

ROTEIRO DA PRÁTICA DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA (PAPEL, CAMADA DELGADA E COLUNA ABERTA)

A) CROMATOGRAFIA LÍQUIDA EM PAPEL

“SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS UTILIZANDO OS PRINCÍPIOS DA CROMATOGRAFIA EM PAPEL”

PARTE EXPERIMENTAL

- Fazer uma solução 3:2 (V/V) Etanol/Água, com volume suficiente para preencher o fundo de um béquer de 500 mL.
- Fazer marcações com as canetinhas no papel de filtro e dobrá-lo de maneira que adquira formato cônico. É importante que as marcações sejam distribuídas em torno do cone.
- Inserir o papel dobrado dentro do béquer, de forma que apenas a ponta do cone esteja em contato com o solvente.
- Observe a decomposição das cores. Quais delas sofreram mais mudanças?

B) CROMATOGRAFIA LÍQUIDA EM CAMADA DELGADA E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA EM COLUNA ABERTA

“SEPARAÇÃO DE BIXINA, METILBIXINA E NORBIXINA, COMPOSTOS PRESENTES NA SEMENTE DE URUCUM”

OBJETIVO

Adquirir destreza na utilização de técnicas de cromatografia preparativa na extração e isolamento de compostos de interesse a partir de matrizes complexas.

INTRODUÇÃO

As técnicas de cromatografia planar (em papel ou em capa fina) e coluna aberta foram as primeiras formas de cromatografia desenvolvidas. Embora sejam os formatos mais simples que existem desta técnica na atualidade, ainda continuam sendo muito versáteis e úteis, especialmente na área de produtos naturais, onde o isolamento de um composto de interesse frequentemente envolve uma ou várias etapas de fracionamento e separação em colunas, antes da obtenção do composto puro.

PARTE EXPERIMENTAL

Pesar 500 mg de colorífico comercial em um béquer de 10 mL.

Determinação do sistema de solventes

Adicionar 3 mL de uma solução 1 % de EtOH em CH_2Cl_2 ao béquer contendo o colorífico pesado. Agitar por 5 minutos. Filtrar a amostra, secar o sobrenadante até restar 1 mL.

Repetir o procedimento de extração com soluções 2, 4 e 8% de EtOH. Aplicar pequenas frações dos extratos obtidos em placas de TLC e, utilizando como fase móvel os solventes previamente utilizados, definir qual destes leva à melhor separação.

Fracionamento em coluna cromatográfica

Colocar um pedaço de algodão na saída da coluna para impedir que as partículas saiam pela torneira, e condicionar com o solvente que apresenta as melhores condições de separação.

Fazer uma suspensão de 8 g de sílica em 50 mL do solvente que melhor rendimento apresentou na etapa anterior e empacotar a coluna cuidadosamente. É importante que a sílica não seque nem forme bolhas dentro da coluna, pois isto pode prejudicar a separação.

Adicionar o extrato de colorífico no topo da coluna, seguido de 5 mL de solvente. Abrir a torneira e começar a coletar alíquotas de aproximadamente 2 mL em tubos de ensaio. Adicionar a quantidade de solvente necessária no topo da coluna para evitar a sílica seque. É necessário que ao menos 30 alíquotas sejam coletadas para observar a separação e guardar a ordem de coleta na disposição dos tubos de ensaio na grade.

Análise das frações por TLC

Uma vez terminada a coleta das frações provenientes da coluna, determinar por inspeção visual dos tubos de ensaio as possíveis regiões de separação dos analitos, e utilizar TLC para determinar as frações exatas onde ocorreu a separação.