



Cromatografia: uso de materiais alternativos para o ensino de separações químicas

Chromatography: use of alternative materials for teaching chemical separation

Leandra Protázio da Rocha¹, leandraprotazio67@gmail.com
Aldimara Faba Martins¹, aldimaramartinsbioqui@gmail.com
Deiciane Silva de Lima¹, deicylima268@gmail.com
Gerlane Martins da Silva¹, gerlanemartins1996@gmail.com
Rayene Monteiro de Souza¹, rayennemonteiro15@gmail.com
Thakayama da Costa Romano¹, thakayama.costa@gmail.com
Jose Renato da Rocha Fernandes¹, renatocoarii2@gmail.com
José Dobles Dias dos Reis Junior¹, dobles.jr@hotmail.com.br
Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi¹, klenicy@gmail.com

Resumo:

A cromatografia é um método físico-químico de separação de uma mistura através da migração diferencial da amostra entre fase móvel e fase estacionária. Abrange uma série de técnicas de separação de componentes Físicos e Químicos que podem ser reproduzidas na sala de aula com intuito de deixar as aulas de Química mais dinâmicas e facilitar o ensino e aprendizado. O presente artigo teve como objetivo compreender o processo de separação de misturas utilizando diferentes fases estacionárias, casca de ovo (CaCO₃), giz (CaSO₄) e sílica em gel (SiO₂), empregando a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para separação de clorofila extraída de material vegetal. Como fase móvel utilizou-se o hexano e o acetado de etila como mistura para observar a corrida cromatográfica. No processo de separação da mistura a cromatografia utilizando a sílica apresentou uma melhor separação, seguida da fase estacionária com casca de ovo e com giz. A cromatografia por adsorção utilizando material alternativo mostrou-se uma técnica eficiente e de baixo custo para ser utilizada em sala de aula, favorecendo debates sobre diversos conteúdos químicos envolvidos no processo.

Palavras-chave: Cromatografia planar. Adsorção. Ensino de Química.

Abstract:

Chromatography is a physicochemical method of separating components of a mixture using differential migration between samples, stationary and mobile phases. It involves a series of techniques for separation Chemical and Physical compounds and can be reproduced in the classroom in order to make chemistry classes more dynamic, thereby facilitating both the teaching and learning process. The aim of this article is to understand the separation process of mixtures using different stationary phases: eggshell (CaCO₃), chalk (CaSO₄) and silica gel (SiO₂) in Thin Layer Chromatography (TLC), for chlorophyll extracted from vegetal sample. Hexane and ethyl acetate were used as the mixture in the mobile phase to observe the chromatographic run. Silica presented the best separation phase of chlorophyll pigments, followed by eggshell and then chalk. The process of chromatography by adsorption using alternative material is shown efficient and cheap method to be used in the classroom to promote discussions regarding the various chemical issues involved in the process.

Keywords: Planar Chromatography. Adsorption. Chemistry Teaching.

¹ Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Saúde e Biotecnologia (ISB/UFAM) – Amazonas/Brasil.

Citação ABNT: ROCHA, L.P.; MARTINS, A.F.; LIMA, D.S.; SILVA, G.M.; SOUZA, R.M.; ROMANO, T.C.; FERNANDES, J.R.R.; REIS, J.D.D.; YAMAGUCHI, K.KL. Cromatografia: Uso de materiais alternativos para o ensino de separações Químicas. *Rev. Ens. Sa. Biotec. Amaz.*, v. 2, n.2, p. 10-20, 2020.

1 INTRODUÇÃO

A cromatografia é uma técnica analítica com aplicações diversas. É um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada por meio da distribuição dos componentes em duas fases, que estão em contato. Uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra se move. Os componentes da mistura são distribuídos pelas duas fases de tal forma que cada um deles é seletivamente retido pela fase estacionária, o que resulta em migração diferencial desses componentes (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2009).

As técnicas cromatográficas constituem um conjunto de procedimentos que vão desde simples técnicas de bancada até sofisticadas metodologias instrumentais (NETO; NUNES, 2003). Existem diferentes modalidades de cromatografia que podem ser classificadas de acordo com o mecanismo de separação envolvido e os diversos tipos de fases utilizadas. Dentre eles, tem-se a cromatografia planar, representada pela cromatografia em camada delgada, em papel e centrífuga (OKUMURA; SOARES; CAVALHEIRO, 2002).

