

Extração e separação cromatográfica de pigmentos de pimentão vermelho: experimento didático com utilização de materiais alternativos

Juliano Carlo Rufino Freitas

Jucleiton José R de Freitas

Ladjane Pereira da Silva

João R de Freitas Filho

Resumo

A separação cromatográfica utilizando pigmentos extraídos de produtos naturais proporciona uma abordagem didática e interessante para o estudante do ensino médio, e permite o acompanhamento de uma separação pela simples observação das cores dos pigmentos possibilitando uma correlação entre a Química e o cotidiano. Este artigo descreve um experimento de extração e separação cromatográfica de pigmento de pimentão utilizando materiais alternativos. No experimento usou-se a farinha de trigo como fase estacionária, e o removedor de gordura e de esmaltes como solventes. O experimento permitiu ilustrar conceitos de misturas, substâncias, solubilidade, polaridade e de funções orgânicas. Vale salientar que metodologia além de ilustrativa e de utilizar materiais alternativos, mostrou-se bastante eficiente na separação dos principais componentes do pigmento do pimentão vermelho.

Palavras-chave: cromatografia, materiais alternativos, pigmentos.

Abstract

Extraction and separation of pigments of red pepper by column chromatography: teaching experiment with the use of alternative materials

The chromatographic separation using pigments extracted from natural products provides an interesting and didactic approach to the high school student, and allows monitoring of a separation by simply observing the color pigments allowing a correlation between chemistry and daily life. This paper describes the pepper pigments extraction and chromatographic experiment using unconventional materials. In the experiment flour was used as stationary phase and nail polish remover as solvents. With this experiment was possible to show some chemistry concepts as mixtures components, substances, solubility, polarity and organic functions. The methodology and use of alternative materials provide to be effective to separate the main components of the red pepper pigment.

Keywords: chromatography, alternative materials, pigments.

Introdução

A utilização de substâncias naturais tem sido empregada como uma importante alternativa metodológica para o ensino de química, principalmente, aquelas relacionadas ao emprego dos conceitos e técnicas utilizadas na química orgânica, como a cromatografia e extração de óleos essenciais (Fonseca e Gonçalves, 2004).

Segundo Ribeiro e Nunes (2008), a cromatografia é uma técnica de separação bastante adequada para ilustrar os conceitos de interações intermoleculares, polaridade e propriedades de funções orgânicas, com uma abordagem ilustrativa e relevante. A cromatografia pode ser utilizada tanto para a identificação de compostos por comparação com padrões previamente existentes, para a purificação de compostos, separando-se as substâncias indesejáveis, como para a separação dos componentes de uma mistura (Degani *et al.*, 1998).

Neste sentido, diversos experimentos envolvendo ensaios cromatográficos são descritos na literatura, uns utilizando como fase estacionária a sílica gel e alumina (Collins *et al.*, 1997), outros utilizando materiais alternativos como, o giz (Oliveira *et al.*, 1998), mistura de areia e mármore (Celeghini e Ferreira, 1998) e o açúcar comercial (Fonseca e Gonçalves, 2004), os quais favorecem a análise e separação dos princípios ativos de medicamentos (Ikan, 1991), extrato de folhas de

espinafre (Fonseca e Gonçalves, 2004; Quach *et al.*, 2004), tinta de caneta (Bessler e Neder, 2004), extrato de flores (Okumura *et al.*, 2002), pigmentos de pimentões (Ribeiro e Nunes, 2008) entre outros.

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivos: a) propor um experimento de extração e separação cromatográfica, utilizando materiais alternativos de fácil aquisição para obtenção dos três principais constituintes do pigmento do pimentão vermelho; b) ilustrar conceitos de misturas, substâncias, terpenos, xantofilas, solubilidade, polaridade e funções orgânicas; c) demonstrar os princípios básicos da cromatografia em coluna e caracterizar as frações correspondentes às misturas por cromatografia em camada delgada, usando como parâmetros as cores e o fator de retenção (R_f) das manchas apresentadas no cromatograma.

