



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA



QUI02023 - Química Orgânica Experimental I-B

MANUAL DE EXPERIMENTOS

Sumário

•	PREFÁCIO	4
•	NORMAS DE SEGURANÇA	5
1.	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO: PROCESSOS CONTÍNUOS E DESCONTÍNUOS	7
1.1.	PROCESSOS DE EXTRAÇÃO CONTÍNUA	7
1.2.	EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA VIA PROCESSO DESCONTÍNUO (Código Extração I)	10
1.3.	EXPERIMENTO 2 - DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DO ÁCIDO SALICÍLICO (Código Extração II)	16
1.4.	EXPERIMENTO 3 - EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE PLANTAS OLEAGINOSAS (código Extração III)	17
2.	DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR E EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE	19
2.1.	DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR	19
2.2.	EXPERIMENTO 1: DESTILAÇÃO POR ARRASTE DE VAPOR (Cód. Arraste I)	20
2.3.	EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO DE CRAVO (Código Arraste II)	21
2.4.	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS	23
3.	DESTILAÇÃO	26
3.1.	DESTILAÇÃO SIMPLES	26
3.2.	DESTILAÇÃO FRACIONADA	26
3.3.	DESTILAÇÃO À PRESSÃO REDUZIDA	32
3.4.	EXPERIMENTAL (Código Vinho)	33
4.	SÍNTESE DO ACIDO ACETIL-SALICÍLICO E PURIFICAÇÃO POR RECRISTALIZAÇÃO (Código Recristalização)	37
5.	CROMATOGRAFIA	45
5.1.	CROMATOGRAFIA EM PAPEL	45
5.2.	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	46
5.3.	CROMATOGRAFIA EM COLUNA	49
5.4.	OUTROS TIPOS DE CROMATOGRAFIA	50
	PARTE EXPERIMENTAL (Código Cromato I)	52
6.	HIDRÓLISE DE AMIDO E ANÁLISE DE AÇÚCARES POR CCD (Código Cromato II)	55
	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	57

7. NITRAÇÃO DO FENOL, CROMATOGRAFIA E DETERMINAÇÃO DE pK_a POR ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA.....	61
Experimento 1: Reação de Nitração do Fenol (Código Cromato III).....	62
Experimento 2: Separação dos produtos por Cromatografia (Código Cromato III).....	63
Determinação de rendimento, proporção e ponto de fusão (código Cromato IV)	66
Experimento 3: Determinação do pK_a do para-nitro-fenol através de UV (Código Cromato IV)	66
8. SÍNTESE, PURIFICAÇÃO E RESOLUÇÃO DA α -FENILETILAMINA	73
Experimento 1: Síntese da α -feniletilformamida (Código Alfa I).....	76
Experimento 2: Hidrólise da α -feniletilformamida (Código Alfa I).....	78
Experimento 3: Purificação da α -feniletilamina por destilação fracionada (Código Alfa II)	79
Experimento 4: Recuperação da (S)-(-)- α -feniletilamina (Código Alfa III).....	81
Experimento 5: Recuperação da (R)-(+)- α -feniletilamina (Código Alfa III)	82
Experimento 6: Determinação da pureza óptica da amostra (Código Alfa III)	83

• **PREFÁCIO**

A disciplina de Química Orgânica Experimental I-B oferece aos (às) estudantes a oportunidade de desenvolverem habilidades e o conhecimento necessários para a síntese, purificação e determinação de propriedades físico-químicas e espectroscópicas de compostos orgânicos. Oferece também a oportunidade de utilização de equipamentos comuns à prática de Química Orgânica, bem como a interpretação de diferentes dados obtidos a partir destas análises, relacionando-os com conceitos teóricos. Além disso, o trabalho em grupo ao longo do semestre estimula a discussão das atividades desenvolvidas e permite o uso vocabulário comum da Química.

Esperamos que você aproveite esta oportunidade,

Professores(as) da QUI02023

• NORMAS DE SEGURANÇA

A adoção das normas de segurança previne acidentes que poderiam colocar em risco a integridade física dos ocupantes do laboratório e a melhor forma de prevenção de acidentes requer:

1. reconhecer a existência do perigo;
2. conhecer as normas de segurança e **adotá-las**.

PROTEÇÃO INDIVIDUAL

A utilização de um guarda-pó ou avental, de preferência de algodão, é OBRIGATÓRIO nas aulas de QUI02023, pois confere proteção contra respingos de substâncias tóxicas e/ou corrosivas. O USO DE ÓCULOS DE PROTEÇÃO É OBRIGATÓRIO NOS LABORATÓRIOS DE QUI02004, mesmo que você não esteja executando nenhum experimento. Seus olhos são especialmente susceptíveis a sofrerem danos por qualquer uma das classes de perigos acima citadas.



Procure no laboratório e imediações a localização e o modo de operação de extintores, chuveiros e equipamentos de lavagem de olhos. Estes últimos podem ser substituídos por uma mangueira de borracha adaptada à torneira de um tanque ou de uma pia, o que permite dirigir um jato d'água ao rosto.

Nunca trabalhe sozinho no laboratório, pois em caso de acidente ninguém poderá lhe ajudar ou socorrer.

O laboratório químico é um lugar que potencialmente oferece perigos, que podem ser divididos em três categorias:

- SUBSTÂNCIAS TÓXICAS E CORROSIVAS;
- FOGO E EXPLOSÃO;
- VIDRARIA FRÁGIL.

PRECAUÇÕES COM SUBSTÂNCIAS TÓXICAS E CORROSIVAS

Ao trabalhar com produtos químicos, as precauções gerais a serem tomadas são:

1. Não permitir que reagentes e solventes entrem em contato com a sua pele e, em caso de contaminação, lavar a parte afetada com água e sabão. Não utilizar nesta lavagem solventes orgânicos, tais como acetona ou etanol, porque o resultado será o aumento da absorção do contaminante através da pele. A transferência de sólidos deve ser efetuada com o auxílio de espátulas, líquidos devem ser transferidos com o auxílio de provetas ou de pipetas (JAMAIS FAZER SUCÇÃO COM A BOCA!)
2. Não degustar nada no laboratório, exceto se for especificamente orientado para fazê-lo.
3. Ao transferir ou manejar solventes voláteis ou substâncias que desprendem vapores tóxicos ou corrosivos, utilize uma capela com tiragem boa ou então um local bem ventilado. Nas reações onde ocorre desprendimento de vapores ou gases corrosivos, providenciar a instalação de um "trap" eficiente.
4. Apesar de muitas vezes o odor constituir-se como característica própria de uma determinada substância, EVITE ASPIRAR VAPORES, pois muitos compostos são extremamente irritantes e tóxicos.
5. Cuidar para que um líquido, ao ser vertido do frasco que o contém, não escorra sobre o respectivo rótulo, danificando-o.
6. Ácidos concentrados devem ser vertidos sobre a água e não o contrário.

Os dados conhecidos sobre os produtos químicos podem ser obtidos nas fichas MSDS (*Material Safety Data Sheet*), que no Brasil deve conter:

- Identificação do produto e fornecedor
- Composição
- Identificação de perigos
- Medidas de primeiros socorros
- Medidas de combate a incêndio
- Medidas de controle para derramamento ou vazamento
- Manuseio e armazenamento
- Controle de exposição e proteção individual
- Propriedades físico-químicas
- Estabilidade e reatividade
- Informações toxicológicas
- Informações ecológicas
- Considerações sobre tratamento e disposição
- Informações sobre transporte
- Informações sobre regulamentações

Durante o semestre será solicitado que os alunos pesquisem e informem os dados relativos aos produtos químicos utilizados ou sintetizados.

PRECAUÇÕES CONTRA FOGO E EXPLOSÕES

Sempre que possível evite a utilização de chamas abertas no laboratório. Se a utilização do bico de gás é necessária, observe os seguintes cuidados:

- não deixe solventes inflamáveis próximos a uma chama;
- não transfira ou verta líquidos inflamáveis de um recipiente para outro nas proximidades de uma chama;
- o aquecimento de líquidos inflamáveis com o uso de chama direta deve ocorrer em recipientes providos de condensador (de refluxo ou de destilação);
- jamais aqueça solventes, inflamáveis ou não, em sistema fechado, pois o aumento da pressão interna, causado pelo aquecimento, pode levar à explosão da aparelhagem e à ignição de seu conteúdo;
- a destilação de líquidos inflamáveis altamente voláteis (especialmente éter etílico) deve ser feita com manta elétrica ou, na sua ausência, com água quente;

- verifique a localização dos extintores de incêndio e informe-se acerca de sua operação.

PRECAUÇÕES RELATIVAS À VIDRARIA

A Regra básica para o manuseio de vidraria é a seguinte: JAMAIS SUBMETA UMA PEÇA DE VIDRO À PRESSÕES OU TENSÕES DESNECESSÁRIAS. Esta regra aplica-se principalmente para a inserção de termômetros e tubos de vidro em rolhas ou em mangueiras de borracha. Nestes casos, a lubrificação com água ou glicerina muitas vezes facilita a inserção. Ao montar uma aparelhagem, deve-se estar atento para que os componentes desta não sejam submetidos a tensões excessivas, devidas aos agarradores muito apertados.

Em muitos laboratórios encontra-se generalizado o uso de material de vidro provido de juntas esmerilhadas padrão que, a cada montagem, devem ser devidamente lubrificadas, com um pouco de graxa de silicone, para evitar o travamento.

1. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO: PROCESSOS CONTÍNUOS E DESCONTÍNUOS

A extração é um processo de separação de compostos que consiste em transferir uma substância da fase na qual se encontra para outra fase líquida.

Quando um soluto "A", contido no solvente 1, é agitado com um segundo solvente 2, imiscível com o primeiro, o soluto se distribui entre as duas fases líquidas. Após a separação das duas fases, estabelece-se uma situação de equilíbrio em que a relação das concentrações do soluto nas duas fases é uma constante "K" (coeficiente de partição). Segundo a Lei da Partição de Nerst:

$$K = \frac{[A]_{\text{solvente1}}}{[A]_{\text{solvente2}}}$$

Equação 1. Equação da Lei da Partição de Nernst

O coeficiente de partição depende da solubilidade relativa do soluto em cada par de solventes utilizados e da temperatura. Para a extração, escolhe-se como solvente extrator um que solubilize o soluto muito mais que o solvente original. Na maior parte dos casos quanto maior a temperatura do solvente, maior a solubilidade (um exemplo de comportamento anômalo é o oxalato de cálcio que é mais solúvel em água a frio do que a quente).

A eficiência da extração está diretamente relacionada com a quantidade de solvente empregado e, principalmente, com o número de vezes (ciclos) em que a extração é repetida. Assim, mesmo que o volume final de solvente extrator a ser empregado seja o mesmo (ex. 50 mL) obtém-se maior quantidade de soluto extraído realizando 2-3 extrações com volumes menores (ex. duas extrações com 15 mL e uma com 20 mL) que uma única com o volume total do solvente. A explicação para este resultado pode ser facilmente comprovada experimental e matematicamente.

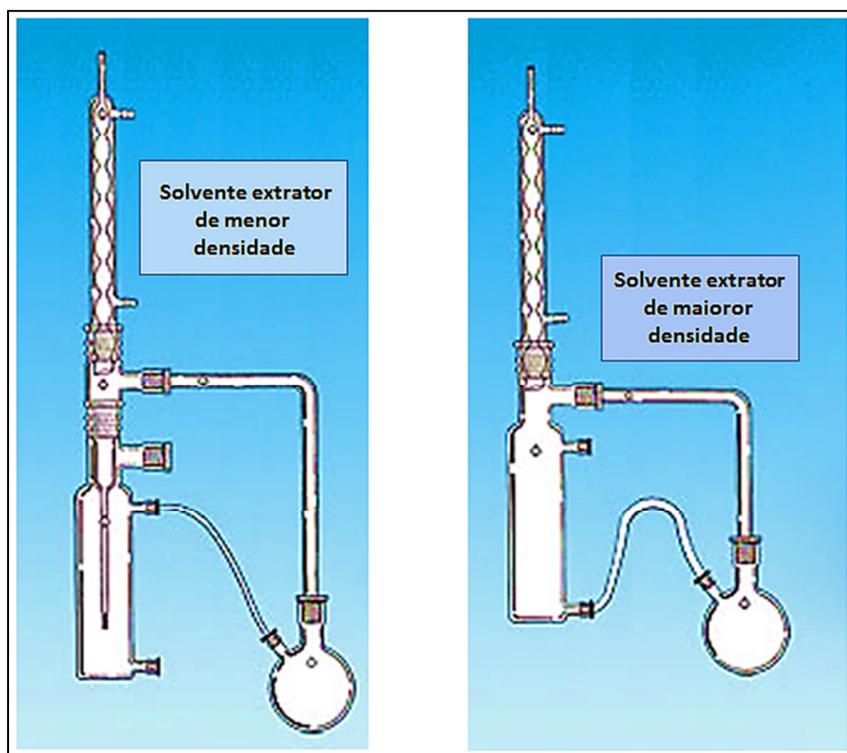
1.1. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO CONTÍNUA

Os processos de extração contínua visam facilitar o processo de extração tornando-o mais prático, econômico, seguro e com um maior rendimento em material extraído. Geralmente são empregados quando o composto a ser extraído é pouco

solúvel no solvente utilizado, quando o solvente possui custo elevado ou quando o soluto encontra-se presente em baixa concentração na matéria-prima.

Os processos contínuos possuem largo emprego industrial especialmente para a obtenção de óleos vegetais (soja, amendoim, algodão, girassol, arroz, milho, e parcialmente, de oliva). Os principais processos contínuos são a **extração sólido-líquido** e a **extração líquido-líquido**. Esta última pode ser realizada com solvente extrator de maior ou menor densidade que a do solvente que contém a substância a ser extraída.

Extações contínuas Líquido-Líquido



Esquema Geral para Extração Líquido-Líquido

Extrações Contínuas Sólido-Líquido

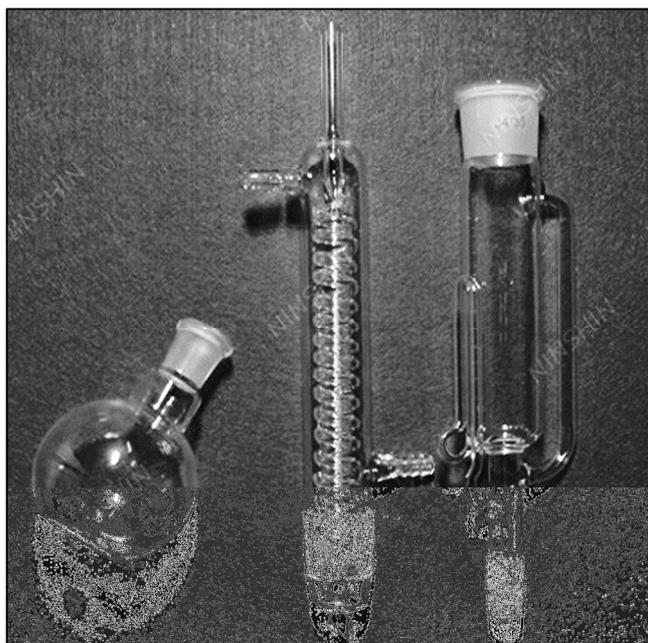
O conjunto extrator de Soxhlet foi desenhado de modo a permitir que uma determinada quantidade de solvente puro passe repetidas vezes sobre a substância a extrair (realização de ciclos) e cada ciclo corresponde a uma extração descontínua.

O funcionamento do extrator Soxhlet é engenhoso: o solvente puro contido no balão entra em ebulição e sobe, na forma de vapor, pela tubulação (tubo de vapor) sofrendo condensação no condensador (geralmente de tipo Allihn) e caindo sobre a amostra a ser extraída que se encontra no compartimento de extração (câmara de

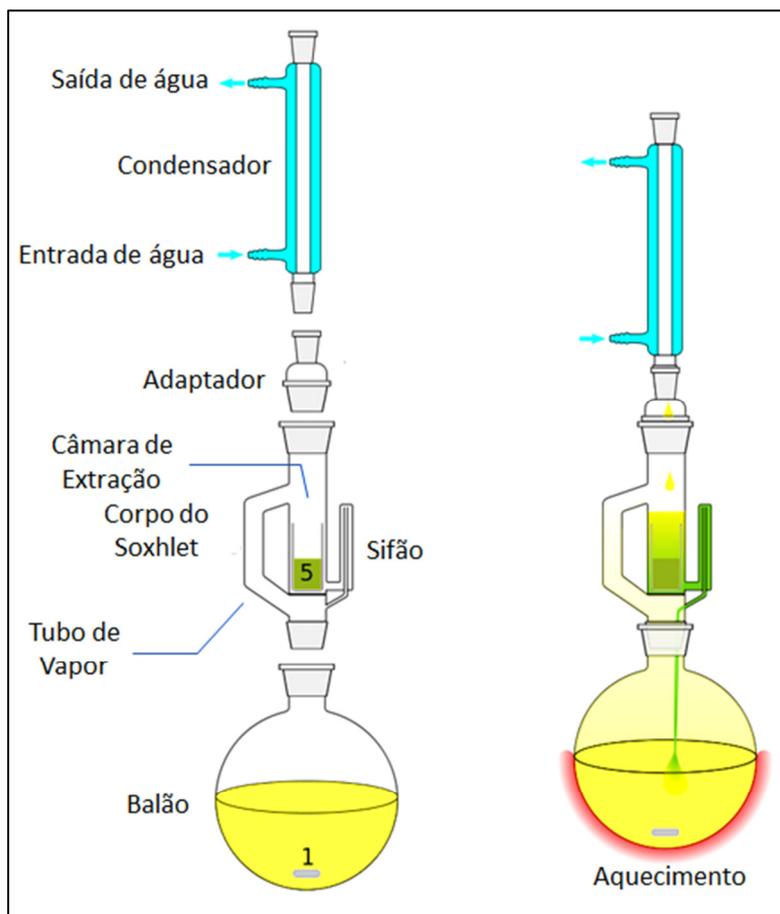
extração). Quando o solvente neste compartimento atinge um nível elevado, começa a gotejar de volta ao balão através da tubulação apropriada, o sifão. O ligeiro abaixamento de pressão que ocorre faz com que todo o líquido na câmara de extração (solvente e o extrato de interesse) seja sifonado para o balão, reiniciando o processo quando o solvente entra novamente em ebulição.

O extrato (produto de interesse), de ponto de ebulição maior, permanece no balão enquanto o solvente puro sobe para reiniciar o ciclo, que pode ser repetido até o total esgotamento do material. Os extratores de tipo líquido-líquido possuem um funcionamento parecido ao extrator Soxhlet, isto é, realizam "lavagens" em uma solução da substância a ser extraída.

Aparelhagem Extrator Contínuo de Soxhlet



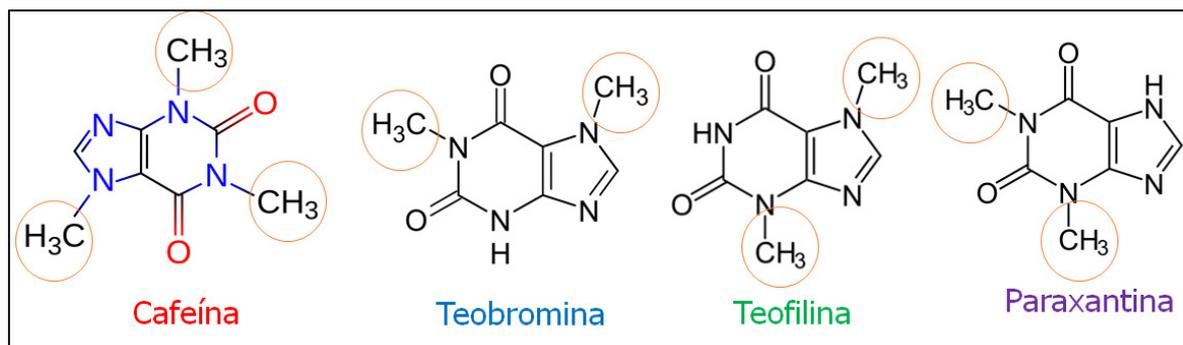
Descrição da aparelhagem do Extrator de Soxhlet



1.2. EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA VIA PROCESSO DESCONTÍNUO (Código Extração I)

1.2.1. Cafeína

A Cafeína é um composto químico de fórmula $C_8H_{10}N_4O_2$, classificada como alcaloide do grupo das xantinas e nomeado (IUPAC usual) como 1,3,7-trimetilxantina. É encontrada em certas plantas e usada para o consumo como estimulante em bebidas, na forma de infusão.



A cafeína se apresenta sob a forma de um pó branco ou pequenas agulhas, que fundem a 235-238 °C e sublimam a 178 °C, em condições normais de temperatura e pressão. É extremamente solúvel em água quente, não tem cheiro e apresenta sabor amargo.

Cafeína

Fórmula: $C_8H_{10}N_4O_2$

Massa molar: 194,19 g.mol⁻¹

Nome Sistemático IUPAC:

1,3,7-Trimetilpurina-2,6-diona

Ponto de fusão: 235 °C

Densidade: 1,23 g/cm³



Cafeína pura

Entre o grupo das xantinas, a cafeína é a que mais atua sobre o sistema nervoso central. Atua ainda sobre o metabolismo basal e aumenta a produção de suco gástrico. Doses terapêuticas de cafeína estimulam o coração aumentando a sua capacidade de trabalho, produzindo também dilatação dos vasos periféricos. Uma xícara média de café contém, em média, 100 mg de cafeína. Já numa xícara de chá ou um copo de alguns refrigerantes encontram-se quarenta miligramas da substância. Sua rápida ação estimulante faz dela poderoso antídoto à depressão respiratória em consequência de intoxicação por drogas como morfina e barbitúricos. A ingestão excessiva pode provocar irritabilidade, ansiedade, dor-de-cabeça ou insônia. Os portadores de arritmia cardíaca devem evitar o uso desta substância. Altas doses de cafeína excitam demasiadamente o sistema nervoso

central e os reflexos medulares, podendo ser letal. Estudos demonstraram que a dose letal, para humanos, é de 10 g.

A Cafeína é metabolizada por um conjunto de enzimas no fígado e é transformada em 10% de Teobromina, 4% de Teofilina, 80% de Paraxantina e, subsequentemente, em ácido metil-úrico que é eliminado pela urina.

A Cafeína é encontrada em muitas espécies de plantas e sua função no organismo vegetal é atuar como pesticida natural. Níveis elevados de cafeína são encontrados em mudas jovens que ainda estão desenvolvendo folhagens sem proteção mecânica. A Cafeína paralisa e mata determinados insetos que se alimentam da planta. Altos níveis de cafeína também foram encontrados no solo na terra circunvizinha de mudas e grãos de café.

As principais plantas que contém o princípio ativo cafeína são:

- Erva-Mate: folhas e talos da *Ilex paraguariensis*.
- Café: sementes da *Coffea arabica*.
- Chá: folhas da *Camellia sinensis*.
- Cacau: frutos da *Theobroma cacao*.
- Guaraná: frutos da *Paullinia cupana*.
- Cola: *Cola acuminata*.

1.2.2. Teobromina e o chocolate

A teobromina é um alcaloide da família das metilxantinas, da qual também fazem parte a teofilina e a cafeína. É encontrada principalmente no fruto do *Theobroma cacao* (cacau), de onde deriva o seu nome.

O cacau é a matéria prima na fabricação de chocolates, os quais contêm uma percentagem de 0,5-2,7% de Teobromina, no entanto, no chocolate branco, há poucos vestígios desta substância.

