

UM ESPALHADOR DE BAIXO CUSTO DE FASE ESTACIONÁRIA EM PLACAS PARA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Marcelo Henrique dos Santos, Jozyclecio Mégda*, Priscilla Bento Matos Cruz e Felipe Terra Martins

Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714, 37130-000 Alfenas – MG, Brasil

Maria Eliza de Castro Moreira

Laboratório de Fitofármacos, Universidade José Rosário Vellano, Rodovia MG-179, km 0, 37130-000 Alfenas – MG, Brasil

Recebido em 29/5/06; aceito em 1/12/06; publicado na web em 29/8/07

AN INEXPENSIVE PLATE COATER FOR STATIONARY PHASES FOR THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY. Chromatography is a means of separating mixtures into their several components. TLC, mainly a liquid/solid process, is one of the separation techniques most often used. It is indispensable in laboratories dealing with natural products, organic and analytical chemistry. Commercial chromatography plates are offered at relatively high cost. In this work the construction of a hand-operated plate coater of stationary phases of low cost and good reproducibility is described to be used in teaching laboratories and research.

Keywords: thin-layer chromatography; plate coater; stationary phase.

INTRODUÇÃO

A cromatografia é um meio de separação de misturas em seus vários componentes. Pode ser desenvolvida de forma planar ou no interior de colunas. O fenômeno da separação cromatográfica é de cunho interfacial, sendo que as superfícies imiscíveis, fases móvel e estacionária, podem ser gás-sólido, gás-líquido, líquido-líquido e líquido-sólido, respectivamente^{1,2}. A cromatografia em camada delgada (CCD), principalmente a líquido-sólido, consiste na separação dos componentes de uma mistura pela migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana².

A CCD tem se tornado um importante método de determinação da pureza de produtos e técnica indispensável em muitos estudos bioquímicos e biológicos. Encontra também uso geral em laboratórios clínicos e industriais³.

É uma das técnicas de separação mais amplamente utilizadas em laboratórios relacionados à Química de Produtos Naturais (Fitoquímica), análises orgânicas e organometálicas. As razões para isso são muitas, incluindo facilidade de uso e compreensão, ampla aplicação para diferentes amostras, alta sensibilidade, grande reprodutibilidade, rapidez na separação e relativo baixo custo. Uma variedade de aparelhos para CCD encontra-se disponível no comércio⁴.

Permanece sendo também um dos principais métodos para o fracionamento de classes de lipídeos e é crescentemente usada para determinar a origem botânica, potência e potencial de sabor de vegetais (ex. ervas e temperos). Na indústria farmacêutica é usada para análise de misturas complexas. Continua sendo amplamente empregada para padronização de plantas usadas na medicina tradicional⁵.

Como o fundamento da técnica está, principalmente, no fenômeno da adsorção, grande variedade de adsorventes está disponível no mercado. Na CCD dispõe-se de uma variedade de materiais de revestimento; entre os adsorventes mais utilizados estão sílica, alumina, celulose e poliamida, sendo a sílica gel, o mais freqüentemente usado. A preparação das placas cromatográficas pode ser executada no próprio laboratório de análise, pelo método do

espalhamento. Para tal método existem, no mercado, “espalhadores”, os quais visam mais a preparação de placas com 20 cm de comprimento e largura variável². Espalhadores adaptados também podem ser construídos no próprio laboratório.

São também oferecidas placas prontas (placas de vidro ou folhas de alumínio ou plástico, pré-revestidas). A principal vantagem das folhas de alumínio ou plástico é a facilidade de corte com tesoura no tamanho e na forma desejadas, mas têm a desvantagem de se curvarem no tanque cromatográfico⁶.

Devido à indisponibilidade de recursos financeiros ou à redução de custos, a construção de aparelhos adaptados para uso em laboratórios de química mostra-se uma alternativa bastante viável⁷⁻⁹.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um equipamento espalhador de fase estacionária de baixo custo e fácil manuseio que permita a fabricação manual de camadas delgadas sobre placas de vidro com obtenção de superfícies uniformes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Construção do aparelho

Todos materiais utilizados na fabricação do suporte, do espalhador e das placas foram adquiridos no comércio de materiais para construção, papelarias, vidraçarias e também de materiais reaproveitados da secretaria de serviços gerais da UNIFAL-MG (Universidade Federal de Alfenas). A Tabela 1 descreve todos os materiais utilizados na fabricação do equipamento juntamente com seu orçamento.