A cromatografia em camada delgada é um método em que a fase estacionária é colocada em um suporte para análise de amostras em pequenas quantidades e pode ser utilizada para a separação e identificação de substâncias (OLIVEIRA; SILVA, 2017). A cromatografia em camada delgada (CCD) tem se tornado um importante método de determinação da pureza de produtos e técnica indispensável em muitos estudos bioquímicos e biológicos (SANTOS *et al.*, 2007; COLLINS, 2006). Encontra também uso geral em laboratórios clínicos e industriais. São uma das técnicas de separação mais utilizadas em laboratórios relacionados à Química de Produtos Naturais (Fitoquímica), análise orgânica e organometálica (SANTOS *et al.*, 2007).

Ainda segundo Júnior e colaboradores (2007), a cromatografia em camada delgada apresenta uma variedade de materiais de revestimento, entre os adsorventes mais utilizados estão sílica, alumina, celulose e poliamida e a sílica gel, mais frequente nesse tipo de cromatografia. A preparação das placas cromatográficas pode ser executada no próprio laboratório de análise, pelo método do espalhamento, ou adquiridas comercialmente. Nesse tipo de cromatografia, é importante que as placas sejam preparadas uniformemente para que haja uma perfeita visualização dos compostos a serem revelados. A visualização pode ser efetuada inclusive através de métodos físicos, o que permite a revelação de alguns compostos sem alterar a sua estrutura química. É o caso da exposição das placas à luz ultravioleta ou a vapores de iodo.

O ensino dos princípios dessa técnica pode ser feito usando diversas amostras, tais como: pigmentos de tecidos vegetais, extratos de frutas, pigmentos naturais, tecidos vegetais clorofilados. As clorofilas e carotenoides contidos nas folhas são pigmentos envolvidos na fotossíntese e ficam armazenados nos cloroplastos que são as organelas onde ocorre o processo fotossintético. Com o processo de maceração de tecidos vegetais com solventes orgânicos polares, como acetona, etanol, metanol e acetato de etila, ocorre o rompimento das ligações entre estas moléculas e assim elas são liberadas destas estruturas celulares (ROCHA; ROYO, 2015).

As clorofilas podem ser classificadas em: a, b, c e d, no entanto, apesar de receberem diferentes denominações, todas possuem estrutura química semelhante: quatro anéis pirrólicos e um anel isocíclico e no interior há um átomo de magnésio (TAIZ *et al.*, 2016). Após o processo de extração os pigmentos contidos nesta amostra, podem ser separados por meio de cromatografia e a visualização deles após a separação não exige reveladores químicos e nem físicos, pois esses elementos

apresentam coloração: a clorofila tem tonalidade verde e os carotenos tem coloração amarela (TAIZ *et al.*, 2016; LANFER-MARQUEZ, 2003).

Além das clorofilas, há também os carotenoides, que têm este nome porque estão presentes em grande quantidade em cenouras (*Daucus carota*). Já foram descritos cerca de 600 tipos de carotenoides, entre eles um que se destaca é o β -caroteno, que é um dos precursores da vitamina A ou retinol (SILVEIRA *et al.*, 2014). Apesar de também participar da fotossíntese é designado como um "pigmento acessório", junto com a clorofila b e as ficobilinas (TAIZ *et al.*, 2016).

Os carotenoides são constituídos por cadeias de polienos isoprenoides, com oito unidades de cinco isoprenos unidos em um esqueleto central de 22 átomos de carbono e duas caudas com 9 carbonos, resultando em uma molécula simétrica (SILVEIRA *et al.*, 2014).

A maioria dos compostos orgânicos são incolores. Com base nisso, um processo de revelação deve ser realizado para que se possa identificar as manchas correspondentes aos compostos presentes nas amostras. São utilizadas técnicas para revelações como o raio UV que se baseiam na utilização de substâncias fluorescentes misturadas à sílica quando da preparação das placas, possibilitando a revelação dos compostos em câmaras de luz ultravioleta (BRONDANI, 2018). Nos vegetais, compostos fenólicos, como o ácido cafeico e seus derivados, flavonoides, cumarinas, clorofilas, β -caroteno, dentre outras classes, apresentam fotoluminescência características quando expostos a radiação UV-visível. Este fenômeno se dá pela capacidade de eles absorverem *quanta* de energia isoladamente, o que causa excitação de um determinado elétron de um dos átomos da molécula. Os elétrons que estão em orbitais no estado estável do átomo recebem a energia e podem se deslocar para orbitais mais distantes do

núcleo, a uma distância que é proporcional à energia de um fóton que o absorveu.

