

CROMATOGRAFIA

A ciência das descobertas



Juliana Dacyelles Santos Figueiredo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS NATURAIS, HUMANAS E SOCIAIS
Programa de Pós-Graduação em Ensino de Ciências e
Matemática- PPGECM



CROMATOGRAFIA: A CIÊNCIA DAS DESCOBERTAS

Juliana Dacyelles Santos Figueiredo

Orientadora: Carmen Wobeto

Sinop-MT
2022

APRESENTAÇÃO

Caro estudante,

Essa cartilha é direcionada a você, estudante do 3º ano do ensino médio, para o estudo da técnica de cromatografia, onde você poderá compreender a importância dessa técnica para novas descobertas.

Que esse conhecimento lhe permita entender os fenômenos, analisar e questionar as descobertas do mundo científico, viabilizando reflexões sobre a ciência e o infinito universo de possibilidades existentes.

Esperamos que você goste da cartilha e que o aprendizado em Cromatografia permita que você saia do papel de espectador e passe a atuar sobre os problemas que nos afetam.

Esse produto educacional está vinculado à dissertação de mestrado desenvolvida junto ao Programa de Pós-Graduação em Ensino de Ciência da Natureza e Matemática (PPGECM), da Universidade Federal de Mato Grosso, campus de Sinop.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

O que é ciência	04
Processo de produção de conhecimento.....	05
Aplicando.....	06

CAPÍTULO 2

A grande descoberta	09
Vou contar uma história.....	10

Cromatografia	12
Termos da cromatografia.....	12
Tipos de cromatografia.....	13

Cromatografia em papel	14
Aplicando.....	16
Desafio das cores.....	21

Cromatografia em camada delgada	22
Aplicando.....	26
Você sabia.....	27
Curiosidade.....	28

Técnicas de cromatografia em coluna	29
--	----

Cromatografia líquida clássica	31
Você sabia.....	32

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	30
O sistema HPLC.....	33
Analisando.....	34
Você sabia.....	41

Comunicando	41
--------------------------	----

Atividade final	42
------------------------------	----

Referências	43
--------------------------	----

O que passa em sua mente quando você ouve a palavra CIÊNCIA?

Falar sobre ciência parece ser difícil. Porém, é através da ciência que novos conhecimentos são adquiridos e novas descobertas são realizadas.

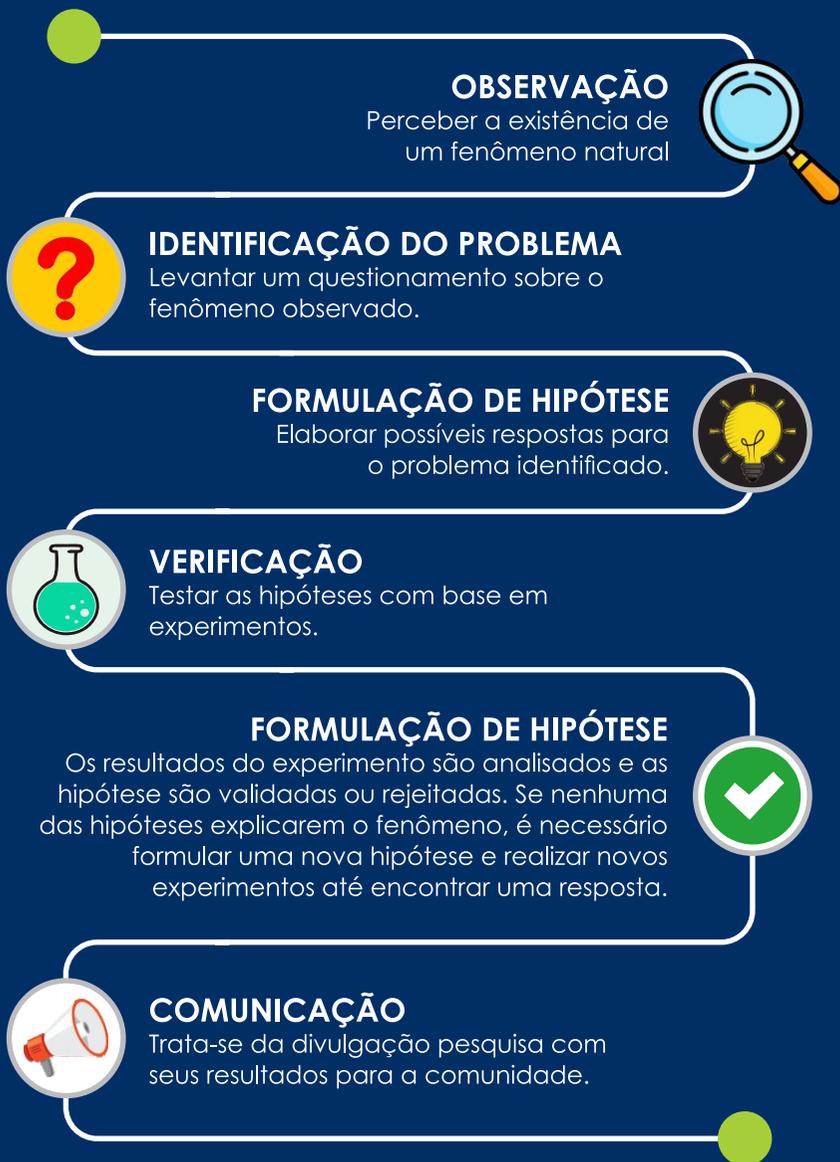
O desenvolvimento da ciência é criterioso, fundamentado, fruto de uma elaboração consciente e lógica, deve ser demonstrável e satisfazer ao critério de universalidade e necessidade.

Cite algumas descobertas da ciência que te ajudam ou já te ajudaram em alguma situação.



PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CONHECIMENTO

Quando os cientistas realizam suas pesquisas, eles utilizam de uma série de procedimentos chamados de método científico.



Aplicando



O que foi observado?

Durante uma visita a uma comunidade rural um estudante observou que para o tratamento de inflamações devido dores musculares era muito utilizado extrato de folhas de uma planta, popularmente conhecida como Arnica brasileira. Curioso sobre essa planta o estudante procurou um botânico e identificou seu nome científico como *Solidago chilenses*.

Qual o problema encontrado?

Por que essa planta tem esse efeito terapêutico?

Levante hipóteses para resolver esse problema

Verifique suas hipóteses pesquisando em artigos científicos.

Como os cientistas descobriram isso? Quais são os métodos e técnicas que eles utilizaram para separar as substâncias com efeitos terapêuticos?

O que você conseguiu concluir?

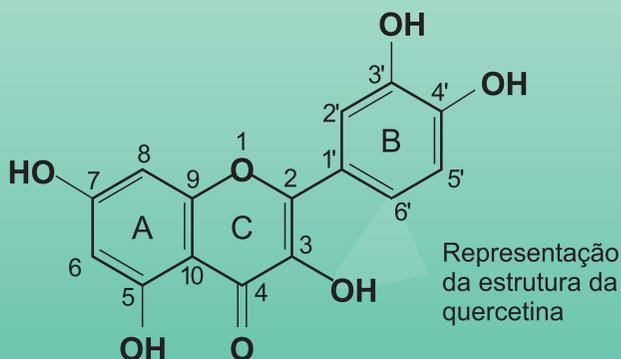
A base para a construção de conhecimento é a observação. Normalmente, os problemas são levantados a partir da necessidade da sociedade ou do **conhecimento popular** observado.

Conhecimento popular é todo o saber produzido por um povo ou comunidade a partir de suas experiências sociais, culturais e ambientais.

A **etnofarmacologia** é a ciência que estuda o conhecimento popular sobre os fármacos. A partir desses estudos ocorre a investigação dos compostos da planta que tenha ação farmacológica.

Pesquisas nessa área são complexas, devido as plantas apresentarem inúmeros compostos como flavonoides, saponinas, taninos, terpenos entre outras. Por exemplo, estudos realizados para identificação fitoquímica do *Solidago chilensis* mostram a presença de flavonoides como a quercetina, quercitrina (3-O-ram-quercetina) e rutina (3-O-rutinosídeo-quercetina).

A quercetina é o principal composto responsável pela atividade anti-inflamatória do *S. chilensis*, devido a sua estrutura molecular ter a presença da insaturação no anel C, hidroxilas nas posições 7, 5, 4' e 3' e a carbonila no carbono 4.



**Afinal, como
essas substâncias
são descobertas?**

VOU CONTAR UMA HISTÓRIA...

Em 1893, o botânico Michael Semenovitch Tswett descreveu a estrutura da célula vegetal, o que possibilitou compreender a importância da clorofila para o processo de fotossíntese.



Suas descobertas não pararam, através de experimentos com extratos de folhas de diversas plantas testando vários solventes orgânicos, ele notou que cada solvente mostrou um comportamento diferente. De acordo com o solvente utilizado a quantidade de substâncias extraídas variava. Tswett concluiu que se tratava de uma série de compostos diferentes que alguns destes ficavam retidos na estrutura da planta e por isso precisavam de um “solvente mais forte” para extraí-los.

A próxima etapa foi separar esses compostos, para isso ele utilizou uma coluna de vidro adicionando o Inulina (polissacarídeo de origem vegetal), posteriormente, ele adicionava o extrato vegetal na coluna e testava vários solventes. Ele denominou essa técnica como adsorção por filtração, onde a inulina é o adsorvente.

Foi através dos experimentos de Tswett que iniciou a história da ciência de separação, especificamente a descoberta da **cromatografia**.

Simulação do Experimento de Tswett

<http://www.cromatografialiquida.com.br/Clae/colunaaberta.htm>



Cite alguns solventes orgânicos.

Você sabe o que é cromatografia?

Onde ela pode ser empregada?

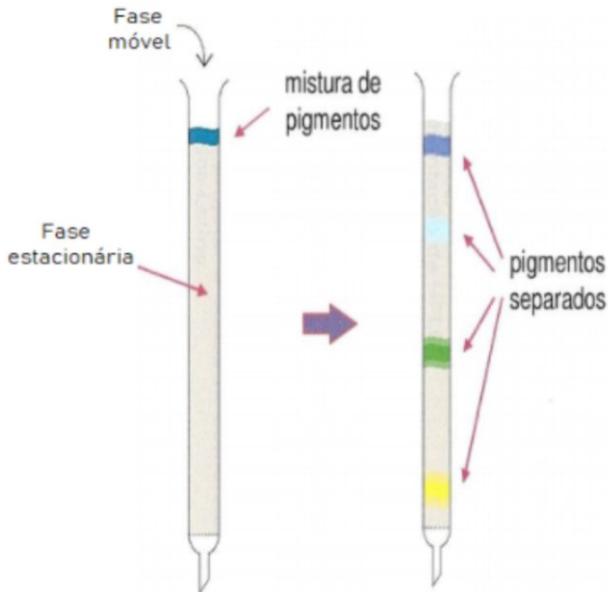
Qual a sua importância?

