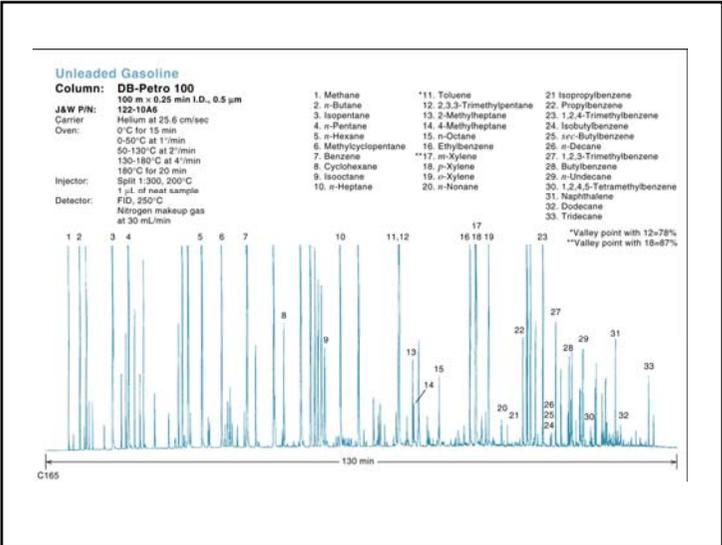
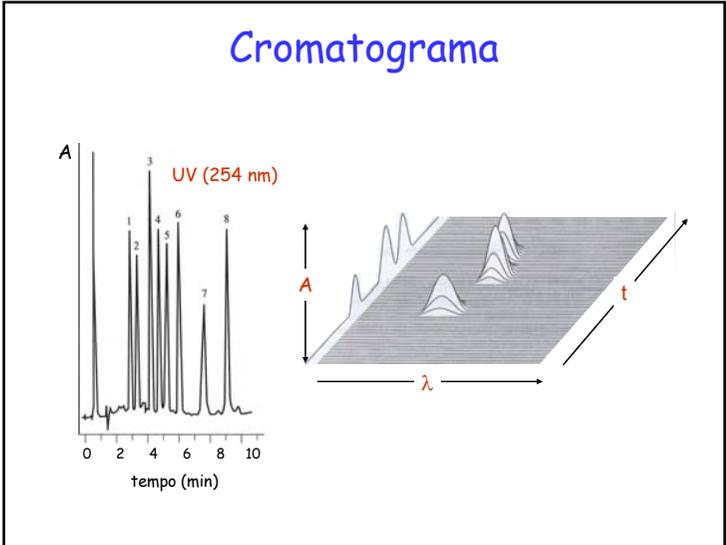
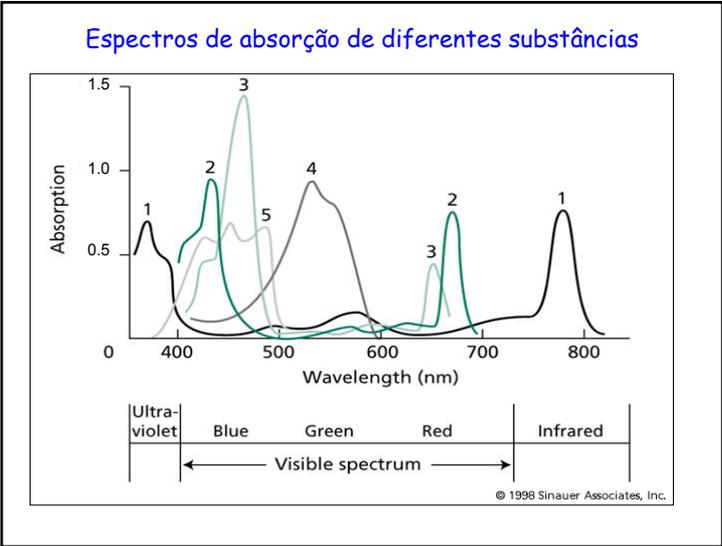


CEN 0260
Métodos instrumentais de análises químicas

Cromatografia

Fábio R. P. Rocha
 (frprocha@cena.usp.br)



Cromatografia

M. Tsweet (1903) → kroma [cor] + graph [escrever]

Cromatografia - Princípio Básico

Separação de misturas por interação diferencial dos seus componentes entre uma **FASE ESTACIONÁRIA** (líquido ou sólido) e uma **FASE MÓVEL** (líquido ou gás).

