

## UTILIZAÇÃO DE AMIDO COMERCIAL COMO FASE ESTACIONÁRIA: UMA PROPOSTA PARA O ENSINO DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

**Márcia C. C. VELOSO (1); Danielle E. S. SANTOS (2); Laís M. LOPES (3); Lucicleide S.  
SILVA (4); Núbia M. RIBEIRO (5)**

- (1) Centro Federal de Educação Tecnológica da Bahia- CEFET-BA – Rua Emídio dos Santos s/n -Salvador - Bahia,  
(71) 2102-9516, e-mail: [veloso@cefetba.br](mailto:veloso@cefetba.br)  
(2) CEFET-BA, e-mail: [danielle@cefetba.br](mailto:danielle@cefetba.br)  
(3) CEFET-BA, e-mail: [laismachado@cefetba.br](mailto:laismachado@cefetba.br)  
(4) CEFET-BA, e-mail: [lule\\_santos@hotmail.com](mailto:lule_santos@hotmail.com)  
(5) CEFET-BA, e-mail: [nubia@cefetba.br](mailto:nubia@cefetba.br)

### RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa e Inovação em Química (GPIQ) do CEFET-BA, e teve como objetivo principal desenvolver um experimento didático baseado na técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) que incluísse alguns dos princípios da Química Verde ou Sustentável. Deste modo, foi proposto o uso de amido comercial como fase estacionária na confecção de cromatoplasmas para a CCD, e a utilização das mesmas na separação dos componentes de misturas de corantes. Todos os materiais utilizados neste trabalho foram adquiridos em estabelecimentos comerciais, tais como supermercados e farmácias. As cromatoplasmas de amido foram utilizadas na separação dos componentes de corantes verdes, presentes em diferentes matrizes: pó de gelatina, confeitos de chocolate e canetas hidrográficas. Os componentes amarelos e azuis separados, tiveram os seus fatores de retardamento calculados ( $R_f$ ), e partir destes foi possível à discussão sobre a diferença da composição química dos corantes. A utilização de amido comercial como fase estacionária mostrou-se bastante atraente para a elaboração de experimentos baratos e acessíveis, que contribuam no processo ensino/aprendizagem de conceitos de Química Geral/Orgânica (interações intermoleculares, polaridade), assim como nos conceitos básicos das diferentes técnicas cromatográficas.

**Palavras-chave:** amido comercial, cromatografia em camada delgada, corantes, experimento didático

## 1. INTRODUÇÃO

Os diferentes métodos de separação cromatográfica, um conjunto de procedimentos que vão desde o uso de simples técnicas clássicas de bancada até sofisticados instrumentos, constituem atualmente as principais ferramentas para separar e analisar misturas constituídas por diversos tipos de substância. Dentre estes métodos, encontra-se a cromatografia em camada delgada (CCD).

A CCD é classificada como uma técnica clássica, que pode ser empregada para fins analíticos ou preparativos, e até hoje possui uma ampla utilização na indústria farmacêutica, em análises forenses e em laboratórios clínicos e, principalmente, de produtos naturais.

O processo de separação da técnica está fundamentado, principalmente, no fenômeno de adsorção, sendo o ácido silício amorfo (sílica,  $\text{SiO}_2$ ) o adsorvente mais utilizado como fase estacionária (FE). Embora, as principais vantagens da técnica sejam relatadas como o baixo custo e a simplicidade de sua execução e compreensão, o alto preço da  $\text{SiO}_2$  e de outros adsorventes no mercado nacional, assim como das placas pré-fabricadas, inviabiliza a sua utilização em experimentos didáticos. Um outro fator que também dificulta a sua realização é o uso de solventes clássicos, como metanol, diclorometano e clorofórmio, na preparação da fase estacionária e/ou como fase móvel, devido às suas toxicidades e alto custo.