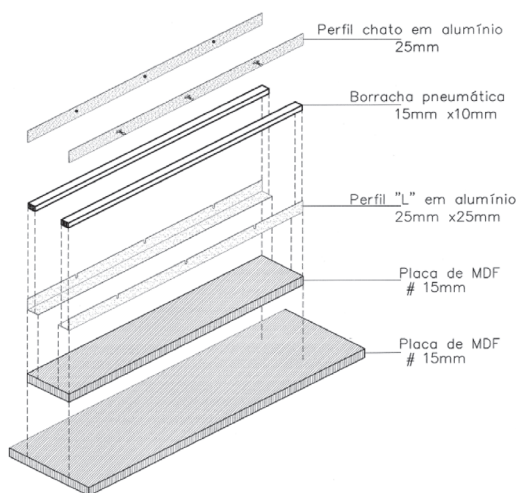
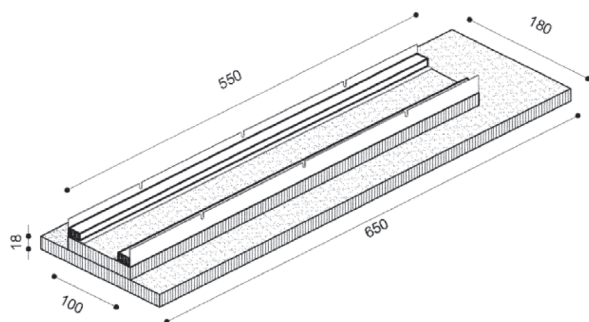
Para a montagem do espalhador foi feito um suporte de madeira tipo MDF obtido na secretaria de serviços gerais da UNIFAL. Sobre o mesmo, foram colocadas duas cantoneiras de alumínio (perfil “L” em alumínio) paralelas entre si em uma distância de 10 cm. Duas tiras de borracha esponjosa também foram anexadas às cantoneiras. Utilizando-se placas de vidro com dimensões 10 x 4,5 ou 10 x 3,5 cm, pode-se alinhar de 10 a 15 placas em cada aplicação. Duas hastes de alumínio (perfil chato em alumínio) contendo parafusos (Figuras 1-3) foram utilizadas para prensar e nivelar as placas de vidro.

O aplicador da fase estacionária foi produzido a partir de uma régua plástica adquirida em papelaria (Figura 3). A régua foi corta-

*e-mail: jozyclecio@yahoo.com.br

Tabela 1. Relação de materiais necessários para fabricação do suporte e espalhador de sílica

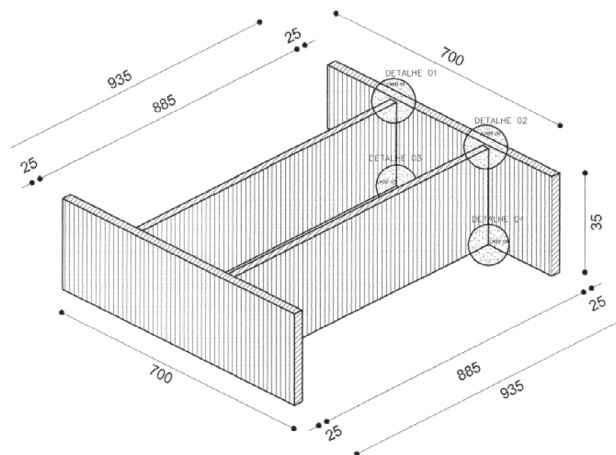
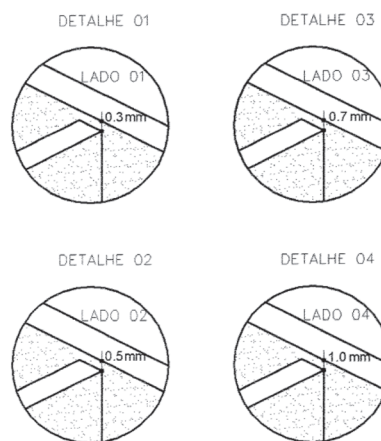
Material	Preço (R\$)
Perfil chato em alumínio 25 mm x 25 mm x 120 cm	4,50
Perfil "L" em alumínio 25 mm x 25 mm x 120 cm	3,50
Borracha esponjosa 15 mm x 15 mm x 120 cm	4,50
Parafusos (4)	0,50
Régua de plástico	1,00
Cola de alumínio (100 g)	2,60
Cola p/ borracha (100 mL)	0,70
Placa de MDF 15 mm 18 x 65/10 x 55 cm	4,00
1 Placa de vidro	0,25
Custo total	21,55

**Figura 1.** Vista expandida do espalhador, mostrando a sequência de montagem**Figura 2.** Vista em perspectiva

da em quatro partes nas dimensões 8,85 e 7,0 cm de comprimento e colada em forma retangular com cola do tipo epóxi. Cada pedaço foi lixado até diminuir sua espessura de modo que ficassem com alturas finais de 0,3; 0,5; 0,7 e 1,0 mm.