Cromatografia - Princípio Básico

Separação de misturas por interação diferencial dos seus componentes entre uma **FASE ESTACIONÁRIA** (líquido ou sólido) e uma **FASE MÓVEL** (líquido ou gás).

Cromatografia - Princípio Básico

Separação de misturas por interação diferencial dos seus componentes entre uma **FASE ESTACIONÁRIA** (líquido ou sólido) e uma **FASE MÓVEL** (líquido ou gás).

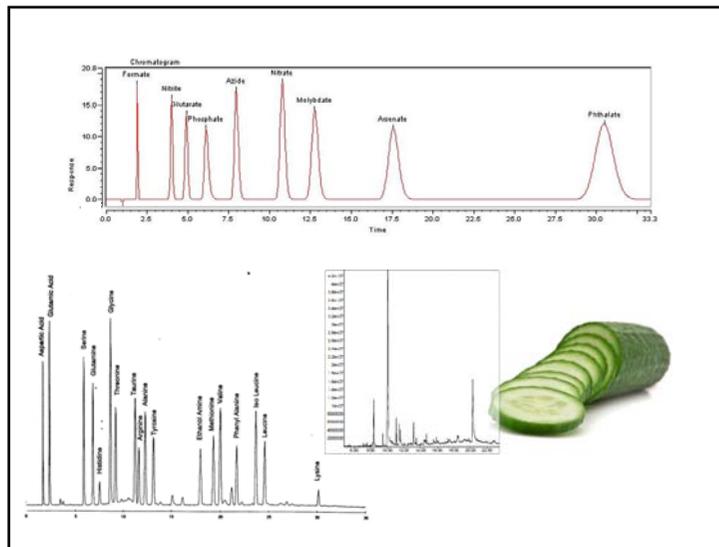
Definição da IUPAC

Cromatografia é um método físico de separação no qual os componentes da amostra a serem separados distribuem-se entre duas fases: uma fase estacionária e uma fase móvel, que flui em uma direção definida

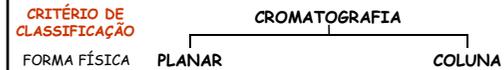
Pure and Applied Chemistry **65**(4) (1993) 819-872

Aplicações

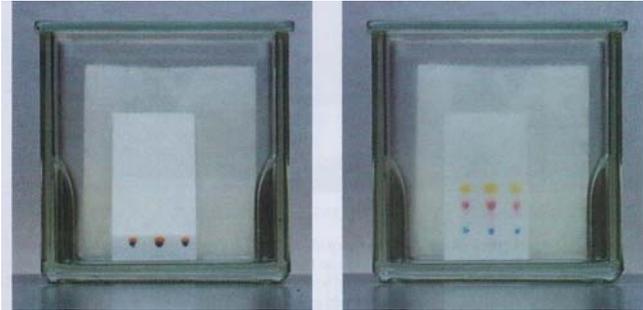
- ⇒ **Constituintes orgânicos**
 - Ex. lipídios, proteínas, colesterol, carboidratos, vitaminas
- ⇒ **Aditivos**
 - Ex. corantes, edulcorantes, conservantes
- ⇒ **Resíduos de pesticidas, hormônios, antibióticos**
- ⇒ **Origem geográfica e autenticidade**
 - Ex.: vinho, café, chocolate
- ⇒ **Especiação química**