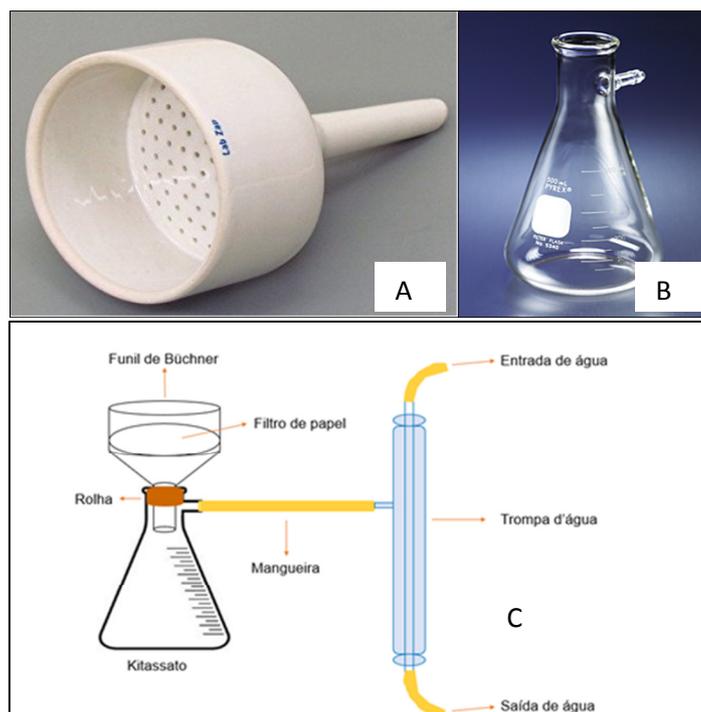


Depois da sua descoberta no final do século 19, a Teobromina foi posta em uso em 1916, quando foi recomendada pelos *Princípios de Publicação de Tratamento Médico* como um tratamento alternativo para edema (líquido excessivo em partes do corpo), ataques de *angina pectoris* e outros problemas circulatórios e doenças vasculares, como arteriosclerose e hipertensão. Na medicina moderna, a Teobromina é usada como um vasodilatador, diurético e estimulante do coração.

1.2.3. EXPERIMENTO 1 – EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA

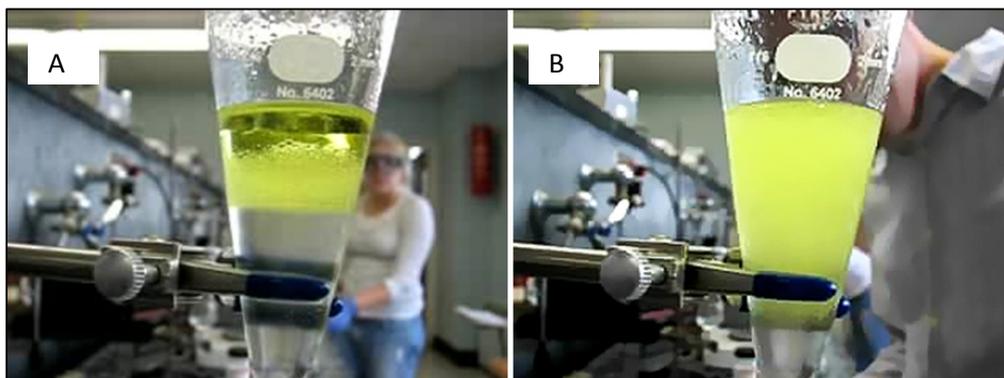
Devido a sua grande solubilidade em água quente, este experimento se dedica a extrair e determinar a percentagem de cafeína em amostras de erva-mate disponibilizadas no Laboratório.

1. Em um béquer de 250 mL de capacidade, colocar 10 gramas de folhas de erva-mate picada e um volume de 150 mL de água destilada.
2. Aqueça a mistura até ebulição e mantenha esse processo por cerca de 15 minutos. Use chapa de aquecimento para isto.
3. Transcorrido este período, deixar esfriar e adicionar cerca de 1 grama de carbonato de cálcio [CaCO_3] para precipitar os taninos. Agite com auxílio de um bastão de vidro e deixe esfriar.
4. Filtrar a suspensão através de uma fina camada de Celite colocada sobre o papel filtro no funil de Büchner (A). Com auxílio de um copo de Kitassato (B) conectado a uma fonte de vácuo (C), proceda à filtração utilizando pressão reduzida (com auxílio de uma trompa d'água). *Obs.: Para o procedimento de montagem e execução da Filtração sob Pressão Reduzida, consulte o **item 1.2.4** no final deste texto.



5. Se o filtrado ainda estiver quente (morno), deixar esfriar (temperatura ambiente), e transferir o conteúdo para um funil de separação.

6. Adicione cerca de 25 mL de Diclorometano (Cloro de Metileno, CH_2Cl_2) e misturar suavemente para evitar a formação de emulsões. *Obs. Não agite vigorosamente o funil de separação contendo os dois líquidos.



Separação normal (A) e com emulsão (B) em Funil de Separação

7. Separe a fase orgânica, recolhendo-a em um Erlenmeyer e reserve.

8. À fase aquosa remanescente no funil de separação, adicione mais 25 mL de Diclorometano e repita o procedimento, juntando as frações orgânicas no final.

9. Adicione 2 espátulas de Sulfato de Sódio (Na_2SO_4) ou Sulfato de Magnésio (MgSO_4) anidros. *Obs. Estes sais atuam como agentes secantes, retirando a água

do solvente. A quantidade de agente secante deve ser suficiente até que o sólido fique solto pelo fundo do Erlenmeyer.

10. Deixe em repouso por cerca de 10 minutos e filtre a solução para balão de fundo redondo de 100 mL (**previamente pesado**) e evapore o solvente em evaporador rotatório até a saída de todo o solvente (CH_2Cl_2).

11. Pese a cafeína bruta e calcule o rendimento em massa (Massa de Cafeína/Massa de Erva Mate)

12. Analisar a cafeína em um espectrofotômetro de infravermelho e discutir o resultado.

1.2.4. MONTAGEM DA APARELHAGEM PARA A FILTRAÇÃO À PRESSÃO REDUZIDA.

A filtração à pressão reduzida é usada principalmente para coletar sólidos como os cristais em um procedimento de recristalização. Serve também para separar material sólido indesejado com granulometria variada cujo solvente tenha dificuldade de fluir por gravidade em uma filtração simples. A filtração com pressão reduzida utiliza um funil Büchner e um frasco de braço lateral, o Copo de Kitassato.

A filtração por pressão reduzida é mais rápida que a filtração por gravidade, porque o solvente ou a solução são forçados sugados através do papel de filtro pela aplicação de pressão reduzida. Para realizar uma filtração à Pressão Reduzida, siga os passos abaixo:

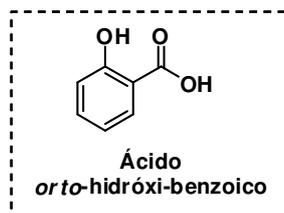


1. Prenda firmemente o frasco de Kitassato a um suporte de metal.
2. Adicione um funil Büchner com um adaptador de funil de borracha.
3. Recorte um pedaço de papel de filtro que se encaixe “perfeitamente” sem rugas no funil e seja suficientemente grande para cobrir todos os orifícios no filtro do funil.
4. Conecte o braço lateral do frasco de Kitassato a uma fonte de vácuo.

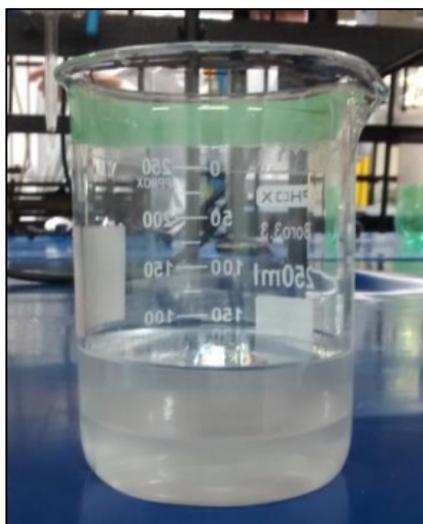
5. Antes de iniciar a filtração, molhar o papel com uma pequena quantidade do solvente a ser utilizado na filtração. Isso faz com que o papel adira melhor à placa de porcelana e evita que os materiais passem sob o papel durante a filtração.
6. Ligue a fonte de vácuo. Certifique-se de que o papel está seguro no filtro e, se necessário, pressionar o funil para encaixar a vedação e formação de vácuo.
7. Despeje porções da solução cuidadosamente no centro do papel filtro. Evite que as partículas fluam para as bordas do papel filtro e do funil.
8. Terminada a filtração, desconecte cuidadosamente a tubulação ligada ao vácuo.
9. Remova o papel de filtro e o sólido coletado que está sobre ele.

1.3. EXPERIMENTO 2 - DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DO ÁCIDO SALICÍLICO (Código Extração II)

1. Em um béquer de 250 mL de capacidade colocar 50 mL de água destilada, 50 mL de álcool amílico (1-pentanol) e 0,5 g de ácido salicílico (ácido *o*-hidroxibenzoico).



2. Agitar a mistura durante alguns minutos com um agitador magnético ou com um bastão de vidro para que o ácido salicílico se distribua entre os dois solventes.
3. Transferir o líquido para funil de separação (pêra de separação) de capacidade adequada e esperar até que se observe a separação entre as duas fases.

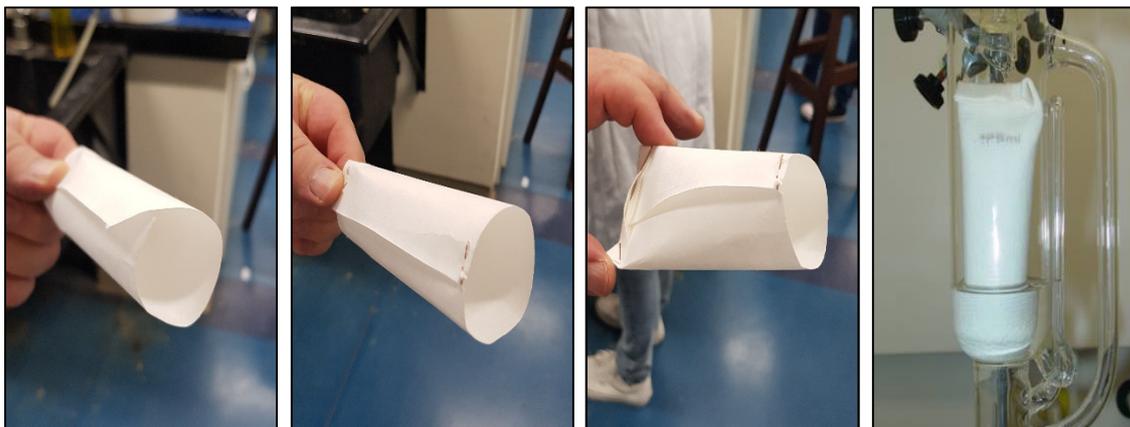


4. Transfira cada uma das fases (orgânica e aquosa) líquidas para 2 frascos de Erlenmeyer rotulados.
5. Titule cada uma das soluções conforme os itens **a** e **b** abaixo, tomando o cuidado de utilizar primeiro a solução de NaOH mais diluída.
 - a. Retire uma alíquota de 10mL da **fase aquosa** e titule com uma solução de NaOH (de concentração mais diluída), utilizando solução de fenolftaleína (3 gotas) como indicador. Fazer em duplicata.
 - b. Retire uma alíquota de 10mL da **fase orgânica** e titule com uma solução de NaOH (mais concentrada), utilizando solução de fenolftaleína (5 gotas) como indicador. Fazer em duplicata.
6. Utilize as médias dos resultados obtidos para cada fase para calcular o **Coefficiente de Partição** do ácido salicílico nos dois solventes.
7. **Descarte:** Transferir o resíduo de titulação da fase orgânica para um funil de decantação grande, disponível na capela. Transferir o resíduo de titulação da fase aquosa para o frasco de rejeitos aquosos disponível na capela.

1.4. EXPERIMENTO 3 - EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE PLANTAS OLEAGINOSAS (Código Extração III)

1. Montar um conjunto extrator de Soxhlet. **Obs. 1:** Pese o balão que será utilizado na montagem da aparelhagem, já com as pedras-de-ebulição (aprox. 3-4 pequenas lascas de cerâmica disponíveis na bancada do laboratório). **Obs. 2:** coloque as pedras-de-ebulição com delicadeza dentro do balão, inclinando-o e largando-as pelas laterais, para evitar quebrar o fundo do mesmo.
2. Triturar as sementes (caso ainda não estejam trituradas) para facilitar o contato com o solvente. Colocar no cartucho próprio (veja a seguir). Tampar o cartucho com um chumaço de algodão para evitar que parte das sementes caia para o balão e/ou venha a entupir a tubulação do sifão.
3. Pesar uma quantidade de sementes de amendoim (ou qualquer oleaginosa à sua disposição) compatível com o tamanho do extrator Soxhlet.
 - a) Faça um “cartucho” com diâmetro um pouco menor do que o diâmetro do soxhlet.
 - b) Use grampos para prender o “cartucho” de papel.

- c) Feche uma das extremidades utilizando grampos.
- d) Preencha o cartucho com uma quantidade de sementes.
- e) Adapte o “cartucho” dentro do soxhlet



- 4. Colocar hexano no balão até atingir 2/3 de sua capacidade, aquecendo o balão com manta de aquecimento. Deixar que o conjunto realize ciclos durante aproximadamente 1 h e 30 min.
- 5. Interromper o aquecimento e evaporar o solvente em evaporador rotatório.
- 6. Determinar a massa do óleo obtido para os cálculos de rendimento em massa.
- 7. Transferir para o frasco correspondente, adequadamente rotulado (descarte).
- 8. Calcular o rendimento percentual do óleo com relação à massa de sementes utilizadas para a extração.

2. DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR E EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE

2.1. DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR

A destilação por arraste a vapor d'água é um método usado para purificar substâncias que se decompõem a temperaturas elevadas e para a separação de compostos voláteis de uma mistura de outros não-voláteis. O vapor passa pela amostra aquecida e arrasta material volátil, que é condensado em outro recipiente. A separação de óleos essenciais a partir da matéria vegetal é um dos usos mais comuns desta técnica. Características para que uma substância orgânica possa ser separada/purificada por este processo:

- a) ser insolúvel ou pouco solúvel em água;
- b) não sofrer alteração/decomposição pelo vapor d'água aquecido;
- c) possuir apreciável pressão de vapor (> 5 mmHg a 100°C).

O processo de arraste a vapor possui grande aplicabilidade podendo ser usado para a extração do óleo de cravo-da-índia, de casca ou folhas de limão, de casca ou de folhas de laranja, de folhas de eucalipto e de folhas de capim-cidró.

Os óleos essenciais: Indústria de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos

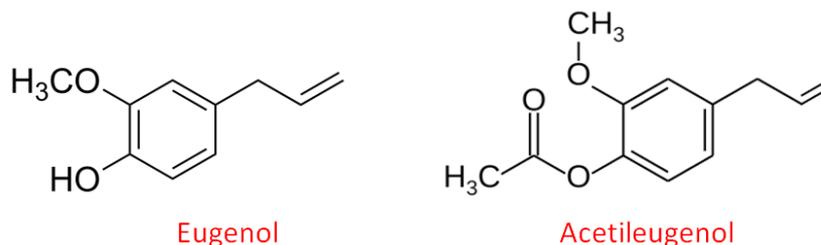
Óleos essenciais ou óleos voláteis são substâncias aromáticas vitais encontradas nas flores, ervas, frutas e especiarias, com aplicação na culinária para aromatizar alimentos e bebidas e uso pelas indústrias na produção de alimentos e bebidas, para adicionar aromas, usados em perfumes, cosméticos, sabonetes e medicamentos fitoterápicos. Um óleo essencial é um líquido hidrofóbico concentrado contendo compostos aromáticos voláteis de plantas, como óleo de cravo-da-índia. Um óleo de planta é chamado de "essencial" no sentido de que contém a fragrância característica da planta da qual ela é derivada, é a sua "essência". O termo "essencial" neste caso, não significa indispensável como com os termos aminoácidos essenciais ou ácidos graxos essenciais que são assim chamados, uma vez que são nutricionalmente exigidos por um determinado organismo vivo.

Os óleos essenciais são geralmente obtidos por destilação, muitas vezes usando vapor. Outros processos incluem prensagem (óleo de oliva), extração com solvente (alfazema), extração absoluta de óleo, escorrimento de resina (terebentina).

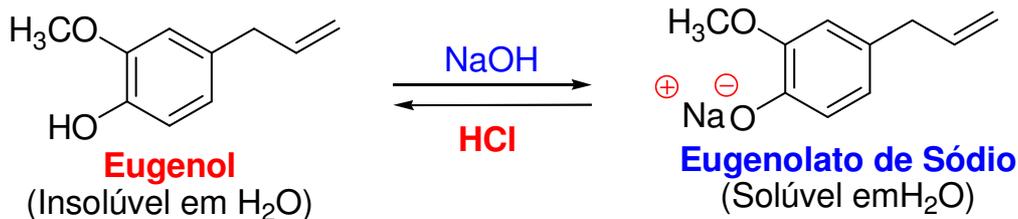
2. Adicionar água destilada no funil de adição (+/- 100 mL) e montar a aparelhagem conforme o desenho anteriormente apresentado.
3. Aquecer o balão com a mistura cravo/água até iniciar a destilação e deixar destilando até obter cerca de **110 mL** de destilado.
4. Adicionar a água do funil de adição em pequenas porções (quando necessário), de maneira a deixar sempre o volume de água no balão próximo ao volume inicial (+/- 100 mL). O destilado possui odor agradável e característico do cravo e contém parte do óleo como sobrenadante e parte disperso na água.
5. Em um funil de separação, extrair a suspensão com duas porções de 25 mL de diclorometano (Cloro de Metileno, CH_2Cl_2). Agitar suavemente para não formar emulsão, deixar separar as fases e recolher a fração orgânica.
6. Reunir os extratos orgânicos e **reservar para a aula seguinte**. Obs.: se a tampa utilizada for de borracha (como os septos ou rolhas), forrá-la com papel-alumínio. A borracha tende a absorver diclorometano e inchar, dificultando a sua retirada.
7. Descartar a fase aquosa adequadamente.

2.3. EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO DE CRAVO (Código Arraste II)

O óleo do cravo-da-índia contém, entre outros componentes, quantidades apreciáveis de eugenol e acetileugenol (Terpenos Fenólicos), os quais podem ser separados entre si, considerando que o eugenol é um fenol e possui características ácidas ($\text{pK}_a \approx 10$; reage com base forte).



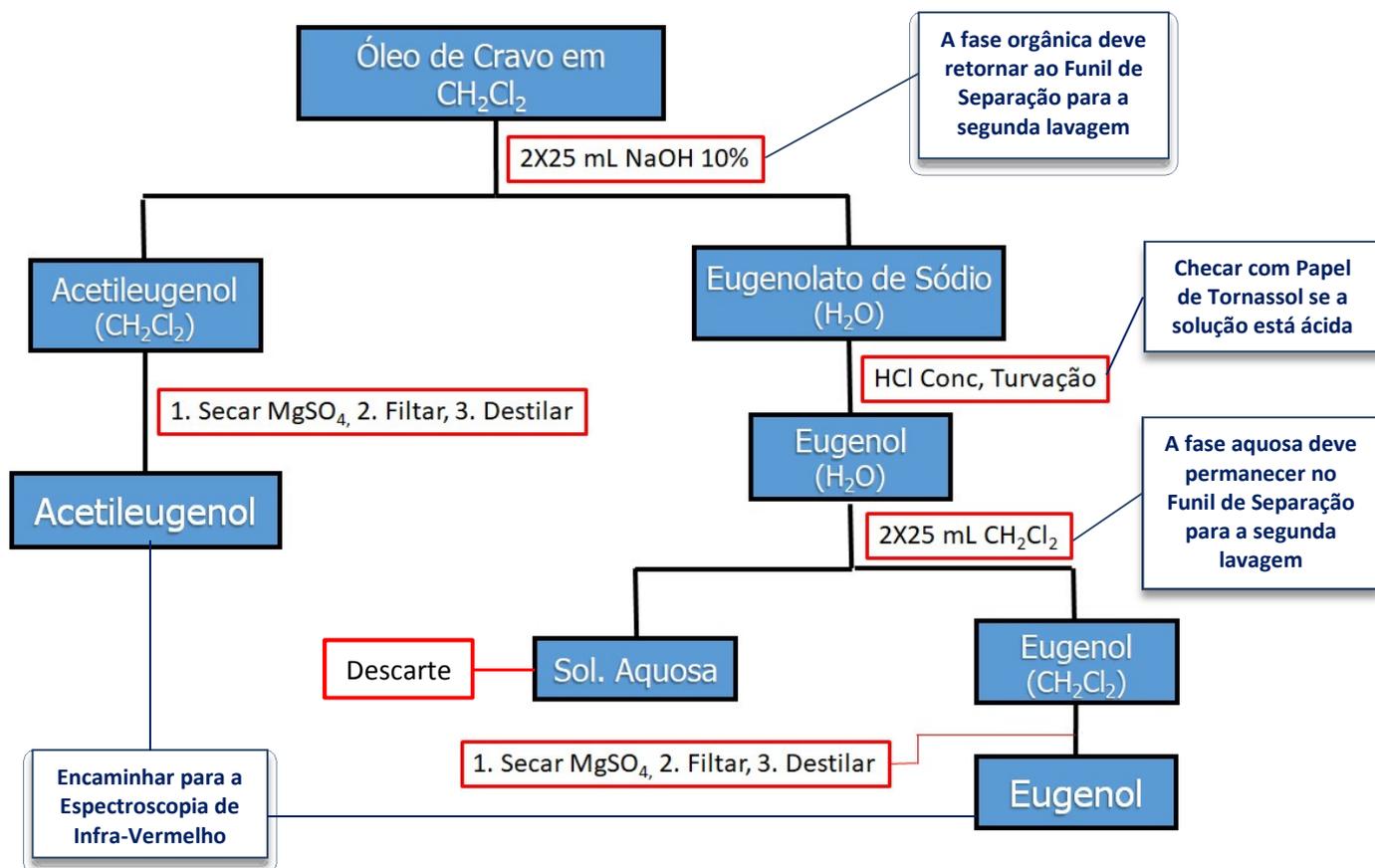
Em uma extração ácido-base as espécies que apresentam comportamento de Ácido, são convertidas em sais *solúveis* em água, que podem ser separados dos compostos *insolúveis* em água. Para regenerar o sal à composto neutro basta preceder a acidificação do mesmo até pH neutro (levemente ácido).



Procedimento Experimental

- Transferir o extrato orgânico contendo o óleo de cravo obtido na aula anterior para um funil de separação de capacidade adequada. Obs.: Caso o volume do extrato orgânico tenha reduzido consideravelmente, adicionar em torno de 10-15 mL de diclorometano no recipiente para auxiliar na transferência para o funil de separação.
- Seguir o fluxograma abaixo:

Separação dos componentes via Extração Ácido-Base:



FLUXOGRAMA:

- A Fase Orgânica: Extrair a fase orgânica de diclorometano (CH₂Cl₂) com duas porções de 25 mL de Solução de Hidróxido de Sódio 10% (NaOH 10%). O

Eugenolato de Sódio vai para a fase aquosa na forma de sal. O acetileugenol não reage com base e permanece na fase orgânica. *Obs.:Para a segunda lavagem com NaOH, retorne a fase orgânica (CH₂Cl₂) para o funil de separação e proceda a lavagem com a solução Básica.*

4. Transfira a fase orgânica para um Erlenmeyer, adicione porções de Sulfato de Sódio ou Sulfato de Magnésio (Na₂SO₄ ou MgSO₄) para a secagem da solução.

5. Filtre a fase orgânica seca (filtração simples) e transfira o filtrado para um balão, **previamente pesado**. Evapore o solvente em rotaevaporador e pese o balão novamente para determinar a massa de Acetileugenol isolado. *Obs.:Teste com FeCl₃ deverá ser negativo.*

6. **A Fase Aquosa:** Acidifique a fase aquosa com Ácido Clorídrico concentrado (HCl) até observar turvamento da solução. Aguarde até a mistura alcançar a temperatura ambiente (pode-se utilizar um banho de água fria para facilitar o resfriamento).