Metodologia

Materiais alternativos utilizados

Utilizou-se seringas de 50 mL (1), pimentões vermelhos (2), removedor de gordura (mistura de hidrocarbonetos) (3), removedor de esmalte (contendo acetona) (4), quenga de coco (funcionou como cadinho) (5), mão de pilão (funcionou como pistilo) (6), lamparina, frasco de alimentação infantil (7), garrafa PET, lâmina, frasco de maionese, algodão, papel de filtro de coar café (8), farinha de trigo (9), sal de cozinha, colher de plástico (10), caneta esferográfica (capilar) (11), giz e fogão doméstico (Figura 01).



Figura 01: Materiais alternativos utilizados

Procedimento Experimental

Preparação da amostra

Os pimentões foram picados em pedaços pequenos, sendo pesado cerca de 30 g, aos quais foram adicionados 10 mL do removedor de esmalte e 30 mL do removedor de gordura. A mistura

foi macerada, com auxílio de uma quenga de coco, e deixada em repouso por 30 min. Após esse período, a mistura foi filtrada em funil, confeccionado com gargalo de garrafa PET e papel de filtro de coar café (Figura 02).



Figura 02: Confeção e utilização do filtro

Após a filtração, as duas fases formadas foram separadas com o auxílio de uma seringa de 50 mL (usada como funil de separação). Esse procedimento resultou em cerca de 30 mL da fase superior de interesse. A esta fase foi adicionado sal de cozinha como agente secante (para eliminar traços de água). O produto resultante foi concentrado até o volume de 1 mL, com auxílio da chama de uma lamparina.

Preparação de placas analíticas para cromatografia em camada delgada (ccd)

As placas analíticas para cromatografia em camada delgada (ccd) foram preparadas a partir de uma suspensão do adsorvente (mistura de 3 g farinha de trigo e 1 g de gesso) em água, sendo a mistura depositada sobre uma lâmina de vidro manualmente (Figura 03).



Figura 03: Preparação de placas analíticas cromatografia em camada delgada (ccd)

Após a deposição, a placa foi deixada para secar à temperatura ambiente. Em seguida as placas preparadas foram ativadas durante 30 minutos em um forno de fogão doméstico.

Preparação da cuba cromatográfica

A cuba cromatográfica foi preparada com um frasco de maionese de 250 mL com tampa, contendo um pedaço de filtro de papel para coar café embebido com a fase móvel (sistema eluente de 90% do removedor de gordura e 10% do removedor de esmalte), deixando a atmosfera interna do recipiente saturada com vapores da fase móvel para facilitar a eluição cromatográfica (desenvolvimento do cromatograma).

Aplicação da amostra na cromatografia em camada delgada (ccd)

O concentrado resultante extraído do pigmento do pimentão vermelho foi aplicado em uma placa analítica com dimensões de 2,5 por 7,5 cm (confeccionada com farinha de trigo e gesso). O procedimento consistiu em colocar duas gotas (cerca de 1 cm acima da borda) da amostra em dois pontos diferentes da placa (figura 04), com auxílio de um capilar (caneta esferográfica). Após a evaporação do solvente, a placa foi posicionada na cuba cromatográfica de modo que o nível da fase móvel ficasse abaixo do ponto onde a amostra havia sido aplicada. Em seguida o extrato aplicado na placa foi eluído.

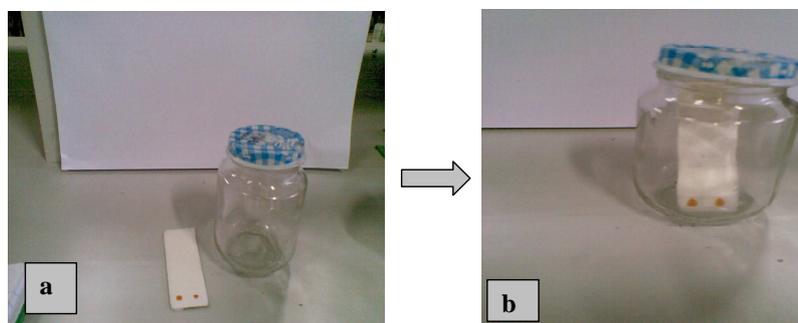


Figura 04: a) aplicação da amostra no ccd, b) utilização da cuba para corrida cromatográfica

Empacotamento e desenvolvimento da coluna

Uma seringa de 50 mL foi presa na posição vertical em um suporte confeccionado com uma caixa de papelão, em seguida foi colocado um pequeno chumaço de algodão (o suficiente para impedir a passagem da farinha de trigo), o mesmo foi empurrado com um pedaço de bambu fino até a junção do corpo da coluna com o local de saída do eluente. Em seguida a coluna foi empacotada com farinha de trigo misturada ao removedor de gordura (figura 05). Logo após o empacotamento, o concentrado extraído do pimentão vermelho foi adicionado à coluna, seguido da adição de mais removedor de gordura, para obtenção do primeiro constituinte.