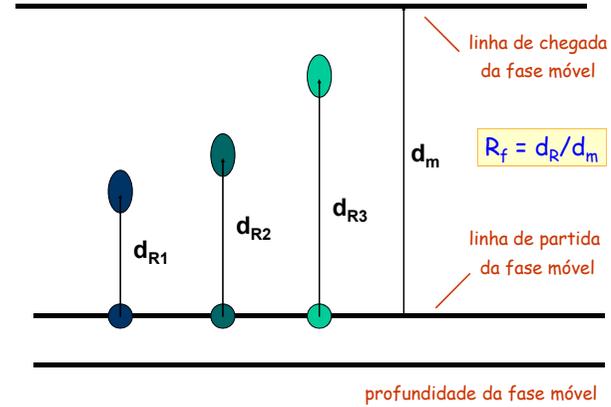
Classificação



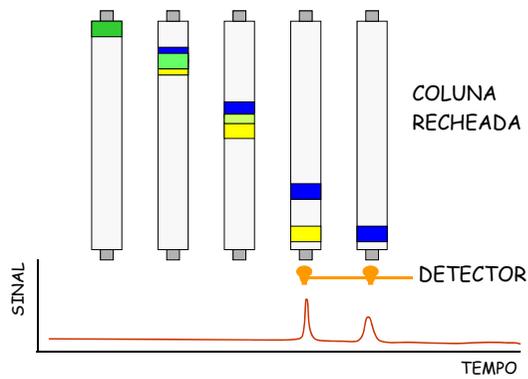
Cromatografia planar



Cromatografia planar

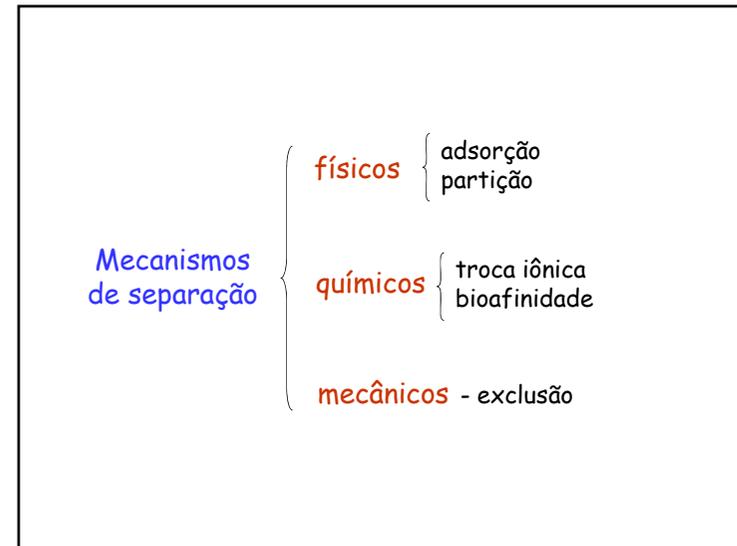
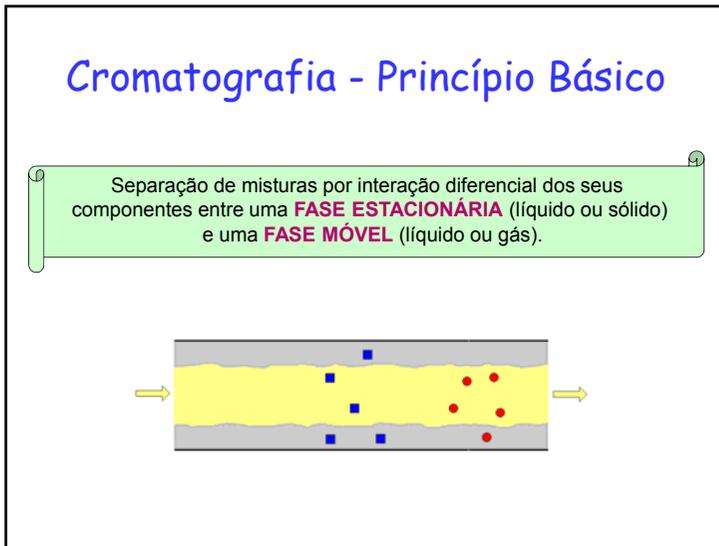
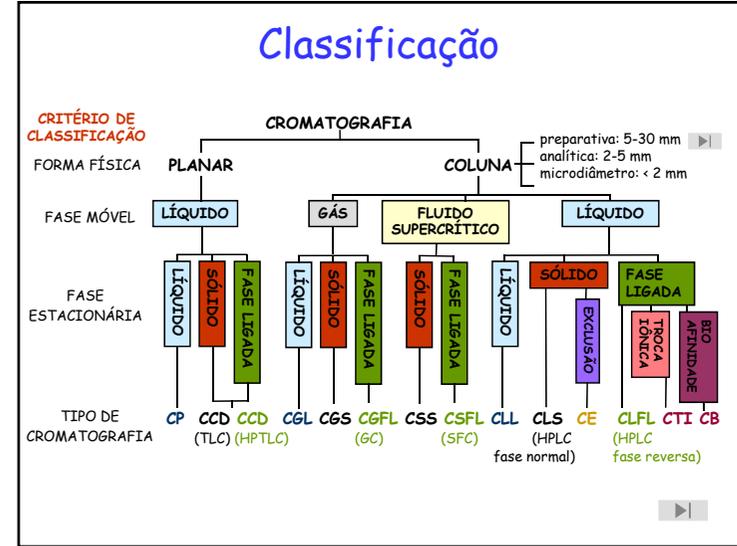