7. Extrair a fase aquosa acidificada com duas porções de de 25 mL de diclorometano (2 x 25 mL de CH₂Cl₂). Agitar suavemente para não formar emulsão, deixar separar as fases, recolher a fração orgânica. *Obs. A fase aquosa deve permanecer no funil de separação para ser extraída uma segunda vez.*

9. Reunir os extratos orgânicos em um Erlenmeyer, adicionar porções de Na₂SO₄ ou MgSO₄ para a secagem da solução.

10. Filtrar a fase orgânica seca (filtração simples) e transferir a solução para um balão, **previamente pesado**. Evaporar o solvente em rotaevaporador e pesar o balão novamente para determinar a massa do Eugenol isolado. *Obs.:Teste com FeCl₃ deverá ser positivo.*

11. Faça o cálculo das proporções de Eugenol e Acetileugenol isolados do óleo de Cravo.

2.4. CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS

1) **Análises por Via Úmida:** Testar o eugenol e o acetileugenol através dos testes para fenóis.

Teste de complexação com Cloreto Férrico

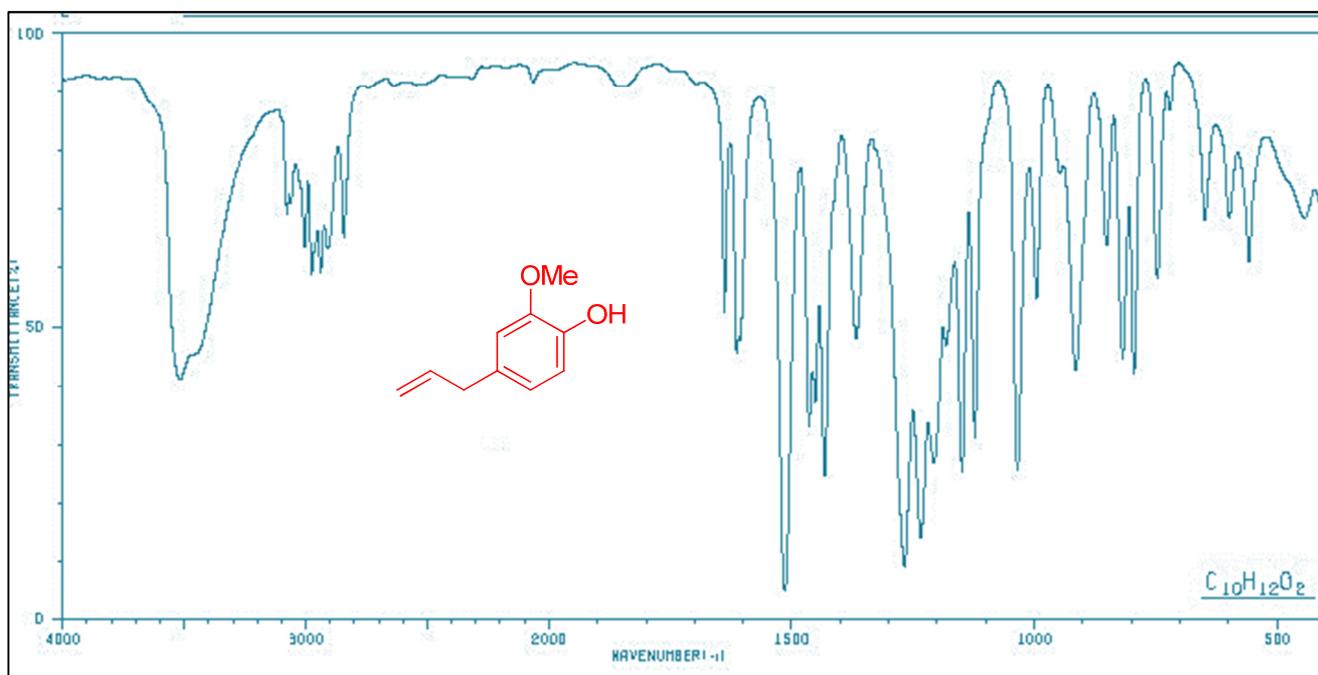
Obs.:Teste positivo para Eugenol e negativo para Acetileugenol

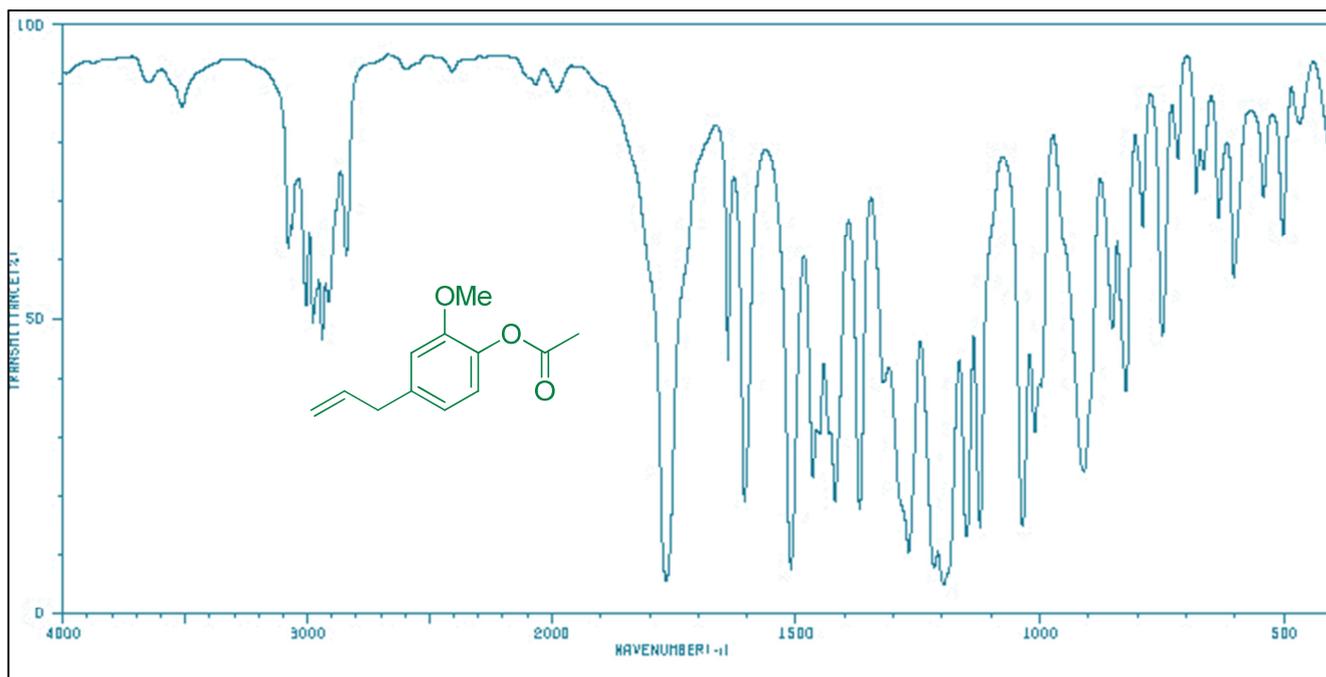
Em um tubo de ensaio seco, dissolver 5 gotas de amostra em 2 mL de diclorometano. Agitar, e se não houver dissolução adicionar mais 2 mL de CH₂Cl₂ e

aquecer suavemente. Resfriar à temperatura ambiente e então adicionar 2 gotas de uma solução de FeCl_3 a 1% em clorofórmio (CHCl_3) seguido da adição de 3 gotas de piridina. Agitar e observar a formação de cor. O teste é positivo se houver aparecimento imediato de coloração azul, violeta, púrpura, verde ou vermelho-tijolo. *Obs.: Coloração amarelo-pálida ou castanho indica teste negativo.*

2) **Análises por espectroscopia no infravermelho:** Analisar os espectros no infravermelho do Eugenol e do Acetileugenol, identificando os grupos responsáveis pelas principais bandas de absorção.

Espectros no Infra-Vermelho

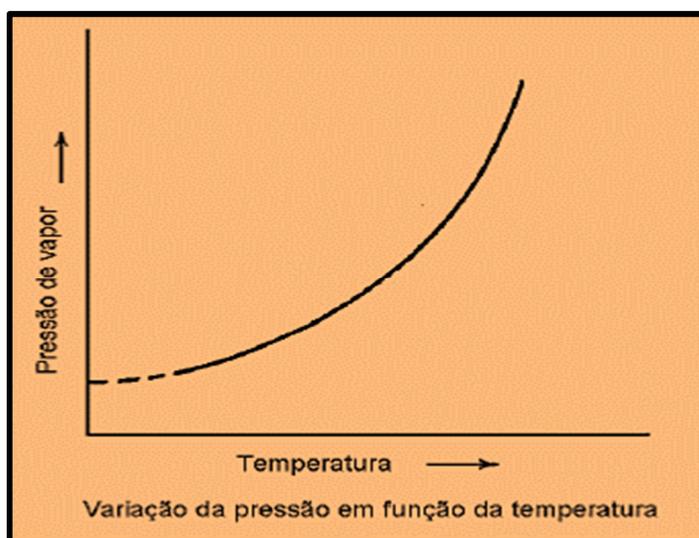




3. DESTILAÇÃO

3.1. DESTILAÇÃO SIMPLES

A destilação é uma operação na qual um líquido é aquecido à ebulição em aparelhagem adequada, seus vapores são condensados e recolhidos. É usada para separar misturas de líquidos, líquidos de sólidos e, mais raramente, sólidos de sólidos. A pressão de vapor depende da substância e da temperatura. O aumento de temperatura aumenta a pressão de vapor da substância. Quando a pressão de vapor do líquido se iguala à pressão externa, o líquido entra em ebulição e a temperatura em que a pressão de vapor iguala a pressão atmosférica é chamada de ponto de ebulição e encontra-se tabela da para um grande número de substâncias.

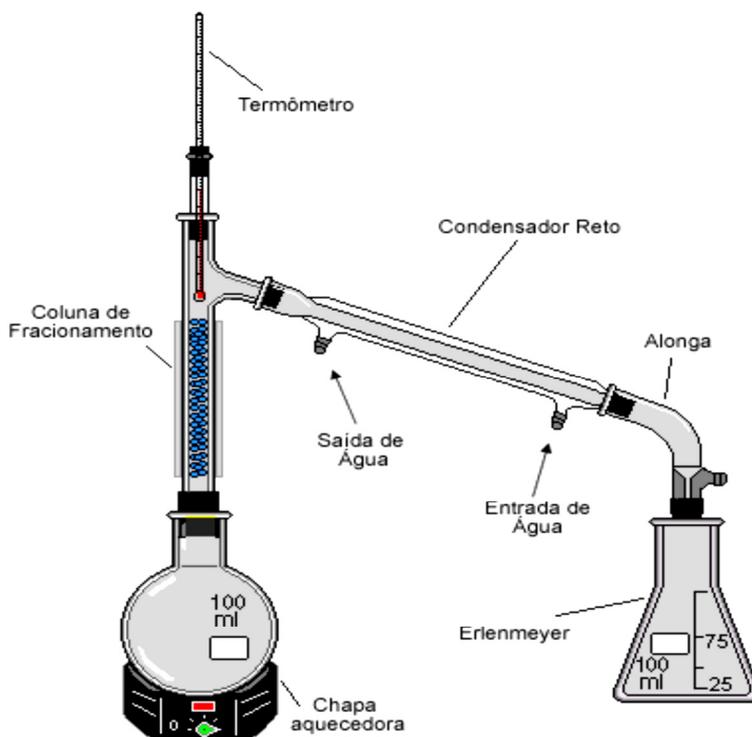


Para que dois compostos possam ser separados eficientemente por destilação simples, é necessário que a diferença entre seus pontos de ebulição seja superior a 80°C.

3.2. DESTILAÇÃO FRACIONADA

A destilação fracionada é um processo semelhante ao da destilação simples, porém emprega uma coluna de fracionamento (conforme é mostrado na figura a seguir), adaptada entre o frasco gerador de vapores e o equipamento de condensação dos mesmos, permitindo separar misturas de líquidos cujos pontos de ebulição dos componentes puros diferem de menos de 80°C.

Como descrito anteriormente, um líquido puro entra em ebulição quando sua pressão de vapor se iguala à pressão atmosférica. Já uma mistura binária entra em ebulição quando a soma das pressões de vapor parciais atinge a pressão externa.



Lei de Raoult: a pressão de vapor parcial de um componente A em uma mistura (p_A) é igual à sua pressão de vapor quando puro (P_A) multiplicada por sua fração molar (X_A) na mistura.

A fração molar de cada componente é dada pela razão entre o número de moles desse componente na mistura e a soma do número de moles de todos os componentes presentes.

A composição do vapor da mistura em relação a cada componente depende das pressões parciais, segundo a Lei de Dalton.

$$p_A = x_A \cdot P_A$$

Lei de Raoult

$$x_A = \frac{n_A}{n_A + n_B + n_C}$$

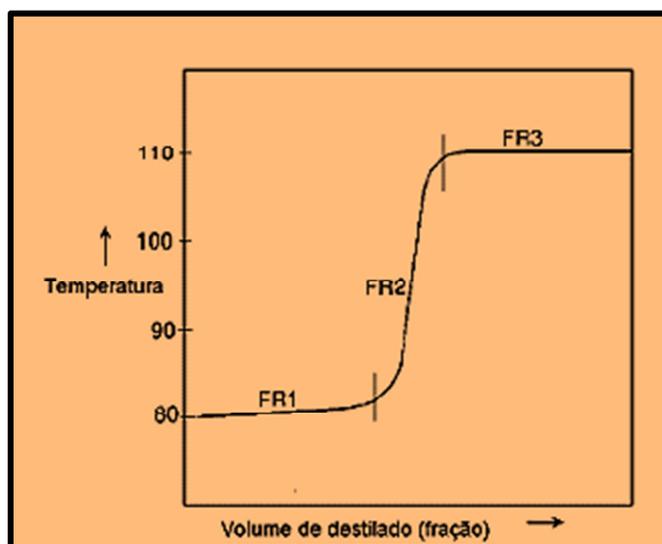
Lei de Dalton

$$x_A = \frac{P_A}{P_A + P_B + P_C}$$

A pressão de vapor total da mistura é intermediária entre as pressões de vapor dos componentes puros, por isso a temperatura de ebulição da mistura é intermediária entre seus pontos de ebulição. O vapor terá maior concentração do componente mais volátil (menor ponto de ebulição – PE). Serve para misturas ideais. O ponto de ebulição da mistura é a temperatura onde a soma das pressões parciais dos componentes é igual a pressão atmosférica. Na destilação, o ponto de ebulição da

mistura sofre uma elevação gradual uma vez que a composição do vapor se torna cada vez mais rica no componente menos volátil.

Para purificar estas misturas separam-se as primeiras frações do destilado, ricas no componente mais volátil.

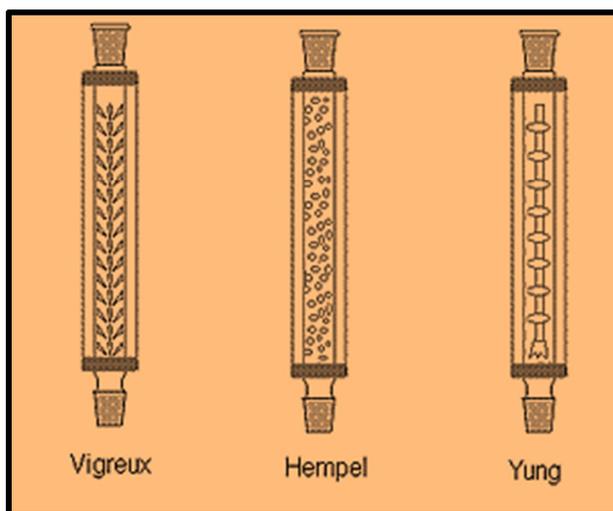


Estas frações são novamente destiladas e as primeiras frações são novamente separadas, sofrendo um crescente enriquecimento no componente mais volátil. O procedimento pode ser repetido várias vezes até que se atinja o adequado grau de purificação da mistura. Este tipo de destilação representa o princípio da destilação fracionada.

O efeito da coluna de fracionamento é proporcionar em uma única destilação uma série de microdestilações simples sucessivas. Existem muitos tipos, porém as mais usadas em laboratórios químicos são as de Vigreux e de Hempel, conforme é mostrado na figura a seguir.

Coluna de Vigreux: tubo de vidro com várias reentrâncias em forma de espinhos onde as pontas de um par quase se tocam.

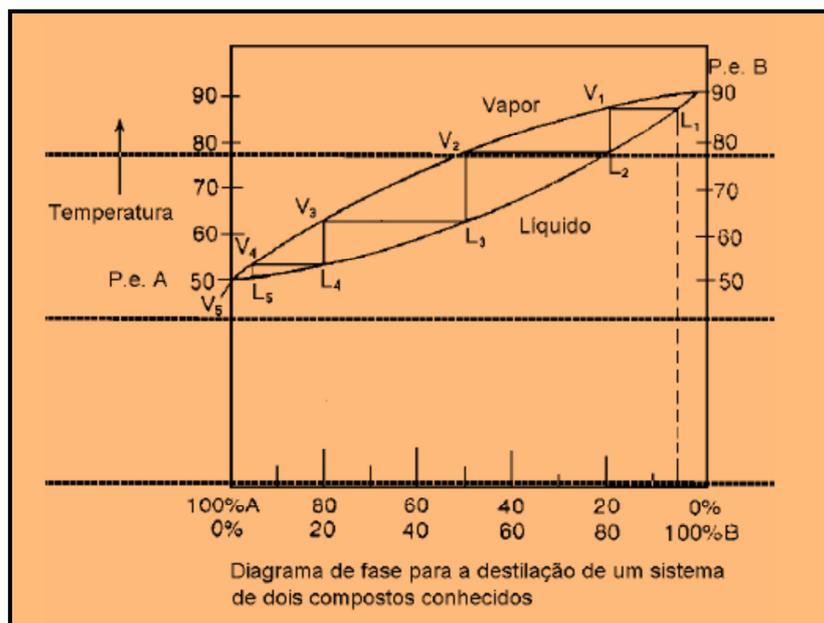
Coluna de Hempel: tubo de vidro preenchido com pequenos tubos ou anéis de vidro ou de outro material inerte. A eficiência de uma coluna de fracionamento é medida pelo número de vezes que a solução é vaporizada e recondensada durante uma destilação e se expressa em número de pratos teóricos. O comprimento da coluna (dimensão) necessário para a obtenção de um prato teórico é a altura equivalente a um prato teórico (AEPT). Quanto menor esta grandeza, mais eficiente é a coluna.



A escolha da coluna depende da diferença entre os pontos de ebulição dos componentes da mistura. Quanto menor a diferença entre os pontos de ebulição, maior o número de pratos teóricos necessários para uma separação eficiente.

NÚMERO DE PRATOS TEÓRICOS NECESSÁRIOS PARA SEPARAR MISTURAS EM FUNÇÃO DAS DIFERENÇAS NOS PONTOS DE EBULIÇÃO DE SEUS COMPONENTES	
DIFERENÇAS NOS PONTOS DE EBULIÇÃO	NÚMERO DE PRATOS TEÓRICOS NECESSÁRIOS PARA A SEPARAÇÃO
108	1
72	2
54	3
43	4
36	5
20	10
10	20
7	30
4	50
2	100

A eficiência depende, também, da intensidade do aquecimento do balão e do fluxo com que o líquido é destilado. Para um bom fracionamento é necessário um bom controle do aquecimento e razão de refluxo, que é a razão entre a quantidade de vapor condensado que retorna à coluna e a porção que destila por unidade de tempo. O gráfico abaixo mostra um diagrama de fracionamento de uma mistura com uma coluna de três pratos teóricos.



L1 = líquido com 5% de A e 95% de B submetido a 4 ciclos de vaporização e condensação.
 L5 = composição do líquido destilado com aproximadamente 95% de A e 5% de B. As linhas horizontais, L1-V1, L2-V2, L3-V3, L4-V4 representam 4 vaporizações na coluna. As linhas verticais V1 L2, V2 L3, V3 L4, V4 L5 representam as condensações correspondentes.

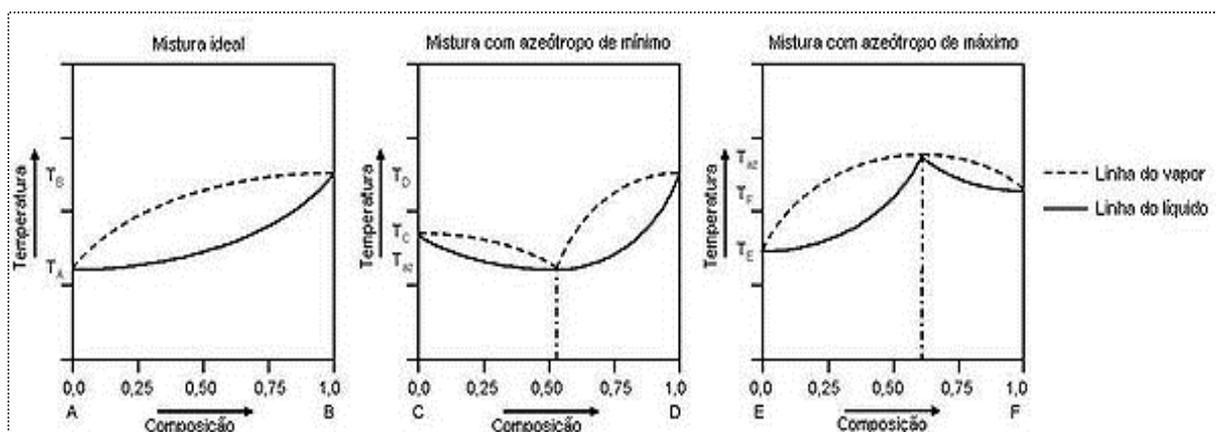
Misturas de líquidos com pontos de ebulição entre 40-150°C são destiladas, geralmente, em aparelhagem para destilação simples, desde que a diferença entre seus pontos de ebulição seja maior do que 80°C. O vapor sobe pela conexão de Claisen, envolve o termômetro, passa para o condensador e é recolhido pelo balão coletor. O bulbo do termômetro deve estar em contato com a saída do vapor.

Misturas azeotrópicas

A maior parte das misturas líquidas homogêneas se comportam como soluções ideais. Há desvios da lei de Raoult decorrentes de forte atração entre moléculas, os quais podem ser positivos ou negativos.

-Desvios positivos: ocorrem quando a pressão de vapor da solução é maior do que a esperada porque as forças de atração entre as moléculas dos componentes são mais fracas do que entre moléculas idênticas.

-Desvios negativos: ocorrem quando as forças de atração entre as moléculas dos componentes são mais fortes do que entre moléculas idênticas, ocorrendo um decréscimo da pressão de vapor da mistura em relação ao esperado.



As misturas azeotrópicas apresentam composição fixa para cada mistura de solventes, com ponto de ebulição constante. O ponto de ebulição pode estar abaixo (azeótropo mínimo) ou acima (azeótropo máximo) do ponto de ebulição dos componentes. As misturas azeotrópicas têm grande importância na remoção de substâncias indesejáveis presentes em alguns líquidos. A adição de uma terceira substância, que forma uma mistura azeotrópica com a impureza, permite a obtenção da outra pura. Por exemplo, a água pode ser eliminada de solventes orgânicos pela adição de certa quantidade de benzeno, tolueno ou xileno, que formam misturas azeotrópicas com a água que, assim, pode ser eliminada facilmente do outro solvente por destilação. A operação envolve a co-destilação da substância a purificar com a água e as vantagens desta técnica são:

1. A mistura entra em ebulição em temperatura inferior ao ponto de ebulição da água (forma-se uma mistura azeotrópica, isto é, a mistura resultante comporta-se como um líquido com ponto de ebulição definido, não separável em seus componentes por destilação);

2. Ocorre um desvio positivo da Lei de Raoult. Desvios positivos grandes, por exemplo, **EtOH / H₂O** conduzem a um máximo na curva de pressão de vapor total da mistura, originando um azeótropo de ponto mínimo.

Quando o desvio é positivo, a pressão de vapor da solução é maior que a esperada, porque a força de atração entre as moléculas dos componentes são mais fracas do que entre moléculas idênticas. Quando é muito grande, os dois componentes se separam em duas fases imiscíveis (exemplo: uma mistura de *n*-butanol e água). No limite positivo da Lei de Raoult, os dois componentes são imiscíveis e cada componente entra em ebulição independentemente do outro, a

uma pressão total de vapor igual à soma das pressões de vapor se cada componente puro.

