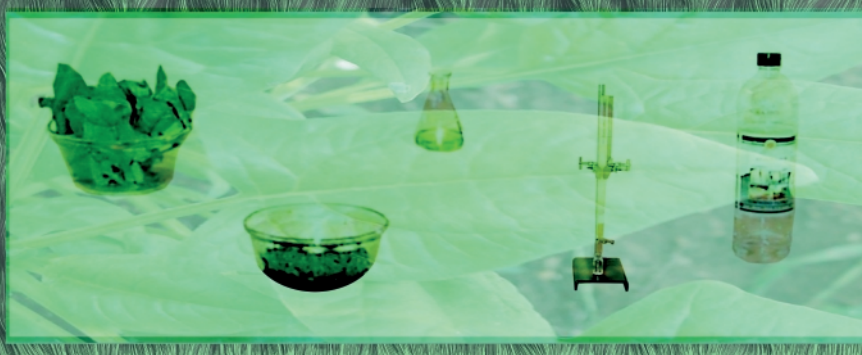


Extração de Pigmentos do Espinafre e Separação em Coluna de Açúcar Comercial



Sebastião F. Fonseca e Caroline C.S. Gonçalves

Este artigo descreve um experimento que envolve a extração de pigmentos do espinafre, utilizando removedor de ceras doméstico, e a separação dos pigmentos em uma coluna de açúcar comercial de forma rápida e relativamente eficiente, usando materiais acessíveis. O experimento pode ser executado em uma aula de 50 minutos, embora exija um período adicional para a discussão adequada dos fenômenos envolvidos.

► pigmentos naturais, cromatografia em coluna, açúcar comercial ◀

Recebido em 26/8/03, aceito em 10/8/04

A extração de produtos naturais e sua separação cromatográfica podem ser utilizadas para ilustrar vários fenômenos envolvendo interações moleculares ou forças intermoleculares. Entretanto, a dificuldade em encontrar materiais baratos e acessíveis muitas vezes desestimulou experimentos com essas características nas escolas de Ensino Médio, e isso motivou a busca de soluções criativas (Oliveira *et al.*, 1998; Seleghini e Ferreira, 1998). Na extração e separação dos pigmentos do espinafre (Mackenzie, 1971), os materiais alternativos que usamos foram removedor de ceras doméstico (na extração e também como eluente do sistema cromatográfico) e açúcar comercial (como fase estacionária para cromatografia em coluna).

Uma coluna cromatográfica clássica é constituída basicamente por uma *fase estacionária*, empacotada em um tubo, e uma *fase móvel* ou *eluente*. A separação de uma mistura em um sistema cromatográfico depende das interações que ocorrem entre os componentes da mistura e as fases estacionária e móvel. Quan-

do apresentam interações diferentes, os constituintes de uma amostra podem ser separados, em princípio, por cromatografia em coluna ou outro método cromatográfico (Collins *et al.*, 1997).

Materiais

Extração

- 15 g de espinafre (5-6 folhas)
- 10 mL de removedor de ceras
- 5 mL de acetona comercial (removedor de esmaltes)
- 0,3-0,5 g de sal de cozinha
- Recipiente de vidro Pyrex®
- "Pistilo" de madeira
- Proveta de 10 mL (ou outro recipiente graduado)
- Béquer de 50 mL (ou recipiente compatível)
- Pipeta de Pasteur e chupeta de látex (ou conta-gotas)

Coluna cromatográfica

- 50 mL de removedor de ceras
- 16-18 g de açúcar refinado
- Tubo de vidro de 1,8-2,0 cm de diâmetro, 30 cm de comprimento, com uma das extremidades

"afilada" (ou bureta de tamanho compatível)

- Algodão
- Vareta de madeira
- Tubo de látex de 5-6 cm
- Pinça
- Funil de boca larga
- Peça de mangueira para gás

Aplicação da amostra

- 5 mL de removedor de ceras
- Pipeta de Pasteur e chupeta de látex (ou conta-gotas)
- Frasco de Erlenmeyer de 50 mL (ou frasco compatível)

Desenvolvimento da coluna

- 10 frascos de penicilina de 8 mL limpos e secos
- 100 mL de removedor
- 50 mL de solução removedor-acetato de etila 25%
- Removedor de ceras contendo 25% de acetato de etila comercial (diluente ou removedor de esmaltes, que pode conter etanol ou acetona)
- Filme de polietileno (tipo Magipak®)

