

Información previa.

Departamento al que corresponde la práctica: Química Orgánica.

Título de la práctica: Cromatografía en capa fina

Numero de la práctica: 8

Fecha de realización: 22 / 04 / 03

Objetivos de la práctica.

- Aprendizaje de la técnica de cromatografía en capa fina
- Conocimiento de conceptos cromatográficos: polaridad, fase móvil, fase estacionaria, factor de retención, etc.
- Determinación de los componentes orgánicos presentes en una muestra usando sustancias patrón.

Antecedentes.

La cromatografía es una técnica de análisis químico utilizada para separar sustancias puras de mezclas complejas. Esta técnica depende del principio de adsorción selectiva (no confundir con absorción). La cromatografía fue descubierta por el botánico ruso, de origen italiano, Mikhail Tswett en 1906, pero su uso no se generalizó hasta la década de 1930. Tswett separó los pigmentos de las plantas (clorofila) vertiendo extracto de hojas verdes en éter de petróleo sobre una columna de carbonato de calcio en polvo en el interior de una probeta. A medida que la solución va filtrándose por la columna, cada componente de la mezcla precipita a diferente velocidad, quedando la columna marcada por bandas horizontales de colores, denominadas cromatogramas. Cada banda corresponde a un pigmento diferente.

La cromatografía es probablemente la más versátil de las técnicas de separación: es aplicable a cualquier mezcla soluble o volátil. De hecho las técnicas de separación suelen dividirse en dos grandes grupos: cromatográficas y no cromatográficas. La elección de una técnica cromatográfica concreta dependerá de la naturaleza y cantidad de la muestra, del objetivo de la separación y de las limitaciones del tiempo y equipo asequible.

Podemos distinguir 3 tipos de cromatografía dependiendo si la fase estacionaria/fase móvil es sólido/líquido, líquido/líquido o líquido/gas:

- **Si es sólido/líquido, cabe distinguir entre:**

Cromatografía de adsorción: El sólido adsorbe al componente que inicialmente estaba en fase móvil (líquida o gaseosa) (Fuerzas de Van der Waals).

Cromatografía de cambio iónico: el sólido es un cambiador de iones (fuerzas electrostáticas).

Cromatografía de exclusión (o de geles): el sólido es un gel formado por polímeros no iónicos porosos que retienen a las moléculas de soluto según su tamaño.

Cromatografía de afinidad: es un tipo especial de cromatografía de adsorción, utilizada especialmente en bioquímica, en la que un sólido tiene enlazado un llamado ligando de afinidad que puede ser por ejemplo, un indicador enzimático o un anticuerpo.

- Si es líquido/líquido, cabe distinguir:

Cromatografía de partición: el soluto se reparte entre la fase móvil (líquido o gas) y la fase estacionaria.

- Si es líquido/gas, cabe distinguir entre:

Cromatografía gas-líquido (CGL), que es una cromatografía de partición.

Cromatografía gas-sólido (CGS), que es una cromatografía de adsorción.

Si es un fluido supercrítico, (fluido calentado a una temperatura superior a la temperatura crítica, pero simultáneamente comprimido a una presión mayor que su presión crítica), se trata de la cromatografía de fluidos supercríticos (CFS), que puede ser de partición o de adsorción.

Las técnicas cromatográficas, según el dispositivo utilizado para conseguir la separación entre la fase móvil y la estacionaria, pueden ser: en columna y plana.

Cromatografía en columna: Se utiliza un tubo cilíndrico, en cuyo interior se coloca la fase estacionaria y a su través se hace pasar la fase móvil. El flujo de la fase móvil (líquido o gas) a través de la estacionaria se consigue:

- 1) por presión,
- 2) por capilaridad,
- 3) por gravedad.

Cromatografía plana: La fase estacionaria está colocada en una superficie plana que en realidad es tridimensional, aunque una de sus dimensiones es muy reducida, por lo que puede considerarse bidimensional. Se divide en dos tipos generales:

1. –**Cromatografía en papel:** en la que el papel absorbente actúa como soporte de la fase estacionaria (cromatografía de partición). Una muestra líquida fluye por una tira vertical de papel absorbente, sobre la cual se van depositando los componentes en lugares específicos.
2. –**Cromatografía en capa fina:** en la que un sólido actúa como fase estacionaria (cromatografía de partición), se extiende en una capa delgada sobre una placa, generalmente de vidrio.

El uso de la cromatografía está ampliamente extendido en el análisis de alimentos, medicinas, sangre, productos petrolíferos y de fisión radiactiva.

Procedimiento experimental.

Materiales:

- 4 placas de cromatografía
- 2 vasos de precipitado de 100ml
- 2 Placa Petri
- 1 probeta de 10 ml
- Varillas de vidrio

Reactivos:

- Acetona de lavar
- Acetato de etilo
- Hexano
- Patrón 1: Mentol
- Patrón 2: Acetoacetato de etilo
- Patrón 3: Pirogalol
- Patrón 4: Floroglucina
- Patrón 5: Benzofenona
- Muestra problema P1
- Muestra problema P2
- Revelador anisaldehído (225 ml etanol + 12 ml anisaldehído + 13 ml H₂SO₄)

• – **Obtención de capilares:**

Para la realización de la práctica se deben de obtener 7 capilares de 10 cm aproximadamente, uno para cada muestra ya sea patrón o problema. Se podría hacer solo un capilar para las 7 muestras, pero ello conllevaría que fuese limpiado el capilar cada vez que lo usemos con una muestra distinta a la anterior, con lo que se irían arrastrando errores.

