



Cromatografia de Camada Delgada (CCD)



A cromatografia de camada delgada é um exemplo de cromatografia de adsorção. Esta técnica consiste de uma **fase estacionária** fixada em uma placa (de vidro ou alumínio) e uma **fase móvel**, que é composta por um solvente ou combinação de solventes, chamado **eluente**. A amostra a ser analisada é aplicada sobre a fase estacionária, que é um adsorvente. Os principais adsorventes utilizados em CCD são sílica gel e alumina.

Geralmente, a placa de CCD possui 5 cm de altura e a largura deve variar de acordo com o número de amostras aplicadas.

As amostras a serem analisadas em CCD devem ser previamente dissolvidas em um solvente volátil. A aplicação dessa solução sobre a placa cromatográfica deve ser efetuada a aproximadamente 0,5 cm da base inferior da mesma. A aplicação pode ser realizada utilizando um tubo capilar, cuja extremidade inferior esteja uniformemente seccionada. Para aplicação de mais de uma amostra deve-se tomar cuidado com a distância entre os pontos.



Figura 1. Tubos capilares de vidro.

Após a aplicação da(s) amostra(s), a CCD deve ser introduzida em uma cuba de vidro contendo o solvente ou a combinação de solventes apropriados (**chamado de eluente ou fase móvel**). A altura do solvente na cuba não pode ultrapassar a linha de aplicação da(s) amostra(s). Sendo assim, o eluente deve arrastar a(s) amostra(s) (Figura 2b).

Para que se obtenha melhores resultados na CCD, é necessário que a cuba fique saturada com vapores de mesma constituição da fase móvel. Para isto, as paredes laterais internas da cuba são, geralmente, recobertas com papel filtro. Este papel ficará, em contato com o eluente, ficando umedecido com o mesmo.

Uma vez introduzida a placa na cuba (Figura 2a-b), o solvente ascenderá (Figura 2b-e), por fenômeno de capilaridade, até a extremidade superior. Ao ascender, **a fase móvel arrastará mais os compostos menos adsorvidos na fase estacionária**, separando-os dos compostos mais adsorvidos (Figura 2b-e).

A placa deve ser retirada da cuba quando a frente do solvente estiver a aproximadamente 0,5 cm da extremidade superior da placa (Figura 2e). Em seguida, seca-se a placa por simples exposição ao ar, ou com ajuda de um secador de ar quente (Figura 2f).

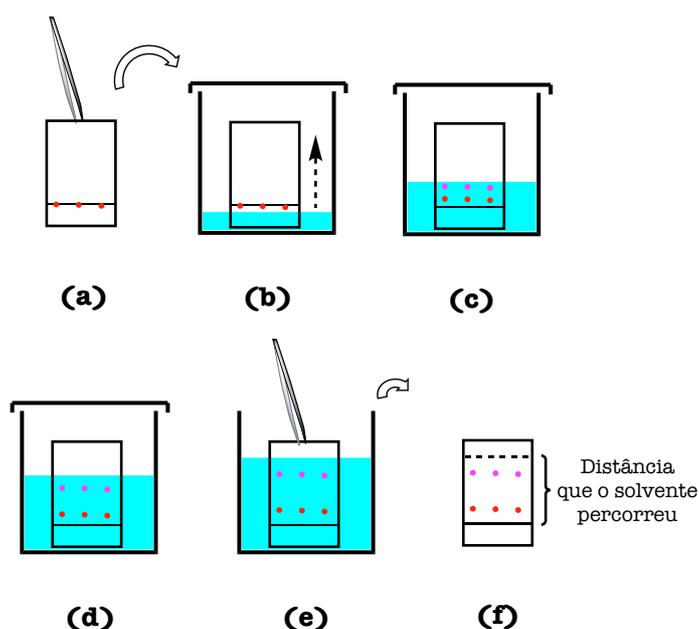


Figura 2. Cromatografia de camada delgada, aplicação e desenvolvimento.

Um parâmetro freqüentemente usado em cromatografia é o "**índice de retenção**" de um composto (**Rf**). Na cromatografia de camada delgada, o Rf é função do tipo de suporte (fase fixa) empregado e do eluente. Ele é definido como a **razão entre a distância percorrida pela mancha do componente e a distância percorrida pelo eluente**.

Portanto:

$$Rf = d_c / d_s$$

Onde:

d_c = distância percorrida pelo componentes da mistura.

d_s = distância percorrida pelo eluente.

