



Capítulo X-2

CROMATOGRÁFIA PLANAR

Analytical Chemistry - Robert V. Dils,
D. Van Nostrand, ISBN 0-442-22158-4

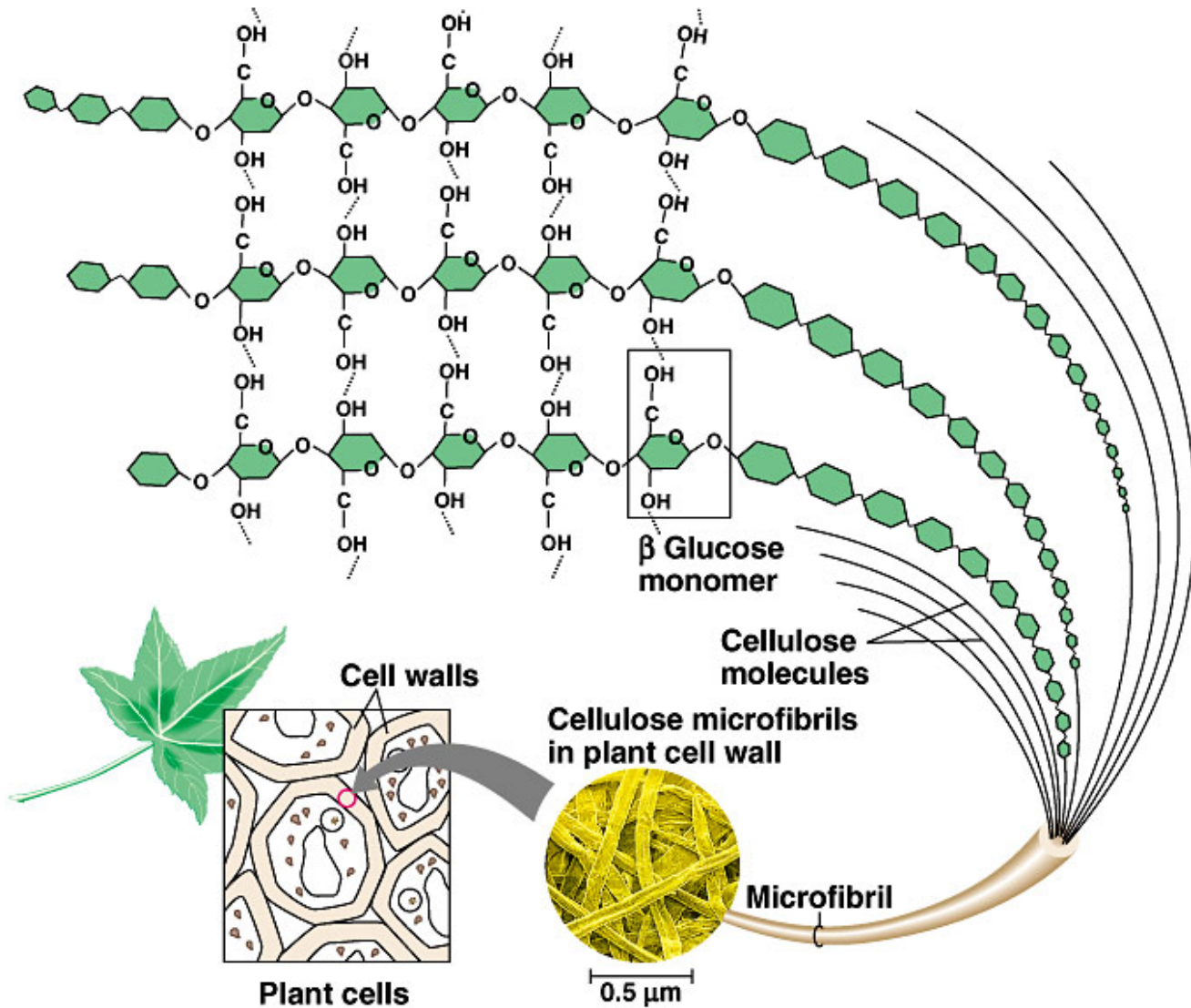


Os métodos de **Cromatografia Planar** incluem:

- cromatografia em papel
- cromatografia em camada fina
- electro-cromatografia

CROMATOGRAFIA EM PAPEL

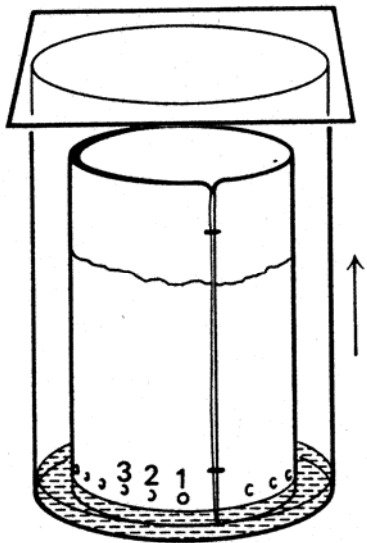
- O papel utilizado é constituído por fibras de algodão purificadas contendo 99% de celulose. A celulose é um polímero de glucose (57.000 – 1.500.000).
- Ao longo da estrutura existem grupos $-OH$ expostos que estabelecem pontes de hidrogénio entre as cadeias.
- A estrutura é variável, sendo composta por zonas compactas e cristalinas (ordenadas) e por cerca de 40% de zonas amorfas com maior tendência para a adsorção da água.
- O papel **SÓ funciona** como suporte da *fase estacionária* (água adsorvida).
- A fase móvel move-se através da fase estacionária, por acção capilar, algumas vezes assistida por gravidade ou potencial eléctrico.



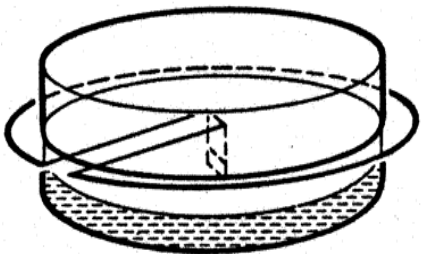
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Montagem Experimental

ascendente



horizontal



descendente

espiral

bidimensional

Aplicação da Amostra

A aplicação da amostra é dos aspectos críticos da cromatografia em papel, particularmente para uma análise quantitativa.

Para amostras concentradas deve-se aplicar uma pequena gota (com a ajuda de um tubo capilar) a 1 ou 2 cm acima da extremidade do papel. A superfície de deposição da solução deve ser a mínima possível (não mais do que 5 mm de diâmetro). Para soluções diluídas deve fazer-se 3 ou 4 aplicações, evaporando a amostra entre cada aplicação.

Desenvolvimento do Cromatograma

O desenvolvimento do cromatograma é o processo em que a amostra é “arrastada” da fase estacionária pela fase móvel.

Depois de ter evaporado o solvente da amostra, o papel é colocado num recipiente fechado que está saturado com os vapores da fase móvel.

Ter cuidado para que a linha de solvente não toque na amostra.

Depois do solvente subir cerca de 2/3 do papel, remover o papel do recipiente e secá-lo.

Revelação do Cromatograma

Existem vários métodos para visualizar os vários componentes da amostra. Os métodos mais comuns são:

- pulverizar com um reagente químico (ninidrina)
- reacção com uma fase gasosa (amónia, H_2S).
- examinar o papel com uma luz ultra-violeta (é válido quando existem componentes fluorescentes).

Factor de Retardo – R_F

$$R_F = \frac{V_m}{V_m + K_D V_{est}}$$

V_m – volume da fase móvel

V_{est} – volume da fase estacionária

Como a cromatografia em papel é essencialmente bidimensional, os volumes podem ser expressos por áreas:

