

# Experimentação e ensino: análise de aditivos alimentares a partir da técnica de cromatografia líquida.

Camilla de Mello Carneiro<sup>1</sup> (IC)\* ([camillademelloc@hotmail.com](mailto:camillademelloc@hotmail.com))

Lucas Clementino Mourao<sup>2</sup> (PG)

<sup>1</sup>[camillademelloc@hotmail.com](mailto:camillademelloc@hotmail.com)

<sup>2</sup>[lucasclémentinom@gmail.com](mailto:lucasclémentinom@gmail.com)

*Palavras-chave: aditivos alimentares, cromatografia, ensino de Química, sucos.*

Resumo: Este trabalho tem como finalidade apresentar uma metodologia de ensino em sala de aula que possui o intuito de estimular o pensamento científico dos alunos com base em experimentação ilustrativa, tornando-os sujeitos de participação ativa. Para a verificação no fomento cognitivo a proposta didática baseou-se na realização de questionários, aula expositivo-argumentativa, experimentação em sala de aula e em laboratório realizando análise de aditivos alimentares a partir da técnica de cromatografia líquida, utilizando o processo de ensino-aprendizagem de ciências em sala de aula como objeto de estudo.

## INTRODUÇÃO

Mesmo que muito presente em nosso cotidiano, a química se encontra hoje muito distante dos alunos de ensino médio. O ensino de química ainda gera nos alunos um grande desinteresse pela matéria. Tal desinteresse relaciona-se com a dificuldade de aprendizado do assunto, desde conceitos a aplicações. Porém tais dificuldades de aprendizado muitas das vezes são explicadas a partir da forma que o conteúdo está sendo abordado.

Muitas críticas ao ensino tradicional se referem à ação passiva do aprendiz que é frequentemente tratado como ouvinte das informações expostas pelo professor<sup>[1]</sup>. Para combater tal problema de aprendizado, há algumas formas diferentes de abordagens do conteúdo, como por exemplo a experimentação, que faz com que o aluno deixe de ser um indivíduo passivo e passe a ser mais ativo.

Um método didático que requeira que o aprendiz seja mais ativo que passivo, reforça a aprendizagem por meio da experiência direta,<sup>[2]</sup> em que há uma aproximação por parte do aluno ao conteúdo teórico, ou seja, desperta um grande interesse entre os alunos levando-os a obter uma melhor compreensão dos temas trabalhados.<sup>[3]</sup>

Entretanto é válido dizer que as atividades de experimentação não podem ser utilizadas como um adendo a teoria apresentada em sala. É necessário fazer com que os alunos reflitam sobre as situações problemas que enfrentam no cotidiano.<sup>[4]</sup>

O presente trabalho tem por finalidade aproximar os alunos da ciência química de forma prática e dinâmica de modo a estimular o pensamento científico dos mesmos, contextualizando o conteúdo ministrado e suas aplicações no dia-a-dia. Para isso foi abordado em sala de aula uma metodologia com base em uma experimentação ilustrativa, em que os alunos, sob supervisão do professor, entrem em contato com a técnica apresentada comprovando e ou reforçando o material teórico.

O tema abordado na experimentação foi referente à análise de aditivos alimentares (corantes e conservantes) por técnica de separação cromatográfica, o qual teve seus resultados comparados com análises em laboratório para fim de esclarecimento da teoria dos conceitos químicos trabalhados em sala, tais como definições de soluções, concentração de soluções, separação de misturas, diluição, dissolução, aditivos alimentares e definições técnicas de néctares e sucos em produtos comerciais.

### **Aditivos Alimentares: Definições e aplicações**

Aditivo alimentar é considerado pela legislação brasileira (Dec. n.º55.871 de 26 de março de 1965, com modificações introduzidas até 31 de dezembro de 1975) como a substância intencionalmente adicionada ao alimento com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo.<sup>[5]</sup> Com o desenvolvimento da industrialização, foram progressivamente introduzidos novos tipos de aditivos, permitindo a produção em larga escala e o transporte de alimentos a grandes distâncias, assegurando que o produto chegue ao consumidor com um aspecto atrativo.

Os aditivos químicos estudados com os alunos neste trabalho foram os corantes e os conservantes que estão em alguns dos produtos industrializados mais populares: sucos, néctares e pós para refresco.