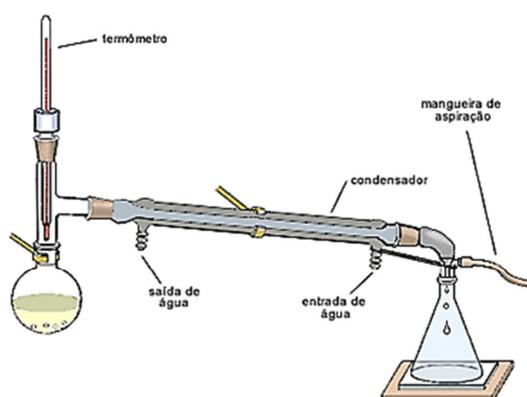
$$P_{\text{TOTAL}} = p_A + p_B \text{ (Lei de Dalton)}$$

Assim, a pressão de vapor da mistura a qualquer temperatura é maior que a pressão de vapor de qualquer componente. A composição do vapor é determinada através da relação:

$\frac{N_A}{N_B} = \frac{P_A^0}{P_B^0}$	<p>Exemplo:</p> <p>PE_{EtOH (95%)} = 78,3°C</p> <p>PE_{H₂O} = 100°C</p> <p>PE_{mistura} = 78,15°C</p>
---	---

3.3. DESTILAÇÃO À PRESSÃO REDUZIDA

A destilação à pressão reduzida é utilizada para purificar substâncias que se decompõem em temperaturas abaixo de seu ponto de ebulição ou que tenham pontos de ebulição muito elevados. O procedimento é semelhante ao realizado para a destilação fracionada, porém o conjunto é submetido ao abaixamento da pressão, realizado por meio de uma bomba de vácuo ou de uma simples trompa d'água. O resultado prático é o abaixamento da temperatura de ebulição, pois a pressão de vapor do líquido se iguala à pressão externa em uma temperatura menor.



Bomba de vácuo

O sistema deve sofrer algumas adaptações, tais como, a substituição das "pedras de ebulição" por um microcapilar conectado ao exterior (ou submetendo o líquido a uma agitação enérgica) e o fechamento do sistema (o sistema coletor não mais poderá ficar aberto ao ar), entre outras.

Dicas e precauções sobre destilação:

1. Para evitar que o líquido no balão sofra superaquecimento, são adicionadas “pedras de ebulição” cujas superfícies porosas proporcionam uma ebulição controlada.

2. Caso a destilação seja interrompida e o destilado esfrie deve-se adicionar mais as pedras de ebulição pois as originais perdem sua eficácia.

Obs: as pedras de ebulição não podem ser colocadas no líquido próximo ao ponto de ebulição, senão ocorre uma ebulição repentina, com risco de projeção do líquido quente para fora do sistema. Deve-se esperar esfriar para uma temperatura abaixo de 10°C do ponto de ebulição do solvente.

3. A fonte de aquecimento pode ser uma manta de aquecimento, um banho de água, de óleo, de areia e, por vezes, um bico de Bunsen*.

Obs. Cuidado! A maior parte dos líquidos orgânicos são altamente inflamáveis.

4. O fluxo da destilação deve ser de aproximadamente 2 gotas de condensado por segundo, para manter-se uma boa temperatura de equilíbrio líquido-vapor.

5. A destilação muito rápida ocasiona sobre-aquecimento do vapor e erro na leitura do ponto de ebulição.

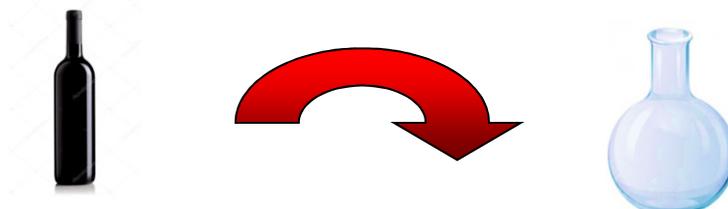
6. Para a obtenção de um produto mais puro, descarta-se uma pequena quantidade da fração inicial e final do condensado (as chamadas “cabeça e cauda” da destilação) e destila-se até que a leitura do p.e. aumente 2-3 °C acima do valor constante observado.

***Atenção!** Nunca destilar qualquer líquido até secar o balão!

3.4. EXPERIMENTAL (Código Vinho)**3.4.1. Experimento 1: Destilação do Vinho**

1. Montar uma aparelhagem de destilação fracionada à pressão normal, com termômetro acoplado (Figura 1).

2. Colocar 200 mL de vinho tinto em um balão monotubulado de 500 mL.



***Atenção!** Não esquecer de adicionar pedras de ebulição.

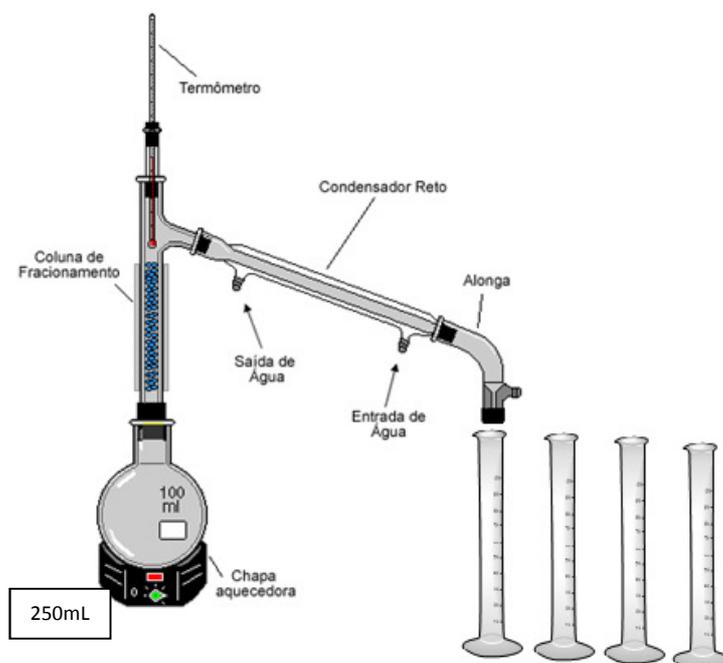


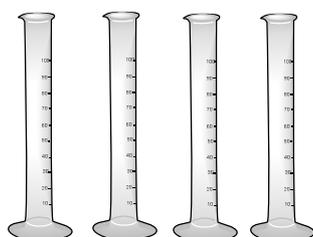
Figura 1

3. Aquecer utilizando uma manta elétrica. Coletar em provetas graduadas quatro frações sucessivas de 20 mL de destilado, anotando para cada fração a temperatura inicial e final de coleta.

3.4.2. Experimento 2: Determinação do teor alcoólico

a) Determinação do teor alcoólico por Índice de Refração.

1. Determinar o índice de refração de cada fração, utilizando o refratômetro de Abbe. Corrigir o valor do índice de refração com a temperatura, sabendo que o mesmo diminui com a temperatura. Assim, se a medida for feita acima de 20°C, o valor do fator de correção deve ser somado para chegar ao valor em 20°C.



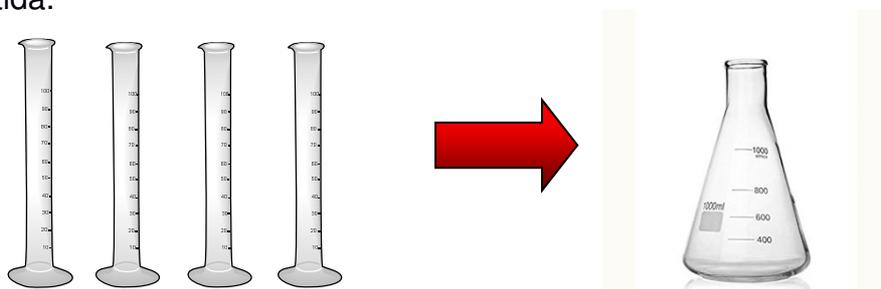
Refratômetro de Abbe

Fator de correção:

$$n^{20} = n_{\text{observado}} \pm \Delta t \times 0,00045$$

2. Relacionar o índice de refração determinado com o teor de álcool (m/m) presente, utilizando uma curva de calibração previamente obtida com o mesmo equipamento, baseada em soluções de concentração conhecida, disponível no laboratório. Anotar os resultados. **ATENÇÃO:** há uma curva analítica com sua respectiva equação de reta para cada equipamento (*Quimis* ou *Digit*)

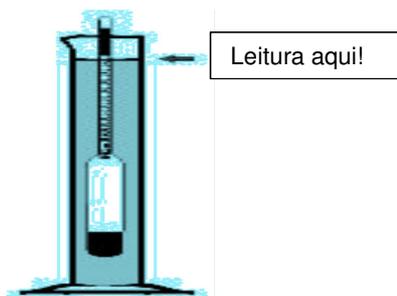
3. Juntar as quatro frações em um Erlenmeyer e determinar o índice de refração da mistura obtida.



4. Determinar também o índice de refração do vinho original.

b) Determinação do teor alcoólico através da densidade.

1. Determinar a densidade do destilado (mistura das 4 frações) utilizando um densímetro (mede diretamente a densidade em g/mL) .



2. Uma vez conhecida a densidade da amostra, essa pode ser convertida no teor alcoólico pela relação

$$y = - 0,0014x + 1,0018$$

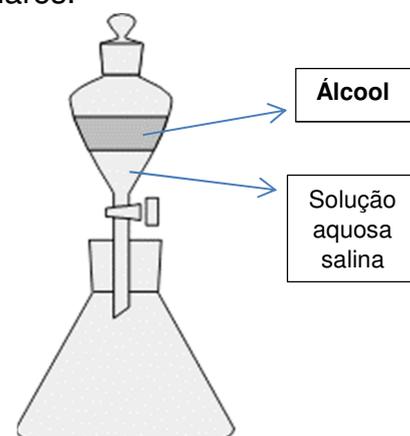
Onde: **y** é a densidade da amostra em g/mL; **x** é o teor alcoólico (m/m).

3) Determinar também o teor alcoólico do vinho através da medida de densidade.

c) Determinação do teor alcoólico através do efeito “salting out”

O efeito *salting out* consiste em adicionar um sal a uma mistura que contém água, de modo a diminuir a afinidade da água com espécies menos polares.

1. Utilizar apenas **50 mL** do destilado unificado e colocar em Erlenmeyer de 125 mL.
2. Adicionar 15 g de carbonato de potássio (K_2CO_3). Tampar e agitar vigorosamente. *Obs. Se não separar em duas fases, adicionar mais carbonato de potássio.*
3. Separar as fases em funil de separação (**Dica:** a fase aquosa fica embaixo) e medir o volume de álcool obtido usando uma proveta graduada, podendo dessa maneira calcular o teor alcoólico (v/v) da mistura.

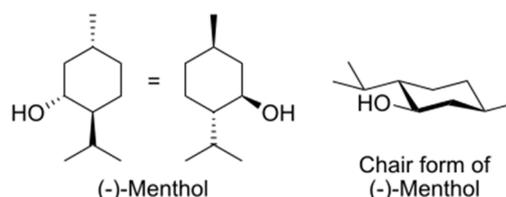
**3.5 BIBLIOGRAFIA**

Ntamila, M. S.; Hassanali, A. J. Chem. Educ. 53(4), 263 (1976).

4. SÍNTESE DO ACIDO ACETIL-SALICÍLICO E PURIFICAÇÃO POR RECRISTALIZAÇÃO (Código Recristalização)

4.1 CRISTALIZAÇÃO/RECRISTALIZAÇÃO

Cristalização é o processo em que átomos ou moléculas se organizam em uma estrutura de cristais rígida e bem definida para minimizar seu estado energético. A menor parte da estrutura de um cristal é chamada de célula unitária, que pode aceitar átomos ou moléculas para crescer em um cristal macroscópico. Durante a cristalização, átomos e moléculas se unem em ângulos bem definidos para formar uma forma de cristal característica com bordas e faces lisas.



Exemplo: Cristais de Mentol

4.1.1 Importância nas Indústrias Química e Farmacêutica

Embora possa ocorrer na natureza, a cristalização também conta com uma ampla aplicação industrial como uma etapa de separação e purificação nas indústrias farmacêutica e química.

A cristalização faz parte de cada aspecto de nossas vidas, desde os alimentos que consumimos e os medicamentos que tomamos aos combustíveis utilizados para gerar energia para as nossas comunidades. A maioria dos produtos agroquímicos e farmacêuticos passa por muitas etapas de cristalização durante seus processos de desenvolvimento e fabricação. Os principais ingredientes alimentares, como lactose e lisina, são produzidos utilizando a cristalização, e a cristalização indesejada de hidratos de gás em tubulações de águas profundas é uma grande preocupação de segurança para a indústria petroquímica.

A recristalização é uma das técnicas de purificação de compostos sólidos mais importantes a ser dominada pelo químico orgânico, sendo provavelmente a técnica mais ecológica e econômica, já que demanda menores quantidades de

solventes e é operacionalmente simples. Essencialmente, o método consiste no rompimento da estrutura cristalina do sólido por dissolução a quente em solvente apropriado, seguido pelo resfriamento da solução que produz novamente os cristais, deixando as impurezas no solvente. Isto ocorre porque, geralmente, moléculas estranhas não entram na rede cristalina que está sendo formada.

4.1.2 Tipos de Cristalização

A Cristalização ocorre quando a solubilidade de um soluto em solução é reduzida através de alguns métodos.

Métodos comuns para reduzir a solubilidade incluem:

- a. Resfriamento
- b. Adição de Antissolvente
- c. Evaporação
- d. Reação (Precipitação)

A escolha do método de cristalização depende do equipamento disponível para cristalização, dos objetivos do processo de cristalização e da solubilidade e estabilidade do soluto no solvente escolhido.

4.1.3 Etapas da Cristalização

1. Escolha um solvente apropriado. Considerações frequentes incluem quanto soluto pode ser dissolvido (solubilidade) e qual a praticidade de manuseio do solvente (segurança)
2. Dissolva o produto no solvente aumentando a temperatura até que a última molécula do produto desapareça. Essas impurezas insolúveis podem ser filtradas da solução quente
3. Reduza a solubilidade por meio de resfriamento, adição de antissolvente, evaporação ou reação. A solução se tornará supersaturada.
4. Cristalice o produto. Com a solubilidade reduzida, um ponto é atingido em que os cristais sofrerão nucleação e crescerão. Cristais no produto com alta pureza se formarão e as impurezas permanecerão na solução.
5. Espere até o sistema atingir o equilíbrio depois do resfriamento (ou até que o outro método de cristalização pare).
6. Filtre e seque o produto purificado.

a) Escolha do Solvente:

O solvente deve atender a certos critérios para ser usado na recristalização de um dado composto:

- O composto a ser purificado deve ser bastante solúvel em um determinado solvente a quente e relativamente insolúvel a frio, enquanto que as impurezas devem ser solúveis a frio. Se as impurezas forem insolúveis no solvente a quente, elas devem ser separadas por filtração a quente.*
- O solvente deve ser inerte frente ao soluto.
- A temperatura do ponto de ebulição do solvente deve menor que a temperatura do ponto de fusão do soluto, evitando que o soluto sofra fusão. Caso o composto seja conhecido, uma consulta à literatura pertinente informará o solvente a utilizar. Se for desconhecido, será necessário determinar o melhor solvente por tentativas, utilizando pequenas quantidades de material.

OBS.: Filtração a quente - Se uma porção de material permanecer insolúvel a quente, faz-se uma filtração simples para remover as impurezas sólidas com funil pré-aquecido. Se ocorrer cristalização no papel-filtro, dissolver os cristais com solvente quente.

b) Dissolução

O sólido a ser purificado é colocado em frasco de Erlenmeyer de tamanho apropriado, juntamente com um pequeno volume do solvente escolhido. O frasco é então aquecido (chapa elétrica ou banho de água quente) com agitação, adicionando-se lentamente pequenas quantidades de solvente à mistura em ebulição, até que todo sólido seja dissolvido. No caso de uma pequena porção de material permanecer insolúvel faz-se uma filtração simples. OBS.: Essa etapa deve ser executada em capela para evitar a inalação de vapores voláteis.

c) Cristalização

Deixar a solução resfriar lentamente, sempre em frasco de erlenmeyer, permitindo que os cristais cresçam bem formados. Se não ocorrer a cristalização, esta poderá ser induzida com a adição de alguns cristais puros do composto ou por atrito das paredes do frasco com um bastão de vidro. Algumas vezes será necessário completar a cristalização imergindo o frasco num banho de gelo-água.

d) Secagem dos cristais

Dependendo da natureza do composto recristalizado e do solvente empregado, a secagem dos cristais pode ser efetuada:

- Por simples exposição ao ambiente (compostos estáveis ao ar, não-higroscópicos e provenientes de recristalização onde se empregou solvente volátil).
- Em estufa (compostos estáveis ao ar, não higroscópicos e solvente menos volátil)
- Em dessecador (compostos sensíveis às condições atmosféricas).

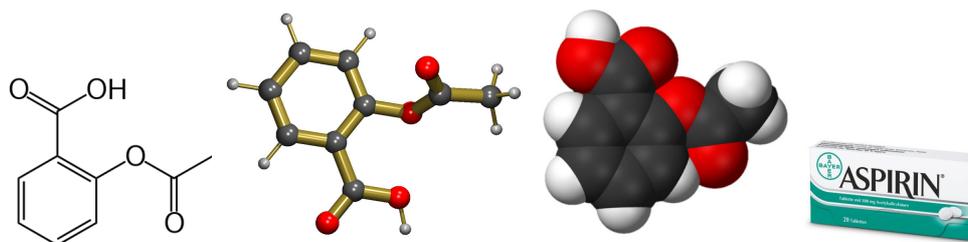
4.2 A ASPIRINA (Ácido Acetilsalicílico, AAS)

O ácido acetilsalicílico pertence ao grupo dos fármacos anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), com propriedade analgésica, antipirética e anti-inflamatória. Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição irreversível da enzima ciclooxigenase (COX), envolvida na síntese das prostaglandinas, acetilando irreversivelmente esta enzima, daí a importância do grupo acetyl na estrutura do fármaco. O ácido acetilsalicílico também inibe a agregação plaquetária, bloqueando a síntese do tromboxano A₂ nas plaquetas.

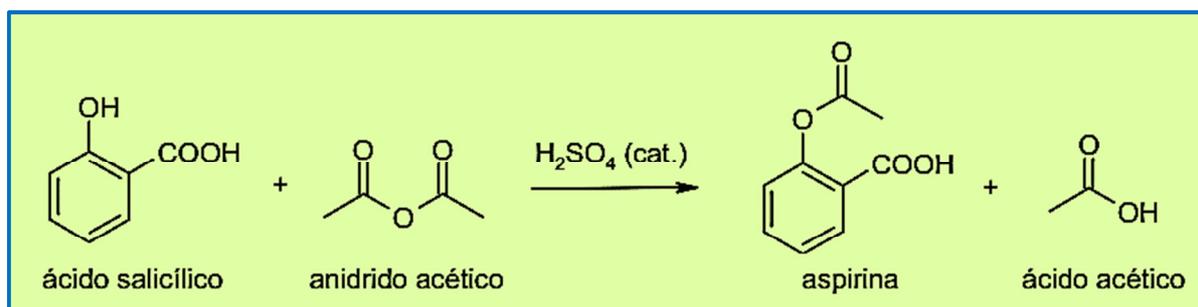
Quando puro, pode ser um pó cristalino branco ou cristais incolores, pouco solúvel na água, e solúvel em álcool etílico ou éter etílico.

Um precursor da Aspirina presente nas folhas de um tipo de salgueiro (*Spiraea ulmaria*) tem sido usado há pelo menos 2.400 anos pelos seus efeitos benéficos sobre a saúde. Em 1853, o químico francês Charles Frédéric Gerhardt tratou o Salicilato de Sódio com Cloreto de Acetila para produzir Ácido Acetilsalicílico pela primeira vez. Nos cinquenta anos seguintes, outros pesquisadores estabeleceram a estrutura química e em 1897, cientistas da Bayer utilizaram o AAS como medicamento em substituição os salicilatos que são mais irritantes da mucosa estomacal. Em 1899, a Bayer batizou este novo derivado de "Aspirina". O seu nome foi obtido pela fusão dos termos: "A" de acetyl; "Spir" se refere a *Spiraea ulmaria* (planta que fornece o ácido salicílico); e o "in" é um sufixo utilizado na época.

A popularidade da Aspirina cresceu durante a primeira metade do século XX, levando à concorrência entre muitas marcas e formulações. A Aspirina é uma das medicações mais conhecidas e mais consumidas no mundo, com uma estimativa de 40.000 toneladas (120 bilhões de pílulas) consumidas a cada ano. Está na Lista de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo um dos medicamentos mais seguros e eficazes necessários em um sistema de saúde.



4.3 O EXPERIMENTO: SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO



Composto	Quantidades	M (g/mol)	N (mmol)
Ácido salicílico	5	138	36
Anidrido acético (d = 1,08)	10 mL	102	106
H ₂ SO ₄ conc.	2 gotas		

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA SÍNTESE

1. Em balão de fundo redondo de boca esmerilhada de 100 mL colocar 5 g de ácido salicílico, cuidando para que não fique aderido às paredes do balão.
2. Adicionar 10 mL de anidrido acético e em seguida, com bastante cuidado, adicione 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄).
3. Adaptar um condensador para refluxo da reação e aquecer a mistura, em banho-maria ~50 °C, com agitador magnético, durante 30 minutos. Observa-se, durante o aquecimento, a formação de precipitado de coloração branca (Figura 1).

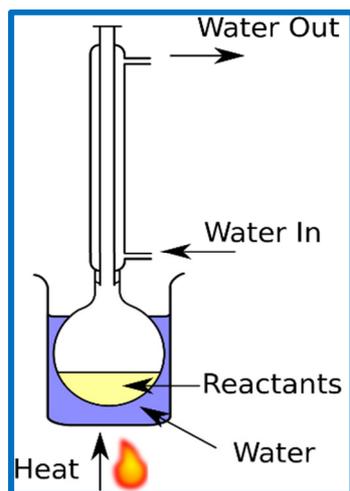
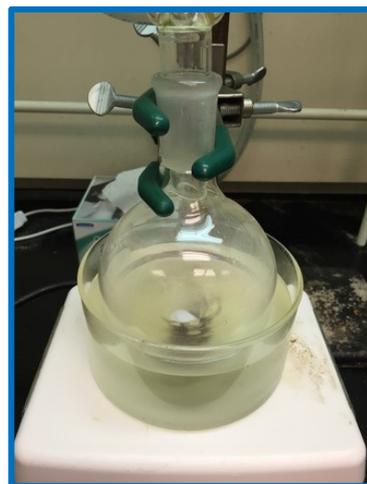
**Figura 1a****Figura 1b**

Figura 1. Esquema geral (1a) e foto (1b) para Refluxo em Banho-Maria.

4. Transcorrido o período de aquecimento, verificar a conversão completa do ácido salicílico testando a presença de hidroxila fenólica. **Obs.: veja item 4.4 abaixo.**
5. Se a reação estiver concluída, resfriar o frasco de reação em banho de gelo e adicione lentamente 100 mL de água destilada gelada.
6. Agitar suavemente para suspender o produto sólido e filtrar em funil de Büchner, lavando-o com pequenas porções de água destilada gelada (2 x ~5 mL).

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA PURIFICAÇÃO

7. Transferir o sólido com o auxílio de uma espátula para um Erlenmeyer pequeno.
8. Dissolver o sólido na menor quantidade possível de etanol (máx. 10 mL) à quente (ebulição), sob agitação manual, mantendo a solução resultante a quente.
9. Utilizando uma pipeta Pasteur seca, adicionar aos poucos a solução alcóolica sobre água destilada (~80 mL, quente) em um Bécker de 125 ou 250 mL. Caso haja turvamento, adicionar algumas gotas de etanol à solução aquosa para que volte a ficar límpida.
9. Deixar o sistema resfriando primeiro em banho de água, e depois em banho de gelo.
10. Uma vez formados os cristais, decantar o solvente (se necessário usar uma pipeta Pasteur para auxiliar na remoção da água sobrenadante e entre os cristais) e transferir os cristais para papel filtro e deixar secar ao ar até a próxima aula.
11. Repetir o teste para hidroxila fenólica para certificar-se de que não ocorreu hidrólise durante a recristalização.