$$R_F = \frac{A_m}{A_m + DA_{est}}$$

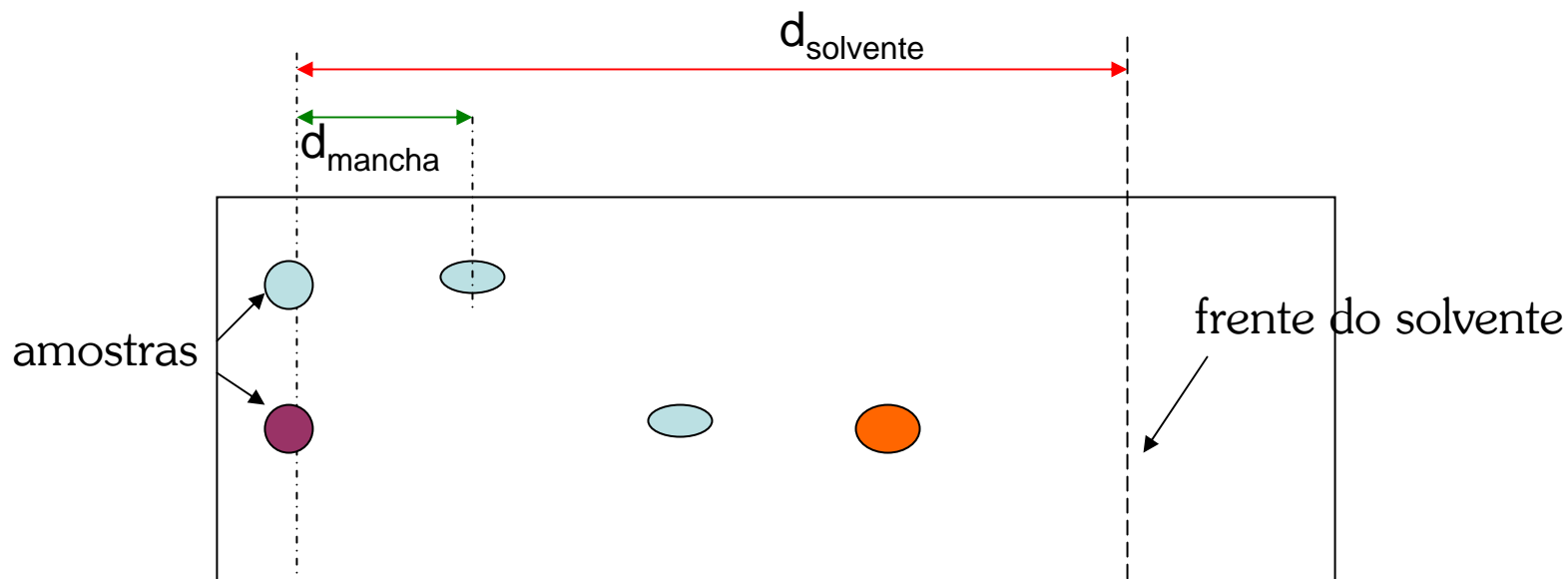
$R_F = 0$ o soluto não é solúvel na fase móvel

$R_F = 1$ o soluto “andou” com a fase móvel

O valor de R_F permite a identificação dos componentes da amostra por comparação com padrões.

Na prática, o valor de R_F é obtido por:

$$R_F = \frac{\text{distância do centro de aplicação ao centro da mancha}}{\text{distância do centro de aplicação à frente de solvente}}$$



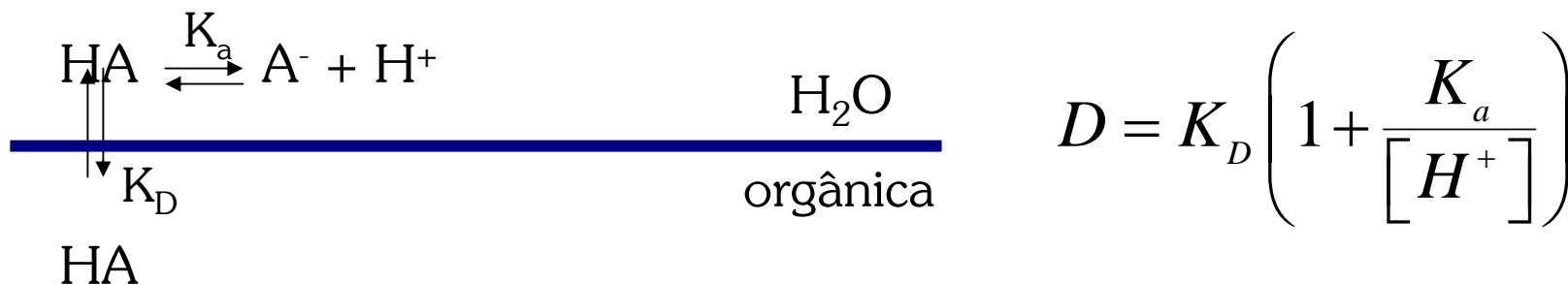
Exemplo:

Separação de ácidos fracos por cromatografia em papel.