Cromatografia em coluna



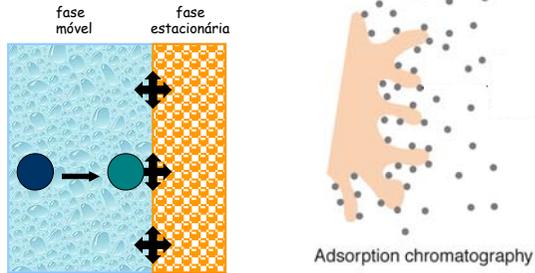
Classificação





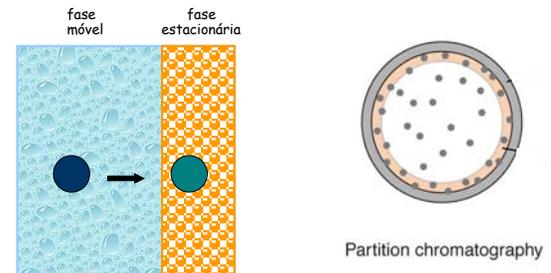
Mecanismos de separação (físicos)

Adsorção



Mecanismos de separação (físicos)

Partição (absorção)



The Nobel Prize in Chemistry 1952



Archer John Porter
Martin
Prize share: 1/2



Richard Laurence
Millington Syge
Prize share: 1/2

ABsorção x ADsorção

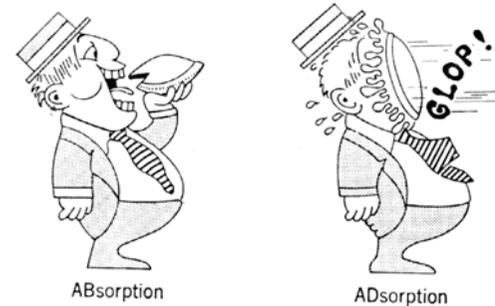
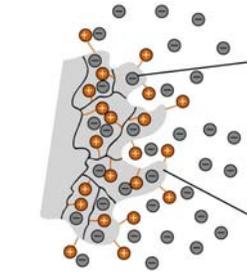
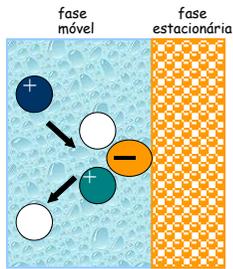


Figure 1. The difference between absorption and adsorption.

Mecanismos de separação (químicos)

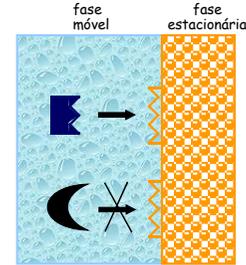
Troca iônica



Ion-exchange chromatography

Mecanismos de separação (químicos)

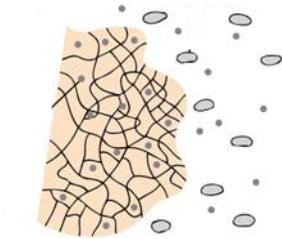
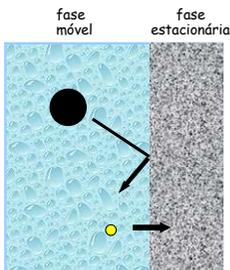
Bioafinidade



FE-antígenos; analito - anticorpos
FE-enzimas; analito - proteínas

Mecanismos de separação (mecânicos)

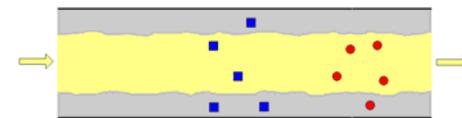
Exclusão



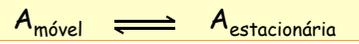
Molecular exclusion chromatography

Cromatografia - Princípio Básico

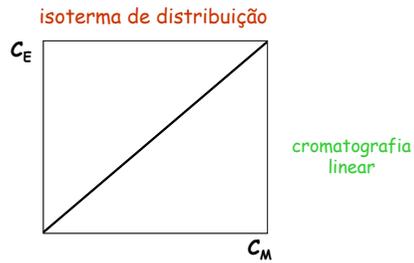
Separação de misturas por interação diferencial dos seus componentes entre uma **FASE ESTACIONÁRIA** (líquido ou sólido) e uma **FASE MÓVEL** (líquido ou gás).