Portanto, encontrar materiais baratos e não tóxicos que possam ser utilizados no desenvolvimento de experimentos didáticos que envolvam as diferentes técnicas cromatográficas é de fundamental importância para aplicação destas em instituições de ensino. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi: (i) testar a viabilidade do uso de amido, encontrado comercialmente com o nome fantasia Maizena<sup>®</sup>, como fase estacionária na CCD, e (ii) testar alguns solventes comerciais, de baixas toxicidades e baratos na preparação desta fase e/ou como fase móvel.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A cromatografia é uma técnica de separação que se baseia na distribuição diferencial dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, uma das quais é estacionária e a outra móvel, que podem ser sólido-líquido, líquido-líquido, sólido-gás e líquido-gás, respectivamente. Esta técnica pode ser desenvolvida de forma planar ou no interior de colunas, e o mecanismo de separação pode dar-se por processos químicos, físicos ou mecânicos (SOARES et al, 1988).

O termo “cromatografia”, de origem grega (“chrom”, cor, e “graphie”, escrever), é atribuído a Mikhael Tswett, um botânico polonês, que usou em 1906 colunas de adsorção nas suas investigações de separação pigmentos de plantas. Antes de Tswett, em 1900, o químico de petróleo D. T. Day, já havia utilizado a cromatografia em coluna na separação de amostras de petróleo, e o uso de camada delgada sobre vidro para separar misturas de sais inorgânicos, também já havia sido descrito por Beyerinck em 1889. Entretanto, até 1930, os métodos cromatográficos não tinham sido extensivamente estudados pelos químicos (COLLINS et al, 2007).

No final da década de 1930, a cromatografia em camada delgada ou fina (CCF), ressurgiu como uma ferramenta analítica para a análise de produtos farmacêuticos. Na década de 1940, Martin e Synge implantaram o uso da cromatografia por partição (cromatografia líquido-líquido). Na década de 1950, James e Martin introduziram a cromatografia gás-líquido. A década de 1960 testemunhou o surgimento da cromatografia de permeação em gel e algum tempo depois, nas décadas de 70-80, surgiu a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (COLLINS et al, 2007). Atualmente, as diferentes técnicas cromatográficas são responsáveis por mais de 70% das análises da Química Analítica.

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD), classificada como Cromatografia Planar, consiste na separação dos componentes de uma mistura, pela migração diferencial destes sobre uma camada delgada de um sólido adsorvente retido sobre uma superfície planar.

O processo de separação da CCD está fundamentado, principalmente, no fenômeno físico de adsorção do soluto na interface entre o sólido adsorvente e a fase móvel, o que a classifica também como Cromatografia de Adsorção. O soluto é desorvido à fase móvel líquida por solubilidade, o que classifica a CCD como Cromatografia Líquida. Entretanto, a fase estacionária sólida pode ser quimicamente ou fisicamente modificada, fazendo que o processo de separação possa ocorrer também por partição (distribuição

diferencial do soluto entre duas fases líquidas imiscíveis) ou troca iônica (COLLINS et al, 2007, SANTOS et al, 2007).

Dentre os adsorventes mais utilizados, e disponíveis comercialmente, estão a sílica, utilizada na separação de compostos lipofílicos, a poliamida, a alumina (neutra, ácida e básica), a terra de diatomácea e a celulose, que é empregada como um suporte de fase estacionária líquida, no caso a água, sendo a CCD classificada neste caso como cromatografia por partição.

As placas cromatográficas de vidro, “cromatoplacas”, contendo o adsorvente podem ser preparadas em laboratório, quer manualmente ou pelo método do espalhamento, o qual utiliza “espalhadores” comerciais ou adaptados, que podem ser construídos em laboratório. Pelo método de espalhamento obtém-se cromatoplacas bem uniformes e com espessuras definidas. Estas também podem se adquiridas prontas, entretanto, neste caso o adsorvente pode estar depositado em placas de vidro, folhas de alumínio ou de plástico, sendo que as duas últimas possuem a vantagem de poderem ser cortadas no tamanho e na forma desejadas. Na maioria das separações as cromatoplacas são utilizadas sem ativação, que consiste na retirada da água, por aquecimento em estufa (COLLINS et al, 2007).

Na CCD a escolha da fase móvel (FM) correta é um fator muito importante, já que existe uma competição entre as moléculas da FM e da amostra, pela superfície do adsorvente. Os solventes são escolhidos de acordo com a natureza dos analitos a serem separados. No entanto, desde que Paul Anasta, em 1990, aplicou pela primeira vez o conceito da Química Verde ou Sustentável e, posteriormente, em 1998, anunciou 12 princípios que descreviam as diretrizes necessárias para a implementação da mesma, existe uma grande preocupação na escolha de solventes menos tóxicos, que sejam poucos prejudiciais meio ambiente e ao analista (LENARDÃO et al, 2003).