CROMATOGRAFIA

A cromatografia é uma técnica utilizada para analisar, identificar ou separar os componentes de uma mistura. A cromatografia é definida como a separação de dois ou mais compostos diferentes por distribuição entre fases, uma das quais é estacionária e a outra móvel.

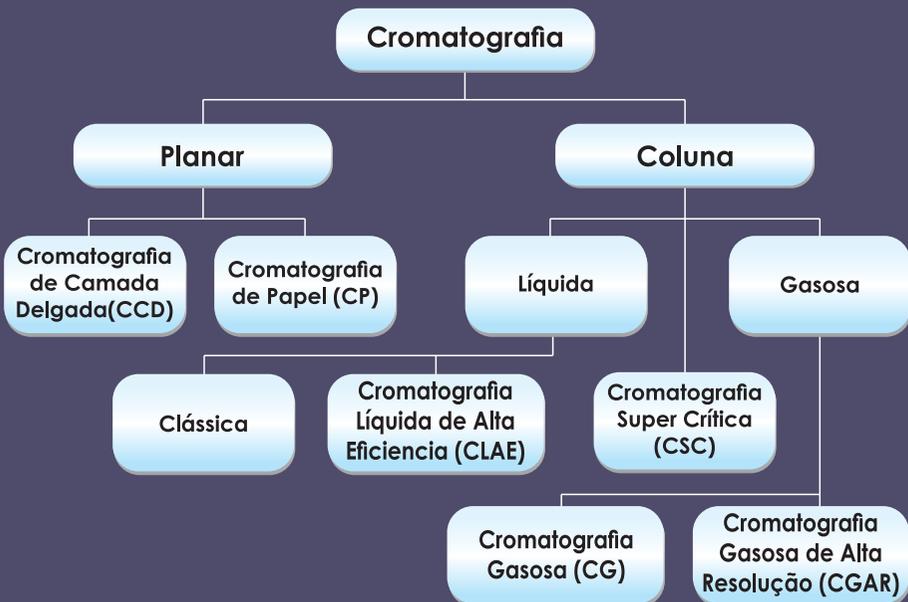
TERMOS DA CROMATOGRAFIA

- **Fase Móvel:** Fase em que os componentes a serem separados “correm” por um solvente fluido, que pode ser líquido, gasoso ou ainda supercrítico.
- **Fase Estacionária:** Fase fixa em que os componentes da mistura interagem, podendo ser constituída de um material líquido ou sólido.
- **Eluição:** É a “corrida” cromatográfica, ou seja, a passagem da fase móvel pela fase estacionária.
- **Eluente:** É a fase móvel, que vai interagir com as amostras e promover a separação dos componentes da mistura, a fase móvel pode ser constituída de um único solvente ou de uma mistura de 2 ou mais.



Representação das fases móvel e estacionária em uma cromatografia em coluna

TIPOS DE CROMATOGRAFIA



Há vários tipos de cromatografia, variando de acordo com a sua simplicidade e eficiência. A técnica de cromatografia pode ser dividida em dois grupos, a **plana** que é quando a fase estacionária é colocada sobre uma superfície plana, e a **coluna** que a fase estacionária é colocada em um tubo cilíndrico.

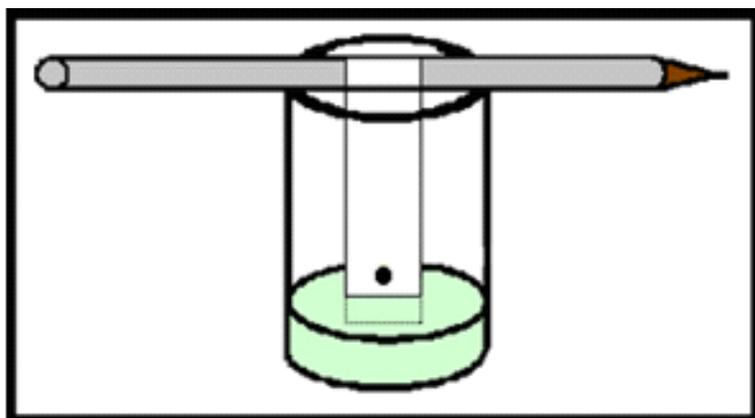
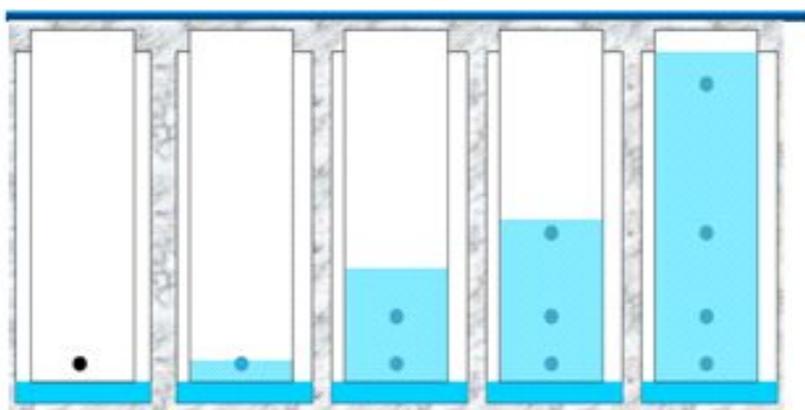
Na categoria de cromatografia plana temos a cromatografia de papel (CP) e a cromatografia de camada delgada (CCD).

CROMATOGRAFIA EM PAPEL (CP)

A cromatografia em papel é uma técnica simples e requer menos instrumentos para sua realização, porém ela apresenta maiores restrições comparadas as demais. A CP é uma cromatografia de partição do tipo líquido-líquido, onde tanto a fase móvel quanto a estacionária são líquidas. A fase estacionária líquida é fixada em um suporte sólido, geralmente papel, por isso o nome.

O papel é composto por moléculas de celulose que possuem afinidade pela água, mas muito pouca afinidade pela fase orgânica, atuando como suporte inerte contendo a fase estacionária aquosa (polar). À medida que o solvente contendo o soluto flui ao longo do papel, uma partição deste composto ocorre entre a fase móvel (pouco polar) e a fase estacionária. Com o fluxo

contínuo de solvente, o efeito desta partição entre as fases móvel e estacionária possibilita a transferência do soluto do seu ponto de aplicação no papel para outro ponto localizado a alguma distância do local de aplicação no sentido do fluxo de solvente.



Aplicando



Extraindo pigmentos vegetais usando a técnica de cromatografia em papel

INTRODUÇÃO

Para realizar a fotossíntese, os vegetais precisam ter clorofila. Mas isso não significa que necessariamente precisam ser verdes. Outros pigmentos dão cor aos vegetais.

Para separar os pigmentos que dão cor aos vegetais, vamos usar uma das técnicas de cromatografia em papel. As diferentes cores observadas na tira de papel, após o experimento, indicam a presença de pigmentos variados.

OBJETIVOS

Extrair e diferenciar diferentes pigmentos vegetais pela técnica de cromatografia em papel.

Compreender que existem outros tipos de pigmentos em vegetais além da clorofila;

Verificar que em um mesmo tipo de folha existem vários tipos de pigmentos, o que explica a mudança da cor de certas folhas durante o inverno e a de certos frutos durante a maturação;



MATERIAIS

- Almofariz e Pistilo (ou pote e socador);
- Tiras de Papel Filtro;
- Becker (ou copo plástico transparente);
- Tesoura e Faca;
- Álcool Etílico;
- Peneira (ou coador);
- Repolho Roxo;
- Beterraba;
- Cenoura;
- Folhas Verdes (pode ser de qualquer vegetal);
- Pimentão Amarelo;
- Tomate.



PROCEDIMENTOS

- 1** Corte em pedaços pequenos (ou rasgue com as mãos) os vegetais e coloque em um almofariz (pote ou copo)
- 2** Triture com o pistilo (ou socador);
- 3** Adicione álcool até cobrir os vegetais e macere novamente;
- 4** Aguarde 15 minutos;
- 5** Coe a solução (vegetais macerados + álcool) com uma peneira ou coador, e coloque em um copo de Becker (ou copo plástico transparente) somente o caldo;
- 6** Recorte tiras de papel filtro;
- 7** Mergulhe uma tira no copo de Becker contendo a solução preparada de forma que a tira de papel filtro seja posta em posição vertical, deixando-o imerso (em contato com a solução) aproximadamente 0,5 cm.
- 8** Aguardar alguns minutos para conferir o resultado (de 30 min a 1 hora).
- 9** Ao retirar a fita da mistura, coloque-a para secar em um vidro relógio (ou tampa);
- 10** Compare os resultados obtidos nos diferentes grupos.

(Opcional): Misturar todos os extratos em um único Becker, colocar uma tira do papel filtro e aguardar o resultado.

Obs.: Muito cuidado ao manusear as soluções para evitar derrubá-las e manchar as roupas.

Os pigmentos que dão cor aos vegetais foram extraídos em álcool etílico, obtendo-se um extrato alcoólico (com cor). As substâncias extraídas foram submetidas à separação, utilizando cromatografia em papel. As diferentes cores que constituem a mistura poderão ser observadas nas tiras de papel, após a corrida cromatográfica, indicando a presença de pigmentos variados nas leguminosas utilizadas.

O álcool vai migrando no papel de filtro e carrega as substâncias do extrato (amostra) que têm maior afinidade com ele. A cor verde refere-se à clorofila, a cor amarela ao caroteno, a roxa é da antocianina e a marrom, geralmente, é dos compostos orgânicos apolares.

O que você achou desse experimento? Foi fácil realizá-lo?

O que você concluiu com esse experimento? Podemos dizer ele é resultado de uma pergunta no processo de produção de conhecimento?

DESAFIO DAS CORES

Agora que você aprendeu a aplicar a técnica de cromatografia em papel, utilize essa mesma técnica para analisar os pigmentos de canetas marcadoras de três cores

Cole aqui os resultados obtidos

Quais cores você escolheu? Na análise cromatográfica elas se subdividiram em outras cores? Se sim, quais?

Qual a relevância desses resultados? Podemos relacionar isso com a produção de tintas?

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

É uma técnica de cromatografia de adsorção do tipo líquido-sólido, onde a fase móvel líquida percorre uma fase estacionária sólida fixada sobre um suporte. O suporte pode ser uma placa de vidro ou metálica, na qual é fixada um material adsorvente, como alumina (Al_2O_3) ou sílica (SiO_2), que serão a fase estacionária.