**Corantes:** São aditivos que conferem ou intensificam a cor dos alimentos. As classes utilizadas são Corantes naturais, artificiais e Caramelos, e os respectivos códigos de rotulagem são C.I, C.II e sem código específico para caramelos.

Os corantes naturais mais usados ou permitidos são: açafrão, antocianina, beterraba, cacau, carotenoides, carvão, clorofila, páprica, pau-brasil e xantofila.

Corantes artificiais são os aditivos mais estudados e pesquisados, pois além de serem considerados não essenciais, muitos têm demonstrado ação carcinogênica e

reações de hipersensibilidade. Os permitidos são: amaranço, amarelo crepúsculo, azul de alizarina, tartrazina, eritrozina, vermelho 40 e ponceau 4R. Os mais utilizados em néctares e pós para refresco são o azul de alizarina e o tartrazina.

**Conservantes:** Substâncias que impedem ou retardam a alteração de alimentos provocada por microrganismos e enzimas. Os permitidos, com seus respectivos códigos de rotulagem entre parênteses, são: Ácido benzoico (P.I), Ácido bórico (P.II), Ésteres do ácido p-hidroxibenzoico (P.III), Ácido sórbico (P. IV), Dióxido de enxofre e derivados (P. V), Nitrato de potássio ou sódio (P. VI e P. VII) e Propionato de cálcio, sódio ou potássio (P. IX).

**Suco tropical:** É definido como o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo.

**Néctar da fruta:** É uma bebida que já vem adoçada e diluída em água, pronta para consumo. **Pó para refresco:** O preparado sólido para refresco, ou pó para refresco, é o produto à base de suco ou extrato vegetal de sua origem, e açúcares, podendo ser adicionado de edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos, destinado à elaboração de bebida para o consumo imediato pela adição de água potável. Contudo, o suco não pode ter adição de corante e conservante, o néctar possui uma concentração menor de polpa e pode conter aditivos como corante e conservante, já o pó para refresco não necessita da fruta em sua composição, mas deve ter em sua embalagem a informação “artificial”.

Sendo assim, foram trabalhados com os alunos essas definições de forma a familiarizá-los com o assunto e fazê-los relacionar com os conceitos de Química já vistos por eles, que são: solução, concentração em quantidade de matéria (Cn), separação de misturas, diluir e dissolver.

## Cromatografia

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, tal separação se dá a partir da distribuição desses componentes da mistura em duas fases em contato, a fase móvel e a fase estacionária. Após a introdução da amostra no sistema cromatográfico, os componentes da amostra se distribuem entre as duas fases e viajam mais lentamente que a fase móvel devido ao efeito de interação dos componentes da amostra com a fase estacionária. A força com que cada componente

da amostra se interage com a fase estacionária e com a fase móvel determina a velocidade com a qual cada componente migra através do sistema, separando-os assim por um tempo de retenção característico. [6] [7]

Existem diferentes métodos de cromatografia e suas devidas aplicações, mas o princípio básico é comum a todos. O método de cromatografia mais acessível para ser trabalhado em sala de aula é a Cromatografia em papel, por ser um método qualitativo simples, relativamente rápido e não necessita de muita quantidade de insumos.

Na cromatografia em papel a amostra a ser analisada é diluída em um solvente e em seguida é aplicada sobre a superfície da fase estacionária, neste caso, o próprio papel. Em seguida uma pequena parte do papel é colocada em contato com a fase móvel e, por capilaridade, a fase móvel começa a se movimentar na superfície do papel até que quase todo papel tenha contato com a fase móvel. A separação dos componentes da amostra relaciona-se com as diferentes solubilidades relativas dos mesmos componentes na fase móvel e na fase estacionária, assim, os componentes com menor afinidade pela fase estacionária se movimentam mais rápido ao longo do papel, enquanto os componentes com maior afinidade ficam mais retidos e se movimentam de forma mais lenta. [6]

Outra técnica cromatográfica existente e bastante utilizada em diversos laboratórios é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, ou HPLC (do inglês *high performance liquid chromatography*). A técnica é uma das mais importantes pois consegue separar misturas que contém substâncias muito semelhantes e possui muitas possibilidades de otimização de acordo com o objetivo.

