

## Análise de Pigmentos de Pimentões por Cromatografia em Papel

**Núbia Moura Ribeiro e Carolina Rodeiro Nunes**

Os carotenóides são pigmentos naturais que trazem benefícios para a saúde por sua atividade antioxidante e anticancerígena. A cromatografia em papel é utilizada neste trabalho para separar e identificar esses pigmentos em extratos de pimentões verdes, amarelos e vermelhos. São apresentadas também informações sobre carotenóides, destacando os encontrados nos pimentões.

► cromatografia em papel, pimentão, carotenóides ◀

Recebido em 6/2/07, aceito em 1/7/08

**A** cromatografia é uma técnica de separação especialmente adequada para ilustrar os conceitos de interações intermoleculares, polaridade e propriedades de funções orgânicas, com uma abordagem ilustrativa e relevante. Os métodos cromatográficos são utilizados para separar misturas contendo duas ou mais substâncias ou íons, e baseiam-se na distribuição diferencial dessas substâncias entre duas fases: uma das quais é estacionária e a outra, móvel (Fonseca e Gonçalves, 2004). Atualmente as diferentes modalidades de cromatografia são responsáveis por mais de 70% das análises em Química Analítica (Aquino Neto e Nunes, 2003).

Uma dessas modalidades é a cromatografia em papel (CP). Trata-se de uma técnica simples para análise de amostras em pequenas quantidades, aplicada principalmente na separação e identificação de compostos polares, tais como açúcares, anti-

bióticos hidrossolúveis, aminoácidos, pigmentos e íons metálicos (Aquino Neto e Nunes, 2003). É considerada uma técnica de partição líquido-líquido. O papel consiste de celulose (Figura 1) praticamente pura, que pode absorver até 22% de água. É a água absorvida que funciona como fase estacionária líquida que interage com a fase móvel também líquida (Aquino Neto e Nunes, 2003). Os componentes da amostra são separados entre a fase estacionária e a fase móvel em movimento no papel. Os componentes que têm capacidade de formar ligações (ou "pontes") de hidrogênio migram mais lentamente (Collins e cols., 2006).

O objetivo deste trabalho é utilizar a cromatografia em papel para separar os pigmentos de pimentões

verdes, amarelos e vermelhos e, com base no resultado dos cromatogramas, nos conceitos de interações intermoleculares e nas propriedades de

funções orgânicas, identificar os pigmentos correspondentes às diferentes zonas cromatográficas.

O pimentão (*Cap-sicum annuum* L.) é uma planta da família *Solanaceae*, cuja cor depende da capacidade de sintetizar

carotenóides e de reter pigmentos de clorofilas (Collera-Zuniga e cols., 2005). Os pimentões verdes e amarelos devem sua coloração principalmente à presença de carotenos e de carotenóides oxigenados, tais como as criptoxantinas (Bianchini e Penteadó, 1998). Nos pimentões vermelhos, há também carotenóides polioxigenados, tais como as capsantinas e capsorubina (Curl, 1962). São encontrados na natureza vários derivados da capsantina, sobretudo derivados epoxidados, e os carotenóides hidroxilados ocorrem na natureza sob a forma de ésteres (Davies e cols.,

**A cromatografia é uma técnica de separação especialmente adequada para ilustrar os conceitos de interações intermoleculares, polaridade e propriedades de funções orgânicas.**

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 quatro artigos.

1970). Cabe destacar que o pimentão seco e moído é utilizado como condimento denominado “páprica”. Silva e colaboradores (2006) empregaram a cromatografia em coluna para isolar os pigmentos do extrato da páprica.

Os carotenóides são pigmentos encontrados na natureza e trazem benefícios para a saúde por sua atividade antioxidante e anticancerígena. Alguns desses compostos apresentam também atividade pró-vitáminica A (Bianchini e Penteado, 1998). A maioria deles é estável à temperatura ambiente, porém devido ao elevado número de ligações duplas, quando purificados, devem ser mantidos na ausência de luz e oxigênio e em ambiente refrigerado. A coloração dos carotenóides varia do amarelo, passando pelo laranja, até o vermelho intenso e resulta da multiplicidade de duplas ligações conjugadas.

