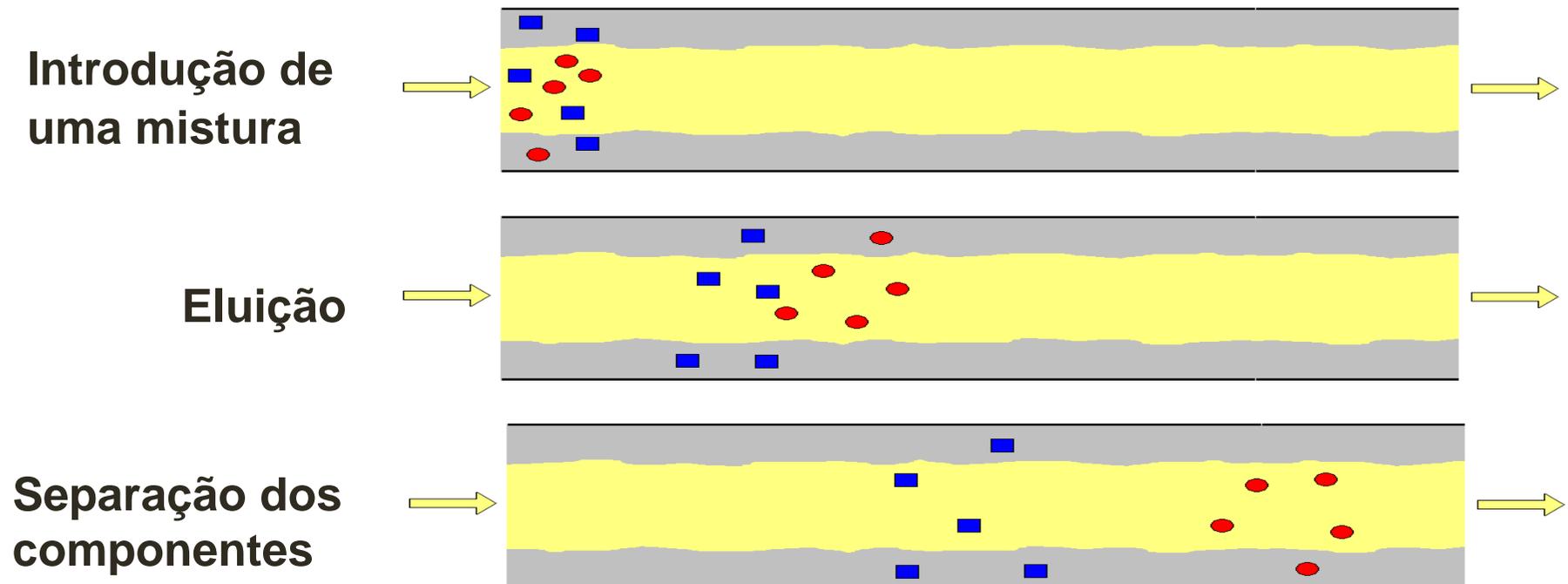


CROMATOGRAFIA: CURSO BÁSICO

Profa. Dra. Glaucia Maria F. Pinto

Cromatografia – Definição

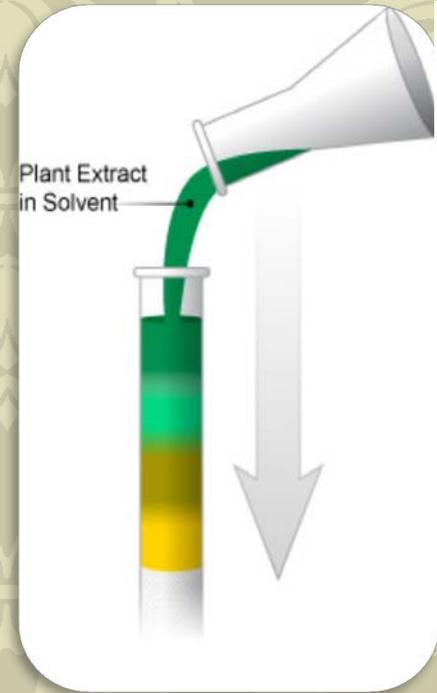
- **Cromatografia é a separação de uma mistura devido a diferentes afinidades que seus componentes possuem pela fase estacionária (líquida ou sólida) e fase móvel (líquida ou gasosa) (ocasionando migração diferenciada).**



Exemplos de Cromatografia

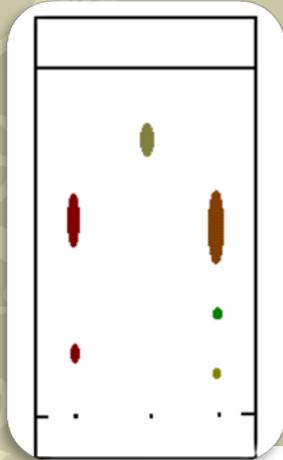
Cromatografia Líquida

Usada para identificar pigmentos de plantas desconhecidos e outros compostos.



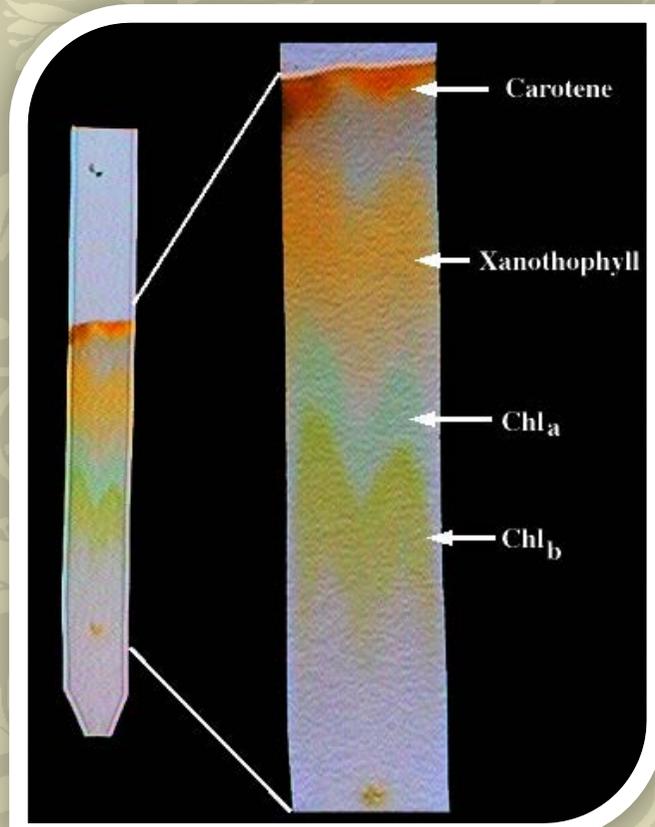
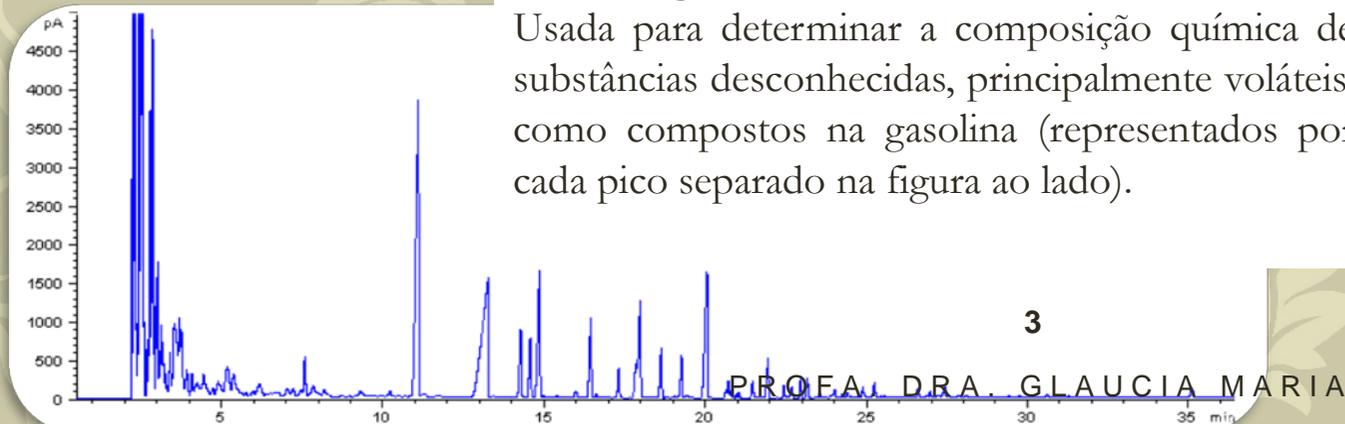
Cromatografia em camada delgada

Usa uma placa fina de plástico ou de vidro revestidos com FE para identificar a composição de pigmentos e substâncias químicas desconhecidas.



Cromatografia Gasosa

Usada para determinar a composição química de substâncias desconhecidas, principalmente voláteis, como compostos na gasolina (representados por cada pico separado na figura ao lado).



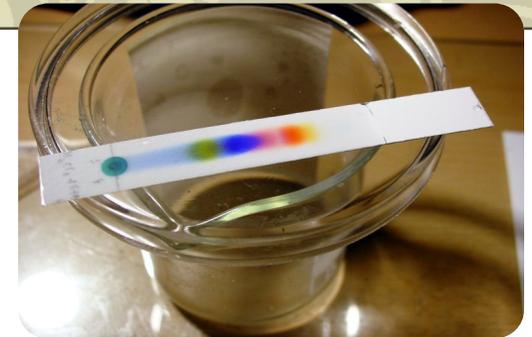
Cromatografia em papel

Pode ser usada para separar os compostos de tintas, plantas (clorofila), maquiagem e outras.

TIPOS DE CROMATOGRAFIA...



Papel



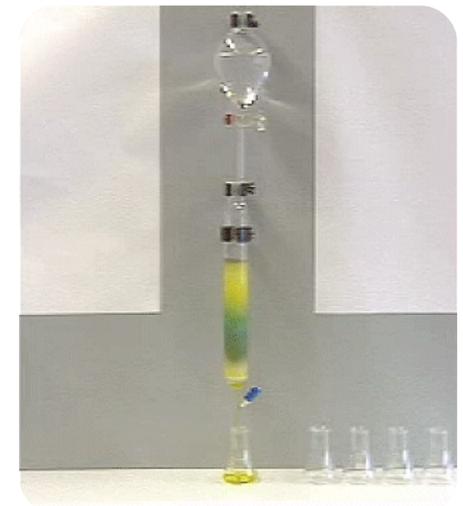
Camada delgada



HPLC

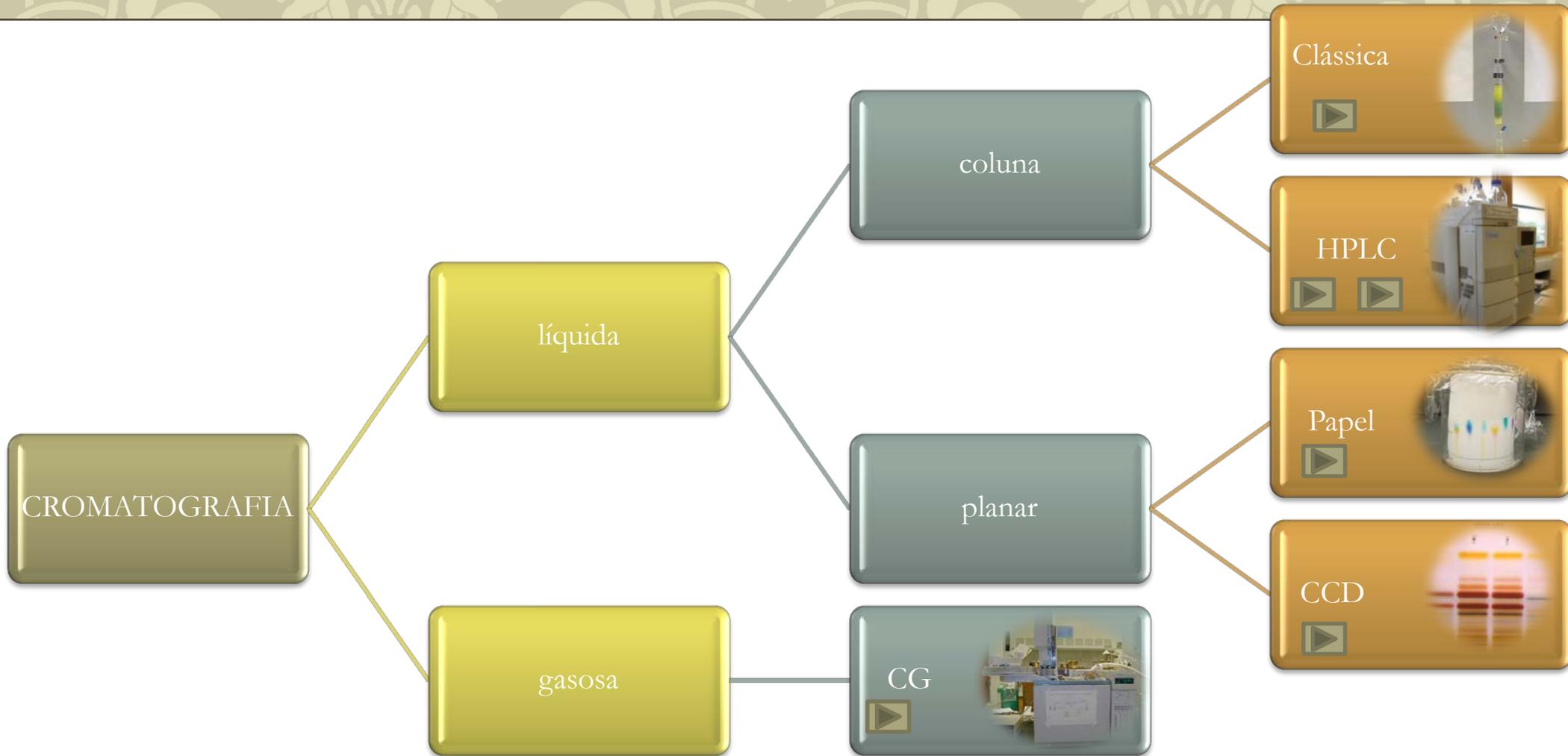


PROFA. DRA. GLAUCIA MARIA
Gas



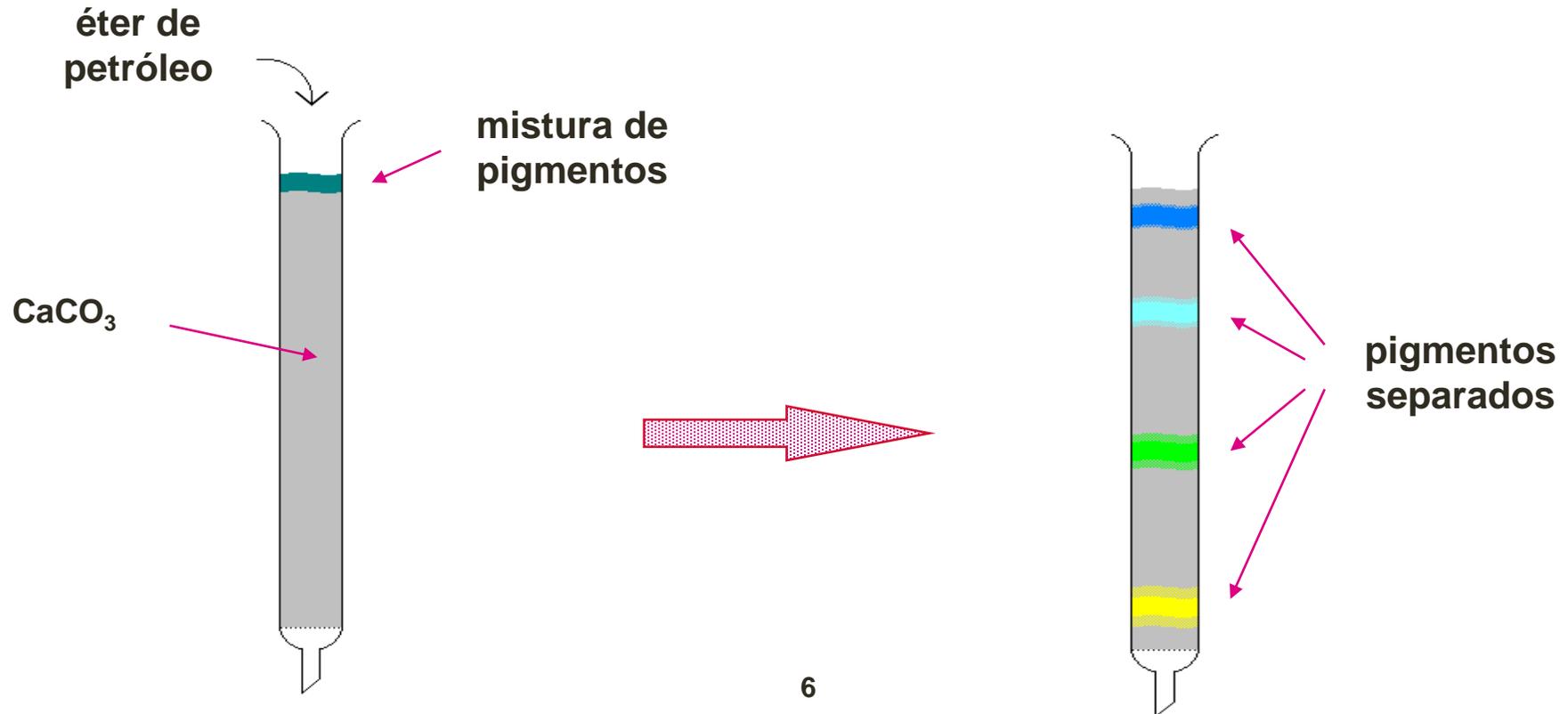
Coluna

TIPOS DE CROMATOGRAFIA...

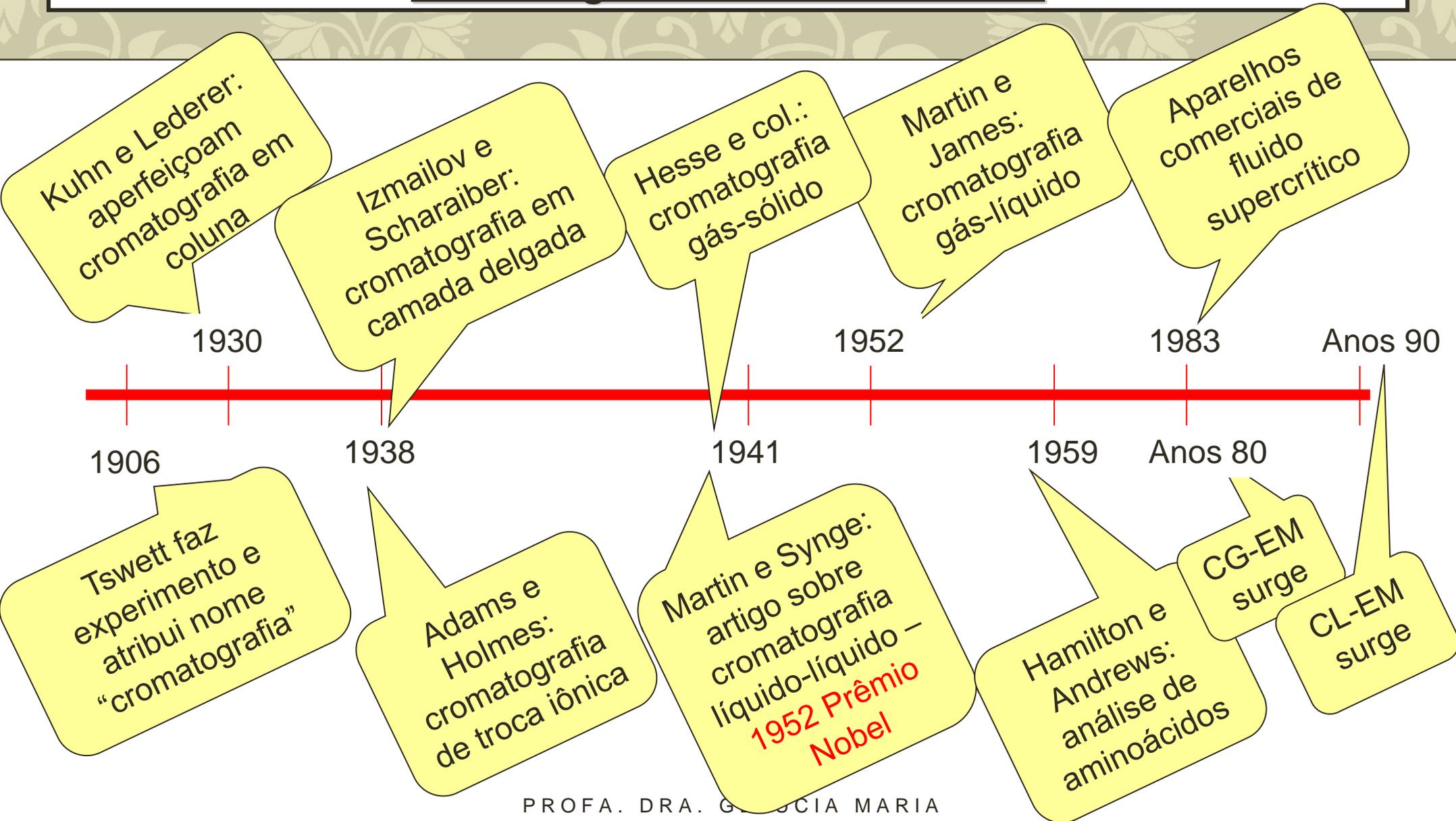


Cromatografia – Breve histórico

M. TSWETT (1906): Separação de misturas de pigmentos vegetais em colunas recheadas com adsorventes sólidos e solventes variados.

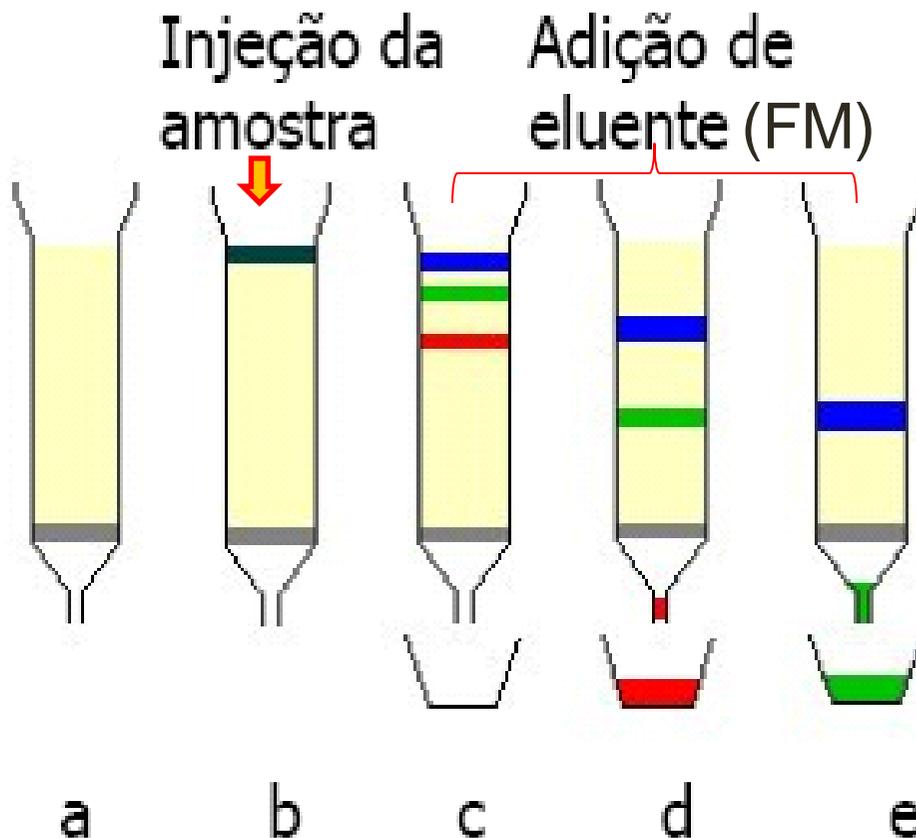


Cromatografia – Breve histórico



CROMATOGRAFIA EM COLUNA

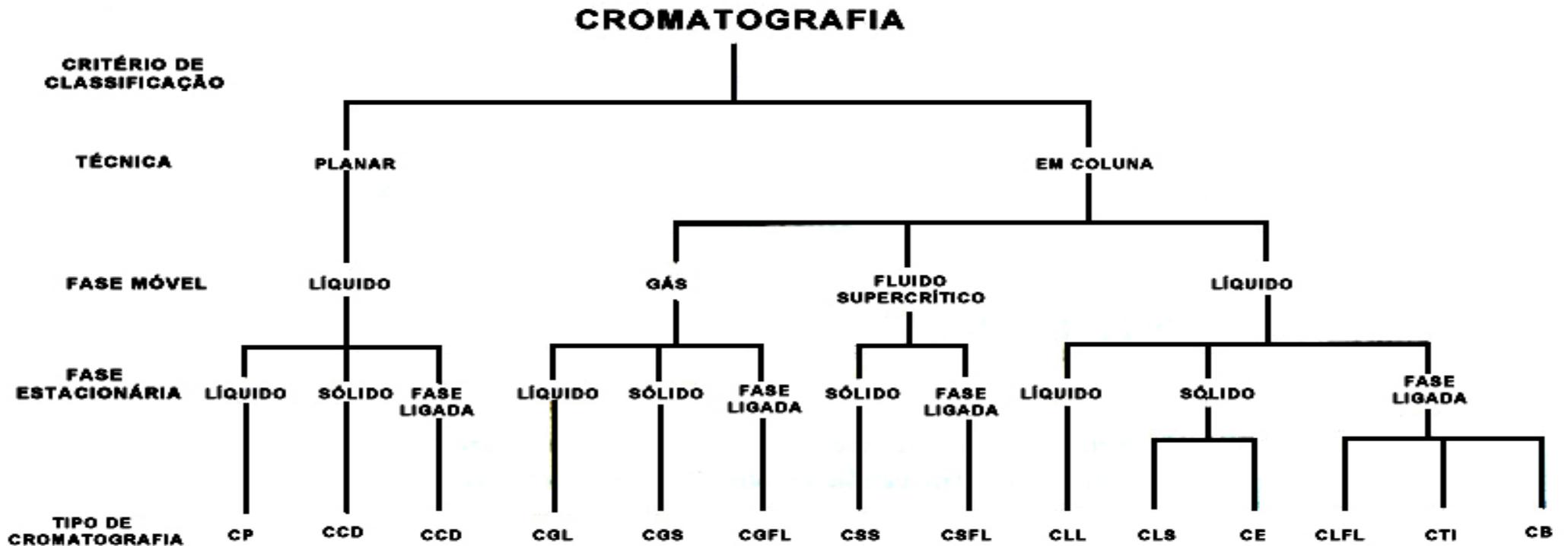
Coluna com a fase estacionária



Composto **vermelho** tem a maior afinidade pela FM, composto **azul** tem a maior afinidade pela FE

Coleta dos componentes

Cromatografia – Classificação



Classificação de cromatografia pelas formas físicas

Cromatografia – Classificação

Classificação	Fase móvel	Fase estacionária	Método específico	Tipo de equilíbrio
Líquida	líquido	Líquido adsorvido no sólido	Líquido-líquido	Partição entre fases imiscíveis
		sólido	Líquido-sólido	adsorção
		Resina de troca iônica	Troca iônica	Troca iônica
Gasosa	gás	Líquido adsorvido no sólido	Gás-líquido	Partição entre gás e líquido
		sólido	Gás-sólido	adsorção

Cromatografia – Classificação

- # A forma física do sistema de cromatografia define a técnica geral:
 - # Cromatografia em coluna: fase estacionária (FE) colocada em tubo cilíndrico. De acordo com o diâmetro da coluna utilizada temos:
 - # Preparativa (6-50 mm)
 - # Analítica (2-6 mm)
 - # Micro (< 2mm)
 - # Cromatografia planar: FE disposta sobre superfície plana:
 - (1) **TLC**, *Thin Layer Chromatography*- em português conhecida como **CCD**, *Cromatografia de Camada Delgada*
 - (2) *Cromatografia em Papel*

Cromatografia – Classificação

A cromatografia em coluna se divide em dois grupos:

- **Cromatografia Líquida Clássica** => coluna de vidro, pressão atmosférica, fluxo de fase móvel (FM) devido a gravidade;
- **Cromatografia Líquida de Alta Pressão** => colunas metálicas e pressões elevadas, com bomba de alta pressão (HPLC ou CLAE).

