



Separação dos Pigmentos por Cromatografia em Camada Delgada utilizando como suporte lata de alumínio

Thakayma da Costa Romano¹, Rayene Monteiro de Souza², Gerlane Martins da Silva³, Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi⁴

Resumo

A cromatografia é um método físico-químico de separação de misturas que pode ser desenvolvida de forma planar ou no interior de colunas. A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) é uma técnica planar prática e eficiente no processo de separação de compostos e capaz de apresentar conceitos visuais de substâncias presentes em um material vegetal. O presente trabalho visou realizar o processo de separação de pigmentos utilizando CCD com materiais alternativos, inovando o uso do suporte da placa cromatográfica ao utilizar materiais recicláveis e do cotidiano. A metodologia utilizada constou da separação dos pigmentos por maceração, extraídos da folha da *Justicia acuminatissima* conhecida popularmente como "sara tudo", utilizando como fase estacionária a goma (amido) que é um produto extraído da mandioca em mistura com o giz; e como fase móvel, a mistura de removedor de gordura e acetona. A separação cromatográfica demonstrou ser uma ferramenta didática simples, econômica e reproduzível, tanto em sala de aula quanto em laboratório. A utilização de materiais de fácil acesso, permitiu a separação dos pigmentos extraídos da folha do "sara tudo" com boa resolução e de fácil visualização. Durante a experimentação foi possível notar que os pigmentos foram visivelmente separados. Assim, a utilização dessa técnica proporciona ao aluno um contato mais direto com os conceitos envolvidos do ensino de química, podendo ser expandidos para aulas de Ciências e de Biologia de uma forma eficiente, estando relacionado com a realidade dos alunos.

Palavras-Chave: CCD, experimentação, ensino de Química.

Pigment separation by thin layer chromatography on aluminum as support. Chromatography is a chemical technique used to separate mixtures. It is can be prepared in flat or inside column. Thin Layer Chromatography (TLC) is planar technique efficient and practice by selecting compounds and ability to display visual concepts of substances present in a plant material. The present work aims to show the pigment separating by TLC with alternative materials. This innovating is chromatographic plate support using recyclable and alternative materials. Maceration was extraction method was using the pigments extracted from the *Justice acuminated* leaf popularly known as "sara tudo", using as starter phase the starch (gum) which is a product extracted from mandioca; and as a mobile phase, a mixture of fat remover and acetone. The chromatographic mixture demonstrates a simple, economical and reproducible teaching tool, both in classroom and laboratory. The use of easily accessible materials allowed the selection of pigments extracted from the "sara tudo" sheet with good resolution and easy answers. During an experiment, it was possible to see visibly separation of the pigments. Thus, the use of this tech-

¹ Graduando em Ciências: Biologia e Química, ISB, UFAM. thakayama.costa@gmail.com

² Graduanda em Ciências: Biologia e Química, ISB, UFAM. rayene@gmail.com

³ Graduanda em Ciências: Biologia e Química, ISB, UFAM. gerlanemartins1996@gmail.com

⁴ Professora Adjunta, ISB, UFAM, correspondência klenicy@gmail.com



nique provides the student with a more direct contact with the concepts involved in chemistry teaching and, and it can be used to science and biology classes in an efficient way, related to the students' reality.

Keywords: TLC, experimentation, teaching chemistry.

1. Introdução

A cromatografia é um método físico-químico de separação de misturas que ocorre pela migração diferencial da amostra em uma fase móvel e outra estacionária, podendo ser gás-sólido, gás-líquido, líquido-líquido e líquido-sólido, respectivamente (COLLINS, 2006). O termo cromatografia foi utilizado pela primeira vez em 1906 e sua utilização é atribuída a um botânico russo ao descrever suas experiências na separação dos componentes de extratos de folhas. Essa técnica pode ser feita em papel (CP), por centrifugação (Chromatotron), em camada delgada (CCD), em coluna (CC), dentre outras metodologias (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) utiliza o meio líquido-sólido na separação dos componentes de uma mistura pela migração diferencial entre a fase móvel e a fase estacionária sobre uma superfície plana e pode ser usada tanto na escala analítica quanto na preparativa, baseando-se no mecanismo de adsorção (COLLINS, 2006; AQUINO NETO e NUNES, 2003).

