



Cromatografia Líquida

Objetivos: Entender como a técnica de cromatografia líquida é feita e os conceitos físicos presentes.

Pré Requisitos: Estudo básico de composição de cores, polaridade das moléculas e força eletrostática.

Fundamentos Teóricos

A cromatografia é uma técnica muito utilizada na química para qualificar componentes de uma amostra e, se for feita com uma tecnologia mais precisa, até quantificar esses componentes.

Na realização da cromatografia, precisamos de 3 componentes:

- uma fase fixa: que é a amostra a ser analisada;
- uma fase móvel: um líquido ou gás que tenha afinidade química com a fase fixa;
- uma base: para o depósito da fase fixa e por onde a fase móvel passará;

Atualmente, existem 3 formas de fazer uma análise cromatográfica: por camada delgada, por coluna ou gasosa. Neste experimento faremos a cromatografia por camada delgada, a diferença para os dois outros tipos de cromatografia é que usamos um papel poroso como base e a fase móvel tem um arraste anti-gravitacional (sentido contrário ao da gravidade), figura 1.

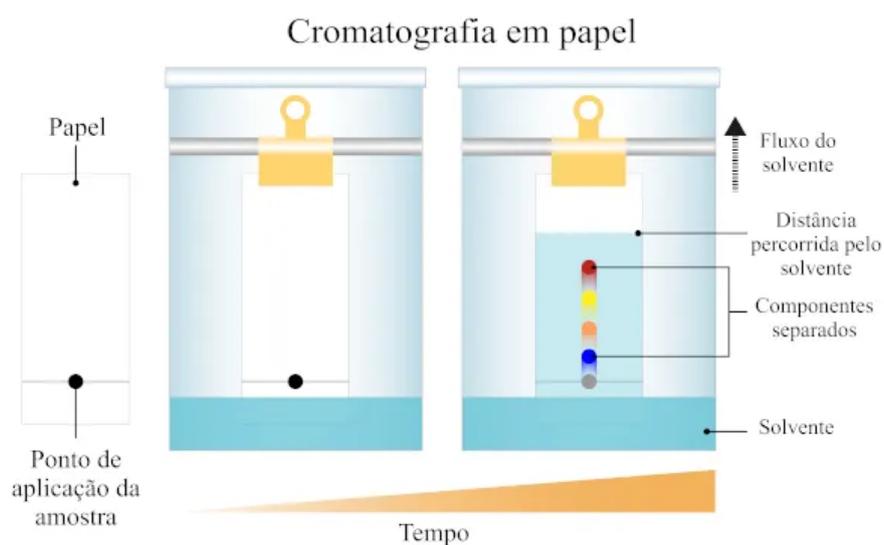


Figura 1: Processo de cromatografia por camada delgada. Fonte: NOVAIS

Na cromatografia por coluna a base é uma coluna, que contém um material poroso inerte (geralmente sílica), e o arraste é gravitacional (no sentido da gravidade), figuras 2 e 3. Já na cromatografia gasosa a fase móvel é um gás e a base é um capilar longo, com as medições sendo realizadas por um software, diferente dos outros métodos onde é possível ver as fases separadas, figura 4.