Os carotenóides podem ser classificados de duas maneiras. A primeira considera a existência de duas grandes famílias: os carotenos (carotenóides hidrocarbonetos) e as xantofilas (carotenóides oxigenados). O segundo sistema divide os carotenóides em três grupos: acíclicos (por exemplo, o licopeno), monocíclicos (por exemplo, o gama-caroteno) e bicíclicos (por exemplo, o alfa-caroteno e o beta-caroteno, Figura 2).

## Procedimento experimental

### Obtenção dos extratos

Pimentões verdes, amarelos e vermelhos (Figura 3, a) foram picados em pedaços pequenos. Foram pesados cerca de 30 g dos pedaços de cada pimentão, aos quais foram adicionados 10 mL de acetona e 50 mL de hexano (Figura 3, b). As misturas foram maceradas separadamente, em gral de porcelana com pistilo, e deixadas em repouso por 1 hora (Figura 3, c). Após esse período, as misturas foram filtradas em funil comum, com papel de filtro pregueado Whatmann nº 1 e, em seguida, as fases aquosas dos filtrados foram separadas em funil de separação, resultando cerca de 30 mL de cada uma das fases hexânicas (Figura 3, d). Sulfato de sódio anidro foi adicionado a essas fases

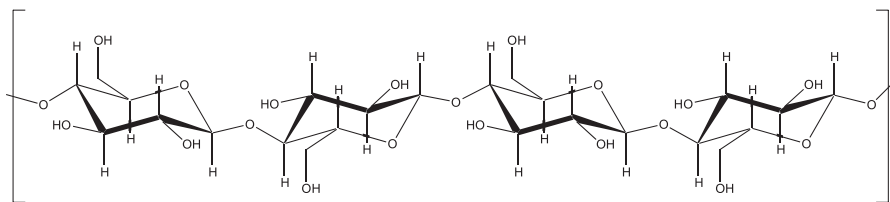


Figura 1: Representação de parte da fórmula estrutural da celulose, que é um polímero de  $\beta$ -glicose.

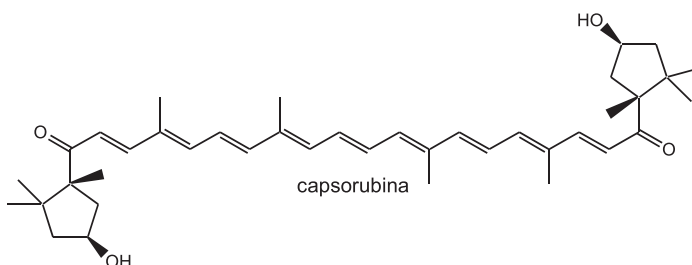
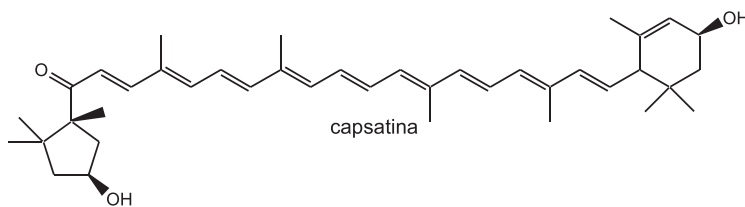
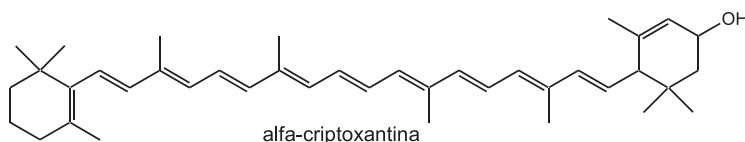
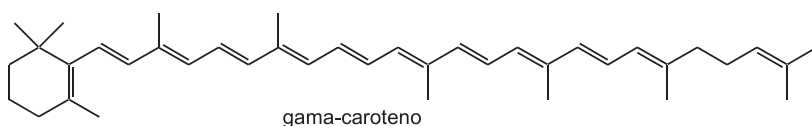
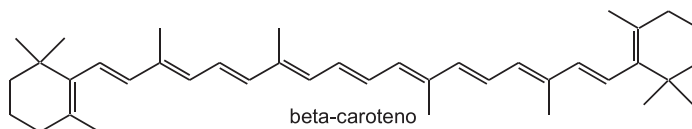
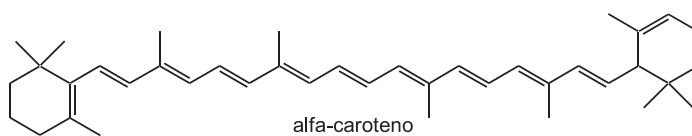
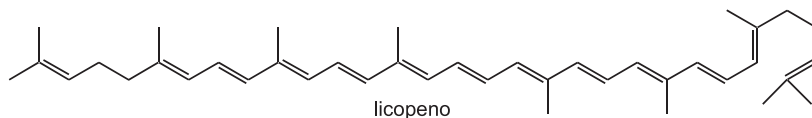