A placa contendo estas substâncias absorverá luz na região do ultravioleta (254 nm) e emitirá luz em outra região. Esta emissão tem uma coloração característica, esverdeada e brilhante. Quando se aplica à CCD para análise de amostras contendo substâncias conjugadas e sistemas aromáticos, estes compostos impedirão a emissão de luz, aparecendo como pontos ou faixas escuras na superfície da placa (BRONDANI, 2018; SCHIOZER; BARATA, 2013).

Após retirar a placa da influência da luz UV, a CCD ficará branca novamente e os pontos escuros desaparecerão. Portanto, deve-se circular os pontos escuros com o auxílio de um lápis para que se possa analisar a CCD posteriormente. Se a mesma placa for, novamente, exposta a luz UV os pontos poderão ser observados outra vez (BRONDANI, 2018).

As técnicas de cromatografia são de grande importância para a identificação de substâncias. Alguns materiais utilizados para a realização dessa técnica são de difícil acesso por apresentarem um custo muito elevado, o que leva muitos professores a não desenvolverem essa parte prática dentro do ambiente escolar. Segundo Oliveira e Silva (2017), o desenvolvimento de atividades com materiais alternativos são meios de superar as dificuldades materiais e infraestruturas presentes na maioria das escolas, além de apresentar possibilidades de realização de aulas práticas fora dos laboratórios de ensino de ciências. Com base nisso, o objetivo desse trabalho é demonstrar como ocorre o processo de separação de misturas empregando a técnica de cromatografia em camada delgada utilizando materiais alternativos e de fácil acesso.

2 MATERIAL E MÉTODO

Para a realização da separação de pigmentos presentes nas folhas, por meio

Figura 1 – Procedimento de extração da clorofila. A – Materiais e reagentes utilizados. B – Extração por maceração



Fonte: Próprios autores (2020).

da cromatografia em camada delgada para a detecção de compostos químicos, foram utilizados os materiais e reagentes ilustrados na Figura 1 e descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Materiais e reagentes.

Materiais	Reagentes
Béquer	Giz (gesso) triturado
Provetta de 10ml	Amido
Cadinho e pistilo de porcelana	Pó de casca de ovo de galinha (PCOG)
Suporte de vidro	Hexano
Bastão de vidro	Acetato de etila
Espátula	Água destilada
Papel filme	Sílica
Vidro de relógio	-
Placa de petri	-
Capilar	-

Fonte: Próprios autores (2020).

2.1 Procedimento experimental

Obtenção da placa cromatográfica com PCOG

As cascas de ovos foram previamente lavadas, secas por 72h e trituradas no liquidificador, formando apenas um pó. O método utilizado foi uma adaptação do trabalho de Souza, Almeida e Chagas (2013), em que, para que a granulometria ficasse semelhante à sílica em gel, que é aproximadamente 0,25 nanômetros, peneirou-se em uma peneira caseira.

Em um vidro de relógio pesou-se 6,0 g do pó da casca do ovo de galinha (PCOG) e 2,0 g de amido, e misturou-se em uma proporção 3:1. Em seguida adicionou-se a mistura, 3,0 mL de água, uniformizou-se e aplicou-se em um suporte de vidro com dimensão de 8,0 x 5,0 x 0,3 cm. Desta forma a placa cromatográfica com casca de ovo ficou em repouso para secar em temperatura ambiente por cerca de 24 horas.

Obtenção da placa cromatográfica – Giz (gesso) e amido

Pesou-se 6,0 g de giz previamente triturado e 2,0 g de amido e misturou-se em proporção de 3:1. Em seguida, adicionou-se 9,0 mL de água e uniformizou-se utilizando um bastão de vidro. Aplicou-se em uma placa de vidro de dimensão 8,0 x 5,0 x 0,3 cm. Após, a placa com giz ficou em repouso para secar à temperatura ambiente por cerca de 24 horas.

Coleta e extração

Foram coletados aleatoriamente 06 (seis) amostras de folhas de duas espécies: *Anacardium occidentale* (cajuzeiro) e *Mangifera sp.* (mangueira) na área do Instituto de Saúde e Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, no município de Coari, Amazonas. Em sequência, coletou-se cerca de 30,0 g das folhas das 06 (seis) amostras e deixou secar por cerca de 72 h.