O valor de pH da fase estacionária vai afectar os valores de R_F dos vários ácidos fracos ao serem eluídos.

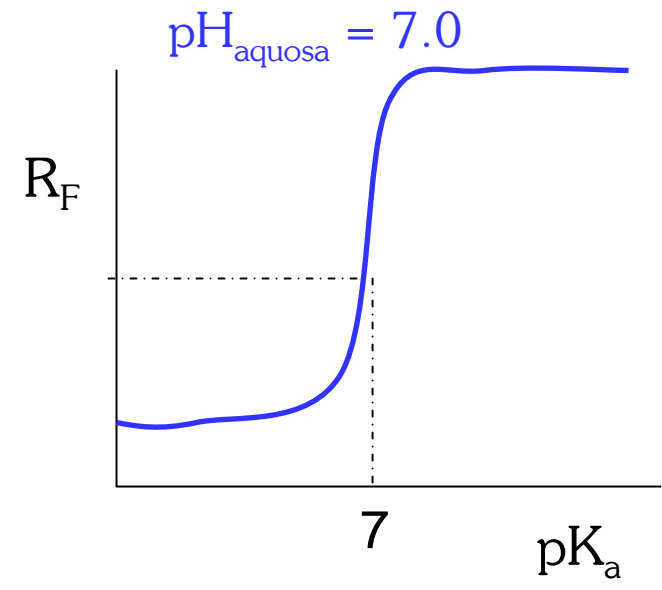
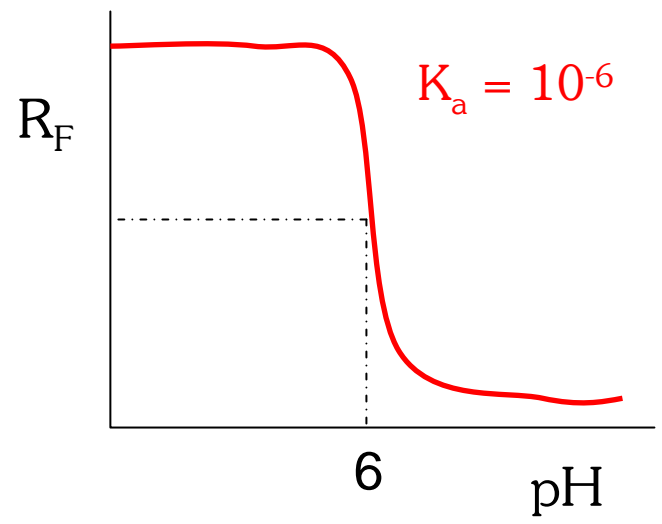
Tendo em conta que a fase estacionária é a aquosa e a fase móvel é a orgânica:

$$D = \frac{C_{est}}{C_{móvel}} \Rightarrow D = \frac{C_{H_2O}}{C_{org}}$$



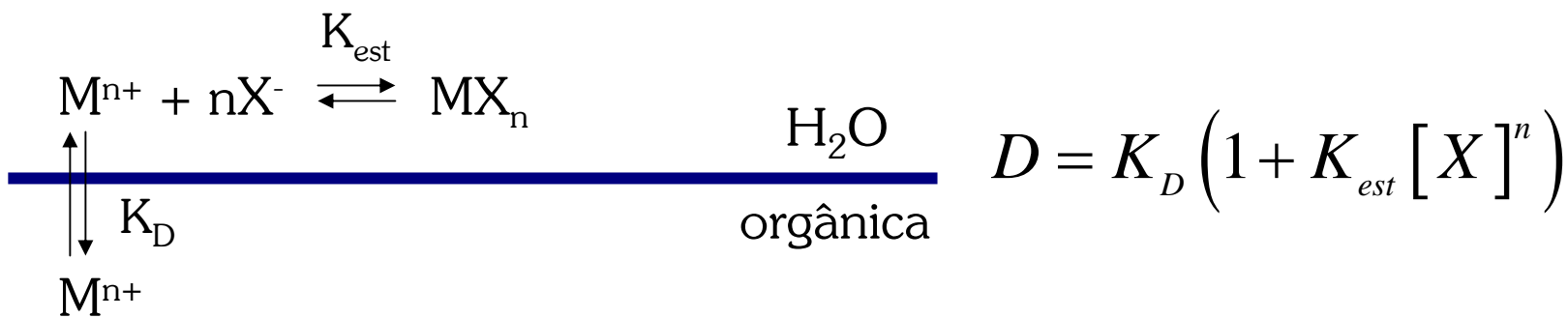
$$R_F = \frac{A_m}{A_m + A_e K_D \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right)}$$

Quanto maior o valor de pH menor o R_F



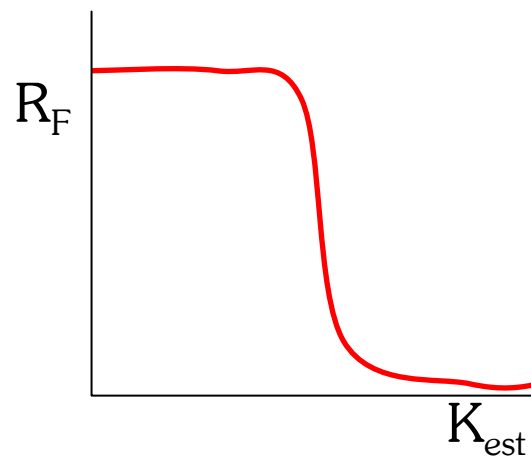
Exemplo:

Formação de complexos na fase aquosa.

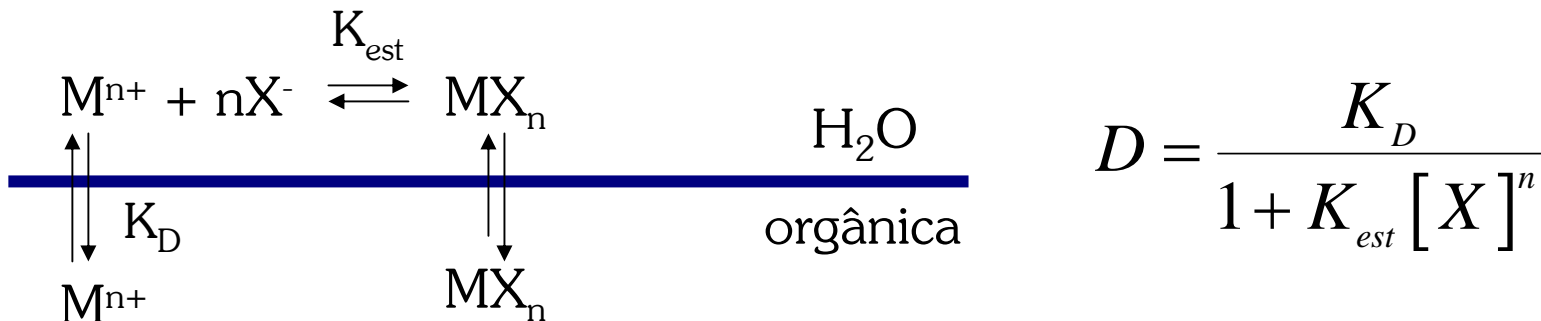


$$R_F = \frac{A_m}{A_m + A_{est} K_D \left(1 + K_{est} [\text{X}]^n \right)}$$

Quanto maior a K_{est} menor o valor de R_F



Admitindo que o complexo que se forma é **neutro**:



$$R_F = \frac{A_m}{A_m + A_{est} \left(\frac{K_D}{1 + K_{est} [X]^n} \right)}$$

Quanto maior a K_{est} maior o valor de R_F .

