

MÉTODO PARA SEPARAÇÃO DE CLOROFILAS E CAROTENÓIDES DE COUVE POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA COM MATERIAIS DE FÁCIL ACESSO: FERRAMENTA PARA PROMOÇÃO E INCENTIVO AO ENSINO DE QUÍMICA

FLAVIA TAYNÁ SERRA SILVA¹; ADRIANA DILLENBURG MEINHART²; RENIRES DOS SANTOS TEIXEIRA²; LEONARDO NORA³

¹Universidade Federal de Pelotas – flavia.belavista2@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – adrianadille@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – reniresantos@gmail.com

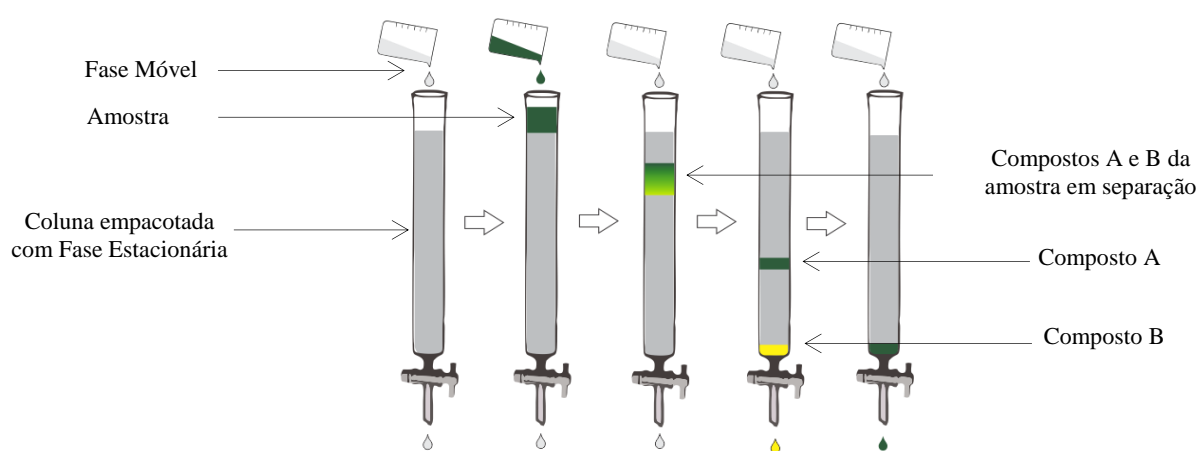
³Universidade Federal de Pelotas – l.nora@me.com

1. INTRODUÇÃO

A cromatografia pode ser definida como método físico-químico de separação de componentes de mistura complexa, com o uso de duas fases imiscíveis: uma estacionária e outra móvel (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). Existem várias técnicas cromatográficas muito utilizados atualmente em diferentes áreas, como farmacêutica, cosmética, de alimentos e bebidas. Uma dessas é a Cromatografia em Coluna, sendo esta uma das técnicas mais antigas usada para separação de componentes entre duas fases, uma sólida e outra líquida (CHÉROLET, 2019).

A análise cromatográfica ocorre em coluna de metal ou vidro (Figura 1), com uma torneira na parte inferior. A coluna é preenchida com fase estacionária (composta por um material capaz de reter seletivamente os compostos). Através da fase estacionária é eluída a fase móvel (solvente que tenha afinidade com os compostos).

Figura 1. Etapas da análise por cromatografia em coluna realizada em laboratório de química.



Fonte: Autoras (2021).

As clorofilas e carotenoides são pigmentos encontrados em plantas, como a couve. Estão envolvidos na fotossíntese e ficam armazenados nos cloroplastos que são as organelas onde ocorre o processo fotossintético. Com o processo de

maceração de tecidos vegetais com solventes orgânicos, como acetona por exemplo, ocorre o rompimento das ligações entre moléculas e assim elas são liberadas das estruturas celulares (STREIT et al, 2005). Esses dois grupos de compostos possuem comportamento distinto quanto à polaridade e podem ser empregados para favorecer o ensino sobre solubilidade, polaridade e cromatografia.

O ensino da química em ensino fundamental e médio é de extrema importância. O desenvolvimento de atividades experimentais tem sido apresentado por vários estudos como sendo uma estratégia positiva para o processo de ensino aprendizagem (GIORDAN, 1999). As aulas experimentais como ferramenta para a inserção no universo científico possibilitam a construção do conhecimento por meio do desenvolvimento prático (SOARES; MUNCHEN; ADAIME, 2013).