12. Após o produto estar seco, pese-o e faça o cálculo de rendimento.

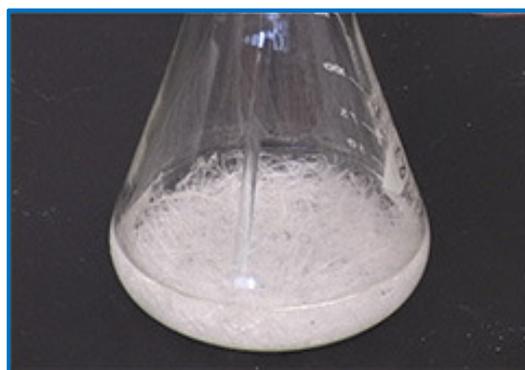
ANÁLISE DA PUREZA

13. Determine o ponto de fusão, comparando-o com o valor descrito na literatura.

Descarte: Ao final do processo, transfira o AAS para o frasco adequadamente rotulado na capela.



Secagem dos cristais em papel-filtro



Recristalização apenas em Etanol



Recristalização em sistema Etanol/Água (conforme descrito no procedimento para purificação acima).



Cristais da Aspirina obtidos por Recristalização bastante lenta em etanol.

4.4 TESTE DA HIDROXILA FENÓLICA

1. Tomar uma alíquota do bruto e colocar em um tubo de ensaio
2. Adicionar 5 gotas de solução aquosa de FeCl_3 a 1% e agitar manualmente
3. O teste é positivo para existência de fenol livre é a formação da cor violeta.
4. O teste negativo é indicado pela manutenção da coloração do reagente.
5. Faça o teste com o ácido salicílico de partida para fins de comparação.

4.5. TESTE PARA “CONTROLE DE QUALIDADE” DE AMOSTRAS COMERCIAIS

Utilize o teste da hidroxila fenólica para diferentes amostras de AAS comerciais disponíveis no laboratório e anote os resultados. Lembrando que o mecanismo de ação do fármaco baseia-se na inibição irreversível da enzima ciclooxigenase (COX), via acetilação irreversível, daí a importância do grupo acetil na estrutura do fármaco. **Portanto, a presença de hidroxila fenólica é indesejável.**

MATERIAL CONSULTADO

https://www.mt.com/br/pt/home/applications/L1_AutoChem_Applications/L2_Crystallization.html

5. CROMATOGRAFIA

A cromatografia é um método de separação de substâncias baseado na distribuição seletiva dos diferentes componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis. Os métodos cromatográficos permitem separar os componentes de uma mistura através da migração seletiva e diferencial dos solutos através de um sistema constituído de duas fases: uma sólida (ou fixa) e outra fluida (ou móvel).

A fase sólida é denominada adsorvente e é estacionária. A cromatografia é muito utilizada para análise, separação e purificação (em pesquisa e em escala industrial) de numerosos produtos naturais: antibióticos, vitaminas, hormônios, corantes, etc., qualificando este método para exames "*anti-doping*", entre outros. A seguir serão abordados os seguintes tópicos:

5.1 Cromatografia em papel

5.2 Cromatografia em camada delgada

5.3 Cromatografia em coluna

5.4 Cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia de permeação em gel (GPC)

5.1. CROMATOGRAFIA EM PAPEL

Esta técnica cromatográfica utiliza uma tira de papel-filtro de qualidade especial como fase estacionária. Este tipo de cromatografia é de execução muito simples e necessita quantidades muito pequenas das substâncias para realizar-se a análise.

A amostra é aplicada na borda inferior de uma tira de papel-filtro (cromatografia ascendente) ou na borda superior (cromatografia descendente). A seguir, a tira é colocada em contato com o eluente escolhido, cuidando para que o mesmo não entre em contato direto com a amostra, deixando que ascenda ou descenda pela superfície do papel-filtro.

A identificação das substâncias pode ser feita por visualização direta (quando possuem cor) ou pela utilização de reveladores adequados. Este método é muito útil para separar substâncias muito polares como os açúcares e os aminoácidos. A limitação é a pequena quantidade das substâncias que podem ser analisadas (Figura 1).



Figura 1. Eluição em cuba de solventes da cromatográfica em papel.

5.2. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

A cromatografia em camada delgada é uma técnica cromatográfica similar à realizada em papel. Consiste em cobrir uma placa de vidro, alumínio ou plástico, com uma fase estacionária adequada e com uma granulação conhecida (normalmente Sílica (SiO_2) ou Alumina (Al_2O_3)).

Placas de alumínio de CCD com espessura determinada (extremamente finas para cromatografia comparativa) são disponíveis comercialmente. A camada de adsorvente deve ser a mais uniforme possível e espessura varia de 0,1 a 2,0 mm e as mais grossas são utilizadas para cromatografia preparativa. A revelação e identificação das substâncias é feita da mesma maneira que na cromatografia em papel ou geralmente são reveladas em cubas de iodo (I_2). Possui a vantagem de poder utilizar reveladores mais agressivos como Ácido Fosfomolibdico ou Vanilina e aquecimento em estufa. A CCD é utilizada habitualmente na análise qualitativa, mas pode ser utilizada em placas maiores, em escala preparativa para amostras de até 250 mg. Para quantidades maiores prefere-se a cromatografia em coluna.

O parâmetro relacionado ao deslocamento de um determinado composto em Cromatografia de Camada Delgada é o "Rf" (*rate of flow*), definido como a razão entre a distância percorrida pela mancha e a distância percorrida pelo solvente (Figura 2).

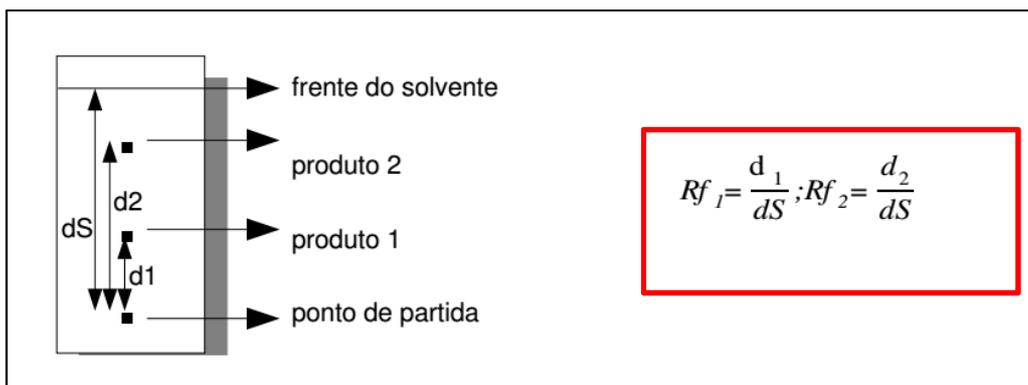


Figura 2. Determinação do Rf de cada composto em função do solvente.

Estes valores são reprodutíveis em condições idênticas de trabalho (fase estacionária, fase móvel e temperatura) e servem para caracterizar e identificar as substâncias. A medida é feita desde a linha de base (ponto onde foi aplicada a amostra) até o centro da mancha em estudo. O valor obtido é comparado aos tabelados na literatura especializada podendo servir para identificar a substância em questão.

Para realizar essa cromatografia as etapas devem ser seguidas:

1. Corta-se uma tira da placa, com medida de +/- 5,0 cm (Figura 3a).
2. Desenha-se uma linha entre 0,5 cm da extremidade com um lápis, denominada de linha de base, onde serão aplicadas as amostras a analisar (Figura 3b).

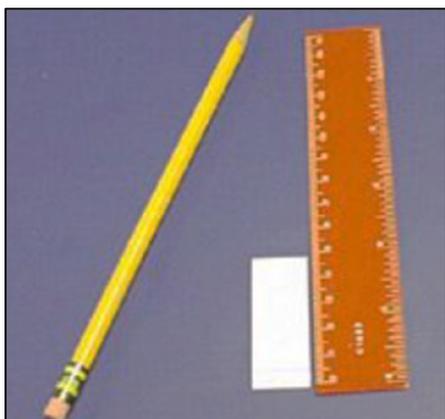


Figura 3a. Dimensão da Placa Cromatográfica de Alumínio.

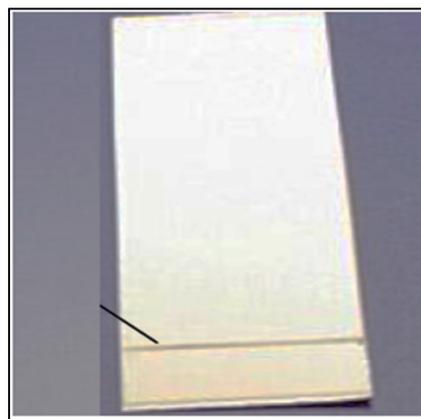


Figura 3b. Desenho da Linha de Base na Placa Cromatográfica

3. Aplica-se a amostra diluída em solvente com auxílio de um capilare de vidro de maneira que o diâmetro das manchas não exceda 2 mm. Se a concentração do

composto for baixa, repete-se a aplicação. Antes do desenvolvimento do cromatograma as manchas de aplicação deverão estar secas (Figura 4).

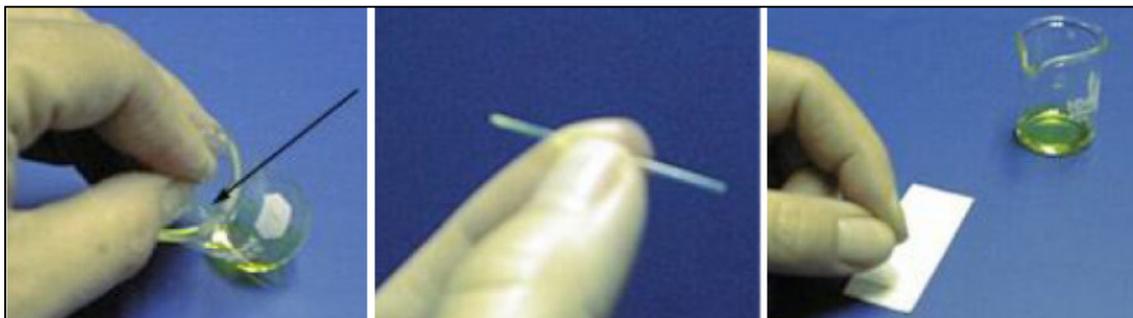


Figura 4. Aplicação da amostra na Placa Cromatográfica

4. A eluição da Placa Cromatográfica, é feita em uma câmara cromatográfica (cuba de solvente). Deve ser um recipiente de vidro capaz de conter folgadoamente a tira de papel-filtro e possuir tampa. O eluente escolhido deve ser colocado na cuba algum tempo antes de proceder à análise para que o ambiente fique saturado com seus vapores.

5. Uma vez colocada a Placa na cuba, deixa-se o solvente se adsorver na e “subir” por capilaridade até o topo da Placa, quando esta é retirada da cuba de solvente (Figura 5).



Figura 5. Processo para obtenção do cromatograma por CCD

6. Para a revelação do Cromatograma – Se as manchas forem coloridas, o cromatograma pode ser observada diretamente (Figura 6a). Se forem “invisíveis”, a placa pode ser revelada com auxílio de uma cuba de iodo (I_2 , Figura 6b). A placa revelada na cuba de iodo é mostrada na Figura 6c. Pode se utilizar ainda a lâmpada de emissão de luz UV (Figura 6d) para a iluminação da superfície da placa com luz Ultravioleta, mostrada na Figura 6e.

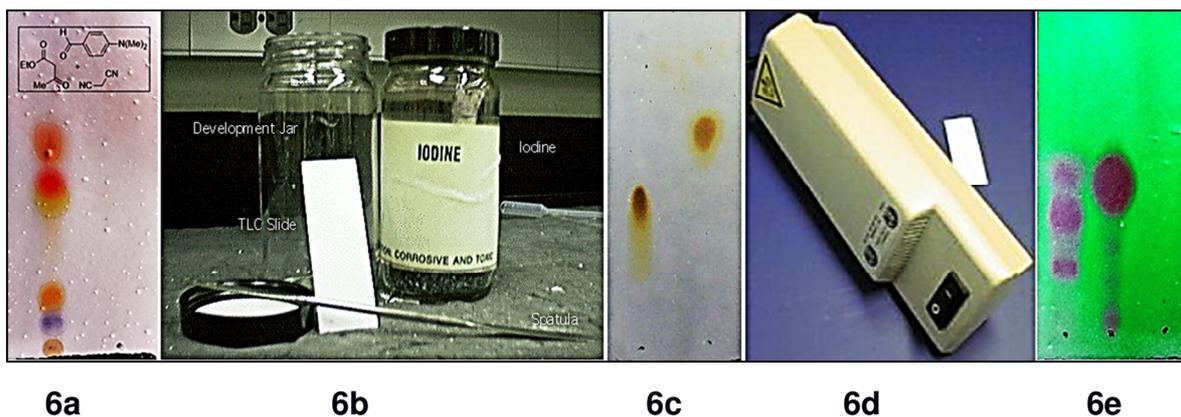


Figura 6. Revelações em Cuba de Iodo e com Lâmpada de UV

5.3. CROMATOGRAFIA EM COLUNA

A cromatografia em coluna é o mais antigo procedimento cromatográfico. Foi descrito pela primeira vez pelo botânico russo M. S. Tswett que o utilizou para o isolamento dos pigmentos existentes nas folhas verdes dos vegetais. Consiste em uma coluna de vidro, metal ou plástico, preenchida com um adsorvente adequado. O adsorvente pode ser colocado na coluna diretamente (seco) ou suspenso em um solvente adequado (geralmente o próprio eluente a ser usado no processo de separação). Os principais adsorventes utilizados são a Silica-Gel (SiO_2) e Alumina (Al_2O_3). Entretanto, outros adsorventes também podem ser utilizados como o Carbonato de Cálcio (CaCO_3), Óxido de Magnésio (MgO), Carvão Ativado, Sacarose e Amido.

Os principais eluentes são: Éter de Petróleo (mistura de alcanos de baixo ponto de ebulição), Éter Etílico (Et_2O), Clorofórmio (CHCl_3), Acetato de Etila ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Et}$), Acetona (CH_3COCH_3), Etanol (EtOH), Metanol (MeOH), Água Destilada (H_2O) ou misturas dos eluentes anteriores. A substância a ser separada ou analisada é colocada na coluna pela parte superior e o eluente é vertido após, em quantidade suficiente para promover a separação.

A coluna é um tubo de vidro, aberto em ambas extremidades, ou semelhante a uma bureta. É possível visualizar a eluição pela coluna quando as amostras são coloridas, e com o decorrer da análise são recolhidas separadamente, pela extremidade inferior. Quando a amostra não possuir cor, recolhem-se várias frações iguais de eluente, testando-as da presença ou não de substâncias dissolvidas pelo uso de reveladores adequados (reveladores químicos como iodo, solução de

vanilina, ácido fosfomolibdico, permanganato de potássio ou luz UV (Figura 7. Veja também Figura 6, acima).

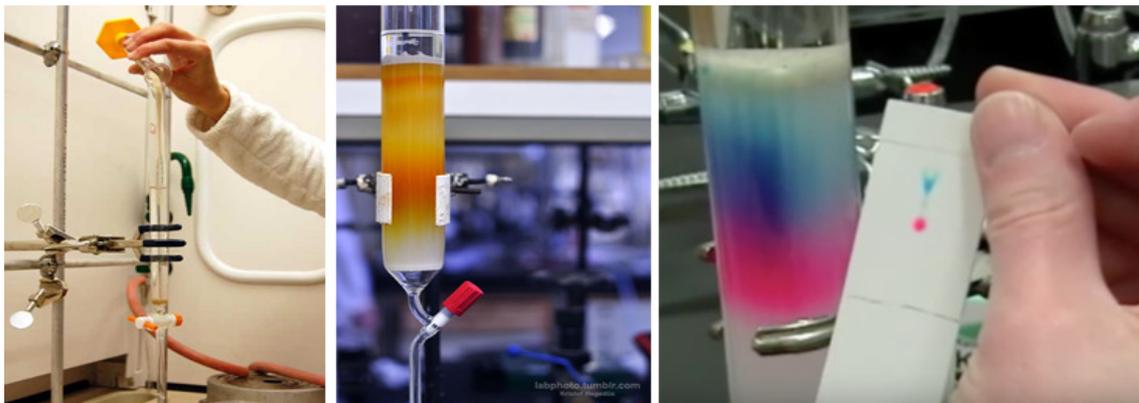


Figura 7. Cromatografia em Coluna de Silica-Gel

5.4. OUTROS TIPOS DE CROMATOGRAFIA

- Cromatografia a Gás (CG)
- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)
- Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

Estes procedimentos cromatográficos envolvem o uso de aparelhagem instrumental mais sofisticada. São procedimentos de uso mais recente, quando comparados aos demais, e muito difundidos em laboratórios acadêmicos e industriais. Permitem análises qualitativa e quantitativa de quantidades muito pequenas de substâncias.

5.4.1 Cromatografia a Gás

Cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia gás-líquido (CGL), é um tipo comum de cromatografia usada em química orgânica para separação de compostos que podem ser vaporizados sem decomposição.

A cromatografia gasosa usa um tubo estreito através do qual se dá o fluxo, conhecido como *coluna*, através do qual diferentes constituintes de uma amostra passam em uma corrente de gás (gás condutor, ou transportador, a *fase móvel*) em diferentes taxas dependendo de várias propriedades físicas e químicas e suas interações com um específico recheio da coluna, chamada *fase estacionária*.

Os compostos químicos que saem no final da coluna, são detectados e identificados eletronicamente. A função da fase estacionária na coluna é separar componentes diferentes, causando em cada um dos componentes da mistura, tempos diferentes para cumprir o trajeto da coluna (*Tempo de Retenção*). Outros parâmetros que podem ser usados para alterar a ordem ou tempo de retenção são a taxa de fluxo do gás condutor e a temperatura.

Um esquema genérico do funcionamento de um Cromatógrafo à Gas é mostrado no desenho abaixo (Figura 8a).

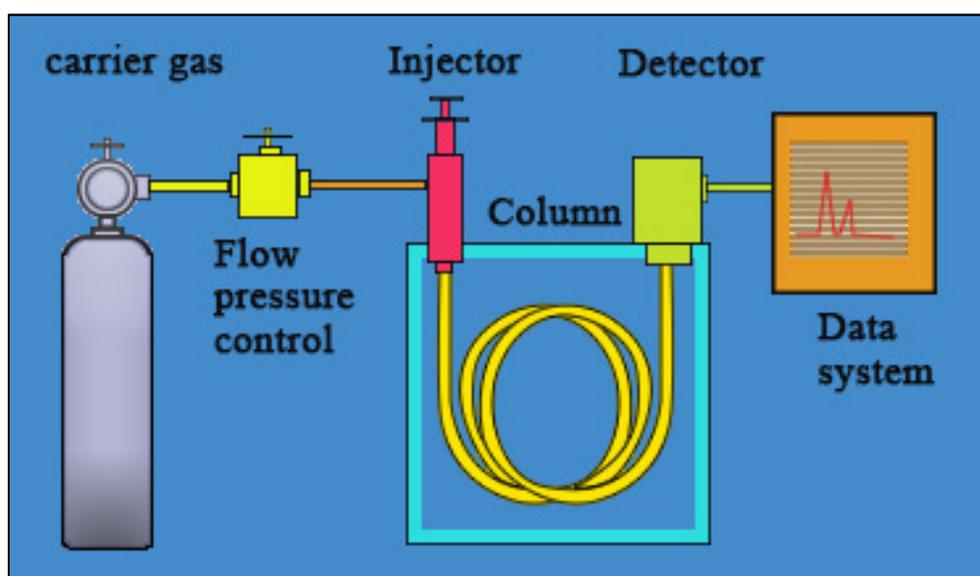


Figura 8. Esquema Geral e Funcionamento de Um Cromatógrafo à Gás

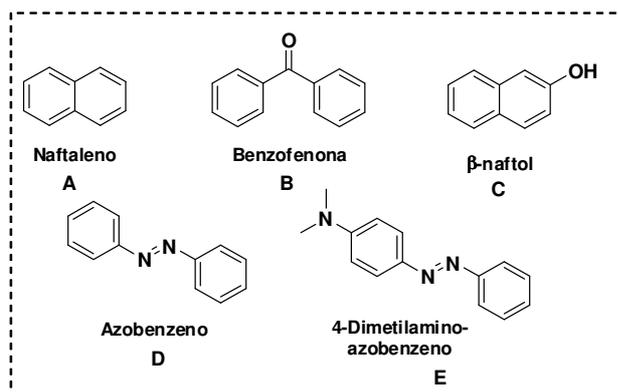


Fig. 8b. Cromatógrafo à Gás; **Fig.8c.** Forno do Cromatógrafo; **Fig.8d.** Coluna capilar de Sílica Fundida para Cromatógrafo à Gás.

PARTE EXPERIMENTAL (Código Cromato I)

Experimento 1 – Estudos de Cromatografia em Camada Delgada (CCD): Efeito da polaridade dos compostos orgânicos e do solvente e Determinação de R_f .

Utilizando Placas Cromatográficas de Sílica para CCD disponíveis no Laboratório, determine o R_f dos seguintes compostos orgânicos:



1. Inicialmente, prepare a placa conforme **item 5.2**. *Dica: colocar a placa na cubeta (ainda sem as amostras) para testar se a fase móvel está “correndo” uniformemente; se estiver “correndo” tortuosamente, “consertar a placa” ou trocar por outra.*

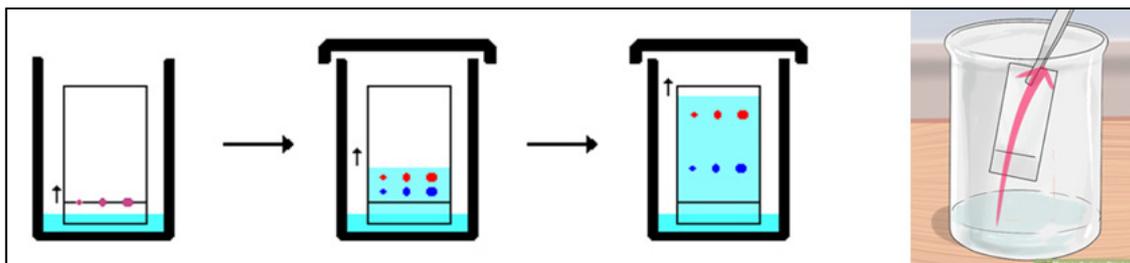
2. Aplique sobre a linha de base de uma mesma placa, uma alíquota de cada um dos compostos **A a E**, aplicados em posições equidistantes.

OBS.: Não esqueça de anotar a posição de cada substância na placa cromatográfica.

3. Escolha uma das cinco misturas eluentes (hexano/acetato de etila (v/v), 95:5, 90:10, 80:20 ou hexano/tolueno (v/v), 80:20, 50:50) e adicione em um Becker de 50 mL. Obs.: Considere o hexano como o componente mais apolar e acetato de etila ou tolueno como os componentes mais polares das misturas.

4. Introduza a Placa Cromatográfica no Becker com a mistura eluente designada e observe visualmente o solvente eluindo na Placa até chegar no topo.

OBS.: 1) Ajuste a quantidade de solvente no Becker, de forma que a superfície do líquido não ultrapasse a altura dos pontos de aplicação das substâncias. 2) Retire a placa da cuba imediatamente depois do solvente ter chegado no topo.