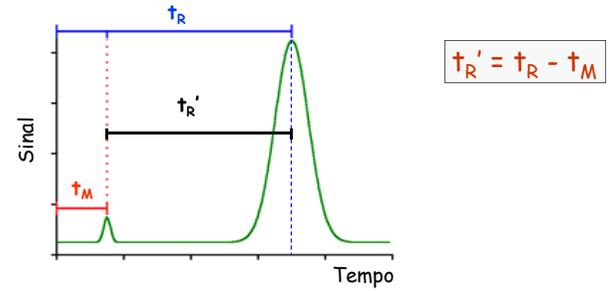
Coeficiente de partição



$$K = \frac{C_E}{C_M}$$



Tempo de retenção



Cromatograma

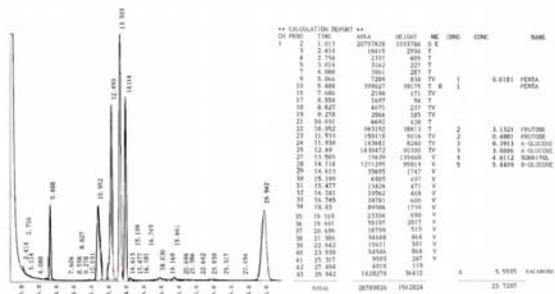
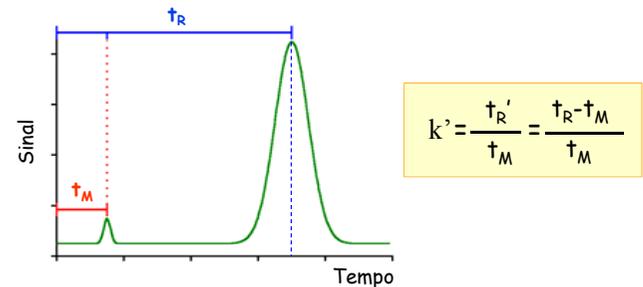


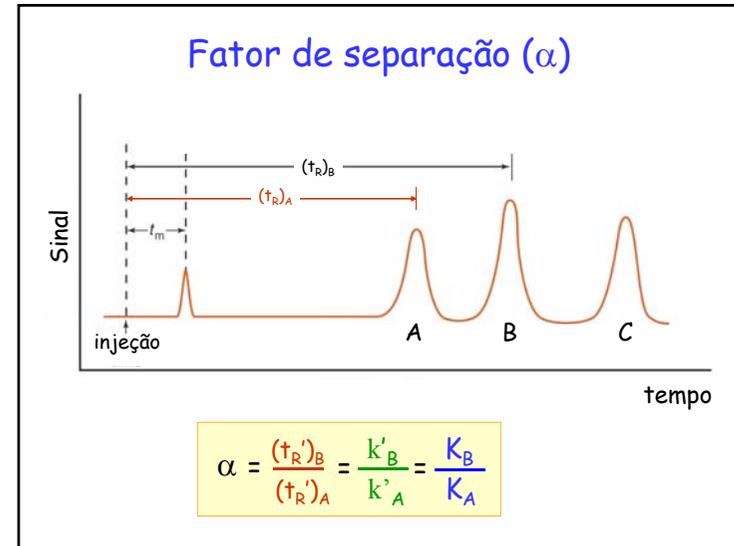
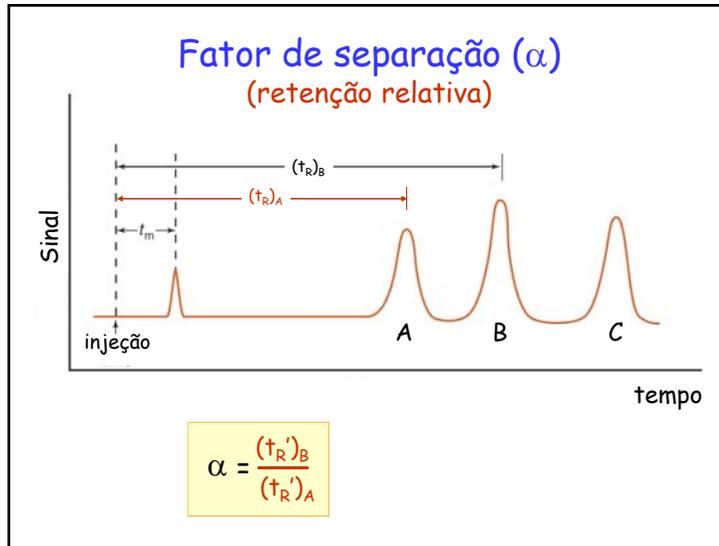
FIGURA 1 - Cromatograma de análise de açúcares solúveis por cromatografia gasosa, em gemas florais de pommeira. Empresa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2004.