Essa técnica é amplamente utilizada nas pesquisas científicas como ferramenta para determinação da pureza de produtos utilizados em laboratórios relacionados à Química de Produtos Naturais (Fitoquímica), análises orgânicas e organometálicas, identificação de um princípio ativo, separação de substâncias indesejáveis, purificação e acompanhamento de sínteses pela visualização e detecção das substâncias. Entre as vantagens do uso, cita-se a simplicidade, rapidez e reprodutibilidade das análises (SANTOS *et. al*, 2007; MARTIN, MARTENDAL e HUELSMANN, 2020).

Uma área que vêm apresentando destaque com o uso de CCD é a de ensino de química. Verifica-se que no ensino regular há inúmeros entraves que dificultam a aplicação de práticas experimentais e um dos mecanismos para atenuar esse quadro, vem sendo o uso de materiais alternativos e de baixo custo como matéria prima para os experimentos (OLIVEIRA; ANTUNES; SILVA, 2020).

Entre as possibilidades, cita-se o uso de cromatografia em papel, giz, mistura de areia e mármore, casca de arroz e açúcar comercial como adsorvente e de variados extratos vegetais para ilustração das classes de pigmentos e corantes como clorofilas, carotenos e antocianinas (OLIVEIRA, SIMONELLI e MARQUES, 1998; PALOSCHI e RIVEROS, 1998; FREITAS FILHO *et al.*, 2012). Além de ser eficiente no processo de separação de compostos, é possível abordar conceitos fundamentais de química como: polaridade, solubilidade, separação de misturas, interações intermoleculares, entre outros (ROSA; SCHELEDER, 2016; OLIVEIRA; ANTUNES; SILVA, 2020).

Nas análises em CCD os suportes das placas utilizadas no processo cromatográfico são de vidro ou alumínio recoberto de materiais adsorventes como sílica, alumina, celulose e poliamida. A preparação das placas cromatográficas pode ser executada no próprio laboratório de análise ou de forma industrial, no entanto, este último inviabiliza o uso em escolas públicas devido o material utilizado tornar-se onerante (SANTOS *et. al*, 2007).

O presente trabalho buscou avaliar o processo de separação por CCD utilizando materiais recicláveis e conhecidos do cotidiano discente. Para tanto, reali-

zou-se a separação dos pigmentos extraídos da folha da *Justicia acuminatissima* conhecida popularmente como “sara tudo”, goma de tapioca (amido) que é um produto extraído da mandioca, acrescido de giz como fase estacionária, os solventes acetona e removedor de gordura como fase móvel e o uso de lata de refrigerante como suporte. A finalidade desse trabalho foi demonstrar que é possível executar práticas experimentais utilizando poucos recursos e com materiais de fácil obtenção.

2. Material e Método

Os materiais necessários para execução desta prática experimental estão listados na Tabela 1 e ilustrados na figura 1.

Tabela 1: Materiais e reagentes utilizados.

Materiais	Reagentes
bastão de madeira	Folha de sara tudo (<i>Justicia acuminatissima</i>)
Tampa de garrafa pet	Acetona comercial
Copo transparente	Removedor de gordura comercial
Lata de refrigerante	Amido (goma)
Frasco de porcelana	Giz (sulfato de cálcio, gesso e óxido de ferro)
Tesoura/Estilete	
Prato	
Capilar de tubo de caneta	



Figura 1: relação dos principais materiais. Fonte: Romano, 2019.

Coleta e preparação da amostra

Coletou-se vinte e cinco folhas do material vegetal, sara tudo (*Justicia acuminatissima*), de forma aleatória, e posteriormente realizou-se a higienização das folhas com água destilada. Após a coleta, cortou-se o material vegetal em pequenos pedaços (cerca de 5mm), aos quais foram adicionados 10 mL de acetona e 30 mL de removedor de gordura. Assim, com auxílio de um frasco de porcelana macerou-se a mistura com um bastão de madeira e em sequência, deixou em repouso por 30 min. Após, para separar as folhas da fase líquida, a solução foi filtrada e o extrato obtido foi armazenado em um frasco âmbar.