Figura 2: Coluna de cromatografia. Fonte: PIOZEVAN

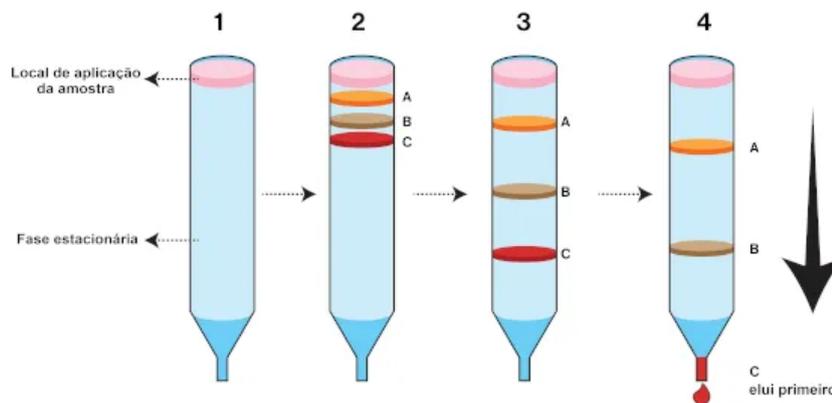


Figura 3: Processo de cromatografia por coluna. Fonte: NOVAIS

Por mais que seja uma técnica de análise química, a cromatografia é um método físico de separação de compostos. Isto porque não ocorre nenhuma reação química nessa separação, os componentes da fase fixa (amostra) são separados pela sua afinidade com a fase móvel. Essa afinidade existe por conta da polaridade das moléculas, polaridade que é gerada pela diferença de eletronegatividade entre os elementos e suas estruturas [4].

A diferença de eletronegatividade influencia a polaridade, pois átomos diferentes possuem um número diferente de elétrons em suas camadas e atraem esses elétrons com forças diferentes, força essa



Figura 4: Equipamento de cromatografia gasosa. Fonte: NOVAIS.

que é o que chamamos de eletronegatividade. Quando dois, ou mais, átomos diferentes compõem uma molécula, a quantidade de elétrons de cada um e suas eletronegatividades vão formar polos na molécula, um polo positivo e outro negativo, tornando-a uma molécula polar. Em moléculas formadas por somente um elemento, chamadas de substâncias simples, não há polaridade já que não há diferença de eletronegatividade, sendo apolar.

A estrutura da molécula também influencia na polaridade da mesma. Caso a molécula seja simétrica não será possível a formação de polos e em moléculas não simétricas a estrutura pode ampliar ou reduzir a polaridade. Exemplos: água (polar), óleo (apolar), figura 5.

Para realizar o arraste, a fase fixa e a fase móvel precisam ser compatíveis, isto é, as duas precisam ser polares ou apolares. A atração entre dois compostos polares é explicada pela lei de Coulumb, equação 1, pois ocorre pela força eletrostática entre os polos de duas moléculas. A atração entre dois compostos apolares pode ser explicada com as *forças de dispersão* ou *forças de London* [6], sendo gerado um campo induzido. Neste experimento trataremos apenas de compostos polares.

$$|\vec{F}| = \frac{k_0 Qq}{d^2} \quad (1)$$

Onde $|\vec{F}|$ é o módulo da força eletrostática, k_0 é a constante dielétrica do vácuo, d é a distância entre as duas moléculas, Q é a carga elétrica de uma das moléculas e q é a carga elétrica da outra molécula. É interessante observar que, no caso da cromatografia em papel que é anti-gravitacional, também há uma atração eletrostática entre o papel e a fase móvel, fazendo o líquido subir por capilaridade, e entre o papel e a fase fixa, que ajuda na separação dos compostos.

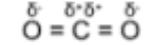
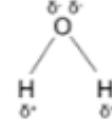
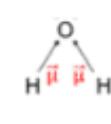
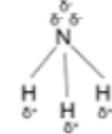
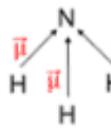
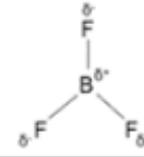
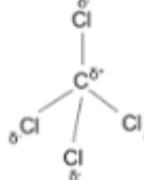
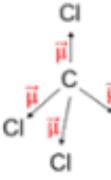
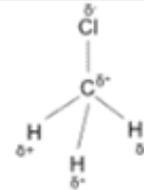
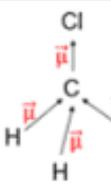
Fórmula molecular	Geometria	Vetores	$\vec{\mu}$	Molécula
HCl			$\vec{\mu} \neq 0$	Polar
CO ₂			$\vec{\mu} = 0$	Apolar
H ₂ O			$\vec{\mu} \neq 0$	Polar
NH ₃			$\vec{\mu} \neq 0$	Polar
BF ₃			$\vec{\mu} = 0$	Apolar
CCl ₄			$\vec{\mu} = 0$	Apolar
H ₃ CCl			$\vec{\mu} \neq 0$	Polar

Figura 5: Polaridade de algumas moléculas, sendo $\vec{\mu}$ o vetor da força eletrostática. Fonte: NAHRA, 2022.

