

RESUMO DA AULA 2 (PARTE II) (2022)

MECANISMOS DE SEPARAÇÃO – CONTINUAÇÃO

Principais conceitos abordados:

PARTIÇÃO

- Cromatografia de **Partição** é aquela em que a FE e a FM estão em estado físico **líquido**. Portanto, a separação ocorre às diferentes solubilidades que os analitos têm entre eles em ambas as fases.
- A FE pode ser um líquido (água, por exemplo) (FL) que se encontra adsorvida a um suporte sólido (sílica, por exemplo) – por isso essa fase fica estacionada/imobilizada. Mas na imensa maioria das aplicações cromatográficas, a FE constitui-se num Líquido Quimicamente Ligado (Fases Quimicamente Ligadas: FQL) à superfície de um sólido (como sílica, alumina, dentre outros). As FQL são muito mais estáveis e mais versáteis que FL, uma vez que há líquidos de diferentes características físico-químicas que podem ser ligados ao suporte sólido.
- A Cromatografia de Partição é subdividida em Partição de **Fase Normal** (FE é mais polar do que a FM) e Partição de **Fase Reversa** (FE é menos polar do que a FM).
- Principais FE empregadas em modo de Fase Normal: aminopropil, diol, cianopropil.
- Principais FE empregadas em modo de Fase Reversa: C₁₈, C₈, fenil, aminopropil.
- Fase Normal é principalmente empregada na separação de compostos polares.
- Fase Reversa é principalmente empregada na separação de compostos mediantemente polares a apolares.

PARTIÇÃO EM MODO DE FASE REVERSA

- Na Cromatografia Planar por Partição em Fase Reversa, o analito que menos migrar na placa é o menos polar. (Exercitar o raciocínio considerando o emprego de Fase Normal)

- Na Cromatografia em Coluna por Partição em Fase Reversa, o analito que sai primeiro da coluna (o primeiro a ser coletado no final da coluna) é o mais polar. (Exercitar o raciocínio considerando o emprego de Fase Normal)
- Na otimização de uma separação cromatográfica, deve-se considerar a seguinte priorização de modificações nas condições estabelecidas:
 1. Como primeiro passo deve-se considerar alterar a força da FM. Fase Móvel mais forte implica em menor interação do(s) analito(s) com a FE. FM mais fraca, implica em maior interação com a Fase Estacionária. Em Fase Reversa, a FM será mais forte quanto maior for a proporção do componente orgânico (menos polar) em relação ao componente aquoso (mais polar). (Exercitar o raciocínio considerando o emprego de Fase Normal)
 2. Em seguida, alterar a seletividade da FM a partir da troca de um dos seus componentes (analitos têm solubilidades diferentes em solventes diferentes). Em Fase Reversa, geralmente troca-se o componente forte da Fase Móvel.
 3. Como terceira alternativa (antes de considerar alterar o mecanismo de separação que está sendo empregado), considera-se alterar a seletividade da FE, trocando a FE por outra, mantendo o mecanismo de separação. No caso da FE Reversa, é comum considerar a troca de uma FE do tipo C₁₈ por uma do tipo C₈.
- Para a separação de compostos ionizáveis (ácidos e/ou bases) por Fase Reversa deve-se selecionar um pH da Fase Móvel que permita que os analitos estejam na condição não ionizada. Para ácidos, utilizar pH a duas unidades abaixo do pKa do analito. Para analitos básicos, utilizar pH a duas unidades acima do pKa do analito. Entender este princípio através do Gráfico que relaciona Retenção em Fase Reversa versus pH e também pela Equação de Henderson-Hasselbalch.

PARTIÇÃO EM MODO DE FASE NORMAL

- Cromatografia de **Partição** (FE e FM são líquidas) em modo de **Fase Normal** é aquela em que a FE é mais polar do que a FM. Portanto, composto mais polares ficam mais retidos na FE do que os compostos menos polares.

- Enquanto o modo de Fase Reversa é utilizado preferencialmente para a separação de compostos que variam de moderadamente polares a apolares, o modo de Fase Normal é principalmente empregado na separação de compostos muito polares.
- Assim como ocorre no modo de Fase Reversa, em Fase Normal a FM é geralmente composta de uma mistura de solventes, sendo neste caso, solventes de baixa polaridade. Nessa mistura, o componente que for mais polar será o responsável por ditar a força da FM, isto é, quanto maior a sua proporção na FM, mais forte a FM será e, portanto, menos retidos os analitos ficarão na FE.
- Em Partição de Fase Normal, as opções de solventes para a FM são maiores do que em Fase Reversa, permitindo que haja uma maior possibilidade de variação da Seletividade da FM.
- Em Partição de Fase Normal há também significativa variabilidade de opções de FE, conferindo boa variação de seletividade na separação cromatográfica.

TROCA IÔNICA

- Neste mecanismo são empregadas FE constituídas de funções polares iônicas (cátions ou ânions), as quais são ancoradas em suportes inorgânicos (como sílica, por exemplo) ou poliméricos (resinas).
- A interação do analito com a FE se dá por adsorção reversível do tipo atração eletrostática
- A FM contém eletrólitos (íons) que funcionam como contra-íons, os quais mantêm um equilíbrio de troca com a FE. Esses contra-íons são responsáveis para evitar que os analitos de carga oposta à FE fiquem indefinidamente ligados a ela e, portanto, eluam (cromatografia de coluna) ou migrem (cromatografia planar) com a FM.
- Trocador catiônico: refere-se a uma FE que troca cátions e que, portanto, possui carga negativa
- Trocador aniônico: refere-se a uma FE que troca ânions e que, portanto, possui carga positiva.
- Trocador forte: refere-se a uma FE (catiônica ou aniônica) que tem habilidade de se manter ativa em maior amplitude de pH

- Trocador fraco: refere-se a uma FE (catiônica ou aniônica) que tem habilidade de se manter ativa em restrita faixa de pH

EXCLUSÃO POR TAMANHO

- Mecanismo de separação baseado na interação física (mecânica) de moléculas de diferentes tamanhos por entre os poros da FE.
- As opções de FE consistem em partículas pequenas ($\sim 10 \mu\text{m}$) de sílica ou polímeros contendo uma rede de poros uniformes dentro dos quais as moléculas do soluto e do solvente podem difundir.
- As moléculas muito grandes são excluídas do leito cromatográfico e eluem primeiro; as moléculas médias poderão penetrar os poros em vários graus dependendo de seu tamanho; e as moléculas menores difundindo-se mais dentro da estrutura dos poros eluem por último.