A análise qualitativa de um composto é dada pelo seu fator de retardamento ( $R_f$ ). Este fator é calculado pela razão entre a distância percorrida pela substância sobre a distância percorrida pela frente da fase móvel, valores estes medidos com uma régua.

Embora a CCD seja classificada como uma técnica clássica, ela continua tendo uma ampla utilização em laboratórios de química, principalmente os relacionados à Química de Produtos Naturais, e de bioquímica (é um dos principais métodos para fracionamento de classes de lipídeos). A vasta utilização desta técnica deve-se as inúmeras vantagens que a mesma apresenta, tais como: utiliza pequena quantidade de amostra, tem boa capacidade de resolução, apresenta rápida execução, aplica-se a diferentes matrizes, e comparativamente a outras técnicas cromatográficas, possui um custo não elevado.

A CCD pode ser empregada para fins analíticos ou preparativos, podendo ser aplicada na determinação da pureza de um composto, identificação dos componentes de uma mistura comparando-os com padrões, acompanhar o progresso de uma reação e isolar componentes puros de uma mistura naturais.

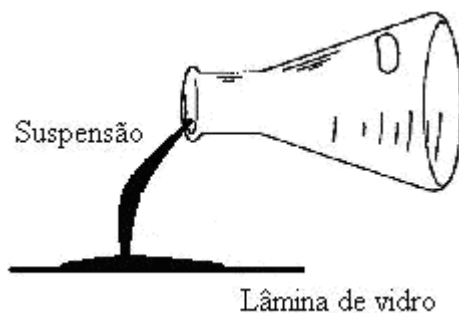
### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Preparação da Suspensão de Amido**

Foram testados diferentes solventes: água, etanol, clorofórmio e a mistura clorofórmio/hexano (v/v). A suspensão foi preparada em *erlenmeyer de* 125mL com tampa, agitando-se vigorosamente 25g de amido e proporções variadas de solvente.

#### **3.2. Preparação das Cromatoplacas**

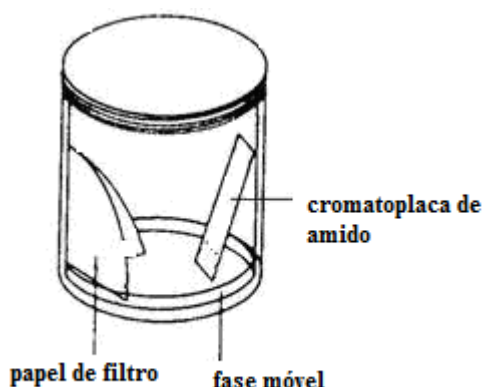
As cromatoplacas foram preparadas por espalhamento manual: a suspensão de amido com o solvente foi derramada sobre a superfície de uma lâmina de vidro limpa e seca, com dimensão de (8,0 x 2,5cm), mantida na posição horizontal. A suspensão foi espalhada homogeneamente sobre a lâmina, por meio da movimentação da lâmina com as mãos (Figura 1). A FE aderida sobre a placa foi seca ao ar.



**Figura 1- Preparação da cromatoplaça**

### **3.3. Preparação da cuba cromatográfica**

A fase móvel (eluente) foi preparada usando uma mistura de propanona (acetona)/água, na proporção de 1:4 v/v. Foi colocado em torno das paredes internas de um béquer (ou em um vidro de “maionese”) um círculo de papel de filtro. Em seguida, foi colocada neste a fase móvel preparada, em quantidade suficiente para molhar o papel de filtro (saturar a cuba) e manter uma camada de aproximadamente 1,0 cm de altura. O béquer foi tampado com um vidro de relógio (Figura 2).



**Figura 2- Cuba cromatográfica**

### **3.4. Preparação das amostras: extração dos corantes a partir de confeitos de chocolate e gelatina sabor limão**

#### **3.5.1- Confeitos de chocolate**

Foram colocados 5 confeitos de chocolate (do tipo Confeti<sup>®</sup>) em um béquer. Foi adicionado ao béquer 10mL de etanol, e o sistema foi agitado até a extração total (até a cobertura dos confeitos ficarem brancas). O extrato foi separado por micro filtração, com algodão e concentrado pela evaporação de parte do solvente, com auxílio de uma placa de aquecimento.