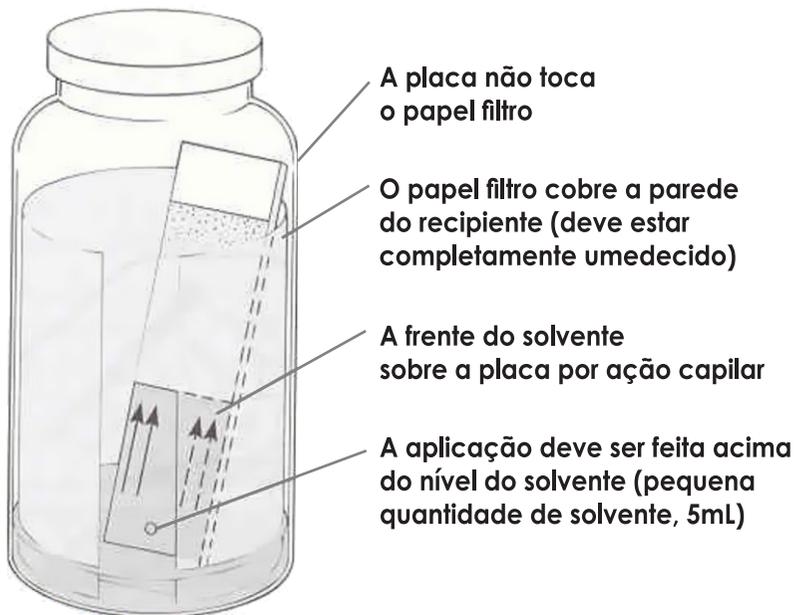
Absorção: é quando uma substância engloba outra substância.



Adsorção: é a adesão de moléculas de um fluido a uma superfície sólida

Pequenas gotas de solução das amostras a serem analisadas são aplicadas em um ponto próximo ao extremo inferior da placa. Deixa-se a placa secar e, então coloca-se a mesma em um recipiente contendo a fase móvel (solvente ou mistura de solventes). A polaridade

do solvente deverá ser de acordo com a polaridade das substâncias que se deseja separar. Como somente a base da placa fica submersa, o solvente começa a molhar a fase estacionária e sobe por capilaridade. Deixa-se secar a placa após o deslocamento da fase móvel sobre ela. A revelação da placa é feita com a aplicação de um reativo que de cor às substâncias de interesse.



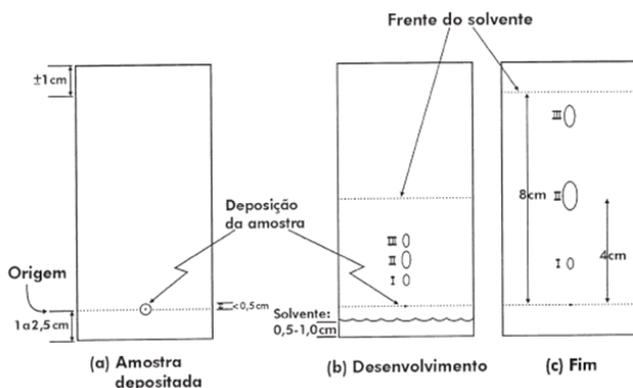
Fonte: http://www.iq.usp.br/wjbaader/qfl2343/Coloquio_CCD_2013.pdf

Uma separação eficiente de substâncias em uma determinada mistura se dá pela análise de seus fatores de retenção (R_f) cuja estimativa pode ser feita em Cromatografia de Camada Delgada (CCD) ou Cromatografia em Papel (CP).

O fator de retenção é a razão entre a distância percorrida pela substância e a distância percorrida pela fase móvel. Esse fator determinará se a substância analisada confere com a substância padrão.



Fonte: DEGANI, Ana Luiza G.; CASS, Quezia B.; VIEIRA, Paulo C. Cromatografia um breve ensaio. *Química Nova na Escola*, v. 7, n. 1, 1998.

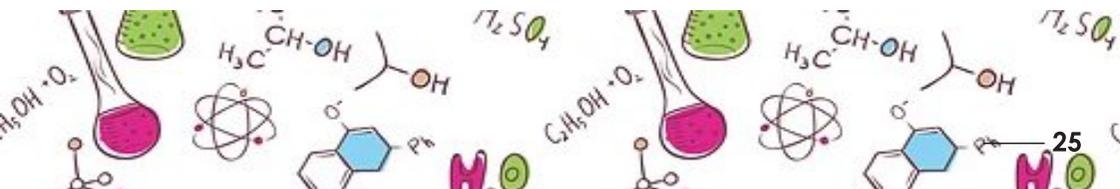


Fonte: AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S. Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins. Rio de Janeiro: Interciência, 2003, p. 33.

POR EXEMPLO:

Vamos supor que iremos analisar a presença de cafeína em um comprimido de analgésico. Para isso, precisamos de uma substância padrão que, nesse caso, é a cafeína pura. Seguiremos os seguintes passos:

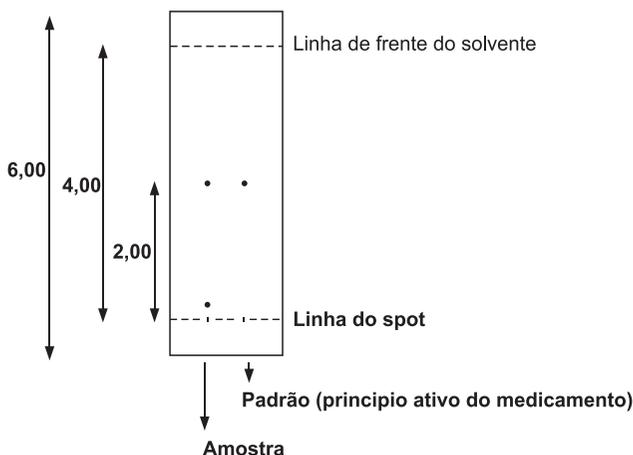
- 1** Triture $\frac{1}{2}$ do comprimido analgésico (Saridon), em seguida misture com o removedor de esmalte suficiente para a formação de uma solução com aspecto embranquecido. Filtre esta solução para obtenção do extrato.
- 2** Aplique em um giz branco uma gota do extrato (amostra de analgésico). Aplique em outro giz uma gota da solução padrão de cafeína. A aplicação deverá ser realizada a 1 cm da extremidade inferior do giz.
- 3** Adicione um pouco de hexano e removedor de esmalte (4:1) em um pote de maionese (cuba cromatográfica) até um nível de cerca de 4cm.
- 4** Revista a parede interna, do vidro de maionese, com um pedaço de papel filtro. Feche o vidro e aguarde alguns minutos para que a cuba fique saturada com o vapor do eluente (fase móvel).
- 5** Introduza, de forma simultânea, os dois gizes, em pé, com a porção mergulhada do extrato e do padrão para baixo, dentro da cuba cromatográfica. Ao final tampe o recipiente.
- 6** Retire os gizes quando o eluente subir, até atingir 0,5 cm do topo de cada giz.
- 7** Deixe os gizes secarem totalmente ao ar (cerca de 10 a 15 minutos).
- 8** Coloque-os em um segundo pote de maionese contendo cristais de iodo (câmara de revelação). Feche o recipiente e aguarde o surgimento das manchas (complexo de transferência de cargas) de cor amarronzada.



Aplicando



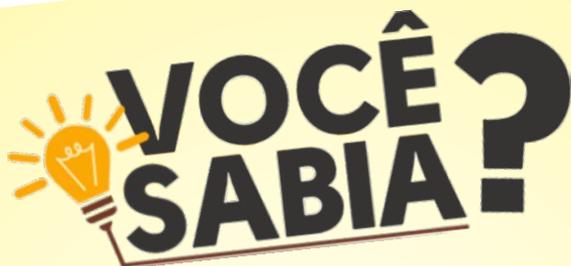
(2010 – FGV – FIOCRUZ - Tecnologista em Saúde - Análises Físico-Químicas). Da análise cromatográfica em camada delgada de uma amostra proveniente de um medicamento, a conclusão que pode ser tirada é:



- a) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 0,50, a amostra contém exatamente uma impureza, e o princípio ativo foi identificado.
- b) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 0,50, a amostra contém pelo menos uma impureza, e a análise sugere a presença do princípio ativo.
- c) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 2,00, a amostra contém uma impureza, e o princípio ativo foi identificado.
- d) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 3,00, a amostra contém exatamente uma impureza, e o princí-

pio ativo foi identificado.

e) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 2,00, a amostra contém pelo menos uma impureza, e a análise sugere a presença do princípio ativo.



Que a cromatografia de camada delgada é muito utilizada na toxicologia, para a detecção de drogas de abuso como metanfetamina, anfetamina, morfina, cocaína e a maconha na urina. Essa identificação é feita por comparação entre os valores de R_f (Fator de retenção) dos analitos contidos na amostra e os R_f obtidos para os padrões analíticos.

No controle do doping em atletas o principal objetivo do emprego das técnicas de cromatografia é a monitorização do uso ou do abuso de drogas que podem estimular o crescimento muscular, aumentar a resistência em competições, reduzir o peso corporal ou reduzir a dor causada por esforço excessivo.



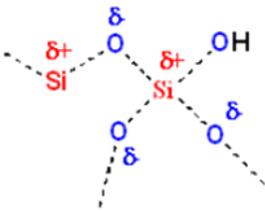
O primeiro trabalho que relatou o uso da cromatografia para identificação de compostos relacionados com a morte do indivíduo em larvas de insetos, foi publicado em 1980. O trabalho descreveu um caso de um corpo que foi encontrado aproximadamente 14 dias após a morte e estava em avançado estado de decomposição. Havia a suspeita de suicídio pelo consumo de uma alta dose de fenobarbital, no entanto não havia tecido humano para se realizar os testes toxicológicos. Os pesquisadores coletaram larvas de insetos que se alimentavam do cadáver, extraíram a amostra e realizaram a Cromatografia Gasosa (CCG) e a Cromatografia de Camada Delgada (CCD), confirmando a overdose por fenobarbital.

Como já vimos a cromatografia em coluna apresenta ramificações, tais como cromatografia líquida clássica e cromatografia líquida de alta eficiência.

As técnicas de cromatografia em coluna separam os componentes de uma mistura por migração diferencial, na qual a propriedade do soluto responsável pela competição é a polaridade; a fase móvel é o solvente de desenvolvimento, enquanto a fase estacionária é o adsorvente.

