventes. À medida que a placa cromatográfica é eluída, a amostra é “arrastada” pela fase móvel sobre a fase estacionária. Durante este processo, os diversos componentes da mistura serão separados de acordo com suas propriedades de solubilidade e adsorção. Cada “mancha” que aparecer na placa corresponde a um componente presente na mistura original.

Figura 1: Cromatografia em camada delgada (CCD).

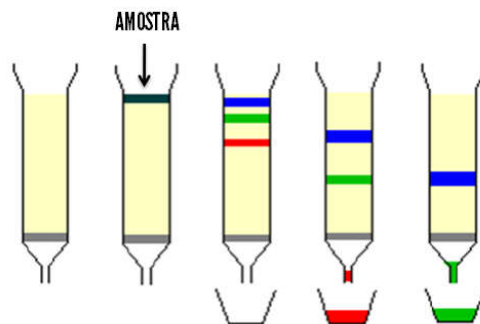


Fonte: Adaptado de [5].

A cromatografia em coluna (CC) é uma técnica onde ocorre a separação de substâncias presentes em uma mistura entre duas fases, a fase sólida, geralmente sílica, chamada cromatografia em coluna de sílica (CCS), e a fase líquida, sendo essa um solvente ou uma mistura de solventes, baseado na capacidade de solubilidade e adsorção desses componentes.

De modo geral, na CC (**Figura 2**) a mistura que se deseja separar é colocada no topo da coluna utilizando o eluente menos polar, no caso da utilização de misturas. A polaridade do eluente pode ser aumentada gradativamente (de forma gradiente), a fim de aumentar o poder de arraste de substâncias polares, ou pode ser mantida durante todo o processo (de forma isocrática). Os diferentes componentes da mistura vão se mover com velocidades diferentes dependendo da sua maior afinidade com a fase móvel ou a fase estacionária.

Figura 2: Cromatografia em coluna (CC).



Fonte: Adaptado de [6].

Em geral, na CCS, os compostos mais apolares passam pela coluna com maior velocidade do que os compostos polares, que tem maior afinidade com a sílica, um

composto polar. Caso a fase estacionária interaja muito fortemente com um ou mais componentes da mistura, esses não se moverão e ficarão retidos na coluna. No caso da escolha de solventes muito polares, todos os componentes podem ser eluídos ao mesmo tempo e, com isso, não haverá separação ou a mesma não será satisfatória. Sendo assim, a escolha do solvente ou da mistura de solventes utilizados na CC é o ponto crítico da técnica.

2) Objetivos

Observação da mistura de pigmentos presente no pimentão vermelho por cromatografia em camada delgada (CCD) e separação dos mesmos via cromatografia em coluna de sílica (CCS).

3) Materiais e Reagentes

Béquer de 25 mL (1);

Béquer de 50 mL (1);

Vidro de relógio;

Almofariz e pistilo;

Placa cromatográfica;

Tubo capilar;

Proveta de 10 mL;

Cuba cromatográfica (béquer de 250 mL fino);

Hexano PA;

Acetona PA;

Bastão de vidro;

Algodão;

Coluna de vidro;

Pipeta de Pasteur;

Estante de tubos de ensaio;

Tubos de ensaio.

4) Procedimento Experimental

a. Preparo da amostra

- Inicialmente, em um vidro de relógio, pese cerca de 10 g de pimentão vermelho;
- Transfira o pimentão pesado para um almofariz de porcelana e adicione 1 mL de acetona;
- Triture o pimentão até obter um extrato bem vermelho;
- Transfira o extrato para um béquer de 25 mL.

b. Cromatografia em camada delgada (CCD)

- Com o auxílio de um tubo capilar, aplique a amostra anteriormente preparada no inferior da placa, cerca de 0,5 cm da base da placa de sílica-gel. Aplique até que seja observado o “*spot*” com a cor vermelha;
- Com o auxílio de uma proveta de 10 mL, prepare uma solução (eluente da placa cromatográfica) contendo 9,0 mL de hexano e 1 mL de acetona;
- Verta o eluente preparado em uma cuba cromatográfica (béquer de 250 mL);
- Cuidadosamente, coloque a placa cromatográfica na cuba, tampe a mesma com um vidro de relógio e espere a eluição;
- Após a eluição completa (cerca de 0,5 cm da parte superior da placa), retire a placa e deixe-a secar;
- Observe os resultados e anote as conclusões.

c. Cromatografia em coluna de sílica (CCS)

- Utilizando um bastão de vidro, adapte uma pequena quantidade de algodão na parte inferior da coluna, de modo que não fique compactado demais para não obstruir a passagem;
- **COM MUITO CUIDADO**, em um béquer de 25 mL, pese 2,5 g de sílica-gel;
- Adicione 10 mL de hexano à sílica pesada, agite bem e com o auxílio de um funil de vidro, transfira tudo para a coluna de vidro;
- Abra a torneira e deixe o solvente escoar para o béquer que continha a sílica e repita o item anterior;
- Abra novamente a torneira e deixe o solvente escoar em uma proveta de 10 mL até interface com a sílica (é importante não deixá-la secar!);
- Repita o procedimento anterior até transferir o máximo de sílica;
- Com o auxílio do bastão de vidro, adicione cuidadosamente 0,5 mL do extrato de modo que tal extrato escorra pelo bastão de vidro e chegue à superfície da sílica;
- Abra a torneira da coluna para que ocorra a absorção da amostra;
- Utilizando outro bastão de vidro, adapte um chumaço de algodão na superfície da sílica, sem compactar;
- Em uma proveta de 10 mL, prepare um eluente contendo 9,0 mL de hexano e 1,0 mL de acetona e verta-o na coluna;
- Repita o item anterior;
- Separe as frações em tubos de ensaio;
- Observe os resultados e anote as conclusões.

5) Descarte dos resíduos

Os resíduos contendo solventes orgânicos e sílica devem ser armazenados separadamente em frascos adequados para posterior tratamento de acordo com as normas do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Os resíduos de pimentão devem ser armazenados em um recipiente apropriado até que toda acetona evapore. Posteriormente podem ser descartados no lixo.

6) Referências

- [1] RIBEIRO, N. M. & NUNES, C. R. Análise de pigmentos de pimentões por cromatografia em papel. **Química Nova na Escola**, n 20, agosto de 2008.
- [2] Zubrick, J. W. Manual de Sobrevivência no Laboratório de Química Orgânica: guia de técnicas para o aluno. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2005.
- [3] PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; ENGEL, R. G. Química orgânica experimental: técnicas de escala pequena . 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
- [4] FONSECA S. F. & GONÇALVES C. C. S. Extração de pigmentos do espinafre e separação em coluna de açúcar comercial. **Química Nova na Escola**, n 20, novembro de 2004.
- [5] Cromatografia em Camada Delgada (CCD) ou Thin Layer Chromatography (TLC). http://w3.ufsm.br/larp/media/camada_delgada_teorias.pdf. Acesso em 29/09/2018.
- [6] Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. <https://www.biomedicinapadiao.com.br/2015/04/hplc-cromatografia-liquida-de-alta.html>. Acesso em 29/09/18.