Figura 2: Representação das fórmulas estruturais de alguns carotenóides.

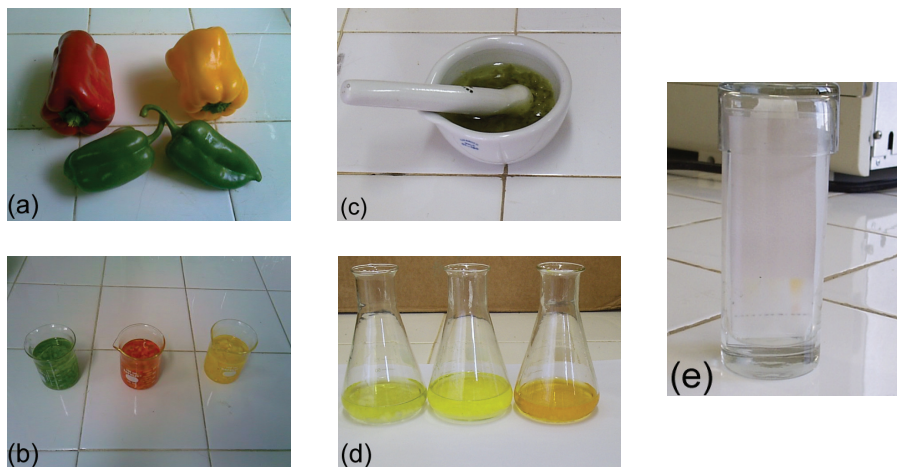


Figura 3: Etapas de obtenção dos extratos: a) alguns dos pimentões utilizados; b) pimentões picados e imersos em hexano:acetona 5:1; c) maceração dos pimentões verdes; d) extratos obtidos; e) “corrida” cromatográfica.

orgânicas que, após filtração, foram concentradas até o volume de 1 mL, com aquecimento em banho-maria mantido a 70 °C e sob agitação.

#### Aplicação da amostra e preparação da cuba cromatográfica

O concentrado resultante de cada extrato foi aplicado em fita de papel preparada com papel de filtro Whatmann nº 1, com dimensões de 3,0 por 8,5 cm. Uma gota de cada amostra foi aplicada, com um capilar, próxima à base do papel (cerca de 1 cm acima da borda), cuidando para que o diâmetro da mancha não ultrapassasse 0,5 cm.

A cuba cromatográfica foi preparada com um recipiente cilíndrico de vidro com tampa e contendo um pedaço de papel de filtro embebido com fase móvel, deixando a atmosfera interna do recipiente saturada com vapores da fase móvel para facilitar a “corrida” cromatográfica (desenvolvimento do cromatograma).

#### Realização da cromatografia

Após a evaporação do solvente no qual a amostra estava diluída para aplicação, a fita de papel foi posicionada na cuba cromatográfica de modo que o nível da fase móvel ficasse abaixo do ponto onde a amostra havia sido aplicada. Os extratos aplicados foram eluídos com hexano com 5% de acetona (Figura 3, e) e foram obtidos os cromatogramas 1, 2 e 3, mostrados na Figura 4.

