

# Preparação de uma coluna cromatográfica com areia e mármore e seu uso na separação de pigmentos

**Renata M. S. Celeghini  
Luiz Henrique Ferreira  
(Grupo “Química Legal”)**

► cromatografia, experimentação no ensino de química, separação de substâncias ◀

O nome cromatografia foi cunhado pelo botânico russo Mikhael Semenovich Tswett em 1906. Naquela época, os químicos e biólogos tinham um grande problema: ainda não haviam conseguido encontrar uma maneira de separar as substâncias contidas nos extratos vegetais e animais. Foi quando Tswett teve a brilhante idéia de encher com carbonato de cálcio um tubo de vidro

semelhante a uma bureta (aberto na parte superior e com uma torneira na parte inferior). O tubo foi fixado na posição vertical e sobre o carbonato de cálcio foi colocado um extrato de folhas e depois adicionado éter de petróleo. Tswett percebeu que o extrato vegetal estava sendo arrastado para a parte inferior da coluna e que a cor verde-escura original estava sendo decomposta em zonas coloridas com

duas tonalidades de verde (clorofilas), laranja (caroteno) e amarela (xantofila). Estava descoberto um método de separação dos componentes de uma mistura. Embora Tswett tenha dado a ele o nome cromatografia, referindo-se às zonas coloridas, essa técnica se aplica também a substâncias incolores.

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição desses componentes entre duas fases, que estão em contato. Uma das fases permanece fixa, denominada *fase estacionária*, enquanto a outra move-se através dela, por isso denominada *fase móvel*. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, as substâncias da mistura são distribuídas entre duas fases, de maneira que as menos solúveis na fase estacionária (mais solúveis na fase móvel) têm uma movimentação mais rápida ao longo da coluna, enquanto as mais solúveis na fase estacionária serão seletivamente

retidas, tendo uma movimentação mais lenta.

Na cromatografia líquida, a fase móvel é um líquido ou uma mistura de líquidos como, por exemplo, a água e o álcool. Já a fase estacionária consiste de um material sólido, que no caso do nosso experimento será a areia e o mármore. A areia é um mineral granular geralmente formado pelo desgaste de rochas arenosas. Ela é formada a partir de uma mistura de diversas substâncias, mas o principal componente da areia é a sílica ( $\text{SiO}_2$ )<sub>n</sub>, uma fase estacionária bastante utilizada em cromatografia. Já o mármore é composto em sua maior parte por carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) — isso mesmo, a mesma substância que Tswett usou em seus experimentos!

## Material

Bureta de 10 mL (ou 50 cm de mangueira transparente de  $\pm 6$  mm de diâmetro)\*

Pedaço de madeira com 60 cm x 5 cm x 1 cm\*

Caneta esferográfica com tubo incolor (tipo Bic®)\*

Fita adesiva transparente\*

4 béqueres de 20 mL (ou copos de vidro transparente)

Béquer de 400 mL

Algodão

Bico de Bunsen (ou isqueiro)

Suporte universal

Garra

Conta-gotas

Vidro de relógio de 4 cm de diâmetro (ou pires)

Peneira fina de cozinha

200 g de areia fina

Pedaço de mármore branco

Álcool

Anilinas para alimento (pelo menos duas cores)

Ácido muriático

\* A bureta pode ser substituída adotando-se o seguinte procedimento: Serrar 4 cm do tubo da caneta esferográfica a partir da ponta e com o auxílio do bico de Bunsen aquecer e fechar um pouco o orifício (até aproximadamente 2 mm de diâmetro). Introduzir este tubo na mangueira de maneira que fique similar a uma bureta. Fixar esta coluna com fita adesiva na madeira.

## Procedimento

**CUIDADO:** o ácido muriático deve ser manuseado em local ventilado e sempre com a utilização de óculos de segurança; ele pode causar graves queimaduras, pois seus vapores são extremamente irritantes para a pele, o olhos e o sistema respiratório.

### Parte 1 — Preparação das colunas

Lave a areia até que a água de lavagem saia limpa. Coloque a areia no béquer de 400 mL e adicione o ácido muriático até que toda a areia seja coberta. Deixe em repouso com o béquer coberto por pelo menos um dia. Lave a areia até que todo o ácido seja eliminado e deixe secar. Depois de seca a areia, passe-a pela peneira. No caso do mármore, apenas triture e passe pela peneira.