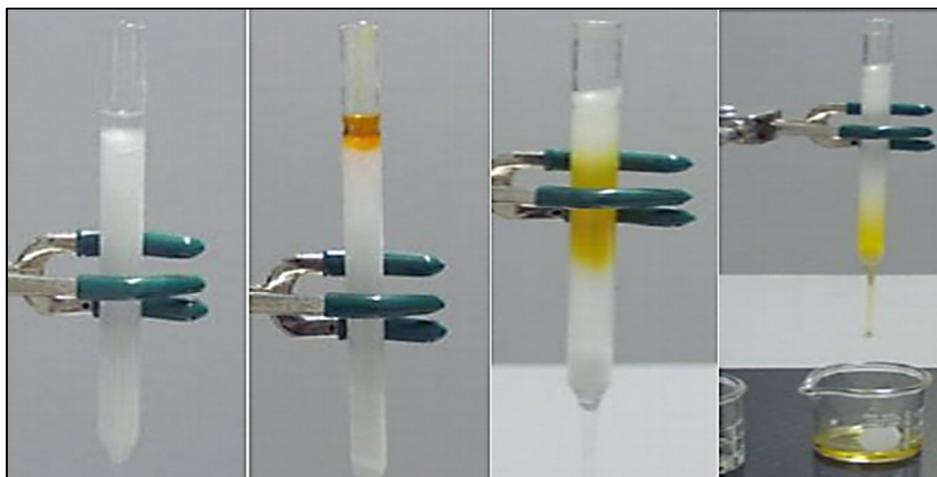
5. Para a revelação das manchas dos produtos utilize primeiro a lâmpada de UV (comprimento de onda de 254 nm), e depois a cuba de Iodo (I_2 , sólido marrom, bastante volátil), para revelar a posição das manchas.

6. Determine os valores de R_f e estabeleça uma relação entre a variação dos R_f s em função da polaridade da mistura dos solventes utilizados. Faça uma correlação, qualitativa, dos resultados com relação à polaridade das substâncias analisadas.

Experimento 2 – Cromatografia em Coluna de Sílica-Gel

1. Determine a melhor mistura eluente para a separação dos compostos **D** e **E** por Cromatografia em Coluna a partir das informações obtidas em CCD.

2. Realize a cromatografia conforme os passos a seguir:



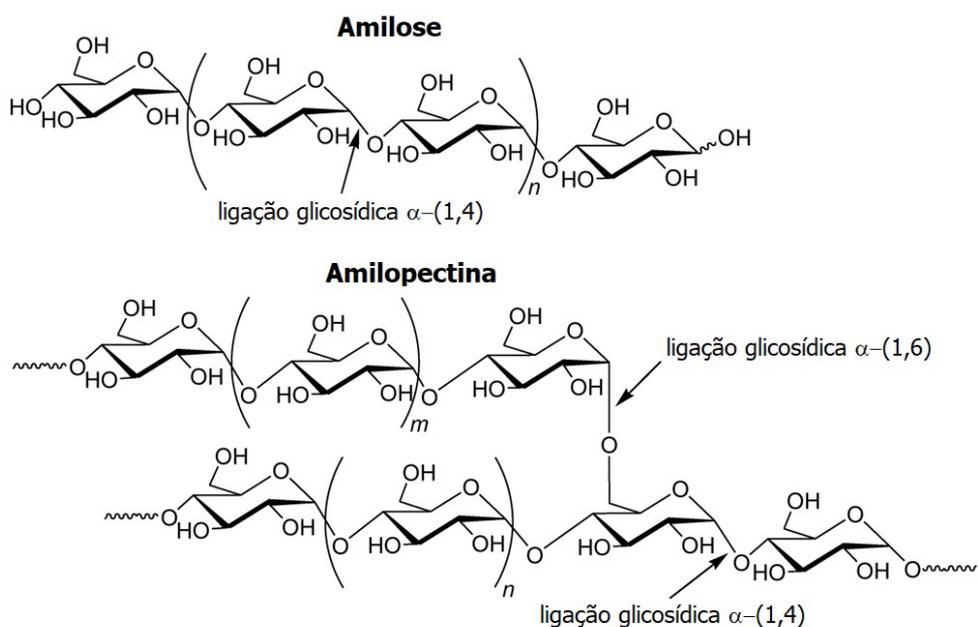
a) Prepare a coluna cromatográfica cobrindo a extremidade de saída de baixo com uma pequena quantidade de algodão (para evitar a perda da fase estacionária) e preencha com sílica gel (70-230 mesh) até a altura de aproximadamente 10 cm. OBS: coloque a quantidade mínima necessária de algodão para evitar a passagem da sílica e não compacte o algodão para não “entupir” a coluna.

b) Coloque a sílica em um copo de Becker de 50 mL e adicione uma quantidade de eluente de maneira a formar um “gel”, pasta.

-
- c) Despeje este conteúdo no topo da coluna (utilize um funil simples) mantendo a torneira aberta e recolhendo o solvente que passa em um frasco. Reutilize este solvente para repetir a operação de homogenização até que todo o conteúdo de sílica seja totalmente adicionado.
- d) Espere o adsorvente compactar-se antes de prosseguir e tenha o cuidado de manter a coluna na vertical durante todo este processo.
- e) Pese aproximadamente **20 mg** (0,020 g) da mistura dos compostos **D** e **E** disponível no laboratório. Dissolva na menor quantidade necessária de fase móvel (algumas gotas).
- e) Antes da aplicação da amostra na coluna, deixe o menisco do solvente no mesmo nível da superfície da sílica.
- f) A aplicação da amostra deve ser feita com uma pipeta Pasteur pela extremidade superior da coluna. Espere alguns instantes para que a amostra penetre na camada de adsorvente.
- g) Uma vez adicionada toda a quantidade de amostra, inicie então a eluição preenchendo a coluna com fase móvel aos poucos.
- h) Observe visualmente a separação entre as manchas durante a eluição e recolha as diferentes frações em tubos de ensaio, mantendo sempre o nível de solvente acima da superfície da sílica na coluna.
- i) Faça uma CCD com as frações separadas e os respectivos padrões puros para confirmar (ou não) a separação dos mesmos da mistura.

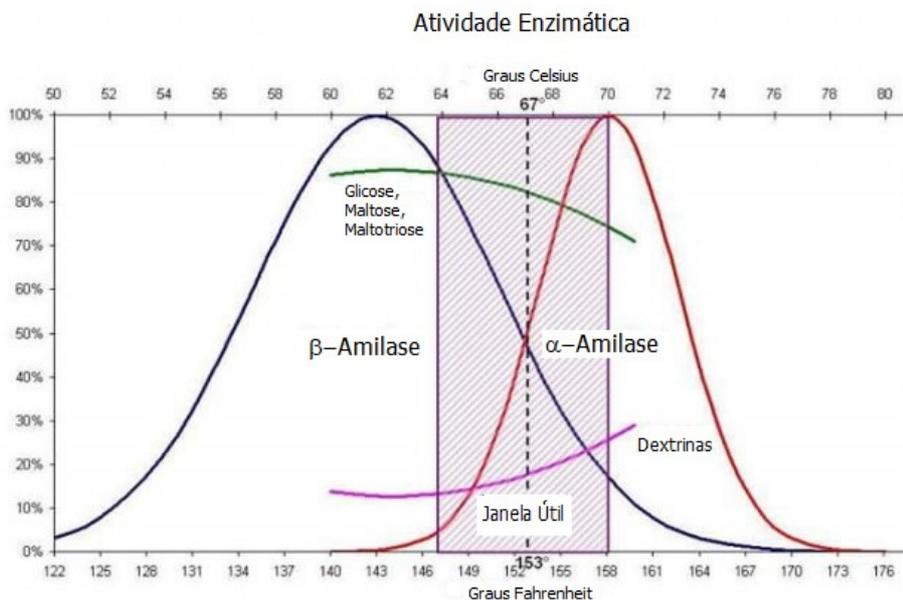
6. HIDRÓLISE DE AMIDO E ANÁLISE DE AÇÚCARES POR CCD (Código Cromato II)

O amido é uma mistura de carboidratos poliméricos constituídos por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas. É formado por amilose (20-30% do amido), um polímero linear contendo de 250 a 300 resíduos de *D*-glicopirranose ligadas por pontes glicosídicas α -(1,4), que tende a assumir um arranjo helicoidal. O outro constituinte é o polímero ramificado amilopectina, mais abundante no amido (70-80%), podendo conter de 2000 a 200000 unidades de *D*-glicopirranose. Estruturalmente é formada por cadeias de resíduos de *D*-glicopirranose (17-25 unidades), unidas por ligações glicosídicas α -(1,4), fortemente ramificadas com 4-6% de ligações α -(1,6).



Amilases são enzimas que catalisam a hidrólise de amido em açúcares de massa molecular menor, atuando sobre as ligações α -(1,4) glicosídicas. Malte de cevada (*Hordeum vulgare*) contém, entre outros enzimas, duas amilases, denominados de α -amilase e β -amilase. As α -amilases são metaloenzimas (contém cálcio em sua estrutura) encontrados em plantas, fungos, bactérias e também no ser humano (saliva, pâncreas). Agem em posições aleatórias nas cadeias glicosídicas do amido, fornecendo maltose e maltotriose a partir de amilose; e maltose, glicose e dextrinas a partir de amilopectina. Como podem agir em qualquer posição α -(1,4) glicosídica do substrato, possuem cinética de hidrólise mais rápida que as β -amilases. As β -amilases, por sua vez, atacam a ponta não redutora da cadeia,

promovendo a hidrólise da segunda ligação α -(1,4) glicosídica, clivando duas unidades de glicose (= maltose) por vez.



Açúcares podem ser submetidos ao processo de separação cromatográfica utilizando diversos tipos de fases estacionárias. São populares o uso de celulose, terra diatomácea e sílica-gel. Quanto aos solventes de eluição, são mais eficientes misturas binárias ou ternárias de solventes orgânicos com água, em que esta é um componente indispensável para evitar que ocorram manchas arrastadas. A porcentagem de água presente na mistura de solventes varia entre 10-20%. No caso do emprego de celulose hidratada como fase estacionária, o processo cromatográfico é governado pelo princípio de partição de cada açúcar entre a fase móvel e a água complexada à superfície da celulose. Em camadas de sílica-gel obtém-se uma separação satisfatória somente quando há incorporação de sais inorgânicos à matriz de sílica, tais como bissulfito, fosfatos, acetato ou tetraborato. O processo de partição é substituído, em parte, por processos de adsorção, especialmente quando existem sais incorporados. Assim, a separação é determinada não somente pelo coeficiente de partição, mas também pela seletividade da matriz sólida.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

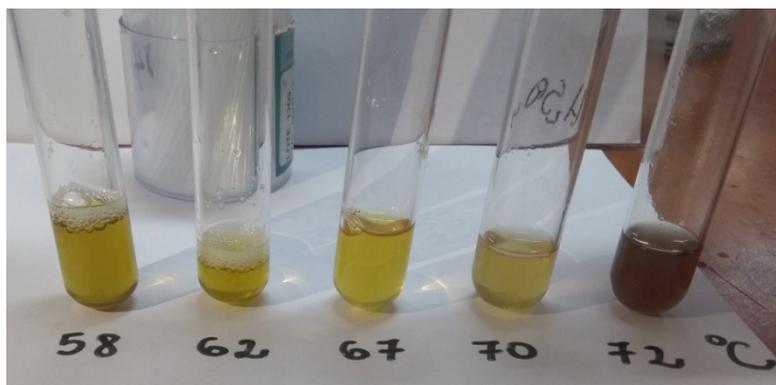
Experimento 1: Impregnação das placas de cromatografia em camada delgada com NaH_2PO_4

Dica: Inicie o aquecimento do banho-maria e estabilização na temperatura de $67\pm 1^\circ\text{C}$ para o Experimento 2. Utilize um clipe metálico para auxiliar na agitação e homogeneização durante o aquecimento.

1. Preparar 50 mL solução 0,15 M de NaH_2PO_4 dissolvendo 1,04 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ em 50 mL de água destilada. Obs.: esta quantidade de solução pode ser usada por no mínimo dois grupos, portanto não é necessário que toda a turma a prepare.
2. Impregnar uma placa de sílica-gel comercial, com dimensões 4x8 cm, mergulhando-a na solução de NaH_2PO_4 contida numa cuba de tamanho adequado. Obs.: um grupo (no máximo dois) pode preparar duas placas, e não apenas uma, para que havendo algum erro experimental na turma, se tenha a oportunidade de fazer uma duplicata.
3. Então, retirar as placas molhadas da cuba e remover cuidadosamente o excesso com papel toalha.
4. Transferir as placas impregnadas para uma estufa preaquecida a 110°C , mantendo-as nesta temperatura por pelo menos meia hora para que haja ativação da fase estacionária.

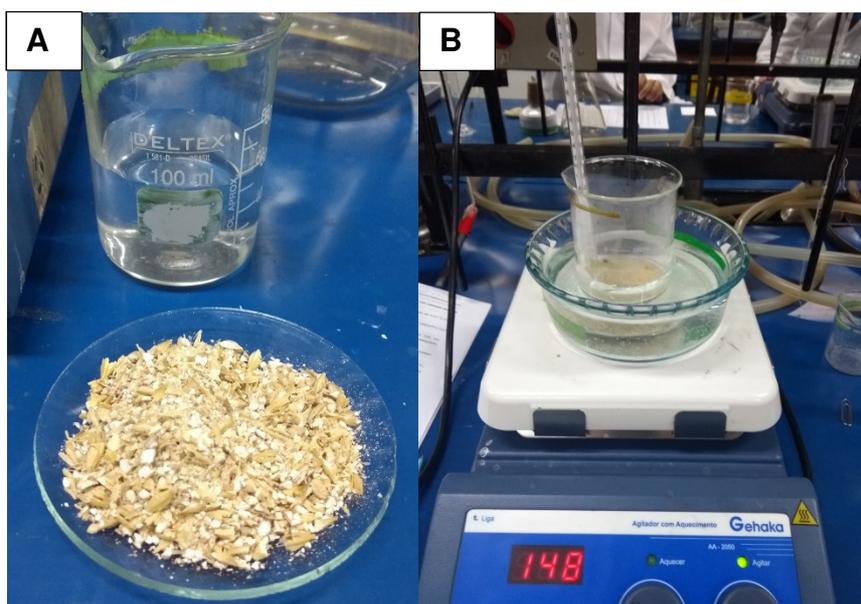
Experimento 2: Hidrólise enzimática de amido contido em malte de cevada

A hidrólise será efetuada na temperatura de $67\pm 1^\circ\text{C}$, sendo importante manter este intervalo ao longo do período de hidrólise. Temperaturas maiores inativam as enzimas (principalmente a β -amilase) e temperaturas menores diminuem a velocidade da hidrólise, especialmente no caso da α -amilase.



Teste de Lugol em reações de hidrólise realizadas por 30 minutos em diferentes temperaturas (Turma A, Semestre 2019/1).

1. No banho-maria a $67\pm 1^\circ\text{C}$, colocar um Becker de 250 mL contendo 50 mL de água da torneira e uma barra de agitação magnética. Esperar até que ocorra a estabilização da temperatura novamente.
2. Acrescentar 10 g de malte de cevada moído (variedade Pilsen, que possui maior capacidade enzimática). *Obs.: Os grãos da cevada serão encontrados inteiros na sala de balança, e deverão ser moídos com gral e pistilo. Havendo dúvidas sobre o processo de moagem, pedir auxílio ao(à) professor(a).*
3. Manter a agitação por meia hora, com cuidadoso controle da temperatura dentro da faixa indicada acima.



(A) Preparativos iniciais; (B) Reação em andamento.

4. Decorrido este tempo, testar se a hidrólise do amido foi completa. Para isto, colocar 4-5 gotas da mistura reacional em um tubo de ensaio e 10-15 gotas de solução de Lugol (I_2/KI), disponível no laboratório. A permanência da coloração castanho-clara típica da solução de I_2/KI indica que todo o amido foi consumido. Ao contrário, uma coloração violeta ou azul mostra a existência de amido não-convertido (Ver imagem a seguir); neste caso deixar a reação de hidrólise prosseguir por mais 10 minutos na faixa de temperatura indicada.

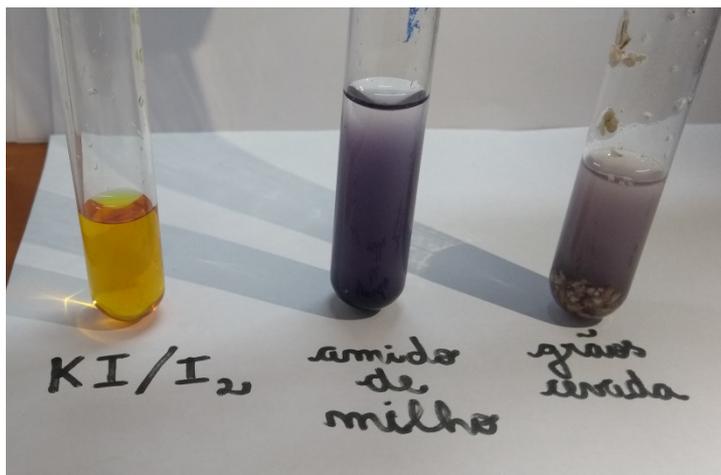


Imagem de tubos contendo a solução de Lugol (iodeto/iodo) pura, sobre amido de milho e sobre grãos de cevada moídos. Nestes dois últimos, é possível observar a positividade do teste.

5. Efetuar a filtração sob pressão reduzida da mistura de hidrólise com funil de Büchner e Kitassato, recolhendo o líquido, que contém os açúcares, para análise subsequente. O resíduo sólido pode ser descartado em lixo comum.

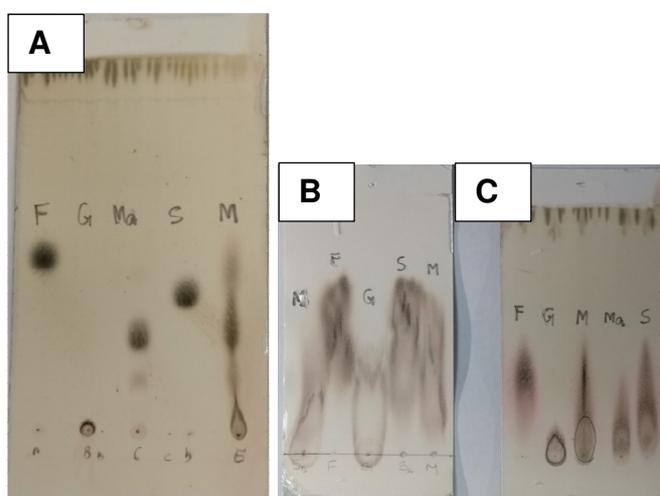
Experimento 3: Análise dos açúcares resultantes da hidrólise do amido por meio de cromatografia em camada delgada (CCD)

1. Preparar uma cuba cromatográfica (de tamanho adequado para conter as placas cromatográficas preparadas no **Experimento 1**) utilizando de 5-10 mL de uma mistura de *n*-butanol/acetona/água na proporção 4/5/1, volume/volume. Dica: esta solução eluente deve ser preparada por um dos grupos da turma (40-60 mL) e

usada coletivamente, porque as soluções estocadas por muito tempo podem ter suas proporções alteradas.

2. Diluir 1 mL de solução de açúcares obtida no **Experimento 2** com 3 mL de água destilada e 7 mL de etanol, e reservar.

3. Marcar a linha de base a 1 cm em uma das placas cromatográficas e aplicar, por meio de capilares (um para cada solução!), soluções padrão a 1% de frutose, glicose, sacarose e maltose, bem como a solução diluída da mistura de açúcares a analisar. *Obs.: nas concentrações dadas, com um capilar bem fino basta aplicar uma vez e rapidamente, para que não se deposite muita amostra na placa. Ver imagens a seguir.*



Imagens de CCDs (após revelação): (A) Aplicação da quantidade adequada de amostra; (B) e (C) Analitos aplicados em excesso. F = frutose, G = Glicose, Ma = Maltose, S = Sacarose, M = Mistura reacional. (Turma A, Semestre 2019/1)

4. Introduzir a placa cuidadosamente na cuba, permitindo a eluição até que o eluente chegue 1-2 mm próximo do final da placa (pode levar cerca de 30 minutos).

5. Remover a placa da cuba cromatográfica e evaporar o solvente com o auxílio de um soprador térmico.

6. Verter a solução reveladora de fenol/ácido sulfúrico, disponível no laboratório, em um Bécker pequeno e mergulhar rapidamente a placa nesta solução. Remover delicadamente o excesso de solução da placa com o auxílio de um papel toalha.

7. Aquecer a superfície das placas com soprador térmico até que as manchas correspondentes aos açúcares se tornem visíveis.

7. Delimitar cada mancha com lápis e calcular o **Rf** de cada uma.
8. Comparar o(s) **Rf**(s) da(s) mancha(s) resultante(s) da aplicação da solução de hidrólise do malte com os **Rf**'s das manchas dos açúcares padrão e discutir o resultado obtido, com base nas estruturas dos açúcares envolvidos.

BIBLIOGRAFIA

Ghebregzabher, M.; Rufini, S.; Monaldi, B.; Lato, M.; *Thin-layer Chromatography of Carbohydrates; Journal of Chromatography* **1976**, *127*, 132.

Ovodov, Yu. S.; Evtushenko, E. V.; Vaskovski, V. E.; Ovodova, R. G.; Soloveva, T. F.; *Journal of Chromatography* **1967**, *26*, 111.

7. NITRAÇÃO DO FENOL, CROMATOGRAFIA E DETERMINAÇÃO DE pK_a POR ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA

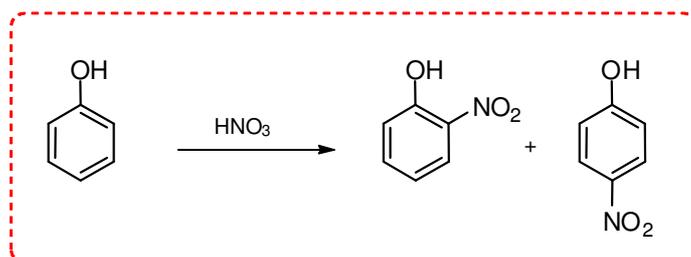
A reação de substituição eletrofílica é a principal forma de obtenção de derivados do benzeno. A reação requer a formação de uma espécie deficiente em elétrons, chamada de eletrófilo, que é atraída pelos elétrons do anel aromático. Eletrófilos comuns são o NO_2^+ (cátion nitrônio), SO_3 ou SO_3H^+ , R^+ (carbocátions) e $\text{RC}^+=\text{O}$ (íons acílio). Em benzenos substituídos, o grupo que já está ligado ao anel aromático direciona a entrada do eletrófilo e altera a velocidade da reação em comparação com o benzeno. Os grupos ligados exercem efeito diretor *orto/para* ou *meta*, em relação à posição de entrada do eletrófilo, e o efeito de aumento ou diminuição de velocidade da reação. Grupos que doam elétrons por efeitos indutivos (alquil) ou mesomérico ($-\text{OH}$, $-\text{OR}$, $-\text{NH}_2$, etc) aumentam a velocidade da reação e direcionam os grupos em posições *orto* e *para*; grupos que retiram elétrons por estes mesmos efeitos ($-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}=\text{OR}$, $-\text{C}=\text{OOR}$, $-\text{N}^+\text{R}_3$) diminuem a velocidade da reação e dirigem a entrada em *meta*. Uma exceção são os halogênios, que direcionam *orto/para*, em função do efeito mesomérico, mas são desativadores e diminuem a velocidade da reação, porque o efeito predominante é o indutivo.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Experimento 1: Reação de Nitração do Fenol (Código Cromato III)

Segurança

- O fenol pode causar queimadura em contato com a pele; utilize **luvas** durante a manipulação!
- Verta o ácido concentrado na água, e não a água no ácido.



Compostos	Quantidades	n (mmol)
fenol	1 g	10,6
HNO ₃	3 mL	~50

1. Pesar 1 g de fenol em um Erlenmeyer de 50 mL (ou 125 mL) e colocar em um banho de gelo.
2. Em um Becker de 50 mL adicionar 3 mL de água destilada e 3 mL de HNO₃ concentrado lentamente.
3. A solução preparada no Becker deve ser adicionada gota a gota ao Erlenmeyer contendo fenol. Obs.: Ocorrerá a formação de uma mistura escura.
4. Após adicionar toda solução de ácido nítrico, retirar do banho e agitar manual e vigorosamente o Erlenmeyer.
5. Então, verter 15 mL de água destilada sobre esta mistura.
6. Transferir para uma pêra de separação de capacidade adequada e extrair com diclorometano (2 x 10 mL). Se necessário, utilizar a lanterna do celular para auxiliar na visualização da interface das fases orgânica (cor preta) e aquosa (cor marrom-

escura). Coletar os extratos orgânicos em um Erlenmeyer de 125 mL. Observe a coloração escura da fase orgânica na figura ao lado.