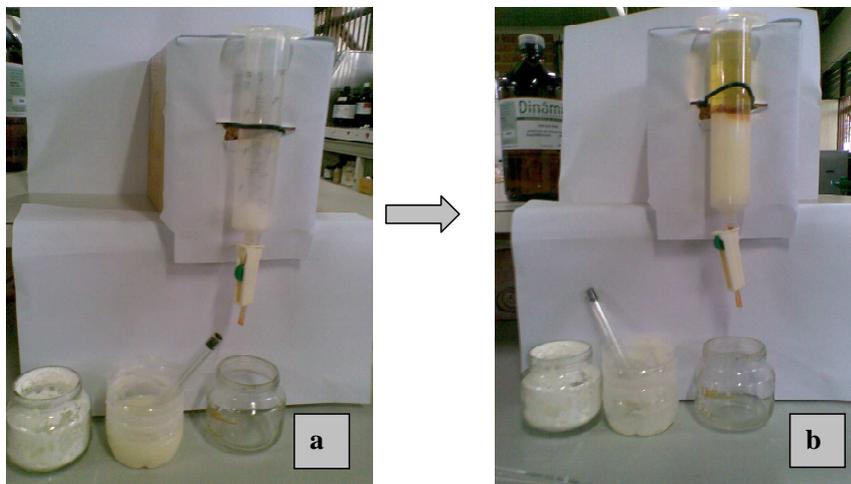


Figura 05: a) preparação da fase estacionária, b) empacotamento e aplicação da amostra na coluna

Após a total coleta do primeiro constituinte, a composição do eluente foi alterada para 95% do removedor de gordura e 5% do removedor de esmalte fornecendo o segundo constituinte, depois para 90% do removedor de gordura e 10% do removedor de esmalte, fornecendo o terceiro constituinte.

O experimento foi realizado em duas turmas de ensino médio de duas escolas do Estado de Pernambuco e teve a carga horária de 4 horas/aulas.

Resultados e Discussão

O experimento foi desenvolvido em duas aulas (cada aula com duração de duas horas). A primeira aula consistiu na extração e preparação das placas analíticas, com materiais alternativos. Os pigmentos dos pimentões foram extraídos por maceração usando removedor de gordura e removedor de esmalte, os quais forneceram extratos contendo os principais constituintes dos pimentões: carotenos, criptoxantinas, capsantinas e capsorubina, já descrito por Collera-Zuniga *et al.*, (2005). A figura 06 apresenta as estruturas químicas de alguns constituintes do pigmento do pimentão vermelho isolado por cromatografia em camada delgada.