Rev. Bras. Frutic., 27 (2005) 173-174

Fator de capacidade (k')

(fator de retenção)





Exercício

Mistura: benzeno, tolueno e metano

- ✓ t_R (metano) = 42 s (t_M)
- ✓ t_R (benzeno) = 251 s
- ✓ t_R (tolueno) = 333 s

$\Rightarrow t'_R, k', \alpha$

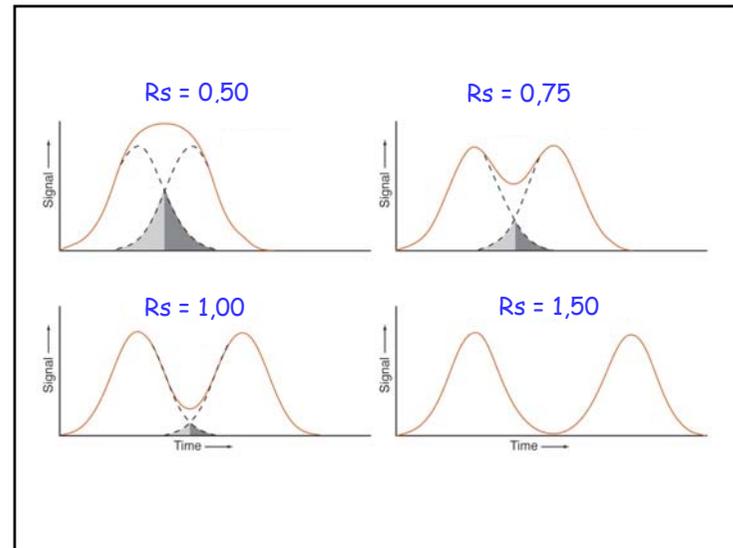
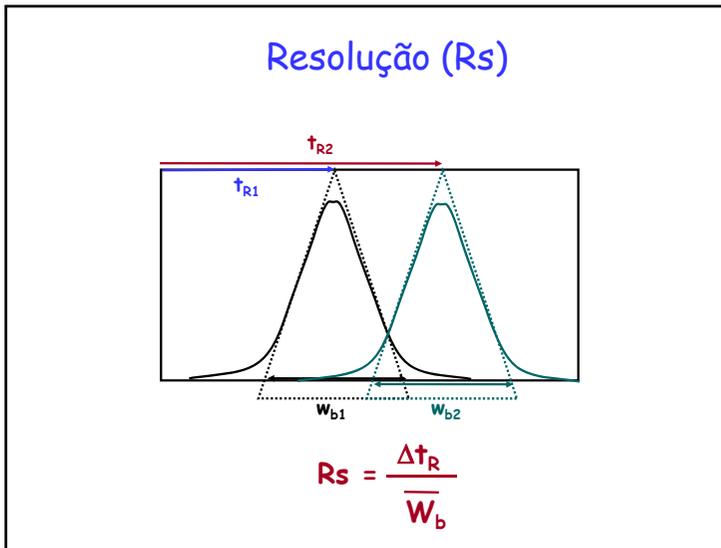
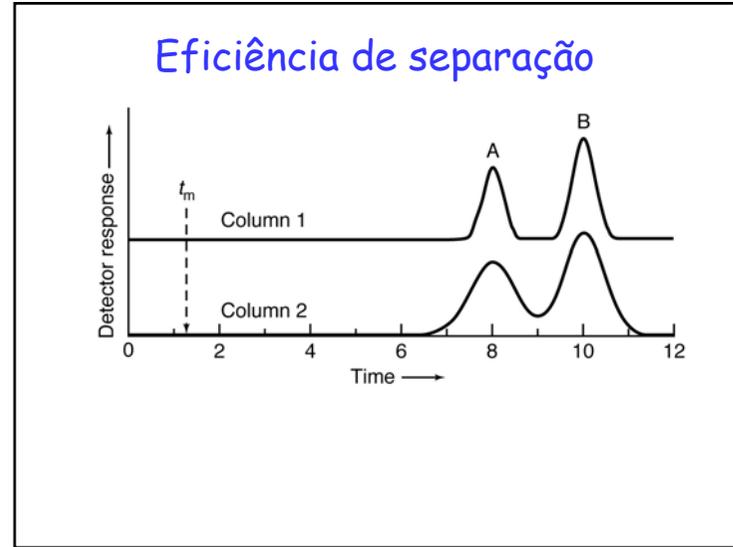
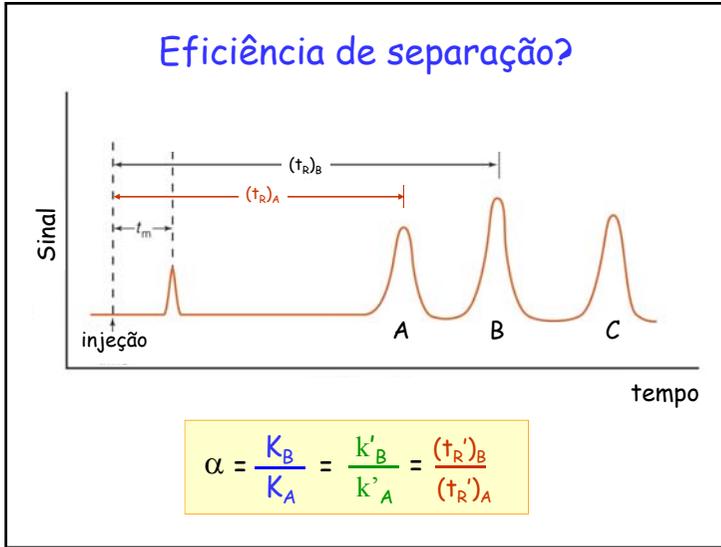
- ✓ t_R (metano) = 42 s (t_M)
- ✓ t_R (benzeno) = 251 s
- ✓ t_R (tolueno) = 333 s