Parte experimental

Extração

Cortar em pedaços pequenos 5-6

A seção "Experimentação no ensino de Química" descreve experimentos cuja implementação e interpretação contribuem para a construção de conceitos científicos por parte dos alunos. Os materiais e reagentes usados são facilmente encontráveis, permitindo a realização dos experimentos em qualquer escola. Neste número a seção apresenta dois artigos.

folhas de espinafre fresco (cerca de 15 g), colocar em um recipiente de vidro resistente (Figura 1), adicionar cerca de 5 mL de acetona e 10 mL de removedor e prensar o material com um pistilo de madeira durante alguns minutos. Transferir o líquido resultante para um béquer e retirar a fase aquosa com pipeta de Pasteur. Adicionar à fase orgânica (removedor/extrato) uma pequena quantidade de sal de cozinha (uma camada fina no fundo do recipiente) para eliminar a água residual.

Montagem da coluna cromatográfica

Utilizar uma bureta de volume compatível ou tubo de vidro de 1,8-2,0 cm de diâmetro e cerca de 30 cm de comprimento com um "afilamento" em uma das extremidades (Figura 1), introduzir um chumaço pequeno de algodão e pressionar com uma vareta para fixá-lo. Colocar na ponta do "afilamento" da coluna um pedaço de tubo de látex de 5-6 cm e improvisar uma torneira, com uma pinça. Colocar na coluna, com a torneira fechada e utilizando um funil, o removedor, deixando um volume "morto" (sem solvente) de 6-8 cm. Com um funil de boca larga, despejar sobre o removedor, de forma contínua, 15-18 g de açúcar comum refinado sem "grumos". Após a adição de todo o açúcar, para melhorar o empacotamento, bater suavemente na coluna com um pedaço de mangueira para gás.

Antes de realizar a próxima etapa separar e numerar 10 frascos de penicilina de 8 mL limpos e secos.

Aplicação da amostra

Depois do empacotamento da coluna, escoar o eluente até 3-5 mm acima da superfície da sacarose (Figura 1). Com a torneira fechada aplicar a solução de extrato/removedor no topo da coluna, com pipeta de Pasteur, deixando a solução escorrer lentamente pela parede do tubo de vidro. Após a aplicação da solução, escoar o solvente para um frasco de Erlenmeyer até o nível da solução ficar a 3-5 mm acima da superfície do açúcar. Adicionar com pipeta de Pasteur cerca de 5 mL de eluente (removedor) e repetir a operação anterior (Fi-

gura 2). Antes de outras adições de solvente, introduzir na coluna um pequeno chumaço de algodão, sem tocar a sacarose. Completar com removedor o volume restante da coluna.

Desenvolvimento da coluna

Após a adição do eluente, com escoamento adequado, coletar as frações (2/3 do volume do frasquinho de penicilina), completando o volume de eluente e sem deixar a coluna secar (Figura 2). Após a coleta das frações da primeira faixa colorida, não colocar mais eluente na coluna e deixar a altura do líquido chegar a 1,0 cm acima da fase estacionária. Completar o volume da coluna, com cuidado, com uma solução de removedor de ceras contendo 25% de acetato de etila comercial. Proceder a coleta das frações da segunda faixa colorida até a eluição completa (Figura 3).

Comparar o conjunto de frações coletadas, registrar o eluente de cada uma das faixas e fechar os frasquinhos usando filme de polietileno.

Resultados e discussão

O extrato de folhas de espinafre foi obtido por maceração com removedor de ceras doméstico (constituído de hidrocarbonetos de cadeia longa como o dodecano, Figura 4) e um pouco de acetona comercial. A fase aquosa, contendo acetona, foi separada e a fase extrato/removedor foi "secada" com sal de cozinha durante alguns minutos e aplicada no topo da coluna cromatográfica. A fase estacionária usada no experimento foi açúcar comercial refinado, sacarose, uma substância poli-hidroxilada (Figura 5), e a fase móvel (eluente) inicial utilizada foi o removedor usado na extração.

Após a aplicação da amostra na coluna, adições sucessivas de porções de removedor permitiram a



Figura 1: Espinafre, extrato, coluna de açúcar e removedor.



Figura 2: Separação do extrato de espinafre na coluna de açúcar.