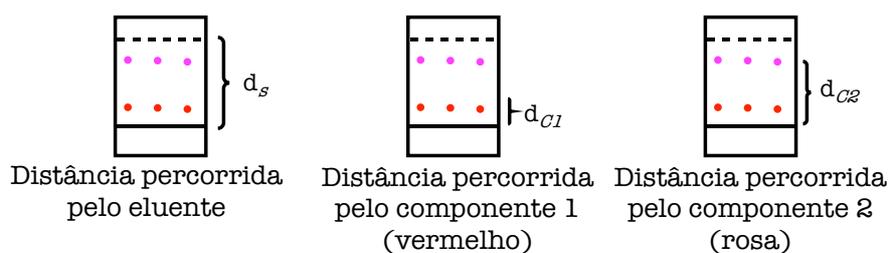


Figura 3. Figura representativa de como calcular as distâncias d_c e d_s .

Quando as condições de medida forem completamente especificadas, o valor de Rf é constante para qualquer composto dado e correspondente a uma propriedade física. Esse valor deve apenas ser tomado como guia, já que existem vários compostos com o mesmo Rf.

1. Reveladores mais utilizados em CCD:

A maioria dos compostos orgânicos são incolores. Com base nisso, um processo de revelação deve ser realizado, para que se possa identificar as manchas correspondentes aos compostos presentes na(s) amostra(s). Os principais tipos de reveladores serão discutidos abaixo.

1.1. Luz UV

O revelador mais utilizado é a luz ultravioleta. Para que se utilize esse método de revelação, devem ser misturados ao adsorvente

utilizado compostos fluorescentes em proporção de aproximadamente 1% em relação a quantidade total presente na fase móvel. Placas de CCD contendo a base de alumínio e o adsorvente já misturado com substâncias fluorescentes estão disponíveis comercialmente.

A placa contendo estas substâncias absorverá luz na região do ultravioleta (254 nm) e emitirá luz em outra região. Esta emissão tem uma coloração esverdeada e brilhante característica.

Quando se aplica à CCD amostras contendo substâncias conjugadas e sistemas aromáticos, esses compostos impedirão a emissão de luz, aparecendo como pontos ou faixas escuras na superfície da placa (Figura 4). Após retirar a placa da influência da luz UV, a CCD ficará branca novamente e, os pontos escuros desaparecerão. Portanto, deve-se circular os pontos escuros com o auxílio de um lápis, para que se possa analisar a CCD posteriormente. Se a mesma placa for, novamente, exposta a luz UV os pontos poderão ser observados outra vez.

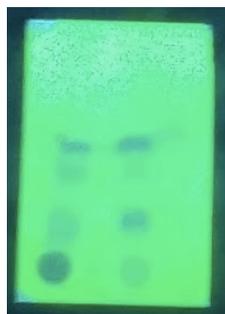


Figura 4. Placa sob luz UV 254 nm.

A luz UV é um método não destrutivo de revelação. Isso quer dizer que, após a revelação, a mesma CCD pode ser revelada por outro método, caso seja necessário.

1.2. Vapor de Iodo

Ao introduzir a CCD, já seca, em uma câmara contendo cristais de iodo, o vapor de iodo combina-se com alguns compostos orgânicos resultando em pontos de coloração marrom avermelhado (Figura 5).

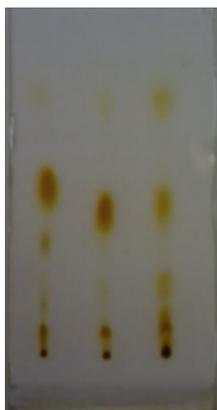


Figura 5. CCD revelada com vapor de iodo.

Após algum tempo, a coloração desaparece, mas pode ser novamente visualizada por nova exposição ao vapor de iodo. Pode-se marcar os pontos com o auxílio de um lápis para facilitar a análise posterior.

O vapor de iodo é também um método de revelação não destrutivo. A grande maioria dos compostos orgânicos podem ser reveladas por este método.

Entretanto, alguns compostos, principalmente compostos saturados, não podem ser visualizados utilizando o vapor de iodo (e nem Luz UV) e métodos mais drásticos e destrutivos devem ser utilizados nestes casos.