Inicialmente, para realização da extração, minimizou-se a superfície de contato utilizando um pistilo e um cadinho. Após, pesou-se 3,0 g do material (folha), e transferiu para um frasco. Em seguida adicionou-se ao frasco 20,0 mL de solvente (hexano), misturou-se bem e deixou-se extraído por maceração em um frasco ambar por cerca de 48 horas (Figura 1B).

Posteriormente, filtrou-se a solução e deixou-se evaporar o solvente em capela de exaustão por um período de 48 horas.

Eluição

Para realização da eluição, foram utilizadas três placas cromatográficas, duas foram previamente preparadas, que são uma contendo casca de ovo, outra com giz, e a terceira placa cromatográfica foi a de sílica produzida industrialmente. As placas foram ativadas por 20 minutos em estufa.

Enquanto isso, em uma cuba cromatográfica adicionou-se 10,0 mL de solvente (hexano: acetato de etila 9:1), acrescentou-se a fase móvel em um béquer e adicionou-se o papel filtro para saturar o ambiente.

Após a ativação das placas, demarcou-se com um lápis a linha de marcação, apresentando o início e o final da corrida cromatográfica. Acrescentaram-se as amostras nas placas com um capilar e realizou-se a eluição.

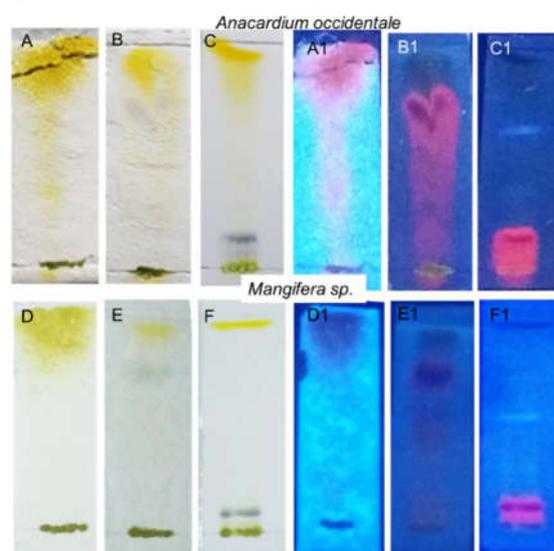
Visualização em UV

Posteriormente a corrida cromatográfica, as placas foram visualizadas na câmara de luz ultravioleta, com comprimento de onda de 245 nm. As energias do UV-visível (180nm – 800nm) são suficientes para realizar transições de elétrons externos. Quando excitados emitem energia na forma de fótons gerando cores específicas. As radiações ultravioletas estão divididas em: Ultravioleta A (UV-A), ou longas, entre os comprimentos de onda de 315 a 400nm; Ultravioleta B (UV-B), ou medianas, de 280 a 315 nm e ultravioleta C (UV-C), ou ondas curtas, entre 200 a 280 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse experimento foram utilizadas três placas cromatográficas (Figura 2). A placa produzida manualmente apresentava em sua composição materiais diferentes: placa A - composta por giz, amido e água, B - casca do ovo de galinha, amido e água e C - sílica, placa fabricada industrialmente. O cromatograma das amostras utilizadas pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2 – Placas cromatográficas após a eluição.



Legenda: Acima: amostra de *A. occidentale* com fase estacionária em A) casca de ovo; B) giz e C) sílica e abaixo: *Mangifera sp.* com fase estacionária em D) casca de ovo; E) giz e F) sílica. Figuras A1, B1, C1, D1, E1 e F1 correspondem as mesmas amostras citadas, no entanto, visualizadas em UV 245nm. **Fonte:** Próprios autores (2020).

Uma das placas fabricadas manualmente (A) apresentou uma pequena deformidade quando retirada do béquer após o término da corrida cromatográfica, porém essa ruptura não interferiu na corrida cromatográfica. No caso da Sílica, a placa cromatográfica era pré-fabricada, sendo esta, um dos adsorventes mais utilizados e que estão disponíveis no mercado. Apesar de ter custo mais alto, dispensam a fase de preparação e apresenta mais uniformidade em sua fase, o que melhora a separação.

Todas as placas utilizadas apresentavam como fase móvel o solvente com caráter apolar (hexano: acetado de etila, 9:1). Observou-se que a eluição da fase móvel ocorreu mais lentamente na placa em que continha o adsorvente B em

relação a placa que continha adsorvente A, e esta, por sua vez, mais demorada que a placa que continha a sílica como fase estacionária, o adsorvente C. O mesmo foi verificado em relação as placas E, D e F, respectivamente.