#### **3.5.2- Gelatina**

Foram colocados 30 gramas de gelatina sabor limão (Sol<sup>®</sup>) em um béquer. Foi adicionado ao béquer 50mL de etanol, o sistema foi agitado até a extração máxima possível do corante. O sistema foi filtrado, utilizando como agente filtrante o algodão. Em seguida, o extrato foi concentrado pela evaporação de parte do solvente com auxílio de placa de aquecimento.

### 3.5. Preparação do tubo capilar usado na aplicação da amostra.

Um tubo capilar (utilizado na determinação de ponto de fusão) foi aproximado da parte mais quente da chama do bico de Bunsen. O tubo capilar foi continuamente submetido a um movimento de rotação por intermédio das duas mãos, até o amolecimento de sua parte central (Figura 3). O capilar foi retirado da chama e suas duas pontas foram puxadas lateralmente.

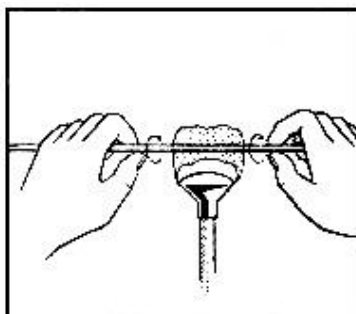


Figura 3- Procedimento para estiramento do capilar

### 3.6. Aplicação das amostras nas cromatoplas de amido

A placa com a fase estacionária já seca, foi marcada com grafite em suas bordas laterais nas alturas correspondentes ao ponto de aplicação da amostra e do ponto de chegada da frente do eluente (Figura 4).

A aplicação dos corantes dos hidrocores foi feita a partir das canetas: com uma caneta azul foi feito um ponto na placa no lugar destinado para a aplicação da amostra. Com uma caneta amarela foi feito um ponto ao lado do que havia sido marcado anteriormente. Com uma caneta verde foi feito um ponto ao lado dos outros dois, que serviram como padrões.

O mesmo procedimento foi realizado para a corrida cromatográfica de extratos de gelatina Sol<sup>®</sup> sabor limão e confeitos de chocolate Confetti<sup>®</sup> de cor verde, que foram aplicados na placa com auxílio do tubo capilar, previamente preparado (item 3.5).

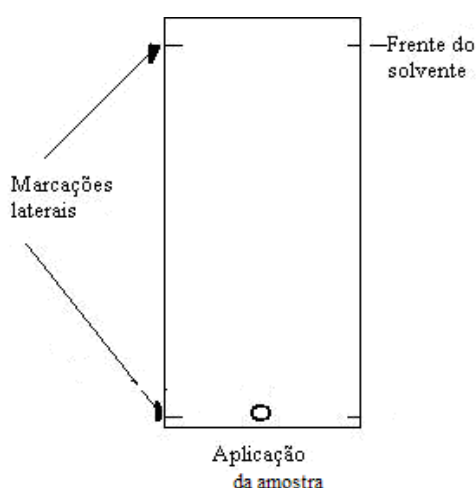


Figura 4- Cromatoplaça

### 3.7. Desenvolvemento

A cromatoplaça foi colocada dentro da cuba cromatográfica, tomando cuidado para o eluente não tocar na amostra. A cuba foi tampada com um vidro de relógio. O sistema foi observado, e quando a fase móvel atingiu o ponto marcado, referente à frente do eluente, a cromatoplaça foi retirada da cuba e deixada secar ao ar.

## 4. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Na preparação de cromatoplaças para CCD, as FE são aplicadas sobre os suportes (vidro, plásticos) e para que o amido comercial (Maizena<sup>®</sup>) fosse aplicado na lâmina de vidro era necessário o preparo de uma suspensão do mesmo.

No preparo da suspensão foram testados vários solventes: clorofórmio, água, clorofórmio/hexano e etanol comercial, em proporções variadas.