## Resultados e discussão

A extração dos pimentões com hexano:acetona 5:1 fornece extratos contendo os principais pigmentos dos pimentões: carotenos, criptoxantinas, capsantinas e capsorubina (Collera-Zuniga e cols., 2005). Os carotenos, como o beta-caroteno, são hidrocarbonetos apolares, nos quais prevalecem interações do tipo forças de London (forças de atração entre dipolos temporários). Têm pouca afinidade com a fase estacionária e maior afinidade com a fase móvel utilizada nesse experimento, contendo hexano com 5% de acetona. Esses hidrocarbonetos devem, portanto, ser eluídos com facilidade pela fase móvel e são os que, durante a “corrida” cromatográfica, mais se distanciam do ponto de aplicação da amostra.

As criptoxantinas apresentam

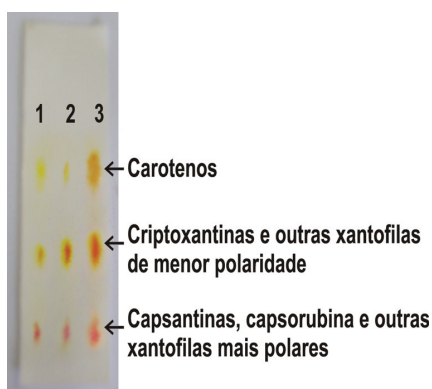


Figura 4: Cromatogramas dos extratos de pimentões amarelos (1), verdes (2) e vermelhos (3).

apenas um grupamento hidroxila e têm moderada afinidade com a fase estacionária utilizada nesse experimento, já que a hidroxila pode formar ligações de hidrogênio com a água adsorvida no papel. Assim, as criptoxantinas e outras xantofilas monooxigenadas apresentam certa tendência à retenção pela fase estacionária e, durante a “corrida” cromatográfica, distanciam-se moderadamente do ponto de aplicação da amostra.

As capsantinas e a capsorubina são substâncias polioxigenadas e, portanto, têm maior afinidade com a fase estacionária da cromatografia em papel. Apresentam maior tendência à retenção pela fase estacionária e, durante a “corrida” cromatográfica, pouco se distanciam do ponto de aplicação da amostra.

Em resumo, há três regiões em cada cromatograma dos extratos dos pimentões: a) a dos carotenos; b) a das xantofilas monooxigenadas; c) a das capsantinas e da capsorubina. Além disso, pode-se perceber que o cromatograma do pimentão amarelo (Figura 4, 1) apresenta principalmente carotenos, capsantinas, capsorubina e outras xantofilas mais polares; o do pimentão verde (Figura 4, 2) apresenta principalmente criptoxantinas e outras xantofilas de menor polaridade; o cromatograma do pimentão vermelho (Figura 4, 3) apresenta as três regiões intensas, indicando a presença de carotenos, criptoxantinas, capsantinas, capsorubina e outras xantofilas mais polares.

## Conclusões

A cromatografia em papel de extratos de pimentões permite a visualização da separação cromatográfica dos principais pigmentos existentes no extrato: os carotenos, as criptoxantinas, as capsantinas e a capsorubina. Além de despertar o interesse pela química de produtos naturais abordando carotenóides, o experimento dá margem a discussões elucidativas sobre interações intermoleculares, polaridade e funções orgânicas. A simplicidade do experimento torna sua realização viável em laboratórios que não dispõem de muitos recursos materiais.

Para realizar o experimento com materiais mais acessíveis, podem ser feitas as seguintes substituições: 1) hexano por thinner (contendo pelo menos 30-40% de tolueno e 30-40% de xilenos); 2)