O tempo de separação com a técnica utilizando o giz foi maior quando comparados com o tempo de eluição com as placas cromatográficas preparadas manualmente que tinha em sua composição o pó da casca de ovo mais o amido. Na placa que continha o giz, o tempo de eluição também foi elevado, isso também pode ser explicado devido ao giz apresentar poros mais seletivos. Os tempos de eluição de cada adsorvente pode ser visualizado na tabela 2.

Tabela 2 – Características das eluições das placas cromatográficas utilizando diferentes adsorventes.

Amostra	Análise	Adsorvente 1 (Casca de ovo)	Adsorvente 2 (Giz)	Adsorvente 3 (Sílica)
Folha de cajueiro	Características gerais	Uma macha amarelada na linha de chegada da corrida cromatográfica.	Uma macha amarelada na linha de chegada da corrida cromatográfica.	Uma macha amarelada na linha de chegada da corrida cromatográfica e uma mancha verde escura um pouco acima da linha de partida da corrida cromatográfica.
	Tempo de eluição	13:52 min	17:35 min	08:27 min
Folha de mangueira	Características gerais	Houve uma boa separação, as cores separadas foram fáceis de identificar na placa, nos tons de: amarela, verde, verde claro e cinza	Não ocorreu uma boa separação, não houve uma boa eluição. Apresentaram coloração amarela, verde e cinza.	O processo de eluição ocorre em um curto tempo, separou bem e foi possível visualizar três cores (amarelo claro, amarelo escuro e verde).
	Tempo de eluição	10:13 min	16:20 min	09:20 min

Fonte: Próprios autores (2020).

Quando o solvente passa pela mistura na placa, os componentes químicos são arrastados, de modo que a substância que possui maior afinidade com o solvente é deslocada com uma velocidade maior. Collins, Braga e Bonato, (2009), diz que a polaridade do solvente deverá ser de acordo com a substância que se deseja separar. Como somente a base da placa fica submersa, o solvente começa a interagir com a fase estacionária e sobe por capilaridade. Substâncias com maior peso molecular (e a mesma polaridade) eluem mais lentamente que os análogos menores, por apresentarem menos interações Van der Waals. Substâncias mais polares necessitam de solventes polares para serem eluídas, substâncias apolares eluem também com solventes menos polares.

Como a corrida cromatográfica depende dentre outros fatores, da afinidade das substâncias componentes de uma mistura com a fase móvel, pode-se observar que o deslocamento pode ocorrer mais rápido se houver a afinidade com a fase móvel, ou mais lento se a afinidade for com a fase estacionária. Sendo assim, os diferentes tempos de eluição demonstram o maior ou menor grau de afinidade dos componentes da mistura com a fase móvel (Tabela 2).

Dessa maneira, notou-se que a mancha característica do β -caroteno, coloração amarelada, nas duas espécies, apresentou maior afinidade com a fase móvel, sendo esta, a mancha com maior rapidez na eluição, tendo como consequência, um maior fator de retenção. Os carotenos são fracamente adsorvidos, enquanto que a adsorção das xantofilas é mais forte, dependendo do grupo funcional que possuem, do arranjo das duplas ligações e do fato de serem cíclicas ou acíclicas. Os carotenoides são inicialmente divididos em dois grandes grupos, os carotenos, formados apenas de C e H, e as xantofilas que são derivados oxigenados, que podem apresentar hidroxilas, carbonilas, ácidos carboxílicos ou óxidos nas suas estruturas (SCHIOZER; BARATA,

2013).

Utilizando as cascas de ovo de galinha (carbonato de cálcio) como fase estacionária, o β -caroteno interagiu com a fase móvel (polar) e a clorofila (a e b) ficaram mais retidas na fase estacionária (apolar) devido a diferença de polaridade. Na fase estacionária com giz (sulfato de cálcio) o β -caroteno também interagiu com a fase móvel por afinidade, pois ambos apresentam características mais apolares.

A casca de ovos é constituída basicamente de minerais como o carbonato de cálcio e magnésio. O carbonato de cálcio utilizado como fase estacionária tem característica polar, assim a fase móvel que tiver mais afinidade com a fase estacionária ficará retido e aquele que não apresentar afinidade será arrastado pela fase móvel (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2009).