Alguns adsorventes utilizados na fase estacionária, classificados por ordem crescente de sua capacidade de ligação:

Celulose < Amido < Açúcares < Silicato de magnésio < Carbonato de cálcio < Fosfato de cálcio < Óxido de cálcio < Sílica em gel < Alumina



A sílica em gel (Si_2O) é um adsorvente polar muito utilizado na fase estacionária, apresentando como mecanismos de adsorção as interações polares por ligação de hidrogênio, e as interações dipolo-dipolo entre Si-OH e Si-O-Si.

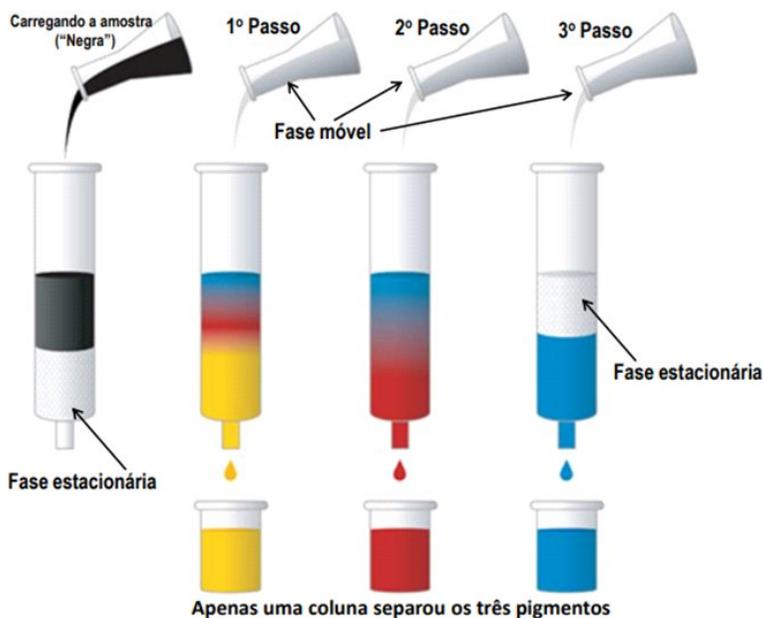
Alguns solventes normalmente utilizados estão listados a seguir na ordem crescente de aumento de polaridade:

Hexano < tetracloreto de carbono < tolueno < diclorometano < clorofórmio < éter etílico < acetato de etila < acetona < etanol < metanol < água < ácido acético

A ligação entre o material adsorvente e os componentes na mistura a ser separada dependem da polaridade. Geralmente, quanto maior a polaridade, mais forte será a ligação e mais difícil será a separação de cada componente na mistura dentro da coluna. Para componentes tendo polaridades similares ou idênticas o peso molecular será o fator determinante, com os componentes de alto peso molecular se deslocando mais lentamente. Quanto maior for a interação entre o material adsorvente e os componentes da mistura mais difícil será do solvente arrastar ele. A polaridade do solvente também é muito importante nesse processo, pois a maioria dos compostos orgânicos são de baixa polaridade ou apolares, por exemplo, solventes apolares irão apresentar maior afinidade com os compostos apolares na mistura, fazendo com que sejam arrastadas por um tempo maior. A solubilidade é regida pelas forças intermoleculares, por isso outro fator importante para analisar as interações dos componentes da mistura com a fase estacionária e fase móvel são as forças intermoleculares.

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA CLÁSSICA

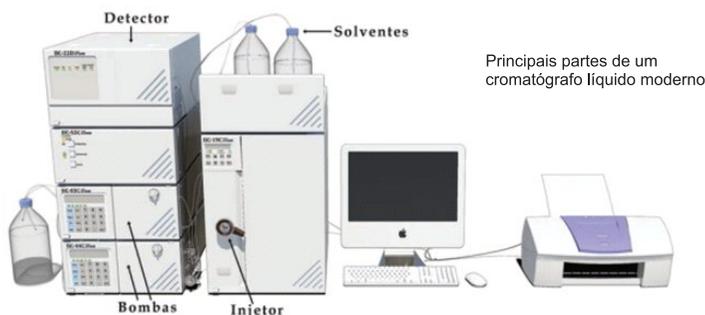
A Cromatografia líquida clássica é muito utilizada para isolar produtos naturais e purificar produtos de reações químicas. As fases estacionárias que mais são utilizadas são a sílica e a alumina, todavia os adsorventes podem ser utilizados apenas como suporte para uma fase estacionária líquida. As fases estacionárias sólidas levam à separação por adsorção enquanto as líquidas levam à separação por partição.



A técnica de Cromatografia Líquida Clássica é utilizada para separar compostos no processo de pré-tratamento da amostra de água para a identificação de resíduos de agrotóxicos.

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conhecida principalmente no meio científico como High-performance liquid chromatography (HPLC), é utilizada para separar e quantificar componentes em uma mistura líquida, utilizando suporte com partículas diminutas responsáveis pela sua alta eficiência. A fase móvel flui através da coluna contendo a fase estacionária. O soluto interage com as fases estacionária e móvel por adsorção, partição, exclusão molecular e troca iônica. As separações por CLAE podem ser sólido-líquido, líquido-líquido ou ambos. O detector mais utilizado em separações desse tipo é o ultravioleta, sendo também utilizados detectores de fluorescência, de índice de refração e eletroquímicos.



Fonte: LANÇAS, Fernando M. et al. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente "compatíveis". *Scientiachromatographica*, v. 1, n. 2, 2009, p. 36.

O sistema típico de um cromatógrafo líquido de alta pressão (HPLC) consiste num:

Reservatório de Solventes: armazenamento de solventes para alimentar o sistema. Pode ser equipado com um sistema de degaseificação e com filtros especiais para isolar o solvente da influência ambiental;

Bomba: permite um fluxo contínuo e constante da fase móvel através do sistema. As mais recentes bombas permitem misturar os diferentes solventes provenientes de diferentes reservatórios;

Injetor: Permite a introdução da mistura de analitos no fluxo da fase móvel antes de entrarem na coluna. Os injetores mais modernos são automáticos e podem ser programados para injetar diferentes volumes de amostra;

Coluna: É o coração do sistema de HPLC. É o lugar onde a fase móvel entra em contacto com a fase estacionária levando à separação dos analitos da mistura;

Detetor: Dispositivo que procede ao registo das propriedades físicas ou químicas do analito na coluna. Os detetores mais usados em análises farmacêuticas são o de Ultravioleta (UV), que permite monitorizar e registar a absorvância UV contínua num intervalo ou num comprimento de onda;

Sistema de aquisição e controlo de dados: Sistema computadorizado que controla todos os parâmetros do HPLC (composição do eluente, temperatura, sequência de injeção, etc.) e adquire dados provenientes do detetor.

Devido ser um sistema automatizado temos os resultados descritos em uma espécie de gráfico denominado cromatograma.

ANALISANDO



Quais os produtos que podemos utilizar produzidos pelas abelhas?

Própolis é uma denominação genérica utilizada para descrever uma mistura complexa de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas colhidas por abelhas melíferas de brotos, flores e exsudatos de plantas, às quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para a elaboração do produto final.



Você já viu uma colmeia?

Sabia a definição de própolis? Caso não pesquise imagens de uma colmeia e da produção de própolis na colmeia.

Você já usou alguma vez própolis? Para que usou?

A composição química do própolis é variada, sendo identificadas mais de 200 substâncias diferentes. A variabilidade de sua composição química é devida sua origem geográfica, já que em diferentes ecossistemas as abelhas recorrem a distintas espécies vegetais como fontes de matérias-primas empregadas em sua elaboração.



O que você entendeu na descrição acima?

Pesquise alguns compostos químicos presentes na própolis.

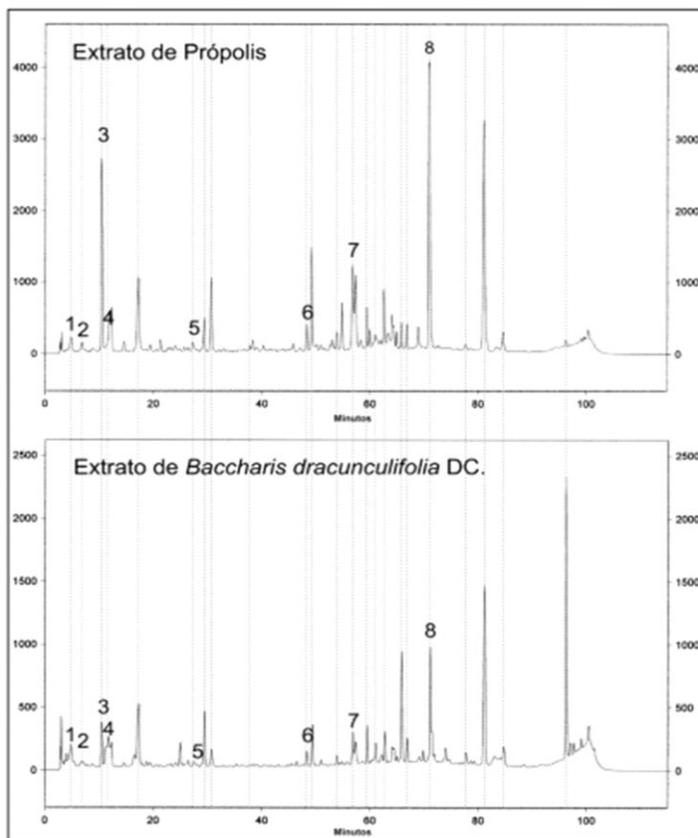
Portanto, o conhecimento sobre as fontes botânica ao redor da colmeia pode indicar características típicas presentes na própolis, como sua composição e atividades biológicas.



Por que isso é importante?



Aplicando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em amostras de *Baccharis dracunculifolia* DC, (alecrim-do-campo), e amostras de própolis de uma colmeia próxima, obter-se os cromatogramas:



Cromatogramas CLAE, a 280nm, obtidos a partir do extrato vegetal e de extrato de própolis. Identificação do pico: 1. Ácido clorogênico; 2. Ácido cafeico; 3. Ácido para-cumárico; 4. Ácido ferúlico; 5. Ácido trans-cinâmico; 6. Isossacuranetina; 7. Canferida; 8. Artepillin C.

O que você conseguiu entender analisando e comparando os cromatogramas?

Qual composto apresentou maior concentração no extrato de própolis?

Repare que nos cromatogramas o tempo de retenção dos compostos são os mesmos, é assim que conseguimos identificar a presença dos compostos analisados nos diferentes extratos.

