

EXPERIÊNCIA 6 CROMATOGRAFIA

1. OBJETIVOS

No final desta experiência espera-se que o aluno seja capaz de:

- Entender os princípios e as principais aplicações da cromatografia.
- Separar e identificar os componentes de uma mistura.

2. INTRODUÇÃO

A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. Esta técnica foi desenvolvida por Michael Tswett (botânico russo), no começo do século XX, passando pigmentos extraídos de plantas através de uma coluna cromatográfica preenchida com carbonato de cálcio (CaCO_3).

Dentre as aplicações das técnicas cromatográficas pode-se citar o trabalho policial-químico, onde, por exemplo, drogas e narcóticos podem ser identificados na urina ou em amostras de sangue mediante a comparação com padrões. Existem vários tipos de técnicas cromatográficas, entre as quais destacam-se a *cromatografia em coluna*, a *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência* (CLAE), a *Cromatografia de Camada Delgada* (CCD), a *Cromatografia Gasosa* (CG) e a mais simples de todas que é a *cromatografia em papel* e que será utilizada neste experimento.

Na cromatografia em geral, mas especialmente na cromatografia em papel, o conhecimento sobre a polaridade das moléculas presentes nas misturas que se deseja separar é muito importante. Sabe-se que as substâncias cujas moléculas são polares interagem com maior intensidade com solventes polares e substâncias apolares têm mais afinidade com solventes apolares. Assim, variando a polaridade do solvente, ou misturas de solventes, pode-se separar os componentes de uma amostra.

Na cromatografia em papel se marca no papel com um lápis o ponto de partida da amostra a ser aplicada. Posteriormente o papel é colocado em um béquer fechado (cuba cromatográfica), com solvente suficiente para molhar apenas a parte inferior do papel, não tocando a amostra, conforme a Figura 1.

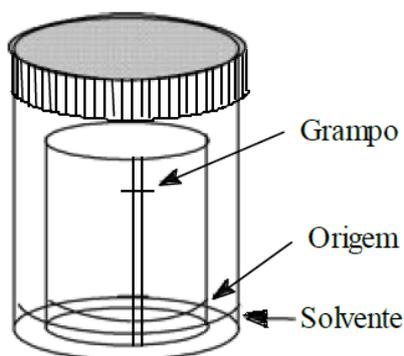


Figura 1. Representação da montagem experimental da cromatografia em papel.

O solvente, que também pode ser chamado de eluente, sobe por capilaridade pelo papel separando os componentes da mistura (Figura 2). As manchas dos componentes da mistura deslocam-se sobre o papel de acordo com a afinidade com o solvente que é utilizado ou a capacidade de se absorverem sobre o papel. Na Figura 3 é apresentado um cromatograma em papel com 4 compostos (A, B, C e D) e com 4 misturas desses compostos (i, ii, iii e iv), permitindo que sejam identificados os

componentes da mistura por comparação com seus padrões.



Figura 2. Corrida Cromatográfica.

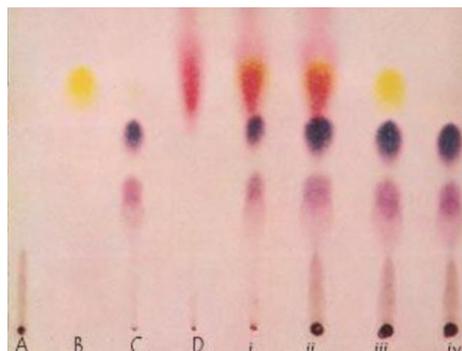


Figura 3. Separação das Amostras

A separação dos componentes de uma mistura neste tipo de cromatografia está baseada nas diferenças da força com que os componentes de uma mistura são adsorvidos na fase estacionária e quanto eles são solúveis na fase móvel. Os componentes com menor capacidade de adsorver na fase estacionária e melhor solubilidade na fase móvel têm um deslocamento mais rápido ao longo do papel. De outra parte, os componentes melhor adsorvidos na fase estacionária e com menor afinidade com a fase móvel serão conseqüentemente retidos e terão uma movimentação mais lenta.

Alguns outros fatores, como a presença de carga eletrônica em algum composto da mistura, também influenciam nas interações do soluto com as duas fases. Porém, basicamente o processo de separação envolve a interação dos solutos com as duas fases. Resumindo, temos que os vários componentes de uma mistura, devido a diferentes interações com a fase estacionária e móvel, são separados em seus componentes, mas para se reproduzir uma análise cromatográfica precisamos utilizar as mesmas condições experimentais.

Alguns termos utilizados na cromatografia

- Suporte de apoio: material sobre o qual fica retida a fase estacionária, no caso da cromatografia em papel é o próprio papel filtro.
- Fase móvel: líquido ou mistura de líquidos que sobe por capilaridade pelo papel arrastando os solutos aplicados no papel. Este líquido ou mistura de líquidos é o que se denominou acima de solvente ou eluente.
- Cromatograma: papel que apresenta as substâncias separadas.
- Revelador ou agente cromogênico: agente físico ou químico que possibilita visualizar substâncias separadas pela cromatografia em papel.

A razão entre a distância percorrida pelo composto (da origem ao centro da mancha) e a distância percorrida pelo solvente é constante e denotado por R_f , ou seja,

$$R_f = \frac{C}{S}$$

Onde:

C = distância percorrida pelo composto, da origem ao centro da mancha.

S = distância percorrida pelo solvente da origem a linha superior (linha do solvente).

Rf = razão de frente do solvente/ fator de retardamento (valor característico de uma determinada substância).