Já as clorofilas (a e b) eluíram parcialmente, tendo uma maior interação com a fase estacionária. A clorofila b interagiu com a fase móvel eluindo parcialmente e ficando apenas abaixo do β -caroteno, enquanto a clorofila 'a' ficou retida na fase estacionária. Vale ressaltar que apenas na utilização do adsorvente contendo a sílica (Figura 2C e F) foi visível a presença da mancha verde característica da clorofila. A clorofila foi levemente arrastada pela fase móvel devido à presença do acetado de etila que é um solvente com polaridade intermediária, bem como a clorofila. Verifica-se que a clorofila b apresenta grupo funcional (RCHO) mais estável que clorofila a (R=CH₃) e isto se deve ao efeito de atração dos elétrons exercidos pelo seu grupo aldeído. As ligações entre as moléculas de clorofila são fracas (não covalentes), rompendo-se com facilidade ao macerar o tecido em solventes orgânicos. Os solventes orgânicos mais polares, como acetato de etila, são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas (SCHIOZER; BARATA, 2013).

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e estão presentes em grandes quantidades nos cloroplastos das folhas e

em outros tecidos vegetais. As diferenças de cor do vegetal são devidas à presença e distribuição variável de outros pigmentos associados, como exemplos, os carotenoides (TAIZ *et al.*, 2016). As ligações entre as moléculas de clorofilas são muito frágeis, rompendo-se com facilidade ao macerar o tecido com solventes orgânicos. O caráter hidrofílico/hidrofóbico de uma substância influi diretamente na escolha do melhor solvente para a sua extração. Os solventes polares como a acetona, o metanol, o etanol, o acetato de etila são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas. Os solventes apolares como o hexano e o éter de petróleo são os menos eficazes. No caso das clorofilas a e b, o aumento da polaridade da clorofila b em relação à clorofila a deve-se ao substituinte aldeído (TAIZ *et al.*, 2016). Assim, a clorofila b foi a que melhor separou-se no processo de eluição sendo totalmente arrastada na corrida cromatográfica.

Segundo Streit (2005), as plantas apresentam dois principais tipos de clorofila sendo uma a clorofila 'a' e a outra a clorofila 'b', sendo que, em solução, a clorofila 'a' tem coloração azul-esverdeada e a clorofila 'b' tem a cor amarelo-esverdeada. As clorofilas 'a' e 'b' absorvem a luz dentro do espectro visível sendo que essa absorção ocorre do violeta ao azul (entre os 400 e 500 nm) e do vermelho (por volta de 700 nm) como é mostrado na Figura C e isso possibilita que as cores refletidas por elas sejam esverdeadas.

Revelação dos cromatogramas em UV

Quando os compostos a serem separados são coloridos, a separação pode ser acompanhada visualmente, porém alguns compostos são incolores a olho nu. Neste caso, usou-se para torná-los visíveis a luz UV, que emite luz fluorescente em proporção de aproximadamente 1% em relação à quantidade total presente na fase móvel (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2009). As placas absorveram a luz

aparecendo pontos que não foram visíveis antes, apresentou coloração fluorescente e brilhante avermelhada, cinza e branco em todas as placas. Isso ocorre porque o aparelho emite coloração dependendo da frequência das ondas. Após ter retirado as placas da influência da luz UV, a CCD voltou a sua coloração esverdeada e amarelada conforme os pigmentos da clorofila e carotenoide.

A absorção da radiação UV (245 nm) pelas placas cromatográficas, A1, B1, C1, D1, E1 e F1 (Figura 2) da amostra de *Anacardium occidentale*, bem como as placas da amostra de *Mangifera sp* permitiu a visualização fluorescente da cor verde, característica das clorofilas, tanto 'a' quanto 'b'. Sua molécula permite este fenômeno através da estrutura do anel de porfirina, contendo regiões com concentrações de ligações pi, que absorvem as energias através da radiação UV e, ao serem excitadas, liberam energia radiante com comprimentos de ondas na faixa de 425 a 450 nm propiciando a cor característica, possível de ser analisada a olho nu, pois os comprimentos de onda fazem parte do espectro visível.

A análise das placas cromatográficas tanto para *Anacardium occidentale*, bem como as placas da amostra de *Mangifera sp* permitiu ainda a visualização de compostos carotenoides na cor laranja. Este fato se deve aos carotenoides possuírem presença da longa cadeia com duplas ligações conjugadas, que ao absorverem luz na região UV (425 nm), seus estados de excitação fornecem liberação de energias radiantes (fluorescente), ao qual suas transições eletrônicas em apenas sete ligações pi são necessárias para que haja percepção de cor pelo olho humano, característico pelos comprimentos de onda em 650 a 675 nm.