Cromatografia – Classificação

Nomenclatura - o critério se baseia na natureza física das fases utilizadas:

Fase móvel (FM) pode ser:

Gasosa => cromatografia gasosa (CG)

Líquida => cromatografia líquida (CL)

Fase estacionária (FE) pode ser:

Líquida (sobre um suporte sólido): CGL e CLL

Sólida: CGS e CLS

Fase ligada: CGFL e CLFL

Fase reversa => fase estacionária é mais apolar do que fase móvel

Fase normal => fase estacionária é mais polar do que fase móvel

Cromatografia – Classificação

Série eluotrópica:

- pentano
- éter de petróleo
- ciclohexano
- benzeno
- clorofórmio
- éter etílico
- acetato de etila
- acetona
- propanol
- etanol
- metanol
- água



aumento da polaridade

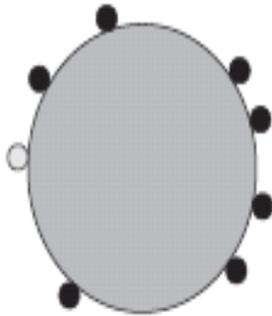
Cromatografia – Classificação

Classificação baseada no mecanismo de separação

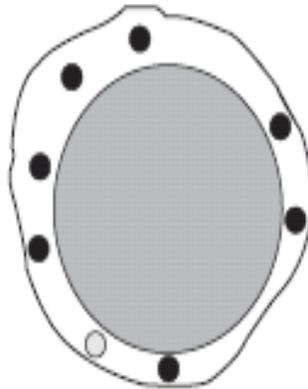
- Físico: processos de sorção (adsorção ou absorção/ partição) são baseados principalmente em forças eletrostáticas ou dipolares (forças de Van der Waals), incluindo pontes de hidrogênio.
- Químico: bioafinidade e troca iônica => grupos funcionais ionizáveis, trocadores aniônicos e catiônicos, FM geralmente é uma solução tampão.
- Mecânico: cromatografia por exclusão. FE é inerte com partículas de forma, tamanho e porosidade uniformes. Diferenciação em ter analitos de diferentes tamanhos => penetração seletiva nos poros.
(GPC= cromatografia de permeação em gel ou por exclusão de tamanho)

Cromatografia – Classificação

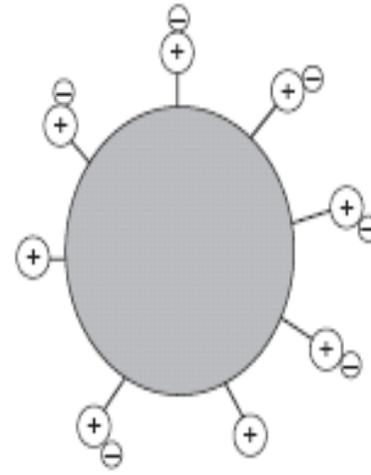
Fase estacionária



(a)



(b)



(c)



(d)

a) adsorção

b) partição

c) troca-iônica

d) exclusão

Processo Cromatográfico (1)

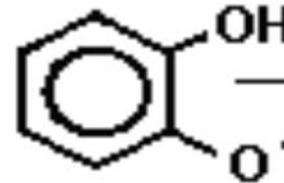
Processo físico - químico que rege a separação:

Adsorção:

O soluto é adsorvido na superfície das partículas sólidas da fase estacionária.

É um fenômeno superficial, aumentado com a formação de pontes de hidrogênio.

(a) Adsorción

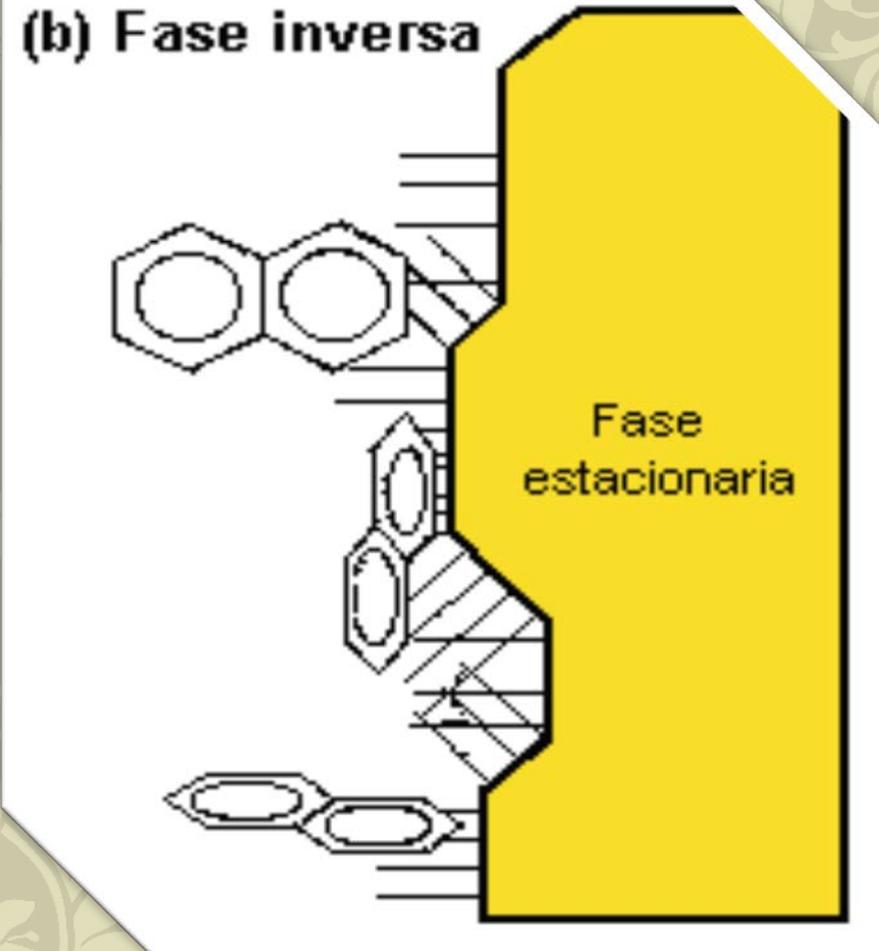


Fase estacionaria polar

Processo Cromatográfico (2)

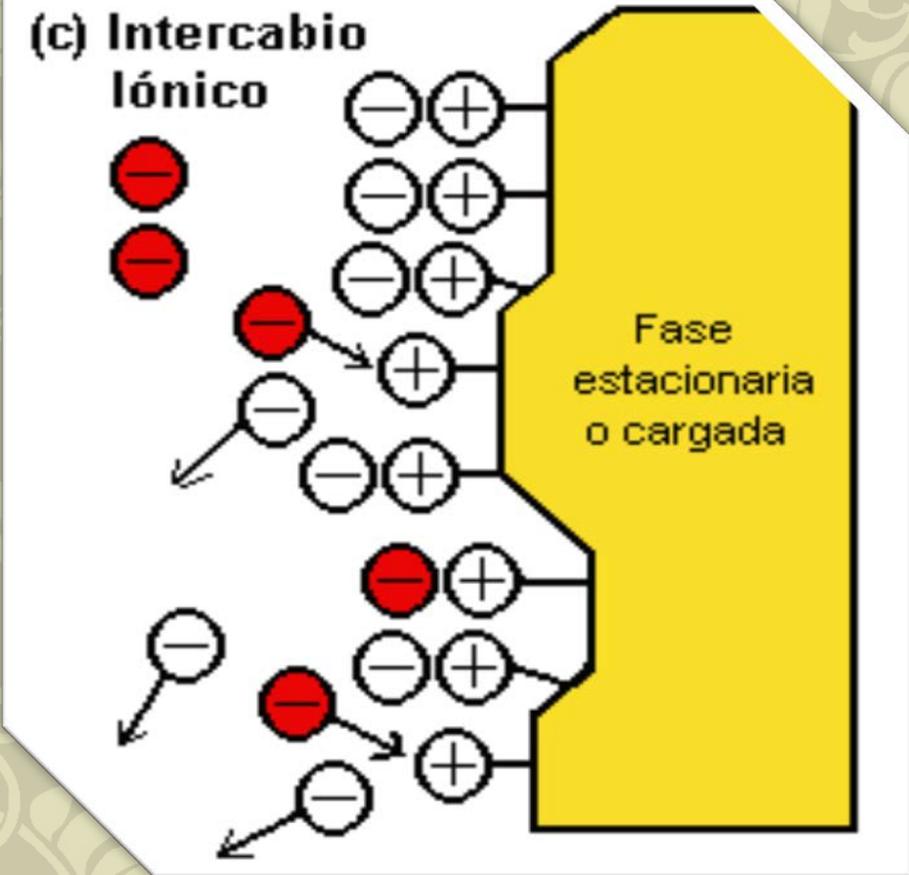
Partição:

O soluto se equilibra entre o líquido da fase estacionária e a fase móvel, por diferença de solubilidade (equilíbrio)



Processo Cromatográfico (3)

Troca Iônica:
Os ânions e cátions se unem covalentemente a uma fase estacionária sólida

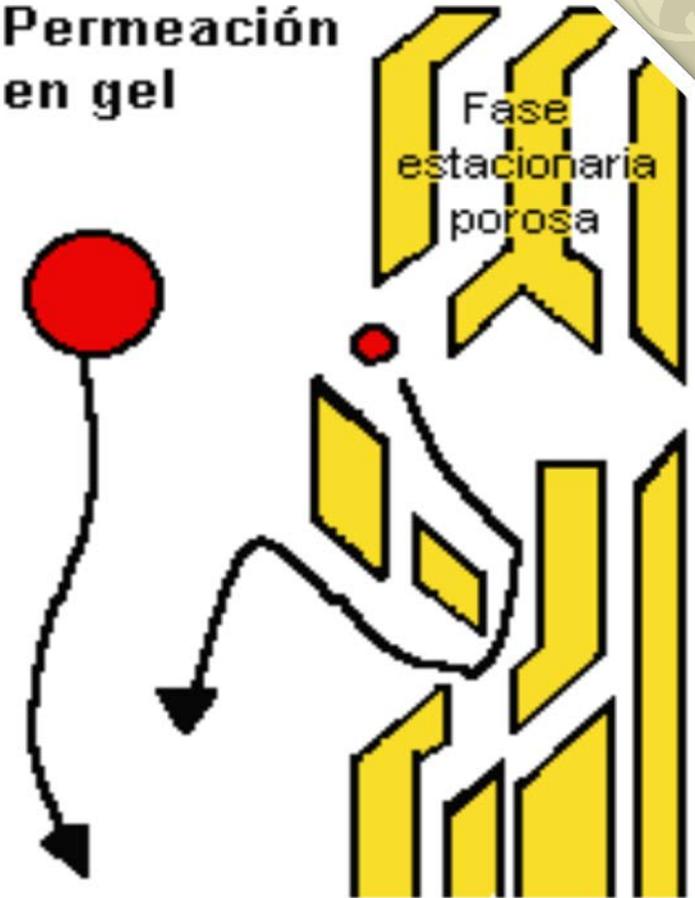


Processo Cromatográfico (4)

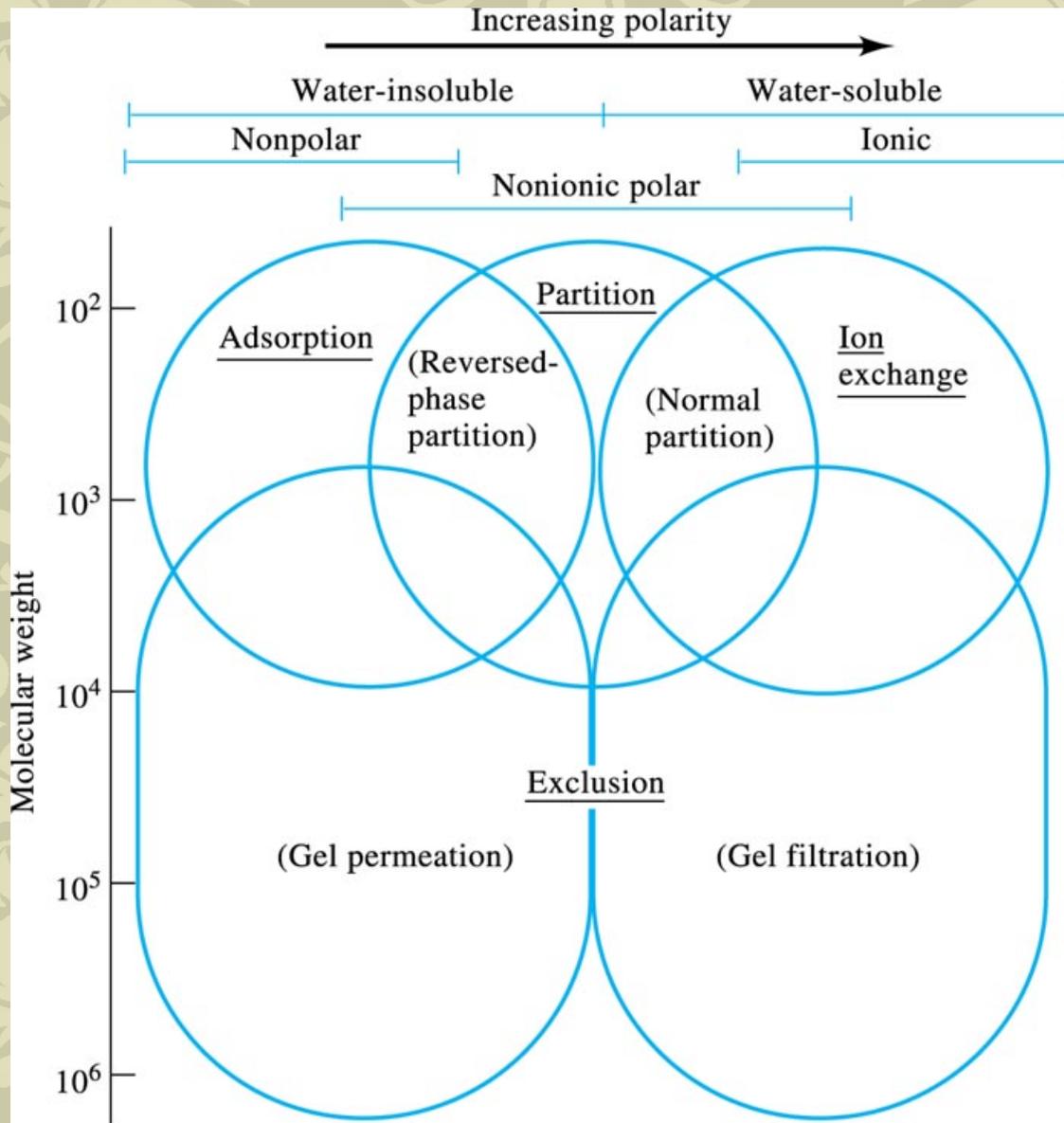
Exclusão Molecular, Filtração ou Permeação em Gel:

Não existem interações entre a fase estacionária e o soluto. Se separa por tamanho de partícula.

(d) Permeación en gel



Cromatografia - classificação

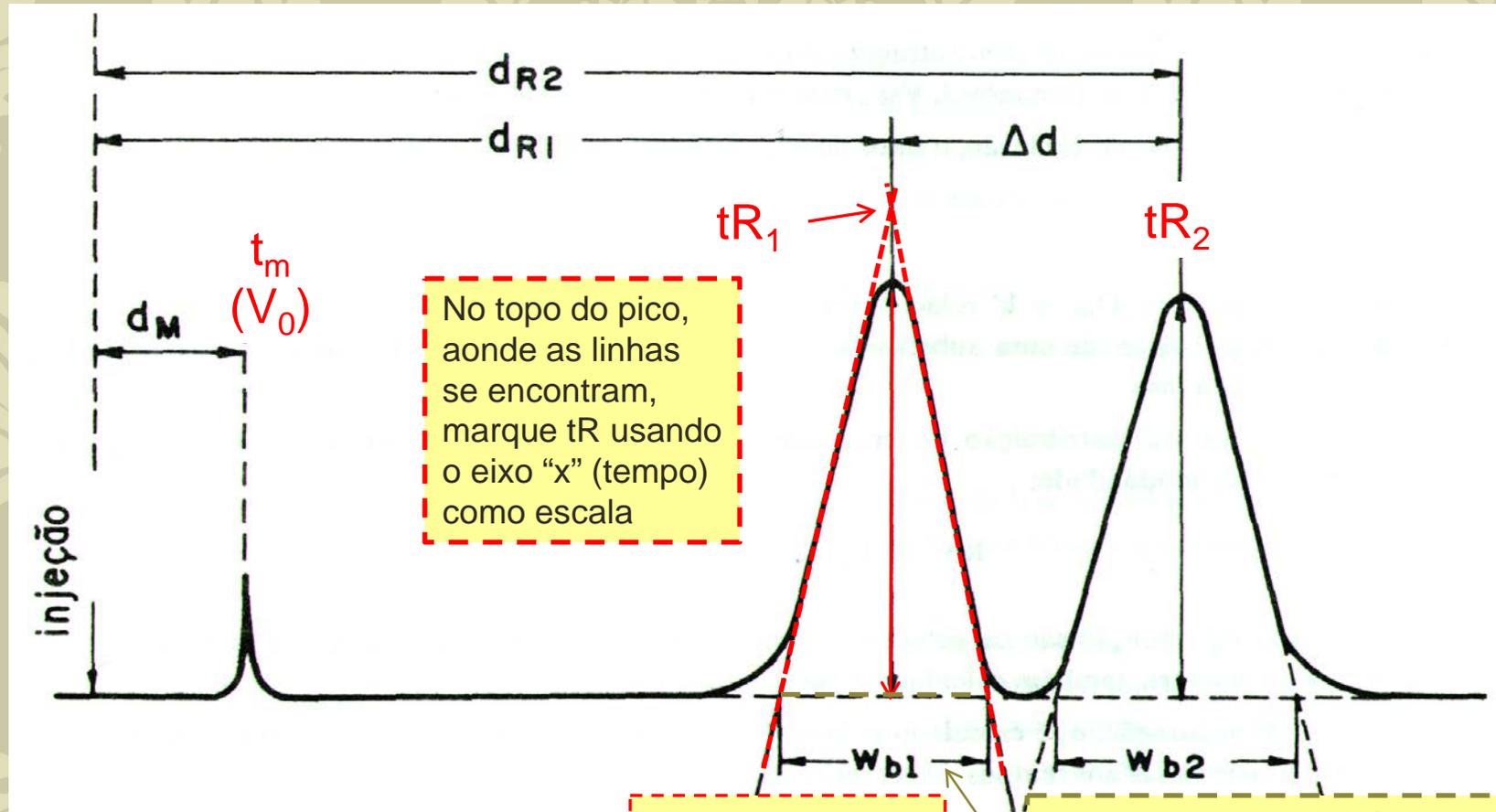


A cromatografia pode ser utilizada para uma ampla variedade de amostras, sendo que de acordo com a massa molar e a solubilidade em água dos analitos, diferentes tipos de cromatografia devem ser escolhidas (veja o quadro).

Termos e símbolos mais usados

- # t_R = tempo de retenção de cada componente
- # t_M = tempo de retenção de um componente não retido (não tem afinidade) pela fase estacionária => tempo morto
- # K = fator de retenção = $(t_R - t_M) / t_M$
- # A_s = assimetria do pico (divide-se o pico ao meio e faz-se a razão entre os dois segmentos)
- # T = fator de cauda (*tailing factor*) – substitui a A_s geralmente
- # α = fator de seletividade = $(t_{R2} - t_M) / (t_{R1} - t_M)$
- # T = *tailing factor* = fator de cauda
- # N = eficiência = número de pratos
- # R_s = resolução entre os picos
- # H = altura equivalente (utilizado para comparar eficiência de colunas de diferentes comprimentos) = L/N
- # Alargamento de banda

Cromatograma



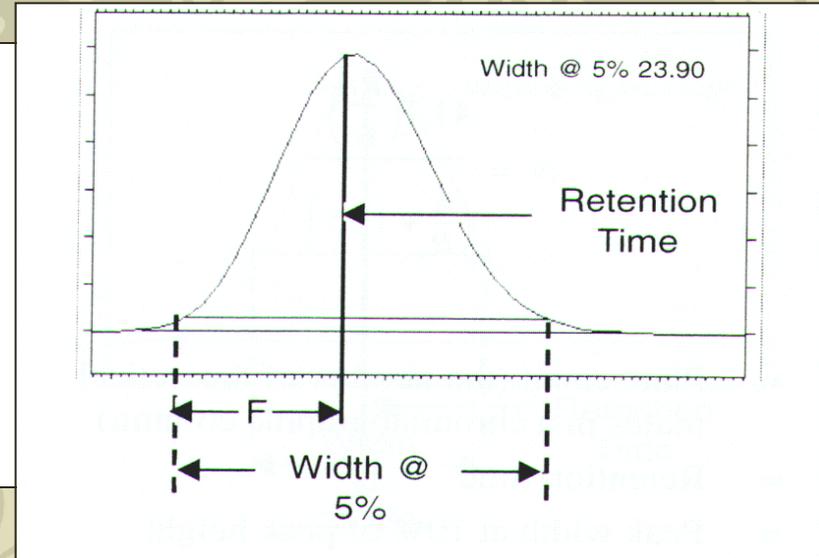
No topo do pico, aonde as linhas se encontram, marque t_R usando o eixo "x" (tempo) como escala

Trace 2 linhas tangente à lateral do pico, cortando a linha de base

A largura do pico (w) é encontrada medindo-se a distância em tempo (escala do eixo x) da base do pico entre uma tangente e outra

Fórmulas

$$K = \frac{tR}{V_0} - 1,0$$



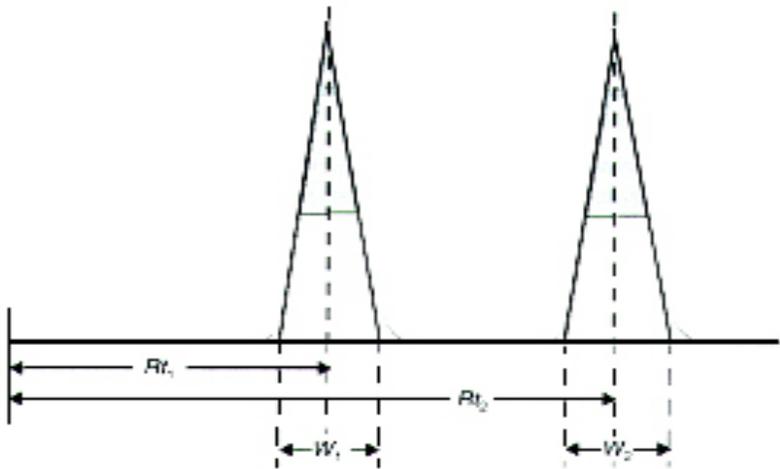
$$T = \frac{W}{2 \times F}$$

T= fator de cauda

W= largura do pico a 5% da altura

F= tempo do início da largura do pico a 5% de altura até o tempo de retenção (tR)

Fórmulas

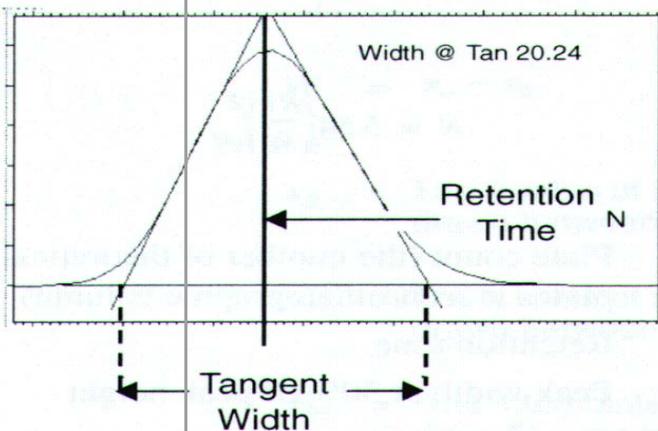


$$R_s = \frac{2,0 (t_{R2} - t_{R1})}{(W_2 + W_1)}$$

R_s = resolução

t_R = tempo de retenção

$W_1 + W_2$ = soma da largura da tangente dos picos



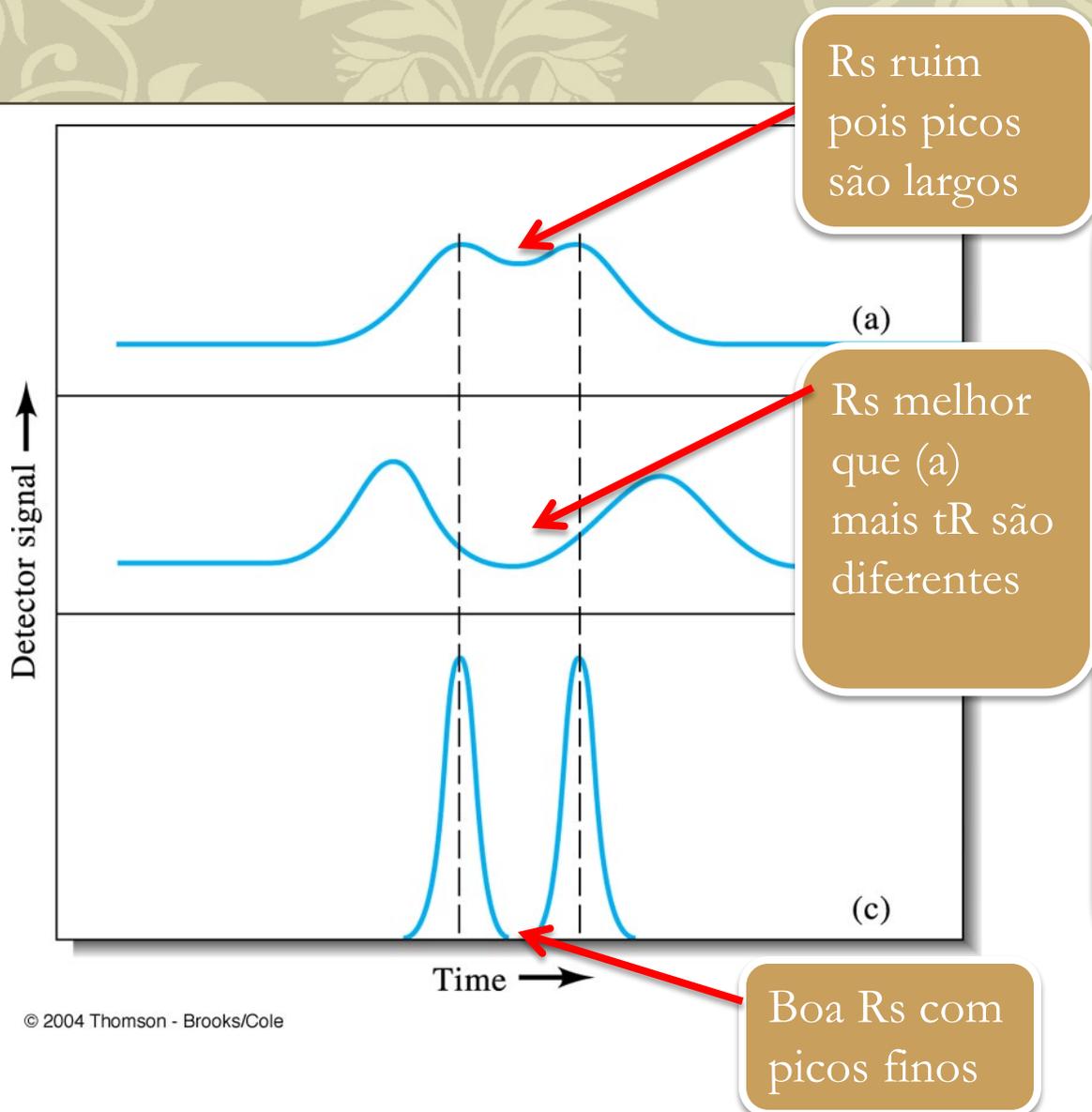
$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

N = número de pratos

t_R = tempo de retenção

W = largura do pico na linha de base, determinada pela tangente do pico

Avaliação de picos cromatográficos



Picos adjacentes com mesmo tempo de retenção podem não apresentar resolução se forem muito largos (comparar “a” e “c”). Nesta situação de picos largos é necessário uma maior diferença entre t_R para obter resolução (observar “b”)

