

Universidade Federal de Itajubá

Instituto de Física e Química - IFQ

Química Orgânica - QUI068

Roteiros de experimentos e aulas teóricas

1. Extração líquido-líquido
2. Cromatografia líquida
3. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)
4. Cromatografia em Coluna
5. Síntese do ácido acetilsalicílico AAS
6. Recristalização

Segundo semestre de 2024

Conteúdo

1	Extração líquido-líquido	5
1.1	Introdução	6
1.1.1	Teoria da extração líquido-líquido	6
1.1.2	Escolha do solvente extrator	8
1.1.3	Aspectos práticos da extração líquido-líquido	10
1.1.4	Extração com solventes quimicamente ativos	14
1.2	Experimento	16
1.2.1	Vidrarias, materiais e substâncias	16
1.2.2	Procedimento experimental	16
2	Cromatografia	19
2.1	Introdução	20
2.1.1	Cromatografia em camada delgada (CCD)	20
2.1.2	Cromatografia em coluna	28
2.2	Experimento A - CCD	34
2.2.1	Vidrarias, materiais e substâncias	34
2.2.2	Procedimento experimental	34
2.3	Experimento B - Cromatografia em Coluna de Sílica	36
2.3.1	Vidrarias, materiais e substâncias	36
2.3.2	Procedimento experimental	36
3	Síntese do AAS	39
3.1	Introdução	40
3.2	Experimento A - Síntese do AAS	42
3.2.1	Vidrarias e materiais	42
3.2.2	Substâncias químicas	42
3.2.3	Procedimento experimental	42
3.3	Experimento B - recristalização do AAS	44
3.3.1	Vidrarias e materiais	44
3.3.2	Substâncias químicas	44

3.3.3	Procedimento experimental	45
Referências		50

Experimento 1

**Extração líquido-líquido com
solventes quimicamente ativos**

1.1 Introdução

As substâncias orgânicas obtidas de fontes naturais ou por meio de reações químicas raramente estão puras. No caso de uma reação química que gerou uma mistura de substâncias, o produto principal pode ser removido por filtração, caso seja um sólido insolúvel no meio reacional, ou pode ser destilado, se for um líquido de baixa temperatura de ebulição. No entanto, esses casos são minoria e o que se observa é a necessidade de realizar extrações seletivas ou lavagens do meio reacional para remoção das impurezas.

Na maioria das vezes, as impurezas e reagentes inorgânicos solúveis em água podem ser removidos com facilidade pela lavagem do composto orgânico ou de sua solução em um solvente orgânico volátil insolúvel em água, que em uma segunda etapa pode ser eliminado por evaporação.

Alguns compostos orgânicos, apesar da baixa solubilidade em água, podem facilmente ser transformados em derivados solúveis em meio aquoso. Compostos contendo grupos ácidos ou básicos, após tratamento com bases ou ácidos inorgânicos, respectivamente, originam sais solúveis.

Ambos os processos de separação e purificação descritos anteriormente envolvem a técnica denominada de extração, ou mais precisamente, extração líquido-líquido.

1.1.1 Teoria da extração líquido-líquido

A extração envolve a transferência de um soluto de um solvente para outro. Essa transferência ocorre porque o soluto é mais solúvel no segundo solvente do que no primeiro. Os dois solventes devem ser imiscíveis para que ocorra a formação de um sistema bifásico. Em geral, utiliza-se um funil de separação (**Figura 1.1**) para se realizar a extração líquido-líquido em escala laboratorial¹.

A (**Figura 1.2**) ilustra de maneira geral o processo de extração. No início (**Figura 1.2A**), as substâncias hipotéticas x (representada pelas partículas pretas) e y (representada pelas partículas vermelhas) estão misturadas na fase aquosa (representada pelo líquido azul). Após a adição de um solvente orgânico imiscível (representado pelo líquido amarelo) com a água, serão formadas duas fases e haverá uma migração diferencial da substância x para a fase orgânica, até o estabelecimento de um estado de *equilíbrio* (**Figura 1.2B**).

¹Técnica mais modernas e automatizadas de extração envolvem o uso de tubos cônicos e tubos de centrífuga e técnicas de centrifugação.

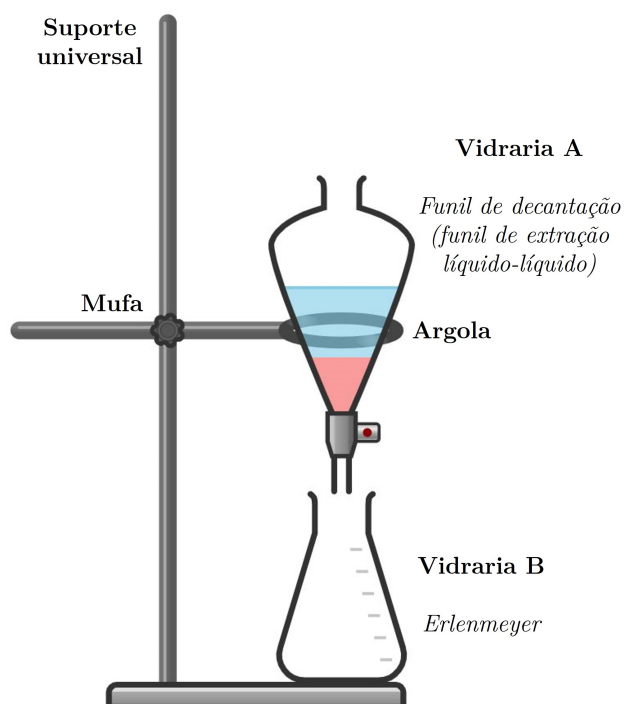


Figura 1.1: Esquema de montagem para extração líquido-líquido.

Com a separação das duas fases, há a consequente separação das substâncias x (Figura 1.2C) e y (Figura 1.2D).

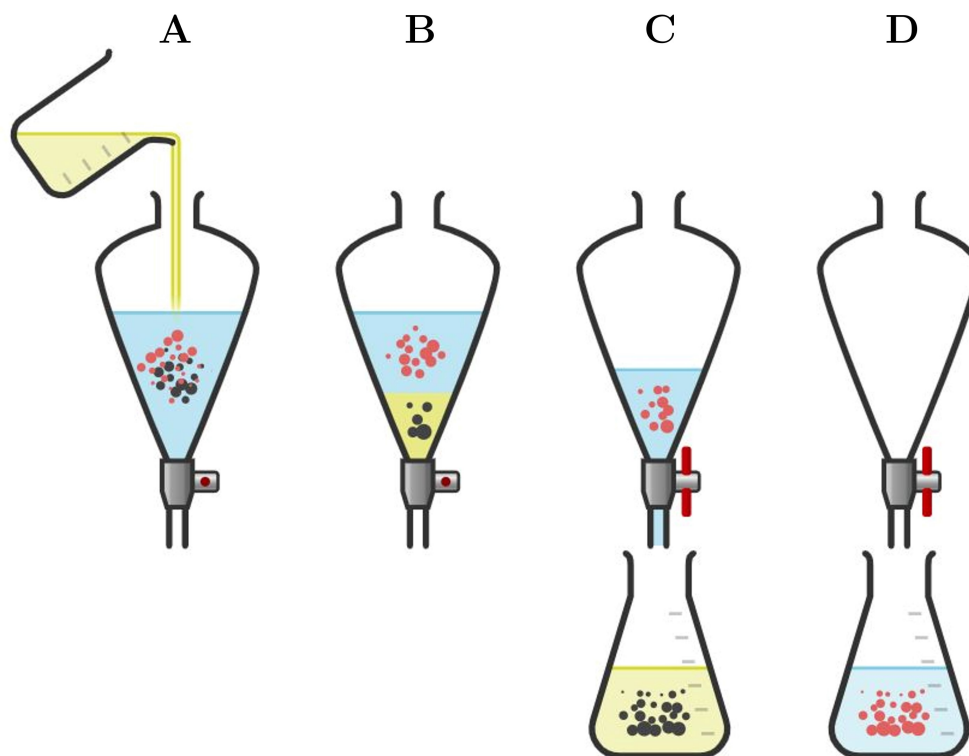


Figura 1.2: Esquema do processo de extração líquido-líquido.

Portanto, o processo de extração envolve a distribuição de um dado soluto entre duas fases líquidas imiscíveis (fase orgânica e fase aquosa). Quando as fases se separam por diferenças de densidade (ρ), estabelece-se um equilíbrio no qual a razão das concentrações do soluto em cada fase é uma constante, chamada de coeficiente de distribuição (ou coeficiente de partição), K (WILLIAMSON; MASTERS, 2010), que é definido como

$$K = \frac{C_2}{C_1}, \quad (1.1)$$

onde C_1 é a concentração (em g L^{-1}) *de equilíbrio* do soluto na fase aquosa e C_2 é a concentração (também em g L^{-1}) *de equilíbrio* do soluto na fase orgânica².

O valor de K é constante para cada soluto e independe das quantidades dos dois solventes em contato. Entretanto, depende da **natureza** dos solventes utilizados e da **temperatura**. Assim, o valor do coeficiente de distribuição é fixo para um determinado par de solventes a uma dada temperatura.

Como a concentração em cada fase pode ser expressa pela relação entre a massa do soluto (m) e o volume (V) do solvente, é possível expressar a massa do soluto extraído (m_2) e a massa restante (m_1) em função do coeficiente de partição, K . A **Equação 1.2** mostra que, quanto maior o volume do solvente extrator (V_2), maior será a quantidade extraída (m_2).

$$K = \frac{C_2}{C_1} = \frac{m_2}{V_2} \cdot \frac{V_1}{m_1} \quad \therefore \quad m_2 = m_1 \cdot K \left(\frac{V_2}{V_1} \right) \quad (1.2)$$

Processos de extração não são 100 % eficientes, ou seja, o soluto não será transferido totalmente de uma fase para outra em uma única etapa de extração, a não ser que o valor de K seja muito elevado. Logo, costuma-se empregar várias extrações para remover todo o soluto de uma das fases. De fato, o processo de extração é mais eficiente quando efetuado várias vezes com um pequeno volume de solvente do que quando efetuado uma única vez com um grande volume de solvente.

1.1.2 Escolha do solvente extrator

Conforme discutido anteriormente, a extração líquido-líquido envolve a distribuição diferencial de um soluto entre dois líquidos imiscíveis. Em geral, uma das

²Deve-se atentar que as concentrações podem ser expressas em unidades equivalente, como mg mL^{-1} . O importante é utilizar unidades *iguais* de concentração, de modo que K fique adimensional.

fases é constituída pela água e, portanto, denominada fase aquosa e a outra fase é constituída por um solvente que seja imiscível na água, que é conhecido como fase orgânica ou solvente extrator.

Na escolha do solvente adequado para cada extração, devem ser considerados alguns critérios:

1. O solvente deve apresentar baixa solubilidade na água, possibilitando a formação de duas fases;
2. Deve solubilizar consideravelmente a substância que se deseja extrair;
3. Deve ser quimicamente inerte frente às substâncias extraídas;
4. Deve apresentar volatilidade razoável (baixa temperatura de ebulição) para que possa ser removido facilmente;
5. É desejável ainda que o seja de baixo custo e de baixa toxicidade.