As cores expostas são aquelas que apresentam certos comprimentos de onda na luz visível com essa incidência de raio UV e isso possibilitou que alguns componentes da amostra pudessem ser visualizados. Observou-se que não foi apenas a clorofila

que foi perceptível ao olho nu, mas também outros componentes contidos na amostra.

Quando reveladas em Ultravioleta-Visível (UV), foi possível verificar manchas que não eram visíveis a olho nu. Isso demonstra a existência de outras substâncias presentes na mistura que foi separada, porém, que não estavam no espectro do visível. De acordo com Cavalheiro (2019), esse espectro visível tem limites que podem variar de pessoa para pessoa, tendo uma faixa definida entre 350 nm a 700 nm dos comprimentos de ondas para a luz visível. Sendo assim, as diferentes cores são resultantes das diferentes frequências e os comprimentos de onda de cada onda eletromagnética constituem as cores (FOGAÇA, 2019).

Segundo Pacheco (2019), o espectro na região do Ultravioleta-Visível é muito importante para a análise das substâncias separadas durante a corrida cromatográfica, pois dá informações a respeito da estrutura química das substâncias, como no caso deste experimento, o carotenoide β -caroteno.

Pacheco (2019) diz que moléculas orgânicas como essa podem absorver as luz na região do Ultra Violeta e do Visível o que faz com que essas moléculas fiquem excitadas energeticamente, ocorrendo transições em seus orbitais π (ligantes) e π^* (antiligantes) ocorrendo assim a deslocalização dos elétrons por meio das conjugações do cromóforo. Esse estado excitado tem menor energia e, dessa forma, a absorção da luz visível é satisfatória para proporcionar as transições. Assim, quanto menor o número de duplas ligações conjugadas, menor a quantidade energia necessária para a excitação e logo o valor do comprimento de onda máximo de absorção é maior.

Comparação entre as fases estacionárias

De acordo com Collins, Braga e Bonato (2009), a função da cromatografia é identificar a separação de compostos e substâncias pela diferença de afinidade dos

componentes de uma mistura pela fase estacionária, utilizada para reações orgânicas.

A resolução do adsorvente 3 (sílica) apresentou-se melhor do que a dos adsorventes 1 e 2. Isso se deu pelo alto grau de precisão da placa produzida industrialmente. Em relação a cromatografia em camada delgada com casca de ovo, houve melhor separação dos componentes de extratos em comparação com a placa de amido e giz e o tempo da corrida cromatográfica foi satisfatório, demonstrando a resolução e a eficiência das placas produzidas.

Os resultados obtidos são corroborados por Nunes e Ribeiro (2008) em que pôde-se ter uma boa separação de pigmentos de clorofila em CCD comparadas ao de cromatografia por adsorção e pelo trabalho de Oliveira, Simonelli e Marques (1998), que ao utilizar o giz triturado como fase estacionária em uma coluna cromatográfica, pode-se efetuar a separação dos carotenos e das clorofilas.

Dessa forma, o uso de adsorventes alternativos em CCD ganha destaque ao apresentar uma maior potencialidade didática em cursos básicos de química, pois a sua reprodução é mais fácil e o custo benefício são satisfatórios.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apontaram a eficiência de alternativas para a prática experimental de processos cromatográficos. O procedimento experimental realizado empregando a técnica de cromatografia em camada delgada proporcionou compreender os mecanismos de separação desse tipo de cromatografia planar utilizando materiais alternativos e de fácil acesso, que puderam ser realizados produzindo-se manualmente as placas para a observação da corrida cromatográfica.

As fases móveis utilizadas (hexano e acetato de etila) foram de grande importância, pois nessa atividade experimental essas fases realizaram a

corrida cromatográfica e o processo de separação das substâncias. Os processos com diferentes fases estacionárias apresentaram particularidades na eleição, demonstrando a afinidade de algumas substâncias por uma fase estacionária específica.

A atividade proposta mostrou-se de fácil reprodução e viabilizou utilizá-la em trabalhos acadêmicos tanto no nível universitário quanto no ensino regular, podendo ser desenvolvida em atividades escolares com alunos do Ensino Médio, visando colaborar para a compreensão no conteúdo de separações químicas.