1.3. Métodos destrutivos de revelação

Esses métodos consistem em oxidar os compostos orgânicos sobre a superfície da placa, utilizando oxidantes fortes e temperaturas elevadas. O procedimento geral consiste em mergulhar a CCD em uma solução aquosa, alcóolica ou solução ácida e retirar o excesso. A solução reveladora pode ainda ser borrifada sobre a placa. Em ambos os casos, após a exposição da CCD à solução reveladora, a CCD é aquecida com o auxílio de um soprador térmico. Dessa forma, as substâncias orgânicas são oxidadas e reveladas como pontos coloridos.

Sempre que uma solução contendo um ácido forte for utilizado, a etapa de aquecimento deve ser realizada sob abrigo de um exaustor (capela).

A tabela abaixo lista os principais reveladores destrutivos utilizados em um laboratório de química.

Tabela 1. Lista dos reveladores destrutivos mais utilizados para revelar CCD.

Solução Reveladora	Composição	Utilização
Anisaldeído	EtOH (200mL), H ₂ SO ₄ (10 mL) e <i>p</i> -anisaldeído (10 mL). O <i>p</i> -anisaldeído deve somente ser adicionado após a solução esfriar. Manter na geladeira.	Ótimo revelador para compostos carbonílicos.
Ninhidrina	0,3 g de ninhidrina em 100 mL de <i>n</i> -butanol e, após, 3 mL de AcOH.	Ótimo revelador para aminas.
Ácido Fosfomolibdico	Solução 10% em etanol.	Uso universal.
Vanilina	15 g de vanilina, 250 mL de etanol e 2,5 mL de H ₂ SO ₄ .	Uso geral. Variedade de colorações em diferentes grupos funcionais.
Permanganato de Potássio	KMnO ₄ (1 g), Na ₂ CO ₃ (2g), H ₂ O (100 mL). KMnO ₄ (3 g), K ₂ CO ₃ (20 g), H ₂ O (300 mL).	Uso geral

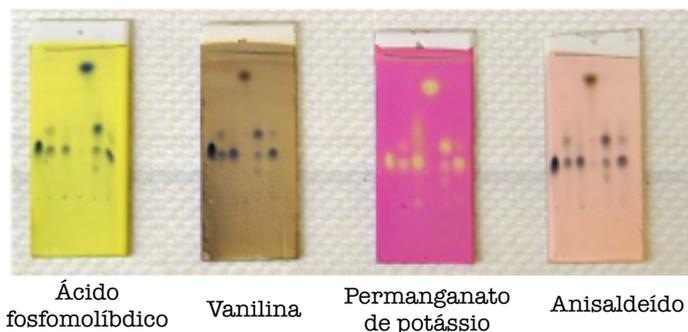


Figura 6. CCD revelada com diversas soluções.

2. A escolha do solvente

A escolha do solvente adequado, para se conseguir uma determinada separação em CCD, é uma das tarefas mais difíceis. Infelizmente, não existem regras fixas para guiar nessa escolha.

Entretanto, com a experiência adquirida e com a observação de conhecimentos teóricos, como a polaridade das moléculas, o problema pode ser solucionado.

As fases estacionárias mais utilizadas (sílica gel e alumina) são extremamente polares e, portanto, adsorverão fortemente os compostos mais polares.

Geralmente, deseja-se que a mancha referente a um composto atinja uma altura referente a $2/3$ da CCD. Quando se tem uma amostra desconhecida ou uma mistura, deve-se tomar cuidado para não utilizar solventes pouco polares, que não removeriam os compostos da origem, parecendo um composto único. Também, não deve-se utilizar solventes muito polares, que arrastariam todos os compostos em uma mancha única. O solvente ideal permite a visualização de todos os componentes de uma mistura (Figura 7).

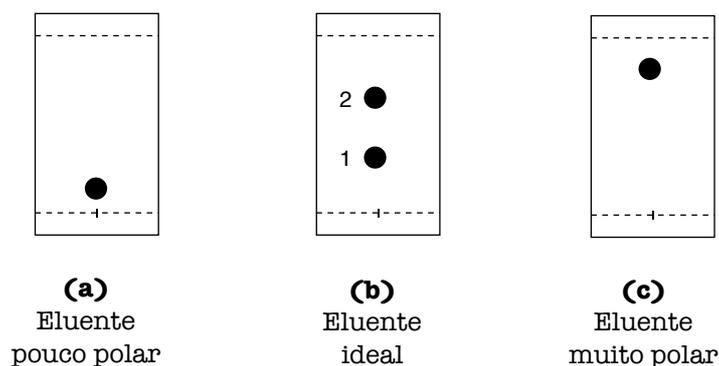


Figura 7. Resultados obtidos com diferentes eluentes.