Na **Tabela 1.1** estão listados os solventes mais utilizados para extrações líquido-líquido. Observe que dentre os solventes listados, apenas aqueles que possuem cloro em sua composição são mais densos que a água. Portanto, apenas quando for utilizado um solvente clorado para extração, que a fase orgânica será a inferior.

Tabela 1.1: Propriedades físicas (massa molar, temperatura de ebulição e densidade) dos solventes mais utilizados em extrações líquido-líquido (HAYNES; LIDE; BRUNO, 2015).

Solvente	Massa molar (g mol ⁻¹)	Temperatura de ebulição (°C)	Densidade a 20 °C (g cm ⁻³)
Éter etílico	74	35	0,714
Pentano	72	36	0,626
Diclorometano	85	41	1,335
Clorofórmio	119	61	1,492
Hexano	86	66	0,659
Tetracloroeto de carbono	154	77	1,594
Benzeno	78	80	0,879
Tolueno	92	111	0,867

1.1.3 Aspectos práticos da extração líquido-líquido

A seguir são descritos aspectos práticos relevantes quando se realiza uma extração líquido-líquido em escala laboratorial.

Funil de separação

Em escala laboratorial, o processo de extração líquido-líquido é geralmente realizado em um funil de separação (**Figura 1.1**). Deve-se ter cuidado para que o volume de líquido no funil de separação nunca ultrapasse $3/4$ de sua capacidade nominal³. Deve-se sempre checar se a torneira está fechada e manter um erlenmeyer ou béquer abaixo do funil de separação para que eventuais vazamentos sejam contidos.

O processo de extração inicia-se com a adição da solução a ser extraída e do solvente extrator ao funil de separação. Tampa-se o funil e realiza-se a agitação, com movimentos circulares, mantendo o funil em um ângulo de 45° em relação à vertical. Com uma das mãos, segura-se firmemente a tampa e, com a outra, a torneira (**Figura 1.3**).

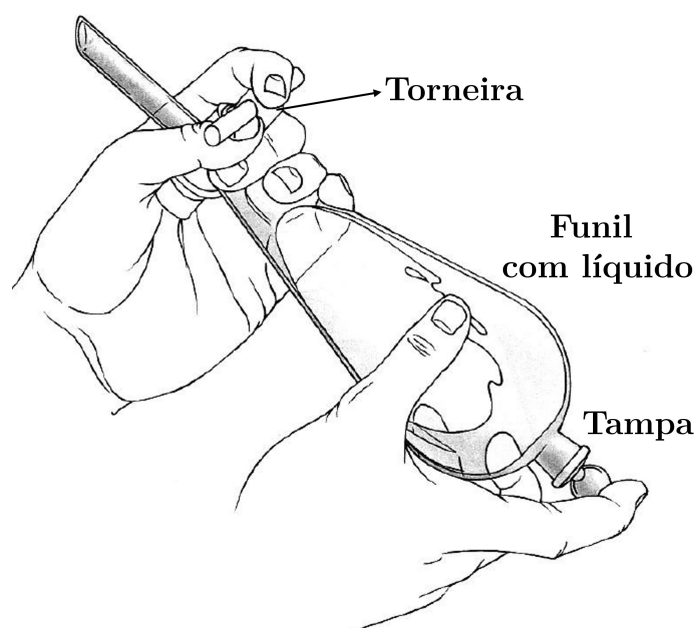


Figura 1.3: Forma correta de agitar e liberar a pressão de um funil de separação.

Ao agitar a mistura, devido à alta volatilidade do solvente, poderá haver aumento da pressão interna. Por isso, após o procedimento de agitação, deve-se realizar

³Essa recomendação se baseia no acúmulo de pressão característico de se trabalhar com solventes voláteis em recipientes fechados. Ao agitar tais recipientes, a pressão acumulada pode resultar em acidentes.

o “alívio” de pressão, inclinando-se a parte inferior do funil para cima e abrindo lentamente a torneira. Ao abrí-la, deve-se tomar o máximo de cuidado para não dirigir a saída dos vapores para si ou para alguém próximo.

O processo de agitação e alívio de pressão é usualmente realizado três vezes e, então, deve-se colocar o funil de separação em suporte apropriado – *i.e.*, uma argola presa a uma mufa em um suporte universal (**Figura 1.1**) –, retirar a tampa e esperar a separação das duas fases para realizar a separação.

Solventes utilizados

Os solventes normalmente utilizados na extração possuem baixa temperatura de ebulição (**Tabela 1.1**). Alternativamente, pode-se realizar uma extração com um *solvente quimicamente ativo*, como uma solução de bicarbonato de sódio ($pK_a = 6,351$ (**HAYNES; LIDE; BRUNO, 2015**)), que leva à liberação de gases quando esta solução entra em contato com um ácido. Por isso, é necessário que se faça o “alívio” de pressão. Entretanto, isto deve ser feito lentamente, porque os vapores podem se expandir de forma violenta, projetando o líquido para fora do funil.

Emulsão

Após o processo de extração, algumas extrações não produzem a separação completa das fases orgânica e aquosa. Nesses casos, gotículas de uma fase se mantêm dispersas na outra. Isto leva à formação de uma interface não definida, chamada de **emulsão**, comprometendo a eficiência da separação.

Uma das alternativas para “quebrar” a emulsão e promover a completa separação das fases consiste em deixar o funil de separação em repouso por alguns minutos. Entretanto, outros métodos podem ser empregados caso isso não seja suficiente. Por exemplo, a adição de mais solvente orgânico ou água pode ser suficiente. Se a emulsão persistir, a adição de sais inorgânicos – *e.g.*, NaCl e Na₂SO₄ – pode desfazer a emulsão⁴. Nos casos mais persistentes, a centrifugação pode ser usada.

Descarte de fases

Um dos enganos mais comuns durante um processo de extração líquido-líquido é o descarte da fase errada. Como discutido anteriormente, somente quando se

⁴A adição de sais à fase aquosa pode fazer com a camada de solvatação das gotas da fase orgânica seja perturbada, quebrando a emulsão. Além disso, a adição de sal diminui as forças repulsivas entre as gotículas e favorece a coalescência das gotas.

utilizam solventes orgânicos clorados, que possuem densidades maiores que da água (**Tabela 1.1**), a fase orgânica será a inferior.

Cuidado redobrado deve ser tomado quando se realiza a extração com solventes quimicamente ativos pois, muitas vezes, a substância de interesse está na fase aquosa na forma de um sal.

Considerando os fatos acima, é aconselhável que ambas as fases sejam guardadas até que se tenha isolado o produto desejado.

Agentes de secagem

Após o processo de extração e de separação das fases, a fase orgânica, que usualmente contém o composto de interesse, deve ser seca através da utilização de agentes de secagem (ou agentes secantes). Isto é necessário, pois qualquer solvente orgânico absorverá água quando agitado com uma solução aquosa, mesmo tendo baixa afinidade pela água. Todavia, a quantidade de água dissolvida irá variar entre solventes.

Os agentes secantes são sais inorgânicos anidros capazes de adicionar água de hidratação quando expostos à umidade do ar ou às soluções úmidas. Os mais comumente usados são sulfato de sódio (Na_2SO_4), sulfato de magnésio (MgSO_4), cloreto de cálcio (CaCl_2), sulfato de cálcio (CaSO_4) e carbonato de potássio (K_2CO_3). Esses sais variam em propriedades e aplicações e não absorvem a mesma quantidade de água em uma dada massa de solvente. A **Tabela 1.2, Página 13**, compara os agentes secantes mais comuns.

Tabela 1.2: Agentes secantes e algumas de suas propriedades.

Agente	Acidez	Fórmula ¹	Capacidade ²	Inteireza ³	Velocidade ⁴	Uso
Sulfato de magnésio	Neutro	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Alta	Média	Rápida	Geral
Sulfato de sódio	Neutro	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$	Alta	Baixa	Média	Geral
Cloreto de cálcio	Neutro	$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Baixa	Alta	Rápida	Hydrocarbonetos e haletos de alquila
Sulfato de cálcio	Neutro	$\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Baixa	Alta	Rápida	Geral
Carbonato de potássio	Básico	$\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ $\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Média	Média	Média	Aminas, ésteres, bases e cetonas

¹ Fórmula molecular com água de hidratação.² Quantidade de água removida por unidade de agente secante.³ Quantidade de água em equilíbrio com o agente secante.⁴ Velocidade de secagem.

1.1.4 Extração com solventes quimicamente ativos

A extração líquido-líquido convencional permite, principalmente, a separação de substâncias orgânicas neutras. No caso da substância orgânica apresentar característica básica ou ácida, é possível aumentar a eficiência da extração aproveitando-se dessa característica e desenvolvendo um método especial de extração. Esse método, denominado **extração por solventes quimicamente ativos**, baseia-se na facilidade com que certas substâncias podem ser transformadas em derivados com solubilidades bastante diferenciadas das substâncias originais. Por exemplo, considere uma solução etérea contendo um ácido carboxílico, um fenol, uma amina e uma cetona. As quatro substâncias que constituem a mistura podem ser separadas utilizando-se de suas propriedades ácidas ou básicas (**Figura 1.4**).

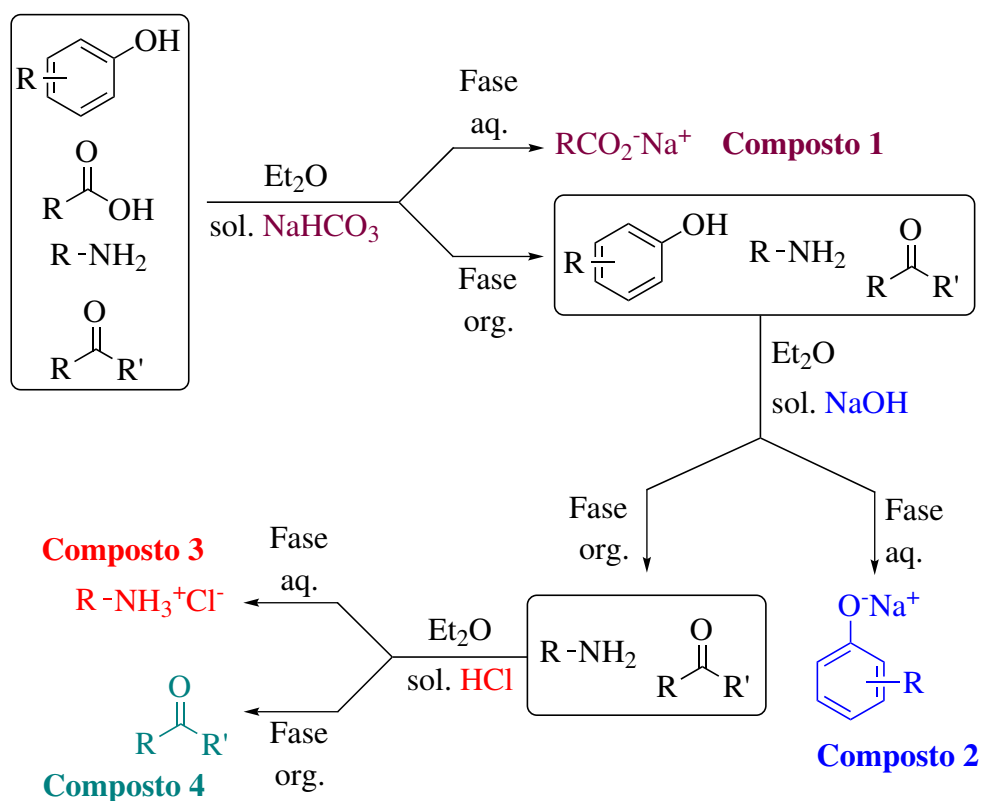
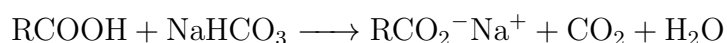
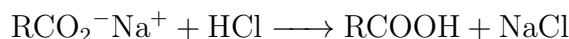


Figura 1.4: Extração de uma mistura de um composto fenólico, um ácido carboxílico, uma amina e uma cetona utilizando solventes quimicamente ativos.