Pesquise as propriedades dos compostos analisados:

1. Ácido clorogênico:

2. Ácido cafeico:

3. Ácido para-cumárico:

4. Ácido ferúlico:

5. Ácido trans-cinâmico:

6. Isossacuranetina:



7. Canferida:

8. ArtepillinC:

Por que é importante saber a presença desses compostos no extrato de própolis estudado?

Por que é importante saber a interferência das fontes botânicas na produção da própolis? O que isso implica para o desenvolvimento da ciência?

Referência: FUNARI, Cristiano S.; FERRO, Vicente O. Análise de própolis. Food Science and Technology, v. 26, p. 171-178, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100028>



A análise de hemoglobina pela HPLC tem a vantagem de conseguir analisar hemoglobinas variantes, sendo um teste de excelente qualidade para a análise das hemoglobinopatias e as talassemias.

COMUNICANDO

A última etapa da produção de conhecimento é a divulgação dos resultados para a comunidade. Tendo isso em mente, procure artigos científicos que utilizam alguma técnica de cromatografia, leia e intérprete atentamente, pesquise as palavras ou termos que são desconhecidos.

Sobre o que se refere o artigo escolhido?

Foi difícil compreender o artigo? Por quê?

ATIVIDADE FINAL

- Monte grupos de até 5 pessoas.
- Compartilhem os artigos pesquisados e em consenso com os membros do grupo escolha um deles para apresentar em forma de seminário para toda a sala.

ARTIGOS QUE PODEM SER UTILIZADOS:

1. DE MELO, David Marx Antunes et al. Cromatografia de Pfeiffer como indicadora agroecológica da qualidade do solo em agroecossistemas. **Revista craibeiras de agroecologia**, v. 4, n. 1, p. e7653-e7653, 2019.

Para melhor compreender o artigo você pode ler:

GRACIANO, Igor. **Avaliação da saúde do solo por meio da cromatografia de pflifer: Aspectos metodológicos e aplicações**. 2018. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Estadual do Norte do Paraná, Paraná.

2. RIBEIRO, Núbia Moura; NUNES, Carolina Rodeiro. Análise de pigmentos de pimentões por cromatografia em papel. **Química Nova na Escola**, v. 29, n. 8, p. 34-37, 2008.

3. SOUSA, Andrezza Lopes. Determinação do teor de omeprazol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em matérias-primas e produtos acabados. **Revista Eletrônica de Farmácia**, 2005.

- ALBINO, Sergio Marcio. Determinação de cafeína em bebidas, alimentos e medicamentos utilizando um smartphone e um aplicativo como tema gerador no ensino médio. 2020.
- ALMEIDA, Aline Gisele Costa. Elaboração de um manual de experimentos de bioquímica para professores do ensino médio. 2020.
- AMORIM, Antônia Fádía Valentim de; Química- Métodos Cromatográficos. Editora da Universidade Estadual do Ceará- EdUECE, 1ª Edição, 2019. Disponível em: <http://educapes.capes.gov.br/handle/capes/559763>
- CALDAS, Sergiane Souza et al. Principais técnicas de preparo de amostra para determinação de resíduos de agrotóxicos em cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. Química Nova, v. 34, p. 1604-1617, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900021>
- COLLINS, Carol H. I. Michael Tswett e o "nascimento" da Cromatografia. Scientia Chromatographica, v. 1, n. 1, p. 07-20, 2009.
- CÓRDULA, EB de L.; NASCIMENTO, G. C. C. A produção do conhecimento na construção do saber sociocultural e científico. Revista Educação Pública, Rio de Janeiro, v. 18, p. 1-10, 2018.
- DA SILVA, Neila Caroline Henrique et al. Principais técnicas para o diagnóstico da anemia falciforme: uma revisão de literatura. Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-PERNAMBUCO, v. 3, n. 2, p. 33-33, 2017.
- DE MARIA, Carlos AB; MOREIRA, Ricardo F. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. Química Nova, v. 30, p. 99-105, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100021>
- FUNARI, Cristiano S.; FERRO, Vicente O. Análise de própolis. Food Science and Technology, v. 26, p. 171-178, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100028>
- GOULART, Daniel Silva. Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Goiânia, 2012.
- MOREIRA, Inês Marques. Análise de Benzodiazepinas em Toxicologia Forense. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.
- PACHECO, Sidney et al. História da Cromatografia Líquida. Revista Virtual de Química, v. 7, n. 4, p. 1225-1271, 2015. DOI: [10.5935/1984-6835.20150069](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150069)
- PERES, Terezinha Bonanho. Noções básicas de cromatografia. Biológico, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.
- REINA, Corina Rafaela Tavares. A cromatografia líquida no contexto farmacêutico. 2015.
- SOUZA, Douglas MF DE et al. Estudo anatômico, fitoquímico e histoquímico de *Solidago chilensis* Meyen. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 90, p. 2107-2120, 2017.
- VALVERDE, Simone S.; DE OLIVEIRA, Temistocles B.; DE SOUZA, Stefânia P. *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae): *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). Revista Fitos, v. 7, n. 03, p. 131-136, 2012.
- VIEIRA, S. R.; SZNELWAR, Rywka Bandkajder. Identificação de fármacos em urina por cromatografia em camada delgada. Rev. farm. bioquim. Univ. São Paulo, p. 285-98, 1981.
- XAVIER, Luciana Araújo; SOUZA, Edineide Cristina A.; DE LIMA REBOUÇAS, Elenilda. Separação de pigmentos naturais por cromatografia em coluna: proposta de um experimento fácil e rápido. RCT-Revista de Ciência e Tecnologia, v. 6, 2020.



CROMATOGRAFIA

A ciência das descobertas

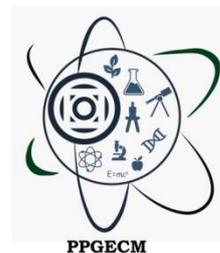
GUIA DIDÁTICO



Juliana Dacyelles Santos Figueiredo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS NATURAIS, HUMANAS E SOCIAIS
Programa de Pós-Graduação em Ensino de Ciências e
Matemática- PPGECM



CROMATOGRAFIA: A CIÊNCIA DAS DESCOBERTAS

Juliana Dacyelles Santos Figueiredo

Orientadora: Carmen Wobeto

Sinop-MT

2022

APRESENTAÇÃO

Caro professor, disponibilizamos a seguir orientações nas quais constam sugestões de como trabalhar o material em sala de aula. Este Guia Didático norteará a prática pedagógica, através das atividades sistematizadas. Com a proposta de apresentar estratégias que facilitarão o processo de ensino/aprendizagem da temática, com sugestões, vídeos, respostas e orientações para a utilização da cartilha de forma pertinente. Vale salientar que a proposta trazida deve ser ajustada de acordo com as especificidades dos alunos e da escola.

Esperamos contribuir para o desenvolvimento de seu trabalho!

Sumário

CIÊNCIAS DA NATUREZA E SUAS TECNOLOGIAS	5
CAPÍTULO 1- A CONSTRUÇÃO DO CONHECIMENTO.....	10
O que passa em sua mente quando você ouve a palavra ciência?.....	10
Processo de produção de conhecimento	10
Material de Apoio:	10
Aplicando	10
CAPÍTULO 2- A GRANDE DESCOBERTA	13
Vou contar uma história.....	13
Simulação do Experimento de Tswett	13
Solventes orgânicos	13
Cromatografia	14
Termos da Cromatografia.....	14
Tipos de Cromatografia.....	14
Material de Apoio:	15
Cromatografia de Papel.....	15
Aplicando	15
Desafio das Cores	16
Cromatografia em Camada Delgada.....	19
Fator de Retenção	19
Atividade.....	21
Você sabia	21
Curiosidade.....	22
Técnicas de Cromatografia em Coluna	22
Cromatografia Líquida Clássica.....	22
Você sabia.....	22
Cromatografia de Alta Eficiência (CLAE).....	23
Sugestões de vídeos:	23
Analisando... ..	23
Material de Apoio:	24
Você Sabia.....	24
Material de Apoio:	24
ATIVIDADE FINAL!	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

CIÊNCIAS DA NATUREZA E SUAS TECNOLOGIAS

Na Educação Básica, a área de Ciências da Natureza deve contemplar três competências específicas descritas na Base Nacional Curricular Comum (BNCC):

1. Analisar fenômenos naturais e processos tecnológicos, com base nas relações entre matéria e energia, para propor ações individuais e coletivas que aperfeiçoem processos produtivos, minimizem impactos socioambientais e melhorem as condições de vida em âmbito local, regional e/ou global.
2. Construir e utilizar interpretações sobre a dinâmica da Vida, da Terra e do Cosmos para elaborar argumentos, realizar previsões sobre o funcionamento e a evolução dos seres vivos e do Universo, e fundamentar decisões éticas e responsáveis.
3. Analisar situações-problema e avaliar aplicações do conhecimento científico e tecnológico e suas implicações no mundo, utilizando procedimentos e linguagens próprios das Ciências da Natureza, para propor soluções que considerem demandas locais, regionais e/ou globais, e comunicar suas descobertas e conclusões a públicos variados, em diversos contextos e por meio de diferentes mídias e tecnologias digitais de informação e comunicação (TDIC).

Dentro dessas três competências o material didático tem como foco as habilidades:

(EM13CNT104) Avaliar potenciais prejuízos de diferentes materiais e produtos à saúde e ao ambiente, considerando sua composição, toxicidade e reatividade, como também o nível de exposição a eles, posicionando-se criticamente e propondo soluções individuais e/ou coletivas para o uso adequado desses materiais e produtos.

(EM13CNT201) Analisar e utilizar modelos científicos, propostos em diferentes épocas e culturas para avaliar distintas explicações sobre o surgimento e a evolução da Vida, da Terra e do Universo.

(EM13CNT301) Construir questões, elaborar hipóteses, previsões e estimativas, empregar instrumentos de medição e representar e interpretar modelos explicativos, dados e/ou resultados experimentais para construir, avaliar e justificar conclusões no enfrentamento de situações-problema sob uma perspectiva científica.

(EM13CNT302) Comunicar, para públicos variados, em diversos contextos, resultados de análises, pesquisas e/ou experimentos – interpretando gráficos, tabelas, símbolos, códigos, sistemas de classificação e equações, elaborando textos e utilizando diferentes mídias e tecnologias digitais de informação e comunicação (TDIC) –, de modo a promover debates em torno de temas científicos e/ou tecnológicos de relevância sociocultural.

(EM13CNT307) Analisar as propriedades específicas dos materiais para avaliar a adequação de seu uso em diferentes aplicações (industriais, cotidianas, arquitetônicas ou tecnológicas) e/ou propor soluções seguras e sustentáveis.

Esse material didático foi elaborado para suprir a demanda existente no Componente Curricular de Química, devido a fragilidade no processo de ensino/aprendizagem.