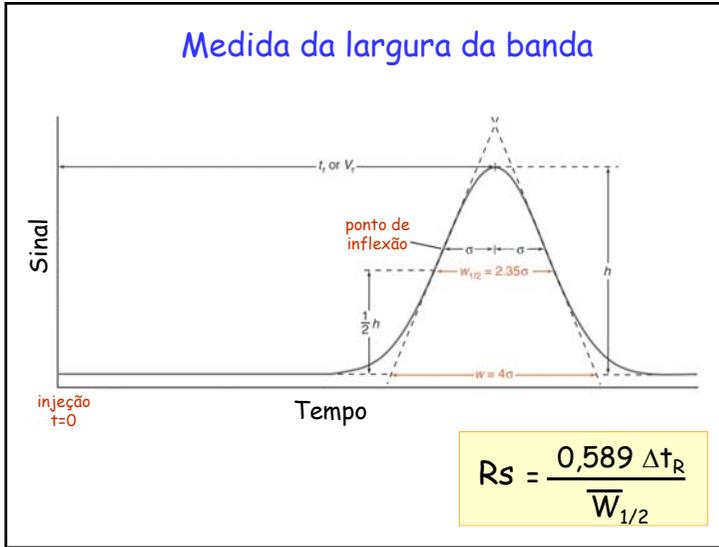
$\Rightarrow t'_R, k', \alpha$

$t'_{R_B} = 251 - 42 = 209$ s $t'_{R_T} = 333 - 42 = 291$ s

$k'_B = 209/42 = 4,98$ $k'_T = 291/42 = 6,93$

$\alpha = (t'_R)_T / (t'_R)_B = 291/209 = 1,39$





Exercício

Verifique se as espécies A e B foram adequadamente separadas por cromatografia

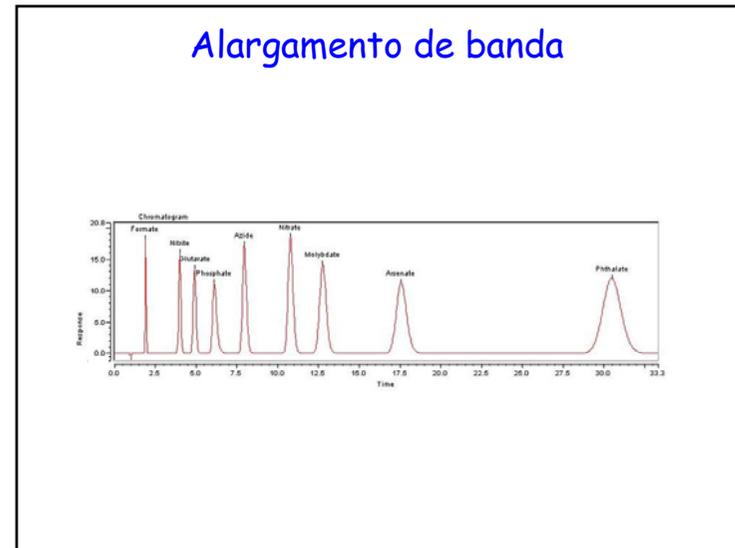
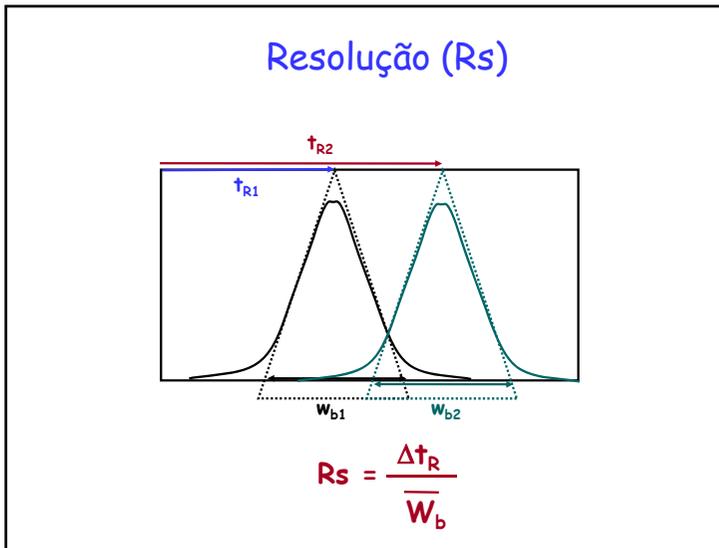
- ✓ A: $t_R = 407$ s; $W_b = 13$ s
- ✓ B: $t_R = 424$ s; $W_b = 16$ s

$\Delta t_R = 424 - 407 = 17$ s

$W_b = (13+16)/2 = 14,5$ s

➔

$R_s = 17/14,5 = 1,17$



Alargamento de banda

$\sigma^2 = \sum \sigma_i^2$ →

- injeção
- coluna
- detector

$\sigma^2 = H L$

Equação de van Deemter

$H = A + B/u + Cu$

caminhos múltiplos
difusão longitudinal