Coloque um pequeno pedaço de algodão dentro da bureta (o suficiente para impedir a passagem da areia ou do mármore pela torneira). Adicione areia ou mármore na bureta até 10 cm do topo. Esse espaço será utilizado como reservatório de solvente. Coloque o solvente adequado na bureta (álcool e água 1:1 para separação dos pigmentos da tinta de caneta e água para a anilina). Observe que o ar contido entre os grãos de areia irá sendo eliminado até que comece a gotejar o solvente pela torneira. Nunca deixe a bureta secar. Se necessário, adicione mais solvente. Mesmo após a completa eliminação do ar, mantenha o fluxo até que o nível de solvente fique bem próximo à fase sólida (areia ou partí-

culas de mármore). Feche a torneira da bureta ou introduza a solução preparada, conforme descrito na Parte 2.

Esse processo é denominado empacotamento da coluna, pois a fase sólida (fase estacionária) terá suas partículas acomodadas de maneira a evitar uma distribuição muito heterogênea pela coluna e, conseqüentemente, promover um aumento no número de pratos teóricos, assim como ocorre em uma destilação fracionada.

### Parte 2 — Preparação das amostras

Retire a ponta do tubo interior de uma caneta esferográfica e coloque duas gotas de tinta no vidro de relógio. Adicione quatro gotas de álcool e dissolva a tinta. Uma quantidade maior desta solução poderá ser preparada e guardada em recipiente fechado para utilização com outras turmas de alunos.

As diferentes anilinas deverão ser misturadas em igual proporção, porém em pequenas quantidades. Recomenda-se 1 g de cada cor dissolvidos em 30 mL de álcool. Assim como descrito acima, uma quantidade maior de solução poderá ser preparada e acondicionada em recipiente fechado para uso futuro.

### Parte 3 — Separação cromatográfica

Adicione duas gotas da solução de tinta de caneta ou de anilina à coluna empacotada e abra a torneira da bureta até que ocorra a penetração da amostra na fase estacionária. Adicione

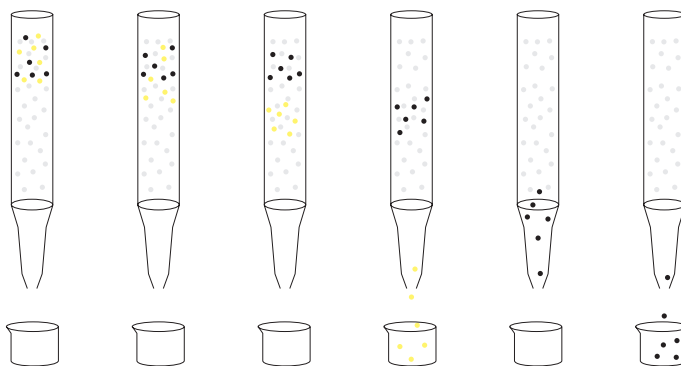


Figura 1: Representação esquemática de uma separação cromatográfica de pigmentos com a utilização de uma coluna empacotada com areia ou mármore. Observa-se que devido à interação com a fase estacionária os pigmentos eluem com velocidades diferentes, o que torna possível a separação quantitativa destes.

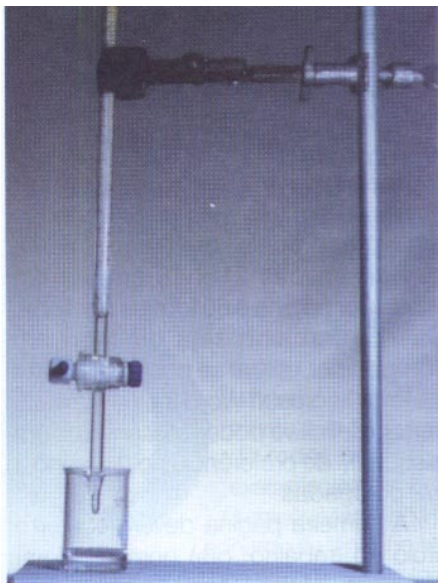


Foto 1: Início da separação cromatográfica de pigmentos de anilina em uma coluna empacotada com pó de mármore.

o solvente adequado (conforme descrito acima) à amostra adicionada à coluna. Observe que os pigmentos irão se separando à medida que percolam pela coluna, conforme esquema abaixo. Assim que um dos pigmentos atingir a saída da coluna, troque o béquer (ou copo) por um outro limpo e recolha essa fração. Os outros pigmentos deverão ser coletados em frascos diferentes. Para obtenção de cada pigmento puro, basta evaporar o solvente em condições brandas de calor.