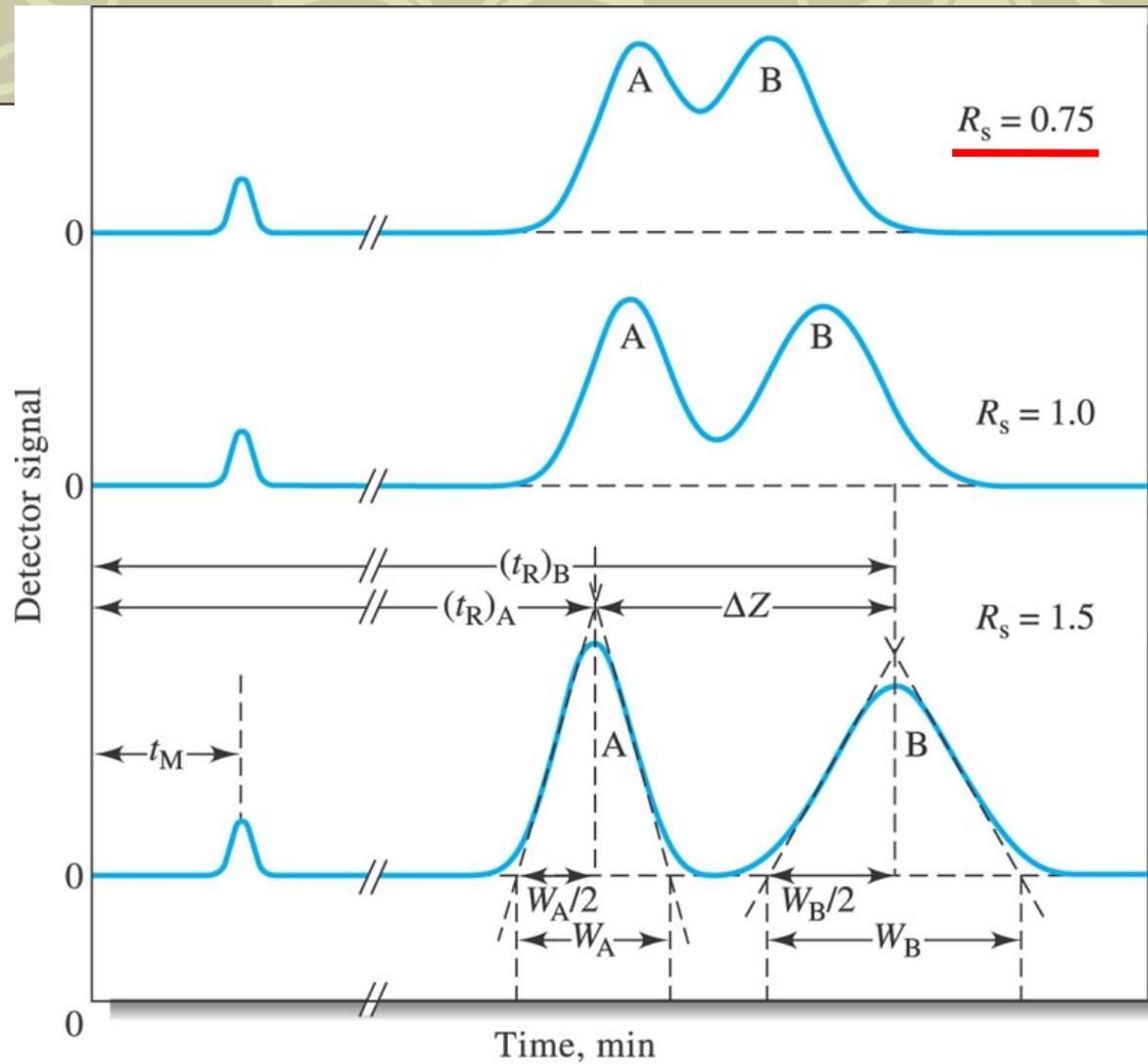
Avaliação de picos cromatográficos

De acordo com a fórmula de Resolução:

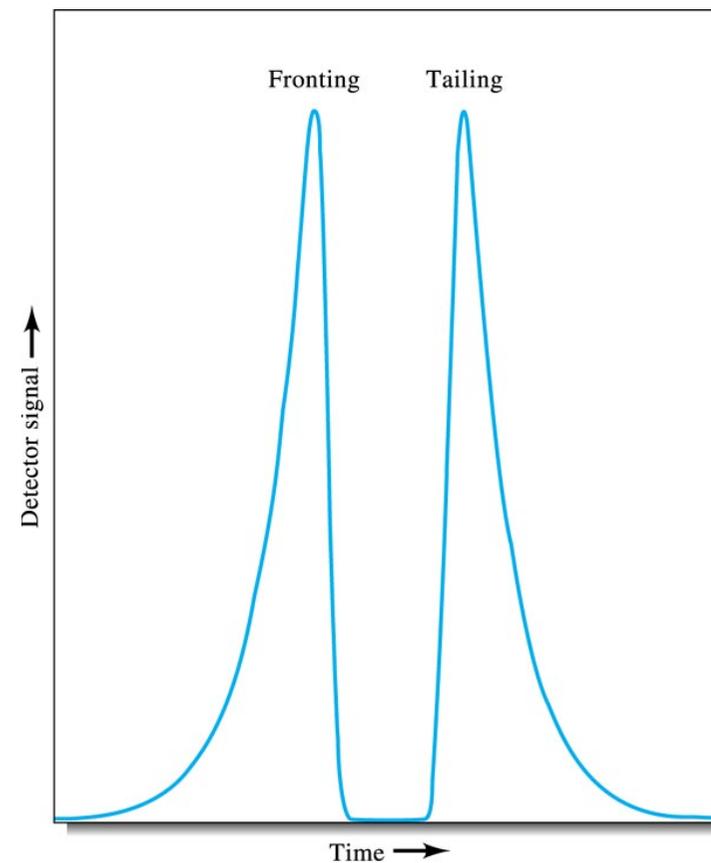
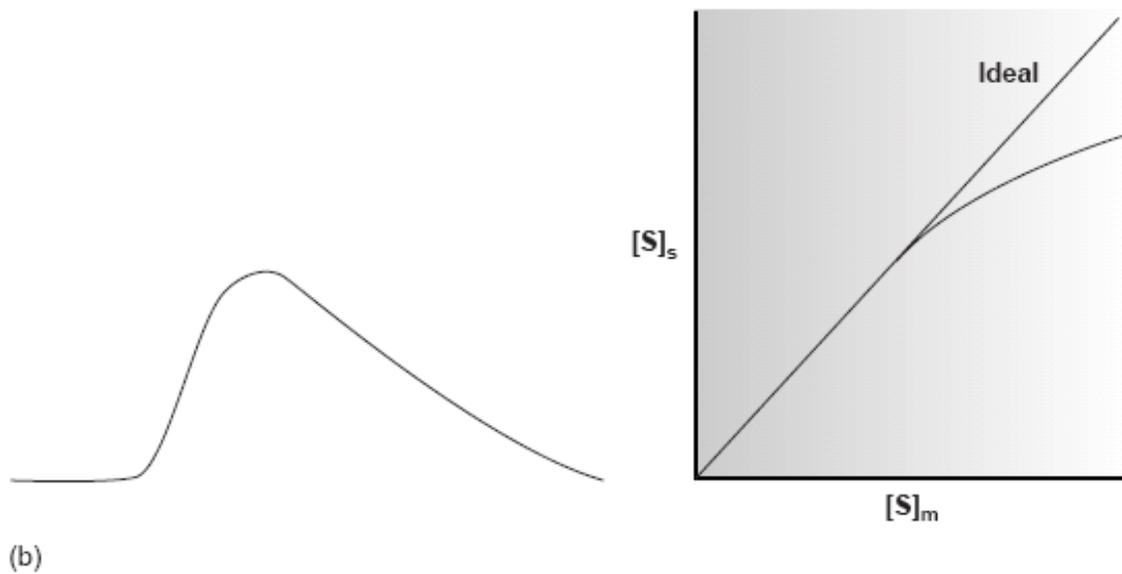
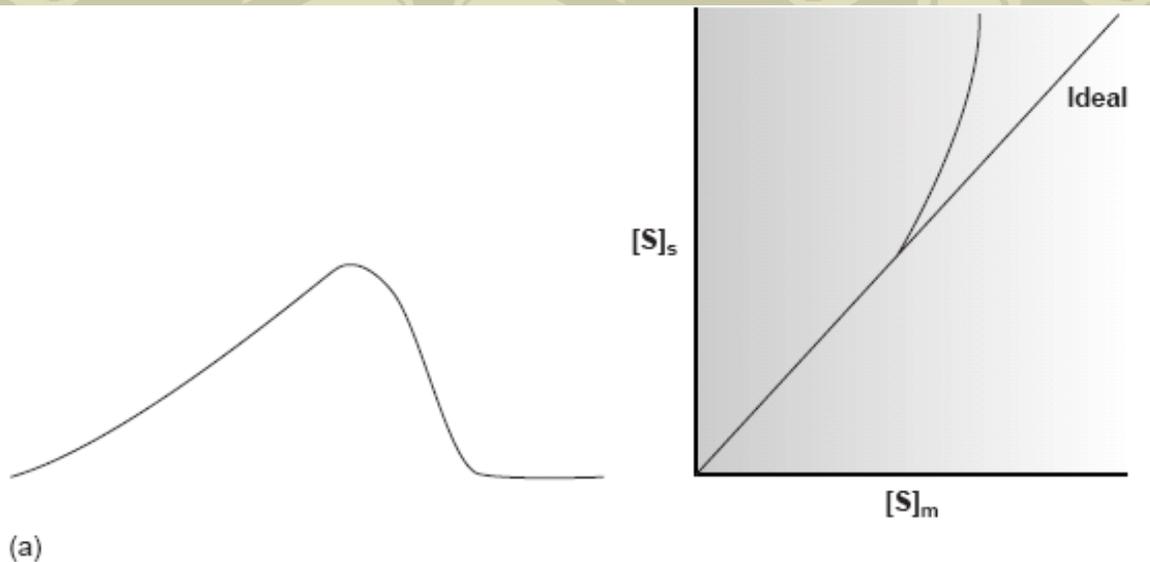
$$\uparrow R_s = \frac{2,0 (tR_2 - tR_1) \uparrow}{(W_2 + W_1) \downarrow}$$

Para R_s aumentar, a diferença entre o tR de dois picos adjacentes deve aumentar ou as larguras (w) dos picos deve diminuir.

Avaliação de picos cromatográficos



Problemas de assimetria – Picos com Caudas



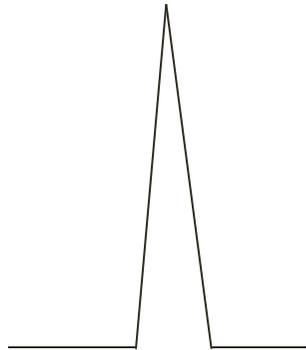
© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Cromatografia - Eficiência

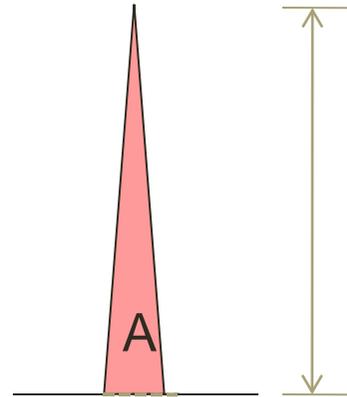
- ✦ A eficiência pode ser afetada por fatores, como:
 - Comprimento da coluna
 - Diâmetro da coluna
 - Vida útil
 - Temperatura de eluição
 - Vazão de FM
 - Volume de amostra introduzida
 - Técnica de injeção
 - Características da substância
 - Outros

Cromatografia – Análise qualitativa e quantitativa

? (identificação)



qualitativa



quantitativa

Integração
do pico
obtendo

Área (A) e
altura (h)

A cromatografia é mais utilizada para análise quantitativa, mas se acoplada a um detector capaz de fornecer informações qualitativas este tipo de análise será possível se acoplarmos o cromatógrafo com:

Infravermelho (IR)

Ressonância nuclear magnética (RNM ou RMN)

Espectrometria de massas (EM ou MS)

Cromatografia – Análise quantitativa

O método instrumental mede um sinal instrumental (S) que se relaciona com a concentração do analito (C):

$$S = f(C) \text{ analito}$$

A medida do sinal se fundamenta em uma propriedade físico-química que se relaciona diretamente com a concentração do analito

As técnicas cromatográficas precisam de calibração: requerem o uso de padrões => padronização interna ou externa

Idealmente, a relação sinal X concentração deve ser linear

A seletividade depende da natureza do sinal e está relacionada com a propriedade do analito que está sendo medida

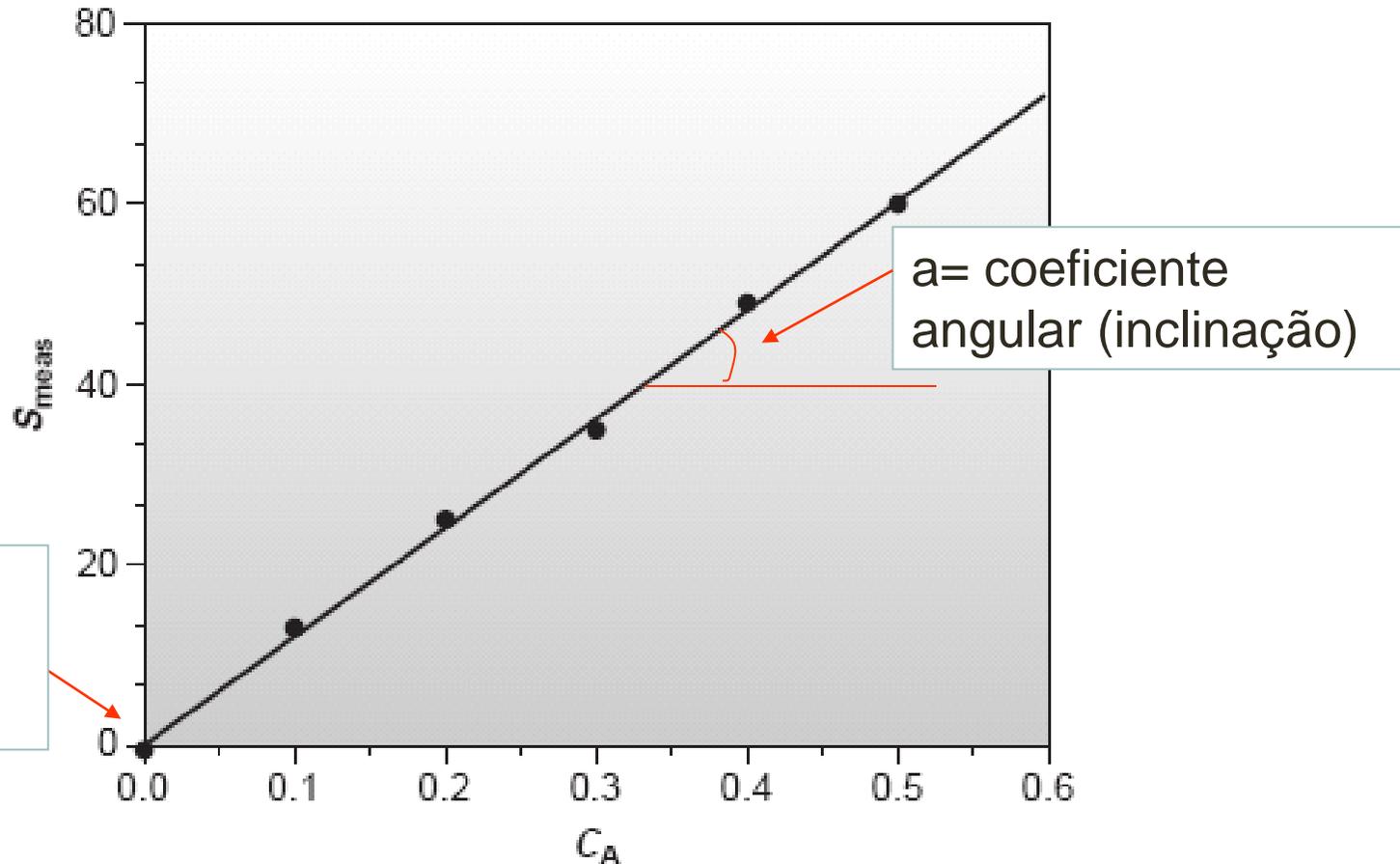
A sensibilidade se relaciona com a inclinação da reta de calibração

O limite de detecção depende do ruído instrumental

Existe uma faixa de concentração na qual a relação pode ser linear entre o sinal analítico e a concentração

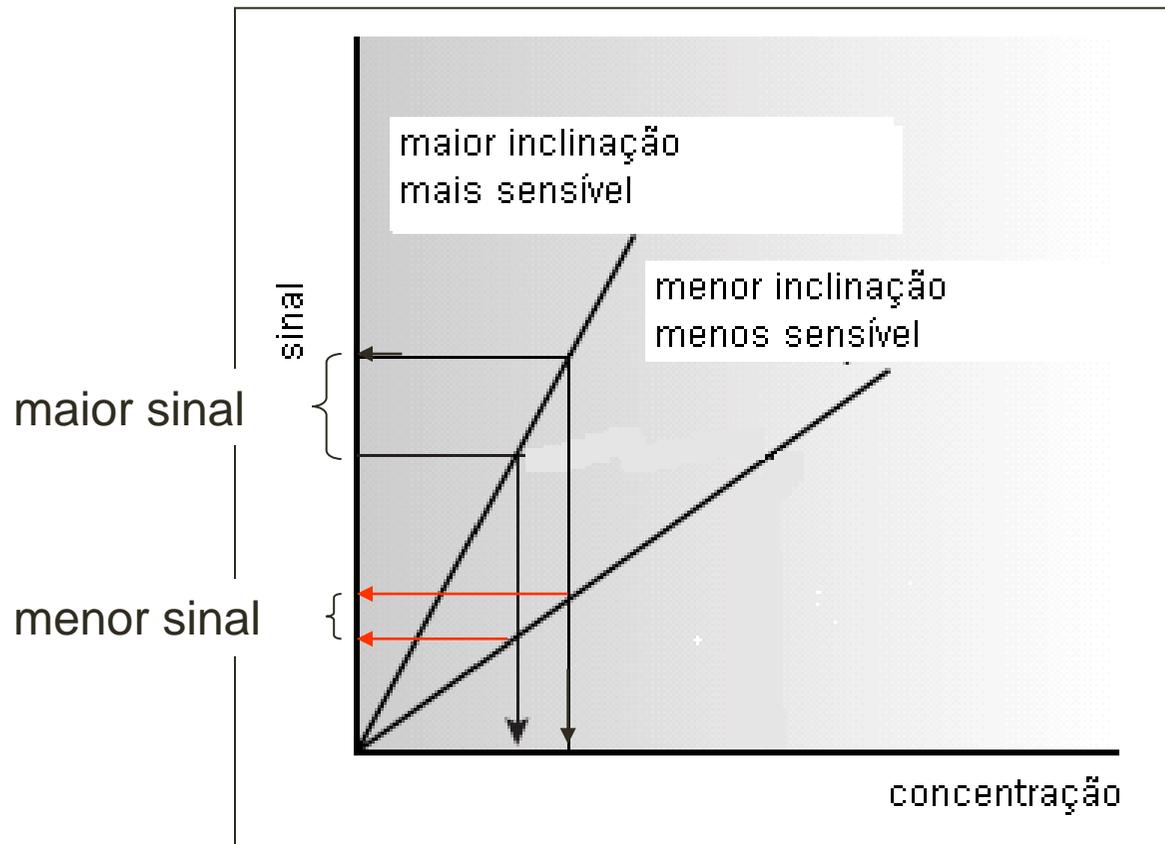
Cromatografia – Análise quantitativa

❖ Curva de calibração: $y = ax + b$ ou sinal = $a \cdot \text{conc. (analito)} + b$



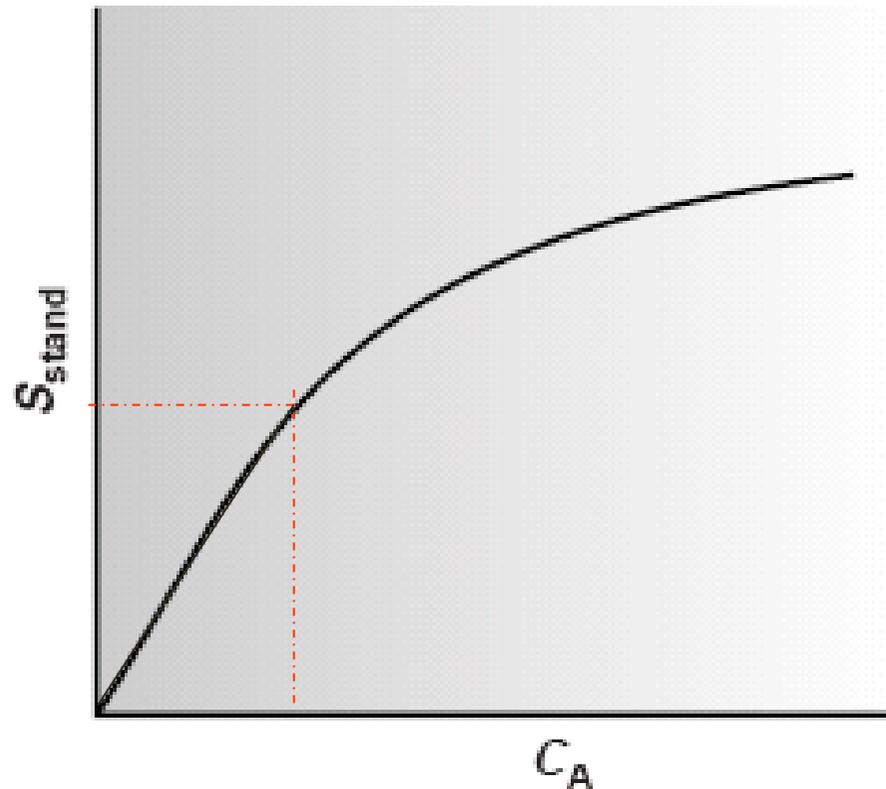
Cromatografia – Análise quantitativa

- ❖ Sensibilidade: quanto mais inclinada a curva de calibração mais sensível é o método (diferença de sinal é maior com menores diferenças de concentração)



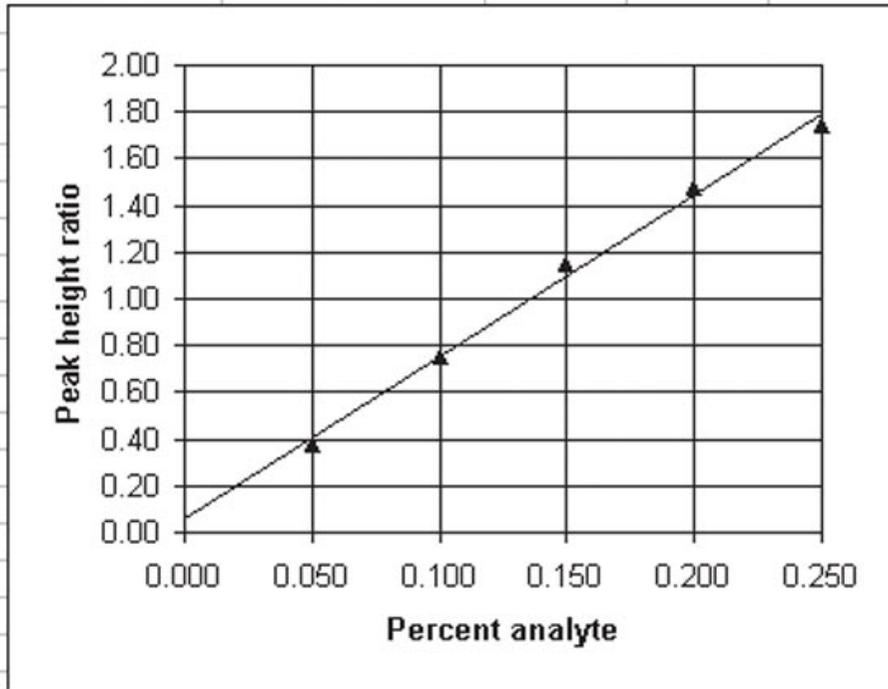
Cromatografia – Análise quantitativa

- ❖ Faixa linear: região da curva de calibração na qual o sinal possui uma relação linear com a concentração

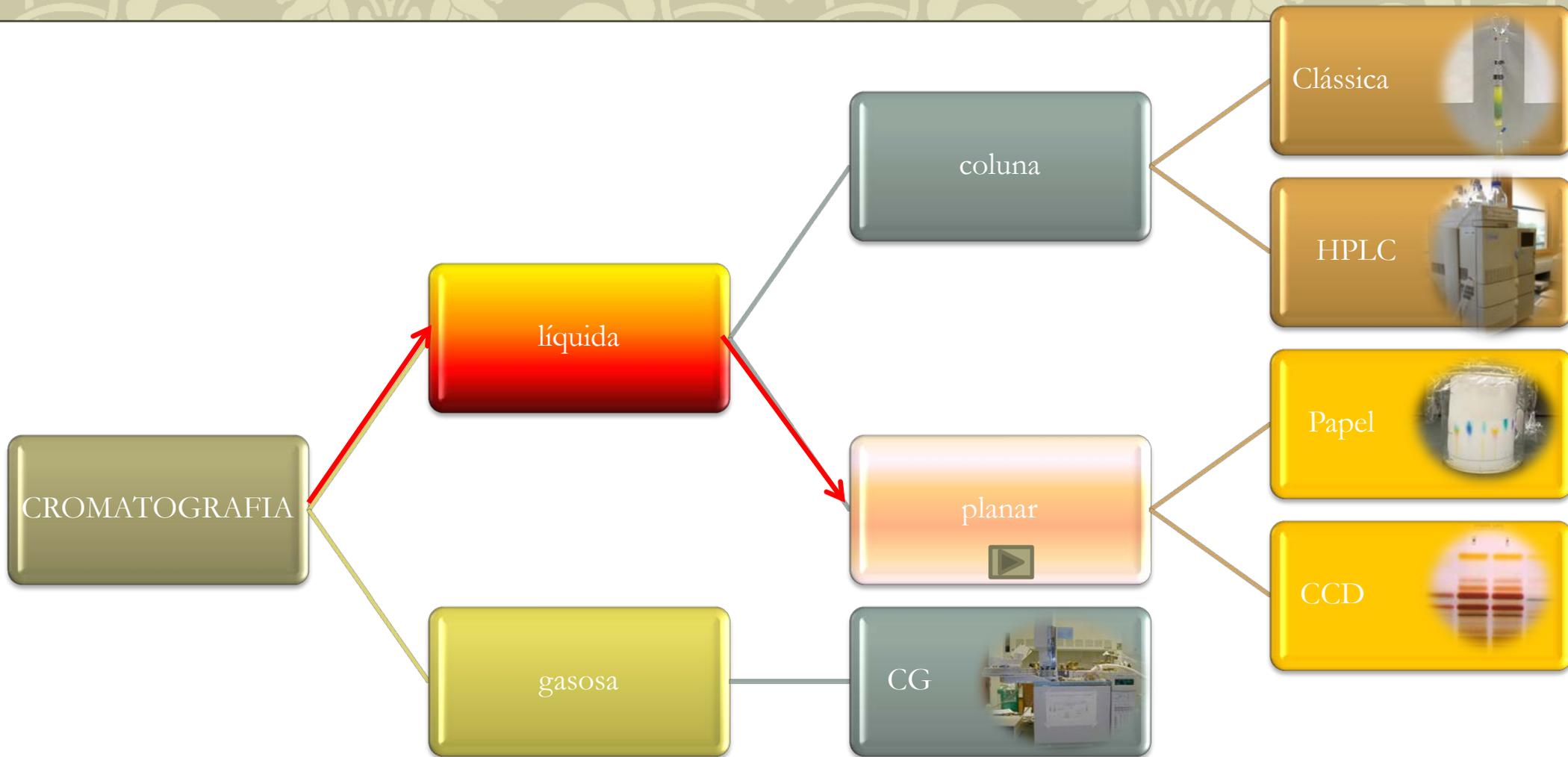


Cromatografia – Análise quantitativa

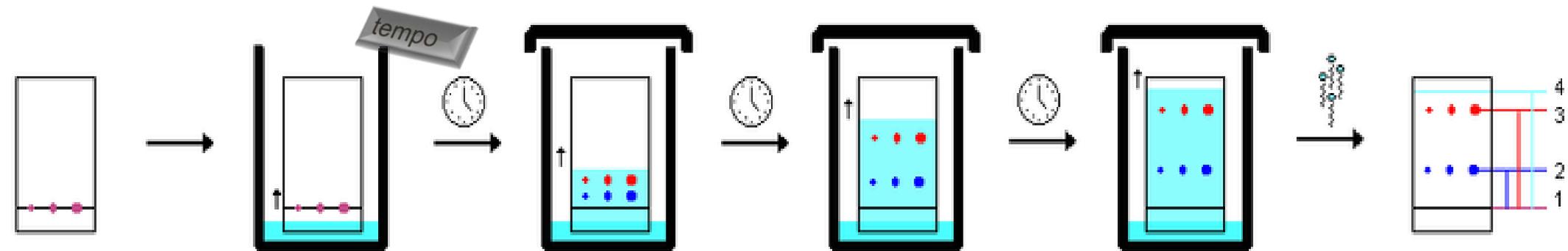
	A	B	C	D	E	F	G
1	Quantitative GC using an internal standard method						
2		Peak height	Peak height,	Peak height ratio,			
3	Percent analyte	analyte	internal standard	analyte/internal std.			
4	0.050	18.8	50.0	0.38			
5	0.100	48.1	64.1	0.75			
6	0.150	63.4	55.1	1.15			
7	0.200	63.2	42.7	1.48			
8	0.250	93.6	53.8	1.74			
9	Unknown	58.9	49.4	1.19			
10	Regression equation						
11	Slope	6.914515					
12	Intercept	0.062202					
13	Concentration of unknown	0.163440					
14	Error Analysis						
15	Standard error in Y	0.049960					
16	N	5					
17	S _{xx}	0.025					
18	y bar (average ratio)	1.1					
19	M	1					
20	Standard deviation in c	0.007939					
21	Spreadsheet Documentation						
22	Cell D4=B4/C4						
23	Cell B11=SLOPE(D4:D8,A4:A8)						
24	Cell B12=INTERCEPT(D4:D8,A4:A8)						
25	Cell B13=(D9-B12)/B11						
26	Cell B15=STEYX(D4:D8,A4:A8)						
27	Cell B16=COUNT(A4:A8)						
28	Cell B17=B16*VARP(A4:A8)						
29	Cell B18=AVERAGE(D4:D8)						
30	Cell B19=enter no. of replicates						
31	Cell B20=B15/B11*SQRT(1/B19+1/B16+((D9-B18)^2)/((B11^2)*B17))						



TIPOS DE CROMATOGRAFIA...