A cromatografia líquida é uma técnica que usa uma pequena coluna recheada com um sólido como fase estacionária, e um líquido como fase móvel. A amostra é injetada em uma extremidade da coluna junto a passagem da fase móvel, com isso o fenômeno de adsorção faz com que ocorra a separação dos componentes e conseqüentemente um aumento da concentração de determinados solutos no final da coluna. [7]

A partir dessa técnica podem-se realizar separações de misturas e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade.

Dessa forma, tanto os dados obtidos em laboratório quanto os obtidos em sala de aula com os alunos foram parte integrante para composição deste trabalho e como

forma de estudo para melhor interpretação da realidade escolar e metodologias no ensino de Química.

## **METODOLOGIA**

Em um primeiro momento o projeto foi apresentado aos alunos e eles responderam à um questionário, no qual as respostas foram analisadas com o intuito de perceber em qual conceito de Química os alunos possuíam maior dificuldade, a fim de direcionar a linha de raciocínio no desenvolvimento das aulas seguintes.

A partir das primeiras informações coletadas acerca das condições dos alunos em termo de conteúdo, foram abordados os conceitos teóricos dos principais tópicos a serem trabalhados. Foi explicado então o que são os aditivos alimentares, quais os mais encontrados em produtos alimentícios, como em néctares e pós para refresco, quais os principais métodos de análise laboratorial de tais conservantes, e o método analítico qualitativo para demonstração da experimentação ilustrativa dos conceitos explicados anteriormente.

O experimento realizado em sala com os alunos foi a cromatografia de papel, misturando dois corantes: amarelo tartrazina e o azul de alizarina, que foram dissolvidos na fase móvel (fase móvel: 50% de água e 50% de etanol comercial). Logo após, foi colocado cerca de 50mL de fase móvel em um béquer de 1000mL. Adicionou-se uma gota da amostra ao papel filtro, que é a fase estacionária, o qual ficou pendurado de forma a encostar apenas no fundo do béquer. A fase móvel elui a amostra na fase estacionária e ao final do procedimento, quando quase todo papel está embebido da fase móvel, a fase estacionária pode ser retirada para análise e discussão dos resultados.

Dessa forma, foi explicado aos alunos o método de análise usado no laboratório, HPLC, para quantificação de conservantes existentes em néctares. As substâncias escolhidas para realização das análises em laboratório foram o ácido benzoico e o ácido sórbico, que são os tipos de conservantes mais utilizados.

Além da cromatografia os alunos observaram os rótulos de três tipos de produtos: o néctar (suco de caixinha), o suco tropical concentrado (suco de garrafa), e o pó para refresco (suco de saquinho), a fim de observar os aditivos químicos descritos em cada rótulo e seus nomes comerciais. Também foi trabalhado conceitos químicos presentes no cotidiano deles, a partir da diluição do suco concentrado e a dissolução do pó para refresco, ambos em água potável. Os três produtos foram dispostos para

realização de dinâmica, na qual eles fizeram suas análises visuais e gustativas, observando aspectos como cor, aroma, sabor e aparência.

Ao final de toda experimentação e discussão dos conceitos e dos resultados obtidos em sala e em laboratório, foi passado novamente o questionário aos alunos, a fim de avaliar a fixação do conteúdo ministrado.

Para realização da cromatografia líquida em laboratório, foram escolhidos três sabores de néctares: laranja, uva e caju. De duas marcas diferentes, totalizando seis amostras analisadas. Foi retirada uma alíquota de 1 mL de cada néctar e transferido para um balão volumétrico de 10mL completando seu volume com água ultrapura até aferir o menisco. Logo após, estas soluções foram filtradas com um filtro de 45µm e transferidos para um *vial* de 2 mL. A filtração é feita para eliminar a maior quantidade de impurezas possível, para melhor quantificação dos componentes da amostra no equipamento.

A fase móvel utilizada no equipamento em laboratório foi uma solução contendo 10% de Acetonitrila (grau HPLC) e 90% de água ultrapura. A coluna utilizada foi a C18, com 8cm de comprimento, e a detecção foi feita por UV com comprimento de onda 228nm.