tempo de equilíbrio

$A = 2 \lambda d_p$

Equação de van Deemter

$H = A + B/u + Cu$

caminhos múltiplos
difusão longitudinal
tempo de equilíbrio

$B = 2 \gamma D_M$

Table 23-1 Representative diffusion coefficients at 298 K

Solute	Solvent	Diffusion coefficient (m ² /s)
H ₂ O	H ₂ O	2.3 × 10 ⁻⁹
Sucrose	H ₂ O	0.52 × 10 ⁻⁹
Glycine	H ₂ O	1.1 × 10 ⁻⁹
CH ₃ OH	H ₂ O	1.6 × 10 ⁻⁹
Ribonuclease (FM 13 700)	H ₂ O (293 K)	0.12 × 10 ⁻⁹
Serum albumin (FM 65 000)	H ₂ O (293 K)	0.059 × 10 ⁻⁹
I ₂	Hexane	4.0 × 10 ⁻⁹
CCl ₄	Heptane	3.2 × 10 ⁻⁹
N ₂	CCl ₄	3.4 × 10 ⁻⁹
CS ₂ (g)	Air (293 K)	1.0 × 10 ⁻⁵
O ₂ (g)	Air (273 K)	1.8 × 10 ⁻⁵
H ⁺	H ₂ O	9.3 × 10 ⁻⁹
OH ⁻	H ₂ O	5.3 × 10 ⁻⁹
Li ⁺	H ₂ O	1.0 × 10 ⁻⁹
Na ⁺	H ₂ O	1.3 × 10 ⁻⁹
K ⁺	H ₂ O	2.0 × 10 ⁻⁹
Cl ⁻	H ₂ O	2.0 × 10 ⁻⁹
I ⁻	H ₂ O	2.0 × 10 ⁻⁹