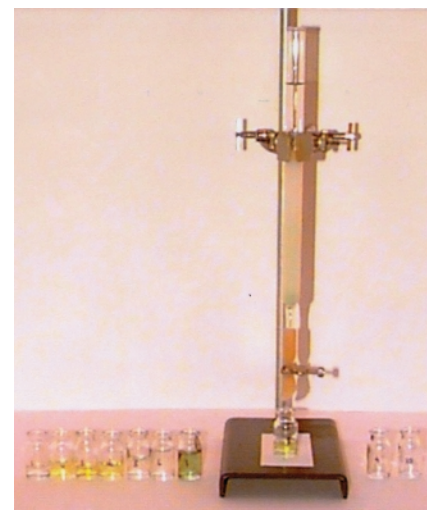


Figura 3: Frações da cromatografia em coluna do extrato de espinafre.

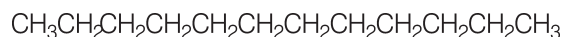


Figura 4: Duas representações estruturais do dodecano.

eluição dos pigmentos amarelos, constituídos principalmente de β -caroteno (I) e xantinas, ou xantofilas, relacionadas (II) - Figura 6. Para a

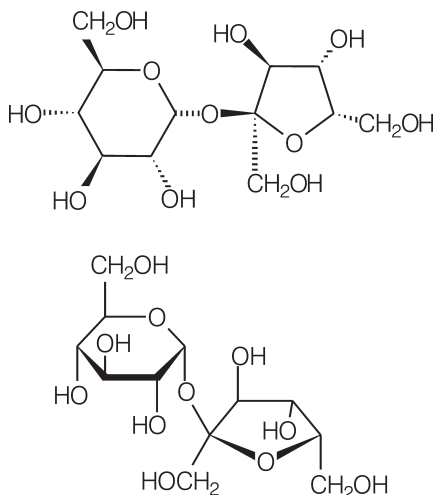


Figura 5: Duas representações estruturais da sacarose.

eluição dos pigmentos verdes [*clorofila a*, $C_{55}H_{72}MgN_4O_5$ (III); *clorofila b*, $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$ (IV) - Figura 7], foi necessária a adição de removedor contendo 25% de acetato de etila comercial.

O β -caroteno (I), um hidrocarbeto insaturado, mostrou interações mais efetivas com o removedor (eluente, fase móvel) que com a sacarose (fase estacionária). As xantinas (II), ou xantofilas, apesar dos grupos hidroxila, possuem uma cadeia carbônica relativamente longa responsável pela pouca afinidade com a sacarose. Por outro lado, as estruturas das clorofilas *a* e *b* (III e IV, Figura 7), apresentam um metal (magnésio) no centro de uma porfirina, V (uma substância que contém quatro unidades ligeiramente modificadas de pirrol, VI) e favorecem interações mais fortes com a fase estacionária. Isso exigiu a

utilização de um eluente mais polar, contendo acetato de etila, para a eluição completa daqueles pigmentos da faixa verde/verde-amarelada.

Desta maneira, a separação dos pigmentos foi rápida, eficiente, com um intervalo nítido entre as duas faixas coloridas, devido às diferenças das afinidades e das interações dos constituintes do extrato com as fases estacionária e móvel do sistema cromatográfico. Os frascos contendo as frações coletadas, as quais são sensíveis ao calor, ao ar e à luz, foram fechados com filme de polietileno e guardados em geladeira.

Para um esclarecimento adequado da separação é necessário um trabalho adicional enfocando polaridade de ligações covalentes e forças intermoleculares relacionadas (Allinger *et al.*, 1976; Carey, 1996). Outra abordagem que o experimento permite é sobre as cores das substâncias separadas, envolvendo sistemas conjugados e a presença de metais em núcleos porfirínicos.

Considerações finais

A extração de folhas de espinafre com removedor doméstico foi eficiente e forneceu um extrato que foi separado facilmente da fase aquosa. A utilização do removedor também como eluente permitiu a separação dos pigmentos amarelos do extrato, enquanto que os pigmentos verdes só foram eluídos com uma solução de removedor contendo 25% de acetato de etila. A separação dos pigmentos foi rápida e monitorada pela diferença de cor, não sendo utilizada outra técnica cromatográfica, e pode ser realizada em um período normal em sala de aula.