CROMATOGRAFIA PLANAR



Aplicação da amostra na placa

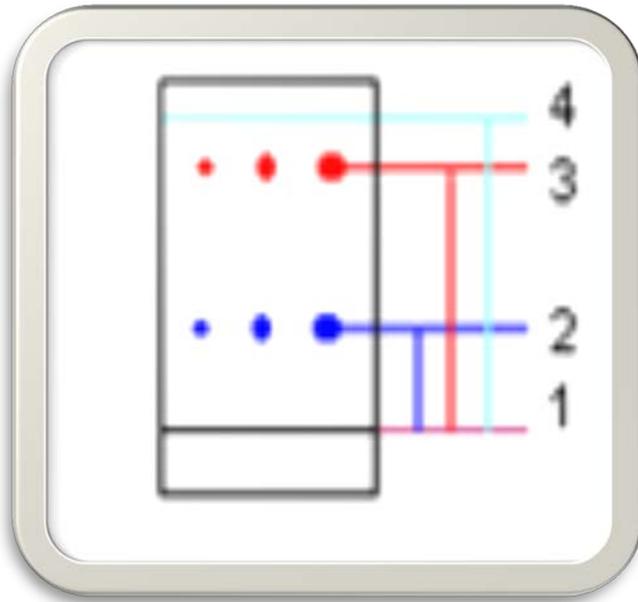
Colocar placa em recipiente com FM

Separação dos componentes vai ocorrendo enquanto a FM vai subindo por capilaridade...

Parar antes da FM atingir o final da placa

Secar a placa e marcar a altura de cada mancha e marcar a distância percorrida pela FM

CROMATOGRAFIA PLANAR



4= distância percorrida pela FM (frente de solvente) - S
3= distância percorrida pelo componente A - D_{sA}
2= distância percorrida pelo componente B - D_{sB}
1= local de aplicação da amostra (“ponto de partida”)

R_f = mede a relação do deslocamento do composto em análise comparado com o deslocamento da fase móvel

$$R_{fA} = D_{sA} / S$$

$$R_{fB} = D_{sB} / S$$

Composto A tem maior deslocamento pois tem maior afinidade pela FM

Cromatografia de Camada Delgada

Separação de misturas de compostos moleculares através da migração diferencial dos mesmos entre duas fases: uma fixa (ou estacionária) e outra móvel, que desliza sobre a primeira.

Ou também pode ser expresso como um procedimento de separação microanalítico no qual os componentes de uma mistura são transportados para diferentes distâncias em uma placa recoberta com uma fina camada de material poroso. A espessura da camada pode variar de 100mm a 250mm.

Cromatografia de Camada Delgada

- A placa que serve de suporte em geral é de vidro, mas pode ser de plástico ou de alumínio. A camada que recobre a placa recebe o nome de **fase estacionária** e em geral é constituída de **sílica gel**.
- O mecanismo de transporte é um solvente e é conhecido como **fase móvel**. Primeiro a amostra é dissolvida em um solvente adequado, então, uma certa alíquota desta solução é aplicada na região de partida e o conjunto é seco.
- A placa de TLC/HLTPC é então colocada em uma câmara de desenvolvimento ou cuba, o qual contém o solvente.

CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

- Inicia-se o que chamamos de **desenvolvimento cromatográfico** onde os componentes da amostra são influenciados pela ação de duas forças, opostas entre si:
- **Capilaridade:** é a responsável pelo avanço do solvente ou fase móvel sobre a fase estacionária que contém a amostra.

CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

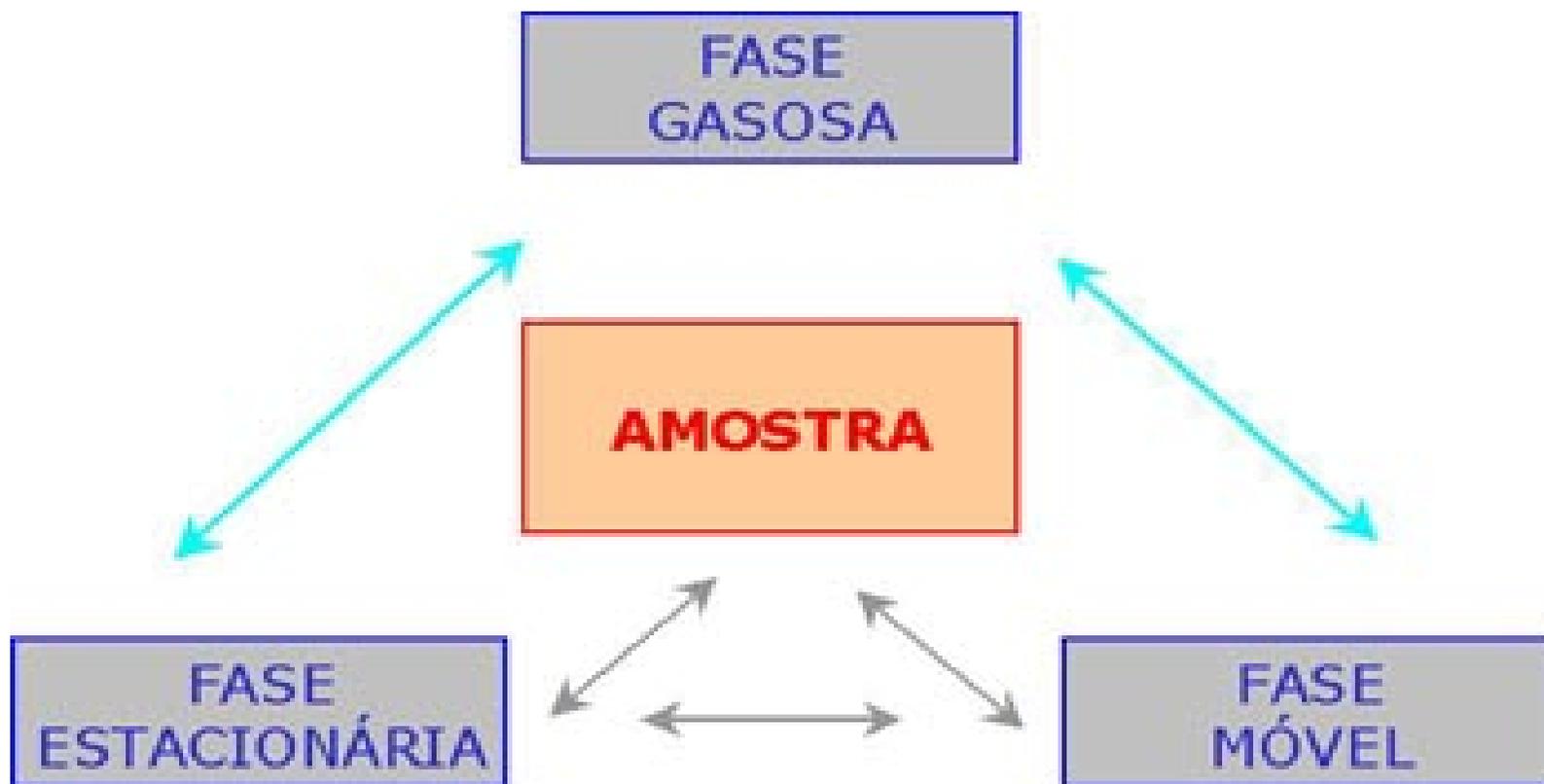
Interação: tão logo se inicia a migração da fase móvel, a amostra é dissolvida e começa a ser arrastada pela fase móvel.

Neste momento aparecem forças de interação entre os componentes da amostra e a fase estacionária.

Estas forças de interação se opõem à força de arraste da fase móvel (capilaridade) retardando o avanço dos componentes da amostra.

Cromatografia de Camada Delgada

EM FUNÇÃO DE TODAS ESTAS INTERAÇÕES ENTRE AMOSTRA/FASE MÓVEL/FASE ESTACIONÁRIA, O SISTEMA TLC/HPTLC DEVE SER OTIMIZADO PARA CADA AMOSTRA

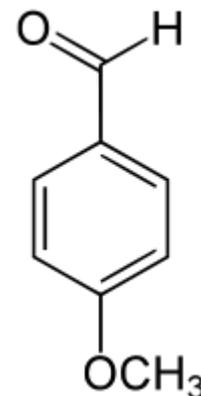


CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

- Muitas substâncias, sem nenhuma coloração podem ser visualizadas quando iluminadas por uma luz UV.
- Existem vários meios de se avaliar o cromatograma. Do ponto de vista qualitativo (visual) pode-se efetuar a avaliação apenas dispondo de uma câmara UV, contendo lâmpadas capazes de emitir luz nos comprimentos de onda de 254nm e 366nm. Neste caso as manchas são visualizadas e suas distâncias de migração calculadas.
- A distância de migração da amostra comparada à distância de migração do padrão diz respeito à “qualidade da amostra”.

CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

- Reveladores são agentes físicos (ultravioleta, por exemplo) ou químicos (vapores de iodo, H_2SO_4 , por exemplo) que tornam visíveis as substâncias separadas.
- Outros reveladores químicos: ácido sulfúrico/metanol, vanilina sulfúrica, tricloreto de antimônio, permanganato de potássio/ácido sulfúrico, anisaldeído, etc



FATOR DE RETENÇÃO OU RETARDAMENTO OU RELAÇÃO (Rf)

Isto é calculado através do Rf

Rf é a relação entre as distâncias percorridas pelo composto e pela frente do solvente.

$$Rf = \frac{\text{distância do centro da mancha à linha de partida}}{\text{distância da frente do eluente à linha de partida}}$$

$$\text{Ou } Rf = a/b$$

RF

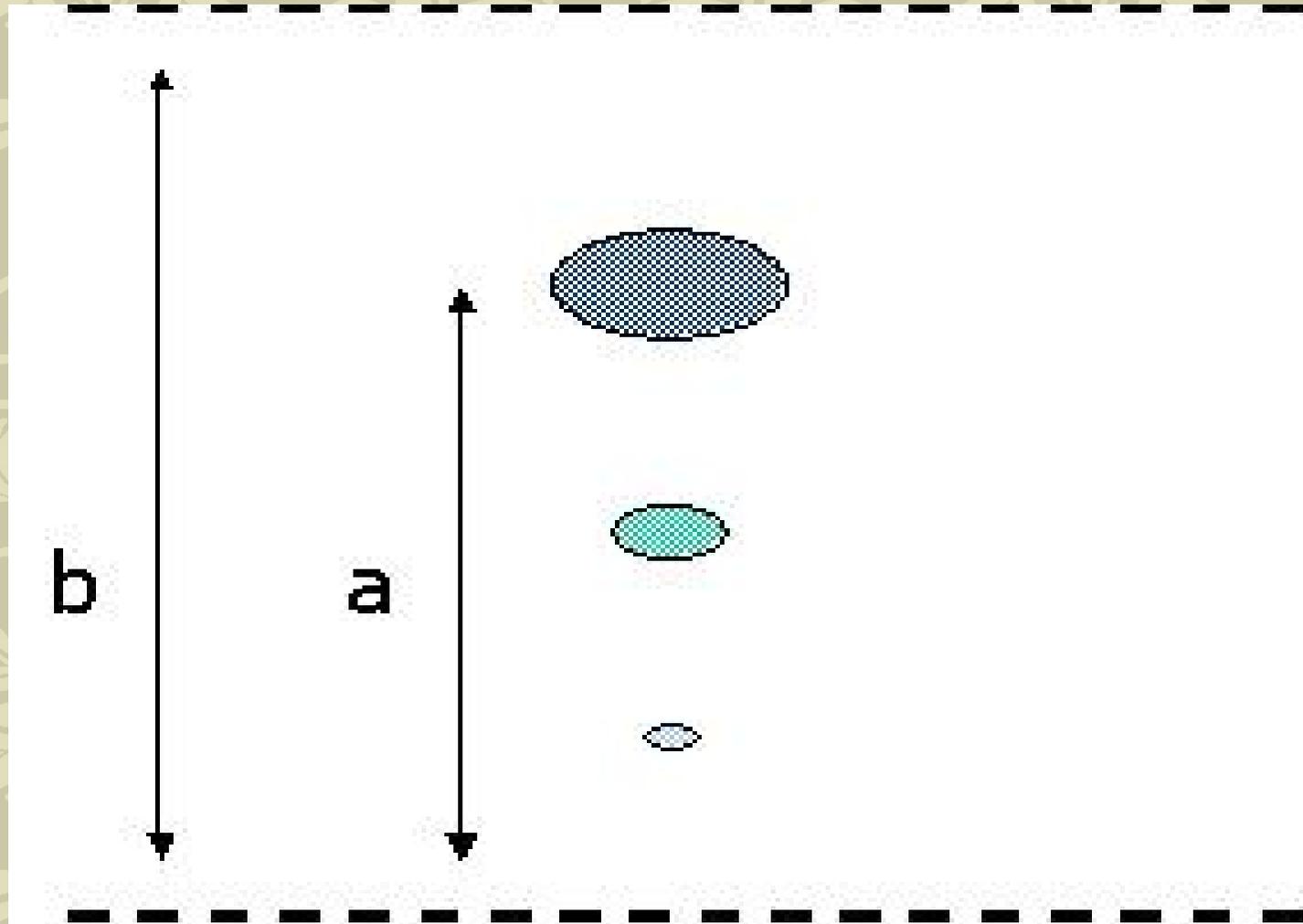
Por exemplo, se uma substância de uma mistura desconhecida se desloca 2,5 cm e a frente do solvente se desloca 5,0 cm, o R_f é 0,5. Um R_f sempre estará na faixa de 0 a 1: se a substância se move totalmente ela pode se deslocar igualmente como a FM se deslocou mas não mais do que isso; se a substância não se desloca nada seu R_f será zero.

Diferentes características da FM vão alterar o valor de R_f das substâncias e podemos controlar a migração dos compostos trocando a FM (principalmente alterando a polaridade).

O valor de R_f identifica uma substância pois ele possui um valor único, para uma dada FM e FE utilizadas.

Devemos correr em uma mesma placa a amostra desconhecida e o padrão que deve identificar a substância em análise. Como a amostra e o padrão estarão na mesma condição, se os R_f da mancha do padrão e da substância desconhecida coincidirem é porque devem se tratar do mesmo composto.

Rf



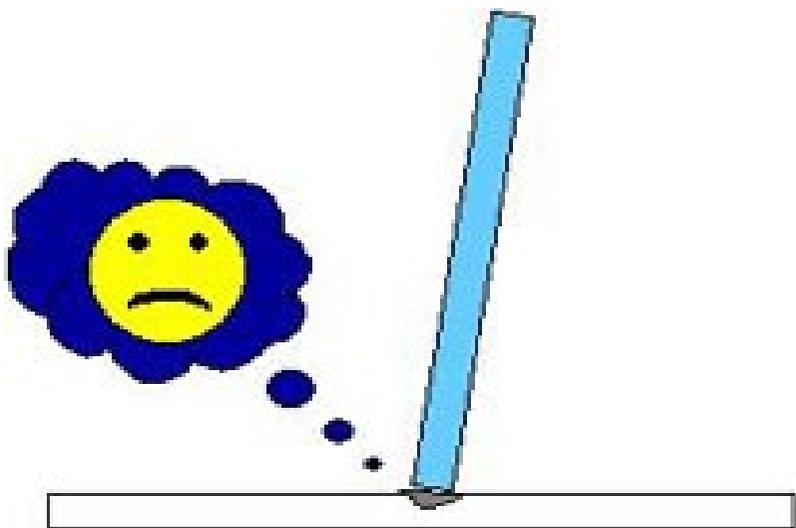
APLICAÇÃO DA AMOSTRA

É a primeira e mais crítica etapa de um trabalho com TLC/HPTLC, desconsiderando-se a preparação da amostra.

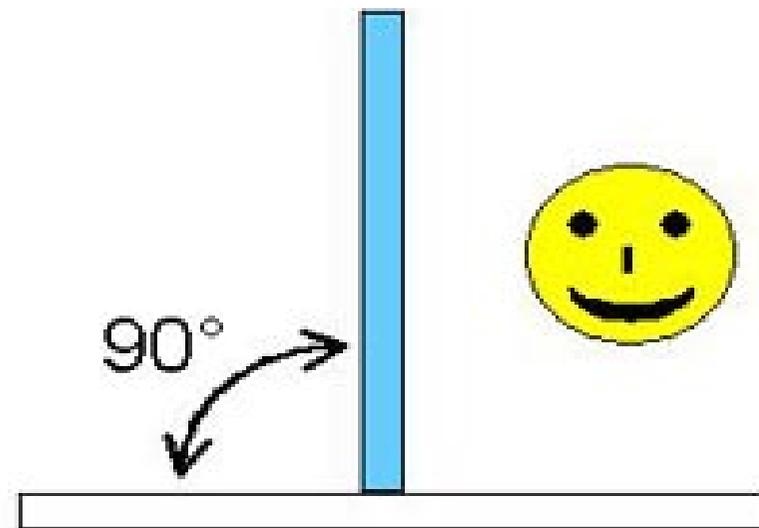
A aplicação é muito importante porque sua regularidade e qualidade refletem-se até a última etapa da análise. A precisão do volume aplicado e o exato posicionamento são essenciais

Cromatografia de Camada Delgada

APLICAÇÃO DA AMOSTRA



Forma incorreta de aplicação
de aplicação



Forma correta

APLICAÇÃO EM SPOTS, BANDAS OU RETÂNGULOS ?

Contato = Spots



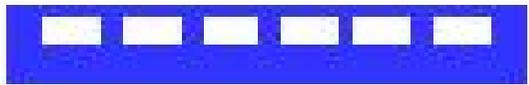
A diagram illustrating contact points as six small black dots arranged in a horizontal row at the bottom of the panel.

Spray = Bandas



A diagram illustrating contact points as six short horizontal dashes arranged in a horizontal row at the bottom of the panel.

Spray = Retângulos



A diagram illustrating contact points as six white rectangles arranged in a horizontal row at the bottom of the panel, set against a blue background.

CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

Para este caso, o solvente Hexano mostrou-se como o melhor, pois o ponto de aplicação ficou o menor possível. O ideal é evitar o efeito de anel, como ocorreu com a água.

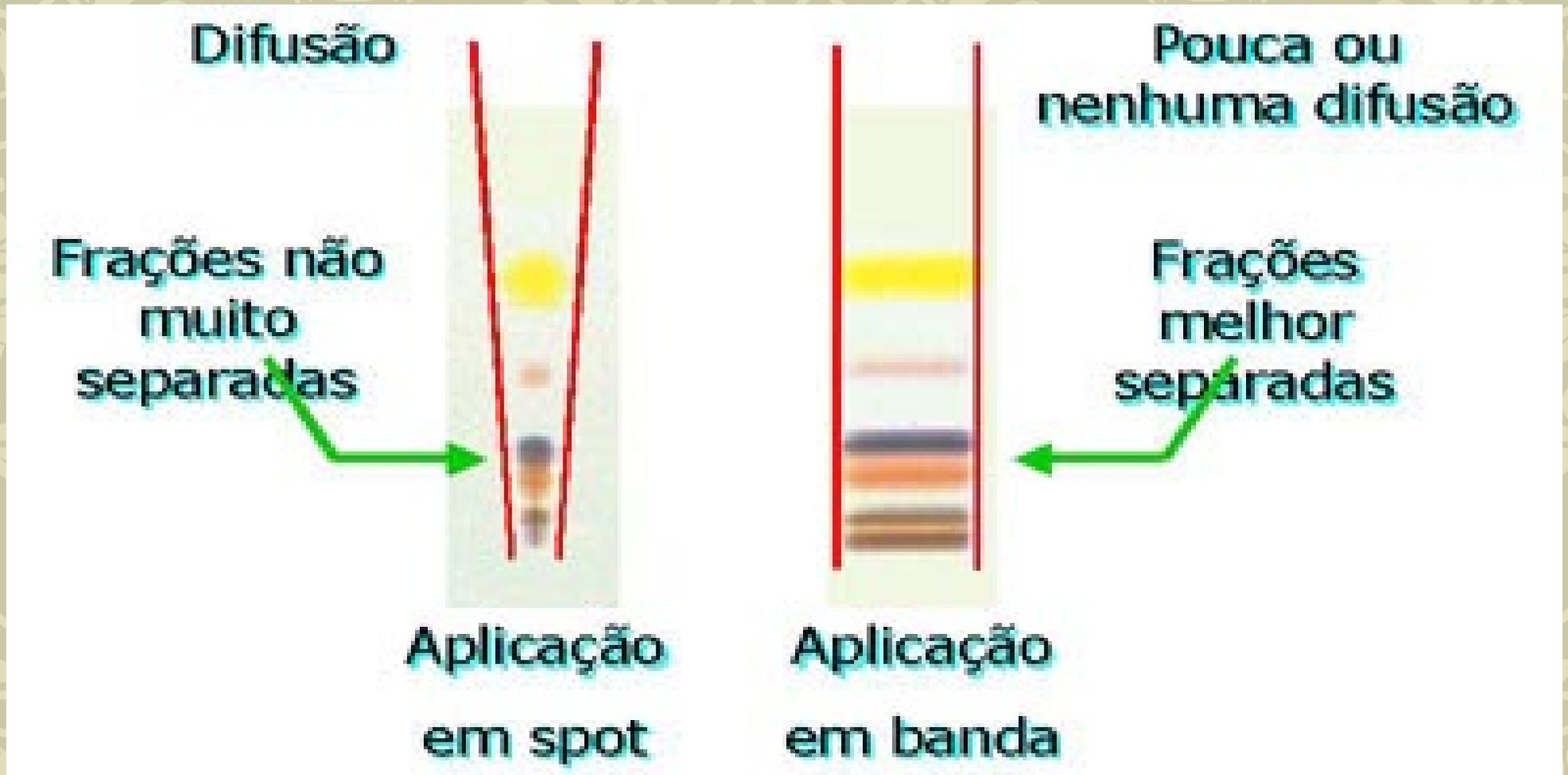


Aplicação da amostra

Assim, os volumes aplicados devem ser limitados. Para as placas TLC pode-se aplicar 0,5 μ L a 5 μ L e para HPTLC o máximo indicado é de 1 μ L.

Aplicações em banda resultam em melhor separação dos componentes, considerando as mesmas condições de desenvolvimento.

Cromatografia de Camada Delgada



PARÂMETROS PARA A PLACA

- **Temperatura:**

O desenvolvimento do cromatograma deve ocorrer em temperatura ambiente. Temperaturas entre 20°C e 25°C não são críticas para este procedimento. É importante evitar flutuações de temperatura durante o processo.

- **Umidade:**

Durante a fabricação e logo após, as placas são secas à temperatura de 120°C, de modo a ativar a sílica gel. Ao ser retirada da embalagem a placa adsorve rapidamente umidade, se equilibrando em alguns minutos. Entre HR de 50 a 60% este equilíbrio ocorrerá na placa com cerca de 13% de conteúdo de água.

POSIÇÃO DA CUBA

A cuba deve ser colocada de modo a não receber luz solar direta, em local com temperatura estável e bancada a mais nivelada possível.

Quando o trabalho estiver sendo feito com substâncias fotossensíveis, o cromatograma deve ser corrido no escuro.

CROMATOGRAFIA EM PAPEL

Compostos hidrossolúveis, ácidos orgânicos e íons metálicos

Princípio: partição (solubilidade)

Quantidade de amostra necessária 10^{-3} a 10^{-6} g

Tipos: ascendente, descendente, bidimensional, circular

F.M. - Sistema de solventes

F.E. - Água retida na celulose (papel Whatman)

Métodos de detecção: físico-químicos

Análise qualitativa: R_f (fator de retenção) - problema : reprodutibilidade

Análise quantitativa: densitômetro, extração dos solutos

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Método rápido (20-40 min.)