3. MATERIAIS

Etanol	Acetona	Amônia 2 M
1-Butanol	HCl 6 M	Amônia 6 M
2 béqueres 250 mL	1 béquer 500 mL	2 pedaços de papel-filtro
1 jogo de canetinhas	6 tubos capilares	Soluções de íons metálicos
Régua	Grampeador	Secador de cabelos

4. PROCEDIMENTO

A. Utilização da tinta de canetinha hidrocor.

1. Utilizando uma régua, trace uma linha reta com um lápis a 1,5 cm das extremidades do papel-filtro. Marque, em uma das extremidades, seis pontos equidistantes com um lápis ao longo da reta, numerando-os de 1 a 6. Para esta etapa utilize um papel-filtro retangular com 9,5 x 17 cm de dimensões.
2. Faça pequenos pontos com cada uma das canetas seguindo uma ordem de cores (vermelho, azul, amarelo, verde, marrom, preto).
3. Enrole o papel na forma de um cilindro e coloque grampos para manter a forma de cilindro (**Figura 1**).

Obs.: deixe um pequeno espaço ($\pm 1\text{mm}$) entre as duas extremidades de forma a não se tocarem.

4. Coloque esse cilindro de papel no béquer contendo a mistura de solventes na proporção 1:1:1 de etanol/1-butanol/amônia 2 mol L⁻¹ (esta será a fase móvel utilizada neste experimento).
5. Cubra o béquer com um plástico e amarre com uma liga de borracha, para evitar a evaporação da mistura de solventes. Alternativamente pode-se utilizar uma placa de Petry ou um vidro de relógio.
6. Quando a linha do solvente atingir a marca superior no papel, remova-o do béquer.
7. Remova os grampos e deixe-o secar naturalmente.
8. Depois de seco faça um círculo com um lápis ao redor de cada mancha e calcule todos os valores de Rf.

B. Utilização dos cátions em solução.

1. Utilizando um papel-filtro retangular com 7,5 x 14 cm de dimensões, e após marcar com um lápis uma linha para as duas extremidades, faça pequenos pontos com as soluções dos íons metálicos e com a solução desconhecida, usando um tubo capilar (um capilar para cada solução).
2. Grampeie o papel na forma de um cilindro, como você fez para o cromatograma anterior e coloque no béquer contendo a mistura HCl/acetona (7 mL de HCl 6 mol L⁻¹/ 25 mL de acetona).
3. Cubra o béquer, como anteriormente, com um plástico para evitar a evaporação da mistura solvente.
4. Quando a linha do solvente atingir a marca superior no papel, remova-o do béquer.
5. Seque o cromatograma dos íons metálicos, ao ar quente utilizando um secador de cabelos. Circule com um lápis qualquer mancha no cromatograma e anote a cor.
6. Para “revelar todas as cores” desse cromatograma, coloque-o aberto sobre o béquer (na capela química com o exaustor ligado) que contém amônia 6 mol.L⁻¹ e cubra-o com um vidro de relógio por 5 minutos (repita o mesmo procedimento para a outra metade do cromatograma). Este processo de “revelação” se constitui de reações entre os cátions com moléculas de amônia (NH₃).
7. Seque o cromatograma novamente demarcando e anotando a cor de cada mancha.
8. Marque a posição de qualquer mancha nova que aparecer e anote qualquer mudança.

5. PRÉ-LABORATÓRIO

1. Em um cromatograma de papel, uma mancha vermelha desloca-se 6,0 cm da origem enquanto a linha do solvente desloca-se 9,0 cm. Qual é o valor do R_f para essa mancha?
2. Os valores do R_f de compostos polares aumentam ou diminuem quando a polaridade do solvente aumenta? Por quê?
3. Dois cromatogramas de uma mesma substância são obtidos sob as mesmas condições, exceto que um é deixado correr por 10 minutos e o outro por 20 minutos. Serão os valores de R_f diferentes? Explique sua resposta.
4. Por que é importante fazer manchas bem pequenas na obtenção de um cromatograma?

EXPERIÊNCIA 5. CROMATOGRAFIA

EQUIPE:

TURMA:

DATA:

TABELA I: Pigmentos ou Manchas

- Distância entre a origem e a linha do solvente ____ mm

Caneta	Cor	Dist	R _f									
Vermelha												
Azul												
Amarela												
Verde												
Marrom												
Preta												

TABELA II: Cromatografia dos íons

- Distância entre a origem e a linha do solvente ____ mm

Solução	Íon	Cor após a 1ª secagem	Cor após a revelação com NH ₃	Cor após a 2ª secagem	Distância em mm	R _f
01	Fe ³⁺					
02	Cu ²⁺					
03	Co ²⁺					
04	Mn ²⁺					
05	Fe ³⁺					
05	Cu ²⁺					
05	Co ²⁺					
05	Mn ²⁺					
Amostra						

IDENTIDADE DA AMOSTRA (que íons são?): _____

EXPERIÊNCIA 5. CROMATOGRAFIA

EQUIPE:

TURMA:

DATA:

TABELA I: Pigmentos ou Manchas

- Distância entre a origem e a linha do solvente ____ mm

Caneta	Cor	Dist	R _f									
Vermelha												
Azul												
Amarela												
Verde												
Marrom												
Preta												

TABELA II: Cromatografia dos íons

- Distância entre a origem e a linha do solvente ____ mm

Solução	Íon	Cor após a 1ª secagem	Cor após a revelação com NH ₃	Cor após a 2ª secagem	Distância em mm	R _f
01	Fe ³⁺					
02	Cu ²⁺					
03	Co ²⁺					
04	Mn ²⁺					
05	Fe ³⁺					
05	Cu ²⁺					
05	Co ²⁺					
05	Mn ²⁺					
Amostra						

IDENTIDADE DA AMOSTRA (que íons são?): _____