Preparação da placa cromatográfica

Para a elaboração da placa cromatográfica, com o auxílio de um estilete, cortou-se o centro da lata de refrigerante. Em seguida, foi demarcado um retângulo com medida de 4,0 x 8,0 cm e cortou-se utilizando uma tesoura.

A fase estacionária foi preparada por meio de uma mistura de 3 colheres de giz comercial (sulfato de cálcio, gesso e óxido de ferro) triturado de forma prévia, e 1 colher de goma de tapioca (amido), em uma proporção de 3:1 respectivamente. Após, acrescentou-se 10mL de acetona comercial, homogeneizou-se a suspensão e adicionou-a cuidadosamente à placa cromatográfica de alumínio, deixando-a secar em temperatura ambiente por cerca de 6 horas.

Eluição

Demarcou-se a linha de início e finalização da eluição e após, foram adicionadas com o auxílio de um conta-gotas, duas gotas do extrato obtido pela maceração da amostra, aplicadas em pontos diferentes da placa cromatográfica. Foram feitas duas placas. Acrescentou-se a fase móvel no copo de vidro e o papel filtro para saturação do ambiente, dei-

xando a atmosfera interna do recipiente saturada com vapores da fase móvel para facilitar a eluição (SKOOG *et al.*, 2006). Foram testados o uso de acetona comercial em uma cuba (copo) e na outra, removedor de gordura comercial e acetona (2:8). Iniciou as duas eluições de forma paralela, ao adicionar as placas cromatográficas nos copos.

3. Resultados e Discussão

Os resultados apresentados referem-se a um experimento de cromatografia realizado em uma aula de da disciplina "Introdução aos métodos cromatográficos e espectrométricos" do curso de Ciências: Biologia e Química do Insti-

tuto de Saúde e Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, objetivando aplicar os conceitos adquiridos na presente disciplina, utilizando reagentes e solventes alternativos e de fácil acesso.

Para a separação cromatográfica, utilizou-se a extração dos pigmentos de um material vegetal comumente encontrado na região Amazônica, o sara tudo (*Justicia acuminatissima*), solventes comerciais e de fácil acesso, uma mistura de acetona e removedor de gordura, e lata de refrigerante. Pode-se observar a separação dos componentes do extrato da folha conforme visualizado na figura 2.

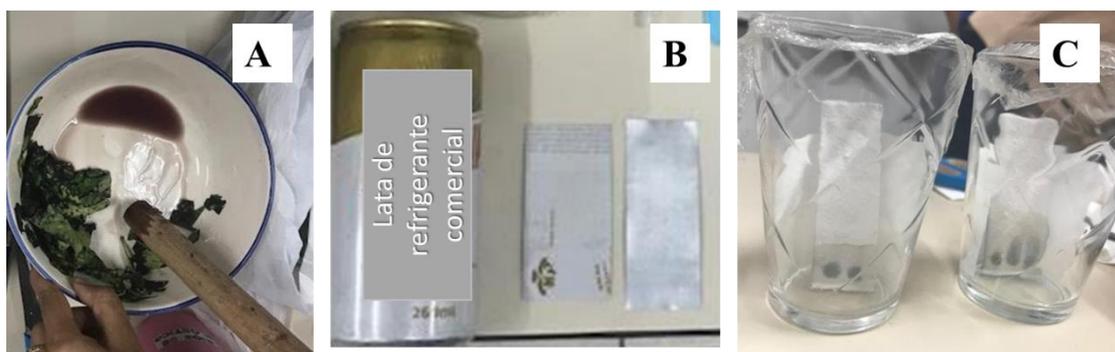


Figura 2: Preparação das placas cromatográficas. A) Extração; B) preparação dos suportes; C) eluição. Fonte: Os autores, 2020.