Na maioria dos casos, deve-se realizar a combinação de solventes para obter-se o resultado ideal.

3. Utilização de CCD em Química Orgânica

A cromatografia de camada delgada é imensamente utilizada em laboratórios de Química Orgânica, suas principais aplicações estão listadas abaixo:

- (a) Analisar, relativamente e qualitativamente, um composto;
- (b) Determinar o número de componentes de uma mistura;

- (c) Determinar o solvente mais apropriado para utilizar em cromatografia em coluna;
- (d) Acompanhar da separação em cromatografia em coluna;
- (d) Avaliar a eficiência da cromatografia em coluna;
- (e) Acompanhar o progresso de uma reação.

4. Monitoramento de uma reação utilizando CCD

Primeiramente deve-se encontrar um sistema de solvente onde o(s) material(ais) de partida fique em uma situação ideal. Deve-se também ter em mente quais são os possíveis produtos e sua polaridade.

Deve-se então preparar uma solução diluída do(s) material(ais) de partida e aplicar na CCD. Caso, mais de um reagente ou material de partida for utilizado na CCD, eles devem ser aplicados lado a lado. Ao lado do(s) reagente(s) deve-se aplicar uma solução da reação em curso, para comparação. Se a reação estiver ocorrendo em meio aquoso ou em outro solvente não volátil e muito polar, deve-se retirar uma alíquota da reação e extrair o conteúdo reacional para um solvente mais adequado (diclorometano, éter dietílico, acetato de etila,...). O solvente da extração deve ser escolhido com base na reação que está sendo realizada (deve solubilizar o material de partida e o(s) produto(s)).

Após a aplicação, a CCD deve ser desenvolvida no eluente de escolha. Uma vez que a CCD esteja seca, ela deve ser revelada para que se possa analisar o desenrolar da reação.

Um exemplo de acompanhamento de reação pode ser observado na figura 8. A reação em questão é a redução da acetofenona ao álcool correspondente, ou seja, o 1-feniletanol. No início, somente o reagente (material de partida) está presente. Ao longo da reação, o reagente começa a ser consumido, dando origem ao produto. Quando todo o reagente for consumido e transformado em produto, a reação terminou.

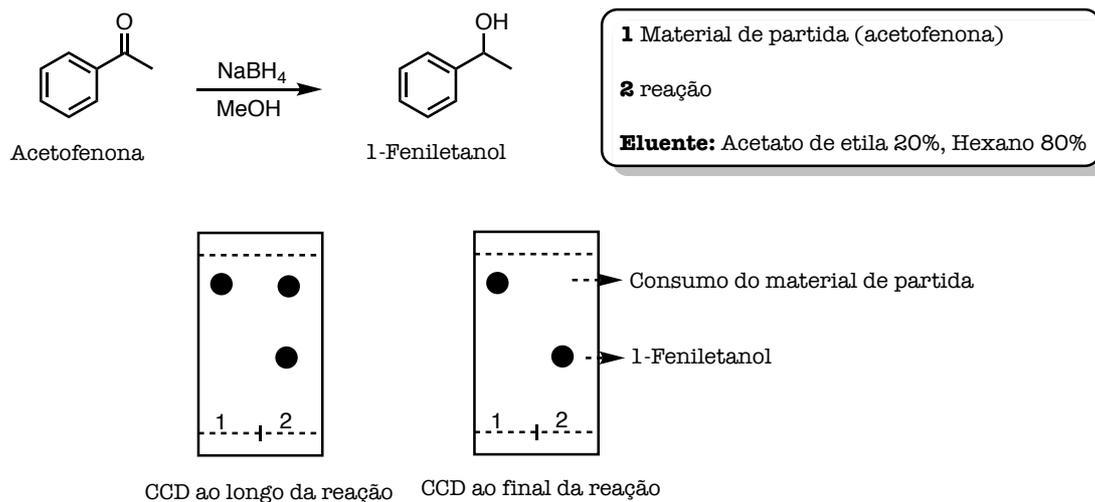


Figura 8. Exemplo de CCD utilizada para monitorar uma reação de redução da acetofenona com borohidreto de sódio.

5. Referências Bibliográficas

Marques, J. A.; Borges, C. P. F. *Práticas de Química Orgânica*. Editora Átomo, Campinas-SP, 2007.

Pavia, D.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Engel, R. G. *Química Orgânica Experimental, Técnicas em escala pequena*. Bookman, Segunda Edição, Porto Alegre-RS, 2009.