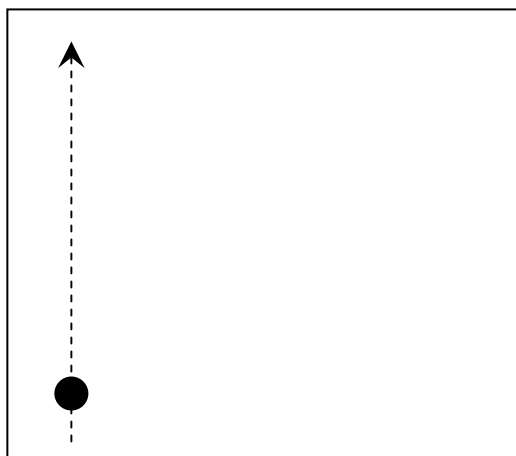
Aplicações

- É um dos métodos cromatográfico mais fácil de executar. É mais simples que fazer colunas e mais barato.
- Mais rápido que cromatografia em coluna, mas mais lento que cromatografia de fase gasosa ou de camada fina.
- É necessário menos “habilidade” e atenção experimental
- Dá melhor resolução para solutos semelhantes do que a cromatografia em coluna.
- O tamanho da amostra (volume) é muito pequeno comparado com o volume necessário para uma coluna.
- Não pode ser usado como técnica separativa, devido ao pequeno volume da amostra.
- Utiliza-se para a separação de:
 - ✓ amino-ácidos
 - ✓ iões inorgânicos
 - ✓ açúcares
 - ✓ ácidos fracos (até 8 átomos de carbono)
 - ✓ alcalóides
 - ✓ vitaminas

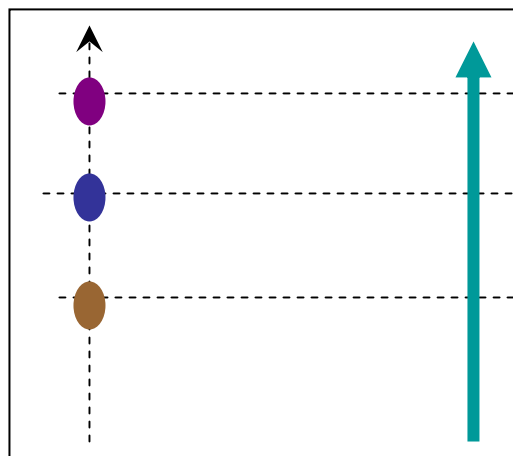
CROMATOGRAFIA EM CAMADA FINA (THIN LAYER C)

- Em termos de teoria e realização experimental a cromatografia em camada fina é idêntica à cromatografia em papel. A única diferença reside no suporte da fase estacionária, em vez de papel é constituída por sílica gel ou alumina.
- A cromatografia em camada fina é mais rápida e tem melhor resolução que a cromatografia em papel..
- Muitas vezes, para uma melhor resolução recorre-se à *cromatografia planar bi-dimensional*.
- A amostra é aplicada num dos cantos do suporte e procede-se ao desenvolvimento do cromatograma numa direcção ascendente. Em seguida este solvente é removido por evaporação e a placa é rodada 90°, seguindo-se um 2º desenvolvimento do cromatograma com outro solvente.

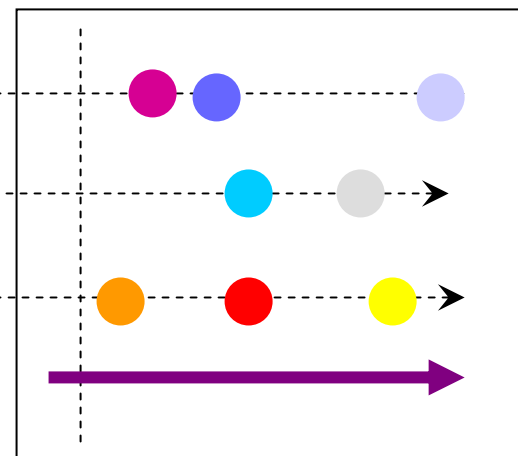
Cromatografia Planar bi-dimensional



aplicação da amostra



solvente A



solvente B