Na placa cromatográfica pode-se observar que as manchas utilizando a fase móvel em mistura (polar e apolar) tiveram uma melhor separação que utilizando a fase móvel polar (acetona) (Figura 2). Isso pode ser reflexo da seletividade da fase móvel em interagir de forma intermolecular com as substâncias.

Apesar de nem todas as manchas terem sido separadas, as cores estavam intensas e visíveis, sendo perceptível a presença da coloração amarela na área da linha de chegada da fase móvel, uma mancha de coloração verde escura na área central da placa e outra verde-azulada abaixo da mancha central, característicos das manchas de xantofilas e clorofilas descritos em materiais ve-

getais. Sabe-se que embora a palavra cromatografia enfatize o processo de separação de misturas pela coloração, esta é uma definição em desuso e substâncias incolores ou que apresentam pouca intensidade estão presentes, mesmo que não possam ser visualizadas (AQUINO NETO e NUNES, 2003). De acordo com Skoog *et al.* (2006), as substâncias coloridas podem ser visualizadas diretamente sobre a fase estacionária enquanto as incolores precisam de reagentes apropriados para serem detectadas.

Segundo dados na literatura, as manchas de coloração amarela nas placas cromatográficas de folhas são características da presença do pigmen-

to denominado xantofila, comum em amostras vegetais. De acordo com Bonafé *et al.* (2010), é uma das classes dos carotenoides que apresentam grupos carbonilas, carboxilas ou hidroxilas e que são solúveis em solventes polares, como é o caso da acetona.

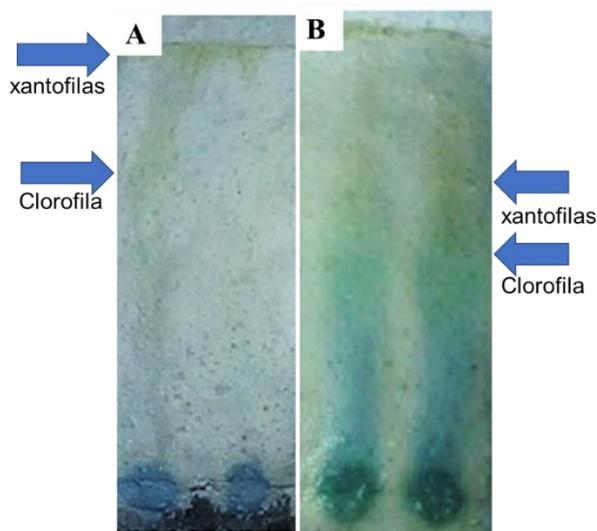


Figura 3: Cromatografia em camada delgada de extratos de sara-tudo. (A) Placa cromatográfica com acetona como fase móvel. (B) Placa cromatográfica utilizando a mistura de acetona e removedor de gordura como fase móvel.

A estrutura dos grupos funcionais dessa classe explica a afinidade que a molécula possui com a fase móvel e auxilia no entendimento sobre o por que a mancha de cor amarela eluiu mais rápido que as demais, tendo em vista que a interação deste constituinte polar na amostra foi maior do que os demais constituintes do extrato (manchas de pigmentos verde escuro e verde-azulado). Os dados detectados neste trabalho estão em conformidade com o descrito por Magalhães (1985), que identifica a clorofila pela coloração verde-azulada (clorofila alfa) e pela cor verde (clorofila beta).

De acordo com Silva e colaboradores (2013), a molécula de clorofila tem uma região polar que é representada

pelo anel de porfirina e que possui o átomo de magnésio que tem carga positiva, e outra região apolar constituída pelo fitol. Ressalta-se ainda que devido a isso, as clorofilas são menos polares que as xantofilas, por isso interagem melhor com a fase estacionária e eluem em uma velocidade mais lenta em ambas as placas.

O tempo de eluição ao utilizar a acetona (19 minutos) foi mais rápida que a mistura de acetona e removedor de gordura (30 minutos). Isso pode ser explicado pela afinidade entre as fases estacionária e fase móvel e a migração diferencial entre elas e é um dos parâmetros para mensurar a eficiência do método.