O ensino de Química deve estar entrelaçado com a alfabetização científica, em que os conhecimentos científicos construídos levem a uma reflexão crítica sobre o desenvolvimento da ciência e suas implicações no seu cotidiano, possibilitando maior propriedade e autonomia na tomada de decisões.

Quando nos referimos aos avanços científicos percebemos que esse déficit no ensino de Química limita o discente em conectar as descobertas científicas-tecnológicas com os conteúdos trabalhados em sala de aula. Um dos temas dificilmente abordados na Educação Básica é a Cromatografia. Essa área de estudo é responsável por grandes descobertas científicas, sendo aplicada para a identificação de compostos e substâncias.

A Transposição Didática desenvolvida pelo pesquisador francês Yves Chevallard, tem como objetivo aproximar os conhecimentos construídos dentro das academias com os conhecimentos aprendidos em sala de aula. Assim, a Transposição Didática apresenta três tipos de saberes, o sábio, o ensinar e o saber ensinado. Portanto o processo de transpor o conhecimento é permitir que os alunos dentro da sala de aula tenham acesso ao conhecimento específico da academia de modo que haja um filtro de conhecimento, porém sem a perda a essência do conhecimento.

Diante desse cenário a Transposição Didática tem o objetivo de transpor o conhecimento científico, ou seja, o conhecimento construído no mundo da pesquisa em conhecimento escolar, aquele aprendido dentro da sala de aula

Portanto, esse material aborda o desenvolvimento científico-tecnológico na área de Cromatografia através de uma metodologia de Transposição Didática que vem de encontro com a necessidade de uma vinculação dos conhecimentos químicos com o cotidiano do aluno.

CROMATOGRAFIA- A CIÊNCIA DAS DESCOBERTAS

Objetivos	Conteúdo	Atividades Desenvolvidas
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Compreender como a ciência explica, descreve e prever fenômenos; ✓ Aprender os procedimentos metodológicos vinculados a construção do conhecimento; ✓ Relacionar a construção do conhecimento e a sociedade; ✓ Desenvolver habilidade de criticidade e argumentação. ✓ Entender a evolução da ciência e suas implicações; ✓ Compreender a técnica de Cromatografia e os seus diferentes tipos; ✓ Analisar as aplicações da técnica de Cromatografia em diversos contextos; ✓ Aplicar a técnica; ✓ Analisar resultados gerados por meio da Cromatografia; ✓ Perceber a importância da técnica de Cromatografia; ✓ Desenvolver habilidades de resolução de problemas; ✓ Transpor o saber acadêmico para saber escolar. 	<p>O que é ciência?</p> <p>Processo de produção de conhecimento.</p> <p>Aplicação do processo de produção do conhecimento</p> <p>História da Cromatografia.</p> <p>O que é Cromatografia?</p> <p>Tipos de Cromatografia.</p> <p>Termos da Cromatografia.</p> <p>A importância da Cromatografia.</p> <p>Curiosidades sobre as aplicações da Cromatografia.</p> <p>Experimentação em laboratório.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Diálogos para levantamento do conhecimento prévio. 2. Pesquisa em artigos científicos. 3. Utilização de simulador. 4. Aplicação, em laboratório, da técnica de Cromatografia em Papel. 5. Leitura sobre curiosidades envolvendo a aplicação da técnica de Cromatografia. 6. Utilização dos processos para a construção da ciência. 7. Desafios e perguntas que permitem o desenvolvimento de habilidades de reflexão, criticidade, argumentação e comunicação.

INSERINDO A CARTILHA NA NOVA MATRIZ CURRICULAR

Com a nova proposta da Base Nacional Comum Curricular (BNCC) também houve uma mudança na matriz curricular nas escolas, agora além das disciplinas consideradas da Base Comum (Língua Portuguesa, Matemática, História, Geografia, Química, Física, Biologia, Educação Física e Artes) agora temos a Parte Diversificada com os Itinerários Formativos composto por disciplinas intituladas como Projeto de Vida, Eletivas e Trilhas Formativas.

As Eletivas são divididas por área de conhecimento, assim, temos Eletivas da Ciências da Natureza, Ciências Humanas, Linguagens e Matemática. Já as Trilhas Formativas são compostas por componentes curriculares que visam aprofundar determinada área de conhecimento. Nessa perspectiva e devido a sua abrangência a cartilha pode ser facilmente desenvolvida por seu caráter interdisciplinar.

Os Itinerários Formativos são formados por eixos estruturantes, analisando cada uma temos a possibilidade de englobar a cartilha em todos eles:

1. **Investigação científica:** o primeiro capítulo da cartilha trabalha especificamente esse eixo trazendo todo o processo de produção do conhecimento, como ela é realizada por meio da investigação e validade por métodos científicos.
2. **Processos Criativos:** pode-se trabalhar o princípio trazido no Desafio das Cores, onde ocorre a interligação com a arte, podendo ser empregado para a produção de produtos utilizados na arte, como as tintas. Dentro desse eixo também pode ser produzidos matérias que promovam a divulgação científica como cartazes, vídeos, podcast, entre outros.
3. **Mediação e Interação Sociocultural:** a cartilha apresenta termos como conhecimento popular e etnofarmacologia e indiretamente a etnociência, portanto o professor pode abordar de forma aprofundada esses termos, levantando questionamentos e reflexões sobre a influência da sociedade e da cultura para a produção da ciência.
4. **Empreendedorismo:** trabalhar a venda, marketing de produção de pigmentos, além de analisar valores para produção de matéria prima e de venda do produto acabado. Pode-se unir o eixo dos Processos Criativos para desenvolver esse eixo.

CAPÍTULO 1- A CONSTRUÇÃO DO CONHECIMENTO

Esse capítulo tem como objetivo apresentar os processos para a construção do conhecimento científico.

O que passa em sua mente quando você ouve a palavra ciência?

- Questionar os alunos a respeito dessa frase, através de diálogo promovendo a interação entre os estudantes, permitindo que os alunos exponham sua opinião sobre o que eles consideram que seja ciência e como ela é construída.

Processo de produção de conhecimento

- Explicar cada passo do processo detalhadamente.
- Procurar suprir as dúvidas dos alunos.

Material de Apoio:

GERHARDT, Tatiana Engel; SILVEIRA, Denise Tolfo. Métodos de pesquisa. Plageder, 2009.

Aplicando

Para maior assimilação do processo de produção de conhecimento esse item tem como objetivo fazer com que o aluno aplique esse processo em uma situação-problema.

Para facilitar já foi proposto o fenômeno analisado e formulado o problema encontrado, de modo a promover uma reflexão dos alunos sobre as infinitas possibilidades de problemas. O professor deve orientá-los que através do mesmo fenômeno podemos também elaborar novos questionamentos. Aconselha-se que o professor discuta o que foi observado e questione se há um novo problema que possa ser construindo a partir do fenômeno.

Após o aluno descrever possíveis hipóteses para resolução do problema sugere-se que haja o compartilhamento dessas hipóteses com a turma, verificando a existência de hipóteses semelhantes e diferentes, com o objetivo que os alunos percebam que cada indivíduo analisa um fenômeno e o problema de maneira diferente.

Para a verificação das hipóteses será necessário a disponibilidade de internet ou meios de pesquisas, orienta-se que haja a reserva do laboratório de informática. Ensinar aos alunos que ao se tratar de uma pesquisa na internet é necessário verificar a confiabilidade do site e plataforma, orientar sobre site de pesquisa de periódicos como Google Scholar, Scielo, entre outros.

Almeja-se que os alunos se questionem como foi realizada a descoberta dos compostos presentes na planta de *Solidago chilenses* e porque essa planta apresenta esses efeitos terapêuticos quando usada no tratamento de inflamações e dores musculares pela comunidade. Presumisse que o aluno encontre nos artigos alguma coisa sobre as técnicas de separação, especificamente o uso da Cromatografia.

Espera-se que o aluno consiga perceber que a observação de fenômenos do nosso cotidiano é a porta para a construção da ciência, que a construção do conhecimento científico é um processo criterioso, organizado e que prioriza o senso crítico.

Fazer com que o aluno entenda o ponto de partida da problematização do fenômeno. Discutir sobre a importância da sociedade, sobre as demandas e necessidades que podemos observar que foram supridas através do desenvolvimento da ciência, ou seja, pela construção do conhecimento científico. No adentro há o que é o conhecimento popular, explorar esse conceito de modo a comparar com o senso comum do senso crítico.

Quando se trata de etnofarmacologia perceber que essa ciência vincula os dois conhecimentos é fundamental. Nessa parte no tange tais colocações é necessário que o professor tenha em mente a ideia das implicações que envolvem essa ciência.

Após a breve explicação sobre a definição de etnofarmacologia trazemos a base para responder a problemática levantada. Nessa explicação é válido retornar a conhecimentos biológicos sobre o metabolismo primário e secundário das plantas.

- Metabolismo primário- metabolismo essencial para sobrevivência da planta, como a fotossíntese.

- **Metabolismo secundário-** Esses metabólitos não apresentam relação com a sobrevivência da planta, mas garantem maior adaptação da planta em seu ambiente. Assim, os metabólitos secundários se diferenciam de uma planta para outra, ou seja, ele está restrito a processos químicos únicos para uma dada espécie ou família, apresenta diversas substâncias entre eles os princípios ativos.

Ao apresentar a estrutura molecular do flavonoide quercetina deve-se ressaltar a complexidade dos compostos orgânicos presente nas plantas, também trazer em pauta a importância das posições dos grupos funcionais orgânicos para sua ação farmacológica. Vale destacar que quanto mais complexa é a estrutura mais difícil é de ser sintetizada em laboratório.

CAPÍTULO 2- A GRANDE DESCOBERTA

A introdução procura levantar perguntas sobre determinadas ações realizadas para garantir a qualidade de produtos, alimentos, medicamentos e até mesmo a saúde dos seres vivos. Discutir e debater sobre como essas ações ocorrem levantando hipóteses e trocando ideias sobre como isso ocorre e qual a importância dessas ações para a sociedade.

Após essas indagações os alunos poderão responder a primeira pergunta do capítulo sem dificuldade já com um pensamento mais amplo dos questionamentos inicialmente feitos. Caso necessário disponibilize a internet para que eles façam uma breve pesquisa a respeito das ações questionadas.

Vou contar uma história...

Envolver a história da ciência possibilita que os alunos percebam a construção e como ocorre o avanço da ciência ao longo dos anos, e como os experimentos realizados por inúmeros estudiosos são de suma importância para as descobertas hoje vivência na ciência.