7. Secar a fase orgânica com Na_2SO_4 ou MgSO_4 anidro.
8. Filtrar e transferir para um balão de 125 mL previamente pesado e remover o solvente em evaporador rotatório.
9. Pesar e calcular a massa da mistura bruta (óleo escuro).

Experimento 2: Separação dos produtos por Cromatografia (Código Cromato III)

Dica: Reservar uma pequena alíquota (1 gota) da mistura bruta para fins de comparação por CCD com os produtos separados. Tendo em vista que esta amostra está concentrada, quando for aplicar em CCD deve ser diluída.

Especificações para as cromatografias:

Coluna:	~22 mm de diâmetro interno
Fase estacionária para coluna:	Sílica (70-230 mesh), 12 cm de altura.
Fase móvel para coluna:	Hexano/Acetato de etila
(modo gradiente)	Primeira: 95:5, 200 mL
	Segunda: 90:10, 200 mL
Fase móvel para CCD:	Hexano/Acetato de etila (90:10)
Fase estacionária para CCD:	Sílica, com indicador de UV
Revelador:	UV254 nm ou iodo

1. Prepare uma coluna cromatográfica cobrindo a extremidade de saída de baixo com uma pequena quantidade de algodão e preencha com sílica gel até a altura de aproximadamente 12 cm (equivale a ~22 g de sílica). *Obs.: é uma coluna mais grossa, e não a fina utilizada na aula passada. Além disso, coloque a quantidade*

mínima necessária de algodão para evitar a passagem da sílica e não compacte o algodão para não “entupir” a coluna.

2. Prepare a fase móvel inicial: hexano/acetato de etila (95:5), 200 mL.

Dica: Utilizando uma proveta de 500 mL, preparar quantidades maiores e compartilhar com os colegas.

3. Retorne a sílica para um copo de Becker ou Erlenmeyer de 125 mL e adicione uma quantidade de eluente de maneira a formar um “gel”, pasta.

4. Despeje este conteúdo no topo da coluna (utilize um funil simples) e recolhendo o solvente que passa em um frasco. Reutilize este solvente para repetir a operação de homogeneização até que todo o conteúdo de sílica seja totalmente adicionado.

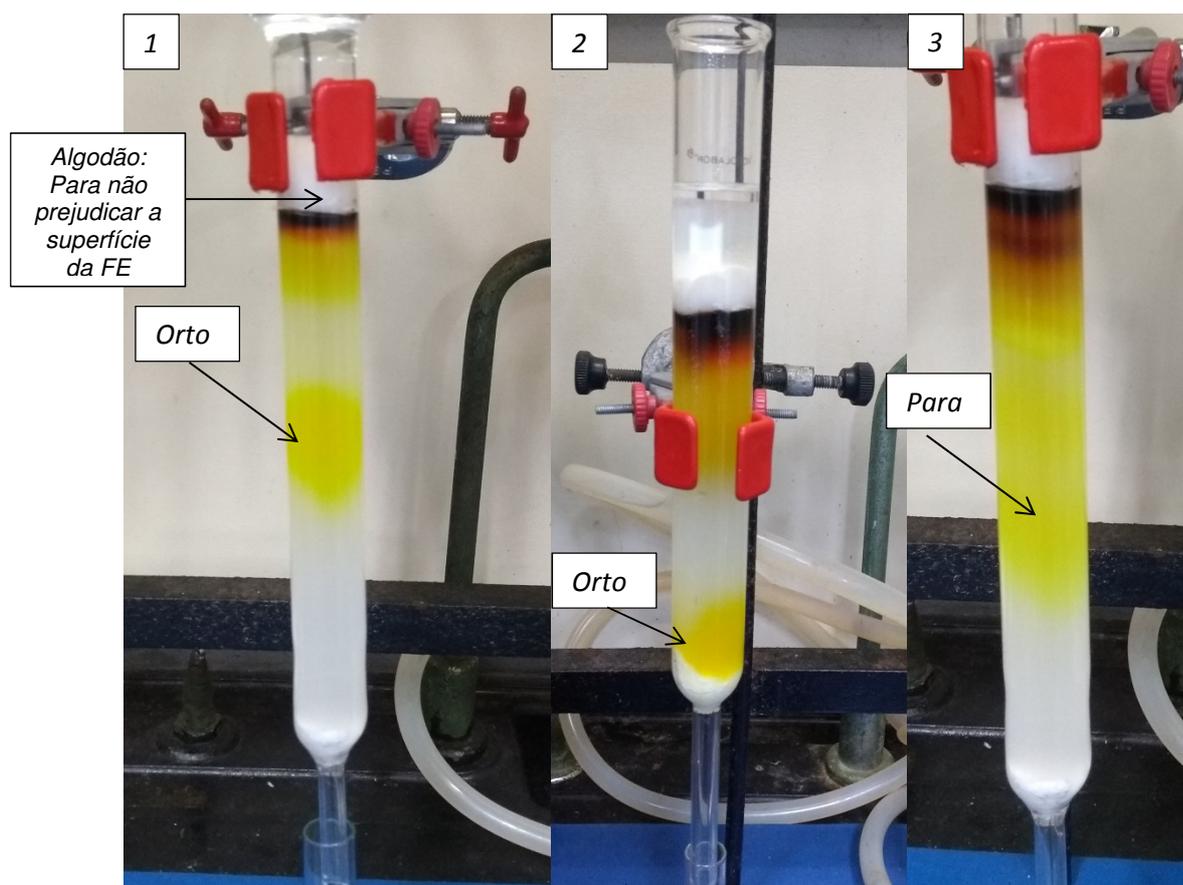
5. Espere o adsorvente compactar-se antes de prosseguir e tenha o cuidado de manter a coluna na vertical durante todo este processo. Assim que o menisco da fase móvel tiver atingido a superfície da sílica, proceda o próximo passo.

6. Com o auxílio de uma pipeta Pasteur, aplicar o produto bruto (líquido escuro) na superfície da fase estacionária. Então, o que restar no balão pode ser dissolvido com poucas gotas de acetato de etila (3-5 gotas) e também aplicado na superfície da FE. Espere alguns instantes para que a amostra penetre na camada de adsorvente.

7. Uma vez adicionada toda a quantidade de amostra, inicie então a eluição preenchendo a coluna com fase móvel aos poucos.

8. Utilize Erlenmeyers (de 125 ou 250 mL) para coletar frações de ~80 mL.

9. Assim que toda fase móvel de 95:5 tiver sido usada e o menisco tiver atingido a superfície da sílica novamente, proceder à eluição com a segunda fase móvel (90:10), continuando a coleta conforme item anterior.



Imagens da cromatografia em coluna (Turma A, 2019/1) em três momentos: **1)** Isômero orto eluindo separadamente na “polaridade” 95:5; **2)** Isômero orto terminando de sair da coluna; **3)** Isômero para sendo eluído na “polaridade” 90:10.

10. Finalizada a eluição, realize as análises por CCD e verifique o conteúdo das frações. Obs.: aplique a amostra dos tubos nos pontos da plaquinha de maneira a usar aproximadamente 2-3 capilares “cheios”, pois as amostras estarão mais diluídas devido à eluição na coluna. *Uma dica valiosa é observar na lâmpada UV se a quantidade de amostra é suficiente antes de colocar a plaquinha na cubeta. Peça auxílio ao(a) professor(a).*

Obs.: o isômero orto interage menos com a sílica, por ter ligação-de-hidrogênio intramolecular. Sendo assim, elui primeiro na cromatografia em coluna e possui o maior R_f na CCD. Por este mesmo motivo, também possui menor ponto de fusão.

11. Una as frações correspondentes a cada isômero em Erlenmeyers de capacidade adequada. Tampe, identifique e reserve para a aula seguinte. Lavar a vidraria conforme especificado a seguir.

Lavagem da vidraria:

Diferente das outras aulas, nesta as substâncias tendem a ficar empregnadas no material de aula, comprometendo as outras turmas se não for adequadamente lavado. Sendo assim, lave primeiro com etanol ou acetona, em seguida com água e sabão, e mais uma vez com etanol ou acetona. Se persistirem os odores característicos de fenol e derivados ou a cor levemente amarelada, lavar mais algumas vezes.

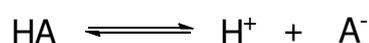


Determinação de rendimento, proporção e ponto de fusão (código Cromato IV)

12. Transfira o conteúdo dos Erlenmeyers para balões de capacidade adequada (250-500 mL) e evapore o solvente em rotaevaporador.
13. Então, transfira o conteúdo para balões menores **previamente pesados** (com auxílio de acetato de etila), evapore novamente em rotaevaporador e, então, pese os produtos remanescentes nos balões.
14. Determine o rendimento e a proporção entre os produtos *orto* e *para*.
15. Determine o ponto de fusão para ambos os isômeros.

Experimento 3: Determinação do pK_a do para-nitro-fenol através de UV (Código Cromato IV)

De acordo com a definição de Bronsted-Lowry, ácidos são espécies doadoras de prótons, e bases são espéciesceptoras de prótons. A equação química que descreve o comportamento de um ácido pode ser dada como:



em que HA é a forma ácida, H⁺ é o íon hidrogênio e A⁻ é a base-conjugada. A constante de acidez (K_a) pode ser descrita como:

$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]}$$

Define-se pK_a como :

$$pK_a = -\log K_a$$

Quanto menor o pK_a do ácido, maior é a força (capacidade de transferir H^+), e mais ácido o composto. Para a constante de acidez, podemos escrever a equação que define a quantidade relativa de ácido e base-conjugada de acordo com o pH do meio.

$$pK_a = pH - \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right)$$

Ácidos carboxílicos têm pK_a entre 3 e 5, enquanto fenóis apresentam pK_a entre 7 – 11 e álcoois entre 13 a 17. Estes valores são influenciados por grupos ligados aos centros ácidos. Grupos que dispersam cargas negativas como NO_2 , CN, COR aumentam a acidez (diminuem o pK_a) de ácidos orgânicos.

A ionização dos ácidos pode gerar uma base-conjugada carregada negativamente, cujas propriedades moleculares, como transições eletrônicas, são distintas da espécie não-ionizada. Esta mudança pode ser utilizada para determinar o pK_a , já que a concentração das espécies está diretamente ligada à absorvância conforme a **Lei de Lambert-Beer**:

$$A = \epsilon bC$$

Em que A = absorvância, ϵ = absorvância molar (característica de cada espécie), b = comprimento da cubeta, C = concentração.

Neste experimento, será determinado o pK_a de um fenol através da variação do espectro de absorção no UV – Visível, na faixa de 300 a 500 nm. Serão empregados tampões em uma faixa próximo a 7. O pK_a do di-hidrogenofosfato situa-se nesta faixa.

EXPERIMENTAL:

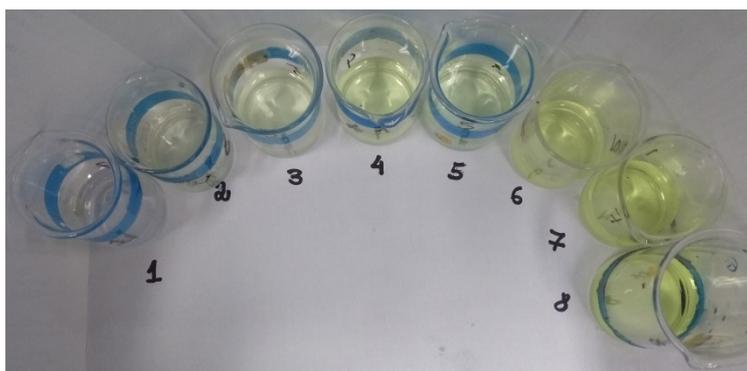
1. Pese 70 mg (0,0700 g) de 4-nitrofenol comercial (disponível no laboratório próximo das balanças) em um Becker de 50 mL.
2. Dissolva em ~10 mL de etanol e transfira para um balão volumétrico de 50 mL. Lave o Becker mais duas vezes com 10 mL de etanol, transfira para o balão e complete até a marca com etanol.

3. Transfira 1,00 mL (com pipeta volumétrica) desta solução de cerca de 10^{-2} mol.L⁻¹ e transfira para um balão volumétrico de 100 mL. Leve até a marca com água destilada. A concentração da solução resultante é de 10^{-4} mol.L⁻¹, e será utilizada para determinar o pK_a.

4. Separe oito copos de Becker (de 50 ou 100 mL) para a preparação das soluções tampão, e identifique-os de **1** a **8**. Estas soluções serão a combinação de uma solução de di-hidrogenofosfato com sua base-conjugada, conforme a tabela a seguir. Obs.: Meça os volumes correspondentes com pipetas graduadas.

Becker	Volumes (mL)				
	H ₂ PO ₄ ⁻ 0,1 mol.L ⁻¹	HPO ₄ ⁻² 0,1 mol.L ⁻¹	Solução de nitrofenol 10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹	NaOH 0,1 mol.L ⁻¹	pH calculado
1	10	0	10	0	4,6
2	8	2	10	0	6,2
3	6	4	10	0	6,5
4	5	5	10	0	6,8
5	4	6	10	0	7,1
6	2	8	10	0	7,4
7	0	10	10	0	9,0
8	0	0	10	10	12,7

Dica: Observe a diferença de coloração nas imagens a seguir:



5. Realize as análises de UV das soluções obtidas.
6. Observe a formação do ponto isobéstico, o que indica um equilíbrio direto entre os produtos e reagentes. Para calcular o pK_a , anote os valores de absorvância no máximo de absorção da forma básica em 400 nm. Anote os valores na tabela abaixo:

Obs.: o “branco” deve ser feito em água destilada.

A = os valores das absorvâncias em 400 nm para cada pH

$A_{\text{ácido}}$ = valor da absorvância em pH mais baixo (**solução 1**) a 400 nm

A_{base} = valor de absorvância em pH maior (**solução 8**) a 400 nm

	A	$A - A_{\text{ácido}}$	$A_{\text{base}} - A$	$\log [(A_{\text{base}} - A_{400}) / (A_{400} - A_{\text{ácido}})]$
1		0	-	-
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8		-	0	-

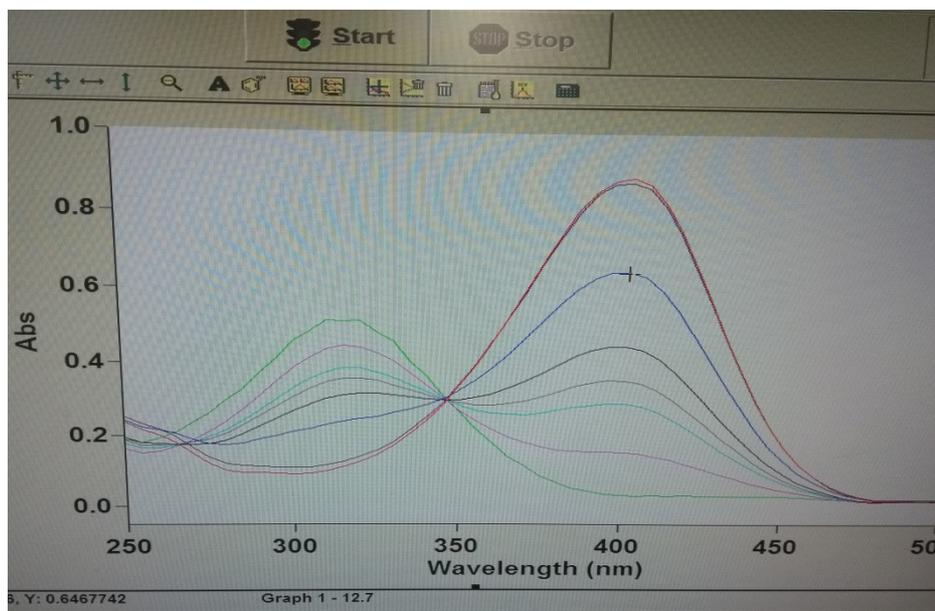


Imagem das análises realizadas em diferentes pHs (Turma A – 2019/1).

*Leituras feitas em **Cubeta de Quartz**.*

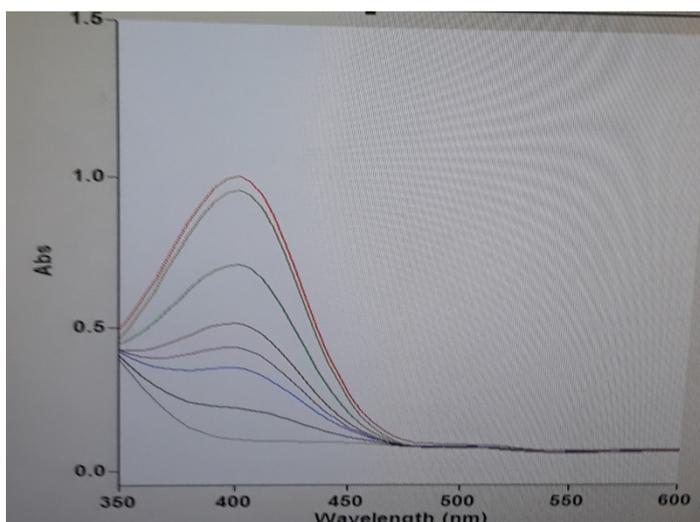


Imagem das análises realizadas em diferentes pHs (Turma A – 2019/2). Leituras feitas em **Cubeta de Plástico** (como o material da cubeta absorve nos comprimentos de onda menores, a leitura é feita apenas nas região de 350 a 500 nm).

7. Construa um gráfico entre pH (eixo x) e $\log [(A_{\text{base}} - A_{400}) / (A_{400} - A_{\text{ácido}})]$ (eixo y) e determine os coeficientes angular (inclinação) e linear (ponto em que a reta intercepta o **eixo y**). O valor de pK_a do ácido pode ser determinado graficamente como o ponto em que a reta intercepta o eixo y ou calculando o quociente entre o coeficiente angular e o coeficiente linear.

Matematiquês...

Lembrando que:

$$A = \epsilon b C$$

E que $\epsilon \cdot b$ será sempre igual nas leituras, logo:

$$A \propto C$$

Sendo assim, as leituras realizadas nos espectros de UV serão os valores inseridos nas equações abaixo para concentrações.

Tendo a seguinte equação de reta:

$$y = a + b.x$$

Em que:

$$y = \log [(A_{\text{base}} - A_{400}) / (A_{400} - A_{\text{ácido}})]$$

$$a = pK_a \text{ (coeficiente linear)}$$

$$b = \text{coeficiente angular (b será negativo)}$$

Tem-se que:

$$\log [(A_{\text{base}} - A_{400}) / (A_{400} - A_{\text{ácido}})] = pK_a + b.pH$$

Comparando com:

$$pK_a = pH - \log ([A^-] / [HA])$$

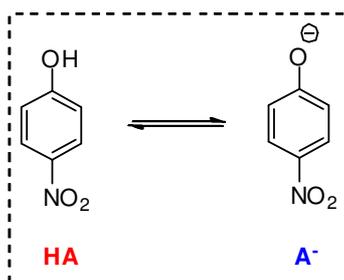
Ou:

$$-\log [A^-] / [HA] = pK_a - pH$$

Lembrando que $-\log (m/n) = \log (n/m)$, temos que:

$$\log ([HA] / [A^-]) = pK_a - pH$$

Em que: **HA** = nitrofenol (ácido), **A⁻** = ânion fenolato (base-conjugada).



Sendo assim, comparando as seguintes equações matemáticas:

$$\log [(A_{\text{base}} - A_{400}) / (A_{400} - A_{\text{ácido}})] = pK_a + b.pH \text{ (b é negativo)}$$

e

$$\log ([HA] / [A^-]) = pK_a - pH$$

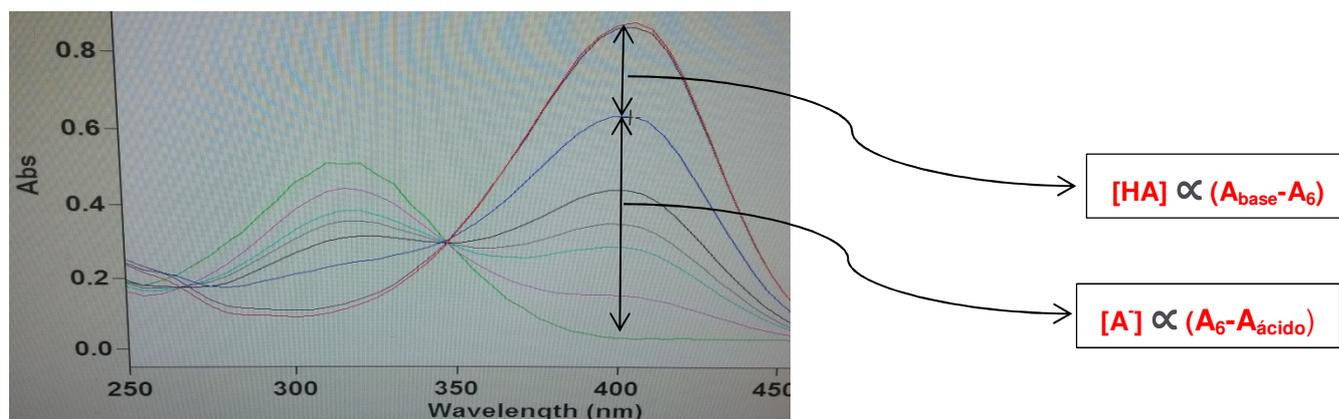
Tem-se que:

$$[\text{HA}] \propto A_{\text{base}} - A_{400}$$

$$[\text{A}^-] \propto A_{400} - A_{\text{ácido}}$$

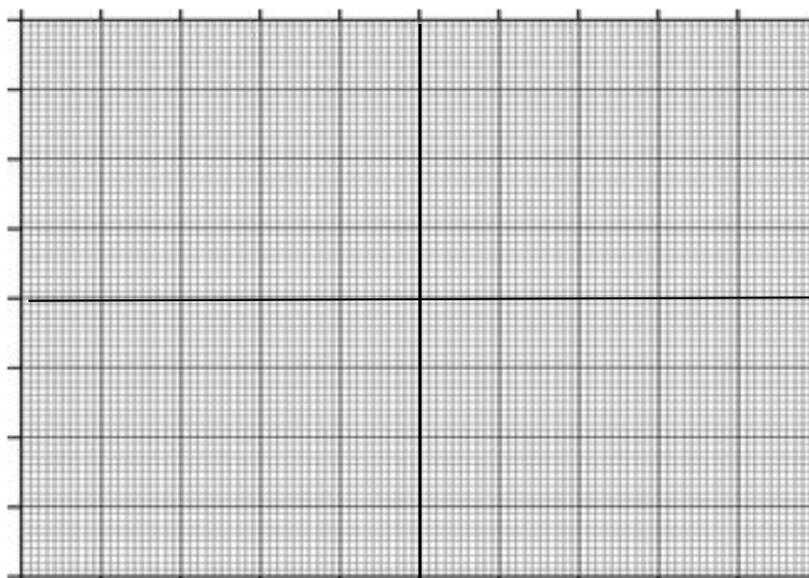
Obs.: Os valores são obtidos por diferenças, já que a concentração total de espécies no meio ($[\text{HA}] + [\text{A}^-]$) é sempre constante.

Exemplo: Leitura em pH = 7,4 (entrada 6 da tabela)



A_6 = Leitura no pH=7,4; entrada 6 da tabela.

O gráfico pode ser construído usando o papel quadriculado abaixo ou em um computador com programa adequado para traçar gráficos e construir regressões lineares. (Valor tabelado de $pK_a \sim 7,2$)



BIBLIOGRAFIA

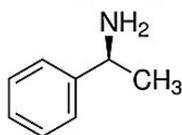
Imamura, P. M.; Baptistella, L. H. B.; *Nitração do fenol, um método em escala semi-micro para disciplina prática de 4 horas. Quím. Nova* **2000**, *23* (2).