REFERÊNCIAS

- BRONDANI, P. B. **Cromatografia de Camada Delgada (CCD)**. Segunda Edição, Porto Alegre-RS, 2018.
- CAVALHEIRO, Carlos Alexandre. **Espectro Visível**. Disponível em <<https://www.infoescola.com/fisica/espectro-visivel/>> Acesso em: 11 nov. de 2019.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Unicamp Ed: Campinas, São Paulo, 2009.
- FOGAÇA, J. Espectro Eletromagnético dos Elementos Químicos. Disponível em <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/espectro-eletromagnetico-dos-elementos-quimicos.htm> Acesso em: 11 nov. 2019.
- JÚNIOR, V. G. M.; CARVALHO, A. A.; GONZAGA, W. D. A.; CHAVES, M. H. Column chromatography with almécega resin: a project for experimental organic chemistry. **Química Nova**, v.30, n.2, p. 491-493, 2007.
- LANFER- MARQUEZ, U. M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 227-242, jul./set. 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v39n3/03.pdf>>. Acesso em: 2 nov. 2019.
- NETO, F.R.A; NUNES, D.S.S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. 1º ed. Rio de Janeiro: Iterciência, 2003.
- NUNES, C. R.; RIBEIRO, N. M. Análise de Pigmentos de Pimentões por Cromatografia em Papel. **Química Nova na Escola**, São Paulo, N° 29, p. 34-37, ago. de 2008.
- OKUMURA, F.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Identificação de Pigmentos Naturais de Espécies Vegetais Utilizando-se Cromatografia em Papel. **Química Nova**, v. 25, n.4, p. 680-683, 2002.
- OLIVEIRA, A. R. M. Cromatografia com giz e espinafre: um experimento de fácil reprodução nas escolas do ensino médio. **Química Nova na Escola**, nº 7, 1998.
- OLIVEIRA, A. R. M., SIMONELLI, F., MARQUES, F. A. Cromatografando com giz e espinafre: um experimento de fácil reprodução nas escolas do ensino médio. **Química Nova na Escola**, v. 7, n. 5, p. 37-38, 1998.
- OLIVEIRA, G.; A.; SILVA, F. C. Cromatografia em papel: reflexão sobre uma atividade experimental para discussão do conceito de polaridade. **Química Nova na Escola**. São Paulo, Vol. 39, nº 2, p. 162-169, maio, 2017.
- PACHECO, S. Espectros de Absorção de luz dos Carotenóides. Disponível em <http://www.cromatografialiquida.com.br/carotespec.htm> Acesso em: 11 nov. 2019.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. Artmed, 6ª ed. Porto Alegre-RS, 888 p. 2016.

ROCHA, J. A.; ROYO, V. A. Separação de clorofilas e carotenoides como ferramenta para o ensino de cromatografia preparativa. **Conexão**, v.10, n.2, p.40-46, 2015. DOI: 10.24862/ccco.v10i2.346

SANTOS, M. H. D.; MÉGDA, J.; CRUZ, P. B. M.; MARTINS, F. T.; MOREIRA, M. E. D. C. An inexpensive plate coater for stationary phases for thin-layer chromatography. **Química Nova**, Minas Gerais, v. 30, n. 7, p. 1747-1749, 2007.

SANTOS, S. T. S., GOIS, M. A. C., SIMÕES, A. O.; GARCIA, C. A. B. Análises dos constituintes inorgânicos da casca do ovo. **Scientia Plena**, v. 8 n.3, 2012.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S.. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. **Revista Fitos**, [S.I.], v. 3, n. 02, p. 6-24, 2013.

SILVEIRA, A. A. B.; OKADA, K.; CAMPOSTAKAKI, G. M. B-caroteno e astaxantina - características e importância: uma revisão. **Revista Eletrônica Interdisciplinar de Saúde e Educação – RISE**, Barra do Garças, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2014. Disponível em: <<http://faculdadeguararapes.edu.br/revista/index.php/rise/article/download/49/37>>. Acesso em: 10 nov. 2019

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.748-755, 2005 ISSN 1678-4596. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000300043>.

SOUZA, A. M. A.; ALMEIDA, A. A.; CHAGAS, J. A. S. Cromatografia em camada delgada e casca do ovo: limites e possibilidades. **53º Congresso Brasileiro de Química**. Realizado no Rio de Janeiro/RJ, de 14 a 18 de Outubro de 2013. ISBN: 978-85-85905-06-4