O experimento foi demonstrado no I SIMPEQ (I Simpósio de Profissionais do Ensino de Química), realizado em 10 e 11 de novembro de 2001 no Instituto de Química da Unicamp e apresentado na 25ª Reunião Anual da SBQ, realizada em 20-23 de maio de 2002 em Poços de Caldas - MG, tendo bom impacto nos dois eventos.

O experimento descrito permite e exige a abordagem de vários conceitos para a compreensão dos fenômenos envolvidos e, com essas

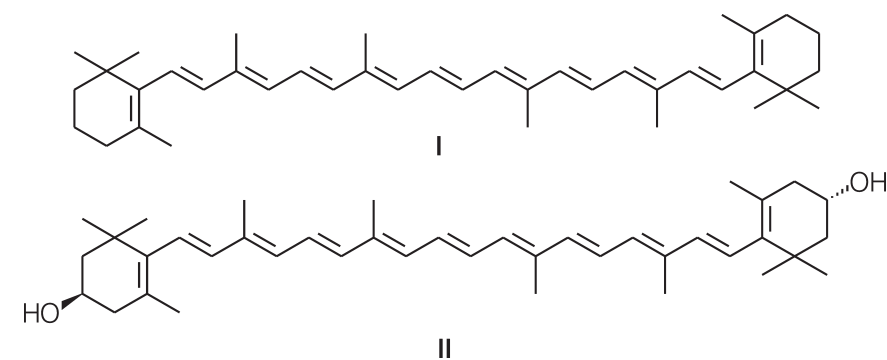


Figura 6: Estruturas do β -caroteno (I) e de uma xantina ou xantofila (II).

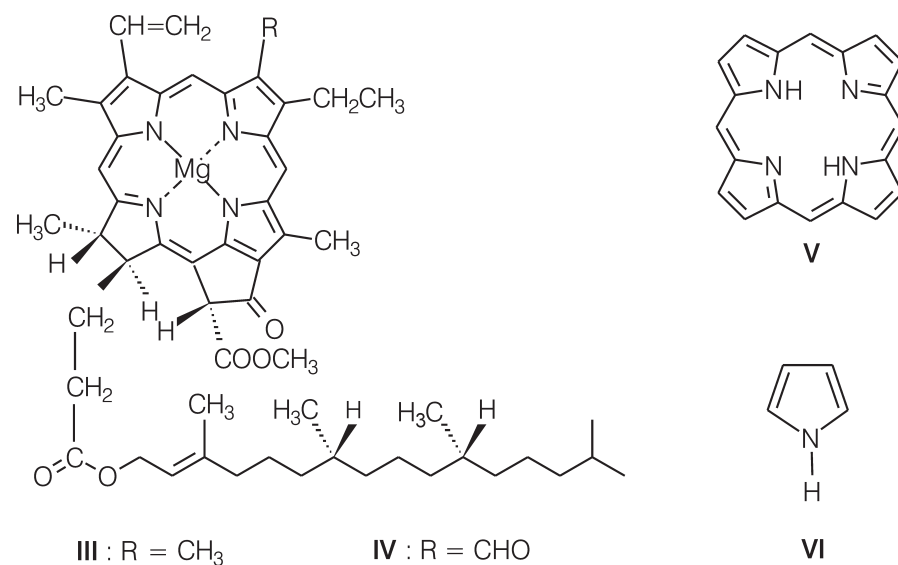


Figura 7: Estruturas da clorofila *a* (III), da clorofila *b* (IV), de uma porfirina (V) e do pirrol (VI).

características, poderá despertar a atenção de professores e alunos do Ensino Médio para a Química Orgânica e para a Química de Produtos Naturais.

Agradecimentos

Aos Grupos de Ensino de Química do Instituto de Química da UNICAMP, pelo apoio e o incentivo.

Sebastião Ferreira Fonseca (sfonseca@iqm.unicamp.br), licenciado em Química pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), mestre em Química Orgânica e doutor em Ciências pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), é docente do Instituto de Química da Unicamp. **Caroline Costa da Silva Gonçalves**, bacharel em Química pela Unicamp, é pós-graduanda em Química Orgânica no Instituto de Química da Unicamp.

Referências

ALLINGER, N.L.; CAVA, M.P.; DE JONGH, D.C.; LEBEL, N.A. e STEVENS, C.L. *Química Orgânica*. Trad. R.B. de Alencastro. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1976.