Simulação do Experimento de Tswett

Link: <http://www.cromatografialiquida.com.br/Clae/colunaaberta.htm>

O link trazido trás de forma mais lúdica o experimento realizado por Tswett com base na história e a observação do experimento espera-se que o discente consiga compreender facilmente o início da história sobre a técnica de Cromatografia.

Solventes orgânicos

- *Hidrocarbonetos aromáticos*: tolueno e xileno;
- *Hidrocarbonetos alifáticos*: hexano, heptano e benzina;
- *Álcoois*: álcool metílico, álcool etílico e álcool propílico;
- *Cetonas*: acetona, metil etil cetona e metil isobutil cetona;
- *Ésteres*: acetato de etilo e acetato de butilo;

- *Éteres*: éter dibutílico, éter dimetílico e éter etílico;
 - *Haletos orgânicos/Hidrocarbonetos halogenados*: diclorometano (cloreto de metileno), tetraclorometano(tetracloroeto de carbono), 1,1,1-tricloroetano ou tricloroetano, triclorometano (clorofórmio);tricloroeteno (tricloroetileno);
-

As perguntas referentes ao que é Cromatografia e onde é empregada são propostas para analisar a concepção prévia do discente, visando conseguir perceber se ele já tem familiarização com o tema.

Cromatografia

Orienta-se que haja aprofundamento desse tópico onde o professor fale sobre a técnica de modo mais amplo, como:

A Cromatografia pode ser definida como um **método físico-químico** de separação, fundamentada na **migração diferencial dos componentes** de uma mistura. Esta migração diferencial se deve a diferentes interações entre a **fase móvel e a fase estacionária**. Os componentes de uma mistura se distribuem entre a fase móvel e a fase estacionária de tal forma que cada um dos componentes é retido seletivamente na fase estacionária, resultando em migrações diferenciadas.

Termos da Cromatografia

Deixar claro esses conceitos são de fundamental importância para a continuação do desenvolvimento da cartilha, por isso, é necessário que o professor tenha domínio sobre esses termos, fazer uso das imagens presentes no material pode auxiliar para explanação desses termos.

Tipos de Cromatografia

Nesse tópico será apresentado os tipos de Cromatografia, porém no material didático só será abordado a Cromatografia de Papel, Cromatografia de Camada Delgada, Cromatografia Líquida Clássica e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Portanto, não se limite somente ao que é apresentado, você como professor tem a autonomia para se aprofundar nos outros tipos de Cromatografia, uma ideia seria propor

uma pesquisa sobre os tipos de Cromatografia, quais as vantagens e desvantagens de cada uma.

Material de Apoio:

AMORIM, Antônia Fádía Valentim de. Métodos Cromatográficos. Universidade Estadual do Ceará- UECE, 2019. Disponível em: <http://educapes.capes.gov.br/handle/capes/559763> acessado em: 13 de outubro de 2022.

Cromatografia de Papel

Exponha a diferença entre a técnica de Cromatografia de Camada Delgada e Cromatografia de Papel. Detalhar juntamente com a turma o texto apresentado, suprimindo possíveis dúvidas sobre a técnica. Sugerimos que seja revisado conceitos sobre polaridade.

Aplicando

Professor, para essa aula é necessário um espaço adequado para a prática, além de vidrarias e instrumentos de laboratório, o que permite que o estudante possa se familiarizar com esses materiais.

Para o professor entender melhor o experimento proposto sugerimos que assista o vídeo “Experimento Cromatografia - Ensino fundamental II e Médio” divulgado pela “Prof Karina Timboni” no YouTube, disponível no link:

<https://www.youtube.com/watch?v=7DFNqVYhVWo>

Desafio das Cores

Para resolver esse desafio propomos uma possível prática para ser desenvolvida, porém a ideia é que o aluno tenha a percepção desse experimento com base na prática anterior e dos conhecimentos adquiridos até o momento. Sendo esse roteiro somente uma base para o professor acompanhar os alunos para solucionar o desafio.

Composição geral de alguns marcadores

Preto → Pigmento azul e roxo;

Vermelho → Pigmento amarelo, laranja, rosa e vermelho;

Verde → Pigmento amarelo e azul;

Roxo → Pigmento roxo e violeta;

Rosa → Pigmento rosa claro e vermelho;

Azul claro → Pigmento azul.

MATERIAL

- Gobelés;
- Papel de filtro;
- Varetas de vidro;
- Conta-gotas.

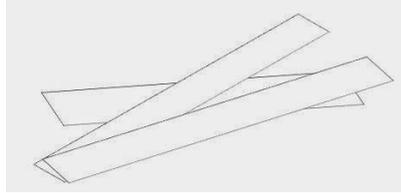
REAGENTES

- Álcool etílico;
- Marcadores de cores variadas.

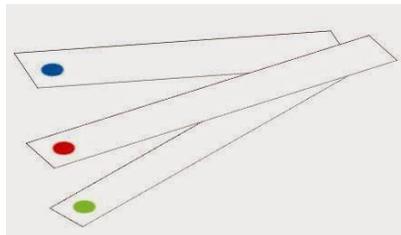
PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Parte A- Separação das cores dos marcadores

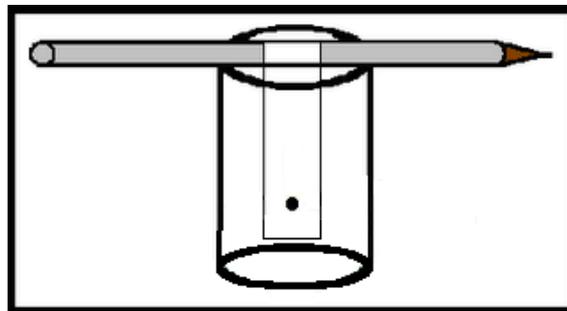
1. Cortaram-se algumas tiras de papel de filtro;



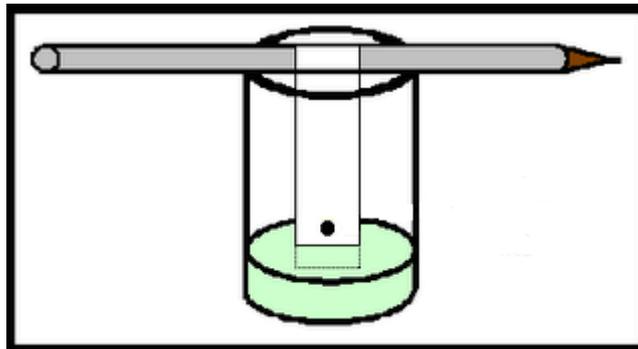
2. Colocou-se uma pinta de cada cor em um dos cantos do papel de filtro.



3. Montagem do suporte para a Cromatografia;



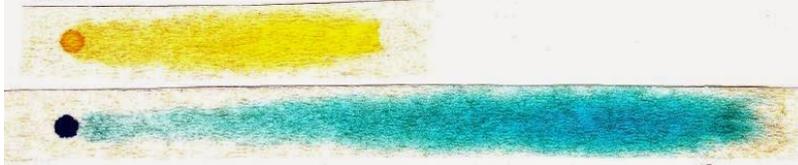
4. Encheu-se o gobelé com álcool até atingir o papel de filtro e tapou-se.



OBSERVAÇÕES/REGISTO DE DADOS

Marcadores

Amarelo e azul → Como podemos observar, as cores primárias não se dividem noutras cores.



Vermelho → Divide-se em laranja e rosa.



Roxo → Divide-se em anil, rosa e azul.



Azul escuro → Divide-se em azul ciano, roxo e anil.



Verde escuro → Divide-se em amarelo, verde claro e azul.



Verde claro → Divide-se em amarelo e verde.



Laranja → Divide-se em laranja e amarelo.



Castanho → Divide-se em laranja, rosa e roxo.



Rosa → Divide-se em laranja, violeta e rosa.



Preto → Divide-se em azul, anil, roxo e castanho.



RESULTADOS

As diferentes cores são observadas em posições diferentes na fase estacionária, uma vez que as tintas usadas são compostas por diferentes pigmentos. As diferentes interações entre esses pigmentos e a fase móvel utilizada fazem com que eles se separem de maneira diferente, devido a uma diferença de polaridade de pigmento para pigmento, tendo então um índice de retenção menor, e conseqüentemente um deslocamento mais longo na fase estacionária.

Com o experimento realizado percebe-se que o arraste das cores no papel de filtro constituem principalmente as cores primárias e que quando se trata de azul e amarelo, estes não indicam a presença de corantes, ou seja, é uma cor pura. Nos outros marcadores percebe-se uma mistura de cores, originando cores que não as cores primárias, como por exemplo, o roxo. Isso indica alguma impureza na tinta, indicando corantes.

A Química está interlaçada com a Arte, principalmente ao que se refere ao mundo das formações das cores, para aprofundar esse conhecimento acesse o link: <http://quimicaearte.blogspot.com/2015/03/introducao-e-habitual-realizar.html>

Cromatografia em Camada Delgada

Orienta-se que o texto seja lido em voz alta com toda a turma, explicando e dialogando sobre cada parágrafo de modo que todo o processo da técnica seja entendido em sua totalidade.

Um dos adentro apresentados é a diferença entre adsorção e absorção, embora já tenha sido utilizado no decorrer do texto os discentes muitas vezes não sabem diferenciar esses termos, por isso para auxiliar é apresentado duas ilustrações para facilitar a compreensão e assimilação dos termos.

Fator de Retenção

O fator de retenção é o parâmetro base analisado na técnica de Cromatografia, permitindo a interpretação dos resultados.

Esse parâmetro é uma razão entre a distância percorrida pela substância e a distância percorrida pela fase móvel.

$$R_f = \frac{\text{Distância percorrida pela substância } (D_s)}{\text{Distância percorrida pela fase móvel } (D_m)}$$

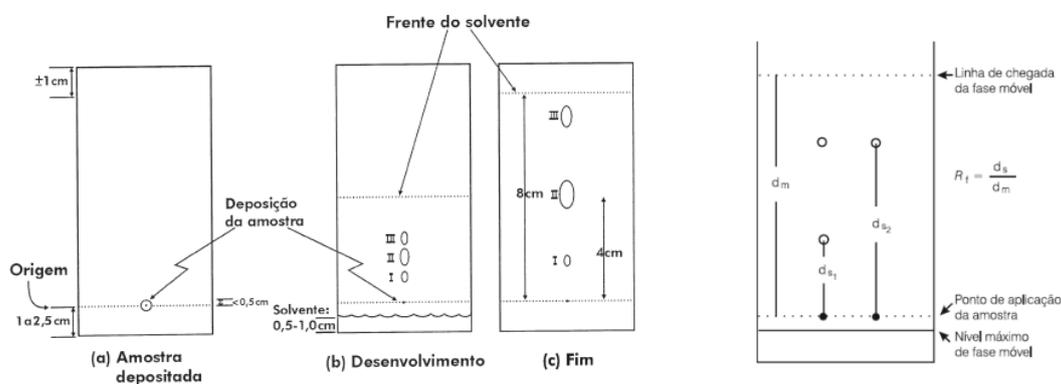


Figura: Esquemática da análise do Fator de retenção.