Uso de diversos agentes cromogênicos

Maior sensibilidade que C.P. (10^{-9} g)

Grande gama de compostos pode ser analisada

Método simples e barato

F.M. - sistema de solventes

F.E - Adsorventes (sílica, alumina, celite, amido)

Métodos de detecção: físico-químicos

Princípio: Adsorção (polaridade)

Adsorção depende:

natureza química do adsorvente

área de superfície/ tamanho da partícula

porosidade da partícula

-atividade --> sítios ativos

Tipos de adsorventes:

G- aglutinantes (gesso amido ou talco)

H- sem aglutinante (p/ CL)

P-camada preparativa

F- contém fluorescência

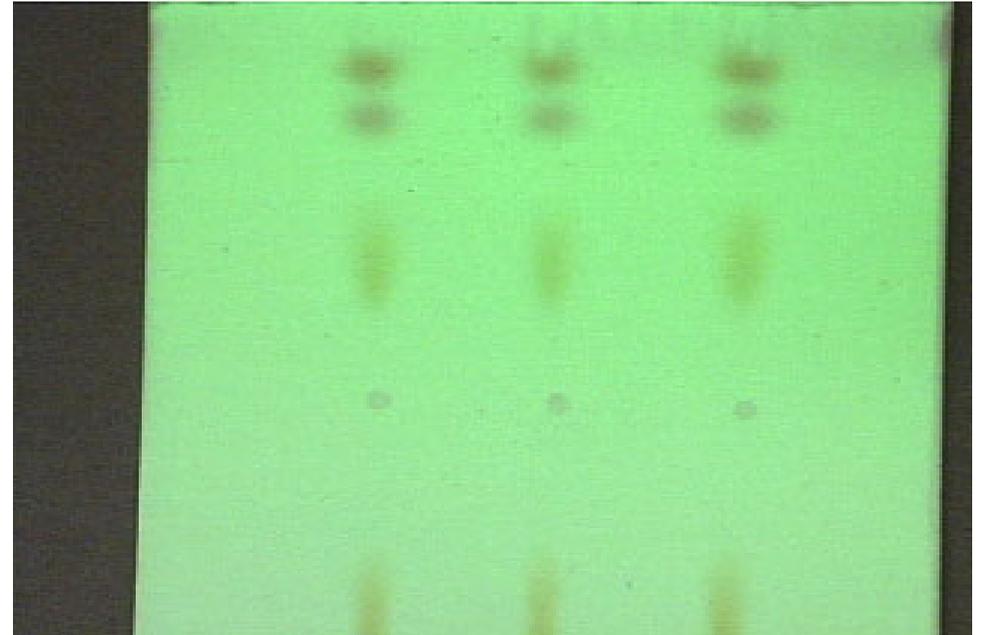
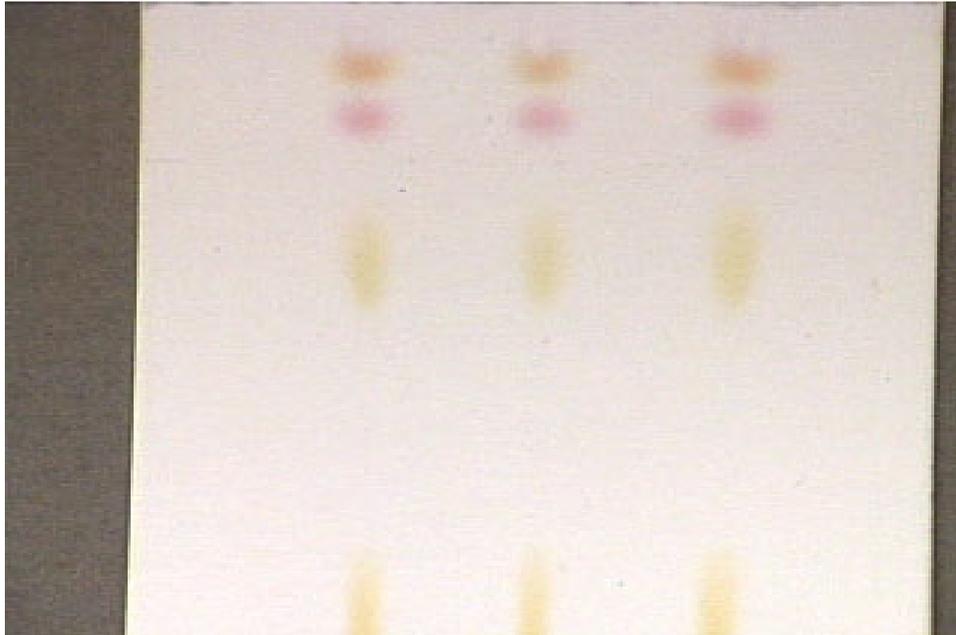
R- adsorvente sem aditivo

Critérios para escolha da fase móvel:

analitos devem ser solúveis diferentemente

não deve haver reação entre analitos/FM e FM/FE

CCD - EXEMPLOS



Requerimento da amostra::

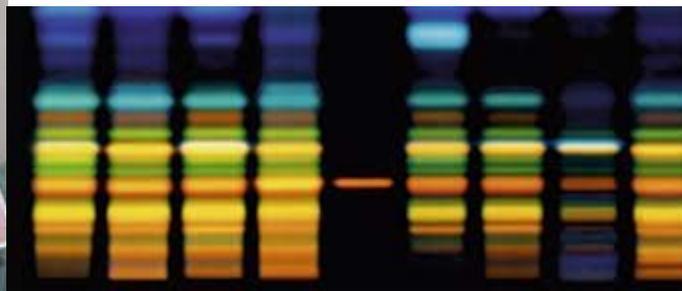
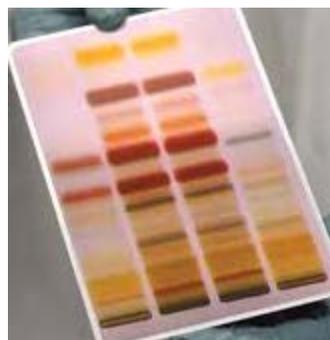
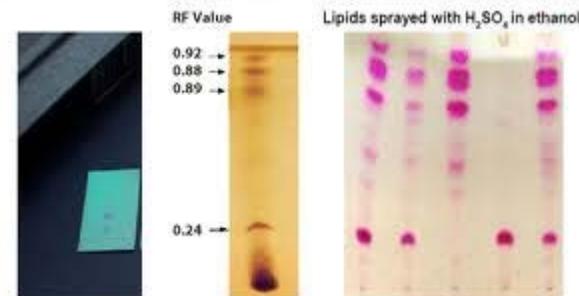
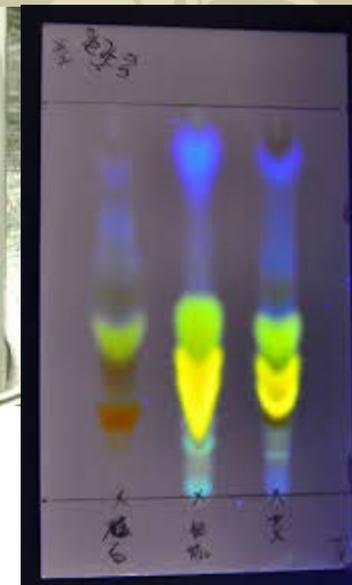
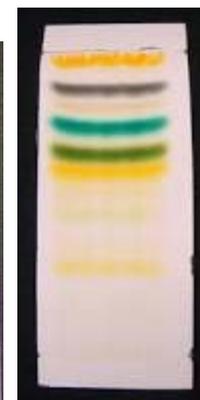
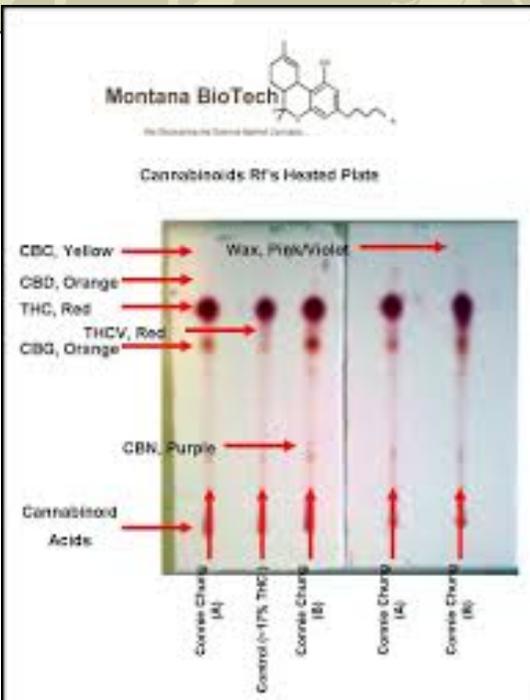
detectável no cromatograma

solúvel na FM

estável à luz, oxigênio, solvente, não ser volátil

PROFA. DRA. GLAUCIA MARIA

CCD - EXEMPLOS



TLC

【TLC Test Record】

Product Name: 金針白朮散 (Ren Zhen Bai Zhu Tang)

Lot No.: 374354 Dosage Form: 散剂

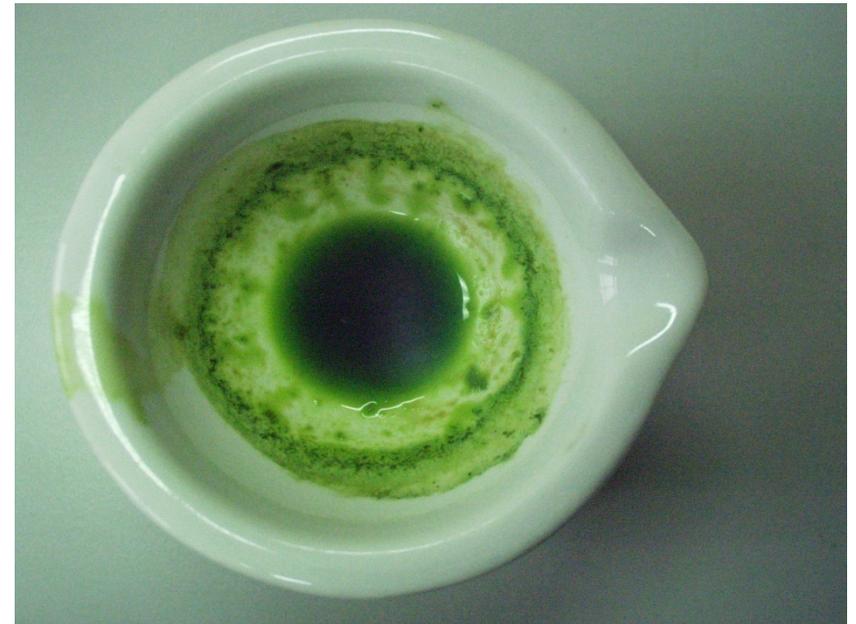
白朮 (Pony/White)	蒼朮 (Tangkuai)	川芎 (Ligusticum)	熟地 (Rehmannia (Cooked))	人參 (Ginseng)
Rf: 0.5	Rf: 0.58	Rf: 0.58	Rf: 0.15	Rf: 0.35
Result: Pass	Result: Pass	Result: Pass	Result: Pass	Result: Pass

CCD - exemplos

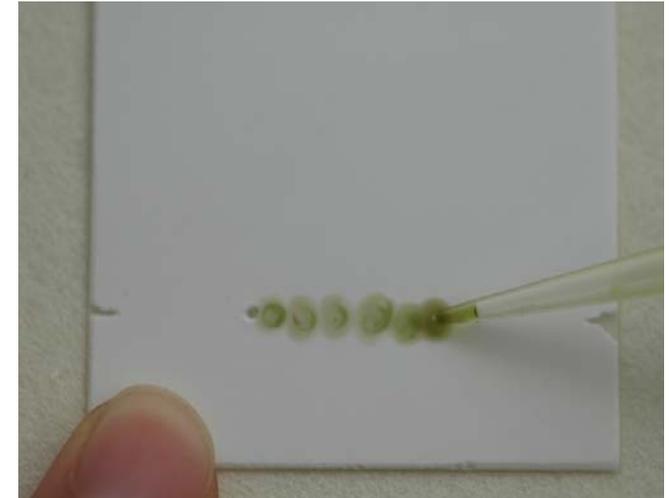
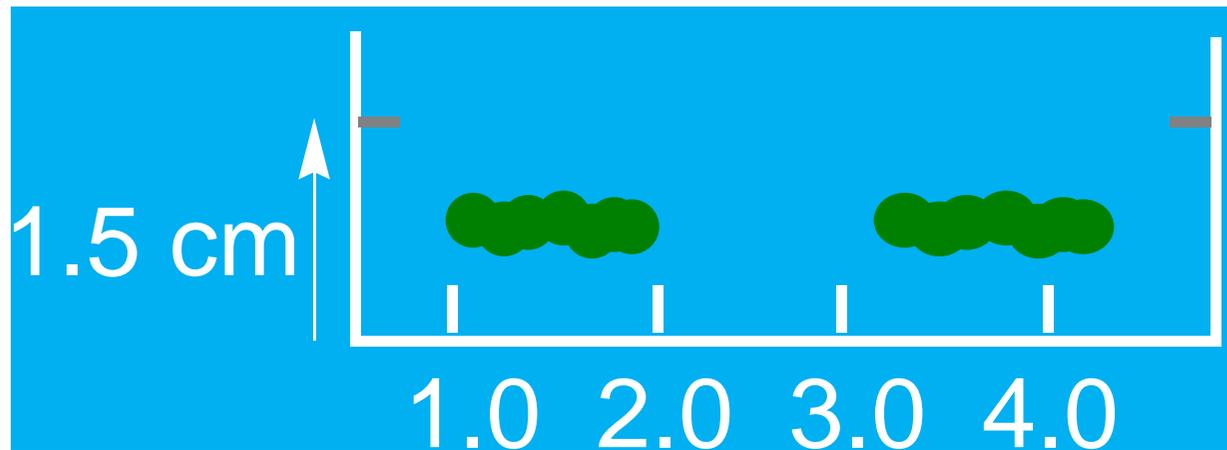


CCD - exemplos

- *Transfira cerca de 3 cm² de folha para um almofariz*
- *Macere até que todo o tecido se quebre*
 - *Adicione cerca de 750 µl de propanona*
- *Transfira o sobrenadante para um recipiente e feche*



- Aplique a solução de amostra na placa (aqui é mostrada uma aplicação em barra, mas poderia ser em “spot”)



*Fase móvel: ciclohexano : propanona : éter de petróleo,
proporção 5 : 3 : 2*

- *Coloque a placa com a amostra aplicada em um recipiente saturado com a FM*
- *Espera o solvente subir na placa, por capilaridade, e quando estiver próximo ao topo, retire a placa*
- *Imediatamente marque a frente do solvente*



RESULTADOS

<i>Pigmento</i>	<i>Cor</i>	<i>R_F</i>
<i>caroteno</i>	<i>amarelo-alaranjado</i>	<i>0,91</i>
<i>feofitina a</i>	<i>cinza</i>	<i>0,75</i>
<i>feofitina b</i>	<i>cinza claro</i>	<i>0,63-0,75</i>
<i>clorofila a</i>	<i>verde azulado</i>	<i>0,63</i>
<i>clorofila b</i>	<i>verde</i>	<i>0,58</i>
<i>xantofilas</i>	<i>amarelo</i>	<i>0,53</i>
<i>xantofilas</i>	<i>amarelo</i>	<i>0,47</i>
<i>xantofilas</i>	<i>amarelo</i>	<i>0,32</i>

Comparação

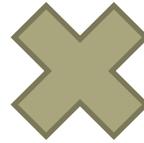
CP

Vantagens:

- técnica simples
- não requer instrumentação sofisticada
- baixo custo

Desvantagens:

- uso limitado
- alargamento de banda-difusão-
- pouca alternativa de reveladores



CCD

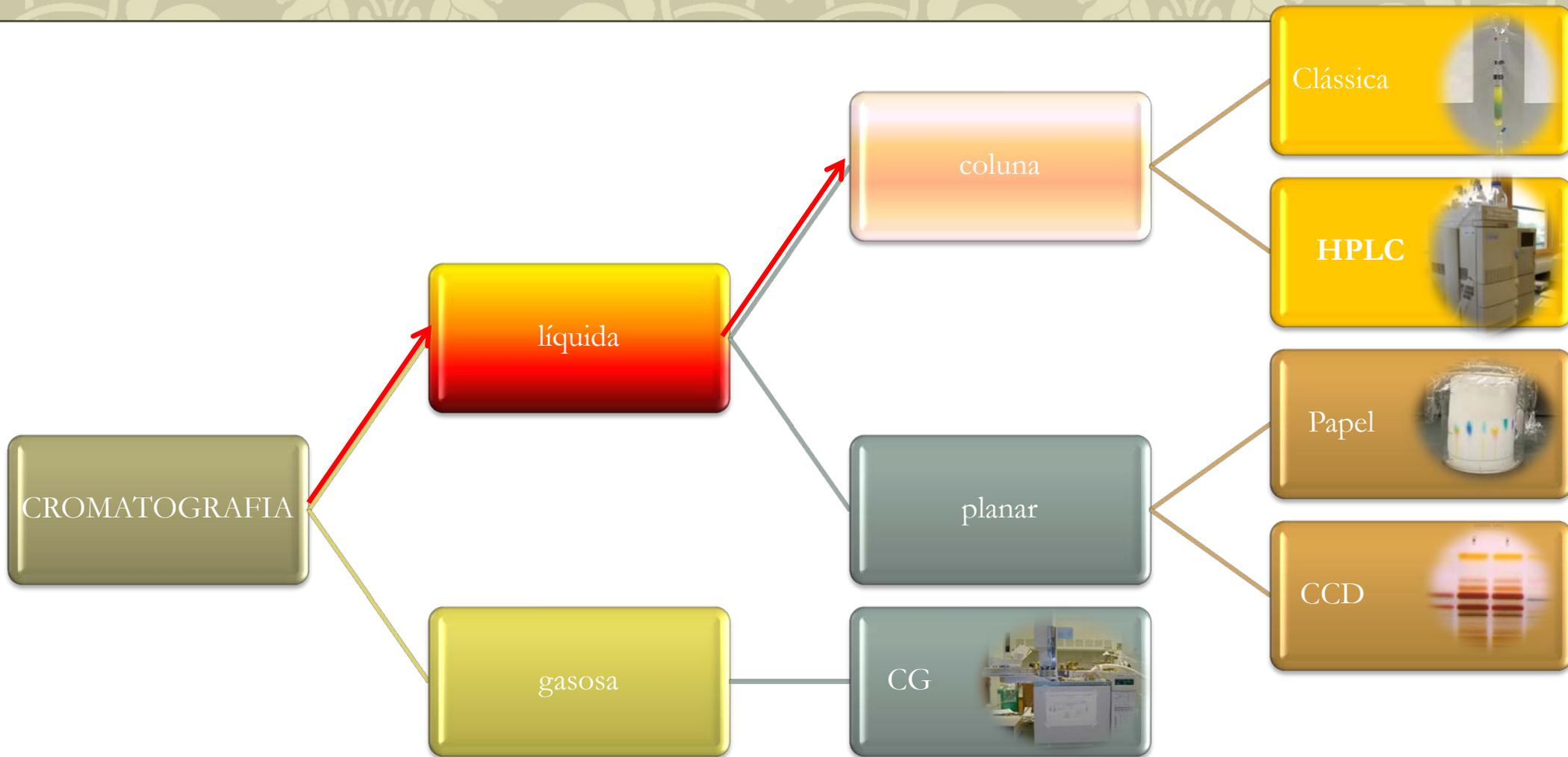
Vantagens:

- maior sensibilidade
- mais rápido
- > repetibilidade
- < difusão
- > faixa de aplicação
- reveladores reativos
- permite aquecimento

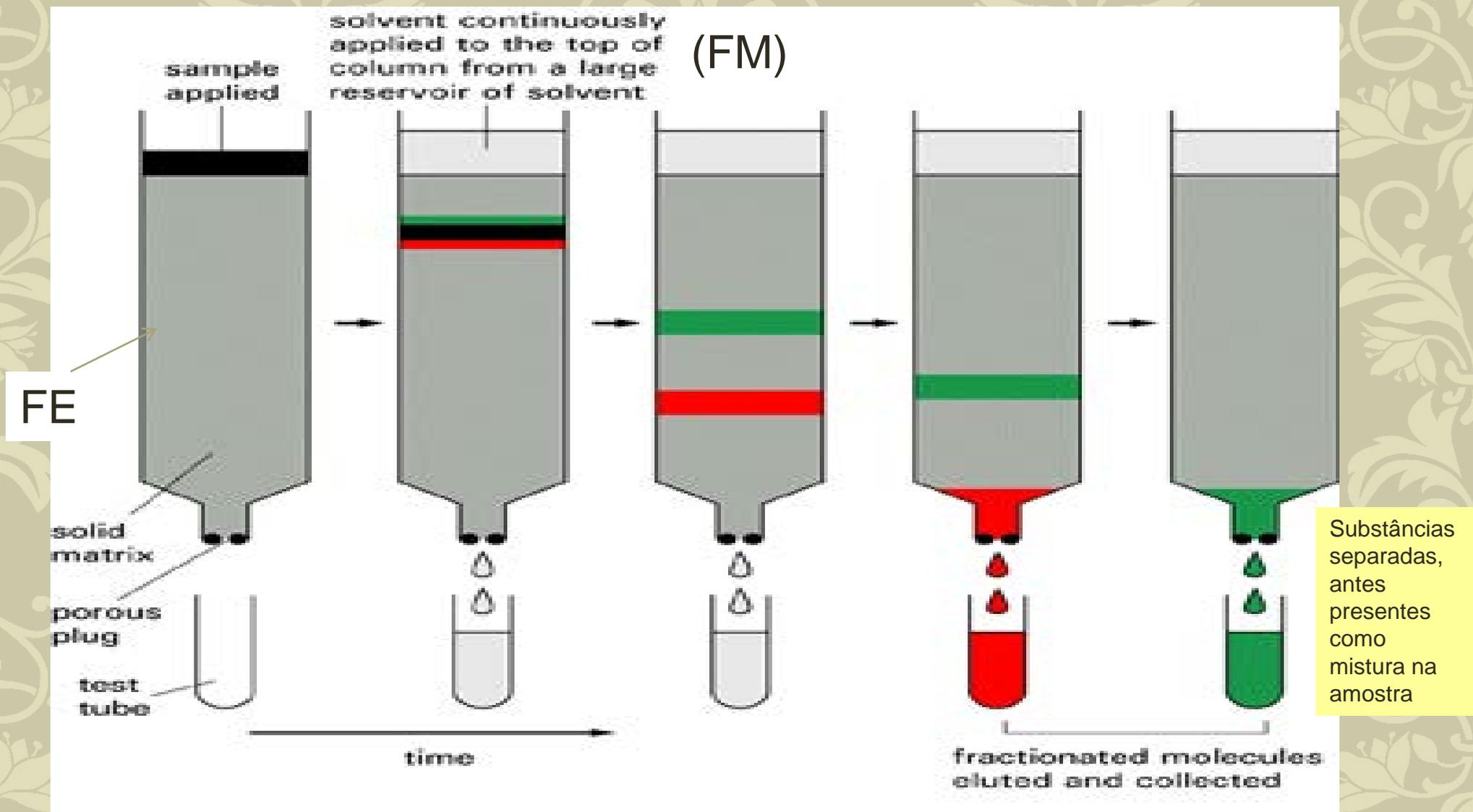
Desvantagens

- Degradação de compostos lábeis devido a grande superfície de exposição
- dificuldades na quantificação

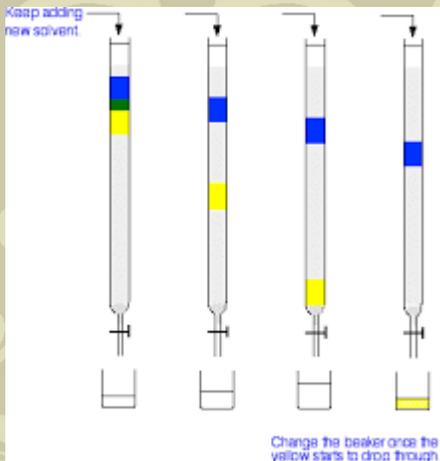
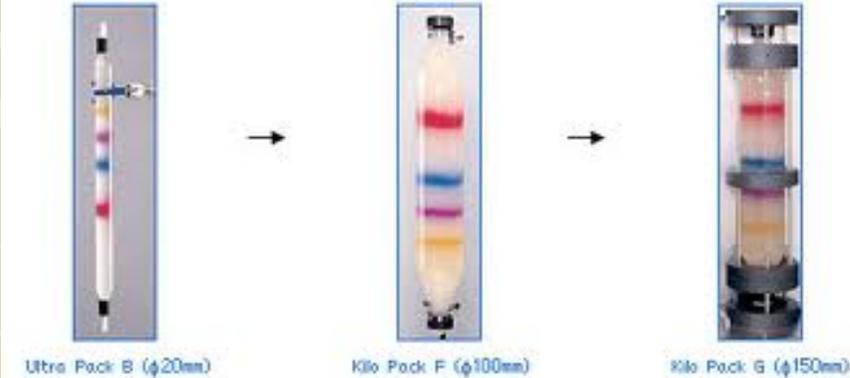
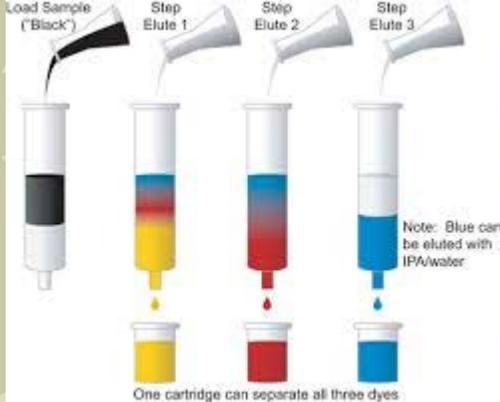
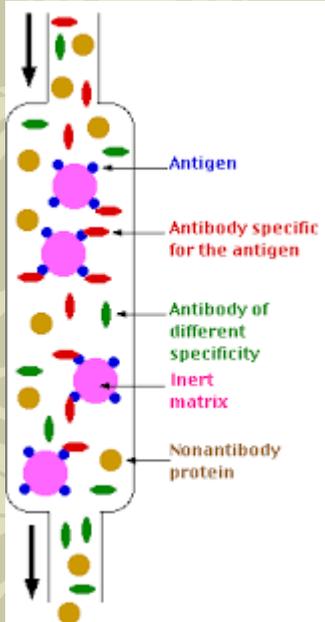
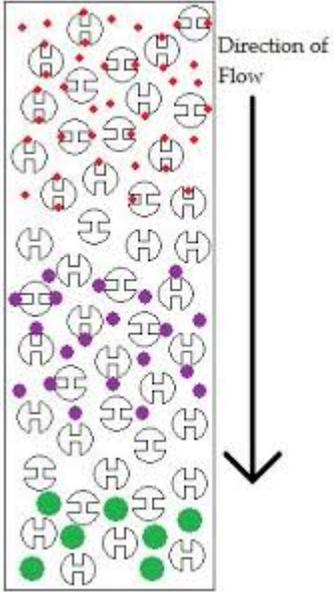
TIPOS DE CROMATOGRAFIA...