No entanto, nem sempre há um laboratório de química disponível nas escolas, ou, por vezes, não é possível adquirir todos os materiais necessários para a execução do experimento. Por isso, este trabalho teve como objetivo adaptar um método para separar carotenoides e clorofilas de amostras de couve, por meio de cromatografia em coluna, utilizando materiais de fácil acesso.

2. METODOLOGIA

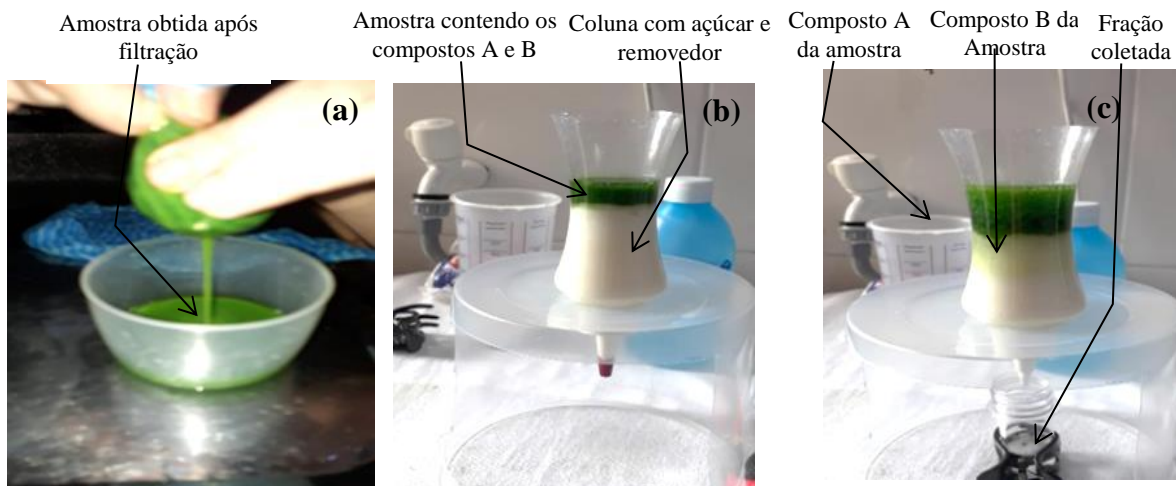
Para a realização do experimento foram utilizados os seguintes materiais e reagentes: vasilha de plástico de tamanho médio e frasco de plástico para condimentos com bico aplicador, copo medidor de 250 mL, frasco de plástico de 5 mL com tampa, presilha de cabelo, faca, socador (mão de pilão) e copo de vidro (pilão), tábua, funil, pano multiuso, algodão, acetona, removedor de cera (marca King Plus, contendo hidrocarbonetos alifáticos saturados e aromáticos), folhas de couve e açúcar refinado.

Primeiramente a amostra foi preparada. Cinco folhas de couve, com as nervuras centrais removidas e descartadas, foram cortadas em pedacinhos com auxílio de uma faca, colocadas em copo e amassadas com a mão de pilão por aproximadamente 10 min, até a obtenção de uma pasta uniforme. Em seguida foram adicionados 6 mL de removedor de cera e 3 mL de acetona. A mistura foi amassada novamente com a mão de pilão por aproximadamente 5 min, para homogeneizar a mistura. A seguir o líquido foi filtrado utilizando através do pano multiuso. O resíduo sólido retido no pano foi descartado.

Em seguida foi realizada a preparação da coluna cromatográfica. O frasco de condimentos teve sua parte inferior removida com faca. Na base da vasilha de plástico foi feita uma abertura cilíndrica. Então o frasco de condimentos (com a tampa fechada) foi acoplado sobre a vasilha (Figura 2). Na parte inferior do frasco de condimentos foi colocado um chumaço de algodão e empurrado até próximo à tampa (que simula a torneira). Em seguida, 50 g de açúcar refinado (fase estacionária) foi misturado a 75 mL de removedor de cera (fase móvel). A mistura foi colocada sobre o algodão.