Para la realización de los capilares, se tomará una varilla de vidrio de unos 15 cm aproximadamente, esta será calentada en un mechero Bunsen hasta q se reblandezca la sección que estamos calentando. Llegado a este punto, apartamos la varilla de la llama y rápidamente estiramos axialmente.

• – **Realización de la cromatografía en capa fina:**

En este apartado se realizarán 4 placas de cromatografía 4'5 x 5 cm, las cuales solo se podrán coger por los bordes y nunca tocar la parte de celulosa (la blanca), porque ello acarrearía errores en la medición.

Una vez obtenidas las placas, marcamos a lápiz una línea a 1 cm de la base. Sobre esa línea marcamos 7 puntos, donde se depositarán con los capilares pequeñas cantidades de las muestras.

En los vasos de precipitado, que actúan como tanque de elución, se pondrán las disoluciones. Utilizaremos 4 disoluciones de acetato de etilo (Ae) y hexano (Hex), cuyas composiciones serán del 20, 40, 60 y 80 % de Ae/Hex. Solamente utilizaremos 5 ml de cada disolución, la cual no debe sobrepasar la línea dibujada a lápiz.

Finalmente se revelarán las placas usando dos agentes reveladores:

- ***Revelador físico***, usaremos una lámpara de rayos UVA, donde pondremos con unas pinzas las placas cromatográficas. Las marcas que aparezcan se señalarán con lápiz.
- ***Revelador químico***, una vez pasada la placa por los rayos UVA, se introducirá con una pinza en un revelador anisaldehído y posteriormente será colocada en una placa calefactora a 100° C. Finalmente anotamos los colores obtenidos.

Resultados.

Para el calculo del factor de retención, R_f, se usará la siguiente expresión:

R_f = distancia recorrida por el compuesto

distancia recorrida por el disolvente

Se tomará como distancia del compuesto la distancia comprendida entre la línea trazada donde se ha

depositado el compuesto y el centro de la mancha.

Placa 1

Sistema eluyente: 20% Ae/Hex

Distancia recorrida por el disolvente: 35 mm

Patrón	Recorrido (mm)	Rf	UV	Color	Nombre
1	24	0.685	No	Azul	Mentol
2	17	0.485	Si	Rojo	Acetoacetato de etilo
3	2	0.057	Si	Violeta	Pirogalol
4	0	0	Si	Amarillo	Floroglucina
5	27	0.771	Si	Incoloro	benzofenona

Placa 2

Sistema eluyente: 40% Ae/Hex

Distancia recorrida por el disolvente: 36 mm

Patrón	Recorrido (mm)	Rf	UV	Color	Nombre
1	30	0.833	No	Azul	Mentol
2	26	0.722	Si	Rojo	Acetoacetato de etilo
3	9	0.250	Si	Violeta	Pirogalol
4	4	0.111	Si	Amarillo	Floroglucina
5	31	0.861	Si	Incoloro	benzofenona

Placa 3

Sistema eluyente: 60% Ae/Hex

Distancia recorrida por el disolvente: 37 mm

Patrón	Recorrido (mm)	Rf	UV	Color	Nombre
1	34	0.918	No	Azul	Mentol
2	30	0.810	Si	Rojo	Acetoacetato de etilo
3	21	0.567	Si	Violeta	Pirogalol
4	14	0.378	Si	Amarillo	Floroglucina
5	35	0.945	Si	Incoloro	benzofenona

Placa 4

Sistema eluyente: 80% Ae/Hex

Distancia recorrida por el disolvente: 37 mm

Patrón	Recorrido (mm)	Rf	UV	Color	Nombre
--------	----------------	----	----	-------	--------

1	34	0.918	No	Azul	Mentol
2	32	0.864	Si	Rojo	Acetoacetato de etilo
3	28	0.756	Si	Violeta	Pirogalol
4	23	0.621	Si	Amarillo	Floroglucina
5	35	0.945	Si	Incoloro	benzofenona

Discusión de resultados.

En algunas placas no se ve el mentol, esto es debido a que es posible q hayan habido otras reacciones las cuales impiden poder valorarlas.

En el factor de retención, las distancias han sido medidas con una regla a simple vista, por lo que los valores de polaridad no son exactos sino una simple aproximación.

Conclusiones.

La técnica de cromatografía en capa fina (CCF) tiene numerosas ventajas, aparte de ser rápida, sencilla, barata... tiene también la ventaja de utilizar poca cantidad de muestra.

Las muestras problemas P1 y P2 son mezclas de muestras patrón, siendo P1 una mezcla de floroglucina y mentol, y P2 una mezcla de Pirogalol y Benzofenona. Esto lo hemos averiguado gracias a las muestras patrón, ya que al ser las muestras problema mezclas entre ellas, al meterlas en el tanque de elución, el disolvente subirá por la placa e irá separando la mezcla, dejando abajo el patrón más polar. Luego, gracias a los reveladores físicos y químicos, se ve que esta compuesta la mezcla problema.

A partir del factor de retención sabremos que sustancia es más polar, siendo el mas polar aquel que tenga un Rf menor.

benzofenona > mentol > acetoacetato de etilo > pirogalol > floroglucina

+ Polar – Polar