Quanto a visualização dos pigmentos (cores mais intensas), o sistema da eluição 2 (figura 3b) apresentou melhor resolução. verifica-se que o removedor de gordura contém componentes surfactantes como o alquil benzeno sulfato de sódio, o que pode contribuir para a seletividade do processo e a melhor separação cromatográfica. Observa-se que a resolução das manchas na placa cromatográfica acontece pelo conjunto de fatores, incluindo a especificidade dos componentes relacionados a separação diferencial da fase móvel com a fase estacionária, a solubilidade e interação intermolecular.

Para este trabalho, optou-se por elaborar um procedimento que pudesse ser realizado de forma simples em sala de aula ou em laboratórios e que não dispusessem de muitos recursos materiais e equipamentos mais sofisticados. No entanto, os autores não limitam a continuação deste procedimento em escolas ou universidade com a análise de técnicas espectrométricas, espectroscópicas ou com uso de reveladores químicos e/ou físicos. Além disso, estimula-se a continuação do desenvolvimento da prática e otimização utilizando outras matrizes vegetais, análise de diferentes



percentuais da fase estacionária e fase móvel e detecção do fator de retenção.

O uso de cromatografia com materiais alternativos é um procedimento que vem demonstrando de forma didática como ensinar os conceitos de separações químicas em diversas amostras, como o espinafre, pimentões, flores e princípios ativos em medicamentos. A técnica pode ser aplicada tanto de forma planar, como é o caso da cromatografia em papel utilizando filtros de café, quanto em coluna, ao usar seringas como suporte e os mais variados adsorventes, como os citados na introdução deste trabalho (OLIVEIRA, SIMONELLI e MARQUES, 1998; PALOSCHI e RIVEROS, 1998; FREITAS FILHO *et al.*, 2012; OLIVEIRA; ANTUNES; SILVA, 2020).

Isso permite aos estudantes entrarem em contato com vários conceitos envolvidos, como a extração de compostos de plantas, solubilidade, polaridade, coeficiente de partição, adsorção e fator de retenção (R_f), podendo ser utilizados tanto no ensino regular, quanto no universitário (OLIVEIRA, SIMONELLI e MARQUES, 1998; FREITAS FILHO *et al.*, 2012).

No experimento realizado, o diferencial foi o uso de placas de alumínio obtidos a partir de latas de refrigerante. O uso desse suporte aumenta a possibilidade da aplicação em amostras que necessitem de fonte de calor externo, podendo ser utilizada em maiores temperaturas sem danificar a estrutura da fase estacionária.

Segundo Santos e Schnetzler (1996), a aproximação do conhecimento pessoal com o científico é uma das funções da ciência química e possibilita que os alunos consigam veicular o conteúdo estudado com a aplicação em sua vivência social. Baseando-se na teoria de David Ausubel, a presença de metodologias experimentais contextualizadas dão margem para que ocorra a aprendizagem significativa e o desenvolvimen-

to cognitivo do aluno (MOREIRA; MASINI, 2001).

Além disso, ressalta-se que a atividade foi realizada para futuros professores e que isso poderá possibilitar o desenvolvimento dessa técnica no ambiente escolar. No trabalho realizado por Martin, Martendal e Huelsmann (2020), o uso de cromatografia em fase gasosa para detectar e quantificar ésteres de ftalato (EF) de amostras cotidianas de embalagens de alimentos proporcionou o desenvolvimento da vivência dos licenciandos em Química relacionadas ao ponto de vista científico e social, instrumentalizando os futuros docentes para a sua prática profissional.

Espera-se que trabalhos como esse possam ocorrer fazendo com que exista interação do conhecimento científico e social dos estudantes, colaborando com um contato mais direto da aplicação das teorias envolvidas no ensino de química em uma aprendizagem baseada na realidade vivenciada.