Cromatografia Líquida em coluna aberta (cromatografia líquida clássica)



Cromatografia Líquida em coluna aberta (cromatografia líquida clássica)



Cromatografia Líquida - Esquema

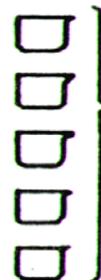
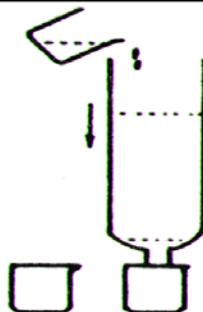
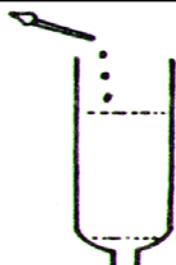
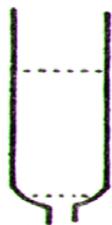
PREPARAÇÃO
DE
COLUMNA

APLICAÇÃO
DE
AMOSTRA

ELUIÇÃO

DETECÇÃO
E
QUANTIFICAÇÃO

CLC



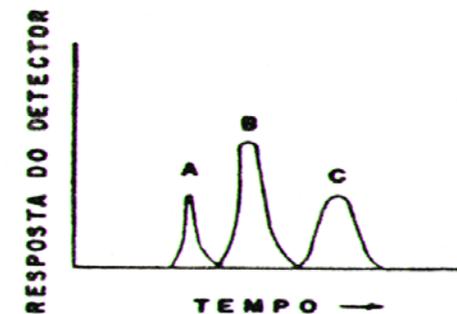
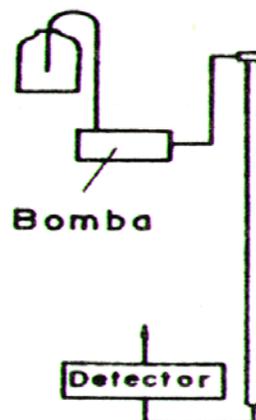
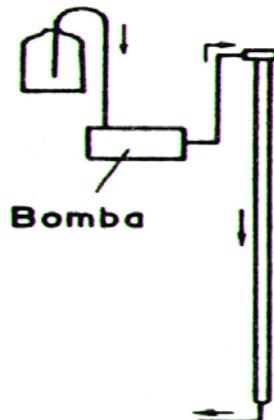
EVAPORAR
PARA
PESAGEM

ANÁLISE
QUÍMICA,
ESPECTROFOTOMÉTRICA

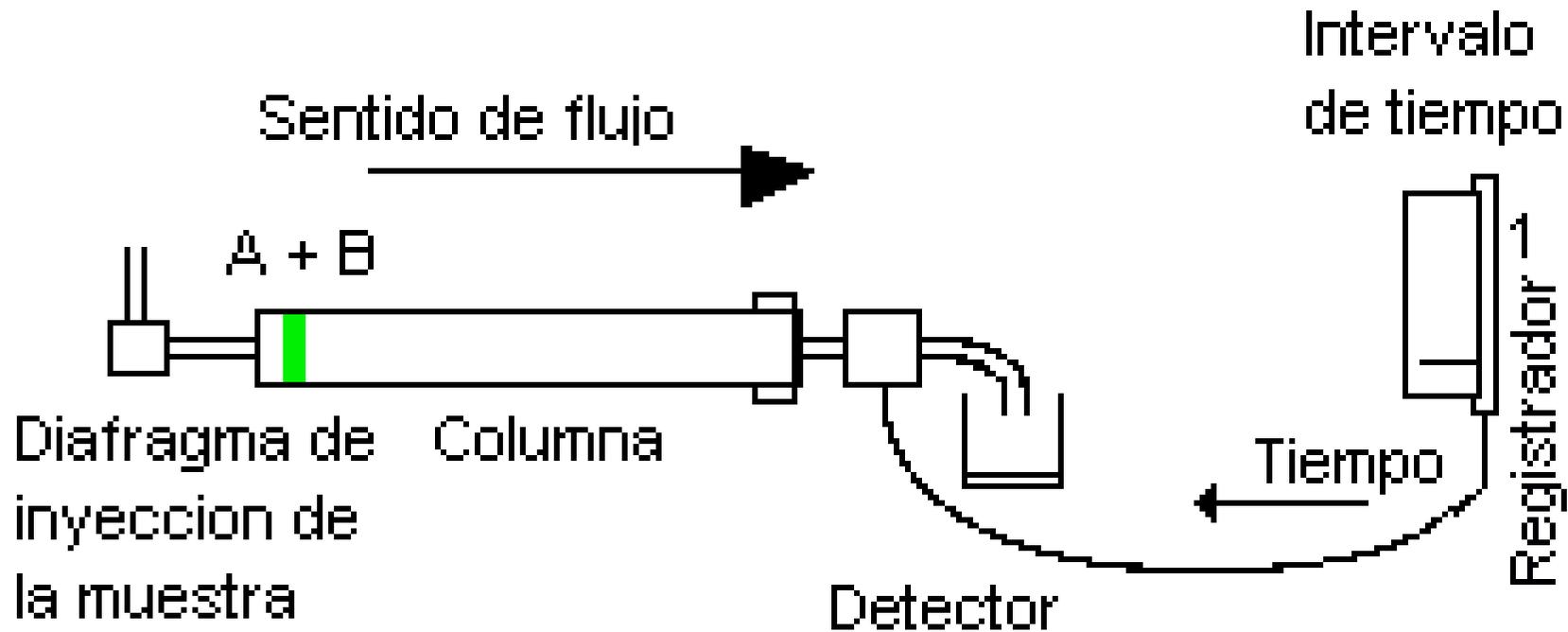
ETC



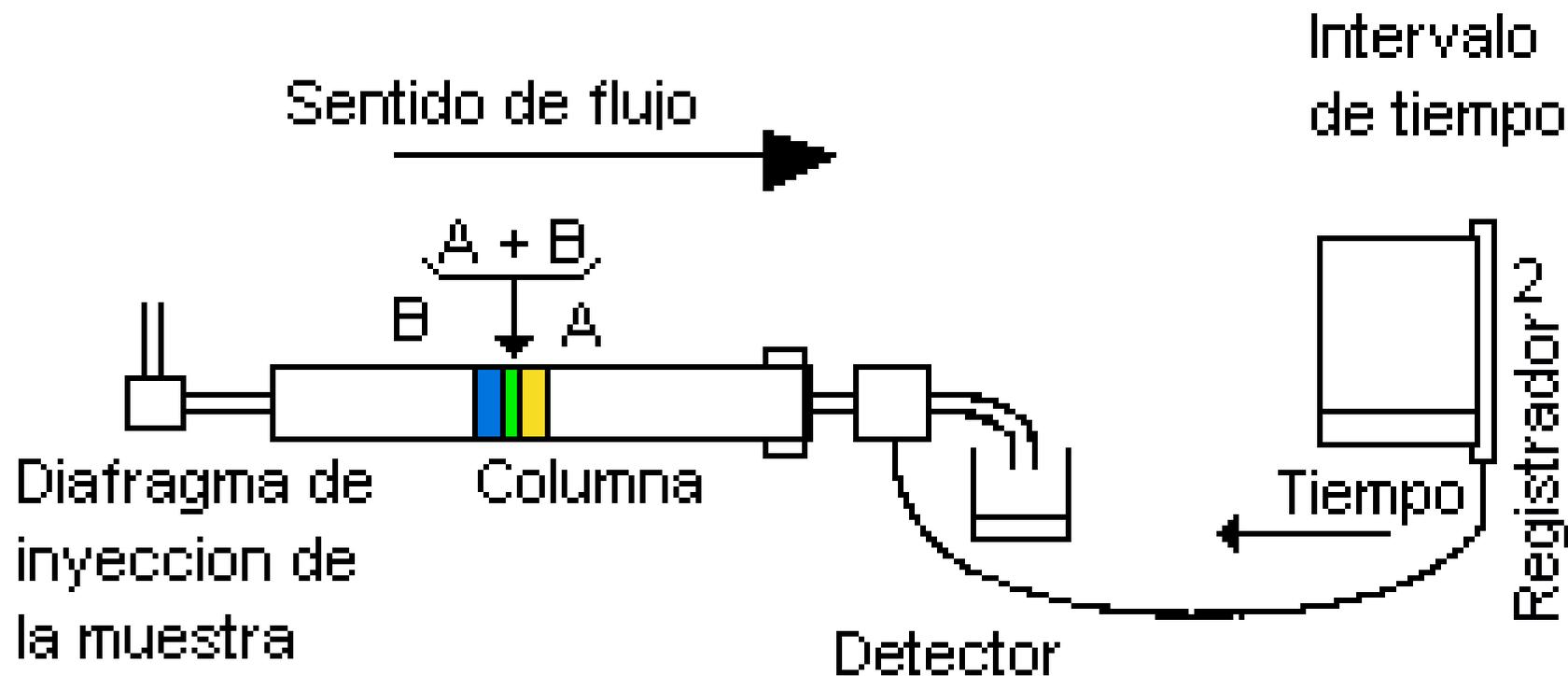
CLAE



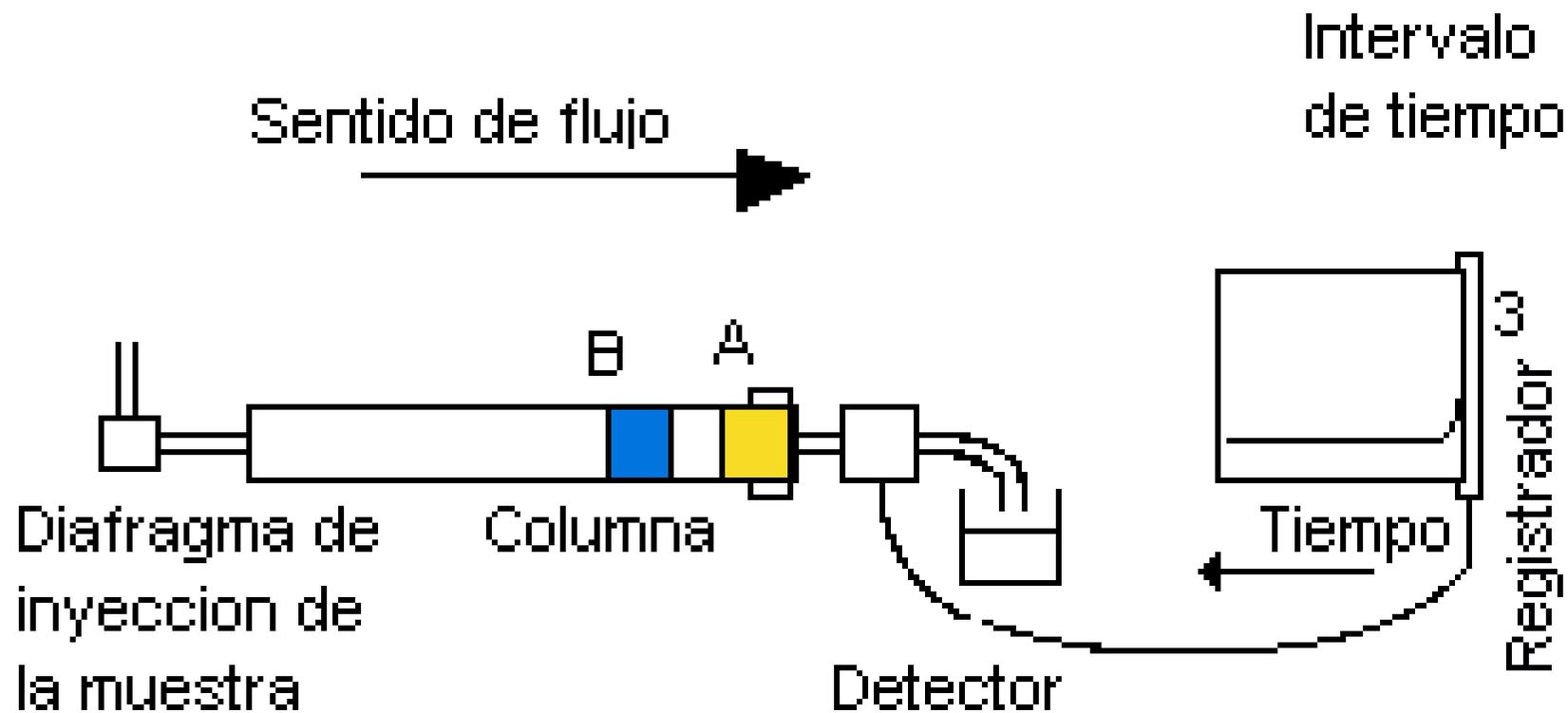
Esquema da instrumentação



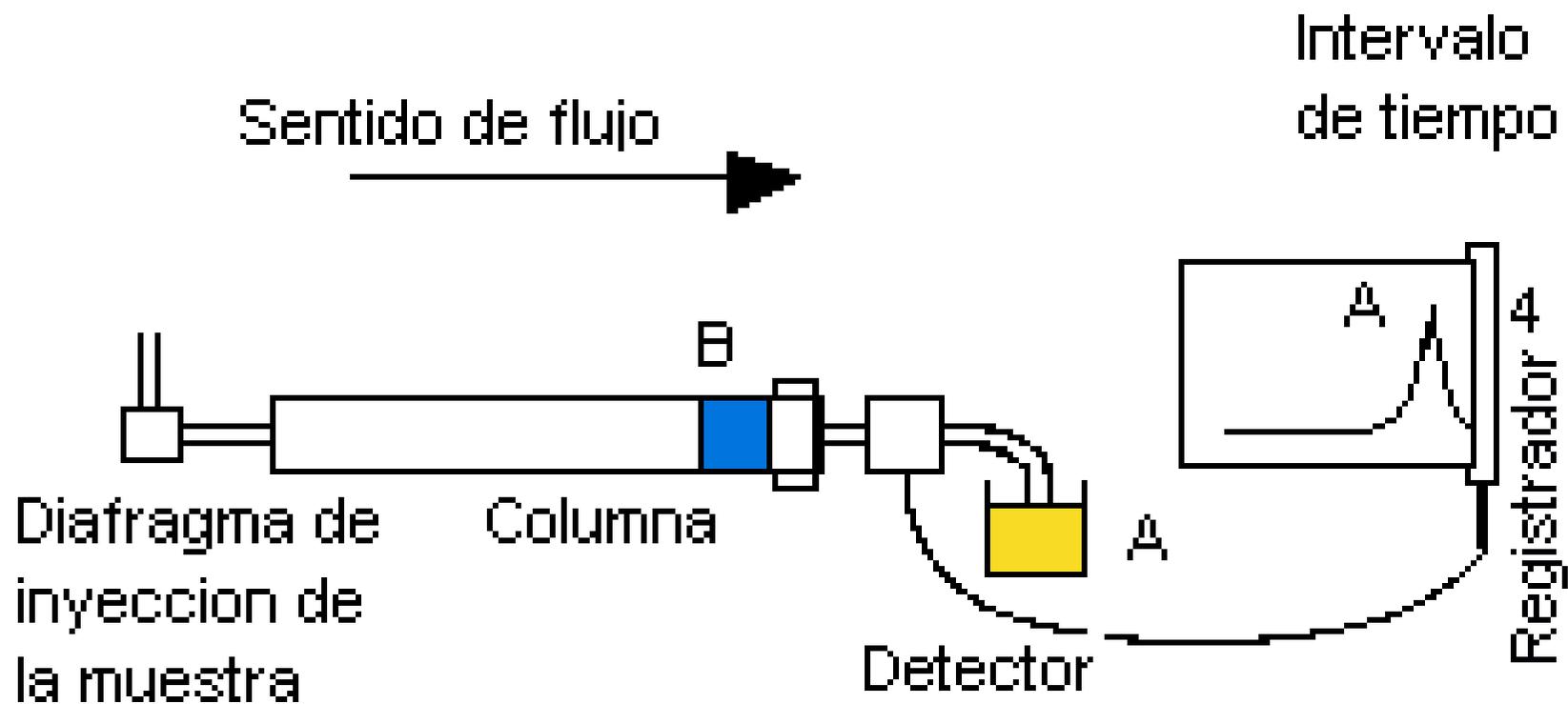
Esquema da instrumentação



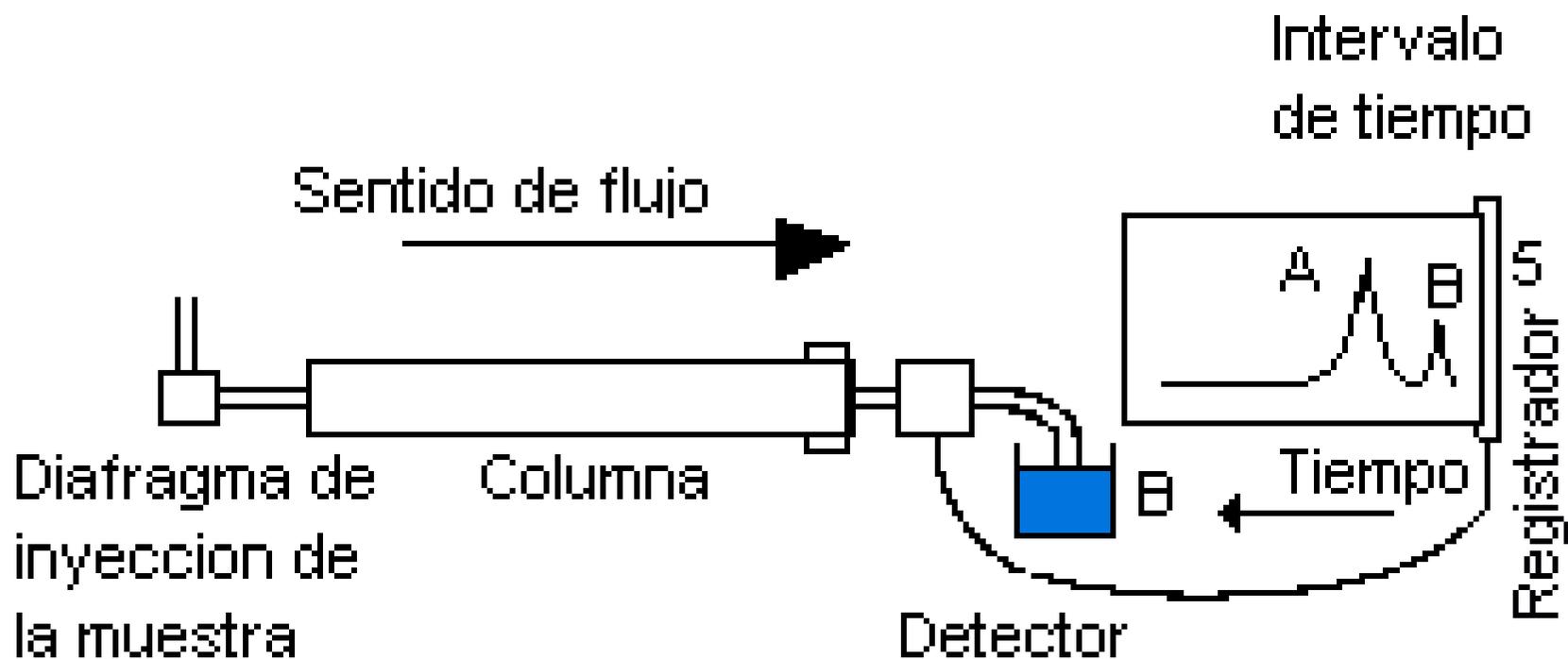
Esquema da instrumentação



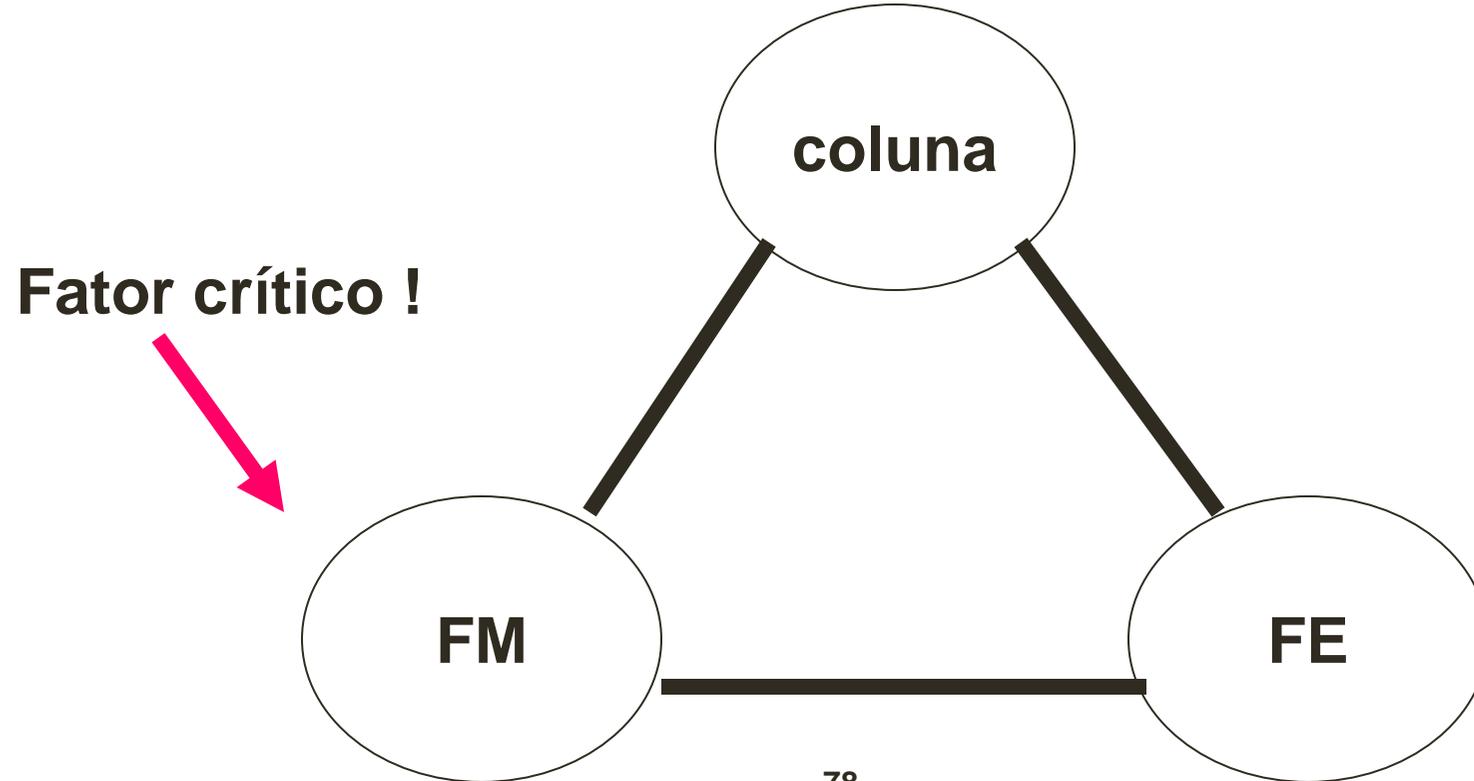
Esquema da instrumentação



Esquema da instrumentação



Colunas FM e FE



FE, FM

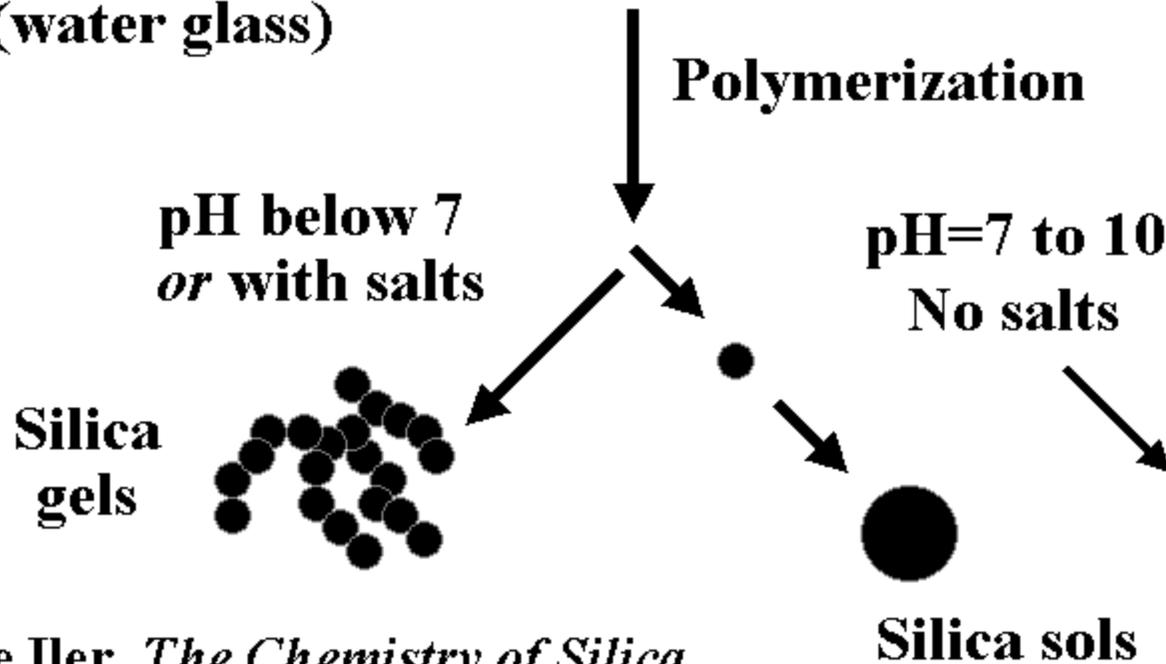
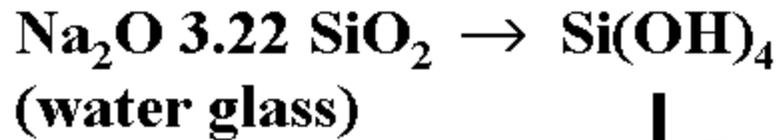
CL :

- Fase normal: fase móvel é mais apolar do que fase estacionária
 - Ex: FM hexano:etanol, FE sílica
- Fase reversa: fase móvel é mais polar do que fase estacionária
 - Ex: FM Metanol:água, FE C-18
- quase 99% das aplicações utilizam fase reversa
- sílica é o suporte mais utilizado devido a resistência química, física e mecânica (partículas de 3 a 100 μm)

FE, FM

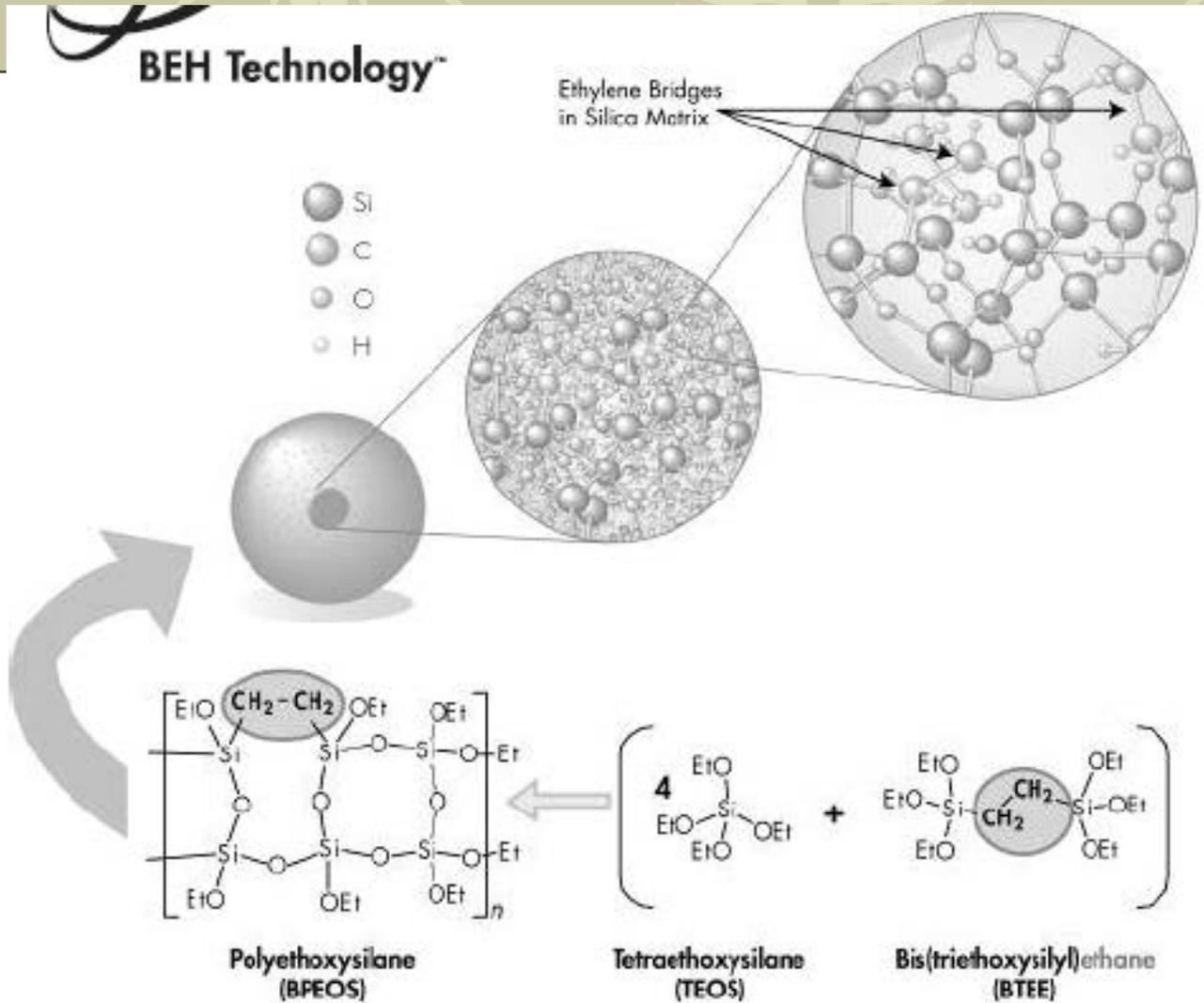
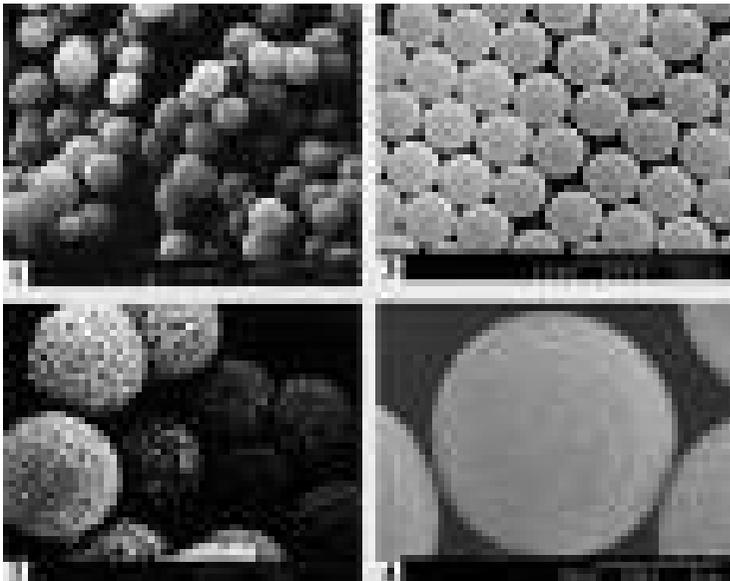
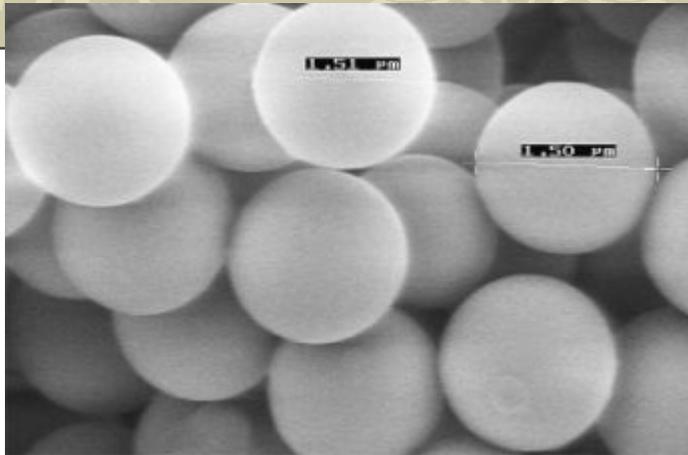
	FE		FM	amostra
Fase reversa	Octadecil (C-18 ou RP-18)	$-(CH_2)_{17}CH_3$		Comp. não polares, vitaminas, pesticidas, esteróides, hidrocarbonetos
	Octil (C-8 ou RP-8)	$-(CH_2)_7CH_3$		
	Etil	$-CH_2CH_3$		
	Cicloexil	$-CH_2CH_2$		
	fenil	$-CH_2CH_2CH_2$		
Fase normal	Ciano (CN)	$-(CH_2)_3CN$		Aminas, álcoois, fenóis
	Amino (NH ₂)	$-(CH_2)_3NH_2$		Drogas, alcalóides
	diol	$-(CH_2)_3OCH_2CH(OH)CH_2$		Proteínas, peptídeos
	sílica	$-SiOH$		Ácidos carboxílicos, aminoácidos, flavonóides

Colloidal Silica Synthesis



See Iler, *The Chemistry of Silica*,
Wiley, 1979, pp. 174, 225.