Para a cromatografia em papel feita com canetinhas temos também a teoria das cores onde há cores primárias, na junção das cores primárias temos as cores secundárias e juntando as cores secundárias obtemos as terciárias. Ao realizar a análise cromatográfica das cores de canetinhas, esperamos identificar quais cores foram misturadas para formar a cor utilizada. Isso é possível pois cada cor possui moléculas diferentes, com afinidades diferentes a fase móvel, a cor com maior afinidade é arrastada mais do que outra cor com menos afinidade, sendo assim separadas.

Material Utilizado

- Canetinhas
- Álcool 70
- Folha canson / papel toalha / filtro de papel
- Tesoura
- Recipiente para colocar o álcool

Procedimentos Experimentais

É recomendado a utilização de um papel poroso que tenha gramatura maior que um filtro de papel (de passar café) mas menor que uma folha Canson, papéis especiais para aquarela são recomendados. Quanto maior a gramatura do papel, mais demorado será para a fase móvel subir pelo papel e maior as chances de as cores não separarem pois não há velocidade o suficiente para a separação. Folhas de ofício (a4) simples não são recomendadas pois a fase móvel não consegue subir muito por capilaridade.

Ao utilizar filtro de papel a velocidade de subida da fase móvel será muito alta, o que também pode prejudicar a visualização da decomposição das cores.

Para as cores de canetinhas é recomendado utilizar cores secundárias, por sua maior facilidade de separação já que só há duas cores que as compõem.

Nas imagens deste experimento, fizemos a cromatografia usando 3 tipos de papéis: (A) Canson para aquarela, (B) folha com gramatura maior que A4 e menor que a Canson e (C) filtro de papel.

Atividades

1. Faça marcações na folha escolhida, deixando um espaço em baixo que as cores não encostem diretamente no álcool.



Figura 6: Marcações com canetinhas roxa, verde e laranja nos papéis (A)Canson para aquarela, (B)gramatura menor que Canson e (C)filtro de papel.

2. Despeje um pouco de álcool em um prato ou recipiente.



Figura 7: Álcool 70° em um prato plástico.

3. Recorte as folhas em um tamanho que encaixe no recipiente com álcool.

4. Encoste as folhas no álcool e espere o álcool subir e arrastar as cores.



Figura 8: Arraste de cores realizado nos 3 papéis ao ficarem pela mesma quantidade de tempo em contato com o álcool.

Questões

1. Considerando as cores utilizadas, quais cores que as compõem é possível perceber pela cromatografia?
2. Por que as cores são separadas?
3. Qual é a força que atuante para que a fase móvel consiga arrastar a fase fixa?

Referências

- [1] *A Separação de Compostos por Cromatografia*. <https://alkimia.tripod.com/cromatografia.htm>
- [2] CSA Educacional. *Conceitos Básicos em Cromatografia Líquida | HPLC*. 2019. <https://csaeducacional.com.br/materias/conceitos-basicos-em-cromatografia-liquida-hplc>
- [3] NAHRA, Sara. *Polaridade das Moléculas*. Química - Manual do Enem, 2022. <https://querobolsa.com.br/enem/quimica/polaridade-das-moleculas>.
- [4] NOVAIS, Stéfano Araújo. *Cromatografia*; Brasil Escola. <https://brasilescola.uol.com.br/quimica/cromatografia.htm>.
- [5] PIOVEZAN, Marcel. *UC: Análise Instrumental II*. IFSUL. https://docente.ifsc.edu.br/marcel.piovezan/MaterialDidatico/AIN%202/AIN%202%20_Introdu%C3%A7%C3%A3o%20%C3%A0%20Cromatografia.pdf.
- [6] RENDELUCCI, Fábio. *Forças intermoleculares - As forças de interação entre as moléculas*. UOL. <https://educacao.uol.com.br/disciplinas/quimica/forcas-intermoleculares-as-forcas-de-interacao-entre-as-moleculas.htm>.