**A cromatografia em papel é uma técnica simples para análise de amostras em pequenas quantidades, aplicada principalmente na separação e identificação de compostos polares**

acetona por removedor de esmalte para unhas; 3) papel de filtro Whatmann nº 1 por filtro de papel para coar café; 4) sulfato de sódio anidro por sal de cozinha (para desidratar o sal, aquecê-lo até secagem em estufa, fogão ou bico de Bunsen, e então esfriá-lo até a temperatura ambiente, e usá-lo em seguida); 5) o recipiente cilíndrico de vidro com tampa por copo de vidro coberto com um pires. Devido ao fato de o thinner ser uma mistura de substâncias com

características diversas, ao utilizá-lo na extração dos pigmentos, algumas outras substâncias, além dos pigmentos, também podem ser extraídas. Isso, somado ao fato de que o papel para

coar café tem uma malha de celulose mais irregular que o papel de filtro Whatmann, torna a resolução das regiões cromatográficas prejudicada em relação à apresentada na Figura 4. No entanto, ainda assim, o experimento permite a visualização da separação dos pigmentos, conforme Figura 5, que apresenta o cromatograma do extrato de pimentão vermelho obtido com a utilização de thinner e removedor de esmalte para unhas.



Figura 5: Cromatograma do extrato de pimentão vermelho, utilizando thinner e removedor de esmalte para unhas.

**Núbia Moura Ribeiro** (nubia@cefetba.br), graduada em Engenharia Química pela Universidade Federal da Bahia, mestre em Química de Produtos Naturais e doutora em Química Orgânica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, é professora e atualmente coordena a pesquisa e pós-graduação do Centro Federal de Educação Tecnológica da Bahia (CEFET-BA). **Carolina Rodeiro Nunes** é aluna do Ensino Médio do CEFET-BA e bolsista PIBIC-JR/FAPESB.

## Referências

FONSECA, S.F. e 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, novembro, 2004.

AQUINO NETO, F.R. e NUNES, D.S.S. *Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins*. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. *Fundamentos de cromatogra-*

*fia*. Campinas: Ed. UNICAMP, 2006.

COLLERA-ZUNIGA, O.; JIMENEZ, F.G. e GORDILLO, R.M. Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annuum* L. *Food Chemistry*, 90, 109-114, 2005.

BIANCHINI, R. e PENTEADO, M.V.C. Carotenóides de pimentões amarelos (*Capsicum annuum* L.). Caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, 18 (3), 1998.

CURL, A.L. The carotenoids of red bell

pepper. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 10, 504-509, 1962.

DAVIES, B.H.; SUSAN, M. e KIRK, J.T.O. The nature and biosynthesis of the carotenoids of different color varieties of *Capsicum annuum*. *Phytochemistry*, 9, 797-805, 1970.

SILVA, L.B.; ALLES, I.M.; MOREL, A.F. e DALCOL, I.I. Produtos naturais no ensino de Química: experimentação para o isolamento dos pigmentos do extrato de páprica. *Química Nova na Escola*, 23, p. 52-53, maio, 2006.

**Abstract:** Analysis of pigments in peppers by paper chromatography. Carotenoids are natural pigments that bring benefits to health for its anti-oxidant and anti-carcinogen activity. Paper chromatography was used in this work to separate and identify these pigments in extracts of green, yellow and red peppers. Beside, it was presented information on carotenoids, highlighting those found in peppers.

**Keywords:** Paper chromatography, peppers, carotenoids.

## Nota

# Chamada de artigos para a edição de Maio de 2009

*Química Nova na Escola* convida os interessados a submeter manuscritos para a edição de Maio de 2009 que será lançada na 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Nesta edição, teremos uma seção especial com a temática 'Formação de Recursos Humanos em Química: limites e desafios para a segunda década do século XXI', coincidente com o tema da RA-SBQ.

A submissão de propostas deve ser feita pelo sistema *online* e o processo de avaliação seguirá os trâmites normais. Os autores devem seguir as normas específicas de submissão de manuscritos para a seção Pesquisa em Ensino de Química, mencionando na carta aos editores

justificativa para inclusão do manuscrito na seção temática 'Formação de Recursos Humanos em Química: limites e desafios para a segunda década do século XXI'.

Data limite para envio de manuscritos: 30 de Dezembro de 2008.

Data limite para aceitação: 30 de Março de 2009.

Endereço para submissão: <http://qnesc.sbq.org.br>

Endereço para contato: [qnesc@sbq.org.br](mailto:qnesc@sbq.org.br)

Os Editores.