Aplicação da fase estacionária sobre as placas

Para a preparação das cromatoplas, aplicou-se a sílica gel 60 (Merck) em suspensão com água destilada na proporção de 15 g de sílica gel para 30 mL de água destilada. O aplicador foi transportado manualmente de uma extremidade à outra do suporte, com velocidade constante, produzindo uma camada homogênea de sílica sobre as placas de vidro. O excesso de fase estacionária cai sobre um papel descartável colocado posteriormente ao aparelho, no lado contrário do início da aplicação. As placas foram deixadas no ambiente

**Figura 3.** Aplicador de fase estacionária mostrando suas medidas finais em milímetros (mm)**Figura 4.** Detalhe do espalhador mostrando as alturas finais em milímetros (mm) para cada espessura possível de fase estacionária

até se tornarem opacas e posteriormente ativadas em estufa 105 °C por 30 min. Estas placas foram utilizadas em laboratórios de aulas práticas de química orgânica e de pesquisa fitoquímica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O equipamento construído produz placas com camadas delgadas de sílica com espessura regular, como mostrado na Tabela 2, onde os dados apresentados consistem nas médias das espessuras mensuradas em dez pontos de cada uma das seis placas confeccionadas com o aparelho espalhador de fase estacionária, seguidos de seus respectivos valores de desvio padrão. Através de análise de variância (ANOVA), as médias foram consideradas estatisticamente iguais ($P > 0,10$) entre as seis placas utilizadas no teste. Além disso, as placas forneceram depois de ativadas, alta reprodutibilidade nos resultados de análises qualitativas quando empregadas na separação de mistura de compostos sintéticos ou de extratos vegetais, auxiliando na detecção de substâncias puras, ou de perfis cromatográficos.

Algumas adaptações feitas foram determinantes para o bom funcionamento deste aparelho. As duas tiras de borracha pneumática anexadas às cantoneiras permitiram a obtenção de uma camada delgada regular nas diversas placas de vidro. As placas ao serem prensadas pelos perfis chatos de alumínio promovem uma deformação na borracha, de tal forma que são corrigidas possíveis diferenças de espessura do vidro. O aplicador foi construído de tal forma

Tabela 2. Espessura da camada de sílica (mm) depositada em seis placas de vidro com auxílio do aparelho espalhador de fase estacionária

Placas					
1	2	3	4	5	6
0,384 (0,079)	0,342 (0,080)	0,358 (0,055)	0,339 (0,018)	0,346 (0,042)	0,342 (0,032)

Os dados apresentados consistem nas médias das espessuras mensuradas em dez pontos de cada uma das seis placas confeccionadas com o aparelho espalhador de fase estacionária, seguidos de seus respectivos valores de desvio padrão. Através de análise de variância (ANOVA), as médias foram consideradas estatisticamente iguais ($P > 0,10$) entre as seis placas utilizadas no teste.

que possibilita a obtenção de quatro diferentes espessuras de fase estacionária, sendo possível utilizar as placas produzidas tanto para uso analítico quanto em CCD preparativa⁴. A espessura da camada depositada é determinada pela posição inferior e contrária ao movimento do espalhador sobre as placas.

Os resultados das análises de substâncias sintéticas e naturais por CCD realizadas no laboratório de Fitoquímica e laboratório de Orgânica da UNIFAL-MG, utilizando o equipamento proposto, têm sido reprodutíveis e úteis no isolamento de compostos orgânicos.

Em relação ao preparo da camada delgada deve-se tomar os devidos cuidados ao manipular a sílica gel. É indispensável o uso de máscaras durante a pesagem e homogeneização da sílica. Outras fases estacionárias, além da sílica, podem também ser empregadas neste dispositivo. Para melhor conservação do aparelho, recomenda-se além de água utilizar somente etanol como solvente orgânico. O uso de acetona, diclorometano ou triclorometano, por exemplo, pode atacar os constituintes plásticos do aparelho.

Finalmente, o custo total do aparelho, R\$ 21,55, representa uma economia significativa, uma vez que, equipamentos comerciais similares são vendidos com preço de até R\$ 1.000,00¹⁰.

CONCLUSÕES

O equipamento espalhador de sílica em placas para execução de CCD foi facilmente produzido através de materiais obtidos em comércio local e/ou de materiais reaproveitados. Devido ao seu baixo custo de produção e elevada performance, pode ser utilizado para fins de pesquisa científica ou em aulas práticas que envolvam CCD.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários da UNIFAL-MG: H. de Lima, pela montagem do aparelho e serviços de marcenaria e A. C. Alves, pela elaboração dos desenhos técnicos; à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Degani, A. L. G.; Cass, Q. B.; Vieira, P. C.; *Química Nova na Escola* **1998**, nº 7, 21.
2. Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S.; *Introdução a Métodos Cromatográficos*, Unicamp Ed.: Campinas, 1997, p. 47.
3. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7ª ed., Harcourt Brace: Fort Worth, 1996.
4. Touchstone, J. C.; *Practice of Thin Layer Chromatography*, 3ª ed., John Wiley & Sons: Philadelphia, Pennsylvania.; 1992.
5. Poole, C. F.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1000, 963.
6. Neto, F. R. A.; Nunes, D. S. S.; *Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins*, Interciência Ed.: Rio de Janeiro, 2003, p. 30.
7. Alvarenga, E. S.; Saliba, W. A.; Milagres, B. G.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 927.
8. Gaião, E. da N.; de Medeiros, E. P.; Lyra, W. da S.; Moreira, P. N. T; de Vasconcelos, P. C.; da Silva, E. C.; de Araújo, M. C. U.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 1102.
9. Böckel, W. J.; Martini, E. M. A.; Samios, D.; Piatnick, C. M. S.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 1106.
10. [http:// www.camag.com](http://www.camag.com), acessada em Maio 2006.