Quando a solução etérea contendo os compostos é tratada com uma solução de NaHCO_3 , o ácido carboxílico é convertido no sal de sódio correspondente (um **carboxilato** de sódio, **Composto 1**), segundo a reação abaixo:

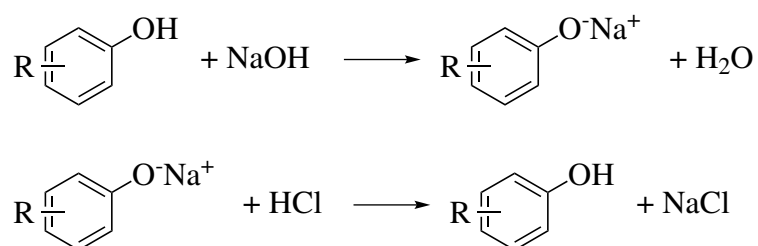


O carboxilato é mais solúvel em água, o que provoca a sua migração para a fase aquosa. Para a obtenção do ácido carboxílico, deve-se acidificar a fase aquosa com HCl, ocasionando a reação representada abaixo:

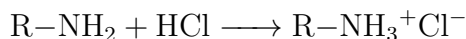


Nesse caso, o ácido carboxílico deve ser extraído da fase aquosa com a subsequente adição de solvente orgânico.

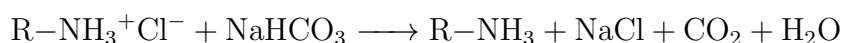
Na fase orgânica original restaram o fenol, a amina e a cetona (**Figura 1.4**). A essa fase, pode-se adicionar uma solução aquosa de NaOH, que irá reagir com o fenol – cujo caráter ácido é menor que o do ácido carboxílico –, resultando na formação de um fenóxido (ou fenolato) de sódio (**Composto 2**). Analogamente ao que foi descrito para o sal do ácido carboxílico, o fenóxido de sódio pode ser separado e, posteriormente, reconvertido ao fenol através da reação com HCl, segundo as reações mostradas a seguir.



Assim, na fase orgânica, ainda restaram a amina e a cetona (**Figura 1.4**). Com a adição de uma solução aquosa de HCl à fase orgânica, ocorrerá a reação de conversão da amina ao **cloridrato** correspondente (**Composto 3**) que, por ser um sal, é mais solúvel em água e migrará para a fase aquosa.



Após a separação das fases, a cetona (**Composto 4**) estará presente na fase orgânica e o cloridrato na fase aquosa. A posterior reação da fase aquosa com NaHCO_3 e a extração com éter etílico fornecerá a amina, segundo a reação mostrada a seguir.



Para a separação final dos componentes presentes nas respectivas fases etéreas, pode-se proceder a destilações ou, se conveniente, à evaporação do éter.

1.2 Experimento

1.2.1 Vidrarias, materiais e substâncias

- Balança analítica;
- Bomba de vácuo;
- Erlenmeyer;
- Dessecador com sílica;
- Funil de sólido ou funil de colo curto;
- Mufas e garras;
- Bastão de vidro;
- Béquer de 100 mL;
- Espátula;
- Papel de filtro;
- Mangueiras de silicone;
- Suporte universal;
- Éter etílico;
- Funil de separação;
- Funil de Buchner;
- Bastão de vidro;
- Kitassato;
- Proveta;
- Solução de NaOH 10 g mL⁻¹;
- HCl concentrado (37 g g⁻¹);
- Solução de NaHCO₃ 10 g mL⁻¹;
- Na₂SO₄ anidro.

1.2.2 Procedimento experimental

1. Pesar 900 miligramas de uma mistura de compostos (β -naftol, ácido benzóico);
2. Solubilizar a mistura em 20 mL de éter etílico;
3. Colocar a solução etérea em um funil de separação de 250 mL;
4. 1^a Extração:
 - Juntar 15 mL de NaHCO₃ 10 g mL⁻¹ à solução etérea;
 - Agitar, vigorosamente, o funil de separação. Abrir a torneira do funil para aliviar a pressão. Após repouso, extraia a fração aquosa;
 - Repetir a extração duas vezes, com 5 mL da solução de NaHCO₃;
 - Juntar as porções aquosas em um erlenmeyer e deixar a fase etérea no funil;

- Neutralizar a solução aquosa com HCl concentrado;
- Recuperar o precipitado por meio de filtração a vácuo.

5. 2ª Extração:

- Juntar 15 mL de NaOH 10 g mL⁻¹ à solução etérea;
- Agitar, vigorosamente, o funil de separação. Abrir a torneira do funil para aliviar a pressão. Após repouso, extraia a fração aquosa;
- Repetir a extração mais duas vezes, com 5 mL da solução de NaOH;
- Juntar as porções aquosas em um Erlenmeyer e deixar a fase etérea no funil;
- Neutralizar a solução aquosa com HCl concentrado;
- Recuperar o precipitado por meio de filtração a vácuo.

6. Secar os produtos em estufa à 60 °C.

Experimento 2

Cromatografia em Camada Delgada e em Coluna

2.1 Introdução

2.1.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura e é realizada através da distribuição de tais componentes entre duas fases, uma estacionária e outra móvel, que estão em contato íntimo. A fase estacionária é fixa e possui grande área superficial, enquanto a fase móvel é um fluido que percola através da fase estacionária. O termo cromatografia origina-se das palavras gregas *chrom* (cor) e *graphie* (escrever), pois era inicialmente uma técnica para separação de misturas de substâncias coloridas.

Existem vários critérios para a classificação das técnicas cromatográficas, como (i) o mecanismo de separação, (ii) a técnica empregada e (iii) o tipo de fase móvel. O critério mais importante para classificação das cromatografias baseia-se no **mecanismo de separação**.

Todos os métodos cromatográficos dependem, basicamente, das solubilidades ou das adsortividades diferenciais das substâncias que constituem a mistura em relação às fases estacionária e móvel.

Quando a fase estacionária é líquida, o processo ocorre por adsorção ou *partição* e, portanto, está baseado na solubilidade dos componentes de uma dada mistura na fase estacionária e na fase móvel. Por exemplo, quando se tem uma fase móvel líquida com um analito dissolvido e que se move através da fase estacionária, ele terá mobilidade dependente da relação de sua solubilidade na fase móvel e na fase estacionária. Este fenômeno é conhecido como partição. Assim, este tipo de cromatografia envolve a partição da amostra entre duas fases líquidas imiscíveis, devido à diferença de solubilidade dos componentes da amostra entre as fases. Neste tipo de cromatografia, a fase estacionária costuma ser a água.

A cromatografia com fase estacionária líquida normalmente requer um suporte que pode ser, por exemplo, sílica gel, celite (terra diatomácea) ou celulose. O tipo mais simples dessa cromatografia é a cromatografia em papel, na qual a água (fase estacionária) fica presa nos polímeros de celulose. O papel pode conter de 5 % a 20 % de água. As técnicas mais sofisticadas desse tipo envolvem a cromatografia gás-líquido.

Quando a fase estacionária é sólida, o principal mecanismo de separação está baseado no fenômeno de *adsorção*. O sólido utilizado como fase estacionária pode ser qualquer material que não se dissolva na fase líquida. As fases estacionárias mais

comuns são sílica gel – $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ – e alumina – $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ –, que são utilizadas na forma pulverizada.

A adsorção da amostra ocorre na interface entre as fases móvel e estacionária, devido à presença de grupos ativos na superfície da fase sólida. Por exemplo, se alumina finamente dividida é utilizada como fase estacionária (**Figura 2.1**), as substâncias orgânicas irão adsorver (aderir) nas partículas de sólido. Algumas forças intermoleculares de intensidades diferentes que estão envolvidas no processo de adsorção incluem a (i) atração eletrostática (íon-íon), (ii) forças de dispersão de London, (iii) interações dipolo-dipolo e (iv) ligações de hidrogênio (**Figura 2.1**).

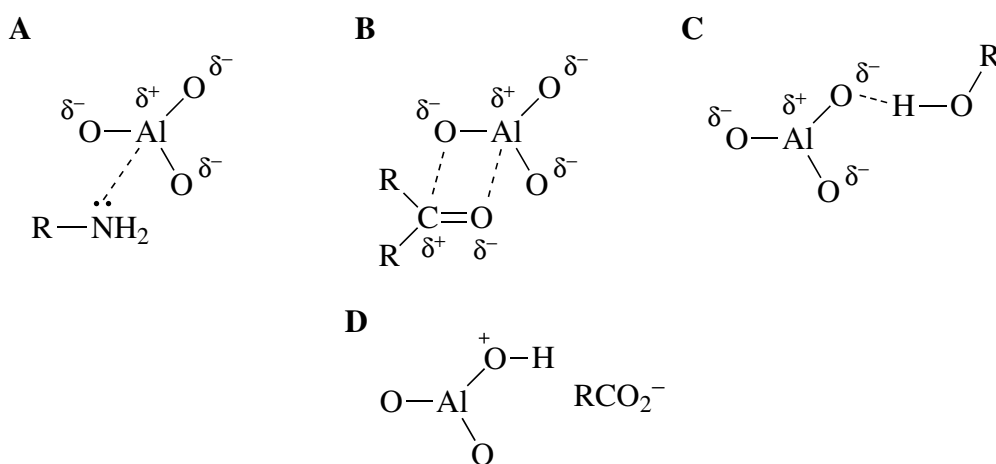


Figura 2.1: Principais tipos de interações intermoleculares entre compostos orgânicos e a alumina. Interações similares são observadas para a sílica ($\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$). **A** mostra a interação de coordenação formada entre o ácido de Lewis – alumina – e uma base de Lewis – amina primária. **B** mostra a interação dipolo-dipolo entre as ligações polares O–Al e C=O de um composto carbonílico. **C** mostra a ligação de hidrogênio estabelecida entre o oxigênio da alumina e o grupo hidroxila de um álcool. **D** mostra a protonação da alumina e o estabelecimento de um par iônico com um ânion carboxilato.

Deste modo, a força de interação varia com os tipos de compostos presentes no analito. Quanto mais polar o analito, maior a sua interação com a alumina e com a sílica gel. O equilíbrio de distribuição das moléculas sobre a superfície da fase estacionária sólida é dinâmico, com moléculas sendo constantemente adsorvidas e dessorvidas. Esse equilíbrio e as diferenças de adsorção entre os compostos de uma mistura são a base do processo de *separação* cromatográfica.