8. SÍNTESE, PURIFICAÇÃO E RESOLUÇÃO DA α -FENILETILAMINA

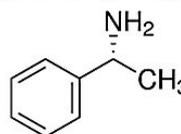
8.1 Síntese da α -feniletilamina

A 1-feniletilamina ou α -feniletilamina é uma monoamina com um estereocentro e, portanto, se apresenta em duas formas enantioméricas, *R* e *S*. É um composto líquido incolor, de caráter básico e forma sais de amônio bastante estáveis na presença de ácidos, como HCl.

(*S*)-(-)- α -Methylbenzylamine



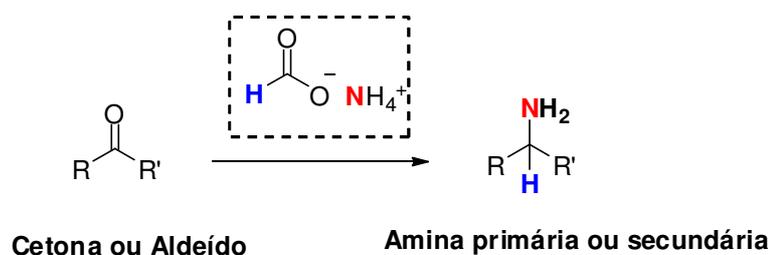
(*R*)-(+)- α -Phenylethylamine



Quanto à obtenção desta amina, pode consistir em uma reação de aminação redutiva de uma cetona, conforme esquema apresentado a seguir.

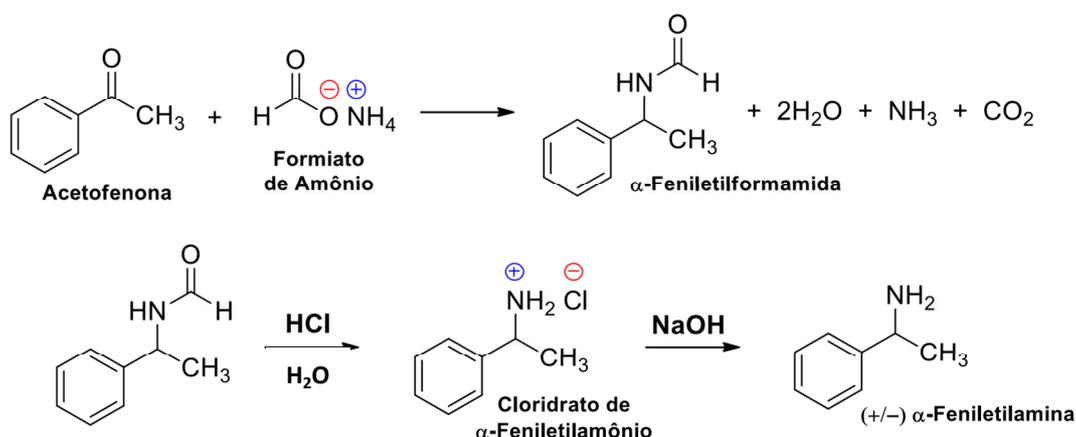


Um protocolo conhecido para aaminação redutiva de cetonas ou aldeídos é a reação de Leuckart, que emprega formiato de amônio como fonte tanto de nitrogênio quanto de ânion formiato, que é o agente redutor.



Nas próximas aulas, a α -feniletilamina será sintetizada a partir da acetofenona, em uma síntese sequencial, e após será purificada por destilação fracionada e seus enantiômeros serão separados através da resolução.

A síntese inclui em uma primeira etapa a reação da acetofenona com formiato de amônio, formando a α -feniletilformamida. A amida é, então, hidrolisada em meio ácido, resultando no cloridrato (sal com HCl) que em meio básico forma a amina, conforme é apresentado no esquema a seguir.



8.2 Resolução de Enantiômeros

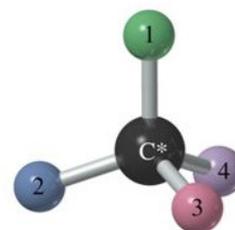
A maior parte das moléculas da vida apresentam quiralidade e uma ampla gama de funções biológicas depende do reconhecimento da assimetria molecular, podendo atuar com enantiômeros de maneiras totalmente distintas. As propriedades de macromoléculas altamente estereoregulares, sejam naturais ou produzidas sinteticamente, são muito diferentes dos polímeros randômicos.

Sempre que uma reação é conduzida sob condições aquirais, não existe a predominância de um dos enantiômeros no produto final, isto é, se forma uma mistura racêmica. A separação de uma mistura racêmica nos respectivos enantiômeros é conhecida como resolução. Pasteur desenvolveu no século passado a separação enantiomérica de uma mistura racêmica deixando a mesma reagir com um **auxiliar quiral**, o que converte os dois enantiômeros em dois diastereoisômeros, que apresentam propriedades físico-químicas distintas, e podem ser separados através de técnicas como cristalização fracionada ou cromatografia. Essa separação é eficiente porque as propriedades físico-químicas dos diastereoisômeros são

diferentes entre si, permitindo sua separação. A purificação dos diastereoisômeros seguida pela decomposição de cada um separadamente permite isolar ambos os enantiômeros.

O **auxiliar quiral** deve:

- reagir quantitativamente;
- os diastereoisômeros obtidos devem ser separáveis por algum método prático;
- os diastereoisômeros separados devem ser facilmente reconvertidos aos enantiômeros de partida.



A reação mais utilizada é a reação ácido-base, que se processa com rapidez e usualmente origina sais capazes de serem facilmente separados por cristalização fracionada. Uma vez purificados esses sais são tratados com ácidos minerais ou soluções aquosas básicas para liberar os enantiômeros desejados. As bases orgânicas mais comuns são as aminas, que podem ser combinadas com ácidos carboxílicos ou sulfônicos. Se a amina é a forma racêmica a ser resolvida, a reação é feita com um ácido quiral para dar os sais diastereoisoméricos. A separação dos sais, seguida pelo tratamento de cada um com hidróxido de sódio, produz os enantiômeros da amina. Do mesmo modo, um ácido racêmico pode ser resolvido com o uso de uma amina quiral.

Na prática, muitas biomoléculas enantiomericamente puras são ácidos e bases opticamente ativos, e por isso são usados comumente como agentes de resolução.

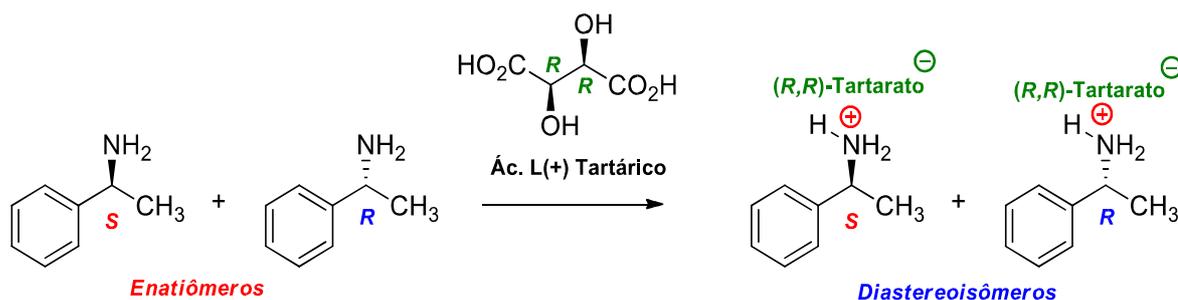
Para comparar com precisão as medidas de desvio da luz plano-polarizada de várias amostras, todas as variáveis (solvente, concentração, temperatura) devem ser especificadas. Desta maneira, para converter as medidas a uma base mais sistemática, define-se uma quantidade chamada ROTAÇÃO ESPECÍFICA $[\alpha]_D^{25}$ - como sendo a rotação em graus produzida em luz plano-polarizada por 1 g de substância em 1 mL de solução quando o comprimento da célula é de 1 decímetro. O valor da rotação $[\alpha]_D^{25}$ pode ser positivo (sentido horário) ou negativo (sentido

anti-horário) e é uma característica do composto examinado nas mesmas condições de concentração, solvente e pH.

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{[\alpha]}{l(dm) \cdot [A]}$$

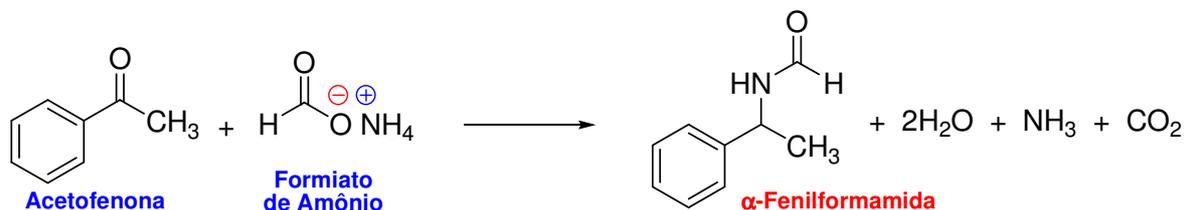
O símbolo D expressa a linha D de emissão da lâmpada de sódio (589,3 nm), a temperatura de 25^oC. A rotação depende do solvente e da concentração, e é comum especificar a concentração e o solvente logo após o valor de $[\alpha]_D^{25}$.

Após a síntese da α -feniletilamina (oticamente inativa, 50% isômero *R* + 50% isômero *S*), a mistura racêmica será transformada em uma mistura diastereoisomérica na reação ácido-base com o ácido *L*-(+)-Tartárico (*R,R*) oticamente ativo (isômero natural). Os sais de amônio diastereoisoméricos (*R-RR* e *S-RR*) têm propriedades físicas e químicas diferentes e poderão ser separados por recristalização.

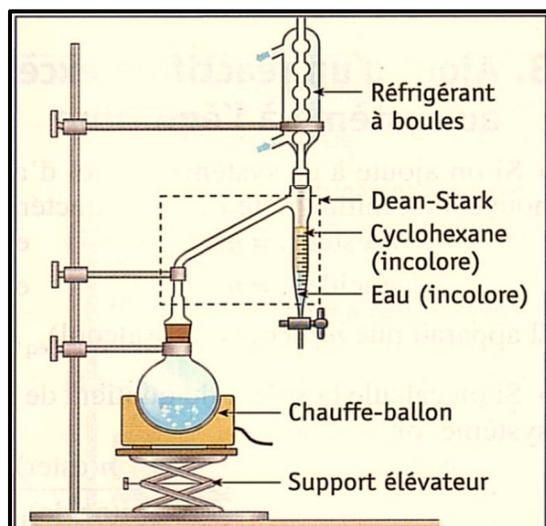


PARTE EXPERIMENTAL

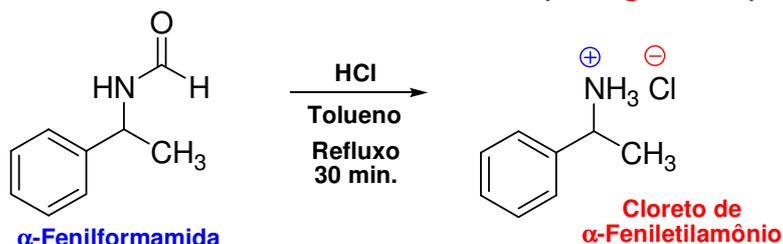
Experimento 1: Síntese da α -feniletilformamida (Código Alfa I)



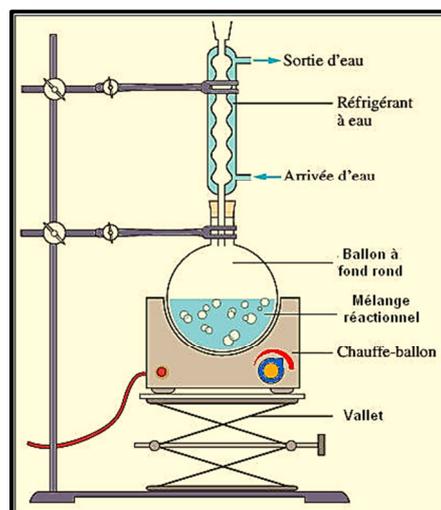
Obs.: Montar o sistema mostrado abaixo em capela, pois há forte desprendimento de amônia.



1. Em um balão de 250 mL provido de uma entrada lateral para inserção de termômetro, adicione 50 g de Formiato de Amônio e 30 g de acetofenona (~29,1 mL, pode ser medida em proveta de 100 mL) e algumas aparas de porcelana porosa.
2. Conecte o balão a um condensador de Dean-Stark modificado, encabeçado por um condensador de refluxo. *Observe o sistema montado na figura ao lado.*
3. Aqueça o balão utilizando uma manta de aquecimento. A mistura inicialmente funde por completo, produzindo duas fases e depois inicia a destilação (destilam água e acetofenona). O destilado acumula-se no reservatório lateral do aparelho de Dean-Stark. A torneira de duas vias permite remover a fase aquosa e devolver a acetofenona ao balão. A mistura torna-se homogênea a cerca de 150-155 °C.
4. A reação prossegue com formação de espuma. Continue o aquecimento até 180°C, sempre removendo periodicamente a fase aquosa, e devolvendo acetofenona destilada à mistura reacional. Mantenha o aquecimento por mais 45 minutos, cuidando para que a temperatura fique entre 180-185°C. Observe que em altas temperaturas a densidade da acetofenona diminui e será observado duas fases pouco definidas. A fase de baixo estará mais rica em água (H₂O) e a fase superior estará mais rica em acetofenona. Portanto, a fase inferior deve ser descartada e a fase superior deve retornar ao balão de reação. Este processo deve ser repetido pelo menos durante 45 minutos.
5. Resfrie a mistura reacional e passe para o **Experimento 2** ainda na aula de hoje.

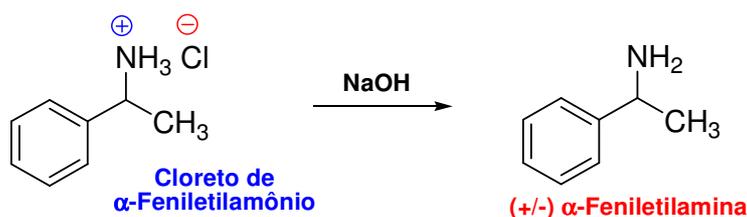
Experimento 2: Hidrólise da α -feniletilformamida (Código Alfa I)

1. Remova o aparelho de Dean-Stark e o condensador de refluxo do balão de reação.
2. Adicione 30 mL de tolueno.
3. Adicione **CUIDADOSAMENTE** (lentamente), 50 mL de ácido clorídrico concentrado.
4. Recoloque o condensador de refluxo sobre o balão (se necessário colocar uma conexão de vidro) e aqueça a mistura bifásica sob refluxo brando por 30 minutos ($\sim 120^{\circ}\text{C}$).
5. Resfrie à temperatura ambiente, dissolva os cristais que tenham se formado com uma quantidade mínima de água destilada (cerca de 45 mL devem ser suficientes; se não adicione um pouco mais).
6. Separe as fases em pêra de separação de capacidade adequada (mínimo de 250 mL). A **fase orgânica** pode ser descartada, e não a **fase aquosa**.
7. Lave a **fase aquosa** com 2 porções de éter etílico (30 mL e 15 mL).
7. Guarde a fase aquosa que contém o cloreto de α -Feniletilamônio (dissolvido em água) em um Erlenmeyer de 500 mL, devidamente identificado e tampado com papel-filme. Reserve em lugar indicado pelo(a) professor(a) para a próxima aula.



Experimento 3: Purificação da α -feniletilamina por destilação fracionada (Código Alfa II)

1. Em um Becker de 500 mL, prepare uma solução dissolvendo 35 g de NaOH em 80 mL de água destilada.
2. Adicione **cautelosamente** à solução ácida de cloreto de α -feniletilamônio (obtida na aula anterior). Obs.: a finalidade é transformar o sal de amônio em amina “livre”, conforme é apresentado no esquema abaixo.

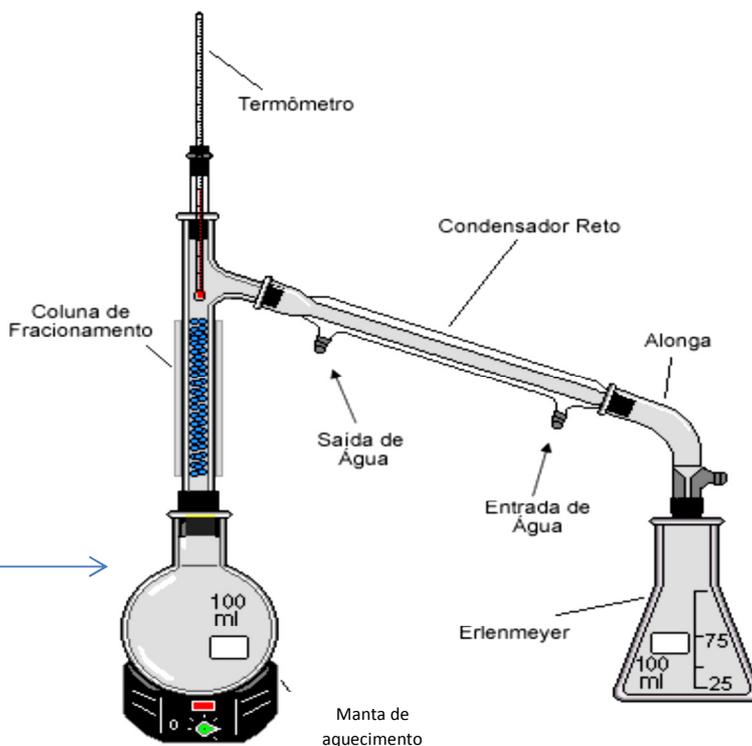


3. Verifique o pH da mistura com papel indicador. Se o pH estiver abaixo de 10 adicione mais solução de NaOH até que o pH esteja acima de 10. Obs.: ocorrerá formação de duas fases, pois a amina “livre” é pouco solúvel em água, e por ser menos densa ficará na fase superior.
4. Deixe a mistura resfriar até a temperatura ambiente e adicione 30 mL de Éter Etílico.
5. Separe as fases em funil de separação de capacidade adequada e extraia a **fase aquosa** com mais Éter Etílico (2 x 15 mL).

Atenção! Neste momento, o que interessa é a fase orgânica, pois a amina “livre” já não é mais solúvel em água.

6. Junte os extratos orgânicos e seque com pastilhas de NaOH (pode ser necessário decantar a fase orgânica para outro Erlenmeyer seco e repetir a secagem com mais pastilhas de NaOH).

7. Faça uma filtração simples para retirar o NaOH remanescente e filtre diretamente para um balão de 250 mL, que será conectado ao sistema de destilação. Com cuidado, coloque algumas pedras de ebulição dentro deste balão.
8. Monte o sistema de destilação fracionada dentro de uma capela. *Dica: a destilação fracionada foi empregada durante a prática do Vinho.*



9. Inicie o aquecimento de maneira branda para destilação completa do éter etílico (ponto de ebulição $\sim 40^{\circ}\text{C}$), que pode ser coletado em um frasco qualquer, para então ser descartado.
10. Destile o líquido resultante, coletando as frações de (+/-) α -feniletilamina entre $180\text{-}185^{\circ}\text{C}$, em um frasco âmbar previamente pesado. Obs.: em algumas situações mesmo que o termômetro acoplado esteja marcando temperaturas inferiores a 180°C , a amina pode estar destilando. Isso pode ser confirmado com um teste simples: deixe pingar uma gota do destilado na superfície de vidro limpa (Ex.: vidro de relógio) e assopre; se restar um óleo com cheiro de amina, é de fato o composto; se for apenas éter etílico (com um pouco de água), será evaporado; além disso, a viscosidade do óleo é bem notória.
11. Pesar o líquido destilado (que deve ser incolor) e determinar o rendimento da reação.

A partir deste ponto, **ainda na aula de hoje**, será iniciado o processo de resolução enantiomérica. Para isto:

12. Dissolva (misture) 6,0 g de ácido tartárico (enantiômero natural - 2*R*, 3*R*) em 85 mL de metanol em um Erlenmeyer de 500 mL.

13. Aqueça suavemente a mistura, em capela, até a dissolução total do ácido tartárico.

12. A seguir, adicione **lentamente** (3-5 min), 5 mL de α -feniletilamina racêmica, que foi destilada na aula de hoje, **sob agitação constante**. *Obs.: o ácido tartárico é um diácido, mas deseja-se que a reação seja na proporção de 1:1 entre o ácido tartárico e a amina; por isso é necessário manter a concentração deste diácido mais elevada que a da amina.*

13. Tampe o frasco da solução resultante com papel-filme e identifique adequadamente. Reserve em local indicado pelo(a) professor(a) para a aula seguinte.

Experimento 4: Recuperação da (S)-(-)- α -feniletilamina (Código Alfa III)

Após o período de repouso observa-se a formação de cristais prismáticos do sal que é menos solúvel. A formação de cristais na forma de agulhas resultam em uma pureza óptica menor.

1. O precipitado deve ser filtrado e lavado com um pequeno volume de metanol.

2. O filtrado é rico no sal do correspondente enantiômero *R*, e será utilizado posteriormente, no **Experimento 5**.

3. Em um béquer de 250 mL colocar os cristais prismáticos, com 15 mL de água; em seguida adicionar 5 mL de solução de NaOH 50%, que converte o feniletilamônio na feniletilamina, insolúvel em água, mas solúvel em solventes orgânicos.

4. A mistura resultante deve ser agitada por 5 minutos e depois transferida para um funil de separação de capacidade adequada.

5. Separar as fases e extrair a fase aquosa com éter etílico (3 x 15 mL). *Lembrete: o éter etílico é menos denso que a água, portanto é a fase superior.*

6. A fase orgânica (em éter etílico) retorna ao funil de separação para ser lavada com 15 mL de solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Obs.: este processo auxilia na remoção do excesso de água da fase orgânica por osmose.
7. Secar a fase orgânica com sulfato de sódio ou de magnésio anidros.
8. Filtrar para um balão previamente pesado e evaporar o solvente em rotaevaporador.
9. A amina resultante é pesada e analisada em um polarímetro para determinação da pureza óptica (**Experimento 6**, que será realizado ainda na aula de hoje).

Experimento 5: Recuperação da (*R*)-(+)- α -feniletilamina (Código Alfa III)

1. Evaporar em rotaevaporador o metanol presente no líquido armazenado anteriormente (solução rica do sal correspondente ao enantiômero *R*).
2. Adicionar 15 mL de água ao sal residual, seguido de 5 mL de solução aquosa de NaOH 50%.
3. A mistura resultante é agitada por 5 minutos e depois colocada em um funil de separação de capacidade adequada. Separar as fases.
4. Extrair a fase aquosa com éter etílico (3 x 15 mL).
5. As 3 frações orgânicas obtidas e combinadas são lavadas com 15 mL de solução aquosa saturada de cloreto de sódio.
6. Secar a fase orgânica com sulfato de magnésio ou de sódio anidros.
7. Filtrar para um balão previamente pesado e evaporar o solvente em rotaevaporador.
8. A amina resultante deve ser pesada e analisada em um polarímetro para determinação da pureza óptica (**Experimento 6**, que será realizado ainda na aula de hoje).

Experimento 6: Determinação da pureza óptica da amostra (Código Alfa III)

Para determinação da rotação específica da amostra cada grupo deverá utilizar as aminas puras. Realizar as medidas no polarímetro e determinar a pureza óptica das amostras.

A partir do valor de rotação observada calcule: $[\alpha]$, a pureza ótica e a proporção de cada enantiômero nas duas frações. A pureza ótica é a razão entre a rotação específica encontrada na análise e a rotação específica da substância enantiomericamente pura encontrada na literatura (pode-se considerar o valor $+35^\circ$ para o isômero *R* enantiomericamente puro e -35° para o isômero *S* enantiomericamente puro).

BIBLIOGRAFIA

INGERSOLL, A.W.; FUSON, R.C.; ROSS, E. Organic Synthesis, Collective Vol. 2, 503-506. Assymmetric Synthesis, Ed. Morrison, J.D.; Academic Press, Vol. 1 a 5.