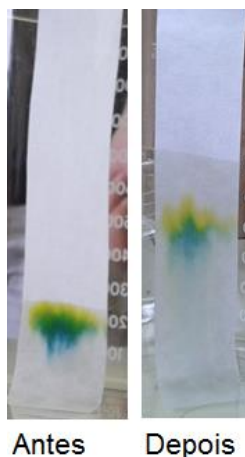
## RESULTADOS OBTIDOS

### Na escola

Ao analisar o questionário inicial entregue pelos alunos percebeu-se que maioria deles tinham dificuldade para entender conceitos de concentrações de soluções, definição de soluções e de separação de misturas e a diferença entre diluir e dissolver. Pôde-se perceber também que os alunos não conseguiam relacionar tais conceitos com algumas atividades do dia-a-dia, como por exemplo, o ato de dissolver um pó para frescor em água potável. Foi observado ainda que esses alunos não possuíam muito conhecimento sobre os aditivos alimentares e suas nomenclaturas, e não tinham conhecimento sobre métodos de separação mais seletivos, como a cromatografia.

Os procedimentos para realização do experimento, bem como os resultados obtidos, foram discutidos junto aos alunos. Obtiveram-se resultados positivos e satisfatórios da cromatografia de papel realizada em sala, conforme mostra a figura 1. É possível notar que os corantes da mistura foram eluídos e separados e foi possível também determinar qual dos compostos tinham afinidade com a fase móvel, que foi o amarelo tartrazina, pois foi a substância que mais acompanhou a fase móvel durante a

eluição. Contudo, a separação não ficou perfeita, devido ao fato de, durante o procedimento do experimento, a quantidade de amostra que deveria ser inserida no papel foi ultrapassada, mas ainda assim pôde-se observar uma pequena separação dos compostos.



**Figura 1 – Cromatografia em papel em sala de aula. Amostras de corantes Amarelo Tartrazina e Azul de Alizarina eluídas em Fase Móvel Etanol 50%.**

Ao observarem os rótulos dos produtos os alunos perceberam que alguns dos aditivos químicos citados durante a aula estavam descritos neles: tartrazina no pó para refresco, e, o benzoato de sódio ou ácido benzoico no néctar de fruta e também no pó para refresco.

Ao iniciar o experimento em que o pó para refresco foi dissolvido e o suco tropical foi diluído, utilizando água potável em ambos como solvente, observou-se maior empolgação dos alunos, tendo maior envolvimento e participação. Nesse momento todos os alunos se ofereceram para fazer as análises visual e gustativa.

Os alunos deveriam preencher uma tabela com os dados obtidos em cada análise, de acordo com cada produto, e a maioria caracterizou o pó para refresco sabor manga como sendo “ralo”, de cor “fraca”, com aroma e gosto característicos da fruta, porém “fortes”. Já para o néctar de manga os alunos definiram como sendo de coloração amarelada, aroma e gosto ruins e bastante viscoso, sendo que alguns alunos ainda definiram que este néctar tinha gosto e aroma de fruta podre. A maioria dos alunos definiram o suco tropical como sendo o mais gostoso, com aroma e sabor característicos da fruta e de coloração “forte”, mas ressaltaram o fato de que este produto não era adoçado.



Os alunos também deveriam explicar o que são aditivos alimentares e citar um exemplo de separação de misturas. De uma forma geral, definiram aditivo alimentar como sendo “*conservantes alimentares*” e “*substância adicionada aos produtos industrializados com a finalidade de preservar ou mudar suas características*”, e ao citarem exemplos de separação de misturas, poucos citaram a cromatografia, a maioria exemplificou com filtração e destilação, métodos muito mais comuns ao cotidiano deles.

Ao definirem a diferença entre diluir e dissolver, todos os alunos exemplificaram com o experimento feito em sala e alguns outros exemplos que já conheciam em seu cotidiano, como por exemplo, a própria preparação de um achocolatado a partir da dissolução do chocolate em pó e a diluição de gotas de adoçante na preparação de sucos.

A última questão a ser respondida pedia para que os alunos descrevessem e/ou diferenciassem a preparação do pó para refresco da preparação do suco tropical, os alunos responderam dizendo que a diferença era que o pó para refresco era dissolvido e o suco era diluído, ambos em água.