CAREY, F.A. *Organic chemistry*. Nova Iorque: Mc Graw-Hill, 1996.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. *Introdução a métodos cromatográficos*. Campinas: Editora da Unicamp, 1997.

OLIVEIRA, A.R.M.; SIMONELLI, F. e MARQUES, F.A. Cromatografando com giz e espinafre: Um experimento de fácil reprodução nas escolas do Ensino Médio. *Química Nova na Escola*, n. 7, p. 37-38, 1998.

MACKENZIE, C.A. *Experimental organic chemistry*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1971.

SELEGHINI, R.M.S. e FERREIRA, L.H. Preparação de uma coluna cromatográfica com areia e mármore e seu uso na separação de pigmentos. *Química Nova na Escola*, n. 7, p. 39-41, 1998.

Para saber mais

BRAZ-FILHO, R. Química de Produtos Naturais: Importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. *Química Nova*, v. 17, p. 405-419, 1994.

HARBORNE, J.B. *Phytochemical methods*. Londres: Chapman & Hall, 1963.

Abstract: *Extraction of Pigments from Spinach and Separation in Commercial-Sugar Column* - This article describes an experiment that involves the extraction of pigments from spinach, using a domestic solvent of wax, and the separation of the pigments in a commercial-sugar column in a fast and relatively easy way, using easily accessible materials. The experiment can be carried out in a 50-minute class, though it requires an additional period for the discussion of the involved phenomena.

Keywords: natural pigments, column chromatography, commercial sugar

In memoriam

Reinaldo Carvalho Silva (1950-2004)

Sólido conhecimento, visão de processo e histórica. Clareza nos conceitos e objetivos fundamentais. Estratégias didático-pedagógicas adequadas. A dose certa de rebeldia e criatividade. Compreensão, carinho, amor. Para aqueles que tiveram o prazer de desfrutar de suas aulas, poucos sintetizaram de modo tão completo essas qualidades como o nosso querido Rei, o professor Reinaldo Carvalho Silva, recentemente falecido. Reinaldo começou sua carreira na Escola Técnica Federal de Química do Rio de Janeiro. Sua aptidão para o ensino era tal que, ainda durante o curso técnico, foi chamado a ser instrutor. Seu encanto pela Química transbordava, sendo impossível, ao seu lado, não se deixar envolver por esse encantamento. Ousou duvidar da eficácia do ensino tradicional, em um tempo em que pouco ou nada se discutia como alternativa. Trouxe para a sala de aula experiências inovadoras. Entendia (e praticava) o papel do professor como um facilitador e estimulador da aprendizagem, e não como um depositário

do saber. Inconformado com a esterilidade dos livros didáticos de então, buscou alternativas, e hei-lo trabalhando com o Cotton-Lynch, realizando o experimento da vela. Trazia aos seus alunos os conceitos mais recentes, e vejo-o agora lhes apresentando mecanismos de reação, em contraste com a Química Orgânica descritiva da época. Naturalmente, essa sem cerimônia em espalhar seu interesse por todas as áreas da Química trazia atritos com colegas presos a modelos tradicionais. Mas, saudáveis atritos, que levavam a discussões mais sistemáticas e envolventes do ensino de Química. Experimentalista de invejável técnica, fazia da mais simples titulação uma operação artística. Ressuscitando velhos equipamentos jogados no fundo do laboratório, introduziu as primeiras aulas de análise instrumental da Escola, o que levou, mais tarde, a um laboratório completo.

Mudou-se para Florianópolis em 1992, tornando-se professor do CEFET-SC, orientando ali inúmeros projetos com seus alunos. Sua dedicação ao Ensino Médio levou-o a adiar, inúmeras vezes, sua pós-gra-



duação, que terminou por acontecer na UFSC. Brilhante, passou direto do mestrado para o doutorado, concluído em Eletroanalítica. Tal como na sua graduação, na UERJ, era um orientador informal dos colegas e, com sua lógica simples e precisa, ajudava a descortinar a saída dos problemas mais diversos. É autor de artigos em *Química Nova na Escola*, o mais recente no n. 19.

Bem, fica a alegria de tê-lo conhecido, seu exemplo inspirador e uma grande saudade.

Reinaldo Calixto de Campos
PUC-Rio