O professor pode propor um exemplo simples com valores fictícios da distância percorrida pela substância e a distância percorrida pela fase móvel, podendo até mesmo convidar um aluno calcular e explicar o resultado da atividade.

Por exemplo

Devido a necessidade de solventes específicos que dependem da estrutura da escola, é apresentada uma prática, porém não há obrigatoriedade em desenvolvê-la no laboratório. Entretanto, se houver tempo hábil, instrumentação e solventes adequados tal experimento pode ser realizado pelos alunos, ou pelo professor, podendo ser uma experiência de cunho observacional pelo aluno.

Material de Apoio:

MOREIRA, Caio César Coradi. Identificação de cafeína em Saridon® por Cromatografia em camada delgada (CCD): uma abordagem para o ensino de Química aplicado à toxicologia. 2016.

Atividade

(2010 – FGV – FIOCRUZ - Tecnologista em Saúde - Análises Físico-Químicas). Da análise cromatográfica em camada delgada de uma amostra proveniente de um medicamento, a conclusão que pode ser tirada é:



a) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 0,50, a amostra contém exatamente uma impureza, e o princípio ativo foi identificado.

b) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 0,50, a amostra contém pelo menos uma impureza, e a análise sugere a presença do princípio ativo.

c) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 2,00, a amostra contém uma impureza, e o princípio ativo foi identificado.

d) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 3,00, a amostra contém exatamente uma impureza, e o princípio ativo foi identificado.

e) Nestas condições, o R_f do princípio ativo é 2,00, a amostra contém pelo menos uma impureza, e a análise sugere a presença do princípio ativo.

Você sabia

Orienta-se que esse tópico não seja somente lido, mas discutido de modo que os alunos percebam a aplicação dessa técnica para o avanço da ciência, além de reflexões dessas aplicações expondo possíveis aplicações que eles acreditam que essa técnica possa ser usada.

Curiosidade

A curiosidade citada mostra a aplicação da técnica de Cromatografia para o relatório de verificação do óbito do indivíduo. De forma dialogada o professor questionar outros exemplos de aplicação da Cromatografia também durante esse processo de verificação do óbito do indivíduo.

Técnicas de Cromatografia em Coluna

Professor, em uma aula expositiva interativa, mostre para os estudantes as diferenças entre a Cromatografia de Camada Delgada, Cromatografia em Papel e a Cromatografia Líquida Clássica e de Alta Eficiência.

Também sugerimos uma pequena revisão sobre polaridade. Os alunos devem perceber a importância do estudo das polaridades dos adsorventes para a separação dos compostos. Apresentar a molécula da sílica um dos adsorventes mais utilizados devido sua facilidade de uso e custo, para que os alunos consigam entender esse processo de interação entre os compostos. Compreender que o estudo da polaridade influencia diretamente na escolha do adsorvente e do solvente a ser utilizado, além de saber as características dos compostos que são separados primeiro da mistura, de acordo com a força de interação com a fase estacionária.

Cromatografia Líquida Clássica

Orienta-se que o texto seja lido em voz alta com toda a turma, explicando e dialogando sobre cada parágrafo de modo que todo o processo da técnica seja entendido em sua totalidade.

Você sabia

Orienta-se que esse tópico não seja somente lido, mas discutido com todos da turma. Aconselha-se que estimule o aluno a pesquisar novas aplicações dessa técnica em outras áreas da ciência e divulgar suas descobertas.

Cromatografia de Alta Eficiência (CLAE)

Professor, essa é uma das técnicas mais complexas de Cromatografia e a que possibilita análise de amostra de menores concentrações, ressaltar vantagens e desvantagens dessa técnica, e ajudar aos alunos compreender a complexidade que envolve sua realização.

Sugestões de vídeos:

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC ou CLAE

Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=jeC1U1C9zvs>

Zero - CURSO HPLC UPLC UHPLC aula animação de Cromatografia Líquida.

Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=XIcilqPldVc>

Analizando...

Aqui procuramos fazer o aluno refletir sobre os produtos fabricados pelas abelhas, com ênfase na própolis. Pode-se abordar sobre a experiência que os alunos têm em relação as colmeias de abelhas, histórias de cunho cultural, entre outros.

Fazer com que os alunos compreendam a definição de própolis, como ele é produzido, onde ele é utilizado e quais os benefícios dele para saúde humana.

Quando falamos da relação entre as fontes botânicas da localização geográfica para os compostos químicos da própolis permita que o próprio aluno reflita sobre essa colocação, fazendo a interpretação por conta, neste caso atue como um facilitador, caso ele tenha questionamentos sobre o tema.

Para a pesquisa dos compostos químicos presentes na própolis será necessário disponibilizar o acesso à internet, há uma diversidade de compostos, por isso, não há resposta certa para essa pergunta, uma vez, que já fora mencionado existe mais de 200 compostos químicos presentes na própolis.

Por que isso é importante?

O aluno deve perceber que conforme as fontes botânicas da região podemos induzir a produção da própolis com compostos químicos diferentes, de acordo com o objetivo.

O que você conseguiu entender analisando e comparando os cromatogramas?

Orienta-se que o professor fazer uma análise compartilhada com os alunos, deixando-os expor o que eles conseguiram interpretar, e posteriormente comentar cada ponto dos cromatogramas e qual a relação presente entre os cromatogramas.

Pesquise as propriedades dos compostos analisados:

Espera-se que o aluno encontre propriedades do tipo anticancerígenas, antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, imunoestimulantes e antibiótica.

As últimas duas perguntas é para confirmar e consolidar o que o aluno conseguiu compreender através da análise do conteúdo estudado e as pesquisas realizadas. Que eles possam compreender que o desenvolvimento da ciência se dá através de pesquisas como esta, o que possibilita o desenvolvimento da indústria farmacêutica para a produção de novos medicamentos.

Material de Apoio:

FUNARI, Cristiano S.; FERRO, Vicente O. Análise de própolis. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 171-178, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100028>

Você Sabia

Comentar sobre a importância da aplicação da técnica HPLC nas análises clínicas, para os diagnósticos de doenças. Levantar questionamentos sobre as hemoglobinopatias e talassemias.

Material de Apoio:

DA SILVA, Neila Caroline Henrique et al. Principais técnicas para o diagnóstico da anemia falciforme: uma revisão de literatura. Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-PERNAMBUCO, v. 3, n. 2, p. 33-33, 2017.

ATIVIDADE FINAL!

Essa atividade tem como objetivo analisar e avaliar o aluno em relação a sua habilidade de interpretar, compreender, analisar artigos e publicações sobre a temática, além de promover o trabalho em equipe e a troca de ideias e sugestões entre os pares, permitindo que o aluno desenvolva habilidades voltadas para a divulgação da ciência.

Durante essa etapa o professor deve orientar os alunos, ajudando a entender termos e conceitos em sua totalidade, para isso sugerimos que o professor disponibilize o acesso à internet para que os alunos façam pesquisas sobre as dúvidas que irão surgindo ao longo da leitura dos artigos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINO, Sergio Marcio. Determinação de cafeína em bebidas, alimentos e medicamentos utilizando um smartphone e um aplicativo como tema gerador no ensino médio. 2020.

ALMEIDA, Aline Gisele Costa. Elaboração de um manual de experimentos de bioquímica para professores do ensino médio. 2020.

AMORIM, Antônia Fádria Valentim de; Química- Métodos Cromatográficos. Editora da Universidade Estadual do Ceará- EdUECE, 1ª Edição, 2019. Disponível em: <http://educapes.capes.gov.br/handle/capes/559763>

CALDAS, Sergiane Souza et al. Principais técnicas de preparo de amostra para determinação de resíduos de agrotóxicos em cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. Química Nova, v. 34, p. 1604-1617, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900021>

COLLINS, Carol H. I. Michael Tswett e o “nascimento” da Cromatografia. ScientiaChromatographica, v. 1, n. 1, p. 07-20, 2009.

CÓRDULA, EB de L.; NASCIMENTO, G. C. C. A produção do conhecimento na construção do saber sociocultural e científico. Revista Educação Pública, Rio de Janeiro, v. 18, p. 1-10, 2018.

DA SILVA, Neila Caroline Henrique et al. Principais técnicas para o diagnóstico da anemia falciforme: uma revisão de literatura. Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-PERNAMBUCO, v. 3, n. 2, p. 33-33, 2017.

DE MARIA, Carlos AB; MOREIRA, Ricardo F. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. Química Nova, v. 30, p. 99-105, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100021>

FUNARI, Cristiano S.; FERRO, Vicente O. Análise de própolis. Food Science and Technology, v. 26, p. 171-178, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100028>

GOULART, Daniel Silva. Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Goiânia, 2012.

MOREIRA, Inês Marques. Análise de Benzodiazepinas em Toxicologia Forense. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.

PACHECO, Sidney et al. História da Cromatografia Líquida. Revista Virtual de Química, v. 7, n. 4, p. 1225-1271, 2015. DOI: [10.5935/1984-6835.20150069](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150069)

PERES, Terezinha Bonanho. Noções básicas de cromatografia. Biológico, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

REINA, Corina Rafaela Tavares. A cromatografia líquida no contexto farmacêutico. 2015.

SOUZA, Douglas MF DE et al. Estudo anatômico, fitoquímico e histoquímico de *Solidagochilensis* Meyen. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 90, p. 2107-2120, 2017.

VALVERDE, Simone S.; DE OLIVEIRA, Temistocles B.; DE SOUZA, Stefânia P. *Solidagochilensis* Meyen (Asteraceae): *Solidagochilensis* Meyen (Asteraceae). Revista Fitos, v. 7, n. 03, p. 131-136, 2012.

VIEIRA, S. R.; SZNELWAR, Ryszard. Identificação de fármacos em urina por cromatografia em camada delgada. Rev. farm. bioquim. Univ. São Paulo, p. 285-98, 1981.

XAVIER, Luciana Araújo; SOUZA, Edineide Cristina A.; DE LIMA REBOUÇAS, Elenilda. Separação de pigmentos naturais por cromatografia em coluna: proposta de um experimento fácil e rápido. RCT-Revista de Ciência e Tecnologia, v. 6, 2020.