Colunas, FE

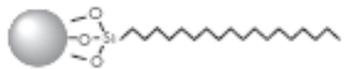
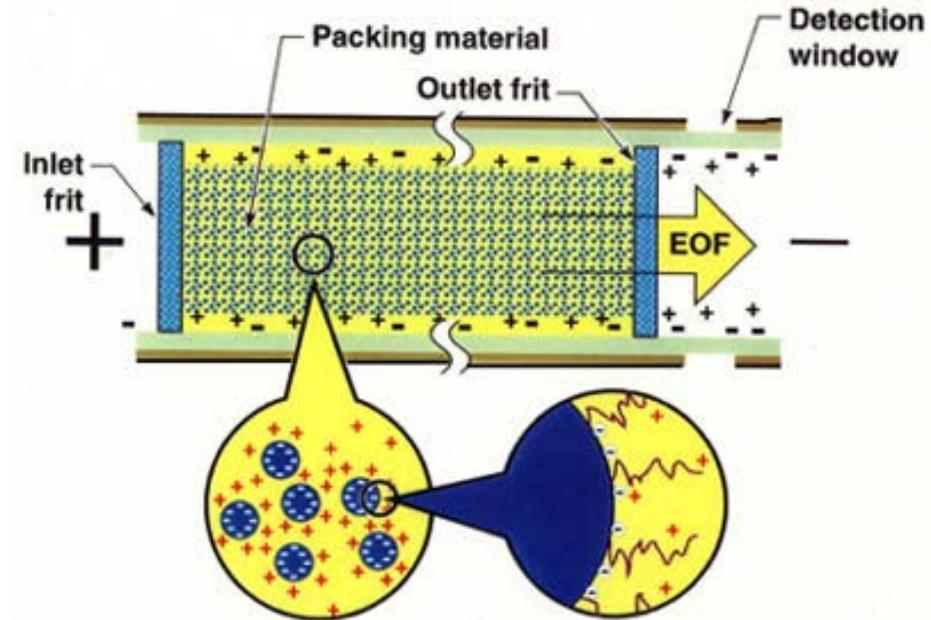


Anal. Chem. 2003, 75, 6781-6788

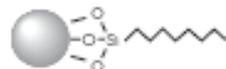
Colunas, FE

Packing of the Column

Packed Bed (Stationary Phase)



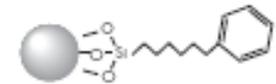
Trifunctional C₁₈



Trifunctional C₈



Monofunctional
Embedded Polar Group



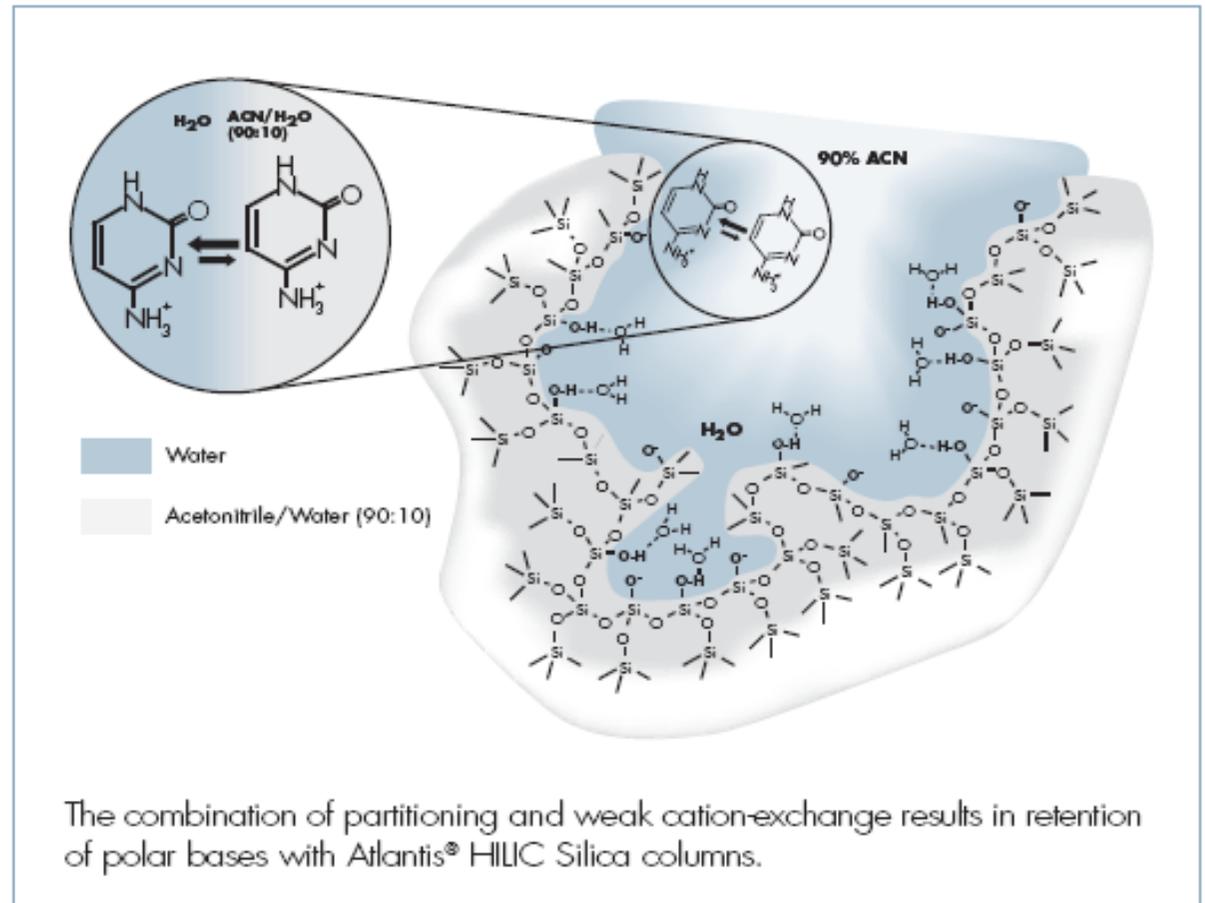
Trifunctional
C₆ Phenyl

Colunas, FE



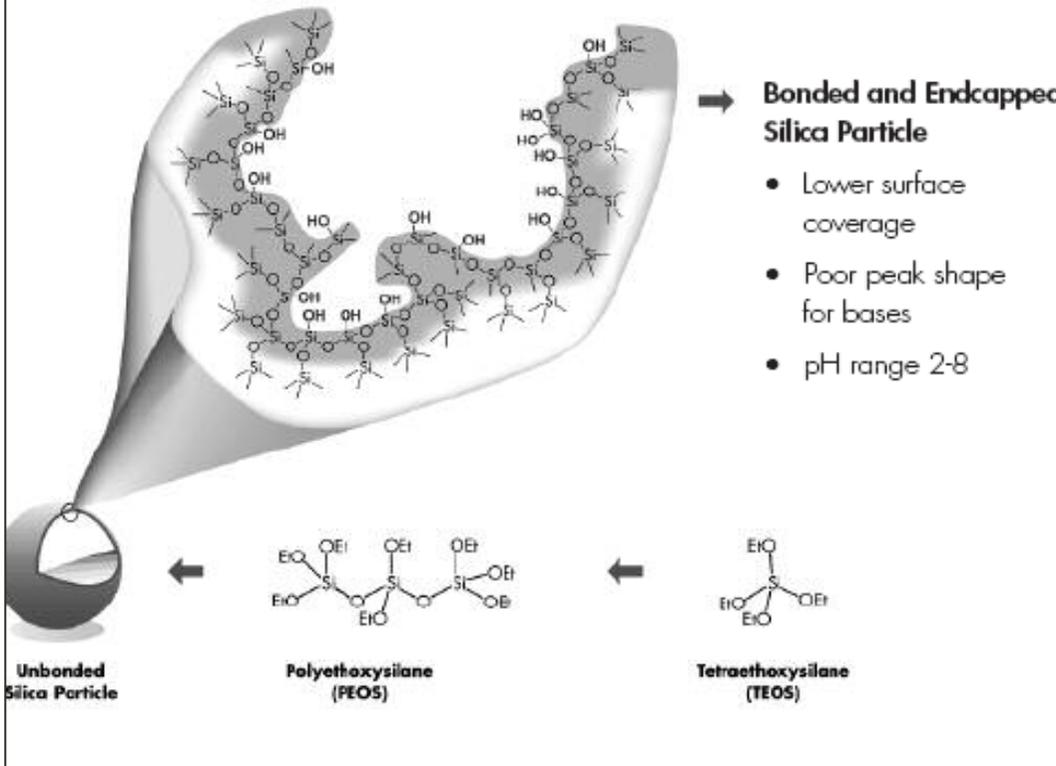
Poros da sílica

Retention Mechanisms in Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC)

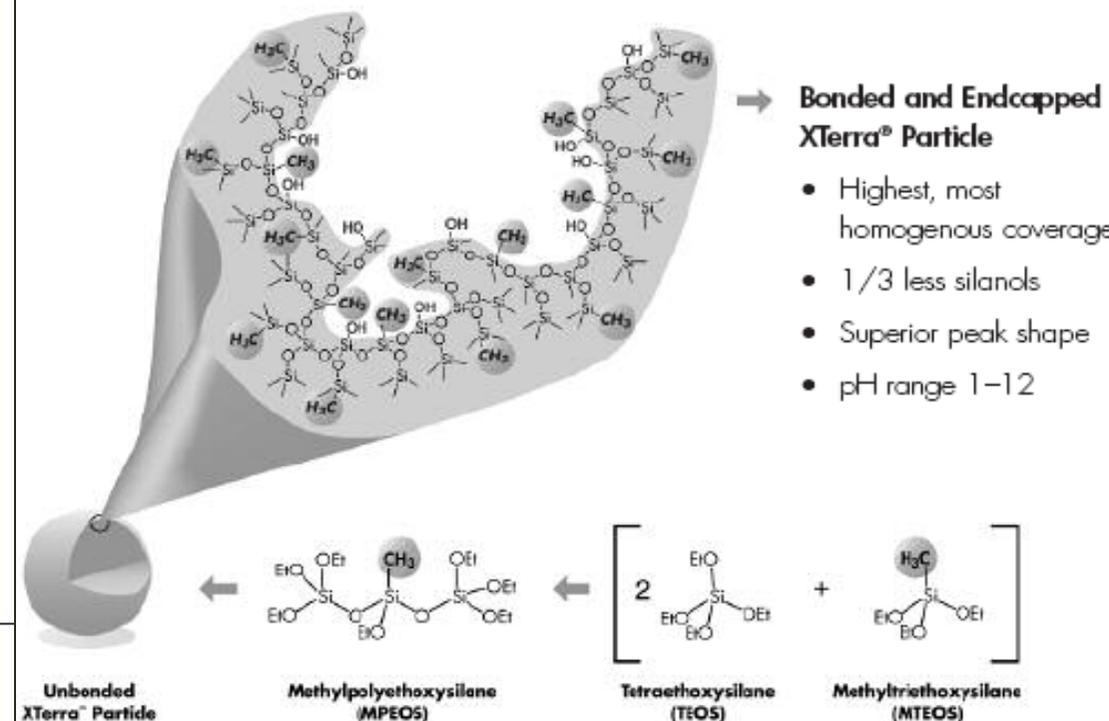


Colunas, FE

Traditional Silica Manufacturing Process



XTerra® Manufacturing Process: Much More Than a Surface Modification



Colunas

Physical Characteristics of HPLC and UPLC™ Packing Materials

Brand	Chemistry	Particle Shape	Particle Size(s)	Pore Size	Surface Area [m ² /g]	Pore Volume [cc/g]	% Carbon Load	Endcapped
ACQUITY UPLC™ BEH	C ₁₈	Spherical	1.7 µm	135Å	185	0.70	17	yes
	C ₈	Spherical	1.7 µm	135Å	185	0.70	13	yes
	Shield RP ₁₈	Spherical	1.7 µm	135Å	185	0.70	17	yes
	Phenyl	Spherical	1.7 µm	135Å	185	0.70	15	yes
	HILIC	Spherical	1.7 µm	135Å	185	0.70	0	n/a
Atlantis®	dC ₁₈	Spherical	3, 5, 10 µm	100Å	330	1.00	12	yes
Atlantis® HILIC Silica	Silica	Spherical	3, 5 µm	100Å	330	1.00	n/a	n/a
µBondapak™	C ₁₈	Irregular	10 µm	125Å	330	1.00	9.8	yes
	Phenyl	Irregular	10 µm	125Å	330	1.00	9.3	yes
	CN	Irregular	10 µm	125Å	330	1.00	6.0	yes
	NH ₂	Irregular	10 µm	125Å	330	1.00	4.0	no
Bondapak®	C ₁₈	Irregular	15-20 µm	125Å	330	1.00	10.0	yes
	C ₈	Irregular	15-20 µm	300Å	100	1.00	6.0	yes
	C ₁₈	Irregular	15-20 µm	300Å	100	1.00	3.5	yes
Delta-Pak™	C ₄	Spherical	5, 15 µm	100Å	300	1.00	7.3	yes
	C ₁₈	Spherical	5, 15 µm	100Å	300	1.00	17.0	yes
	C ₄	Spherical	5, 15 µm	300Å	125	1.00	2.6	yes
	C ₁₈	Spherical	5, 15 µm	300Å	125	1.00	6.8	yes
	Nova-Pak®	C ₁₈	Spherical	4, 6 µm	60Å	120	0.30	7.3
C ₈		Spherical	4 µm	60Å	120	0.30	4.0	yes
Phenyl		Spherical	4 µm	60Å	120	0.30	4.6	yes
CN HP		Spherical	4 µm	60Å	120	0.30	3.0	yes
Silica		Spherical	4, 6 µm	60Å	120	0.30	n/a	n/a
µPorasil™		Silica	Irregular	10 µm	125Å	330	1.00	n/a
	Porasil™	Silica	Irregular	15-20 µm	125Å	330	1.00	n/a
Resolve™	C ₁₈	Spherical	5, 10 µm	90Å	200	0.50	10.2	no
	C ₈	Spherical	5 µm	90Å	200	0.50	5.1	no
	CN	Spherical	10 µm	90Å	200	0.50	3.0	no
	Silica	Spherical	5, 10 µm	90Å	200	0.50	n/a	n/a
SunFire™	C ₁₈	Spherical	2.5, 3.5, 5, 10 µm	100Å	340	0.90	16	yes
	C ₈	Spherical	2.5, 3.5, 5, 10 µm	100Å	340	0.90	11.5	yes
	Silica	Spherical	5, 10 µm	100Å	340	0.90	n/a	n/a

Colunas

Continuação...

	Column	Geometry	d _p , µm	Length	Ø	Flow	Flow	Flow
Symmetry®	C ₁₈	Spherical	3.5, 5 µm	100Å	335	0.90	19.1	yes
	C ₈	Spherical	3.5, 5 µm	100Å	335	0.90	11.7	yes
SymmetryShield™	RP ₈	Spherical	3.5, 5 µm	100Å	335	0.90	15.0	yes
	RP ₁₈	Spherical	5 µm	100Å	335	0.90	17.0	yes
SymmetryPrep™	C ₁₈	Spherical	7 µm	100Å	335	0.90	19.1	yes
	C ₈	Spherical	7 µm	100Å	335	0.90	11.7	yes
Symmetry300™	C ₁₈	Spherical	3.5, 5 µm	300Å	110	0.80	8.5	yes
	C ₈	Spherical	3.5, 5 µm	300Å	110	0.80	2.8	yes
Waters Spherisorb®	Silica	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	n/a	n/a
	ODS ₂	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	11.5	yes
	ODS	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	6.2	no
	ODSB	Spherical	5 µm	80Å	220	0.50	11.5	yes
	C ₈	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	5.8	yes
	C ₈	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	4.7	yes
	C ₁	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	2.2	no
	Nitrile	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	3.1	no
	Amino	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	1.9	no
	Phenyl	Spherical	3, 5, 10 µm	80Å	220	0.50	2.5	no
	OD/CN	Spherical	5 µm	80Å	220	0.50	5.0	yes
	SAX, SCX	Spherical	5, 10 µm	80Å	220	0.50	4.0	no
NEW XBridge™	C ₁₈	Spherical	2.5, 3.5, 5 µm	135Å	185	0.7	17.5	yes
	C ₈	Spherical	2.5, 3.5, 5 µm	135Å	185	0.7	17.5	yes
	Shield RP ₁₈	Spherical	2.5, 3.5, 5 µm	135Å	185	0.7	17.5	yes
	Phenyl	Spherical	2.5, 3.5, 5 µm	135Å	185	0.7	17.5	yes
XTerra®	RP ₁₈	Spherical	3.5, 5, 10 µm	125Å	175	0.70	15.0	yes
	RP ₈	Spherical	3.5, 5, 10 µm	125Å	175	0.70	13.5	yes
	MS C ₁₈	Spherical	2.5, 3.5, 5, 10 µm	125Å	175	0.70	15.5	yes
	MS C ₈	Spherical	2.5, 3.5, 5, 10 µm	125Å	175	0.70	12.0	yes
	Phenyl	Spherical	3.5, 5 µm	125Å	175	0.70	12.0	yes

Colunas

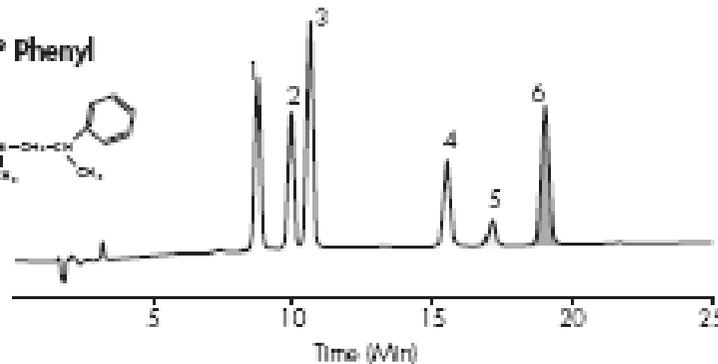
Column: 4.6 x 150 mm, 5 µm
 Mobile Phase A: H₂O
 Mobile Phase B: MeOH
 Mobile Phase C: 50 mM HCOOH, pH 2.45
 Gradient:

Time	Profile		
(min)	%A	%B	%C
0.0	40	50	10
20.0	25	65	10
35.0	25	65	10

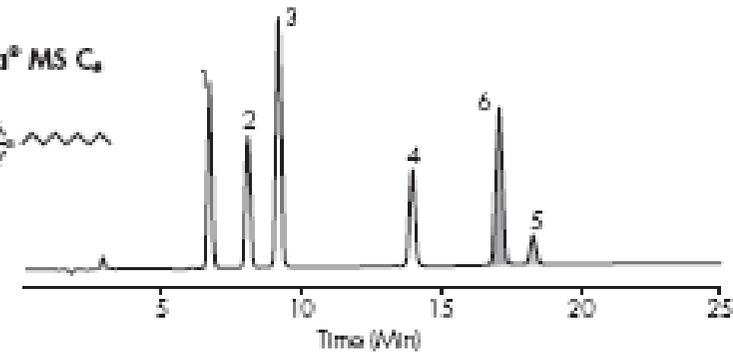
Flow Rate: 1.0 mL/min
 Injection Volume: 15 µL
 Temperature: 30 °C
 Detection: UV @ 254nm
 Instrument: Waters 2695,
 996 PDA

- Peaks:
1. Suprofen
 2. Tolmetin
 3. Naproxen
 4. Fenoprofen
 5. Ibuprofen
 6. Diclofenac

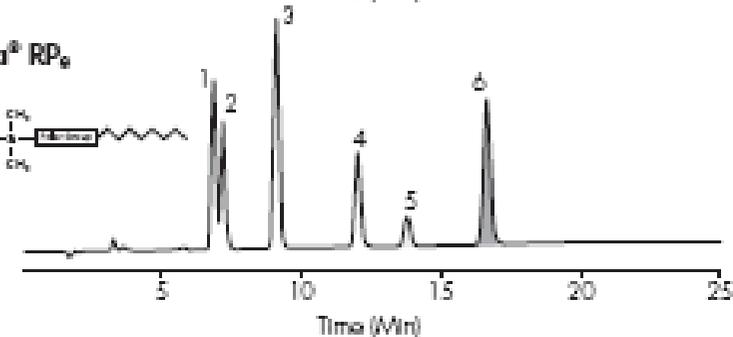
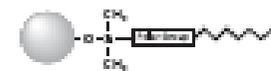
XTerra® Phenyl



XTerra® MS C₈



XTerra® RP₈



The column stationary phase chemistries of XTerra® columns are key components in an overall method development plan.

FE

Coluna a base de sílica => pH de uso na faixa de 2-8;

Sílica híbrida => pH na faixa de 2-12 ou 1-12.

Fluxos altos prejudicam o leito;

Pressão de trabalho alta e choques de pressão causam degradação do leito (além de desgastar os selos da bomba e do injetor).

Não inverter coluna normalmente

Limpeza de colunas

Para sais e PIC=> água 40-50°C

FE reversa usar THF

Armazenagem em solvente apropriado

Colunas FM e FE

FM causa 50% dos problemas de análise;

Reagentes grau HPLC => pureza é imprescindível (incluindo água);

Sais, PIC, ácidos, tampões purificados;

Colunas possuem filtros (aço sinterizado) de 2 μm => retêm partículas em suspensão na FM;

Sujeiras maiores que 1/8 do diâmetro da partícula podem entupir os caminhos do leito de recheio.

Membranas para filtrar FM

Teflon (TFE) é apropriado para tudo, mas precisa ser ativado com metanol ou outro orgânico antes da passagem de água ou acetonitrila;

Polipropileno hidrófilo (GHP) é adequado para água e orgânicos em geral menos TCB e o-DCB;

Membrana de PVDF adequado para orgânicos e água, menos DMF, acetona e acetonitrila.

Volume da amostra

Sobrecarga de amostra na coluna (2 mg/g de fase) resulta em decréscimo de eficiência, decréscimo de retenção e aumento de cauda;

Volume máximo de amostra depende: área superficial do suporte, % de recobrimento, fator de retenção dos picos, resolução, volume da coluna;

Volume máximo de injeção deve ser $< 1\%$ do volume interno da coluna vazia.

Diluyente da amostra

Se a amostra for preparada com solvente mais forte que FM
diminui-se a eficiência e o fator de retenção;

Sempre que possível preparar a amostra em FM ou em solvente
mais fraco;

Exemplo: FM com 30% de metanol, amostra deve ser dissolvida em
no máximo 30% de metanol. 30% de acetonitrila também não é
adequado.

Temperatura

Colunas a base de sílica: 60°C;

Colunas C18 e C8 a base de sílica híbrida: 80°C;

Para um aumento de 10°C, dobra-se a velocidade de hidrólise (degradação) da camada orgânica do recheio;

Coluna GPC: entre 80 e 145°C;

Não deixar a coluna com temperatura elevada sem ter FM passando.

Colunas

		Column efficiency *1 Pressure *1 Cost *1					
		High					Low
Standard Sample load	Particle size Inner diameter (mm I.D.)	Spherical					Irregular
		5 N=90000*2	10 N=40000*2	10-20 N=20000*2	15-30 N=10000*2	50 N=5000*2	230/70 mesh N=2500*2
For investigation tens of mg hundreds of mg g tens of g hundreds of g 300 or more	4.6, 6.0						
	10, 20						
	50						
	100, 150						
	200						
	300 or more						

Most optimum
 optimum
 According to the purpose

*1 Value per unit length
 *2 Standard theoretical plate number per m

Cromatografia de Troca Iônica

A cromatografia de troca iônica, que geralmente é chamada de **cromatografia iônica**, refere-se a métodos modernos e eficientes de separação e determinação de íons com base em resinas trocadoras de íons.

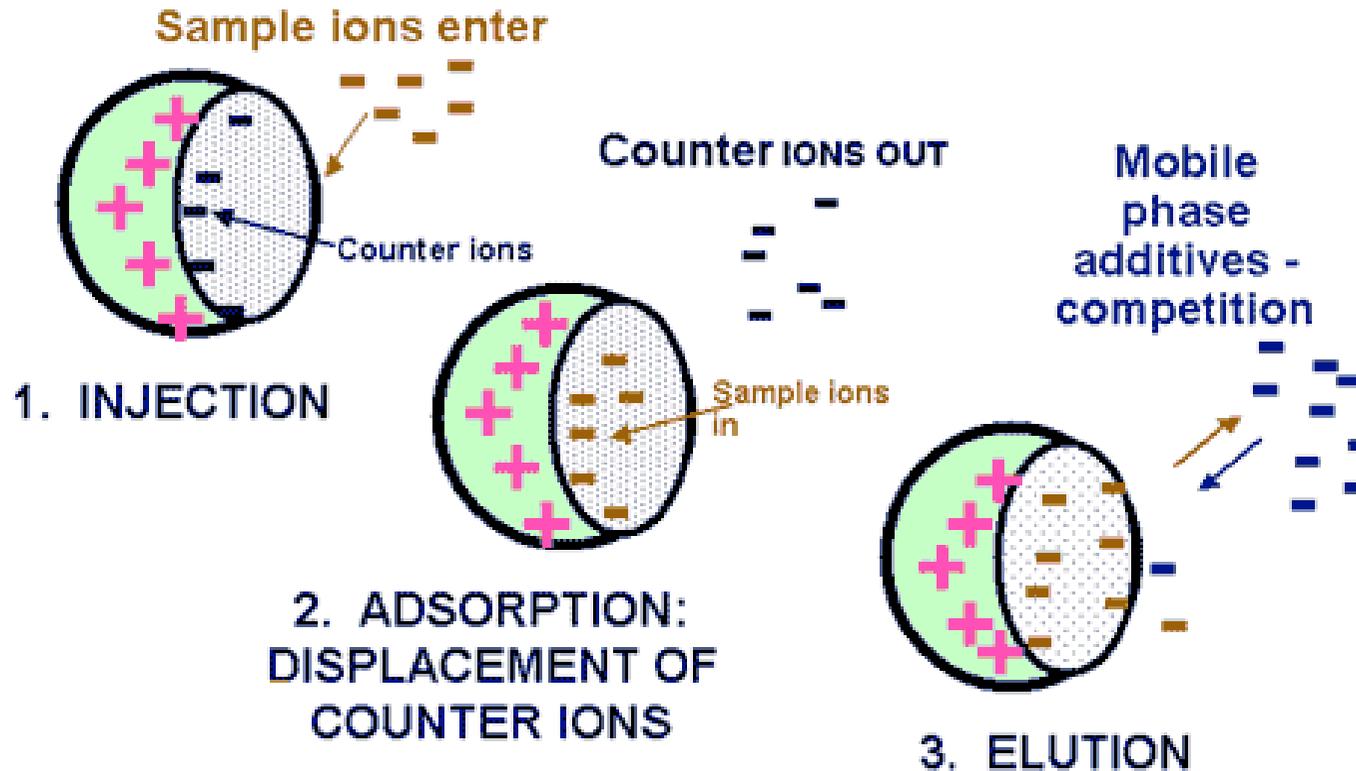
A fase estacionária é altamente carregada, sendo que solutos com cargas de sinais contrários a esta são seletivamente adsorvidos. Os solutos adsorvidos podem ser subsequentemente eluídos, por deslocamento com outros íons com mesmo tipo de carga (FM), porém com maior força de interação com a FE.