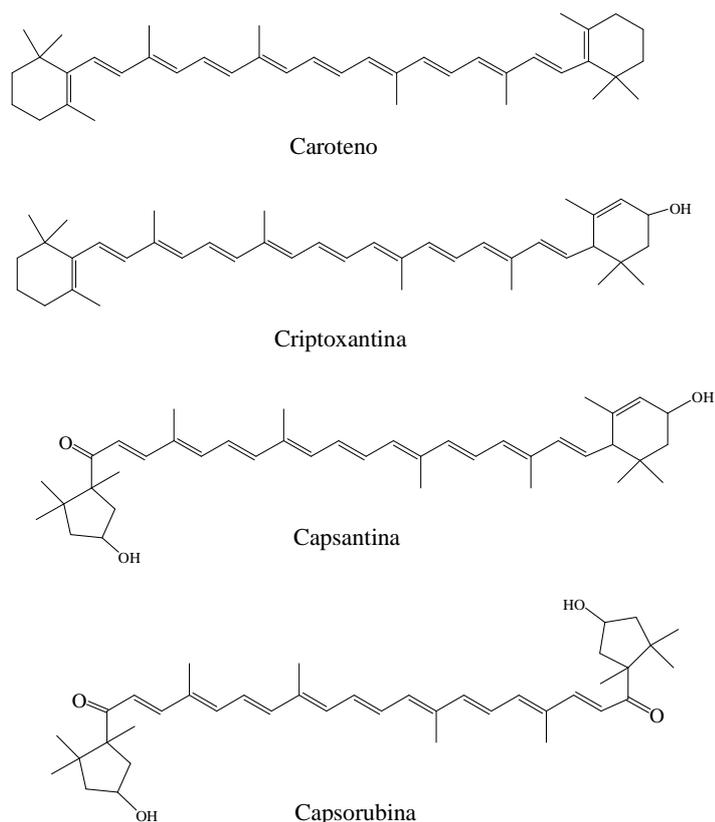


Figura 06: Estruturas químicas de constituintes do isolado do pigmento do pimentão vermelho

Através da relação entre os *R_f* (fatores de retenção) das manchas observadas na placa cromatográfica dos constituintes do pigmento do pimentão vermelho (figura 07), pode-se estimular uma discussão em aula sobre as variáveis importantes em um processo cromatográfico, tais como poder de eluição e fator de retenção versus estrutura química. A seguir, apresentamos uma análise do cromatograma do pigmento do pimentão vermelho obtido com a utilização de removedor de gordura (contém hidrocarbonetos) e removedor de esmalte (contém acetona).



Figura 07: Cromatograma em camada delgada

Analisando o cromatograma, percebe-se que os pigmentos foram separados em função da solubilidade das moléculas e da aderência destes na placa. As moléculas com maior solubilidade e/ou menor peso molecular (carotenos) percorreram uma maior distância na placa do que as moléculas com menor solubilidade e/ou maior peso molecular (criptoxantinas, capsantinas e a capsorubina). Nesta aula, além da realização do experimento pelos estudantes, discutiu-se conceitos tais como, misturas, substâncias, solubilidade, polaridade, grupos funcionais, dentre outros.

Na segunda aula, partiu-se para a cromatografia em coluna do extrato obtido, montando-se a coluna cromatográfica com farinha de trigo, como fase estacionária, para observar-se a interação destas com a fase móvel utilizada (removedor de gordura - hidrocarbonetos).

Na separação dos pigmentos do pimentão, a princípio, com o acréscimo do removedor de gordura (eluente apolar) verificou-se o aparecimento de três bandas: duas bandas amarelas, a primeira num tom mais escuro que a segunda, e uma banda vermelha (Figura 08). O caroteno é um hidrocarboneto apolar e foi o primeiro constituinte a ser isolado. Em seguida são obtidas as criptoxantinas, que são mono-oxigenadas, e finalmente as capsantinas e a capsorubina, que são substâncias polioxigenadas e, portanto, têm maior afinidade com a fase estacionária. Convém destacar que os dois últimos produtos (capsantinas e capsorubina) se misturaram, devido à interação com a fase estacionária.

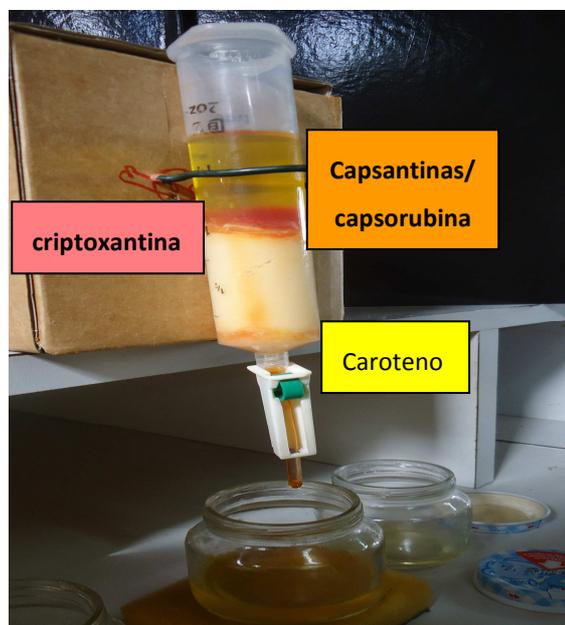


Figura 08: Separação dos pigmentos do pimentão por cromatografia em coluna de farinha de trigo

Assim, no presente experimento, o professor pode abordar aspectos relevantes da cromatografia em coluna, tais como escolha da fase estacionária e fase móvel, relação amostra/fase estacionária, empacotamento (Matos, 1997; Collins *et al.*, 1997). Convém destacar que os produtos foram identificados pela coloração, por exemplo, carotenos (cor amarela), criptoxantinas (cor vermelha) e capsantinas e capsorubina (cor laranja).