Em seguida a tampa (que simula a torneira) foi aberta para a passagem da fase móvel, até que ficasse 1 cm acima da fase estacionária. Então foi adicionado 6 mL de amostra na coluna, seguido de 25 mL de removedor de cera. A amostra começou a eluir pela coluna e o líquido (contendo os compostos A e B) foi coletado nos frascos de plástico de 5 mL. Primeiramente foi coletada uma fração incolor, seguida de fração amarela (composto B - carotenoides). Por fim foram adicionados 30 mL de acetona e foi coletada a fração de cor esverdeada (composto A - clorofilas). Os procedimentos analíticos são ilustrados através da Figura 2.

Figura 2. Sistema de separação por cromatografia em coluna utilizando materiais de fácil acesso. (a) Obtenção da amostra líquida após a filtração, (b) Coluna cromatográfica recebendo a amostra (c) Amostra em fase de separação dos carotenoides (compostos B) e clorofila (composto A) e coleta da fração incolor.



Esse trabalho foi realizado como parte de disciplina de Pós-graduação, Tópicos em Alimentos III (Análise de Alimentos por Cromatografia, Eletroforese Capilar e Espectrometria de Massas), ministrada pela Prof^a. Dr^a. Adriana Dillenburg Meinhart.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o experimento observou-se que os carotenóis foram eluídos primeiro devido à sua afinidade com o removedor (menos polar). Enquanto a fase móvel era o removedor, as clorofilas (mais polares) ficaram retidas na fase estacionária. Quando a fase móvel foi substituída por acetona foi observada a eluição das clorofilas (mais polares).

Figura 3. Frações obtidas na extração.



Interações similares foram observadas em outros estudos que utilizaram métodos iguais de separação e determinação de compostos, e fases estacionária e móvel parecidas. Segundo CAMPOS (2004) o β -caroteno, um hidrocarboneto insaturado, mostrou interações mais efetivas com o removedor (eluente, fase móvel) do que com a sacarose (fase estacionária). As xantinas, ou xantofilas,

apesar dos grupos hidroxila, possuem uma cadeia carbônica relativamente longa, responsável pela pouca afinidade com a sacarose. Segundo este autor, as estruturas das clorofilas, por apresentarem um metal (magnésio) no centro de uma porfirina (uma substância que contém quatro unidades ligeiramente modificadas de pirrol), favorecem interações mais fortes com a fase estacionária.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que é possível extrair e separar carotenoides e clorofilas de amostra de couve utilizando materiais de fácil acesso e de baixo custo. O experimento utilizando removedor de cera e acetona como fase móvel e açúcar refinado como fase estacionária foi eficiente na separação de carotenoides e clorofilas e pode ser empregado com êxito para melhorar o processo de ensino aprendizagem em escolas de ensino fundamental e médio.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPOS, Reinaldo Calixto. Extração de pigmentos do espinafre e separação em coluna de açúcar comercial. **Química Nova na Escola**. Rio de Janeiro, 23 de ago. de 2003. Disponível em: <<http://qnesc.s bq.org.br>>. Acesso em 23 de jun. de 2021.

CHÉROLET, Brenda. Técnica de separação de misturas. **Educa Mais Brasil**. 21 jun. de 2019. Disponível em: <<https://www.educamaisbrasil.com.br>>. Acesso em 04 de jul. de 2021.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006.

CLOROFILA: Saiba tudo sobre seus Benefícios para saúde, **Ocean Drop**, Camboriú, 20 de mai. de 2020. Disponível em: <<https://my.oceandrop.com.br>>. Acesso em: 23 de jun. de 2021.

GIORDAN, M. O Papel da Experimentação no Ensino de Ciências. **Química Nova na Escola**, 1999.

NELLIS, S. C., CORREIA, A. F. K, SPOTO, M. H. F. Extração e quantificação de carotenoides em minitomate desidratado (Sweet Grape) através da aplicação de diferentes solventes. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 20, e2016156, 04 de abr. de 2017.

SOARES, A. B.; MUNCHEN, S.; ADAIME, M. B. Uma análise da importância da experimentação em química no primeiro ano do ensino médio, 2013. Disponível em: <<https://www.publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/edeq/article/view/2807>>. Acesso em: 05 de jul. 2021.

STREIT, N. M. et al. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, maio /jun., 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782005000300043&script=sci_arttext>. Acesso em: 05 jul. 2021.