

PROCEDIMENTOS DE SEPARACIÓN DE SUBSTANCIAS POR CROMATOGRAFÍA SOBRE CAPA FINA E EN COLUMNA

OBXECTIVO

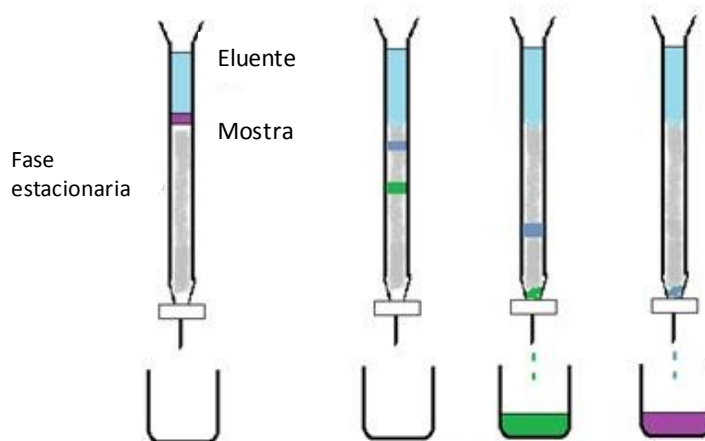
Separar substancias mediante a técnica de cromatografía sobre capa fina e columna, baseándonos na diferente afinidade fronte a unha fase fixa (adsorbente) e unha fase móbil (eluente).

Manexar os conceptos de retención selectiva e polaridade.

INTRODUCCIÓN

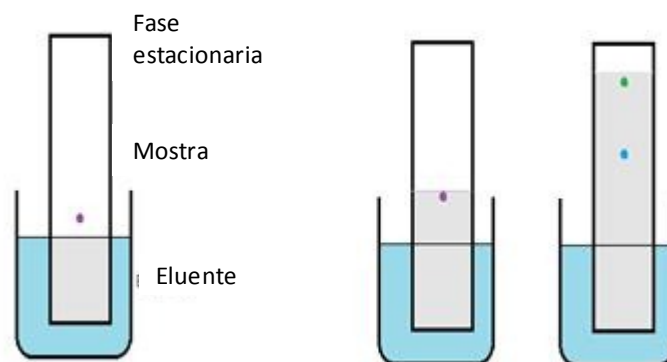
Existen distintos tipos de cromatografías segundo o tipo de mostra, as condicións nas que se leve a cabo, o tipo de método usado ou a natureza do detector empregado, pero todas elas teñen o mesmo principio en común: a separación das distintas especies grazas ao principio de retención selectiva.

Na técnica cromatográfica unha fase móbil atravesa unha fase estacionaria normalmente sólida, a cal vai retendo en distinta medida cada especie química. Case a maioría dos cromatógrafos baséanse na cromatografía en columna, na que a fase móbil é arrastrada por un líquido chamado eluente por gravidade ou por unha presión aplicada na columna.



Cromatografía en columna

A cromatografía de capa fina baséase na ascensión do eluente, e con el a fase móbil, producida por capilaridade.



Cromatografía en capa fina

MATERIAL

- 2 vasos de precipitados de 50 mL
- Vidro de reloxo
- Portaobxectos
- Columna cromatográfica
- Funil
- Vareta de vidro
- Pipeta Pasteur
- Bomba de aire

REACTIVOS

- Placa cromatográfica (cromatofolios)
- Alumina
- Etanol
- Laranxa de metilo
- Azul de metileno
- Algodón
- Sosa 0,1M
- Area

PROCEDEMENTO EXPERIMENTAL

CROMATOGRAFÍA SOBRE CAPA FINA

Preparación das placas:

Dispoñemos de placas cromatográficas de xel de sílice sobre placa de aluminio de 20x20 cm. Cortamos unha tira de aproximadamente 5x2 cm.

Con axuda dun tubo capilar aberto polos dous extremos colócanse dúas pingas da(s) substancia(s) disolvida(s) a 0,5 cm do bordo da placa, sen alterar a súa superficie. Déixase evaporar o disolvente e a placa queda lista para o seu uso. A continuación nun vaso de precipitados perfectamente seco engádense uns mililitros de etanol e a placa introdúcese nel (tendo a precaución de que o eluente non chegue á altura da substancia), déixase correr o etanol ata que acade 1 cm do bordo superior da placa. Neste momento sácase e sinálase cun lapis ata onde chegou o disolvente, calculándose o R_f (cociente entre a distancia percorrida pola mancha e a distancia percorrida polo disolvente) dos compostos por separado.

Esta técnica pode aplicarse á separación de compoñentes coloreados dalgún vexetal, ou colorantes alimentarios. Tómanse, por exemplo, tres follas de espinaca, tritúranse nun morteiro con alcohol e ferve a mestura a lume manso ata que esta toma cor verde intensa. Deseguido decántase o líquido e emprégase para a separación de carotenos, xantofilas e clorofilas seguindo a técnica que acabamos de ver. Nesta práctica imos separar colorantes orgánicos tales como laranxa de metilo e azul de metileno. Usamos 1 mL de mostra e 3 mL de etanol. O laranxa de metilo ten un R_f maior.

Aplicacións: separación e identificación de aflatoxina B1, en pensos tipo cereais, cacahuete, liñaza etc.

CROMATOGRAFÍA SOBRE COLUMNA

Prepárase unha columna cromatográfica e despois de lavalala cunha pequena cantidade de etanol introdúceselle un algodón na parte inferior. A continuación prepárase unha suspensión de 10 g de alumina e 20 mL de etanol e introdúcese na columna con axuda dun funil; lávanse as paredes da columna cun pouco de etanol, e cando a alumina se deposite e non quede etanol sobrenadante introdúcese a mestura de substancias disolvidas nunha mínima cantidade de etanol (3 mL). A continuación engádese unha pequena cantidade de area (0,5 cm) encima do leito de alumina e elúese con etanol; unha vez separado o primeiro compoñente da mestura elúese a columna coa auga e sepárase o segundo compoñente. Sepárase primeiro o azul de metileno. Pódese engadir sosa 0,1 M para facilitar a saída do segundo compoñente. Úsase bomba de aire para secar o etanol.

CUESTIÓNS

1. Cal é a fase estacionaria na cromatografía de capa fina?
2. Como se podería identificar nunha substancia coñecida o seu R_f ?
3. Que tipo de substancia ou substancias se identificaron nesta práctica?
4. Por que o laranxa de metilo ten un R_f maior?

BIBLIOGRAFÍA:

- G. Jiménez e A. Llitjós, *Educación química*, 2006, Vol. 17