Uma classificação bastante comum dos métodos cromatográficos baseia-se na **geometria da superfície** na qual a separação ocorre:

- Se ocorre dentro de um **tubo** (de vidro ou metal), a cromatografia é denomi-

nada em **coluna**;

- Se ocorre em uma **superfície plana** (placa de vidro ou metal impregnada com a fase estacionária ou então uma folha de papel de filtro embebida com solvente), a cromatografia é **planar**.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um caso particular de cromatografia planar e de adsorção. Na química orgânica, a CCD é utilizada principalmente como uma ferramenta eficaz para várias análises. Dentre elas, tem-se:

1. Análise *qualitativa* da pureza de uma amostra;
2. Avaliação do número de componentes de uma mistura;
3. Determinação da identidade de uma amostra por comparação com um padrão;
4. Identificação de uma ou mais substâncias presentes em uma mistura por comparação com padrões;
5. Monitoramento do progresso de uma reação química;
6. Escolha de uma fase móvel apropriada para uma separação cromatográfica em coluna; e
7. Monitoramento de uma separação por cromatografia em coluna.

A CCD consiste em uma fase estacionária sobre uma placa de vidro, alumínio ou material plástico, na qual se aplica a amostra (**Figura 2.2**). Então, a amostra é eluída na placa de forma ascendente em uma câmara fechada (**Figura 2.3**), chamada de cuba cromatográfica, contendo a fase móvel apropriada.

Aspectos práticos da CCD

Placas de CCD As principais fases estacionárias utilizadas na CCD são sílica gel, alumina, sílica gel de fase reversa, celulose e poliamida. Essas fases são impregnadas sobre placas de vidro, plástico ou alumínio.

As placas de CCD podem ser adquiridas comercialmente ou ser preparadas em laboratório. Nesse último caso, elas devem ser secas ao ar e, então, “ativadas” em estufa a 110 °C a 120 °C, durante 1 hora. As placas devem ser guardadas em lugares onde a atmosfera seja a mais seca possível.

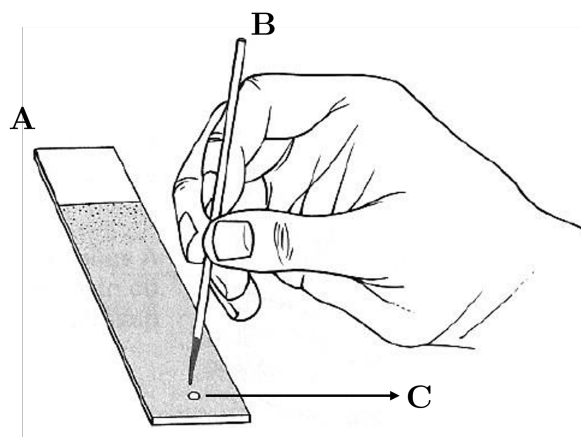


Figura 2.2: Aplicação de uma amostra em uma (A) placa cromatográfica. A amostra é succionada por um (B) tubo capilar, que é responsável por depositar uma pequena quantidade de amostra em uma altura pré-determinada da base da placa, formando um (C) *spot*.

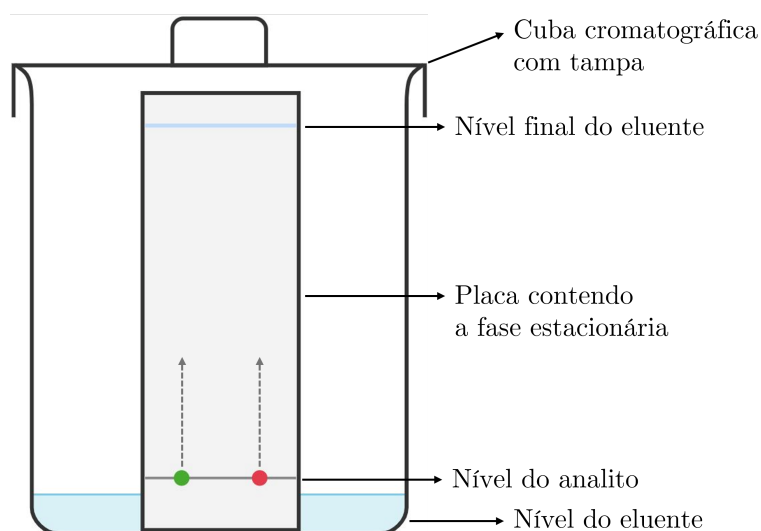


Figura 2.3: Cuba cromatográfica para eluição da placa de CCD. A figura mostra que o eluente, cujo nível inicial deve ser menor que o da aplicação da amostra, promove a eluição da amostra por ação capilar.

Aplicação das amostras As amostras a serem analisadas por CCD devem ser previamente dissolvidas em solvente orgânico volátil. A aplicação dessa solução sobre a placa cromatográfica deve ser efetuada a aproximadamente 1 cm de sua base inferior.

Nessa aplicação, pode-se utilizar um tubo capilar (**Figura 2.2**), cuja extremidade inferior esteja uniformemente seccionada. O capilar não pode danificar a fina camada de adsorvente, pois os resultados não serão reprodutíveis. Quando mais de uma amostra for aplicada sobre uma mesma placa, os pontos de aplicação devem

ser separados por, no mínimo, 1 cm.

Desenvolvimento da cromatografia (eluição) Após a aplicação da amostra sobre a placa, ela deve ser introduzida em uma cuba cromatográfica contendo a fase móvel apropriada (**Figura 2.3**). A altura da fase móvel na cuba não pode ultrapassar o ponto de aplicação da amostra na placa. Para que bons resultados sejam obtidos na CCD, é necessário que a cuba fique saturada com vapores da fase móvel. Para isso, as paredes laterais internas da cuba devem ser recobertas com papel filtro.

Uma vez introduzida a placa na cuba cromatográfica, o solvente ascenderá, por capilaridade, até a extremidade superior. Ao ascender, o solvente arrastará mais os compostos menos adsorvidos na fase estacionária, separando-os dos compostos mais adsorvidos. A placa deve ser retirada da cuba um pouco antes da frente do solvente alcançar a extremidade superior da placa.

Após a eluição da placa, seca-se a placa por simples exposição ao ar ou com um secador de ar quente. Como a maioria dos compostos orgânicos é incolor, deve-se realizar a **revelação** da placa cromatográfica.

Um exemplo de cromatograma final é mostrado na **Figura 2.4**. Nessa figura, pode-se observar que a amostra contém dois componentes: o componente 1, que ficou mais adsorvido à fase estacionária, e o 2, que ficou menos adsorvido à fase estacionária, tendo uma maior afinidade pela fase móvel. Se, para esse exemplo, a fase estacionária fosse sílica, uma conclusão plausível seria que a substância 1 é mais polar que a substância 2.

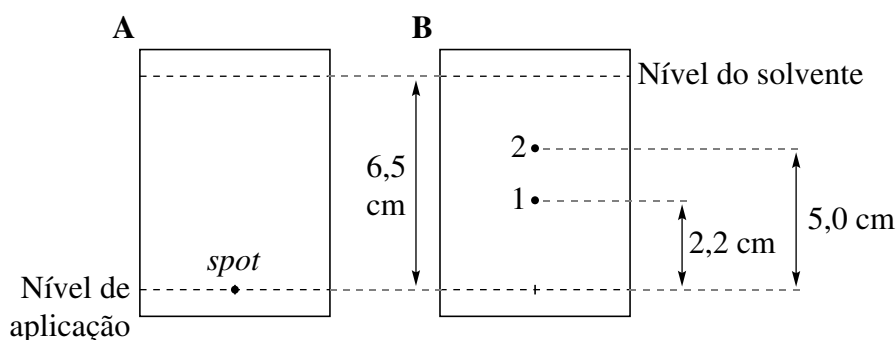


Figura 2.4: Exemplo de Cromatograma em Camada Delgada (CCD) com dimensões da placa (A) no estágio inicial e (B) após a eluição, e extensão de eluição, em cm.

Além disso, são apresentados os valores métricos necessário para calcular o R_f (do inglês, *Retention factor*, fator de retenção) para os componentes 1 e 2. O R_f

é definido como a razão entre a distância percorrida por um dado componente da amostra (desde o ponto de aplicação até o centro da mancha), r_x , e a distância percorrida pelo solvente (desde o ponto de aplicação até a linha final de avanço do solvente), r_{solv} (**Equação 2.1**).

$$R_f = \frac{r_x}{r_{\text{solv}}}. \quad (2.1)$$

O valor de R_f é um número adimensional, que varia entre 0 e 1. Dentro dessa faixa, substâncias com pequenos valores de R_f possuem maior afinidade pela fase estacionária, e substâncias com valores de R_f próximos a 1 possuem maior afinidade pela fase móvel do que pela fase estacionária. Para o exemplo mostrado na **Figura 2.4**, tem-se que o R_f do composto 1 é 0,34 e o do composto 2 é 0,77.

Embora seja característico de cada substância, o valor de R_f pode sofrer alterações devido a condições experimentais – *e.g.*, variação de fase estacionária, eluente e temperatura –. Portanto, para fins comparativos, é essencial realizar a análise sob as mesmas condições.

Escolha da fase móvel A escolha da fase móvel adequada para uma determinada separação por CCD é uma tarefa trabalhosa, para qual não existem regras fixas. Entretanto, considerando-se os conceitos básicos de polaridade de moléculas orgânicas e, através da experiência adquirida no trabalho de laboratório, a escolha da fase móvel se torna mais fácil.

Para se obter um bom cromatograma por CCD, o composto deve alcançar uma altura entre a metade e 2/3 da placa. Na **Figura 2.5A**, a fase móvel possui polaridade baixa a ponto dos dois componentes da amostra terem muita afinidade pela fase estacionária e nenhuma pela fase móvel, resultando em um R_f baixo. **Figura 2.5C**, a situação é totalmente oposta, ou seja, como a polaridade do eluente é muito alta, os dois componentes têm igual afinidade pela fase móvel, percorrendo a placa cromatográfica juntamente com a linha de frente do solvente. Assim, não se observa separação alguma.

Na **Figura 2.5B**, têm-se o eluente ideal, ou seja, com polaridade intermediária, que permite a interação das substâncias tanto com a fase móvel quanto com a fase estacionária. Essa interação permite a diferenciação entre as interações dos dois componentes pelo eluente e fase estacionária, promovendo a separação.

Nos casos em que a utilização de solventes puros não é suficientemente eficaz para se obter a separação desejada, pode-se usar mistura de solventes. A **Tabela 2.1**

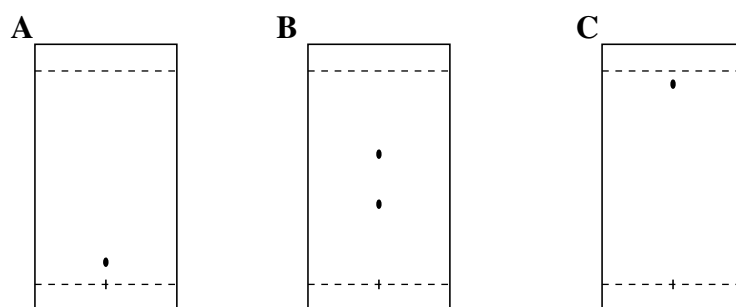


Figura 2.5: Exemplo de escolhas de solventes para CCD. Na placa **A**, o solvente utilizado possui polaridade baixa, não promovendo separação e mantendo o *spot* na base da placa. Em **B**, a polaridade promoveu a separação ideal dos compostos. Em **C**, o solvente foi polar demais, fazendo com que ambos os compostos fossem eluídos até o nível do solvente e não promovendo a separação.

