

PRÁTICA 09

CROMATOGRAFIA EM COLUNA

Objetivos: Purificação e separação de um composto orgânico.

Materiais: coluna de vidro, algodão, béquer, funil, rolha de borracha, proveta e pipeta de Pasteur.

Reagentes: sílica gel e solventes orgânicos de várias polaridades.

Aspectos teóricos: Os componentes de uma amostra movem-se com o solvente pela coluna com velocidades diferentes, dependendo de vários fatores, tais como a natureza de cada substância, a natureza do solvente e pelas propriedades texturais do adsorvente (área superficial e distribuição de tamanho de poros) e também dos tipos de grupo funcionais presentes na superfície do adsorvente. A estrutura da sílica gel usada em separações cromatográficas é mostrada na Figura 1.

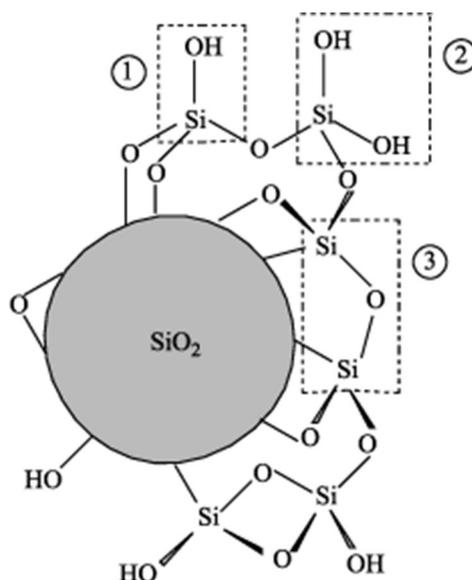


Figura 1. Estrutura da sílica gel. Grupos silanol geminal (1), silanol vicinal (2) e siloxano (3).

A separação dos constituintes de uma mistura é efetuada por meio da passagem do solvente pela coluna e baseia-se na interação dos componentes da amostra e do solvente com a superfície do adsorvente. Um adsorvente sólido deve ter uma grande área superficial, dispondo de inúmeros sítios polares que podem se combinar reversivelmente ou adsorver pequena concentração de substâncias por meio de forças de atração eletrostáticas e interações intermoleculares como ligação de hidrogênio, dipolo-dipolo e dispersões de London. O solvente movendo-se pela superfície do adsorvente compete com a amostra adsorvida e com o adsorvente, e então desloca seus constituintes reversivelmente e continuamente pela coluna. Este processo pode ser visualizado como uma competição entre a amostra, o solvente e o adsorvente, e pode ser expresso pelo seguinte equilíbrio:



A velocidade de eluição dos componentes vai depender da natureza de cada um destes. Compostos polares ou polarizáveis, tais como álcoois, ácidos carboxílicos, amidas e aminas, são adsorvidos mais fortemente e eluídos menos prontamente do que compostos pouco polares, tais como compostos halogenados, aldeídos, cetonas, éteres e hidrocarbonetos.

As características do adsorvente sólido (propriedades texturais e presença de grupos funcionais na sua superfície) vão determinar a velocidade com que as substâncias são eluídas. O solvente empregado também afetará a velocidade de eluição. Quanto mais polar for o solvente, mais rapidamente os componentes se moverão. A escolha do solvente vai ser determinada pela natureza dos componentes a serem separados. Solventes pouco polares são empregados para substâncias fracamente adsorvidas e solventes polares para aquelas fortemente adsorvidas. Alguns solventes normalmente utilizados estão listados a seguir na ordem crescente de aumento de polaridade:

Hexano < tetracloreto de carbono < tolueno < diclorometano < clorofórmio < éter etílico < acetato de etila < etanol < metanol < água.

Procedimentos: Adapte um chumaço de algodão na parte inferior da coluna. Pese 2,0-3,0 g de sílica gel em um béquer e adicione cerca de 10 mL de eluente, agite bem a suspensão com o auxílio de um bastão de vidro e transfira todo o material para a coluna com o auxílio de um funil, recolhendo o solvente a eluir em outro recipiente. A sílica deve ficar muito bem compactada, e para isso utiliza-se um bastão de vidro contendo em sua ponta um pedaço de mangueira de silicone para golpear a coluna levemente, até que a altura (compreendida pela sílica) permaneça inalterada. Durante toda a operação nunca permita que a sílica fique sem o solvente. Depois de colocada toda a sílica na coluna, introduza a solução contendo os componentes da mistura a serem separados com o auxílio de uma pipeta de Pasteur (cerca de uma gota). Deixe o material acomodar-se (lembre-se de nunca deixar a sílica secar) e só então adicione mais quantidade do eluente.

A separação terá início e as frações menos polares serão coletadas primeiro no final da coluna. Eluídas toda a(s) substância(s) de menor polaridade e em seguida aumente a polaridade do eluente usando um solvente mais polar do que a mistura eluente usada anteriormente e assim por diante.

Questões:

- 1- Qual é a função da sílica gel na cromatografia em coluna?
- 2- Correlacione a polaridade com a estrutura dos componentes da mistura.
- 3- Quais os cuidados necessários ao empacotar uma coluna?