A diferença de afinidade entre os íons da fase móvel e a matriz é devido a diferenças de carga, sendo possível controlá-la utilizando força iônica e pH.

Cromatografia de Troca Iônica

ION EXCHANGE

INSIDE A PORE IN THE STATIONARY PHASE



Cromatografia de Troca Iônica

Detector mais usado: eletroquímico => condutividade

Historicamente, a cromatografia de troca iônica foi feita em pequenos leitos porosos formados durante copolimerização de emulsão de estireno e divinilbenzeno. A presença de divinilbenzeno (usualmente = 8%) resulta em ligações cruzadas que conferem estabilidade mecânica aos leitos. Para tornar o polímero ativo com relação aos íons, grupos funcionais ácidos ou básicos são quimicamente ligados à sua estrutura. Os grupos mais comuns são **ácidos sulfônicos** e **aminas quaternárias**.

Os sítios ativos mais comuns para as resinas trocadoras de cátions são o grupo ácido sulfônico – $\text{SO}_3^- \text{H}^+$, um ácido forte, e o grupo ácido carboxílico – $\text{COO}^- \text{H}^+$, um ácido fraco. Trocadores aniônico contêm grupos amina terciárias – $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+ \text{OH}^-$ ou grupos de aminas primárias – $\text{NH}_3^+ \text{OH}^-$. O primeiro é uma base forte e o segundo, uma base fraca.

Cromatografia de Troca Iônica

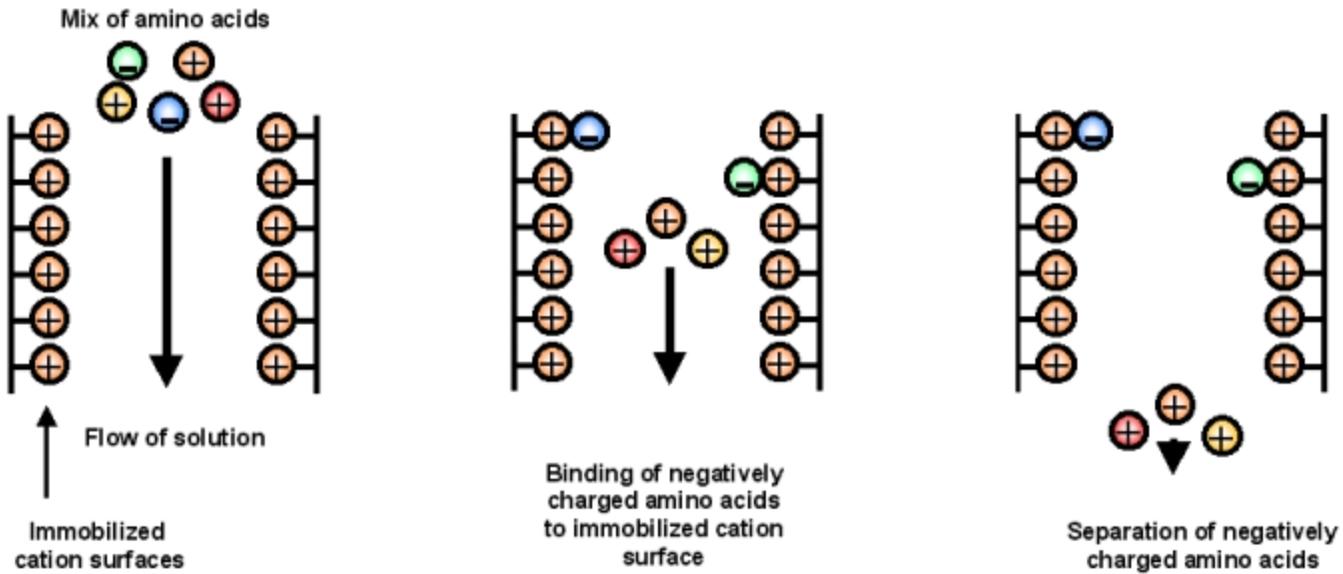
A fase móvel na cromatografia de troca iônica deve ter as mesmas propriedades gerais requerida nos outros tipos de cromatografia. Isto é, deve dissolver a amostra, ter uma força de solvente que leve a tempos de retenção razoáveis e interagir com solutos de modo a levar á seletividade.

Os processos de troca iônica estão baseados em equilíbrios de troca entre íons em solução e íons de mesmo sinal na superfície de um sólido essencialmente insolúvel de alto peso molecular.

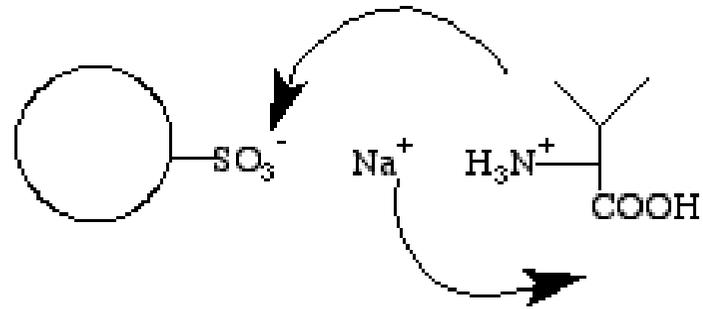
A afinidade entre íons da fase móvel e a matriz podem ser controlados utilizando fatores como pH e a força iônica (concentração de sal). A seletividade depende da carga dos íons, concentração e solvatação.

Cromatografia de Troca Iônica

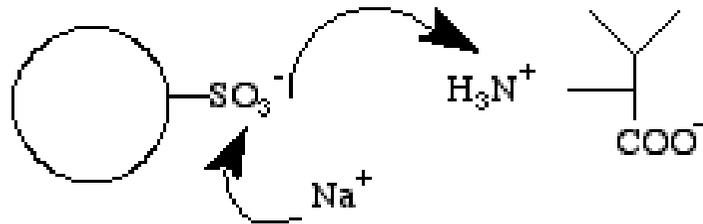
Ion-exchange chromatography (anion exchange)



Cromatografia de Troca Iônica



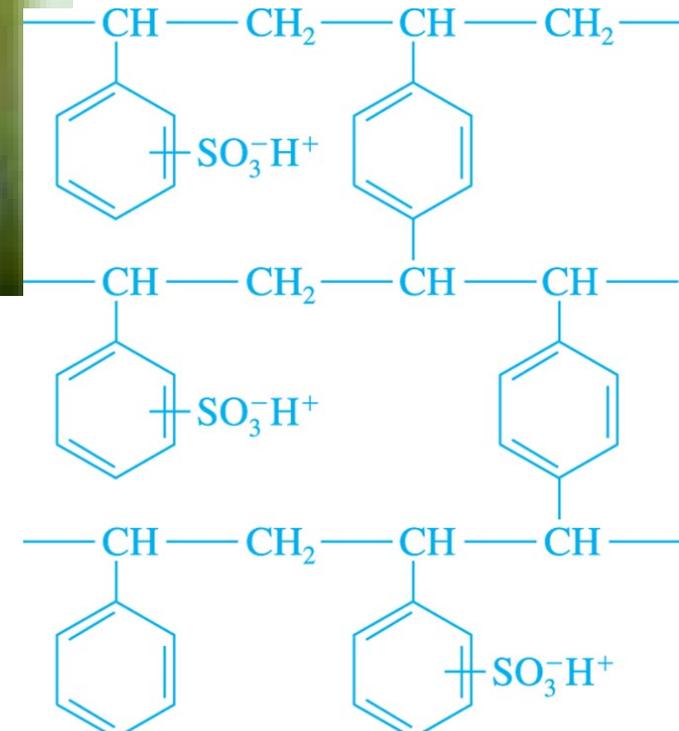
Ion-exchange Resin



pH2



pH4.5



Cromatografia de Troca Iônica

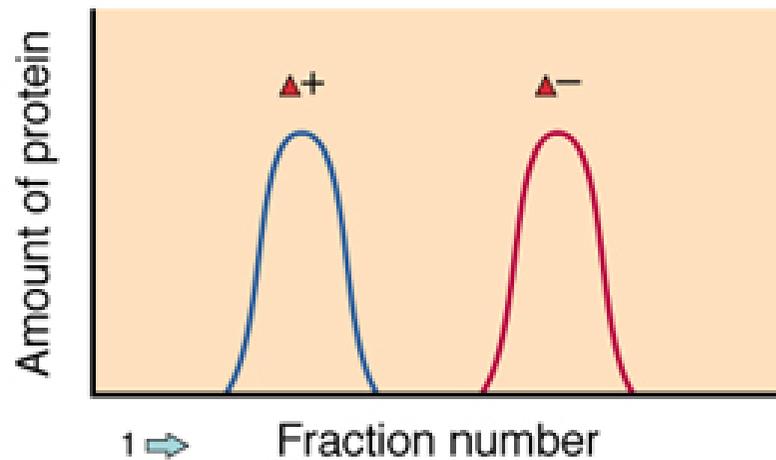
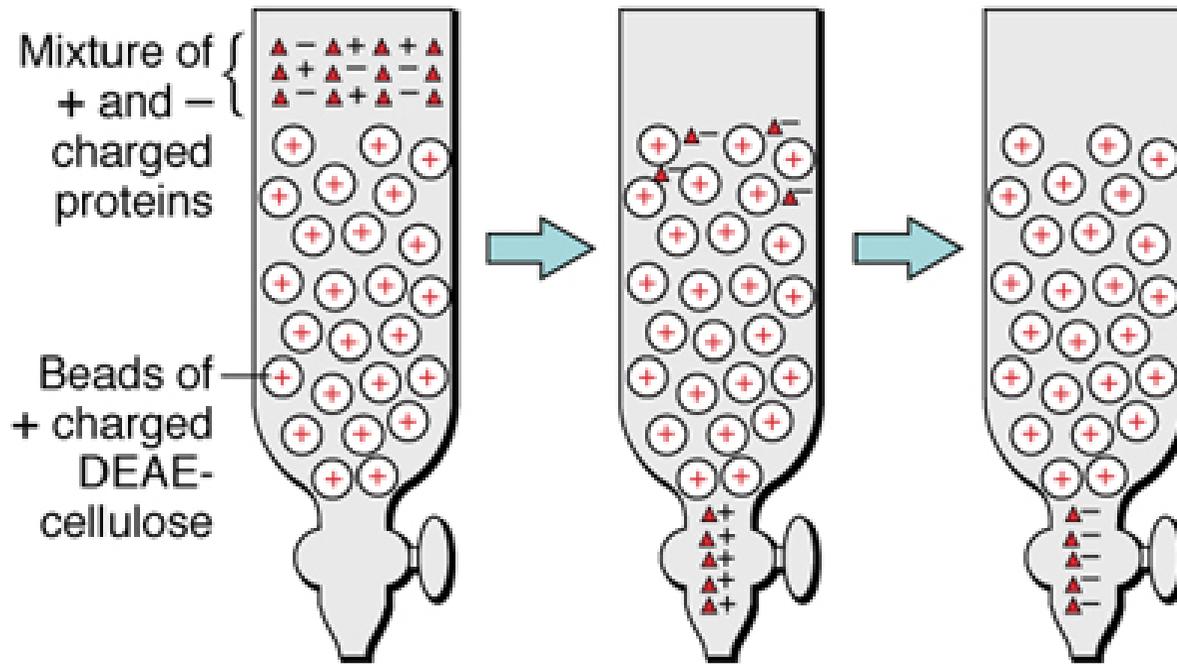
Toyopearl Ion Exchange Resins, typical properties

Toyopearl Resin		Functional Group	Particle Size [µm]	Ion Exchange Capacity [meq/ml]	Adsorption Capacity [mg/ml]	Exclusion Limit [Daltons]	Pressure Drop [bar]
CM-650S		-O-CH ₂ -COOH weak cation exchanger	20-50	0.08-0.12	40-60	1 x 10 ⁶	max. 0.4
CM-650M			40-90	0.08-0.12	40-60	1 x 10 ⁶	max. 0.2
CM-650C			50-150	0.05-0.11	35-55	6 x 10 ⁵	max. 0.15
SP-650S		-O-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -SO ₃ strong cation exchanger	20-50	0.13-0.17	40-60	1 x 10 ⁶	max. 0.5
SP-650M			40-90	0.13-0.17	40-60	1 x 10 ⁶	max. 0.2
SP-650C			50-150	0.12-0.18	35-55	6 x 10 ⁵	max. 0.15
DEAE-650S		-O-CH ₂ -CH ₂ -N-(C ₂ H ₅) ₂ anion exchanger	20-50	0.08-0.12	25-35	1 x 10 ⁶	max. 0.4
DEAE-650M			40-90	0.08-0.12	25-35	1 x 10 ⁶	max. 0.2
DEAE-650C			50-150	0.05-0.11	25-35	6 x 10 ⁵	max. 0.2
QAE-550C		-O-R'-N ⁺ -(R) ₃ strong anion exchanger	50-150	0.28-0.38	60-80	5 x 10 ⁵	max. 0.15
Super Q -650S		-O-R'-N ⁺ -(R) ₃ strong anion exchanger	20-50	0.20-0.30	105-155	-	max. 0.4
Super Q -650M			40-90	0.20-0.30	105-155	-	max. 0.2
Super Q -650C			50-150	0.20-0.30	105-155	-	max. 0.15
SP-550C		-O-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -SO ₃ strong cation exchanger	50-150	0.14-0.18	80-120	5 x 10 ⁵	max. 0.15

S, superfine; M, medium; C, coarse

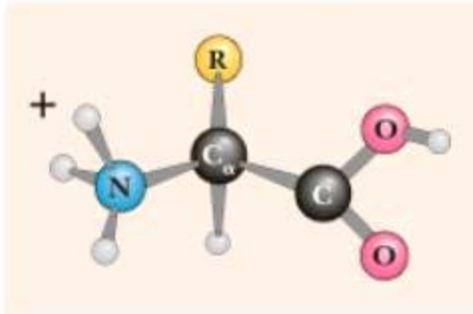
Conditions: Exclusion Limits are +/- 30 % and were determined using polyethylene glycol, polyethylene oxide or dextran standards, as appropriate. Pressure drop has been determined in a 600 x 22 mm column at 1.0 ml/min using 0.1 M NaCl as eluent. Samples used to determine adsorption capacity were: CM-650, hemoglobin; SP-650, lysozyme; DEAE-650, bovine serum albumin.

Cromatografia de Troca Iônica

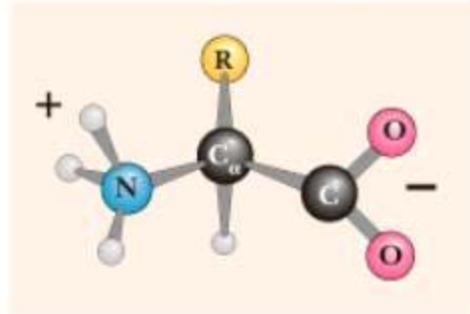


Cromatografia de Troca Iônica

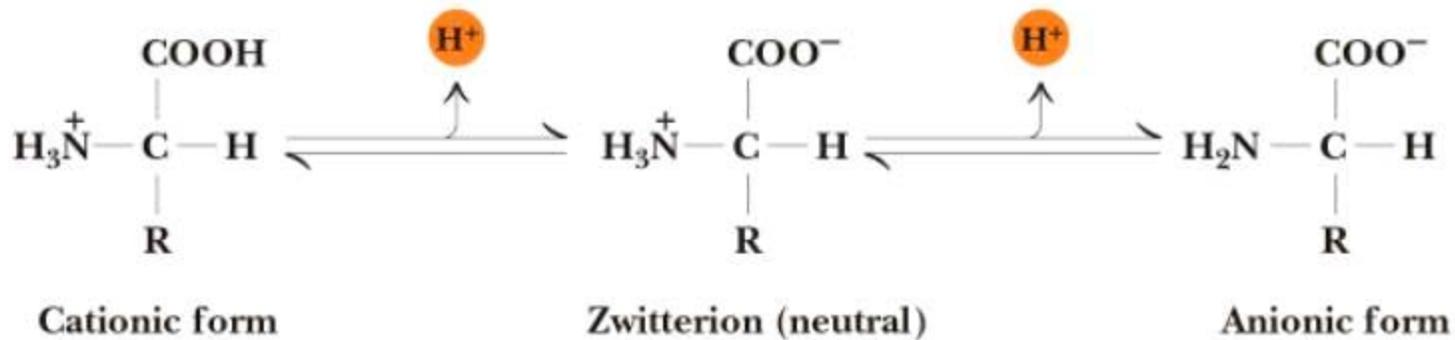
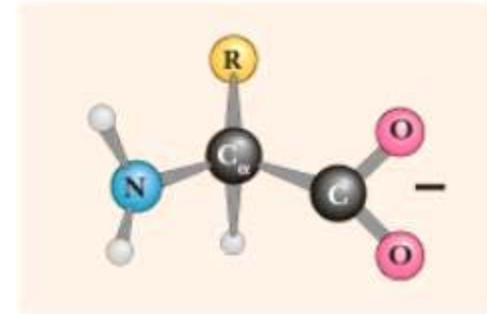
pH 1 Net charge +1



pH 7 Net charge 0



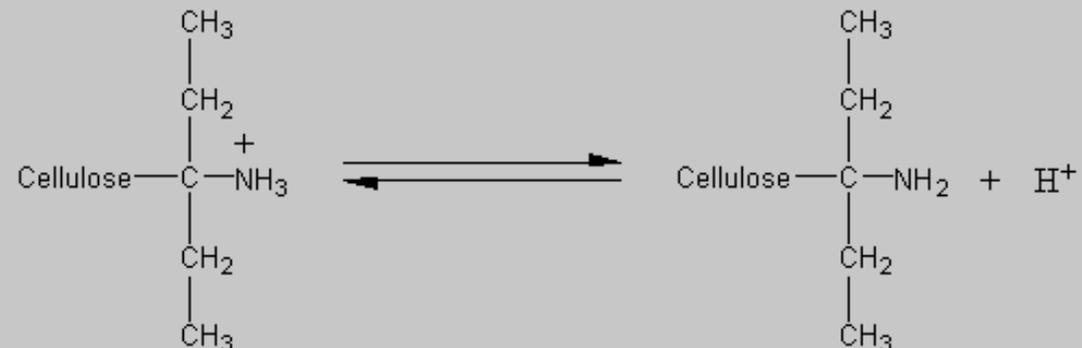
pH 13 Net charge -1



Cromatografia de Troca Iônica

Trocadores aniônicos

Trocadores aniônicos podem ser classificados como fortes ou fracos. O grupo de troca em um **trocador aniônico fraco** é uma **base fraca**, o qual torna-se desprotonado e perde sua carga em pH elevado. DEAE-celulose é um exemplo, no qual o grupo amino pode ser positivamente carregado em pH~9 ou menor e gradualmente perde sua carga em pH maiores. Um trocador aniônico forte, contem uma base forte a qual permanece positivamente carregada na faixa de pH normalmente utilizada (1-14).



Cromatografia de Troca Iônica

Trocadores catiônicos

Trocadores catiônicos podem ser classificados em fracos e fortes. Um trocador catiônico forte contém um ácido fraco (como o grupo sulfônico) que permanece carregado em pH de 1-14. Um trocador catiônico fraco contém um ácido fraco (como grupo carboximetil), o qual perde gradualmente sua carga em pH abaixo de 4 ou 5.

Table 12.5 Examples of Common Ion-Exchange Resins

Type	Functional Group	Examples
Resinas catiônicas	strong acid cation exchanger	sulfonic acid -SO ₃ ⁻ -CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻
	weak acid cation exchanger	carboxylic acid -COO ⁻ -CH ₂ COO ⁻
Resinas aniônicas	strong base anion exchanger	quaternary amine -CH ₂ N(CH ₃) ₃ ⁺ -CH ₂ CH ₂ N(CH ₂ CH ₃) ₃ ⁺
	weak base anion exchanger	amine -NH ₃ ⁺ -CH ₂ CH ₂ NH(CH ₂ CH ₃) ₂ ⁺

Cromatografia de Troca Iônica

Aplicações da Cromatografia de Troca Iônica em Sistema Orgânicos e Bioquímicos

A cromatografia de troca iônica tem sido aplicada a vários sistemas orgânicos e bioquímicos, incluindo drogas e seus metabólitos, soros, conservantes de alimentos, misturas de vitaminas, açucares e preparados farmacêuticos. A figura a seguir mostra um exemplo dessas aplicações, aonde $1 \cdot 10^{-8}$ mol de cada um de 17 aminoácidos foram separados por uma coluna catiônica.

Cromatografia de Troca Iônica

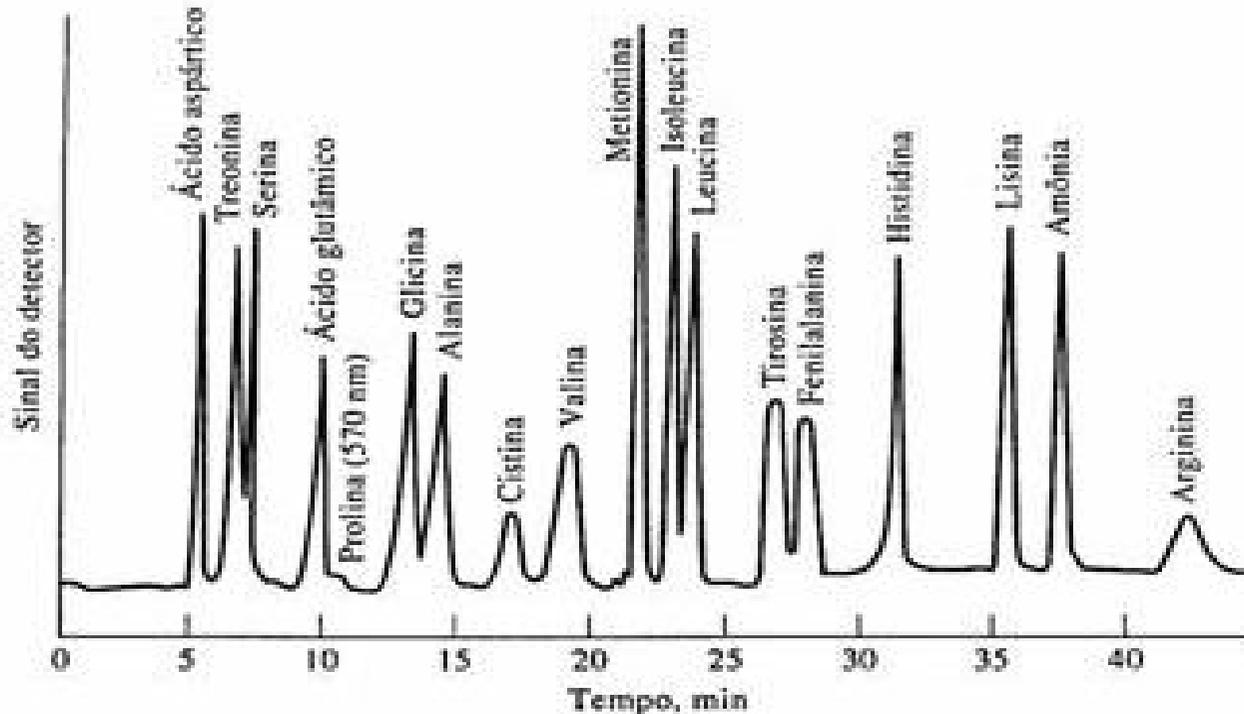


Figura 6 Separação de aminoácidos em coluna de troca iônica. Fase estacionária: trocador catiônico com tamanho de partícula de 8 μm . Pressão: 2.700 psi (reproduzida com permissão de J. R. Benson, Amer. Lab., 1972, 4(10), 60. Copyright 1972 by International Scientific Communications, Inc)

CI – FE, FM

Tabela V-1

Exemplos de alguns tipos de trocadores baseados em polímeros sintéticos

Tipo	Constituição	Fórmula dos trocadores	Marcas registradas de trocadores equivalentes*					
Ácido forte	Grupos de ácido sulfônico ligados a copolímeros de estireno-divinilbenzeno	$\phi - \text{SO}_3 \text{H}^+$	Amberlite CG-120 IR-69 IR-124	Dowex 50W	Lewatit S-100	Ionac C-240 C-250	Zeocarb 225	Duolite C-20 C-225
Ácido fraco	Grupos de ácido carboxílico ligados a copolímeros de ácido metacrílico e divinilbenzeno	$-\text{CH}-\text{COO}^-\text{Na}^+$	Amberlite CG-50 IRP-64 IRC-84	Dowex CCR-1 MWC-1	Lewatit CNO	Ionac CC CCN	Zeocarb 226	Duolite C-443 C-464
Base forte	Grupos de amônio quaternário ligados a copolímeros do estireno-divinilbenzeno	$\phi - \text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$	Amberlite CG-400 IRA-401 IRA-420	Dowex 1	Lewatit M-500 M-5020 M-5080	Ionac A-540 A-440 A-546	Zerolit FF Permutit S-1	Duolite A-104 A-101D A-109
Base fraca	Grupos de polialquiamina ligados a copolímeros de estireno-divinilbenzeno	$\phi - \text{N}^+\text{HR}_2\text{Cl}^-$	Amberlite IR-45	Dowex 3 WGR	Lewatit MIH	Ionac A-375 A-260	Zerolit G	Duolite A-6 A-4F A-340

Fabricantes* -
 Amberlite: Rohm & Haas/TosoHaas, EUA
 Dowex: Dow Chemical Co., EUA
 Lewatit: Farbenfabriken Bayer, RFA
 Ionac: Ionac Chemical Co., EUA
 Zeocarb, Zerolit e Permutit: Permutit Co., Inglaterra
 Duolite: Diamond Alkali Co., EUA

CI – FE, FM

Tabela V-2

Exemplos de alguns tipos de trocadores baseados em polímeros naturais

Tipo	Sigla	Denominação	Estrutura	Matriz	Exemplo	Fabricante
Ácido forte	SP	Sulfopropil	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3^-\text{H}^+$	Dextrano	SP-Sephadex	Pharmacia
Ácido fraco	CM	Carboximetil	$-\text{CH}_2-\text{COO}^-\text{H}^+$	Dextrano	CM-Sephadex	Pharmacia
				Celulose	Cellex-CM	Bio-Rad
Base forte	QAE	Diethyl- (2-hidroxi-propil) aminoetil	$-\text{C}_2\text{H}_4-\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{Cl}^-$	Dextrano	QAE-Sephadex	Pharmacia
				Celulose	Cellex-QAE	Bio-Rad
Base intermediária		Dimetilaminoetil e dimetilamino-hidroxi-etil	$-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ e $-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{C}_2\text{H}_4\text{OHCl}^-$	Epoxipoliamina	Bio-Rex 5	Bio Rad
Base fraca	DEAE	Diethylaminoetil	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{OH}^-$ H'	Dextrano	DEAE-Sephadex	Pharmacia
				Agarose	DEAE-Sepharose	Pharmacia
				Agarose	DEAE-BioGel A	Bio-Rad
				Celulose	DEAE-Sephacel	Pharmacia
				Celulose	Cellex-D	Bio-Rad
	ECTEOLA	Trietanolamina e outras aminas ligado à celulose através de cadeias poliglicósidas	$-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_4\text{OH})_3\text{OH}^-$ e outros	Celulose	Cellex-E	Bio-Rad