### Sugestão

Após realizar o experimento com a tinta de caneta e a anilina, procure reproduzir o experimento de Tswett utilizando o carbonato de cálcio como fase estacionária para a separação de pigmentos de extratos vegetais. Observe que para uma boa visualização dos resultados dessa separação, o extrato deve estar bem concentrado.

### Observações

1. Existem diversas marcas e tipos de canetas esferográficas; portanto, uma mesma cor de tinta de caneta poderá ser composta de diferentes misturas de pigmentos. Pelo mesmo motivo, algumas tintas requerem solventes – ou misturas de solventes –



Foto 2: Separação cromatográfica de pigmentos de anilina em coluna feita com mangueira e tubo de caneta.

diferentes do proposto neste experimento. No entanto, a separação cromatográfica sempre será possível. Neste trabalho foi utilizada a tinta da caneta de cor preta da marca Bic®.

2. Caso a separação não ocorra de maneira eficiente para outros tipos de canetas, você poderá aumentar o comprimento da coluna, ou seja, o número de pratos teóricos, ou mudar a polaridade da fase móvel (por exemplo, trocando o solvente ou mudando a composição da mistura de solventes).

3. Partículas muito finas de areia ou mármore aumentam significativamente o número de pratos teóricos; no entanto, o fluxo de solvente na coluna diminui acentuadamente, podendo levar dias para uma completa eluição.

4. Se mais do que duas gotas de amostra forem adicionadas à coluna para realização do experimento, a separação completa dos pigmentos poderá ser comprometida, pois isso equivale a uma redução do número de pratos teóricos.

5. Para a separação de pigmentos de extratos vegetais, deve-se utilizar a bureta ou uma outra coluna de vidro, pois a coluna apresentada acima como alternativa à bureta poderá ser danificada por solvente orgânico.

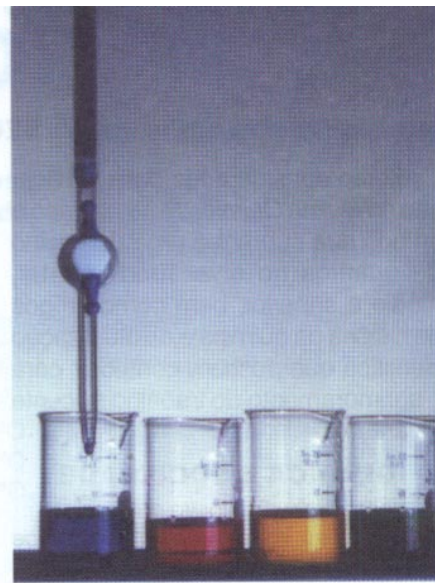


Foto 3: Separação cromatográfica de pigmentos de tinta de caneta em coluna empacotada com areia.

### Questões propostas

- 1) Quais são as fases estacionárias e móveis utilizadas nesse experimento?
- 2) Por que um pigmento sai primeiro que o outro?
- 3) De quantos pigmentos é composta a tinta de caneta que você utilizou?

### Agradecimento

Os autores agradecem à FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio ao projeto Desenvolvimento de um Laboratório Piloto para a Escola de 2º Grau, para o qual a experiência aqui relatada foi desenvolvida.

**Renata Maria dos Santos Celeghini** é doutora em química analítica no IQSC-USP. **Luiz Henrique Ferreira**, mestre em química analítica pelo IFQSC-USP e doutorando em química orgânica no IQ-Unicamp, é coordenador da área de química do Centro de Divulgação Científica e Cultural (CDCC) da USP, em São Carlos - SP.

### Para saber mais

COLLINS, Carol H.; BRAGA, G. L. e PIERINA, S.B. *Introdução a métodos cromatográficos*. 4. ed., Campinas: Editora da Unicamp, 1990.

WOODS G. Silica. *Chemistry Review*, v. 6, n. 3 p. 20-22, jan. 1997.