(**Página 27**) mostra alguns solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade (SNYDER, 1968; KOWALSKA; KACZMARSKI; PRUS, 2003).

Reveladores Como a maioria das substâncias orgânicas é incolor, após a eluição e secagem da placa cromatográfica, ela deve ser revelada. Os reveladores mais comuns são: luz ultravioleta (UV), iodo, e reagentes químicos (ácido fosfomolibdico, solução de permanganato de potássio, etc).

Para a placa ser revelada em câmara UV, a fase estacionária deve conter substâncias fluorescentes, na proporção em massa de aproximadamente 1 %. A substância fluorescente absorverá luz na região do ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e emitirá luz em outra região do espectro. Essa emissão tem uma coloração característica esverdeada e brilhante. Assim, os locais onde houver substâncias orgânicas, principalmente aquelas contendo duplas ligações conjugadas ou sistemas aromáticos, impedirão a emissão de luz, aparecendo como manchas escuras.

Outra forma de revelação é introduzir a placa cromatográfica em uma câmara contendo cristais de iodo. Este, na forma de vapor, interage com os compostos orgânicos insaturados da placa, resultando em manchas de coloração marrom. Normalmente a interação com o iodo é reversível. A placa revelada dessa maneira deixada em repouso por algum tempo resulta no desaparecimento das manchas e pode ser revelada por outros métodos químicos. Somente compostos orgânicos que interagem com o iodo podem ser revelados dessa forma. Compostos, saturados, por exemplo, não se revelam e devem ser visualizados utilizando outros reagentes químicos, que constituem métodos destrutivos de revelação.

Os métodos destrutivos de revelação consistem usualmente na oxidação dos com-

Tabela 2.1: Série eluotrópica de solventes e força de eluição (ε^0) determinada em alumina.

Solvente	$\varepsilon_{\text{Al}_2\text{O}_3}^0$	Solvente	$\varepsilon_{\text{Al}_2\text{O}_3}^0$
Pentano	0,00	1,2-diCloroetano	0,49
Hexano	0,01	Etil metil cetona	0,51
Heptano	0,01	Acetona	0,56
Cicloexano	0,04	Dioxano	0,56
Dissulfeto de carbono	0,15	Acetato de etila	0,58
Tetracloroeto de carbono	0,18	Acetato de metila	0,60
Éter isopropílico	0,28	Pentan-1-ol	0,61
2-Cloropropano	0,29	Dimetilsulfóxido (DMSO)	0,62
Tolueno	0,29	Anilina	0,62
1-Cloropropano	0,30	Nitrometano	0,64
Clorobenzeno	0,30	Acetonitrila	0,65
Benzeno	0,32	Piridina	0,65
Bromoetano	0,37	Propan-2-ol	0,82
Éter dietílico	0,38	Etanol	0,88
Clorofórmio	0,40	Metanol	0,95
Diclorometano	0,42	Etilenoglicol	1,11
Tetraidrofurano (THF)	0,45	Ácido acético	> 1

postos orgânicos que estão sobre a superfície da placa, utilizando-se oxidantes fortes e às vezes temperaturas elevadas. Exemplos desses reagentes são o ácido fosfomolibdico e o permanganato de potássio. Esses reveladores são preparados na forma de solução, que é aspergida sobre a placa. A placa deve ser então aquecida em estufa, chapa de aquecimento ou com soprador térmico. As substâncias orgânicas serão oxidadas e reveladas na forma de pontos escuros.

Além dos reveladores de aplicação geral, existem reveladores que detectam apenas alguns compostos contendo certos grupos funcionais. Solução de 2,4-dinitrofenilidrazina, por exemplo, produz manchas amarelo-avermelhadas quando o composto possui função aldeído e/ou cetona, e o reagente de Dragendorff origina manchas alaranjadas na presença de alcalóides. A **Tabela 2.2** descreve alguns reveladores

gerais e específicos.

Tabela 2.2: Reveladores de compostos orgânicos em CCD.

Reagente	Revelador
Vanilina e H_2SO_4	Universal
Ácido fosfomolibdico	Universal
Ninidrina	Aminas primárias e secundárias
Anisaldeído	Compostos carbonílicos
Ftalato de anilínio	Açúcares redutores

2.1.2 Cromatografia em coluna

Se a fase estacionária sólida estiver contida em um tubo cilíndrico – usualmente de vidro – ao invés de estar sobre a superfície de um suporte, a cromatografia é classificada como cromatografia em coluna. Analogamente à CCD, a cromatografia em coluna também é uma cromatografia de adsorção. Ela é utilizada para separação e purificação de substâncias e os princípios que regem esse tipo de cromatografia são similares aos discutidos para CCD em 2.1.1.

A técnica da cromatografia em coluna consiste em adicionar um sólido adsorvente apropriado (fase estacionária) a um tubo de vidro na posição vertical, acrescentando-se, no topo da coluna, a mistura que se deseja fracionar (**Figura 2.6**).

Um eluente líquido (fase móvel), que pode ser constituído por um ou mais solventes miscíveis entre si, é adicionado ao sistema e, ao percorrer a coluna, “arrasta” as substâncias adsorvidas na fase estacionária. Os componentes da mistura que interagem mais fortemente com a fase estacionária apresentarão um deslocamento mais lento pela coluna. Os componentes que apresentarem interações mais fracas com a fase estacionária e mais fortes com a fase móvel se deslocarão mais rápido pela coluna. A diferença na velocidade de eluição dos componentes da mistura, devido às suas diferentes interações com a fase móvel e estacionária, fará com que eles se separem e formem bandas na coluna, que podem, então, ser coletadas. Assim, se alumina for utilizada como adsorvente, um composto de menor polaridade formará uma banda que será eluída mais rapidamente do que a banda de um composto mais polar (**Figura 2.7**).

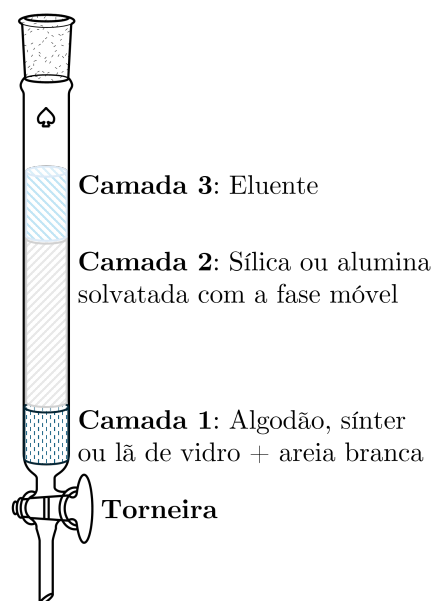


Figura 2.6: Coluna cromatográfica com as seções relevantes destacadas.

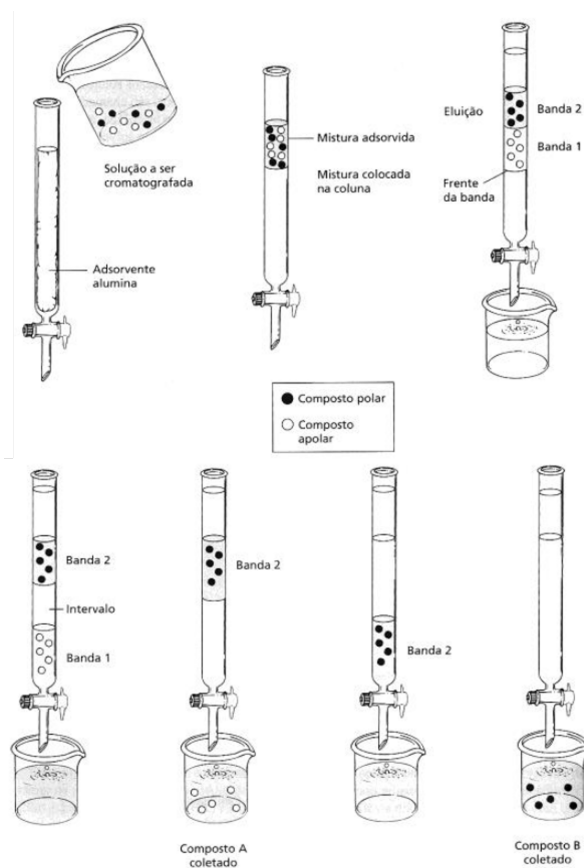


Figura 2.7: Etapas de uma separação em coluna cromatográfica com adsorvente polar.

Aspectos práticos da cromatografia em coluna

Apesar da cromatografia em coluna ser uma técnica versátil, sua eficiência depende do ajuste de alguns fatores, tais como (i) escolha do adsorvente, (ii) polaridade da fase móvel, (iii) tamanho (comprimento e diâmetro) da coluna em relação ao material a ser cromatografado e (iv) velocidade de eluição (fluxo). Além disso, uma separação cromatográfica eficiente depende da realização correta dos procedimentos envolvidos na cromatografia em coluna – *e.g.*, empacotamento e aplicação da amostra.

Escolha do adsorvente Vários tipos de adsorventes podem ser usados em cromatografia em coluna – *e.g.*, sílica gel, alumina, celulose e florisil. A escolha do adsorvente depende dos tipos de compostos a serem separados. Celulose, amido e açúcares são usados para separar compostos polifuncionais de origem natural, que são muito sensíveis às interações ácido-base. Sílica gel e florisil são adsorventes usados para separar muitos tipos de compostos – *e.g.*, hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, ésteres, azocompostos e aminas. Alumina também é amplamente empregada para separações por cromatografia em coluna.

Escolha da fase móvel Os mesmos solventes empregados na CCD podem ser utilizados como fase móvel na cromatografia em coluna. A CCD pode ser, inclusive, empregada para a escolha da fase móvel que será utilizada na cromatografia em coluna. Às vezes, um único solvente é capaz de separar todos os componentes de uma mistura. Outras vezes, deve-se utilizar uma mistura de solventes. Entretanto, uma prática muito comum é começar a eluição com um solvente apolar e aumentar gradualmente a polaridade da fase móvel. Isto é chamado de eluição gradiente. A eluição é dita isocrática quando se mantém a mesma polaridade da fase móvel durante todo o processo de separação.

Em geral, os compostos apolares são eluídos mais rapidamente que os compostos polares, quando se utiliza um adsorvente polar como sílica ou alumina.

Escolha do tamanho da coluna e da quantidade de adsorvente O tamanho da coluna e quantidade de adsorvente são parâmetros que também devem ser corretamente selecionados para que se tenha uma separação eficiente por cromatografia em coluna.

Como regra geral, a quantidade recomendada de adsorvente é de 25 a 30 vezes (em massa) da quantidade de material a ser separado e a coluna deve ter uma razão

de 8:1 entre o comprimento e o diâmetro. Entretanto, a escolha do tamanho da coluna e da quantidade de adsorvente depende significativamente da dificuldade de separação entre os componentes da mistura. Compostos que são difíceis de separar (por exemplo, compostos com valores de R_f próximos) podem exigir colunas mais longas e maior quantidade de adsorvente do que o especificado pela regra geral. Contrariamente, se os compostos se separam facilmente, uma coluna mais curta e menor quantidade de adsorvente podem ser utilizados.