Em resumo, apesar de já existir diversos artigos sobre cromatografia descritos na literatura, neste trabalho apresentamos um experimento simples de ser efetuado no laboratório e/ou em sala de aula e com considerável subsídio para discussões teóricas sobre interações intermoleculares, polaridade e funções orgânicas, a partir de materiais alternativos, que é diferencial em relação a outros trabalhos.

Considerações Finais

O experimento descrito abordou o método de extração e de separação por cromatografia, demonstrando as técnicas em placas e em colunas, utilizando materiais alternativos e de fácil acesso. O mesmo pode ser facilmente executado em sala de aula ou laboratório. A duração do experimento foi de quatro horas aulas. A realização do experimento permitiu ao estudante entrar em contato com vários conceitos de forma prática, desde a extração de compostos com o auxílio de solvente, do seu dia-a-dia, até a cromatografia do extrato obtido. Conceitos como: misturas, substâncias, solubilidade, polaridade, grupos funcionais, foram discutidos durante a realização do mesmo em sala de aula. No experimento, o professor pode abordar aspectos relevantes da cromatografia em coluna, tais como escolha da fase estacionária (farinha de trigo) e fase móvel (removedor de gordura e removedor de esmalte), relação amostra/fase estacionária e empacotamento.

Referências

- Bessler, K. E.; Neder, A. V. F. **Química em Tubos de Ensaio**: uma abordagem para principiantes. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.
- Celeghini, R. M. S.; Ferreira, L. H. Preparação de uma coluna cromatográfica com areia e mármore e seu uso na separação de pigmentos. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 7, p. 39-41, 1998.
- Collera-Zuniga, O.; Jimenez, F. G.; Gordillo, R. M. **Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annum* L.** *Food Chemistry*, México, v. 90, p. 109-114, 2005.
- Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**, 6ª ed., Campinas: Ed. da Unicamp, 1997.

Degani, A. L. G.; Cass, Q. B.; Vieira, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 7, p. 21-25, 1998.

Fonseca, S. F.; Gonçalves, C. C. S. Extração de pigmentos do espinafre e separação em coluna de açúcar comercial. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 20, p. 55-58, 2004.

Ikan, R. **Natural Product: a laboratory guide**, 2nd ed., San Diego: Academic Press, 1991.

Matos, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**, 2a ed., Fortaleza: Edições UFC, 1997.

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**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 680-683, 2002.

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**, São Paulo, n. 7, p. 37-38, 1998.

Quach, H.T.; Steeper, R. L.; Griffin, W. An improved method for the extraction and thin-layer chromatography of chlorophyll a and b from spinach. **Journal of Chemical Education**, Boston, v. 81, n. 3, p. 385, 2004.

Ribeiro, N. M.; Nunes, C. R. Análise de Pigmentos de Pimentões por Cromatografia em Papel. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 29, p. 34-37, 2008.

Juliano Carlo Rufino Freitas. Monsenhor Álvaro Negromonte – Recife/PE . Docente da Escola

Monsenhor Álvaro Negromonte – Recife/PE. Mestre em Química Orgânica (UFPE).

julianocrufino@yahoo.com.br

Jucleiton José R de Freitas. Mestrando em Química pela Universidade Federal de Rural de

Pernambuco – UFRPE. jucacleiton@yahoo.com.br

Ladjane Pereira da Silva. Escola Estadual Creuza Barreto Dornelis Câmara-Recife/PE. Docente da

Escola Estadual Creuza Barreto Dornelis Câmara-Recife/PE. Mestre em Ensino de Ciências pela a

Universidade Federal de Rural de Pernambuco – UFPE. Ladjanepsbr@yahoo.com.br

João R de Freitas Filho. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Química.

Doutor em química pela Universidade Federal de Pernambuco. joaoveronice@yahoo.com.br