

RESUMO DA AULA 3 (2022)

CROMATOGRAFIA PLANAR OU EM COLUNA

Principais conceitos abordados:

CROMATOGRAFIA PLANAR

- A cromatografia planar pode ser empregada tanto para fins de análise qualitativa quanto quantitativa.
- Em análise qualitativa, o deslocamento da mancha cromatográfica nos dá a informação relacionada à identificação do analito.
- O uso de padrões é muito importante em análises qualitativas e essencial em análises quantitativas.
- Se for possível obter informações complementares sobre a mancha cromatográfica além do seu perfil de retenção (deslocamento), como por exemplo a cor do analito, tem-se uma melhora na habilidade da aplicação do método com fim qualitativo.
- A aplicação de padrão da substância alvo (analito puro e de procedência reconhecida) na mesma placa (ou papel) de aplicação da amostra é muito importante para auxiliar na análise qualitativa, pois os fatores de retenção (d_{RF}) do padrão e da substância presente na amostra devem ser similares. No entanto, não é possível assegurar (confirmar) que a substância da amostra realmente corresponda ao padrão utilizado, pois informações complementar podem ser necessárias no caso de análises confirmatórias. Já a ausência de mancha na amostra com d_{RF} semelhante ao do padrão assegura que a substância suspeita não está presente, ou mais apropriadamente afirmando, não está presente em nível de concentração que seja detectável pelo método empregado.
- Em cromatografia planar, o **Fator de Retenção** (d_{RF}) é a informação cromatográfica mais importante do que apenas a distância que a mancha cromatográfica se deslocou na fase estacionária, pois confere maior Precisão (repetibilidade ou reprodutibilidade) à análise.

- O uso de cuba cromatográfica hermeticamente fechada favorece a precisão do método.
- A **Seletividade** é um parâmetro cromatográfico muito importante de avaliação do potencial de emprego das condições selecionadas (mecanismo de separação envolvido; fase móvel e fase estacionária selecionadas), pois nos revela se o método é capaz de separar os analitos; sem levar em consideração se a separação é completa ou não.
- A **Resolução** é o parâmetro que nos dá a informação sobre o grau de separação, isto é, se a separação é completa ou se há algum nível de sobreposição das manchas cromatográficas adjacentes.
- A **Eficiência** é uma medida obtida para cada mancha cromatográfica. Tão mais eficiente será uma condição quanto menor for o alargamento (diâmetro) da mancha e maior for a distância que o analito se moveu na placa cromatográfica.
- O **volume** e/ou a concentração da amostra a ser aplicada na placa cromatográfica é uma medida crítica que pode comprometer a separação cromatográfica. Em resumo, o volume de amostra e a concentração do analito deve ser a menor possível, até o limite que não comprometa a detecção (visualização) da mancha cromatográfica.
- Em **Cromatografia em Papel**, na imensa maioria de suas aplicações, a fase estacionária é a água, a qual se encontra adsorvida por afinidade aos grupos hidroxila das unidades de glicose do papel. Portanto, o papel funciona como suporte da fase estacionária (água). Por esta razão, o mecanismo explorado nas separações se dá por partição em fase normal.
- A intensidade e o tamanho da mancha cromatográfica são as informações que nos dão respostas relacionadas à aplicação em **análise quantitativa** da técnica em cromatografia planar; sendo que em Cromatografia em Papel, tanto a resposta quali como a quantitativa, podem ser obtidas extraindo-se o analito do papel para solução, a qual pode ser submetida à análise com recursos mais sofisticados como espectrofotômetros UV-VIS ou de fluorescência.
- Em **Cromatografia em Camada Delgada** a fase estacionária consiste numa fina camada de material adsorvido a um suporte, geralmente, representado por uma lâmina de vidro ou folha de alumínio. O principal mecanismo de separação cromatográfica explorado nesta técnica é o de Adsorção, porém, pode-se utilizar

também fases estacionárias quimicamente ligadas, do tipo que permita a separação por partição de fase reversa ou de fase normal o, ainda, por troca iônica. Por esta razão a CCD é mais versátil e abrangente em termos de aplicabilidade analítica do que a Crom. em Papel. Além disso, como geralmente a fase estacionária é composta de material inorgânico como sílica ou alumina, a cromatoplaça pode ser submetida à revelação das manchas por técnicas mais abrasivas, em que se faz uso de reagentes mais ativos como ácidos e pode ser até mesmo submetida à elevação de temperatura. No mecanismo de adsorção, é muito importante realizar procedimento de Ativação da Fase Estacionária, que consiste basicamente em submeter a placa cromatográfica à temperaturas mais elevadas (100 a 110 °C) para remoção de moléculas de água que possam estar adsorvidas á sílica (ou alumina) antes de proceder a análise cromatográfica.

- Reveja com atenção e compreenda cada item citado como vantagem e desvantagem, tanto em CP como em CCD.
- Siga a mesma recomendação do item anterior sobre as Características da CCC.