Fluxo de fase móvel A velocidade com que a fase móvel flui pela coluna também é um importante fator na eficiência da separação. Em geral, o tempo que a mistura a ser separada fica na coluna é diretamente proporcional ao grau atingido pelo equilíbrio entre as fases móvel e estacionária. Assim, compostos semelhantes podem ser separados, se ficarem na coluna tempo suficiente. Entretanto, se o fluxo é muito lento, as substâncias dissolvidas da mistura podem difundir mais rapidamente do que serem eluídas. Neste caso, as bandas ficam mais largas e a separação piora. Portanto, um fluxo adequado de fase móvel deve ser utilizado para permitir a separação eficiente dos constituintes da mistura. Como regra geral, fluxo de 5-50 gotas por minuto costuma fornecer separações satisfatórias.

Empacotamento da coluna O empacotamento da coluna deve ser “homogêneo”, ou seja, livre de irregularidades, bolhas de ar ou falhas. Além disso, a face superior do adsorvente empacotado deve estar na horizontal assim como a coluna deve estar perfeitamente na vertical. A falha desses fatores pode ocasionar bandas não-horizontais (**Figura 2.8**), que prejudicam a separação.

Outro fenômeno, que pode prejudicar a separação, é a ondulação ou canalização (**Figura 2.9**). Isto ocorre quando a superfície do adsorvente tem falhas ou irregularidades ou se existirem bolhas de ar. Nesse caso, a parte da frente da banda avança mais rapidamente do que a maior parte da banda, pois se move pelo canal.

Antes do empacotamento, coloca-se uma pequena quantidade de algodão na extremidade inferior da coluna, de forma a evitar o escoamento da fase estacionária. Pode-se adicionar uma camada de areia sobre o algodão e depois sobre a fase estacionária empacotada. As camadas de areia têm a finalidade de manter a coluna de fase estacionária nivelada.

A introdução da fase estacionária na coluna pode ser feita na forma de uma suspensão na fase móvel. Essa suspensão deve ser adicionada lentamente à coluna, batendo-se continuamente ao longo da mesma, para que todo ar seja expulso e uma compactação uniforme seja obtida. Nunca o nível do solvente pode ficar abaixo do

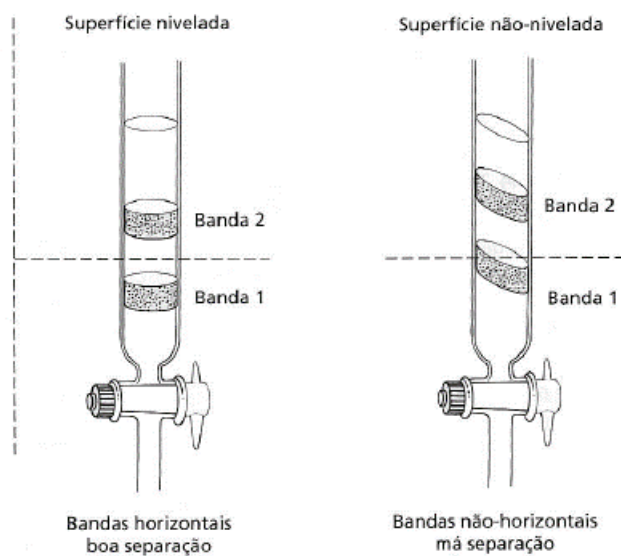


Figura 2.8: Comparação das bandas obtidas com e sem nivelamento.

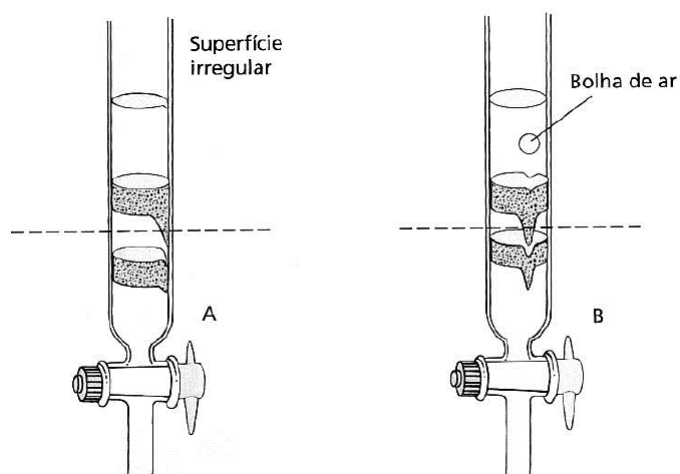


Figura 2.9: Problemas de canalização na coluna cromatográfica.

nível da fase estacionária, pois isso poderia causar a entrada de ar e a consequente formação de rachaduras na fase estacionária, que prejudicariam a separação.

Aplicação da amostra Se a amostra a ser purificada for líquida (e de baixa viscosidade), ela pode ser aplicada diretamente na coluna. Entretanto, se a amostra for um líquido viscoso ou um sólido, a amostra pode ser introduzida na coluna na forma de uma solução, que contém a amostra dissolvida em uma pequena quantidade de solvente (em geral, 2 mL a 3 mL). Essa pequena quantidade de solvente é necessária para que uma banda estreita da amostra seja obtida, que é ideal para a melhor separação dos constituintes da amostra.

Em casos em que a amostra é muito viscosa ou de solubilidade muito baixa na fase móvel, incorpora-se essa amostra em pequena quantidade da fase estacionária e, então, distribui-se uniformemente a amostra na forma de pó no topo da coluna.

Eluição Uma vez introduzida a amostra, deve-se iniciar a eluição, utilizando a fase móvel adequadamente escolhida. Ao contrário da CCD, na qual se utiliza eluição isocrática, na cromatografia em coluna é mais comum utilizar-se a eluição gradiente, que permite alterar gradativamente a composição da fase móvel. Assim, a eluição da amostra começa com um solvente apolar e, ao longo da análise, aumenta-se gradativamente a polaridade da fase móvel, através da adição de maior porcentagem de solventes mais polares à fase móvel.

Geralmente, a polaridade da fase móvel não pode ser drasticamente mudada. Se os calores de solvatação do adsorvente nos dois solventes forem muito diferentes, pode-se gerar aumento de temperatura na coluna, provocando “rachaduras” no seu interior, que prejudicam a eficiência da separação. A coluna pode rachar também se o nível da fase móvel ficar abaixo do nível da fase estacionária, ou seja, se a coluna secar. O uso de colunas com reservatório de solvente ou mesmo de funil de adição é conveniente para evitar a adição contínua de pequenas quantidades de solvente, aumentando a chance da ocorrência da secagem da coluna.

Monitoramento das frações coletadas Quando os compostos a serem separados são coloridos, pode-se monitorar visualmente a separação das bandas e coletá-las separadamente. Entretanto, como a maior parte dos compostos orgânicos não é colorida, outros métodos devem ser utilizados para a análise das frações coletadas. O mais comum deles, é a CCD.

Então, o que se faz é coletar frações de volume fixo. O volume coletado depende

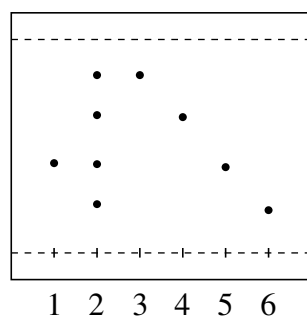


Figura 2.10: Monitoramento por CCD das frações coletadas em uma separação em coluna. A linha 1 possui apenas o *spot* do produto de interesse e a linha 2 é relativa à mistura reacional obtida. Cada linha subsequente é referente à coleta de um conjunto de volumes, mostrando a separação de cada substância presente na mistura.

da quantidade de amostra e da facilidade de separação. Em separações mais difíceis, devem ser recolhidas frações com volumes menores. Após a coleta, as frações são analisadas por CCD (**Figura 2.10**). De acordo com os resultados obtidos nessa análise, algumas frações podem ser reunidas e o processo de cromatografia em coluna encerrado.

2.2 Experimento A - CCD

2.2.1 Vidrarias, materiais e substâncias

- Proveta de 10 mL;
- Béquer de 25 mL ou 50 mL;
- Tubos de ensaio;
- Estante para tubos de ensaio;
- Placa cromatográfica;
- Cuba cromatográfica;
- Câmara UV;
- Etanol;
- Hexano;
- Acetato de etila;
- Acetanilida;
- β -naftol.

2.2.2 Procedimento experimental

1. Preparo das soluções de acetanilida e β -naftol:

(a) Meça aproximadamente 10 mg (0,01 g) de acetanilida e adicione a um

tubo de ensaio (Tubo 1). Repita o procedimento em um segundo tubo de ensaio (Tubo 2);

- (b) Meça aproximadamente 10 mg (0,01 g) de β -naftol e adicione a um terceiro tubo de ensaio (Tubo 3). Repita o procedimento, adicionado a massa ao Tubo 2;
- (c) Adicione 1 mL de etanol (álcool etílico) a cada tubo de ensaio.

2. Aplicação das soluções na placa cromatográfica:

- (a) Utilizado um lápis ou lapiseira, faça um risco fino horizontal na placa para indicar a altura da aplicação da amostra, que deverá ser de aproximadamente 1 cm;
- (b) Utilizando um capilar, aplique um “spot” de cada solução sobre uma placa de sílica (2,5 cm \times 5 cm) a 1,0 cm da extremidade inferior e aproximadamente 3 mm de cada lateral, mantendo os “spots” equidistantes. As soluções devem ser aplicadas na placa da seguinte forma: (i) solução contendo acetanilida; (ii) solução contendo β -naftol e (iii) solução contendo a mistura (acetanilida + β -naftol);
- (c) Evite a difusão do “spot” de forma que seu diâmetro não ultrapasse 2 mm durante a aplicação da amostra e deixe o solvente evaporar.

3. Desenvolvimento do cromatograma:

- (a) Prepare uma cuba com 4 mL de hexano;
- (b) Coloque cuidadosamente a placa na cuba, evitando que o ponto de aplicação da amostra fique submerso;
- (c) Quando o solvente atingir cerca de 3 mm do topo da placa, remover a placa e marcar a altura até a qual o solvente percorreu (linha de chegada da fase móvel). Deixe secar ao ar;
- (d) Introduza sua placa em uma câmara UV, observe e anote as posições das manchas;
- (e) Copie a placa com as substâncias separadas (cromatograma), obedecendo fielmente a distância entre o ponto de aplicação e a frente do solvente, bem como a distância percorrida por cada substância, iniciando pelo ponto de aplicação até o centro de maior concentração da mancha;
- (f) Repita os procedimentos utilizando os seguintes solventes: acetato de etila e uma mistura hexano:acetato 2:3 (v:v).

2.3 Experimento B - Cromatografia em Coluna de Sílica

2.3.1 Vidrarias, materiais e substâncias

- Bureta de 25 mL;
- Probeta de 100 mL;
- Pipeta graduada de 1 mL;
- Tubos de ensaio;
- Bastão de vidro;
- Estante para tubos de ensaio;
- Placa cromatográfica;
- Cuba cromatográfica;
- Câmara UV;
- Hexano;
- Acetato de etila;
- Acetanilida;
- β -naftol.