### **Considerações e análises acerca da experimentação em sala**

Com o desenvolvimento da experimentação foi notado maior atenção por parte dos alunos, se mantendo focado ao que é proposto e ao que é manuseado. Tal atenção se deve ao fato de ser uma experiência em que o aluno tem contato com o novo, com a curiosidade implicada pelo conhecimento de um assunto.

Com um aumento efetivo da atenção dos alunos, notado claramente a partir das reações dos mesmos, é possível relacionar o conteúdo proposto anteriormente, e que se tratava de algo desconhecido e complexo, ao entendimento dos mesmos, com sua devida aplicação no cotidiano, facilitando a interação entre os dois momentos em sala: o teórico e o prático.

A ideia trabalhada e alcançada com sucesso, a partir de uma experimentação prática, foi a atenção dos alunos dentro da sala de aula. Ao propor essa forma de interação interdisciplinar, em que é ultrapassado a preocupação de adequá-los apenas ao conteúdo de interesse, pode-se ajudar a abalar atitudes de inércia, de desatenção, de apatia, de pouco esforço, servindo esses experimentos, inclusive, de elo incentivador para que os estudantes se dediquem de uma forma mais efetiva às tarefas subsequentes mais árduas e menos prazerosas. <sup>[8]</sup>



A importância da experimentação no ensino da ciência química está relacionada não só na demonstração e na explicação do conteúdo ministrado, mas também está relacionado a uma forma de despertar interesse e motivar os alunos para o estudo da ciência, pois a motivação é o que desencadeia e impulsiona uma pessoa a seguir em direção a qualquer ação. [9]

### No laboratório

Visualmente pôde-se observar inicialmente a diferença entre as colorações dos néctares de uva, conforme figura 2:



Figura 2 – Diferença de coloração entre os néctares de uva das marcas A e B

Para realização das análises foi feita uma curva de calibração com o benzoato de sódio, com concentrações do padrão em 1ppm, 2ppm, 5ppm, 10ppm e 25ppm, obtendo coeficiente de correlação igual a 0,999.

Após calibração seguiu-se com a leitura das amostras. Não foram detectadas quantidades significativas de conservante nos néctares de caju e laranja das marcas A e B.

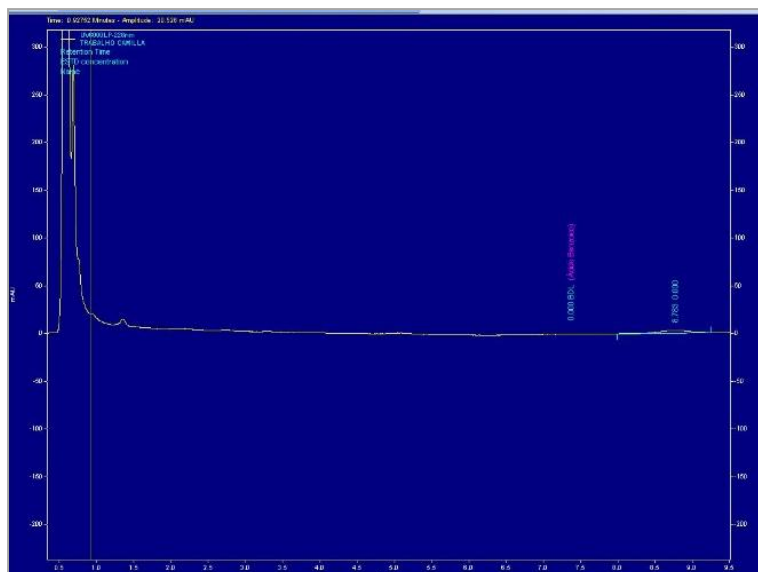


Figura 3 – Cromatograma – néctar de caju “Marca B”

Contudo, no néctar de uva da marca A observou-se que o sinal do equipamento subiu em relação às outras amostras analisadas, dessa forma, foi detectado um pico no cromatograma que indica a concentração de conservante, como mostra a figura 4:

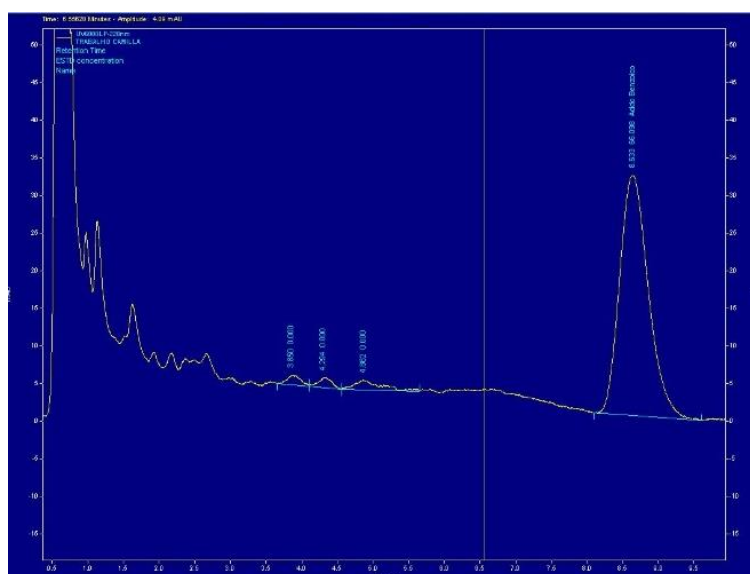


Figura 4 – Cromatograma – néctar de uva “Marca A”

Mesmo que este néctar tenha apresentado uma quantidade significativa de benzoato de sódio com relação às outras amostras, a concentração máxima desse conservante se encontra dentro dos padrões determinados, com valor encontrado de ácido benzoico igual a 0,0027 g/100mL, enquanto a concentração máxima estabelecida pela RDC nº 8, de 06 de março de 2013 é de 0,1 g/mL.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os objetivos do projeto pode-se afirmar que houveram resultados positivos e satisfatórios, pois os alunos compreenderam o conteúdo ministrado e souberam exemplificar com o experimento realizado em sala, relacionando com o dia-a-dia deles. Estes alunos, em sua maioria, também conseguiram entender que os conceitos trabalhados estão todos interligados.

Sendo assim, foi possível notar uma mudança no comportamento dos alunos, que passaram a atuar na sala de aula de forma ativa e não passiva. Isso pode ser caracterizado como um maior aproveitamento com relação às atividades propostas pois eles mostraram grande interesse durante as atividades.

As amostras de néctares foram analisadas, e quantificadas com relação aos conservantes, e estão dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação. Dessa forma, pôde-se obter maiores conhecimentos sobre a técnica de cromatografia e sobre aditivos alimentares e sua relação com o cotidiano dos alunos e suas interpretações sobre conceitos importantes de Química, tendo como objeto de estudo a realidade escolar e as vivências em sala de aula, bem como os conhecimentos adquiridos tanto em laboratório realizando as análises, quanto em sala de aula com os alunos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] - GUIMARÃES, C. C. Experimentação no Ensino de Química. Química Nova na Escola, Vol. 31, N° 3, agosto 2009
- [2] - HODSON, D. Experiments in science and science teaching. Educational Philosophy and Theory, v. 20, n. 2, p. 53-66, 1988
- [3] - GIORDAN, M. O papel da Experimentação no ensino de ciências. Química Nova na Escola, n. 10, p. 43-49, 1999.
- [4] - OLIVEIRA, N.; SOARES, M. H. F. B. As atividades de experimentação investigativa em sala de aula e suas relações com o lúdico no ensino de

química. Revista de la Facultad de Ciencia y Tecnologia, v. Extra, p. 1366-1372, 2014

- [5] - ANVISA, Dispõe sobre a aprovação de uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geleia de mocotó. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Nº 46, Seção 1, pág. 68.
- [6] - Collins, Carol H., Braga, Gilberto L. e Bonato, Pierina S.- Introdução a Métodos Cromatográficos, 7ª edição, Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 1997. (Série Manuais)
- [7] - Argenton, Ayrton. Conceitos fundamentais de Cromatografia a líquido de Alto Desempenho (HPLC). CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA - IV REGIÃO (SP), 2010. [Online] Disponível em:  
<[http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos\\_hplc\\_2010.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos_hplc_2010.pdf)>. Acesso em: 17 de junho de 2016.
- [8] - LABURÚ, C. E. Fundamentos para um experimento cativante. Caderno Brasileiro de Ensino de Física, v. 23, n. 3, p. 382-404, 2006
- [9] - PENNA, A. G. Aprendizagem e motivação. Rio de Janeiro: Zahar Editores, 1980.