

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
DE ABEL SALAZAR**

**TEXTOS DE APOIO ÀS AULAS
LABORATORIAIS DE QUÍMICA
ORGÂNICA E BIOLÓGICA**

LICENCIATURA EM BIOENGENHARIA

2023 – 2024

NORMAS DE TRABALHO NO LABORATÓRIO

- 1. A UTILIZAÇÃO DE BATA É OBRIGATÓRIA.**
- 2. É PROIBIDO COMER OU BEBER NO LABORATÓRIO.**
3. Os cabelos compridos devem ser atados. Joias pendentes devem ser retiradas.
4. Ter conhecimento completo do trabalho a realizar, antes de ir para o laboratório.
5. Efetuar todas as operações com cuidado e sem pressa.
6. Manter os equipamentos e a banca de trabalho sempre arrumados e limpos. Evitar derramamentos; se tal acontecer chamar o docente.
7. Despejar resíduos sólidos, papéis de filtro, fósforos, etc, no saco de plástico branco que se encontra na bancada e não na banca e/ou esgotos.
8. Não pipetar com a boca.
9. Não tocar nos produtos químicos com a mão.
10. Nunca provar um produto químico ou uma solução.
11. Nunca cheirar diretamente um produto químico colocando o rosto diretamente sobre o frasco.
12. Verificar cuidadosamente o rótulo do frasco que contém um dado reagente, antes de retirar dele qualquer porção do seu conteúdo. Leia o rótulo cuidadosamente para se certificar de que tem o frasco certo.
13. As substâncias que não chegarem a ser usadas não devem voltar a colocar-se no frasco donde foram retiradas, salvo se tal for indicado expressamente pelo professor. Nunca se deve introduzir qualquer objeto no frasco de um reagente exceto uma espátula limpa no caso de um reagente sólido ou conta-gotas ou pipeta de Pasteur no caso de um reagente líquido.
14. No final do trabalho o material utilizado deve ficar organizado e arrumado na bancada onde realizou o trabalho.

EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA DAS FOLHAS DE CHÁ PRETO

EXTRAÇÃO

Procedimento:

- 1 – Abrir 2 saquetas de chá preto (± 3 g) com uma tesoura e colocar, num Erlenmeyer de 500 mL.
- 2 - Adicionar 2,0 g de carbonato de cálcio e 50 mL de água quente, utilizando uma proveta.
- 3 - Ferver a mistura (tapada), com agitação magnética contínua, cerca de 5 min.
- 4 - Filtrar por papel de filtro Whatman nº 1 diretamente para a ampola de decantação de 125 mL.
- 5 – Na ampola de decantação, **contendo 50 mL de filtrado obtido no ponto anterior**, extrair a fase aquosa com a adição de 15 mL de diclorometano, utilizando uma proveta. Tapar a ampola de decantação e agitar com cuidado e com movimentos circulares. É importante, ocasionalmente, ter o cuidado de abrir a torneira para libertar o gás que se forma.
- 6 - Colocar a ampola no suporte metálico, retirar a tampa, e aguardar a separação da fase aquosa da fase orgânica (mais densa). Recolher a fase orgânica para um Erlenmeyer de 100 mL.
- 7 – Repetir a extração com mais 15 mL de diclorometano, como descrito no ponto anterior. Juntar as fases orgânicas num Erlenmeyer.
- 8 - Adicionar sulfato de sódio anidro com uma espátula (1 a 2) e agitar até obter uma fase orgânica límpida.
- 9 – Pesar o balão de fundo cônico e registar o valor (não esquecer de primeiro tarar o suporte!).
- 10 - Preparar filtro de pregas e filtrar recolhendo o filtrado no balão de fundo cônico previamente pesado. Lavar o resíduo no filtro com 10 mL de diclorometano.
- 11 - Evaporar o diclorometano, num evaporador rotativo.
- 12 – Pesar o balão de fundo cônico e registar o valor (não esquecer de primeiro de tarar o suporte!). Calcular a % de recuperação.

IDENTIFICAÇÃO - Método: Cromatografia em Camada Fina Analítica (TLC)**Procedimento:****13 - Preparação dos eluentes**

Preparar 2 câmaras de cromatografia (frasco de vidro) com 10 mL de cada um dos seguintes eluentes:

n-Hexano

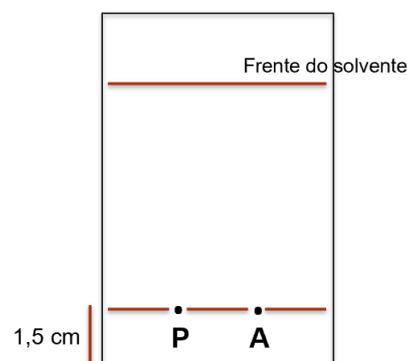
n-Hexano/Etanol (1:1) – preparar utilizando uma proveta e homogeneizar antes de transferir para a câmara de cromatografia

14 – Preparação da amostra

Adicionar, lentamente, 1 mL de acetona ao resíduo da extração das folhas do chá presente no balão de fundo cônico. Utilizar o banho de água quente (50°C), com cuidado, para dissolver o resíduo das paredes do balão.

15 - Preparação do TLC

- Preparar 2 TLCs utilizando folha de alumínio (5,0 x 10 cm) revestida a sílica gel com indicador de fluorescência.
- Marcar com um ponto a lápis, o local de aplicação do **P**adrão e da **A**mostra, separados cerca 1,5 cm entre si, do limite lateral e do limite inferior da placa (seguir o esquema).
- Aplicar 2 gotas da amostra e 2 gotas padrão de cafeína (8 mg de cafeína padrão em 0,5 mL de clorofórmio) com tubos capilares.
- Desenvolver o cromatograma até ± 2 cm do topo. Marcar a frente de solvente com uma linha a lápis e secar na hotte com um secador.
- Identificar as manchas ao comprimento de onda de 254 nm e contorná-las a lápis.
- Calcular os R_f (s) para cada eluente e identificar a cafeína.



Nota: enquanto espera a eluição do cromatograma proceda à parte seguinte do protocolo

PURIFICAÇÃO - Método: cristalização**Procedimento:**

16 – Colocar o balão de fundo cônico contendo o extrato das folhas do chá num banho de gelo e observar a formação de cristais ao fim de ± 20 min.