2.3.2 Procedimento experimental

1. Preparo de uma solução contendo acetanilida e β -naftol:
 - (a) Meça aproximadamente 10 mg (0,01 g) de acetanilida e adicione a um tubo de ensaio;
 - (b) Meça aproximadamente 10 mg (0,01 g) de β -naftol e adicione ao mesmo tubo de ensaio;
 - (c) Adicione 0,5 mL de uma mistura hexano:acetato de etila 2:3 (v:v) ao tubo de ensaio contendo os compostos e agite até completa solubilização;
 - (d) Com o auxílio de uma pipeta, separe, em um outro tubo de ensaio, um padrão da mistura a ser colocada na coluna (aproximadamente 0,05 mL da solução inicial).
2. Preparo da coluna cromatográfica:
 - (a) Coloque a bureta em um suporte universal e utilize duas garras para fixá-la;
 - (b) Prepare duas bolinhas de algodão de aproximadamente 1 cm de diâmetro, molde-as na forma de um cogumelo e, com o auxílio de um bastão de vidro, empurre uma das bolinhas até o final da coluna;

- (c) Em um béquer de 50 mL, meça aproximadamente 5 g de sílica-gel (70-230 mesh). Em seguida, adicione 13 mL da mistura preparada, misture bem e despeje a suspensão resultante na coluna. Coloque um béquer abaixo da coluna para coleta o excesso de solvente;
- (d) Após escoar o solvente em excesso, tomando o cuidado não deixar que a sílica seque, adicione a mistura previamente preparada com o auxílio de uma pipeta de 1 mL;
- (e) Prepare 50 mL de uma solução hexano:acetato 2:3 (v:v) e adicione na coluna;
- (f) Recolha frações em tubos de ensaio de 1,5 mm de diâmetro, preenchendo o tubo até a altura de 3 cm;
- (g) Acompanhe, por cromatografia em camada delgada (CCD), a separação dos produtos. Para tal, adicione à placa, um *spot* da solução padrão previamente separada e mais três *spots*, um de cada tubo de ensaio. Utilize a luz UV como revelados (254 nm) e o mesmo eluente utilizado na coluna.

Experimento 3

Síntese e recristalização do ácido acetilsalicílico (AAS)

3.1 Introdução

Compostos carbonilados são substratos muito importantes na indústria química e em ambientes de pesquisa. Dentre as inúmeras reações que um núcleo carbonílico pode realizar, as substituições nucleofílicas no carbono acílico (S_NAc) se destacam, pois tomam proveito da eletrofilia do centro carbonílico. Dentre as funções carboniladas que são passíveis de reagirem por (S_NAc), os derivados de ácido carboxílico – *e.g.*, cloretos de ácido (cloretos de acila), anidridos, ésteres, amidas e fosfatos de acila – se destacam (**Figura 3.1**).

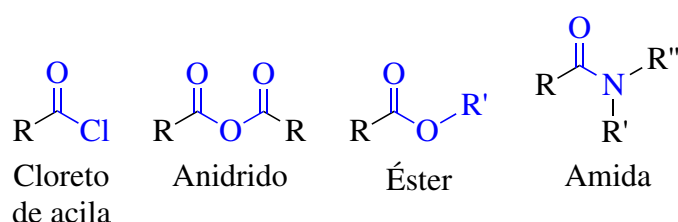


Figura 3.1: Exemplos de derivados carbonílicos passíveis de reagirem por S_NAc .

De modo geral, as reações de S_NAc são descritas por (i) uma ativação inicial do centro carbonílico, que pode ser feita com um catalisador ácido de Brønsted-Lowry ou de Lewis, seguida de (ii) um ataque nucleofílico do reagente ao centro carbonílico, formando um intermediário tetraédrico, e subsequentes (iii) eliminação do grupo abandonador do substrato e (iv) regeneração do catalisador ácido (**Figura 3.2**).

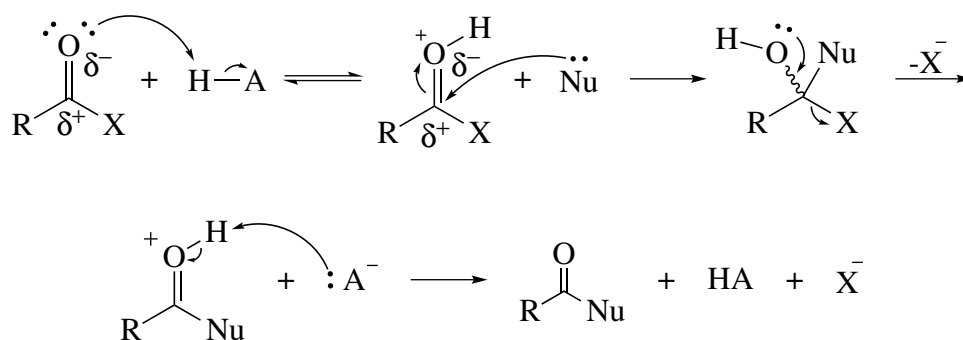


Figura 3.2: Mecanismo de uma reação do tipo S_NAc , passando pela protonação da carbonila, tornando o carbono mais eletrofílico, seguida pelo ataque nucleofílico do nucleófilo (Nu) e formação do intermediário tetraédrico, que leva a formação da carbonila final com a eliminação do grupo abandonador X e subsequente regeneração do catalisador ácido HA.

O ácido acetilsalicílico (AAS)

O ácido acetilsalicílico é um composto anti-inflamatório não estereoidal (do inglês, *non-steroidal anti-inflammatory drug*, NSAID) e possui propriedades anti-inflamatórias, antipiréticas e anticoagulantes. Além disso, é classificada como um inibidor não-seletivo da enzima ciclooxygenase (COX), perturbando a produção de prostaglandinas pela atuação na COX-1 e COX-2 (VANE; BOTTING, 2003).

Esse composto é vendido na forma de genérico, tanto para uso adulto como infantil, e também como o fármaco Aspirina[®]. São medicamentos altamente consumidos e estima-se que em torno de 120 bilhões de comprimidos sejam consumidos por ano (WARNER; MITCHELL, 2002).

Industrialmente, o ácido acetilsalicílico é obtido a partir do ácido salicílico (ácido *orto*-hidroxibenzoico). Esse, por sua vez, é obtido a partir de uma variação do processo Kolbe-Schmitt, desenvolvido inicialmente em 1860. A síntese do ácido salicílico envolve (i) a reação do fenol com uma base forte, fornecendo um fenolato metálico que (ii) reage com gás carbônico, formando um intermediário aniônico que é subsequente (iii) acidificado com uma solução aquosa de pH 4,0 (Figura 3.3) (SERGEEV; RODIKOVA; ZHIZHINA, 2024).

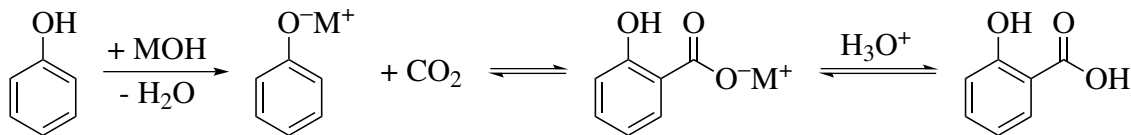


Figura 3.3: Reação de formação do ácido salicílico a partir do fenol utilizando o processo Kolbe-Schmitt. O fenol reage com uma solução aquosa alcalina (MOH) para formar o fenolato metálico. Esse reage com CO₂, formando o *orto*-hidroxibenzenocarboxilato, que é subsequente protonado.

A síntese de AAS a partir do ácido salicílico envolve uma reação de acetilação utilizando anidrido acético e um catalisador ácido. Essa reação será realizada no experimento 3 e envolve a reação de S_NAc do ácido salicílico com o anidrido acético protonado, promovendo a liberação de ácido acético com subproduto (Figura 3.4).

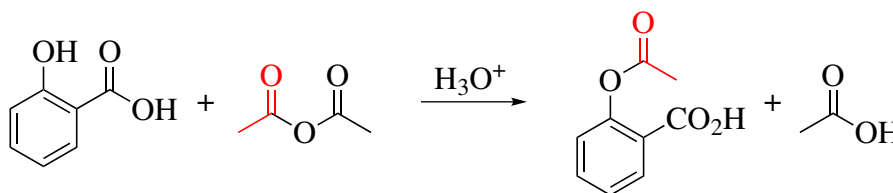


Figura 3.4: Reação de formação do ácido acetilsalicílico a partir do ácido salicílico na presença de anidrido acético em meio ácido.

3.2 Experimento A - Síntese do AAS

3.2.1 Vidrarias e materiais

- Alonga de borracha;
- Balança analítica;
- Barra de agitação magnética;
- Bastão de vidro;
- Bomba de vácuo;
- Cuba para banho de gelo;
- Erlenmeyer de 125 mL;
- Espátula;
- Estante para tubos de ensaio;
- Cuba cromatográfica
- Funil de Büchner;
- Kitassato;
- Papel de filtro;
- Pipeta graduada de 10 mL (2);
- Pipetador;
- Placa de aquecimento com agitação magnética;
- Termômetro;
- Tubo de ensaio;
- Vidro de relógio;
- Tubo capilar;
- Placa de CCD (sílica gel em alumínio).

3.2.2 Substâncias químicas

- Ácido salicílico;
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (fração em massa de 98 %);
- Anidrido acético;
- Solução reveladora de KMnO_4 (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 e 5 mL de uma solução 5 g mL^{-1} de NaOH em 300 mL de H_2O);
- Etanol;
- Acetato de etila.

3.2.3 Procedimento experimental

1. Adicionar 0,015 mol de ácido salicílico, 0,05 mol de anidrido acético e 5 gotas de ácido sulfúrico a um frasco Erlenmeyer de 125 mL;

2. Agitar o Erlenmeyer até a solubilização completa e aquecer em banho-maria (80 °C) por aproximadamente 20 minutos¹. Tampe o Erlenmeyer com um vidro de relógio durante o aquecimento para evitar que a condensação do banho-maria caia dentro do frasco;
3. Remover o frasco do banho-maria e deixar esfriar até a temperatura ambiente, estágio no qual deve se observar a precipitação do produto. Caso não seja observada a formação de sólido, atritar as paredes do Erlenmeyer suavemente ou verter a mistura reacional em um béquer contendo gelo picado;
4. Após a formação dos cristais do produto, adicionar 20 mL de água gelada, agitar o frasco e resfriar em banho de gelo. Caso a formação inicial de sólido não seja observada, não adicionar água;
5. Faça a filtração à vácuo utilizando um funil de Büchner e um papel de filtro previamente pesado. Transfira o líquido reacional inicialmente, tomando o cuidado para não passar sólido. Depois, quebre quaisquer aglomerações de sólido usando um bastão de vidro e adicione mais 10 mL de água gelada. Agite o frasco, resfrie-o brevemente e promova a filtração de todo o conteúdo no funil. Use pequenas porções de água gelada para transferir qualquer sólido remanescente no Erlenmeyer e para lavar o sólido obtido.