Dentre eles, o que mais se adequou ao objetivo da pesquisa foi o etanol comercial na proporção 2:1 (v/m) (álcool: amido), pois se trata de um solvente de baixo custo, não tóxico, proveniente de uma fonte renovável (biomassa), e que pode ser facilmente adquirido por qualquer escola. A proporção permitiu a obtenção de uma fase estacionária homogênea, imprescindível para uma boa análise cromatográfica. O amido após seco ficou bem aderido ao suporte de vidro, não sendo necessário, portanto, a utilização de agentes aglutinantes. Para uma quantidade de 25 g de amido e 50 mL de etanol pode-se confeccionar 45 placas. Observou-se que para evitar possíveis rachaduras, as placas deveriam ser utilizadas logo após secarem ao ar.

A partir da confecção da cromatoplaça, buscou-se amostras de baixo custo e de fácil obtenção que pudessem ser submetidas à análise por CCD, tendo-se o amido como FE. Atentando para tais condições, utilizou-se como amostra a tinta de canetas hidrográficas e corantes verdes extraídos de gelatina sabor limão e de confeitos de chocolate. Além do baixo custo e fácil obtenção, tais amostras ainda possuem a vantagem de não necessitarem de revelação para que seus constituintes separados durante a análise fossem visualizados.

Na corrida cromatográfica de tais amostras, utilizou-se como fase móvel a solução 4:1 água:acetona (v/v), obtendo separação dos constituintes das amostras utilizadas com resolução suficiente para que houvesse uma compreensão da técnica de CCD.

O amido é um polissacarídeo como a celulose. Portanto, o mecanismo de separação deve ocorrer, assim como na celulose, por partição. O desenvolvimento do cromatograma ocorreu no modo unidimensional e ascendente. Os componentes amarelos e azuis separados, tiveram os seus fatores de retardamento calculados ( $R_f$ ), e partir destes foi possível a discussão sobre a diferença na composição química dos corantes das tintas de canetas e dos extraídos dos alimentos.

A partir das amostras, e proporções da suspensão e da fase móvel, encontradas, confeccionou-se um roteiro de prática de intitulado “Cromatografia em Camada Delgada”, que já foi empregado na disciplina de Química Orgânica do curso Técnico de Análise Química do CEFET-BA, obtendo um ótimo resultado, tendo em vista que o experimento proporcionou aos alunos a compreensão prática do funcionamento da técnica de cromatografia, sem custos elevados e utilizando-se materiais que não possuem nenhum risco para o meio-ambiente ou para a saúde do aluno.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio do trabalho desenvolvido, comprovou-se a viabilidade do uso do amido presente no produto Maizena<sup>®</sup> para desenvolver experimentos didáticos de CCD, substituindo os adsorventes usados tradicionalmente.

O uso do etanol como solvente extrator dos corantes permite ilustrar aos alunos o princípio da química segura, o uso de recursos renováveis e a diminuição na geração de efluentes tóxicos.

Os resultados alcançados permitiram a elaboração de um roteiro experimental, já aplicado no curso Técnico de Análise Química do CEFET-BA, que envolvendo conceitos básicos de cromatografia. Tal experimental

foi montado utilizando produtos que podem ser adquiridos facilmente, podendo assim ser empregado em qualquer instituição interessada no ensino da técnica de cromatografia.

## **REFERÊNCIAS**

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Ed. UNICAMP - São Paulo, 2007.

SANTOS, M. H.; MÉGDA, J., CRUZ, P. B. M., MARTINS, F. T., MOREIRA, M. **Um espalhador de baixo custo de fase estacionária em placas para cromatografia em camada delgada**. *Quim.Nova* 2007,30, 1747-1749.

SOARES, B.; SOUZA, N. A. **Química Orgânica Teorias de Preparação, Purificação e Identificação de Compostos Orgânicos** 1ed . Ed.Guanabara, Rio de Janeiro 1988.

LENARDÃO, E. J., FEITAG, R. A., DABDOUB, M. J., BATISTA, A. C. F., SILVEIRA, C. C. **Green chemistry" - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa**. *Quim.Nova* 2003,23, 123-129.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao CNPq e a Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelas bolsas PIBIC-JR das alunas Danielle E. S. Santos, Laís M. Lopes (3); Lucicleide S. Silva.