4. Conclusão

A utilização de materiais alternativos e de fácil acesso permitiu a separação dos pigmentos extraídos da folha do sara tudo com boa resolução e de fácil visualização. A elaboração do suporte utilizando alumínio reciclável de latas de refrigerante, fase estacionária utilizando goma e giz, e fase móvel com a mistura de removedor de gordura com a acetona, proporcionou a separação de pigmentos do extrato de forma eficiente. Pôde-se demonstrar o processo cromatográfico em camada delgada de forma simples, didática e reproduzível, sendo essa metodologia perfeitamente aplicável em escolas de ensino regular e sendo um incentivo de para realização de práticas experimentais no ensino de Ciências.



Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

- AQUINO NETO, F.R.; NUNES, D.S.S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. Editora Interciência, Rio de Janeiro, 2003.
- BONAFÉ, C. et al. Produção de tintas com a utilização de pigmentos vegetais: favorecendo a abordagem interdisciplinar no ensino de Química. 33º EDEQ. **Anais**. 2010. Disponível em: <https://publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/edeq/article/view/2774>. Acesso em 20/8/2020
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Introdução a Métodos Cromatográficos**, Editora Unicamp, Campinas, 2006.
- DEGANI, A. L. G; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Revista Química nova na Escola**, n. 07, p.21-25, 1998. Disponível em: <http://qnesc.sbg.org.br/online/qnesc07/atual.pdf> Acesso em 10/8/2020.
- FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. J. R.; SILVA, L. P.; FREITAS, J. C. R. Investigando cinza da casca do arroz como fase estacionária em cromatografia: uma proposta de aula experimental nos cursos de graduação. **Química Nova**, vol.35, n.2, p.416-419, 2012.
- MAGALHÃES, A. C. N. Fotossíntese. In: FERRI, M.G. (Ed). **Fisiologia Vegetal** 1. 2.ed. v.1, São Paulo, EPU, p.117-166, 1985.
- MARTIN, M. G. M. B.; MARTENDAL, E.; HUELSMANN, R. D. Uma proposta didática contextualizada para o curso de licenciatura em química: o caso do ensino de química analítica. **Revista Aproximação**, vol. 2, n. 3, p.21-26, 2020.
- MOREIRA, M. A.; MASINI, E. F. S. **Aprendizagem Significativa: A teoria de David Ausubel**. Editora Centauro, São Paulo, 2001.
- OLIVEIRA, A. R. M.; SIMONELLI, F. e MARQUES, F. A. Cromatografando com giz e espinafre: um experimento de fácil reprodução nas escolas de Ensino Médio. **Química Nova na Escola**, n. 7, p. 37-38, 1998.
- OLIVEIRA, J. G. DE; ANTUNES, N. T. B.; SILVA, F. V. DA. Cromatografia em papel como atividade prática interdisciplinar para o 1º ano do Ensino Médio. **Diversitas Journal**, vol. 5, n. 2, p. 1186-1199, 9 abr. 2020.
- PALOSCHI, R.; ZENI, M. e RIVEROS, R. Cromatografia em giz no ensino de Química: didática e economia. **Química Nova na Escola**, n. 7, p. 35-36, 1998.
- ROSA; E. A.; SCHELEDER, M. Z. Pinhão, Quirera e Tapioca: das prateleiras para as bancadas dos laboratórios de Química. **Química Nova na Escola**, vol. 38, n. 4, p. 383-386, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160051>
- SANTOS, M. H.; MÉGDA, J.; CRUZ, P. B. M.; MARTINS, F. T. Um espalhador de baixo custo de fase estacionária em placas para cromatografia em camada delgada. **Química Nova**, Vol. 30, n.7, p. 1747-1749, 2007. DOI <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000700042>
- SANTOS, W. L. P.; SCHNETZLER, R. P. Função Social: o que significa ensino de química para formar cidadão? **Química Nova na Escola**, n.4, nov. 1996.
- SILVA, A. R. *et al.* Extração de pigmentos fotossintéticos em folhas das espécies de café (*Coffea arabica*), acálifa (*Acalypha hispida*) e urucum (*Bixa orellana*) por meio de cromatografia em papel. Simpósio de pesquisa dos Cafés do Brasil. Anais...2013. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br:80/handle/123456789/3494> Acesso em: 20/8/2020.
- SKOOG, D. A, WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.