Após a síntese, é importante realizar uma análise cromatográfica (CCD) do produto obtido de modo a confirmar que os materiais de partida foram consumidos e que o produto foi sintetizado. Para tal, siga o procedimento abaixo:

1. Separe aproximadamente 0,01 g (ponta de espátula) do produto obtido em um tubo de ensaio e 0,01 g (ponta de espátula) do ácido salicílico em outro tubo de ensaio;
2. Solubilize ambos os compostos com gotas de etanol;
3. Prepare uma placa de CCD e aplique três soluções da seguinte forma: a primeira solução deve conter o ácido salicílico, a segunda deve conter o produto e a terceira, uma coaplicação de ambos os compostos;
4. Prepare uma cuba cromatográfica e adicione uma pequena quantidade de uma mistura hexano:acetato de etila 1:2 (v:v) e promova a eluição da placa cromatográfica;

¹As condições experimentais foram otimizadas em relação aos parâmetros originais de acordo com os estudos conduzidos por Domingues *et al.* e Luz *et al.* (DOMINGUES; MAGALHÃES; SANDRI, 2022; LUZ *et al.*, 2019).

5. Revele a placa na câmara de UV e com a solução reveladora de KMnO_4 . É importante realizar a revelação na câmara de UV antes de revelar no permanganato, já que a placa ficará manchada de forma irreversível pelo agente oxidante.

3.3 Experimento B - recristalização do AAS

3.3.1 Vidrarias e materiais

- Erlenmeyer de 125 mL (3);
- Chapa de aquecimento e agitação;
- Pérolas de aquecimento;
- Termômetro de mercúrio;
- Suporte universal;
- Garra;
- Mufa;
- Tubos de ensaio (9);
- Estante para tubos de ensaio;
- Papel de filtro;
- Pipeta de 2 mL de plástico (4);
- Vidro de relógio (2);
- Bastão de vidro;
- Recipiente para banho de gelo;
- Kitassato;
- Alonga de borracha;
- Funil de Büchner;
- Bomba de vácuo ou sistema de trompa d'água;
- Proveta de 10 mL (3);
- Pipeta graduada de 2 mL (2);
- Placas de CCD (sílica gel 70-230 mesh sobre alumínio) (3);
- Tubo capilar (3);
- Cuba para cromatografia;
- Câmara UV com lâmpada de 256 nm;
- Espátula.

3.3.2 Substâncias químicas

- Etanol absoluto;
- Tolueno;
- Água destilada;
- Éter etílico

- Acetato de etila;
- Ácido acético;
- Hexano;
- Ácido salicílico;
- Ácido acetilsalicílico bruto;
- Solução 0,01 g mL⁻¹ de FeCl₃².

3.3.3 Procedimento experimental

Os grupos serão divididos em três conjuntos de modo a testar e comparar três metodologias similares de recristalização – utilizando (i) uma mistura etanol:água, (ii) tolueno e (iii) acetato de etila. As variáveis comparadas serão o rendimento e pureza do produto final.

Recristalização com um sistema etanol:água

1. Como procedimentos pré-experimentais, separar e pesar um papel de filtro seco e adicionar 50 mL de água destilada a um frasco Erlenmeyer de 125 mL. Então, aquecer a água em uma chapa de aquecimento, com auxílio de pérolas de aquecimento, até 50 °C (monitorar com o termômetro);
2. Adicionar 30 mL de etanol absoluto a um frasco Erlenmeyer, adicionar algumas pérolas de aquecimento, e esquentar esse solvente em uma chapa de aquecimento até uma temperatura de 70 °C³;
3. Separe uma pequena quantidade do produto bruto em dois tubos de ensaio. Então, adicione o restante do ácido acetilsalicílico bruto, previamente pesado, a um frasco Erlenmeyer de 125 mL e dissolva-o na menor quantidade possível de etanol quente, deixando-o na chapa de aquecimento. Adicione o etanol em várias porções de pequeno volume e agite o frasco após cada adição para ter certeza que a menor quantidade de solvente foi adicionada⁴. Caso observe partículas insolúveis, filtre essa solução à quente para que essas impurezas não prejudiquem a recristalização;

²A solução pode ser preparada dissolvendo a massa necessária de FeCl₃ no volume apropriado de água destilada, mantendo a proporção de 0,01 g mL⁻¹ (1 %, m/v), adicionar NaOH até observar a formação de um sólido marrom e filtrar a solução resultante.

³Dica: aqueça os frascos Erlenmeyer contendo a água e o etanol absoluto ao mesmo tempo. Para tal, aqueça o frasco com etanol na parte central da chapa de aquecimento e o frasco com água, nas partes mais distantes do centro.

⁴Procure realizar essa etapa com uma certa rapidez, para evitar que o solvente evapore e que a solução fique mais saturada que o necessário.

4. Adicione a água morna em pequenas porções ao frasco Erlenmeyer contendo a solução etanólica do produto até observar uma **leve** turbidez que não é revertida após agitação do frasco.
5. Adicione **gotas** de etanol quente ao frasco até que a solução fique translúcida. É importante adicionar apenas a quantidade necessária de etanol para que esse fenômeno seja observado.
6. Retire o frasco da chapa de aquecimento, tampe-o com um vidro de relógio pequeno e deixe-o resfriar na superfície da bancada até a temperatura ambiente. Não agite o frasco nem force um resfriamento bruto antes dos primeiros cristais serem observados. Caso os cristais não sejam observados, arranhe as paredes e a base do frasco com um bastão de vidro, criando sítios de nucleação para o crescimento dos cristais;
7. Após a formação dos primeiros cristais, resfrie o frasco em um banho de gelo para forçar a cristalização total.
8. Filtre os cristais obtidos, lavando-os com pequenas porções de água destilada gelada. Procure usar a menor quantidade de água possível, suficiente apenas para limpar o Erlenmeyer e lavar o sólido algumas vezes.

Recristalização com tolueno

O procedimento a ser realizado é o mesmo do anterior, porém, dissolva o ácido acetilsalicílico com a menor quantidade de tolueno à quente. O tolueno deve ser aquecido até uma temperatura de 80 °C. Então, deixe o frasco resfriar na bancada e aguarde a formação dos cristais. Caso não observe a formação de cristais, adicione uma pequena quantidade de éter etílico ao frasco e resfrie-o em banho de gelo, além de arranhar as paredes do frasco com um bastão de vidro. Após a formação dos primeiros cristais, deixa o frasco resfriar em banho de gelo. Posteriormente, filtre o sólido e lave-o com pequenas porções de tolueno gelado.

Recristalização com acetato de etila

A recristalização do produto com acetato de etila é feita dissolvendo o sólido na menor quantidade possível de acetato de etila (por volta de 5 mL a cada 3 g de produto). Então, aqueça a mistura em banho maria (40 °C) por 10 minutos sob agitação com o bastão de vidro até começar a recristalização. Depois, retire o frasco do aquecimento, deixe-o em repouso e coloque-o em banho de gelo para forçar a

cristalização total. Posteriormente, filtre o sólido e lave-o com pequenas porções de acetato de etila gelado.

Verificação da pureza por CCD

Para atestar a pureza do produto e verificar a eficiência do processo de recristalização, retire uma alíquota (ponta de espátula) dos cristais obtidos e coloque-a em um tubo de ensaio, dissolvendo o conteúdo em gotas de etanol absoluto. Essa solução etanólica será o padrão do produto recristalizado. Utilizando esse padrão e o do produto bruto, realize uma análise de CCD.

Para a análise de CCD, três sistemas de eluente serão testados. O primeiro deles será uma mistura acetato de etila:ácido acético 95:5 (v:v). O segundo será uma mistura hexano:acetato de etila 1:1 (v:v). O terceiro será uma mistura hexano:acetato de etila:ácido acético 65:30:5 (v:v:v). O intuito é verificar qual dessas três misturas de solventes irá fornecer o melhor resultado.

Então, marque três placas de alumínio recobertas com sílica para CCD com três pontos cada uma. O primeiro ponto deverá conter o ácido salicílico de partida, o segundo, o produto bruto e o terceiro, o produto recristalizado. Lembre-se de fazer as marcações inferior e superior em cada placa.

Revele as placas em uma câmara de UV (256 nm) após cada eluição e anote os valores de R_f .

Teste qualitativo com cloreto de ferro(III)

O segundo teste para atestar a pureza do produto envolve a análise da presença de grupos fenólicos pela reação característica com FeCl_3 .

1. Prepare sete tubos de ensaio com diâmetro pequeno. Aos Tubos 1 a 4, adicione 3 mL de uma solução neutra de FeCl_3 , 1 g mL^{-1} ;
2. Adicione 2 mL de água destilada ao Tubo 5 (controle negativo);
3. Adicione uma alíquota (ponta de espátula) de ácido salicílico ao Tubo 6 e dissolva-a em 2 mL de água quente (controle positivo);
4. Adicione uma alíquota (ponta de espátula) do produto recristalizado ao Tubo 7 e dissolva-a em 2 mL de água quente;
5. O Tubo 8 será composto pela alíquota do produto bruto dissolvida com 2 mL de água quente;

6. Adicione o conteúdo do Tubo 5 ao do Tubo 1, do Tubo 6 ao do Tubo 2, do Tubo 7 ao Tubo 3, e do Tubo 8 ao Tubo 4. Anote as observações.

Referências

- DOMINGUES, L. A.; MAGALHÃES, C. G.; SANDRI, M. C. M. Síntese do Ácido Acetilsalicílico: Uma proposta para Laboratórios de Graduação empregando a Química Verde. **Química Nova na Escola**, v. 44, p. 105–114, 2022. DOI: [10.21577/0104-8899.20160301](https://doi.org/10.21577/0104-8899.20160301). Citado na p. [43](#).
- HAYNES, W. M.; LIDE, D. R.; BRUNO, T. J. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 95. ed. [S.l.]: CRC Press, 2015. P. 2666. ISBN 978-1482208672. Citado nas pp. [9](#), [11](#).
- KOWALSKA, T.; KACZMARSKI, K.; PRUS, W. Handbook of Thin-Layer Chromatography. In: [s.l.]: CRC Press, 2003. Theory and Mechanism of Thin-Layer Chromatography, p. 44. ISBN 9780429223174. Citado na p. [26](#).
- LUZ, L. T. S. et al. Avaliação e otimização das condições de obtenção do ácido acetilsalicílico para fins didáticos. **Educación Química**, v. 30, p. 54–69, 2019. DOI: [10.22201/fq.18708404e.2019.2.67393](https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2019.2.67393). Citado na p. [43](#).
- SERGEEV, E. E.; RODIKOVA, Y. A.; ZHIZHINA, E. G. Salicylic Acid Synthesis Methods: A Review. **Catalysis in Industry**, v. 16, p. 312–329, 2024. DOI: [10.1134/S2070050424700168](https://doi.org/10.1134/S2070050424700168). Citado na p. [41](#).
- SNYDER, L. R. **Principles of Adsorption Chromatography: The Separation of Nonionic Organic Compounds**. [S.l.]: Marcel Dekker Inc, 1968. v. 3, p. 429. ISBN 9780824716394. Citado na p. [26](#).
- VANE, J. D.; BOTTING, R. M. The mechanism of action of aspirin. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 255–258, 2003. DOI: [10.1016/S0049-3848\(03\)00379-7](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(03)00379-7). Citado na p. [41](#).
- WARNER, T. D.; MITCHELL, J. A. Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a COX continuum? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 13371–13373, 2002. DOI: [10.1073/pnas.222543099](https://doi.org/10.1073/pnas.222543099). Citado na p. [41](#).
- WILLIAMSON, K. L.; MASTERS, K. M. **Macroscale and Microscale Organic Experiments**. 6. ed. [S.l.]: Cengage Learning, 2010. P. 816. ISBN 978-0538733335. Citado na p. [8](#).